Sebastião Donato Silva Júnior

**Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre o
conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em diferentes
segmentos arteriais de ratos WKY e SHR**

Dissertação apresentada ao
Departamento de Fisiologia e
Biofísica do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de
São Paulo, para obtenção do
Título de Mestre em Ciências.

São Paulo
2011

Sebastião Donato Silva Júnior

Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre o conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em diferentes segmentos arteriais de ratos WKY e SHR

Dissertação apresentada ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Prof^a Dr^a Lisete Compagno Micheline

São Paulo
2011

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

reprodução não autorizada pelo autor

Silva Júnior, Sebastião Donato.

Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre o conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em diferentes segmentos arteriais de ratos SHR e WKY / Sebastião Donato Silva Júnior. -- São Paulo, 2011.

Orientador: Lisete Compagno Michelini.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Fisiologia e Biofísica. Área de concentração: Fisiologia Humana. Linha de pesquisa: Ajustes periféricos do sistema cardiovascular induzidos pela hipertensão e treinamento físico.

Versão do título para o inglês: Sequential effects of aerobic training on Ang I, Ang II and Ang (1-7) content in different arterial segments of SHR and WKY rats.

Descritores: 1. Hipertensão arterial 2. Sistema Renina Angiotensina vascular 3. Ang II 4. Ang (1-7) 5. Treinamento aeróbio I. Michelini, Lisete Compagno II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana III. Título.

ICB/SBIB063/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato: Sebastião Donato Silva Júnior

Título da Dissertação: Efeitos Sequenciais do treinamento aeróbio sobre o conteúdo de Ang I, Ang II, Ang (1-7) em diferentes segmentos artérias de ratos SHR e WKY

Orientador: Lisete Compagno Michelini

A Comissão Julgadora dos Trabalhos de Defesa da **Dissertação de Mestrado**, em sessão pública realizada a/...../.....

() Aprovado

() Reprovado

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - CEP. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 - telefax : (55) (011) 3091.7438
e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº 36 nas fls. 68 do livro 02 para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) Lisete Compagno Michelini, Coordenador(a) da Linha de pesquisa **Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre a expressão de diferentes componentes do sistema renina-angiotensina em vasos sanguíneos** do qual participou(aram) o(s) alunos **Sebastião Donato Silva Junior, Thais Tessari Zampieri, Laiali Jurdi El Chaar, Tatiana Pereira Mendes, Adriana Ruggeri**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEa)** em **08.04.09**, com validade de 3 anos.

São Paulo, 13 de abril de 2009.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador
CEEa - ICB/USP

Profa. Dra. PATRÍCIA CASTELUCCI
Secretária
CEEa - ICB/USP

Dedico esta conquista a todos que
me apoiaram, incentivaram e deram
todo o suporte necessário para sua
realização.

Em especial aos meus pais
Sebastião Donato Silva e
Jaine Lima Silva
Obrigado!!!

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Prof. Dra Lisete Compagno Michelini, cientista e educadora nata, pela sua brilhante orientação neste trabalho. De maneira especial o meu muito obrigado pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa e por ter me proporcionado, ao longo desses 3 anos, um caminho margeado de conhecimentos.

Agradeço aos meus pais que apesar de todas as dificuldades sempre me apoiaram em meus objetivos; pessoas especiais que me incentivaram a realizá-los

Agradeço aos amigos Eduardo Alves, Jone Loures, Marcel, Natan e Rafael Alvim pelo apoio, companheirismo e incentivo no meu primeiro ano em São Paulo; Incentivo este, que se estende até os dias de hoje. Foi muito enriquecedor e valoroso os momentos que vivemos no 79, 21B da Eiras Garcia.

Agradeço ao Paulo e ao Marcus, duas pessoas que se integraram ao nosso AP e que se tornaram grandes amigos e incentivadores.

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular (ICB/USP), que direta ou indiretamente ajudaram e contribuíram na realização desta dissertação.

Agradeço a Prof. Dra. Dulce Elena Casarini, que abriu as portas de seu laboratório e me possibilitou os meios necessários para a realização das dosagens das angiotensinas. Meus sinceros agradecimentos pela maneira sempre cordial e amiga como me recebeu.

Agradeço as alunas da Prof. Dulce, em especial a Fernanda Barrinha e a Dani Aragão, pelo tempo despendido nas extrações e todo o processo de análise.

Agradeço á CAPES, CNPq e FAPESP pelo auxílio financeiro que proporcionou a realização deste trabalho.

“Nunca deixe que lhe digam que não vale a
pena acreditar nos sonhos que se têm
ou que os seus planos nunca vão dar certo
ou que você nunca vais ser alguém...”

Renato Russo

RESUMO

SILVA JÚNIOR, S. D. **Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre a expressão de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em diferentes segmentos arteriais de ratos SHR e WKY.** 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

O desequilíbrio entre os eixos biologicamente ativos do Sistema Renina Angiotensina (SRA), o eixo vasoconstritor ECA - Ang II - receptor AT_1 e o eixo vasodilatador ECA2 - Ang (1-7) - receptor Mas, favorecendo a ação vasoconstritora, está intimamente relacionado ao desenvolvimento/manutenção da hipertensão arterial. Sabendo-se que o treinamento aeróbio de baixa intensidade (T) tem potencialidade para reduzir a atividade do SRA favorecendo a queda da pressão arterial, avaliamos neste estudo os efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre a pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e a expressão do SRA vascular em ratos normotensos (WKY) e hipertensos espontâneos (SHR). WKY e SHR foram submetidos a T em esteira (50-60% da capacidade máxima de exercício, 1h/dia, 5 dias/semana) ou mantidos sedentários por 12 semanas. Pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) basais foram aferidas nas semanas zero (S_0), um (T_1), dois (T_2), quatro (T_4), oito (T_8) e doze (T_{12} e S_{12}), após o que os animais foram profundamente anestesiados para remoção das artérias aorta, carótida, femoral e renal. Angiotensinas foram extraídas dos tecidos vasculares e quantificadas pela cromatografia líquida de alta performance. No início dos protocolos SHR vs. WKY apresentaram elevada PAM (177 ± 2 vs. 123 ± 1 mmHg) e FC (379 ± 12 vs. 320 ± 8 b/min). O conteúdo de Ang II também foi superior em SHR vs. WKY nas artérias renais ($46,33 \pm 2,48$ vs. $36,35 \pm 2,64$ nmol/g), femorais ($0,21 \pm 0,03$ vs. $0,08 \pm 0,01$ nmol/g) e carótidas ($0,38 \pm 0,04$ vs. $0,14 \pm 0,02$ nmol/g) e semelhante na aorta torácica ($0,06 \pm 0,01$ vs. $0,05 \pm 0,01$ nmol/g). Por outro lado o conteúdo de Ang (1-7) nos SHR foi inferior nas renais ($11,73 \pm 1,40$ vs. $28,64 \pm 2,38$ nmol/g), superior nas femorais ($0,21 \pm 0,11$ vs. $0,11 \pm 0,02$ nmol/g) e carótidas ($0,13 \pm 0,02$ vs. $0,09 \pm 0,00$ nmol/g) e semelhante na aorta ($1,07 \pm 0,35$ vs. $1,36 \pm 0,19$ nmol/g). O T determinou em ambos os grupos aumento similar do ganho do desempenho em esteira e promoveu já em T_1 redução da Ang II nas artérias renais (-53% e -22%) e aorta (-50% e -60%) de SHR e WKY, nas femorais (-38%) e carótidas (-61%) de SHR. T também determinou em SHR e WKY redução da Ang (1-7) nas artérias renais (-42% e 40%), carótidas (-62% e -33%) e aorta (-75% e -86%) e nas femorais dos SHR (-38%). O conteúdo mínimo de Ang II e Ang (1-7) nos diferentes segmentos vasculares de SHR e WKY foi alcançado entre T_8 e T_{12} . Interessante notar que o T aumentou parcialmente a razão Ang II/ Ang (1-7) na renal e femoral de WKY, na carótida de SHR e na aorta de ambos os grupos; não determinou alteração da razão na carótida de WKY e femoral de SHR, determinando redução da razão Ang II/Ang (1-7) apenas nas renais dos SHR. SHR e WKY mantidos sedentários apresentaram ligeira redução ou manutenção do conteúdo de Ang II e Ang (1-7) vascular. Redução da PAM (-9 ± 2 mmHg) foi observada apenas nos SHR a partir de T_8 ; por outro lado SHR e WKY apresentaram bradicardia de repouso (-57 ± 10 e -32 ± 6 b/min, a partir de T_2 e T_8 , respectivamente). Em linhas gerais o treinamento promoveu imediata e progressiva redução da Ang II e Ang (1-7), mantendo nos diferentes segmentos vasculares o balanço entre seus efeitos, mas favorecendo a redução da elevada proporção Ang II/Ang (1-7) nas artérias renais dos SHR, o que sugere a importância deste território na determinação dos níveis basais de PA. O fato da redução da hiperatividade do

SRA anteceder a queda da PAM nos SHR e a redução FC basal em ambos os grupos, indica uma possível relação causa-efeito entre conteúdo de angiotensinas e nível de PA.

Palavras-chave: Sistema Renina Angiotensina Vascular. Hipertensão Arterial. Treinamento Aeróbio

ABSTRACT

SILVA JÚNIOR, S. D. **Sequential effects of aerobic training on the expression of Ang I, Ang II and Ang (1-7) in different arterial segments of SHR and WKY.** 2011. 96 p. Masters thesis (Human Physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The imbalance between the two biologically active axes of the Renin Angiotensin System (RAS), the vasoconstrictor axis ECA-Ang II-AT1 receptor and the vasodilator axis ACE2-Ang (1-7)-Mas receptor, favoring the vasoconstrictor effect, is closely related to the development / maintenance of hypertension. Knowing that low intensity aerobic training (T) is effective to reduce RAS hyperactivity and to cause pressure fall, we evaluated in the present study the sequential effects of aerobic T on arterial pressure (AP), heart rate (HR) and vascular angiotensin content in normotensive (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR). WKY and SHR were submitted to treadmill T (50-60% of maximum exercise capacity, 1 h/day, 5 days/week) or sedentary protocol for 12 weeks. Resting AP and HR were measured at weeks zero (S_0), one (T_1), two (T_2), four (T_4), eight (T_8) and 12 (T_{12} and S_{12}). Rats were then deeply anesthetized for harvesting of thoracic aorta, carotid, femoral and renal arteries. Angiotensins were extracted from vascular tissues and measured by high performance liquid chromatography. At the beginning of protocols SHR vs. WKY showed elevated MAP (177 ± 2 vs. 123 ± 1 mmHg) and HR (379 ± 12 vs. 320 ± 8 b/min). Ang II content was higher in the renal (46.33 ± 2.48 vs. 36.35 ± 2.64 nmol/g), femoral (0.21 ± 0.03 vs. 0.08 ± 0.01 nmol/g) and carotid arteries (0.38 ± 0.04 vs. 0.14 ± 0.02 nmol/g) of SHR vs. WKY and similar in the thoracic aorta (0.06 ± 0.01 vs. 0.05 ± 0.01 nmol/g). On the other hand Ang (1-7) content in SHR was lower in renal (11.73 ± 1.40 vs. 28.64 ± 2.38 nmol/g), higher in femoral (0.21 ± 0.11 vs. 0.11 ± 0.02 nmol/g) and carotid arteries (0.13 ± 0.02 vs. 0.09 ± 0.00 nmol/g) and similar in the aorta (1.07 ± 0.35 vs. 1.36 ± 0.19 nmol/g). T determined in both groups similar performance gain on treadmill and caused at T_1 reduction of Ang II levels in the renal artery (-53% and -22%) and aorta (-50% and -60%) of SHR and WKY, in the femoral (-38%) and carotid (-61%) arteries of SHR. T also determined in SHR and WKY reductions of Ang (1-7) in the renal (-42% and 40%), carotid (-62% and -33%) arteries and aorta (-75% to -86%), and in the femoral artery of SHR (-38%). The minimum content of Ang II and Ang (1-7) in the different vascular segments of SHR and WKY was reached between T_8 and T_{12} . It is important to note that T partially augmented the Ang II/Ang (1-7) ratio in the renal and femoral of WKY, in the carotid of SHR and in the aorta of both groups; it did not change the ratio in the carotid of WKY and femoral of SHR, but reduced Ang II/Ang (1-7) ratio only in the renal artery of SHR. Sedentary SHR and WKY exhibited a slight reduction or maintenance of vascular of Ang II and Ang (1-7) content. MAP fall (-9 ± 2 mmHg) was only observed in SHR at T_8 - T_{12} ; on the other hand SHR and WKY exhibited resting bradycardia (-57 ± 10 and -32 ± 6 b/min, starting at T_2 and T_8 , respectively). In general, training caused prompt and progressive reduction of vascular Ang II and Ang (1-7) content, maintaining their balance in the different vasculatures, but favoring the reduction of Ang II/Ang (1-7) ratio in the renal arteries of SHR, which highlights the importance of this territory in setting basal pressure levels. The reduction of RAS hyperactivity preceding MAP fall in the SHR and HR reduction in both groups, suggests a possible cause-effect between angiotensins content and pressure levels.

Key words: Vascular Renin Angiotensin System. Hypertension. Aerobic Training

LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1:** Ilustração simplificada da cascata proteolítica de formação e de degradação dos principais peptídeos angiotensinérgicos biologicamente ativos. ECA – enzima conversora de angiotensina; ECA - 2 enzima conversora de angiotensina 2; PEP – prolilendopeptidases; NEP- endopeptidase neutra; PCP – prolilcarboxipeptidase; AT₁ e AT₂ – receptores para angiotensina II; Mas – receptores para angiotensina (1-7).....22
- Figura 2:** Esteira destinada ao treinamento dos ratos WKY e SHR.36
- Figura 3:** Representação do protocolo do teste de esforço máximo escalonado em esteira, demonstrando o padrão de incremento de velocidade em razão do tempo.....37
- Figura 4:** Divisão dos grupos experimentais (SHR e WKY) nos grupos treinados ou sedentários de diferentes tempos (semanas: 0, 1, 2, 4, 8 e 12) ao longo do protocolo experimental.....38
- Figura 5:** Representação esquemática do protocolo de treinamento39
- Figura 6:** Cromatograma representativo do conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em aorta torácica42
- Figura 7:** Alteração sequencial no desempenho em esteira, avaliada através de testes de esforço máximo realizados no início, na 4^a, 8^a e 12^a semanas dos protocolos de treinamento ou sedentarismo em normotensos (WKY) e hipertensos (SHR). Significâncias (P < 0,05) # vs semana 0, † vs controles sedentários, * vs respectivo WKY.....45
- Figura 8:** Efeito do treinamento (T) ou sedentarismo(S) sobre a capacidade física dos animais, aferida como a diferença de desempenho entre as semanas 12 e 0. Significâncias (P < 0,05): # indica ganho significativo, † vs sedentário correspondente.....46
- Figura 9:** Representação gráfica da evolução temporal da PAM em ratos SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias (P<0.05): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.47
- Figura 10:** Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a PAM de WKY e SHR. Significâncias (P<0.05): * vs WKY correspondente; † vs S.....48
- Figura 11:** Representação gráfica da evolução temporal da FC em ratos SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias (P<0.05): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.48
- Figura 12:** Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a FC de WKY e SHR. Significâncias (P<0.05): * vs WKY correspondente; † vs S.....49
- Figura 13:** Conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) nas artérias renais, femorais, carótidas e torácica de ratos WKY e SHR ao início dos protocolos.....50

- Figura 14:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang I em artéria renal de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$) # vs semana 0; * vs WKY correspondente, semana 12 vs semana 0.....52
- Figura 15:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang I em artérias renais de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.53
- Figura 16:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II nas artérias renais de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$) # vs semana 0; * vs WKY correspondente, † semana 12 vs semana 0.54
- Figura 17:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II em artérias renais de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$) * vs WKY correspondente; † vs S.55
- Figura 18:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) em artérias renais de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente, † semana 12 vs semana 0.56
- Figura 19:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em artérias renais de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.57
- Figura 20:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang I em artéria femoral de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.....59
- Figura 21:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre a expressão de Ang I em artéria femoral de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$) * vs WKY correspondente; † vs S.59
- Figura 22:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II em artérias femorais de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.....60
- Figura 23:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II em artérias femorais de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.61
- Figura 24:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) em artérias femorais de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.....62

- Figura 25:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em artérias femorais de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.63
- Figura 26:** Representação gráfica da evolução temporal da expressão de Ang I em artérias carótidas de ratos WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0, * vs WKY correspondente.65
- Figura 27:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang I em artérias carótidas de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.65
- Figura 28:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II em artérias carótidas de WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.66
- Figura 29:** Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II em artérias carótidas de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.67
- Figura 30:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) em artérias carótidas de WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0, * vs WKY.68
- Figura 31:** Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em artéria carótida de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.69
- Figura 32:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang I em aorta torácica de WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0.71
- Figura 33:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre a expressão de Ang I na aorta torácica de WKY e SHR. Significância ($P<0.05$): † vs S.71
- Figura 34:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II na aorta torácica de WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significância ($P<0.05$): # vs semana 0.72
- Figura 35:** Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) na aorta torácica de WKY e SHR. Significâncias ($P<0.05$): † vs S.73
- Figura 36:** Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II na aorta torácica de WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P<0.05$): # vs semana 0, † semana 12 vs semana 0.74

Figura 37: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em aorta torácica de WKY e SHR. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente, † vs S.75

LISTAS DE TABELA

Tabela 1 - Velocidade máxima (em km/h) atingida nos testes de esforço máximo, realizados na semana 0, 4, 8 e 12 dos animais WKY e SHR treinados e sedentários.	44
Tabela 2 - PAM e FC basais de ratos WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.....	47
Tabela 3 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias renais, femorais, carótidas e aorta torácica de WKY e SHR na semana 0.	50
Tabela 4 - Razão entre conteúdo de Ang II/Ang (1-7) em artérias renais, femorais, carótidas e aorta torácica de WKY e SHR na semana 0.	51
Tabela 5 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias renais de WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.	51
Tabela 6 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias femorais de WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas	58
Tabela 7 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias carótidas de WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.	64
Tabela 8 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em aorta torácica de WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.	70
Tabela 9 - Razão Ang II/Ang (1-7) nas artérias renais, femorais carótidas e torácicas referentes a T_0 e T_{12} em WKY e SHR.	75

LISTA DE ABREVIATURAS

Ang (1-7) – angiotensina (1-7)	S ₁₂ – animal sedentário na semana 12
Ang I – angiotensina I	SHR – “spontaneously hypertensive rat”
Ang II – angiotensina II	SRA – sistema renina angiotensina
Aogen – angiotensinogênio	T – treinado
AT ₁ – receptores para Ang II	T ₀ – animal treinado na semana 0
AT ₂ – receptores para Ang II	T ₁ – animal treinado na semana 1
CV – capacitância venosa	T ₂ – animal treinado na semana 2
DAG – diacilglicerol	T ₄ – animal treinado na semana 4
DC – débito cardíaco	T ₈ – animal treinado na semana 8
ECA – enzima conversora de angiotensina	T ₁₂ – animal treinado na semana 12
ECA 2 – enzima conversora de angiotensina II	VO ₂ máx – consumo máximo de oxigênio
FC – frequência cardíaca	WKY – “wistar kioto”
HPLC – cromatografia líquida de alta performance	
IP3 – fosfatidil inositol trifosfato	
Km/h – quilômetros por hora	
Mas – receptores para Ang (1-7)	
mmHg – milímetros de mercúrio	
NEP – endopeptidase neutra	
NTS – núcleo do trato solitário	
PA – pressão arterial	
PAM – pressão arterial média	
PCP – prolilcarboxipeptidase	
PEP – prolil-endopeptidase	
PKC – proteína quinase C	
RNA _m – ácido ribonucleico mensageiro	
RVP – resistência vascular periférica	
S – sedentário	
S ₀ – animal sedentário na semana 0	

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	19
1.1 Sistema Renina Angiotensina	19
1.2 Sistema Renina Angiotensina Local	22
1.3 Sistema Renina Angiotensina no Controle da Pressão Arterial	25
1.5 Utilização do Exercício Físico no Tratamento da Hipertensão Arterial	30
2 OBJETIVOS	34
3. MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 Animais Experimentais	35
3.2 Protocolo de Treinamento Físico	35
3.3 Registro direto de PA e FC	39
3.4 Coleta dos Tecidos	40
3.5 Quantificação das Angiotensinas	41
3.6 Análise dos resultados	43
4 RESULTADOS	43
4.1 Avaliação da Capacidade Física de WKY e SHR	44
4.2 Efeitos Sequenciais do Treinamento Aeróbio Sobre a PA e FC Basais em WKY e SHR	46
4.3 O Sistema Renina Angiotensina Vascular	49
4.3.1 Valores Basais de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em WKY e SHR	49
4.3.2 Artérias Renais	51
4.3.2.1 Angiotensina I	52
4.3.2.2 Angiotensina II	53
4.3.2.3 Angiotensina (1-7)	55
4.3.3 Artérias Femorais	57
4.3.3.1 Angiotensina I	58
4.3.3.2 Angiotensina II	60
4.3.3.3 Angiotensina (1-7)	61
4.3.4 Artérias Carótidas	63
4.3.4.1 Angiotensina I	64
4.3.4.2 Angiotensina II	66
4.3.4.3 Angiotensina (1-7)	67

4.3.5 Aorta Torácica.	69
4.3.5.1 Angiotensina I	70
4.3.5.2 Angiotensina II	72
4.3.5.3 Angiotensina (1-7)	73
4.3.6 Razão Ang II/Ang (1-7) ao Início e Fim do Treinamento	75
5 DISCUSSÃO	76
6 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A manutenção da pressão arterial (PA) em níveis adequados e relativamente constantes durante toda a vida de um indivíduo é de fundamental importância para garantir adequada perfusão sanguínea aos diferentes tecidos do organismo nas mais variadas condições que vão desde o repouso até o exercício extremo (COWLEY JR, 1992; MONTEIRO e SOBRAL, 2004; PERSSON, 1996).

A PA é resultante da combinação instantânea entre capacitância venosa (CV), débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica (RVP) e qualquer alteração em um e/ou outro desses componentes, interfere nos níveis pressóricos. Nas últimas décadas inúmeras linhas de pesquisas têm buscado um melhor entendimento dos diversos mecanismos que estão envolvidos no controle da PA. Os mecanismos propostos para controle da PA são didaticamente classificados em mecanismos de controle a curto e médio prazo que são ainda classificados em locais, neurais e hormonais. Completando temos também os mecanismos envolvidos no controle a longo prazo da PA como os mecanismo de feedback rim/fluidos corporais, além de fatores estruturais como a neoformação e ou rarefação de vasos (MICHELINI, 2008).

Dentre os mecanismos hormonais de controle da PA, o Sistema Renina Angiotensina (SRA) é de extrema importância, exercendo seus efeitos principalmente através da atuação da angiotensina II (Ang II) e angiotensina (1-7) (Ang (1-7)) (CROWLEY et al., 2006). Em razão de algumas características apresentadas pelo SRA podemos considerá-lo também como um importante mecanismo de controle local da PA (DZAU, 1989; LEE et al., 1993).

1.1 Sistema Renina Angiotensina

O SRA corresponde a um complexo sistema hormonal e tecidual, que desempenha papel importante na manutenção da homeostasia hidroeletrolítica do organismo e no controle da PA. Originalmente, o SRA foi descrito como um sistema hormonal circulante. O principal componente biologicamente ativo do SRA é a Ang II. A formação de Ang II e de outros componentes bioativos do sistema, como a Ang

(1-7) envolve uma série de reações enzimáticas a partir do precursor comum o angiotensinogênio (Aogen) (CROWLEY et al., 2006; DZAU et al., 1988).

O Aogen, uma alfa 2 globulina é produzido pelo fígado, e liberado para a circulação, onde é encontrado em altas concentrações. O Aogen humano é formado por uma sequência de 452 aminoácidos. Diferentes hormônios, incluindo os glicocorticóides, hormônio tireoidiano e a própria Ang II estimulam a síntese de Aogen (BEM-ARI e GARRISON, 1988). Ao ser lançado na circulação, o Aogen sofre ação da renina, uma enzima proteolítica de origem renal, produzida através de uma série de reações enzimáticas nas células justaglomerulares. O produto translacional formado a partir do RNAm é a pré-pró-renina, um composto formado por uma sequência de 406 aminoácidos. No interior do retículo endoplasmático rugoso a sequência pré de 23 aminoácidos é clivada, dando origem a pró-renina. Em seguida nos grânulos secretórios do complexo de Golgi a pró-renina resultante é convertida em renina através da clivagem do pró-segmento N-terminal de 43 aminoácidos (PEART, 1991).

Após sintetizada, a renina é armazenada em grânulos secretórios do aparelho justaglomerular de onde é liberada para a circulação. Três principais estímulos são responsáveis pela liberação de renina: hipoperfusão da arteríola renal aferente, estimulação simpática e redução da carga filtrada de sódio que alcança as células da mácula densa. Uma vez liberada na circulação a renina promove a clivagem do segmento N-terminal do Aogen. Essa interação entre renina e Aogen resulta na formação da Ang I, um decapeptídeo formado pela seguinte sequência de aminoácidos: (Asp1-Arg2-Val3-Tyr4-Ile5-His6-Pro7-Phe8-His9-Leu10) (JAMES e SIELECKI, 1985).

A próxima etapa enzimática desta cascata é catalisada pela enzima conversora de angiotensina (ECA). A ECA promove a remoção do dipeptídeo (His9-Leu10), dando origem a Ang II, um octapeptídeo formado pela seguinte sequência de aminoácidos (Asp1-Arg2-Val3-Tyr4-Ile5-His6-Pro7-Phe8) (SKEGGS et al., 1956; TUNER e HOOPER, 2002). Após formada, a Ang II pode se ligar aos receptores AT₁ ou AT₂, os quais determinam suas ações (TURNER, 2003).

Além da Ang II, outros peptídeos como a angiotensina III (Ang III), angiotensina IV (Ang IV) e Ang (1-7) são gerados por outras vias enzimáticas do

SRA (FERRARIO et al., 1998). De particular interesse, destacamos a Ang (1-7), em razão de suas ações opostas às da Ang II.

A Ang (1-7) é um heptapeptídeo (Asp1-Arg2-Val3-Tyr4-Ile5-His6-Pro7), que pode ser formado por pelo menos três diferentes vias enzimáticas: 1. pela ação das endopeptidases teciduais prolil-endopeptidase (PEP) e endopeptidase neutra (NEP), a Ang I é transformada diretamente em Ang (1-7); 2. uma outra via envolve a participação da ECA 2, um homólogo da ECA recentemente descrita (DONOGHUE et al., 2000), que é responsável pela conversão da Ang I em Ang (1-9), a qual é posteriormente convertida em Ang (1-7) por ação da ECA ou da NEP; 3. a Ang-(1-7) pode também ser formada diretamente a partir da Ang II, por ação da ECA 2 ou das prolilendopeptidases (PEP) ou prolilcarboxipeptidase (PCP) (FERRARIO et al., 1998). A Ang (1-7) tem suas ações biológicas mediadas pelo receptor Mas (SANTOS et al., 2003).

Os receptores AT_1 e AT_2 foram clonados e farmacologicamente caracterizados no início no anos 90 (KAMBAYASHI et al., 1993; MUKOYAMA et al., 1993; MURPHY et al., 1991; SASAKI et al., 1991). Os receptores AT_1 são os principais responsáveis pelas ações da Ang II, sendo encontrados em diversos órgãos e altamente expressos durante toda a vida. Estes apresentam 7 domínios transmembranas e são acoplados a proteínas G. Por outro lado os receptores AT_2 são abundantemente expressos apenas em tecidos fetal, sendo sua expressão muito baixa em tecidos adultos. A identificação dos receptores Mas como receptores para Ang (1-7) foi descrito recentemente em 2003 (SANTOS et al., 2003). Similar aos receptores AT_1 e AT_2 , o receptor Mas é uma proteína com 7 domínios transmembranas acoplada ao sistema de proteínas G.

Pelo exposto observa-se que o SRA apresenta grande complexidade no processo de formação de seus principais componentes bioativos. Na Figura 1 estão representados esquematicamente as principais vias enzimáticas do SRA, contribuindo assim para um melhor entendimento do texto acima.

Figura 1: Ilustração simplificada da cascata proteolítica de formação e de degradação dos principais peptídeos angiotensinérgicos biologicamente ativos. ECA – enzima conversora de angiotensina; ECA - 2 enzima conversora de angiotensina 2; PEP – prolilendopeptidases; NEP- endopeptidase neutra; PCP – prolilcarboxipeptidase; AT₁ e AT₂ – receptores para angiotensina II; Mas – receptores para angiotensina (1-7).

1.2 Sistema Renina Angiotensina Local

Em adição ao clássico SRA circulante, o desenvolvimento de métodos bioquímicos aliados a técnicas modernas de biologia celular e molecular evidenciou a existência de SRA completo e operacional em diferentes tecidos locais como os vasos sanguíneos, o coração, os rins e o cérebro (BADER, 2010; FERRARIO et al., 1997; FERRARIO, 2006).

Em relação ao território vascular, estudos de diferentes autores têm indicado a presença de todos os componentes do SRA, com exceção da renina. A expressão do RNAm para Aogen bem como sua expressão protéica foi detectada no músculo liso vascular e no endotélio (MULLER et al., 1995; NAFTILAN et al., 1991, 1994). A ECA, enzima de grande importância na formação de Ang II encontra-se presente em altas concentrações na adventícia, bem como em cultura de células musculares lisas e endoteliais (DZAU, 1989; EKKER; TRONIK; ROUGEON, 1989; NAFTILAN, 1994).

Em relação a produção local de renina os estudos são ainda controversos; fato conhecido é a presença de receptores pró-renina nas células musculares lisas, as quais intermedeiam a captação de renina a partir da circulação. A presença destes componentes do SRA permite a produção local de Ang II, a qual liga-se preferencialmente a receptores AT₁ (HILGERS et al., 1989; MULLER et al., 1995). A união Ang II/ AT₁ desencadeia vários eventos como o aumento da concentração intracelular de Ca²⁺, responsável pela contração do músculo liso vascular, promovendo assim um aumento do tônus vascular e da pressão arterial (ALLEN; ZHUO; MENDELSON, 2000); além disso observa-se também a produção de espécies reativas de oxigênio que estão envolvidas nos processos de inflamação e hipertrofia vascular (PARAVICINI e TOUYZ, 2008). A presença de Ang (1-7) também já foi demonstrada no leito vascular, a qual agindo via receptores Mas facilita a função endotelial e reduz a PA por aumentar os níveis de NO e diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio (ALENINA et al., 2008; RABELO et al., 2008; SAMPAIO et al., 2007; XU et al., 2008). O processo de formação de Ang (1-7) diretamente a partir da Ang II por ação da ECA 2, tem como importante consequência a degradação da Ang II, de forma que além dos efeitos diretos da Ang (1-7) em potencializar a vasodilatação, também promove indiretamente redução da concentração de Ang II (RENTZCH et al., 2011)

O coração é outro órgão no qual a capacidade de produzir Ang II é conhecida há mais de 20 anos (DZAU et al., 1987; LINDPAINTNER, 1988). Em relação ao Aogen sua expressão foi demonstrada em todas as partes do coração, em cultura de miócitos e em fibroblastos cardíacos (CAMPBELL e HABENER, 1986). A produção local de renina, assim como em outros tecidos, também é bastante questionada (DZAU et al., 1987; ENDO-MOCHIZUKI et al., 1995; PAUL et al., 1988). Acredita-se que a renina encontrada no coração seja de origem sistêmica, captada pelos receptores pró-renina. A produção de ECA foi demonstrada em fibroblastos cardíacos e também em células endoteliais das coronárias (KATWA et al., 1995). É também produzida no coração uma segunda enzima, a quimase, que possui a capacidade de transformar Ang I em Ang II (URATA; STROBEL; GANTEN, 1994). Similar a outros tecidos a ação da Ang II no coração é também mediada por receptores AT₁, constituindo o eixo ECA – Ang II – receptor AT₁. Componentes do eixo ECA 2 - Ang (1-7) - receptor Mas são também encontrados no coração. Dentre

as ações da Ang (1-7) no coração, destacam-se o controle da função contrátil além da proteção contra a hipertrofia cardíaca (SANTOS et al., 2006; YAMAMOTO et al., 2006)

A circulação cerebral apresenta a barreira hematoencefálica, a qual atua evitando o acesso ao sistema nervoso central de substâncias químicas presentes no sangue. A barreira hematoencefálica é impermeável a todos os componentes do SRA presentes na circulação sistêmica; não obstante todos os componentes do SRA são encontrados no cérebro (BADER, 2010), com exceção da renina cuja produção local ainda permanece a controversa. Diversas são as evidências que suportam a existência de um SRA cerebral operante, o qual está envolvido na modulação da homeostase cardiovascular por influenciar a atividade do sistema nervoso autônomo, o eixo hipotálamo-pituitária, e a sensibilidade barorreflexa (AGUILERA e KISS, 1996; AVERILL e DIZ, 2000; DIBONA, 1999; FINK, 1997). Foi demonstrado que o angiotensinogênio, o precursor inicial de toda a casacata do SRA pode ter origem em células astrogliais (CAMPBELL et al., 1984; SERNIA e MOWCHANUK, 1983) e que grandes quantidades deste precursor são encontradas no fluido cerebrospinal (SCHELLING et al., 1980). Apesar da geração local de renina ser controversa (BADER e GANTEN, 2002), duas outras enzimas produzidas no cérebro, a catepsina (KLICKSTEIN; KAEMPFER; WINTROUB, 1982) e a tonina (LOMEZ et al., 2002) são capazes de clivar o angiotensinogênio em Ang I. A conversão de Ang I a Ang II é realizada pela ECA, a qual está presente em todo o cérebro (ALLEN, 2000; ZHUO et al., 1998). Uma vez formada a Ang II atua via receptores AT₁ e AT₂ que são expressos abundantemente no sistema nervoso central (ZHUO et al., 1998). Além destes componentes clássicos do SRA, a ECA2 (XIA e LAZARTIGUES, 2008), o receptor Mas (METZGER et al., 1995) e a Ang (1-7) (SANTOS et al., 2000) também são encontrados no cérebro. Este eixo do SRA propicia aumento da sensibilidade barorreflexa e diminuição do tônus simpático.

O rim é o principal local de produção de renina, a enzima limitante da casacata do SRA (BADER e GANTEN, 2000). A renina é secretada a partir das células justaglomerulares para o interstício renal e para a circulação. RNAm para renina foi também encontrado em células do túbulo proximal (MOE et al., 1993). Identificou-se a produção de angiotensinogênio nas células do túbulo proximal (DARBY e SERNIA, 1995; GOMEZ et al., 1988; INGELFINGER et al., 1990) e a

ECA, necessária a clivagem da Ang I em Ang II, está presente em células endoteliais da vasculatura renal e na membrana basolateral do túbulo proximal (SCHULZ et al., 1988). Receptores AT₁ e AT₂ também encontram-se amplamente distribuídos por todo o rim, podendo ser encontrados nas membranas tubulares luminal e basolateral, células mesangiais, fibroblastos e células musculares lisas dos vasos renais (ALLEN; ZHUO; MENDELSON, 2000; MIYATA et al., 1999). Nos rins também observamos a presença de todos os componentes eixo ECA 2 - Ang (1-7) - receptores Mas. A ação deste eixo na manutenção da homeostasia renal é de grande importância uma vez que camundongos knockouts para receptor Mas exibem hiperfiltração e microalbuminúria (PINHEIRO et al., 2009) e camundongos knockouts para ACE 2 desenvolvem glomerulosclerose e albuminúria já com ano de idade e acelerada nefropatia no diabetes (OUDIT et al., 2006; TIKELLIS et al., 2008; WONG et al., 2007). Outro importante papel da ECA II, já citado anteriormente é a redução local de Ang II paralelo ao aumento da Ang (1-7), cujas ações favorecem a mudança na hemodinâmica renal (REN; GARVIN; CARRETERO, 2002).

1.3 Sistema Renina Angiotensina no Controle da Pressão Arterial

Dentre os mecanismos hormonais de controle da PA o SRA é de extrema importância, exercendo seus efeitos principalmente através da Ang II e da Ang (1-7). Os estudos demonstram que a Ang II promove respostas vasoconstritoras, proliferativas e tróficas. Por outro lado as respostas evocadas pela Ang (1-7) parecem antagonizar os efeitos da Ang II, uma vez que suas ações estão relacionadas à vasodilatação e a efeitos antiproliferativos e antitróficos (MACHADO; SANTOS; ANDRADE, 2000). Estas considerações acerca das ações antagônicas de Ang II vs Ang (1-7) levaram à proposição de que o SRA atua através de 2 eixos: o eixo ECA – Ang II – receptor AT₁ e o eixo ECA 2 – Ang (1-7) – receptor Mas (IWAI e HORIUCHI, 2009). A ocorrência de um desequilíbrio entre Ang II/Ang(1-7), levando ao predomínio do eixo ECA – Ang II – AT₁ e/ou à redução do eixo ECA 2 – Ang (1-7) – Mas, está intimamente relacionada ao aparecimento e progressão das doenças cardiovasculares bem como à aceleração do processo de lesão de órgãos-alvo (SAMPAIO; PINHEIRO; SANTOS, 2009). Sendo assim, uma perfeita sincronia entre esses dois eixos é de fundamental importância para um adequado balanço entre

Ang II/Ang (1-7), de forma a garantir a manutenção da PA dentro dos valores basais, além de evitar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

As ações da Ang II apresentam característica multifásica, uma vez que, elas podem ocorrer imediatamente após a ligação ao receptor, minutos, horas ou até mesmo dias após essa ligação (TOUYZ e SCHIFFRIN, 2000). Uma vez ligada ao seu receptor, a Ang II pode ativar diferentes vias intracelulares que resultam em diferentes respostas. Uma das principais ações vasculares da Ang II é a vasoconstrição arterial. Este é um dos mecanismos de rápida duração mais bem estudados e ocorre da seguinte maneira: a ligação da Ang II com o receptor AT₁ leva à ativação da proteína G; esta por sua vez promove a ativação da fosfolipase-C, a qual cliva o fosfolípido de membrana, fosfatidilinositol, dando origem ao IP3 e ao DAG. O IP3 atua sobre receptores de IP3 localizados no retículo endoplasmático promovendo a ativação de canais de Ca²⁺ de modo a permitir um aumento na concentração intracelular de Ca²⁺, essencial para a contração do músculo liso vascular. O DAG por sua vez ativa a PKC, a qual promove ativação da bomba de Na⁺-H⁺, também contribuindo para o aumento do Ca²⁺ livre (TOUYZ e SCHIFFRIN, 2000).

As crescentes evidências de que a Ang (1-7) apresenta ações opostas a Ang II, despertaram um grande interesse nos pesquisadores em melhor entender as funções desse peptídeo. Os estudos têm demonstrado que a Ang (1-7) promove natriurese, diurese, vasodilatação e inibição da angiogênese e crescimento celular. Sugere-se, portanto, que a Ang (1-7) é um importante peptídeo com propriedades anti-hipertensivas. (GIRONACCI et al., 2004). Importante papel vasodepressor da Ang (1-7) foi demonstrado em diferentes tipos de modelos experimentais de hipertensão e também em humanos hipertensos. Através de mensuração direta da PA, foi observado em ratos SHR que a infusão de Ang (1-7) através de minibombas osmóticas por um período de duas semanas provocou uma diminuição nos níveis da PA sistólica quando comparado a controles normotensos Wistar Kyoto e Sprague-Dawley (BENTER et al., 1995).

Dados na literatura sugerem ainda que essa capacidade vasodilatadora é promovida pela interação entre Ang (1-7) e bradicinina e/ou receptores para bradicinina, apesar de alguns estudos demonstrarem falta de correlação entre eles (GORELIK; CARBINI; SCICLI, 1998; WIDDOP; SAMPEY; JARROT, 1999). Nesta

linha de raciocínio foi demonstrado em anéis pré-contraídos de artérias coronárias de porco que a adição de Ang (1-7) sozinha foi incapaz de promover vasodilatação. Por outro lado a adição de bradicinina promoveu um relaxamento transiente, mesmo com a permanência da bradicinina no banho. Nova adição de bradicinina ao banho, não promoveu resposta vasodilatadora, mas a adição subsequente de Ang (1-7) mais uma vez induziu vasodilatação, que foi bloqueada por antagonista do receptor B2 da bradicinina. Esta sequência de experimentos demonstra uma efetiva interação entre Ang (1-7) e bradicinina (GORELIK; CARBINI; SCICLI, 1998).

Quando infundida, tanto em normotensos como em hipertensos, a bradicinina é capaz de promover uma diminuição na PA dose-dependente em ambos os grupos. No entanto a infusão de Ang (1-7) durante 2 horas não foi capaz de potencializar o efeito da bradicinina no sentido provocar uma maior queda da PA (WIDDOP; SAMPEY; JARROTT, 1999). Apesar da falta de interação entre Ang (1-7) e bradicinina neste estudo, foi demonstrado que 7 dias de infusão continua de Ang (1-7) foi capaz de promover uma queda gradativa nos valores basais de PA (WIDDOP; SAMPEY; JARROTT, 1999).

1.4 Sistema Renina Angiotensina e o Desenvolvimento da Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial, uma síndrome crônica multicausal e multifatorial, é caracterizada pela elevação da PA para valores acima de 140/90 mmHg, considerados como os índices superiores de normalidade da PA sistólica e diastólica respectivamente (CHOBANIAN et al., 2003; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). No quadro 1, estão representados valores de PA sistólica e PA diastólica seguida da classificação, de acordo com a Sociedade Brasileira De Cardiologia (2010).

Quadro 1: Classificação diagnóstica da Hipertensão Arterial.

Classificação da Hipertensão Arterial	
Nível da Pressão Arterial	Classificação
< 120 sistólica e < 80 diastólica	Ideal
< 130 sistólica e < 85 diastólica	Normal
130~139 sistólica ou 86~89 diastólica	Normal-alta
140~159 sistólica ou 90~99 diastólica	Hipertensão Estágio 1
160~179 sistólica ou 100~109 diastólica	Hipertensão Estágio 2
> 110 diastólica ou > 180 sistólica	Hipertensão Estágio 3
Diastólica normal com sistólica > 140	Hipertensão Sistólica Isolada

Fonte: Sociedade Brasileira De Cardiologia Arterial (2010).

Apenas uma pequena porcentagem de hipertensos desenvolvem hipertensão de etiologia conhecida (a chamada hipertensão secundária); para a grande maioria dos hipertensos (entre 90-95%) não existe uma etiologia conhecida, sendo a hipertensão classificada como primária ou essencial (CARRETERO e OPARIL, 2000; HARRAP et al., 1988; WILLIAMS et al., 1994).

A hipertensão arterial é um dos problemas de saúde pública de maior prevalência na população mundial, atingindo um em cada cinco indivíduos com idade superior a 18 anos como verificado por estudos epidemiológicos mundiais (CHOBANIAN et al., 2003). No Brasil, lamentavelmente, a situação não é diferente. Estudos de base populacional realizados em algumas cidades brasileiras mostram uma prevalência de hipertensão variando entre 22% a 44% (FREITAS et al., 2001; GUS et al., 2004; MATOS e LADEIA, 2003). Ainda de acordo com Sociedade Brasileira De Cardiologia (2010), a hipertensão atinge aproximadamente 20% dos adultos e 50% dos indivíduos idosos.

A elevação da PA pode ocasionar ao longo do tempo lesões em vasos e órgãos alvos, muitas vezes assintomáticos, mas que, representam fatores de risco independentes, lineares e contínuos para doença cardiovascular. Dentre as várias doenças associadas à hipertensão decorrentes de lesões em órgãos alvos podemos citar: a arteriosclerose, a doença coronariana crônica, o infarto agudo do miocárdio, a doença arterial periférica, o acidente vascular cerebral, a insuficiência renal, etc. Diferentes "trials" internacionais, assim como dados do Ministério da Saúde no Brasil

tem indicado serem as doenças cardiovasculares a causa de morte mais frequente da população (LOUTZENHISER; BIDANI; CHILTON, 2002; MANCIA e GRASSI, 1998; MUNTNER, ROCCELLA; WHELTON, 2002). Cerca de 40% das mortes dos pacientes hipertensos ocorrem por acidente vascular cerebral e cerca de 25% por doença arterial coronária (CHOBANIAN et al., 2003).

Os SRA plasmático e tecidual desempenham papéis fundamentais na regulação cardiovascular, protegendo o organismo contra quedas da PA e redução da volemia; no entanto, pequenos desajustes para mais de sua atividade podem conduzir à instalação da hipertensão arterial. Têm-se atribuído papel relevante à hiperatividade do SRA na fisiopatologia da hipertensão arterial, bem como em outras patologias cardiovasculares (RIBEIRO e FLORÊNCIO, 2000).

O envolvimento do SRA na gênese e manutenção da hipertensão pode ocorrer por diferentes mecanismos. Trabalhos anteriores de nosso laboratório utilizando o modelo de hipertensão por coarctação subdiafragmática da aorta demonstraram que a elevação da PA foi acompanhada de ativação da Ang II plasmática e tecidual, com intensa depressão do controle reflexo da frequência cardíaca (MICHELINI; OLIVEIRA; SANTOS, 1992; SANTOS et al., 1995). Esta depressão estava também acompanhada por déficit do controle reflexo do simpático periférico (BEZERRA et al., 2001), causado por prejuízo da sinalização aferente pelos barorreceptores, aumento da variabilidade e redução do ganho do nervo depressor aórtico (SANTOS et al., 1998) e prejuízo da integração central ao nível do núcleo do trato solitário (NTS), causando diminuição da sensibilidade baroreflexa (MICHELINI e BONAGAMBA, 1990). Em conjunto estes efeitos determinavam intensa hipertonía simpática à periferia e predomínio simpático sobre a atividade vagal do coração (BEZERRA et al., 2001). Experimentos do nosso laboratório puderam ainda demonstrar que todos estes efeitos observados nos hipertensos eram mediados pela maior disponibilidade de Ang II plasmática e tecidual (e não pela elevação da PA *per se*) porque foram completamente revertidos quando a hipertensão por coarctação se desenvolveu em presença de bloqueio crônico dos receptores AT₁ com o losartan (BEZERRA et al., 2001; SANTOS et al., 1995, 1998).

Além disto, estudos do nosso laboratório confirmaram também que as alterações cardiovasculares observados na hipertensão por coarctação encontravam-se correlacionados com o aumento da expressão de RNAm de Aogen

e do receptor AT_{1a} em áreas bulbares e suprabulbares de controle cardiovascular (SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004) uma vez que tanto os efeitos funcionais quanto o aumento da expressão de RNAm do AT₁ induzidos pela hipertensão foram completamente bloqueados pelo tratamento crônico com losartan (BEZERRA et al., 2001; SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004; SANTOS et al., 1995, 1998). Outra observação importante do laboratório foi a de que a expressão de RNAm para o Aogen cerebral foi significativamente reduzida pelo tratamento crônico com losartan, resultando em hipoatividade de todo o SRA cerebral (SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004).

1.5 Utilização do Exercício Físico no Tratamento da Hipertensão Arterial.

Uma vez estabelecida, a hipertensão arterial não tem cura, o que determina que o tratamento anti-hipertensivo deve ser uma prática contínua. A redução da PA de indivíduos hipertensos incide na diminuição da morbidade e mortalidade e na melhora substancial da qualidade de vida. O tratamento da hipertensão inclui diversas terapias farmacológicas como o uso de diuréticos, vasodilatadores, atenuadores do sistema simpático, bloqueadores de canais de cálcio e os inibidores do SRA, como os inibidores da própria renina e da ECA, além de bloqueadores dos receptores de Ang II (CHOBANIAN et al., 2003). Observações mais recentes têm indicado que além das medidas farmacológicas, o tratamento da hipertensão deve incluir modificações no estilo de vida, dentre as quais podemos destacar a restrição da ingestão de sal e álcool, a perda de peso corporal, e principalmente a realização de atividade física regular (CLÉROUX; FEIDMAN; PETREILA, 1999; CHOBANIAN et al., 2003; PESCATELLO et al., 2004).

Dentre as medidas não farmacológicas para o controle da PA, profissionais da saúde vêm cada vez mais recomendando a prática regular de exercício físico como uma importante conduta no tratamento da hipertensão. Evidências clínicas e experimentais e consensos da literatura têm consistentemente demonstrado a potencialidade do exercício físico aeróbio regular em reduzir os níveis pressóricos (CHOBANIAN et al., 2003; PESCATELLO et al., 2004; WHELTON et al., 2002). Em recente revisão, Cassonato e Polito (2008) levantaram 53 artigos, os quais em sua maioria demonstravam que uma única sessão de exercício aeróbio com duração de

15 a 60 minutos e intensidade em torno de 60% do VO_2 de pico foi capaz de promover redução da PA.

A busca por uma melhor compreensão dos efeitos do exercício físico sobre os níveis de PA vem sendo realizada há várias décadas. Reduções na PA de repouso foram constatadas em sujeitos hipertensos submetidos a treinamento aeróbico durante o período de 6 meses (SEALS e REILING, 1991). Levantamentos epidemiológicos realizados no final da década de 1980 e início década 1990 demonstraram a existência de uma relação inversa entre os níveis de atividade física com a incidência e o grau da hipertensão. Neste sentido, Paffenbarger (1988), ao acompanhar por 6 a 10 anos alunos de Harvard constatou que indivíduos sedentários tinham um risco 35% maior de desenvolver hipertensão quando comparados aos sujeitos que praticavam algum tipo de atividade esportiva. Corroborando estas observações, Blair et al. (1991), demonstraram que indivíduos de baixa aptidão física apresentavam risco relativo de 1,5 maior para incidência de hipertensão, quando comparados a sujeitos com maior aptidão. Em meta análise realizada por Whelton (2002), ficou bem evidenciada a capacidade do exercício físico em promover ajustes benéficos no controle da PA.

No entanto, a magnitude da redução da PA parece ser dependente da intensidade do exercício. Demonstrou-se que o treinamento de baixa intensidade (50 a 60% VO_2 máx) tem grande eficiência em reduzir os níveis de PA, enquanto os exercícios de alta intensidade (>85% VO_2 máx) não se mostram eficientes em promover redução significativa dos níveis pressóricos (GAVA et al., 1995; PESCATELLO et al., 2004; VÉRAS-SILVA et al., 1997).

Trabalhos experimentais e clínicos utilizando o treinamento aeróbico de baixa intensidade têm demonstrado a eficiência desta terapêutica não farmacológica em não só reduzir os níveis tensionais, mas também em reverter/minorar muitos dos déficits cardiovasculares induzidos pela hipertensão (AMARAL et al., 2000, 2001; CHOBANIAN et al., 2003; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003; PESCATELLO et al., 2004; VÉRAS-SILVA et al., 1997).

Embora não sejam conhecidos todos os mecanismos que modulam os efeitos benéficos do treinamento físico em indivíduos hipertensos submetidos a programas de treinamento aeróbico, muitos grupos de pesquisa passaram a estudar os mecanismos envolvidos na resposta adaptativa decorrente do exercício. Neste

sentido, a redução da PA em hipertensos tem sido atribuída a: 1) redução de frequência e débito cardíacos (TIPTON et al., 1999; VERAS-SILVA et al., 1997); 2) normalização da resistência muscular esquelética, a qual contribui para a redução da resistência periférica total (AMARAL et al., 2000, 2001; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003); 3) redução do tônus simpático vascular e da resistência à insulina (MEREDITH et al., 1990; MIKINES et al., 1989; NEGRÃO et al., 1993; PETERSEN et al., 1980); 4) correção do desequilíbrio entre fatores relaxantes e contráteis derivados do endotélio, com predomínio dos primeiros (VANHOUTTE, 1996); 5) o aumento da capacidade física da circulação de territórios exercitados, por angiogênese capilar e/ou neoformação de vênulas (AMARAL et al., 2000, 2001 ; COIMBRA et al., 2008; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003).

É bastante provável que a redução dos níveis pressóricos subsequente ao treinamento físico seja também devida à redução da atividade do SRA plasmático e tecidual dos hipertensos. Nesta linha de raciocínio nosso laboratório demonstrou (FÉLIX e MICHELINI, 2007) que o treinamento aeróbio de baixa intensidade determinava redução significativa da expressão do RNAm de Aogen em áreas de controle cardiovascular (NTS e área postrema), indicando importante redução da hiperatividade do SRA cerebral após treinamento. Interessantemente observou-se que este efeito foi em tudo similar ao observado na expressão do Aogen cerebral de hipertensos tratados com losartan (SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004) sugerindo que o treinamento aeróbio (FÉLIX e MICHELINI, 2007) e o tratamento farmacológico (SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004) foram igualmente eficazes em reduzir a expressão e conseqüentemente a atividade do SRA cerebral, contribuindo desta forma para a queda da PA observada. Klett et al. (2004) também relataram queda de PA associada à redução do Aogen plasmático de SHR após bloqueio do SRA.

Além de nosso laboratório, outros grupos de pesquisa também tem se empenhando em melhor entender a relação entre SRA e exercício físico. Neste sentido, Gomes-Filho et al. (2008) demonstraram em SHR que o treinamento de natação induziu a um seletivo e substancial incremento nos níveis de Ang (1-7), o qual estava associado com aumento no RNAm e expressão protéica de receptores Mas no ventrículo esquerdo. Foi também demonstrado em coelhos com insuficiência cardíaca induzida por aumento mantido da FC (marcapasso), que o treinamento

físico foi capaz de corrigir o desequilíbrio entre ECA e ECA2 promovido pela insuficiência cardíaca (KAR; GAO; ZUCKER, 2010).

Pelo exposto depreende-se que o treinamento aeróbio de baixa intensidade é bastante efetivo em reverter/minorar vários dos mecanismos condicionantes da hipertensão e dentre eles a hiperatividade do SRA. É portanto nossa hipótese de trabalho que o treinamento aeróbio possa alterar a expressão/atividade do SRA tecidual. No entanto com exceção de nosso trabalho relativo aos efeitos do treinamento aeróbio de baixa intensidade sobre redução da atividade do SRA cerebral (FÉLIX e MICHELINI, 2007) e de alguns poucos outros disponíveis na literatura (GOMES-FILHO et al., 2008; KAR; GAO; ZUCKER, 2010), os possíveis efeitos benéficos do treinamento sobre o SRA tecidual em órgãos importantes para o controle cardiovascular como as artérias, os rins e o coração ainda necessitam de maiores esclarecimentos.

2 OBJETIVOS

São objetivos deste projeto avaliar em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e seus controles normotensos (WKY), a sequência temporal de alteração dos componentes do SRA em vasos sanguíneos de ratos durante o desenvolvimento dos protocolos de treinamento aeróbio de baixa intensidade ou sedentarismo. Para atingir os objetivos propostos, utilizamos as seguintes abordagens:

- 1) Avaliar os efeitos seqüenciais do treinamento (semanas 0, 1, 2, 4, 8 e 12) e sedentarismo sobre os valores basais de PA e FC (estudos funcionais);
- 2) Quantificar através da Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) os níveis de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em diferentes leitos arteriais que respondem de forma diferencial ao exercício, como as artérias aorta torácica, renal, femoral e carótida.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais Experimentais

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) machos, com aproximadamente dois meses de idade pesando entre 200-250 g, provenientes do Biotério Central do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB/USP). Metade dos animais de nosso grupo experimental foi composta por ratos normotensos da linhagem Wistar-Kyoto (WKY) e a outra metade por animais hipertensos da linhagem Spontaneously Hypertensive Rats (SHR). Durante todo o período experimental os animais foram alojados em caixas plexigas (cinco por caixa) no Biotério de Manutenção do Departamento de Fisiologia e Biofísica e mantidos em ambiente com temperatura controlada (22 e 23 °C), ciclo claro-escuro (12 horas) e com livre acesso à água e alimentação. Todos os procedimentos cirúrgicos e protocolos foram realizados de acordo com o Manual Institucional para Experimentação Animal e foram aprovados pela comissão de ética em experimentação animal (CEEA) do ICB registrado sob o número 36 nas folhas 68 do livro 2 para uso em animais de experimentação.

3.2 Protocolo de Treinamento Físico.

O protocolo de treinamento físico (corrida) foi realizado em esteira ergométrica (Inbramed, Mellennium) adaptada para ratos Figura 2. A esteira é constituída de 10 (dez) raias de alumínio com tampas de acrílico transparente, pintadas em sua extremidade dianteira de preto, criando um ambiente escuro para o qual os ratos são atraídos durante as sessões de treinamento. Estas modificações facilitam o treinamento dos ratos evitando o uso de choques elétricos.

Figura 2: Esteira destinada ao treinamento dos ratos WKY e SHR.

a) Período de adaptação

Duas semanas iniciais foram destinadas à adaptação dos animais ao protocolo experimental: a primeira semana foi destinada à adaptação ao novo ambiente (Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica), e a segunda ao treinamento na esteira (cinco sessões de 0,4-0,6 km/h, 0% inclinação, 10 minutos/dia). Os animais considerados inaptos a andar/correr na esteira foram excluídos do protocolo.

b) Teste de esforço máximo

A capacidade aeróbia máxima dos animais foi avaliada individualmente e de forma indireta através de protocolo de teste esforço máximo escalonado em esteira ergométrica. O teste constitui-se na avaliação do desempenho aeróbio do rato em esteira ergométrica quantificando-se a velocidade e tempo máximo que cada animal consegue correr até atingir a exaustão. O teste de esforço máximo conforme ilustrado na Figura 3 consistiu em estágios escalonados com duração de 3 minutos cada, com o primeiro estágio iniciando-se à velocidade de 0,3km/h, seguido de incrementos sucessivos de 0,3 km/h a cada 3 minutos. Os estágios prolongavam-se até o ponto de exaustão do animal quando o teste era suspenso. O tempo/velocidade máxima atingidos eram considerados para o cálculo da capacidade aeróbia máxima de exercício.

Figura 3: Representação do protocolo do teste de esforço máximo escalonado em esteira, demonstrando o padrão de incremento da velocidade em razão do tempo

O teste de esforço máximo foi realizado quatro vezes para cada animal durante o protocolo experimental: no início (semana zero) e nas semanas 4, 8 e 12 do treinamento ou sedentarismo. O primeiro teste prestou-se a alocação dos animais aos grupos treinados ou sedentários de maneira que ambos partissem de um mesmo nível de desempenho físico; serviu também para se determinar a intensidade de treinamento. O segundo e terceiro testes tiveram por objetivo identificar a nova capacidade máxima e readequar a intensidade de treinamento; o quarto teste prestou-se a avaliação comparativa dos efeitos do treinamento entre os grupos.

c) Formação dos grupos experimentais:

Com base nos testes de esforço máximo, WKY e SHR foram divididos em dois grupos: sedentários (S) e treinados (T), de modo que ambos os grupos partissem de um mesmo nível de desempenho físico. O grupo S foi acompanhado semanalmente e submetidos aos protocolos experimentais nas semanas 0 (S_0) e 12 (S_{12}), prestando ao controle temporal das variáveis experimentais. Por sua vez o grupo T foi submetido aos protocolos experimentais nas seguintes semanas: T_0 – animais na semana 0; T_1 – animais após 1 semana de treinamento; T_2 – animais após 2 semanas de treinamento; T_4 – animais após 4 semanas de treinamento; T_8 – animais após 8 semanas de treinamento; T_{12} – animais após 12 semanas de treinamento. Considerando-se os grupos WKY e SHR, foram formados, portanto, 14 subgrupos experimentais (Figura 4).

Figura 4: Divisão dos grupos experimentais (SHR e WKY) nos grupos treinados ou sedentários de diferentes tempos (semanas: 0, 1, 2, 4, 8 e 12) ao longo do protocolo experimental

d) Protocolo de treinamento ou sedentarismo:

O protocolo de treinamento físico consistiu em sessões de exercício aeróbio, de baixa intensidade (50 – 60% da intensidade máxima alcançada no teste de esforço) (Figura 5). A intensidade de treinamento foi determinada por uma combinação da velocidade e tempo de exercício, sem inclinação da esteira, de forma a atingir a intensidade estabelecida. A velocidade de treinamento correspondente a 50 – 60% da intensidade máxima, foi corrigida nas semanas 4 e 8 de acordo os testes máximos. Cada sessão teve a duração de uma hora, sendo realizada uma vez por dia, 5 vezes na semana durante o período máximo de 12 semanas. Os animais do protocolo de sedentarismo foram mantidos sedentários por igual período de tempo, ou seja 12 semanas.

Figura 5: Representação esquemática do protocolo de treinamento

3.3 Registro direto de PA e FC

a) Confeção das Cânulas

As cânulas arteriais foram confeccionadas com tubos de Tygon (Critchley, Austrália), sendo a parte proximal a ser introduzida na luz vascular mais fina (diâmetro interno: externo = 0.28:0.61 mm) com 4 cm de extensão, a qual foi soldada, por aquecimento, à parte distal de maior calibre (diâmetro interno: externo = 0.50:1.50 mm) com aproximadamente 17 cm de comprimento. Foram preenchidas com salina e ocluídas com pino de metal.

b) Implantação da Cânula Arterial

Para o processo cirúrgico de implantação da cânula, os ratos foram anestesiados com 100 mg/Kg de Cloridrato de Ketamina e 20 mg/Kg de Cloridrato de Xylasina. Uma incisão foi realizada na região ventral na altura da articulação coxo-femoral, para localização do tronco vâsculo-nervoso e isolamento da artéria femoral onde foi introduzida e fixada a parte mais fina da cânula de Tygon, a qual foi preenchida com solução fisiológica heparinizada (20 UI/ml). A extremidade mais grossa foi exteriorizada através do espaço subcutâneo na região cervical dorsal e fixada com fio de algodão. Após a cirurgia os ratos receberam uma dose profilática de antibiótico (24.000 UI/Kg Pentabiótico Veterinário – Fort Dodge, s.c.) e analgésico (2mg/Kg ketoprofeno – Merial, s.c.) sendo em seguida alocados em caixas individuais, em sala com temperatura, umidade e luminosidade controladas com água e ração ad-libitum, até a realização dos experimentos no dia seguinte.

c) Registro Simultâneo da PA e FC

Todos os registros dos parâmetros funcionais foram realizados com os animais acordados, com livre movimentação e obtidos no mínimo 24 horas após a canulação arterial. A PA (pulsátil e média) foi registrada diretamente na artéria femoral, via cânula implantada na femoral direita, conectada a um transdutor de pressão (Gould P23 XL), acoplado ao pré-amplificador e ao polígrafo (Gould 5900, 8 canais, Cleveland, OH, USA). O sinal analógico do pulso de pressão arterial foi convertido para digital através de uma placa de conversão analógico-digital de 10 bits (Stemtech, Inc., USA), sendo registrado batimento-a-batimento com uma frequência de amostragem de 2000 hertz por canal, através do programa de aquisição de sinais biológicos (WINDAQ™ Waveform Browser, versão 2.19, DataQ Instruments, Inc., Akron, Ohio, USA). A frequência cardíaca (FC) foi obtida a partir da contagem dos pulsos de PA, determinada através do tacógrafo (Biotach, Gould). Para obtenção desses valores, aguardamos o tempo necessário (15-30 min) para o desaparecimento da atividade exploratória do animal. Os registros basais propriamente ditos (± 30 minutos) só foram iniciados após a estabilização dos níveis de PA e FC.

3.4 Coleta dos Tecidos

Após os registros funcionais os animais foram profundamente anestesiados (300 mg/Kg de Cloridrato de Ketamina e 60 mg/Kg de Cloridrato de Xylasina) para a coleta dos tecidos. Imediatamente após a parada respiratória, o tórax foi aberto e o coração exposto para realização de perfusão transcardíaca. Os animais foram perfundidos, via ventrículo esquerdo, com solução salina estéril e tamponada (~ 5 minutos). A perfusão foi realizada sob pressão semelhante à registrada nos animais conscientes. Após a perfusão foram extraídos as seguintes artérias: renais, femorais, carótidas e aorta torácica. Os tecidos foram acondicionados em papel alumínio devidamente identificados e mantidos em gelo seco. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer a -80°C até sua utilização.

3.5 Quantificação das Angiotensinas

Foram quantificadas Ang I, Ang II e Ang (1-7) nas artérias renais, femorais, carótidas e torácicas de SHR e WKY treinados e sedentários. A quantificação das angiotensinas foi realizada a partir de homogenatos destes tecidos utilizando-se da Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC).

Preparação dos Homogenatos:

As amostras foram retiradas do freezer -80 °C onde estavam armazenadas desde a coleta e mantidas em recipiente com gelo seco para se evitar a degradação de proteínas. Em seguida cada amostra foi colocada em um recipiente de cerâmica (cadinho) preenchido com nitrogênio líquido. Com o auxílio de um pistilo com extremidade também feita de cerâmica, as amostras foram manualmente maceradas até se transformarem em pó, o qual foi então recolhido e armazenado em eppendorf devidamente identificado.

A este macerado foi então adicionado um tampão contendo Fosfato de Sódio (0,1 M), Sacarose (0,34 M), Cloreto de Sódio (0,3 M) e inibidores de proteases (Complete Mini, Roche) como recomendado pelo fabricante, de forma a garantir a integridade das proteínas. Na sequência as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a uma velocidade de 10.000 rotações por minuto em centrífuga refrigerada a 4°C. O sobrenadante foi aspirado e transferido para outro eppendorf correspondente. Para garantir a pureza de nossas amostras, este procedimento de centrifugação e aspiração do sobrenadante foi ainda realizado uma segunda vez. Após realizada esta etapa as amostras foram então acondicionadas em gelo para a realização da extração.

a) Extração das Angiotensinas:

A extração das angiotensinas foi realizada em colunas Oasis C₁₈ previamente ativadas com metanol (5 mL), tetrahydrofurano (5 mL), hexano (5 mL), metanol (5 mL) e água (10 mL). Após a ativação, as amostras foram aplicadas nas colunas, lavadas com água e eluídas na mistura etanol/ácido acético/água na proporção 90%/4%/6%. Os eluatos foram então liofilizados, redissolvidos em 500 µL de fase móvel A (5% de acetonitrila em 0,1% de ácido ortofosfórico) e filtrados com membrana 0,22 µm para serem analisados por HPLC.

b) Cromatografia Líquida de Alta Performance:

Os peptídeos foram separados em uma coluna de fase reversa Aquapore ODS 300 (250 x 4,6 mm), 7 μ , utilizando 5 min de gradiente isocrático seguido por 20 minutos de gradiente linear de 5% a 35% de fase móvel B (95% Acetonitrila em ácido trifluoroacético 0,1%), sob um fluxo de 1,5 mL/min por 40 minutos por HPLC.

As angiotensinas de cada amostra foram identificadas, comparando-as com o tempo de retenção das angiotensinas padrão no HPLC e quantificadas com a utilização das respectivas áreas. Na Figura 6 observamos um cromatograma real referente a aorta torácica.

Figura 6: Cromatograma representativo do conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em aorta torácica

Foi realizada a quantificação protéica dos homogenatos utilizando o método descrito por Bradford (1976) (Bio-Rad Protein Assay) sendo usada a albumina sérica bovina como padrão protéico. Os resultados das angiotensinas foram expressos em nmol/g de proteína.

3.6 Análise dos resultados

Os resultados são apresentados como média $\pm$ EPM. O desempenho em esteira foi analisado pela ANOVA de 2 fatores (grupo e condição) para medidas repetidas. Os efeitos do treinamento e do sedentarismo sobre os valores de PA e FC, e sobre o conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) nas artérias renais, carótidas, femorais e aorta torácica de WKY e SHR foram avaliadas pela ANOVA fatorial (fatores grupo e tempo) para as análises seqüenciais. O teste *post hoc* foi o de Fisher LSD. Para estas análises foi utilizado o software SATATISTIC 7.0 (Stat Soft Inc.). O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da Capacidade Física de WKY e SHR

O nível de capacidade física dos animais foi mensurado nos diferentes períodos dos protocolos experimentais através de testes de esforço máximos em esteira ergométrica, possibilitando a identificação das velocidades máximas atingidas, as quais correspondiam ao desempenho dos SHR e WKY nos diferentes tempos experimentais.

Na Tabela 1 apresentamos o desempenho dos animais nos 4 testes de esforço máximo realizados nas semanas 0, 4, 8 e 12. O primeiro teste de esforço já mostrava que o grupo SHR apresentava um nível de desempenho físico superior ao grupo WKY ($P < 0,05$), o que se estendeu até o final dos protocolos. É importante ressaltar que os grupos SHR sedentários e treinados partem de um mesmo nível inicial de capacidade física (SHR treinado: $1,63 \pm 0,03$ Km/h, SHR sedentário: $1,59 \pm 0,05$ Km/h), mesma situação observada para os grupos de WKY (WKY treinado: $1,11 \pm 0,03$ Km/h; WKY sedentário: $1,11 \pm 0,04$ Km/h). Ao longo do treinamento tanto os SHR como os WKY apresentaram aumentos da velocidade máxima atingida, significativas a partir da 4ª semana, alcançando na 12ª semana as seguintes velocidades: (SHR treinado: $2,44 \pm 0,18$ Km/h; WKY treinado: $2,30 \pm 0,11$ Km/h). No grupo WKY sedentário não houve alteração significativa da capacidade máxima entre as semanas 0 e 12 (Tabela 1), mas no grupo SHR sedentário observou-se ligeira redução de desempenho, já aparente na semana 4, que se manteve até a 12ª semana (Tabela 1).

Tabela 1 - Velocidade máxima (em km/h) atingida nos testes de esforço máximo, realizados nas semanas 0, 4, 8 e 12 dos animais SHR e WKY treinados e sedentários.

Teste de esforço	WKY		SHR	
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado
Semana 0	$1,11 \pm 0,04$	$1,11 \pm 0,03$	$1,59 \pm 0,05^*$	$1,63 \pm 0,03^{*\#}$
Semana 4	$1,08 \pm 0,05$	$1,47 \pm 0,04^{\#†}$	$1,25 \pm 0,07^{\#}$	$2,07 \pm 0,07^{*\#†}$
Semana 8	$1,01 \pm 0,07$	$1,85 \pm 0,07^{\#†}$	$1,09 \pm 0,08^{\#}$	$2,34 \pm 0,09^{*\#†}$
Semana 12	$1,01 \pm 0,01$	$2,30 \pm 0,11^{\#†}$	$1,26 \pm 0,10^{\#}$	$2,44 \pm 0,18^{*\#†}$

Valores são médias + EPM. Significâncias ($P < 0,05$): * vs WKY correspondente; # vs semana 0; † sedentário

Na Figura 7 está ilustrada a evolução do desempenho em esteira ao longo dos protocolos nos grupos WKY e SHR. Observa-se que ambos os treinados tiveram desempenho progressivo e paralelo ao longo do treinamento. Por outro lado, o sedentarismo foi acompanhado de inalteração (WKY) ou ligeira redução do desempenho (SHR) observável à partir da quarta semana.

Figura 7: Alteração sequencial do desempenho em esteira, avaliada através de testes de esforço máximo realizados no início, na 4ª, 8ª e 12ª semanas dos protocolos de treinamento ou sedentarismo em ratos SHR e WKY. Significâncias ($P < 0,05$): # vs semana 0, † vs controles sedentários, * vs respectivo WKY.

A partir da diferença entre as velocidades alcançadas na 12ª vs semana zero calculamos o ganho de capacidade física para cada grupo. Observa-se na Figura 8 que houve aumento significativo do desempenho em ambos os grupos treinados (SHR: $+1,00 \pm 0,20$ Km/h e WKY: $+1,10 \pm 0,40$ Km/h) demonstrando a eficiência do treinamento físico. Os WKY sedentários não apresentaram alteração significativa, ($-0,10 \pm 0,06$ Km/h) enquanto que os SHR sedentários apresentaram uma pequena perda de performance: ($-0,30 \pm 0,12$ Km/h). Importante notar que o ganho de desempenho após o treinamento foi similar nos grupos SHR e WKY.

Figura 8: Efeito do treinamento (T) ou sedentarismo(S) sobre a capacidade física dos animais, aferida como a diferença de desempenho entre as semanas 12 e 0. Significâncias ($P < 0,05$): # indica ganho significativo, † vs sedentário correspondente.

4.2 Efeitos Sequenciais do Treinamento Aeróbio Sobre a PA e FC Basais em WKY e SHR

Na Tabela 2 são apresentados os valores absolutos referentes aos níveis de PAM e FC nos grupos SHR e WKY, treinados e sedentários obtidos durante os diferentes tempos experimentais. Durante todo o período analisado os valores de PAM dos SHR foram superiores ao dos WKY. O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência de 12 semanas de sedentarismo sobre os níveis de PAM, são representados na Figura 9 (painéis A e B). O treinamento promoveu queda na PAM dos ratos SHR após 8 semanas, a qual se manteve até a 12^a semana de treinamento (169 ± 3 e 170 ± 2 mmHg respectivamente vs 177 ± 2 mm Hg na semana 0. Figura 9A, Tabela 2). WKY treinados, SHR e WKY sedentários não apresentaram alteração nos níveis de PAM em nenhum dos períodos analisados (Tabela 2).

Após 12 semanas de sedentarismo não foi observado nenhuma alteração nos valores de PAM de WKY e SHR mantidos sedentários (Tabela 2, Figura 9B). Na Figura 10 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre os valores de PAM em ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos os SHR treinados apresentaram níveis de PAM inferiores aos SHR sedentários; nenhuma alteração de PAM foi observada no grupo WKY.

A FC basal também se mostrava mais elevada em SHR vs WKY durante todos os períodos analisados (Tabela 2). O treinamento promoveu bradicardia de repouso em SHR e WKY a partir da T₂ e T₈ respectivamente. Animais mantidos sedentários não apresentaram alterações nos valores de FC

Tabela 2 - PAM e FC basais de ratos WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.

Grupos	PAM (mmHg)		FC basal (bpm)	
	WKY	SHR	WKY	SHR
T ₀	123 ± 1	177 ± 2 *	320 ± 8	379 ± 13 *
T ₁	122 ± 3	179 ± 3 *	323 ± 10	360 ± 7 *
T ₂	121 ± 1	175 ± 2 *	309 ± 8	347 ± 13 [#]
T ₄	122 ± 2	177 ± 2 *	308 ± 9	346 ± 7 [#]
T ₈	122 ± 1	169 ± 3 [#]	287 ± 9 [#]	344 ± 13 [#]
T ₁₂	127 ± 1	170 ± 2 [#] ▲	288 ± 5 [#] ▲	319 ± 18 [#] ▲
S ₀	123 ± 1	177 ± 2*	320 ± 8	379 ± 13*
S ₁₂	125 ± 1	180 ± 2*	313.0 ± 5	373 ± 7*

T₀, T₁, T₂, T₄, T₈ e T₁₂ representam os animais treinados nas semanas 0, 1, 2, 4, 8 e 12 respectivamente; S₀ e S₁₂ representam os animais sedentários nas semanas 0 e 12. Os valores estão apresentados como média ± EPM. Significâncias (P < 0.05): * vs WKY correspondente; # vs T₀; ▲ T₁₂ vs S₁₂.

Figura 9: Representação gráfica da evolução temporal da PAM em ratos SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias (P<0.05): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.

Figura 10: Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a PAM de SHR WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência de 12 semanas de sedentarismo sobre os valores de FC, estão apresentados na Figura 11 (painéis A e B). O treinamento determinou a instalação progressiva da bradicardia de repouso em ambos os grupos, com quedas significativas a partir da 2ª semana nos SHR (- 8% em T_2 , - 9% em T_4 e T_8 e - 16% em T_{12}). Nos WKY, quedas significativas da FC (-10%) foram observadas a partir de T_8 , mantendo-se neste patamar até T_{12} (Tabela 2). Ratos SHR e WKY mantidos sedentários não apresentaram alterações nos níveis de FC (Figura 11B).

Figura 11: Representação gráfica da evolução temporal da FC em ratos SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente.

Na Figura 12 comparamos os efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre os valores de FC em ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos WKY e SHR treinados apresentaram valores de FC inferiores aos dos respectivos controles mantidos sedentários por igual período de tempo. A FC basal de SHR sedentários e treinados manteve-se elevada em relação aos WKY sedentários e treinados, respectivamente.

Figura 12: Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a FC de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3 O Sistema Renina Angiotensina Vascular

4.3.1 Valores Basais de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em WKY e SHR

Na Tabela 3 e Figura 13 estão expressos e comparados os valores relativos à concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em SHR e WKY no início dos protocolos. De um modo geral observa-se nas renais, femorais e carótidas que os níveis de Ang II e Ang I são mais elevados nos SHR enquanto que os de Ang (1-7) são mais reduzidos que os dos WKY. Observa-se também que as concentrações de todos os peptídeos, tanto nos SHR quanto nos WKY são mais elevados nas artérias renais que nos demais segmentos arteriais estudados e que a concentração de Ang II e Ang I nas carótidas de SHR e WKY superam às observadas nas femorais e aorta torácica (Figura 13). Por outro lado há na aorta torácica dos SHR e WKY, maior concentração de Ang (1-7) que as de Ang II e Ang I (Tabela 3, Figura 13).

Tabela 3 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias renais, femorais, carótidas e aorta torácica de SHR e WKY na semana 0.

Artéria	Ang I nmol/g		Ang II nmol/g		Ang (1-7) nmol/g	
	WKY	SHR	WKY	SHR	WKY	SHR
Renal	9,06±1,60 [†]	3,05±0,22 ^{*†}	36,35±2,64 [†]	46,33±2,48 ^{*†}	28,64± 2,38 [†]	11,73±1,40 ^{*†}
Femoral	0,05±0,01	0,22±0,03 ^{*▲}	0,08±0,01	0,21±0,03 ^{*▲}	0,11±0,02 [▲]	0,21±0,02 ^{*▲}
Carótida	0,24±0,03 ^{▲●}	0,28±0,03 [▲]	0,14±0,02 [▲]	0,38±0,04 ^{*▲●}	0,09±0,004 [▲]	0,13±0,02 [▲]
Torácica	0,07±0,02	0,09±0,02	0,05±0,01	0,06±0,01	1,36±0,19	1,07±0,35

Os valores estão apresentados como média ± EPM de 5 amostras por grupo. Significâncias (P < 0.05): * SHR vs WKY correspondente; [†] renal vs femoral, carótida e torácica; ▲ vs torácica; ● vs femoral.

Figura 13: Conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) nas artérias renais, femorais, carótidas e torácica de ratos WKY e SHR ao início dos protocolos. Significâncias (P < 0.05): * SHR vs WKY correspondente; [†] renal vs femoral, carótida e torácica; ▲ vs torácica; ● vs femoral.

O cálculo da proporção de Ang II em relação a proporção de Ang (1-7) em cada um dos segmentos arteriais (Tabela 4) indicado pela razão entre suas concentrações, mostra haver predomínio da Ang II nas artérias renais e carótidas e que esta proporção era respectivamente 3,1 e 1,9 vezes mais elevada nos SHR que seus controles normotensos. Nas femorais e torácicas embora não houvesse predomínio da Ang II, as razões Ang II/Ang (1-7) foram também 1,4 e 1,5 vezes mais elevadas nos SHR (Tabela 4).

Tabela 4 - Razão entre conteúdo de Ang II/Ang (1-7) em artérias renais, femorais, carótidas e aorta torácica de WKY e SHR na semana 0.

Artéria	WKY	SHR
	Razão Ang II/Ang (1-7)	Razão Ang II/Ang
Renal	1,27	3,95
Femoral	0,72	1,00
Carótida	1,56	2,92
Aorta	0,03	0,05

Valores absolutos na Tabela 3

4.3.2 Artérias Renais

Na Tabela 5 são apresentados os valores absolutos referentes à concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias renais de ratos SHR e WKY, treinados e sedentários obtidos durante os diferentes tempos experimentais. Com exceção de Ang I em SHR, o treinamento promoveu redução na concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em todos os demais grupos treinados já no final da 1ª semana. Os níveis de Ang I e Ang (1-7) em WKY e Ang II em WKY e SHR foram reduzidos ao longo das 12 semanas de sedentarismo. No entanto, as reduções de Ang I e Ang (1-7) em WKY e Ang II em SHR treinados foram superiores às quedas observada nos ratos sedentários.

Tabela 5 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias renais de WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.

Grupos	Ang I nmol/g		Ang II nmol/g		Ang (1-7) nmol/g	
	WKY	SHR	WKY	SHR	WKY	SHR
T ₀	9,06±1,60	3,05±0,22*	36,35±2,64	46,33±2,48*	28,64± 2,38	11,73±1,40*
T ₁	5,81±0,98#	1,50±0,13*	28,31±3,54#	22,01±1,54#	17,29± 1,26#	6,82±0,89*#
T ₂	5,41±0,89#	1,35±0,34*	24,53±1,41#	20,69±1,00#	13,22± 1,54#	5,85±1,30*#
T ₄	4,80±1,16#	0,96±0,04*	21,47±2,09#	16,86±0,68#	8,83± 1,42#	4,84±0,32*#
T ₈	3,02±0,50#	0,91±0,13	15,03±2,16#	14,47±1,50#	5,37± 0,71#	5,06±1,08#
T ₁₂	0,95±0,18#▲	0,88±0,24	12,31±1,68#	17,36±4,14#▲	6,40± 1,04#▲	5,66±2,05#
S ₀	9,06±1,60	3,05±0,22*	36,35±2,64	46,33±2,48	28,64± 2,38	11,73±1,40
S ₁₂	5,23±0,99†	1,18±0,35*	21,68±4,01†	32,78±2,67*†	19,73± 1,98†	6,80±1,27*

T₀, T₁, T₂, T₄, T₈ e T₁₂ representam os animais treinados nas semanas 0, 1, 2, 4, 8 e 12 respectivamente; S₀ e S₁₂ representam os animais sedentários nas semanas 0 e 12. Os valores são apresentados como média ± EPM de 5 amostras/tempo por grupo perfazendo um n de 40 WKY e 40 SHR. Significâncias (P < 0.05): * vs WKY correspondente, # vs T₀, ▲ vs S₁₂.

4.3.2.1 Angiotensina I

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência de 12 semanas de sedentarismo sobre a concentração de Ang I em artérias renais de WKY e SHR, são mostrados na Figura 14 (painéis A e B).

A concentração de Ang I em artérias renais no início dos experimentos (Figura 14 A) encontrava-se reduzida em SHR vs WKY (3.05 ± 0.22 vs 9.06 ± 1.60 nmol/g), uma redução de aproximadamente 66%. O treinamento determinou nos WKY reduções progressivas no conteúdo de Ang I: -38% em T₁-T₂, -47% em T₄, -67% em T₈ e -90% em T₁₂ (valores na Tabela 5). Por outro lado, o treinamento não se mostrou eficaz em promover reduções significativas na concentração de Ang I nas artérias renais de ratos SHR. Houve diferenças da concentração de Ang I entre SHR e WKY da semana 0 à semana 4, sem diferenças entre os grupos da 8ª a 12ª semanas (Figura 14).

O sedentarismo determinou redução na concentração de Ang I nas artérias renais apenas em WKY (de 9.06 ± 1.60 nmol/g na semana 0 para 5.23 ± 0.99 nmol/g na semana 12), sem diferenças nos grupos SHR (Figura 14 B).

Figura 14: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang I em artéria renal de WKY e SHR. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$) # vs semana 0; * vs WKY correspondente, semana 12 vs semana 0; • vs semana 1.

Na Figura 15 comparamos o efeito do treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang I em artérias renais de ratos SHR e WKY. A concentração de

Ang I ao final dos protocolos era 72% inferior em WKY treinado vs sedentários (0.95 ± 0.18 vs 5.23 ± 0.99 nmol/g). Não foram observadas diferenças entre SHR treinados vs sedentários (0.88 ± 0.21 vs 1.18 ± 0.35 nmol/g respectivamente). Por outro lado a diferença de concentração de Ang I nas renais de SHR e WKY sedentários estava ausente nos animais após o treinamento.

Figura 15: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang I em artérias renais de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.2.2 Angiotensina II

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang II em artérias renais de WKY e SHR, estão representados na Figura 16 (painéis A e B).

A concentração de Ang II em artérias renais no início dos experimentos (Figura 16 A) era 28% mais elevada em SHR vs WKY (46.36 ± 2.48 vs 36.35 ± 2.64 nmol/g). Após uma semana de treinamento SHR e WKY já apresentavam reduções significativas na concentração de Ang II: 22.01 ± 1.54 nmol/g e 28.31 ± 3.54 nmol/g correspondendo a quedas de 52% e 22%, respectivamente. Em ambos os grupos as quedas foram progressivas ao longo do treinamento atingindo em T₁₂ reduções de 63% e 66% respectivamente (Tabela 5 e Figura 16A). A diferença no conteúdo de Ang II nas artérias renais de SHR e WKY desapareceu após uma semana de treinamento mantendo-se assim até o final do protocolo.

O sedentarismo determinou em ambos os grupos redução do conteúdo de Ang II: de $46,33 \pm 2,48$ para $32,78 \pm 2,67$ nmol/g e de $36,35 \pm 2,64$ para $21,68 \pm 4,01$

nmol/g entre as semanas 0 e 12, correspondendo a quedas de 29% e 40% respectivamente para SHR e WKY (Figura 16 B).

Figura 16: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II nas artérias renais de SHR e WKY. PAINEL A: efeito do treinamento. PAINEL B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente, † semana 12 vs semana 0; ● vs semana 1; α vs semana 2.

Na Figura 17 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang II em artérias renais de ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos os níveis de Ang II encontravam-se reduzidos em 47% nos SHR treinados quando comparados aos SHR mantidos sedentários (17.36 ± 3.74 vs 32.78 ± 2.67 nmol/g respectivamente). Nos WKY treinados vs WKY sedentários houve tendência a redução (-43%) na concentração de Ang II (12.31 ± 1.68 vs 21.68 ± 4.01 nmol/g), mas a diferença não atingiu níveis de significância. A diferença na concentração de Ang II entre SHR e WKY sedentários não foi observada após o treinamento (Figura 17).

Figura 17: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II em artérias renais de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.2.3 Angiotensina (1-7)

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência de 12 semanas de sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) nas artérias renais de ratos WKY e SHR, estão representados na Figura 18 (painéis A e B).

A concentração de Ang (1-7) em artérias renais no início dos experimentos (Figura 18 A) era inferior nos SHR vs WKY em aproximadamente 59% (11.73 ± 1.40 vs 28.64 ± 2.38 nmol/g). SHR e WKY apresentaram já em T_1 reduções significativas de 42% e 40% na concentração de Ang (1-7) em artérias renais. Nos WKY treinados houve redução adicional, atingindo quedas de -80% entre T_8 e T_{12} , enquanto nos SHR treinados a redução de Ang (1-7) estabilizou-se em - 55% entre T_8 e T_{12} (valores na Tabela 5). A diferença entre grupos observada na semana 0 manteve-se até a quarta semana; partir da 8ª semana a concentração de Ang (1-7) foi similar em ambos os grupos treinados (Figura 18 A).

Apenas WKY apresentaram redução (31%) na concentração de Ang (1-7) nas artérias renais ao final de 12 semanas de sedentarismo. Nos SHR o sedentarismo não determinou alterações no conteúdo de Ang (1-7) das artérias renais (Figura 18 B).

Figura 18: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) em artérias renais de SHR e WKY. PAINEL A: efeito do treinamento. PAINEL B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente, † semana 12 vs semana 0; ● vs semana 1; α vs semana 2.

Na Figura 19 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em artérias renais de ratos SHR e WKY.

Ao final dos protocolos os níveis de Ang (1-7) foram 68% inferiores nos WKY treinados vs WKY sedentários (6.40 ± 1.04 vs 19.73 ± 1.98 nmol/g). O conteúdo de Ang (1-7) em SHR treinados não se mostrou alterado em relação aos SHR sedentários (5.66 ± 1.78 vs 6.80 ± 1.27 nmol/g). Desta forma a diferença de concentração de Ang (1-7) em artérias renais observada entre SHR e WKY sedentários estava ausente entre os grupos treinados (Figura 19).

Figura 19: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em artérias renais de WKY e SHR. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.3 Artérias Femorais

Na Tabela 6 são apresentados os valores absolutos referentes à concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias femorais de ratos SHR e WKY, treinados e sedentários obtidos nos diferentes tempos experimentais. O treinamento promoveu já a partir de T_1 e T_2 redução na concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) nos grupos SHR. Em WKY o treinamento promoveu redução na concentração de Ang (1-7) apenas entre T_8 e T_{12} . Observa-se ainda que ratos mantidos sedentários por 12 semanas não apresentaram alteração em nenhum dos 3 peptídeos do SRA analisados.

Tabela 6 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias femorais de WKY e SHR treinados e sedentários ao longo de 12 semanas

Grupos	Ang I nmol/g		Ang II nmol/g		Ang (1-7) nmol/g	
	WKY	SHR	WKY	SHR	WKY	SHR
T ₀	0,054±0,007	0,219±0,026*	0,085±0,009	0,208±0,035*	0,111±0,023	0,205±0,024*
T ₁	0,052±0,010	0,165±0,048*	0,081±0,010	0,157±0,013*#	0,094±0,006	0,129±0,013#
T ₂	0,039±0,004	0,109±0,018*#	0,083±0,011	0,148±0,013*#	0,084±0,012	0,095±0,008#
T ₄	0,036±0,008	0,073±0,011#	0,073±0,008	0,111±0,012*#	0,091±0,013	0,087±0,006#
T ₈	0,031±0,003	0,058±0,012#	0,066±0,006	0,063±0,015#	0,060±0,007#	0,084±0,008#
T ₁₂	0,038±0,002▲	0,071±0,024#▲	0,050±0,009	0,061±0,010#▲	0,048±0,006#▲	0,061±0,009#▲
S ₀	0,054±0,007	0,219±0,026*	0,085±0,009	0,208±0,035*	0,111±0,023	0,205±0,024*
S ₁₂	0,069±0,012	0,222±0,018*	0,088±0,006	0,199±0,024*	0,107±0,009	0,195±0,017*

T₀, T₁, T₂, T₄, T₈ e T₁₂ representam os animais treinados nas semanas 0, 1, 2, 4, 8 e 12 respectivamente; S₀ e S₁₂ representam os animais sedentários nas semanas 0 e 12. Os valores estão apresentados como média ± EPM de 5 amostras/tempo por grupo perfazendo um n de 40 WKY e 40 SHR. Significâncias (P < 0.05): * vs WKY correspondente, # vs T₀, ▲ vs S₁₂.

4.3.3.1 Angiotensina I

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência de 12 semanas de sedentarismo sobre a concentração de Ang I em artérias femorais de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 20 (painéis A e B).

A concentração de Ang I em artérias femorais (Figura 20 A) no início dos experimentos era aproximadamente 4,4 vezes superior em SHR vs WKY (0.22 ± 0.03 e 0.05 ± 0.01 nmol/g respectivamente). Em T₂ houve redução de 50% na concentração de Ang I em SHR com estabilização da redução entre 68% e 73% entre T₄ e T₁₂ (valores na Tabela 6). Por outro lado, o treinamento não se mostrou eficiente em promover redução na concentração de Ang I nos ratos WKY. A maior concentração de Ang I observada nos SHR vs WKY na semana 0 se manteve até a 2ª semana de treinamento; a partir de T₄ não houve diferenças entre os grupos, fato que se manteve até a 12ª semana (Figura 20 A).

O sedentarismo não alterou o conteúdo de Ang I de SHR (0.22 ± 0.03 nmol/g) e WKY (0.05 ± 0.01 nmol/g) que apresentaram valores similares ao final de 12 semanas. Desta forma a maior concentração de Ang I em SHR vs WKY observados na semana 0 se manteve inalterada na semana 12 (Figura 20 B).

Figura 20: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang I em artéria femoral de SHR e WKY. PAINEL A: efeito do treinamento. PAINEL B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente; • vs semana 1.

Na Figura 21 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em artérias femorais de ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos a concentração de Ang I era 68% inferior em SHR treinados (0.07 ± 0.02 nmol/g) comparado ao SHR sedentários (0.22 ± 0.02 nmol/g). Redução de 43% nos níveis de Ang I também foi observada nos WKY treinados (0.04 ± 0.00 nmol/g) vs sedentários (0.07 ± 0.01 nmol/g). Após 12 semanas de treinamento o conteúdo de Ang I era similar entre SHR e WKY.

Figura 21: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre a expressão de Ang I em artéria femoral de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.3.2 Angiotensina II

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang II em artérias femorais de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 22 (painéis A e B).

Os níveis de Ang II em artérias femorais (Figura 22A) no início dos experimentos (semana 0) era 2,6 vezes superior em SHR vs WKY (0.21 ± 0.03 e 0.08 ± 0.01 nmol/g). Em T₁ já se observa redução de 24% na concentração de Ang II dos SHR, a qual continuou caindo até T₈ quando então se estabilizou em 0.06 ± 0.02 nmol/g, correspondendo à redução de 71% (Tabela 6). Por outro lado, o treinamento não se mostrou eficaz em promover redução na concentração de Ang II nos ratos WKY. A maior concentração de Ang II observada nas femorais de SHR vs WKY na semana 0 se manteve até a 4ª semana de treinamento. Entre T₈ e T₁₂ não houve diferenças entre os grupos (Figura 22 A).

O sedentarismo não alterou o conteúdo de Ang II em SHR e WKY (0.21 ± 0.03 e 0.08 ± 0.01 nmol/g) observados na semana 0, cujos valores foram similares ao final das 12 semanas de sedentarismo. Desta forma a maior concentração de Ang I em SHR vs WKY observada na semana 0 permanecia até a semana 12 (Figura 22 B).

Figura 22: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II em artérias femorais de SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente; • vs semana 1; α semana 2.

Na Figura 23 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang II em artérias femorais de ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos os níveis de Ang II eram 70% inferiores nos SHR treinados (0.06 ± 0.01 nmol/g) quando comparados aos SHR mantidos sedentários (0.20 ± 0.02 nmol/g). Nenhuma diferença significativa foi observada na concentração de Ang II entre WKY treinados e sedentários (valores na Tabela 6 e Figura 23). Desta forma a diferença na concentração de Ang II nas femorais de SHR e WKY sedentários não foi mais observada após o treinamento.

Figura 23: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II em artérias femorais de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.3.3 Angiotensina (1-7)

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em artérias femorais de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 24 (painéis A e B).

O conteúdo de Ang (1-7) em artérias femorais (Figura 24 A) no início dos experimentos era 1,9 vezes superior em SHR vs WKY (0.21 ± 0.02 vs 0.11 ± 0.02 nmol/g). Já em T_1 os SHR exibiam redução de 38% na concentração de Ang II com quedas adicionais em T_2 (-57%) e T_{12} (-71%) (valores na Tabela 6). Por sua vez WKY mostraram redução média de 50% no conteúdo de Ang (1-7) entre T_8 e T_{12} (Figura 24 A). Observou-se também que a maior concentração de Ang (1-7) exibidas

pelos SHR vs WKY na semana 0 foi abolida já a partir de T₁, mantendo-se assim até a 12^a semana de treinamento.

O sedentarismo não alterou o conteúdo de Ang (1-7) de SHR (0.21 ± 0.02 nmol/g) e WKY (0.11 ± 0.02 nmol/g) que apresentaram valores similares ao final das 12 semanas. Sendo assim a maior concentração de Ang (1-7) em SHR vs WKY observados na semana 0 manteve-se inalteradas na semana 12 (Figura 24 B).

Figura 24: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) em artérias femorais de SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente; • vs semana 1.

Na Figura 25 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em artérias femorais de ratos SHR e WKY. A concentração de Ang (1-7) ao final de 12 semanas estava 70% inferior em SHR treinado (0.06 ± 0.01 nmol/g) comparado ao SHR sedentário (0.20 ± 0.02 nmol/g). Redução nos níveis de Ang (1-7) (55%) também foram observados nos WKY treinados (0.11 ± 0.02 nmol/g) vs sedentários (0.05 ± 0.01 nmol/g). Desta forma a diferença de concentração de Ang (1-7) nas femorais de SHR e WKY sedentários, não foi mais observada após o treinamento (Figura 25).

Figura 25: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em artérias femorais de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.4 Artérias Carótidas

Na Tabela 7 são apresentados os valores absolutos referentes à concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias carótidas de ratos SHR e WKY, treinados e sedentários obtidos nos diferentes tempos experimentais. O treinamento promoveu redução na concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em todos os ratos já a partir de T_1 e T_2 . Por outro lado, ratos mantidos sedentários por 12 semanas não apresentaram alteração em nenhum dos 3 peptídeos do SRA analisados. Com exceção da Ang II em WKY, os demais ratos após 12 semanas de treinamento apresentaram níveis de Ang I, Ang II e Ang (1-7) inferiores aos respectivos controles mantidos sedentários ($T_{12} \times S_{12}$).

Tabela 7 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em artérias carótidas de SHR e WKY treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.

Grupos	Ang I nmol/g		Ang II nmol/g		Ang (1-7) nmol/g	
	WKY	SHR	WKY	SHR	WKY	SHR
T ₀	0,243±0,025	0,275±0,033	0,139±0,018	0,379±0,036*	0,090±0,004	0,127±0,017*
T ₁	0,191±0,022	0,213±0,025	0,103±0,009	0,283±0,016*#	0,058±0,004#	0,055±0,006#
T ₂	0,154±0,013#	0,162±0,031#	0,091±0,009#	0,240±0,018*#	0,073±0,017	0,050±0,008#
T ₄	0,156±0,019#	0,148±0,027#	0,080±0,009#	0,210±0,015*#	0,047±0,004#	0,044±0,004#
T ₈	0,131±0,010#	0,172±0,019#	0,066±0,008#	0,183±0,007*#	0,039±0,005#	0,036±0,002#
T ₁₂	0,111±0,018#▲	0,141±0,015#▲	0,062±0,006#	0,138±0,017*#▲	0,039±0,004#▲	0,037±0,003#▲
S ₀	0,243±0,025	0,275±0,033	0,139±0,018	0,379±0,036*	0,090±0,004	0,127±0,017*
S ₁₂	0,186±0,015	0,271±0,016*	0,120±0,012	0,331±0,041*	0,089±0,005*	0,107±0,008

T₀, T₁, T₂, T₄, T₈ e T₁₂ representam os animais treinados nas semanas 0, 1, 2, 4, 8 e 12 respectivamente; S₀ e S₁₂ representam os animais sedentários nas semanas 0 e 12. Os valores estão apresentados como média ± EPM de 5 amostras/tempo por grupo perfazendo um n de 40 WKY e 40 SHR. Significâncias (P < 0.05): * vs WKY correspondente, # vs T₀, ▲ vs S₁₂.

4.3.4.1 Angiotensina I

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang I em artérias carótidas de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 26 (painéis A e B).

A concentração de Ang I em artérias carótidas (Figura 26 A) não apresentou diferenças entre os grupos WKY e SHR treinados em nenhum dos períodos analisados. No início dos protocolos (semana 0) a concentração de Ang I em SHR era de 0.28 ± 0.03 nmol/g e em WKY 0.24 ± 0.03 nmol/g. Após uma semana de treinamento ambos os grupos já apresentavam uma forte tendência de redução na concentração de Ang I. A partir de T₂ os níveis de Ang I eram significativamente inferiores a T₀ tanto em SHR como em WKY. Entre T₂ e T₁₂ não houve mudanças significativas na concentração de Ang I. Em T₁₂ as reduções nos níveis de Ang I em SHR e WKY foram de 50% e 55% respectivamente.

O sedentarismo não determinou em SHR e WKY alterações na concentração de Ang I em artérias carótidas. No entanto ao final de 12 semanas os SHR tinham concentração mais elevada que os WKY (Figura 26 B).

Figura 26: Representação gráfica da evolução temporal da expressão de Ang I em artérias carótidas de ratos SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0, * vs WKY correspondente; • vs semana 1.

Na Figura 27 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang I em artérias carótidas de ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos o conteúdo de Ang I em WKY treinado (0.11 ± 0.02 nmol/g) era 42% inferior comparado ao WKY sedentário (0.19 ± 0.02 nmol/g). Da mesma forma os níveis de Ang I nos SHR treinados (0.14 ± 0.02 nmol/g) estavam reduzidos em 48% quando comparados aos SHR sedentários (0.27 ± 0.02 nmol/g). Além disso a diferença na concentração de Ang I entre SHR e WKY sedentários ao final das 12 semanas estava ausente nos grupos submetidos ao treinamento.

Figura 27: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang I em artérias carótidas de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.4.2 Angiotensina II

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang II em artérias carótidas de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 28 (painéis A e B).

A concentração de Ang II em artérias carótidas (Figura 28 A) no início dos experimentos era 2.7 vezes mais elevada em SHR (0.38 ± 0.04 nmol/g) vs WKY (0.14 ± 0.02 nmol/g). Em T₁ os SHR já apresentavam pronunciada redução (26%) na concentração de Ang II, perfil este que persistiu nas semanas 2,4,8 e 12. Ao final da 12ª semana de treinamento a redução no conteúdo total de Ang II foi de 63%, quando os níveis de Ang II em SHR treinados eram de 0.14 ± 0.02 nmol/g. WKY também apresentaram redução significativa na concentração de Ang II (-36%) a partir de T₂ com quedas adicionais (-57%) observadas nas semanas 8 e 12, quando a concentração de Ang II atingiu 0.06 ± 0.01 nmol/g (Tabela 7 e Figura 28 A).

A concentração de Ang II em SHR e WKY não apresentou alteração decorrente do sedentarismo (Figura 27B), ou seja, houve manutenção dos valores observados no início dos protocolos (Tabela 7, Figura 28 B).

Figura 28: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II em artérias carótidas de SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0; * vs WKY correspondente; • vs semana 1; α vs semana 2.

Na Figura 29 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang II em artérias carótidas de ratos SHR e

WKY. Ao final dos protocolos os níveis de Ang II estavam 58% inferiores nos SHR treinados (0.14 ± 0.02 nmol/g) quando comparados aos SHR mantidos sedentários (0.33 ± 0.04 nmol/g). A concentração de Ang II em WKY treinado (0.06 ± 0.01 nmol/g) foi 50% menor comparado ao WKY sedentário (0.12 ± 0.01 nmol/g). A diferença na concentração de Ang II entre SHR e WKY sedentários não foi mais observada entre os grupos treinados.

Figura 29: Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II em artérias carótidas de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.4.3 Angiotensina (1-7)

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em artérias carótidas de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 30 (painéis A e B).

A concentração de Ang (1-7) em artérias carótidas (Figura 30 A) no início do período de treinamento era superior em SHR vs WKY (0.13 ± 0.01 vs 0.09 ± 0.00 nmol/g). Após uma semana de treinamento SHR e WKY já apresentavam reduções na concentração de Ang (1-7) de 62% e 33% respectivamente. Enquanto a concentração de Ang (1-7) dos SHR se manteve relativamente estável entre T_1 e T_{12} (Tabela 7), os níveis de Ang (1-7) em WKY apresentaram redução adicional atingindo queda média de 62% entre as semanas 8 e 12 (Figura 30 A). Portanto a diferença entre grupos observada na semana 0 desaparecia após uma semana de

treinamento e as concentrações de Ang (1-7) permaneceram similares entre grupos até o final do período experimental.

Ratos SHR e WKY mantidos sedentários não apresentaram reduções significativas nos níveis de Ang (1-7) após 12 semanas (Figura 30 B); no entanto a pequena redução na Ang (1-7) em SHR ao final das 12 semanas de sedentarismo (-15%, $p < 0,05$) aboliu a diferença observada entre SHR vs WKY na semana 0.

Figura 30: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) em artérias carótidas de WKY e SHR. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0, * vs WKY; • vs semana 1.

Na Figura 31 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em artérias carótidas de ratos SHR e WKY. A concentração de Ang (1-7) ao final dos protocolos (Figura 31) foi 56% inferior em WKY treinados (0.04 ± 0.00 nmol/g) comparado aos WKY sedentários (0.09 ± 0.00 nmol/g). Níveis de Ang (1-7) nos SHR treinados (0.04 ± 0.00 nmol/g) estavam reduzidos em 64% quando comparados aos SHR sedentários (0.11 ± 0.01 nmol/g) ao fim de 12 semanas. Além disso a diferença na concentração de Ang (1-7) entre SHR e WKY sedentários ao final dos protocolos estava ausente nos animais submetidos ao treinamento.

Figura 31: Efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em artéria carótida de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente; † vs S.

4.3.5 Aorta Torácica

Na Tabela 8 são apresentados os valores absolutos referentes à concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em aorta torácica de ratos SHR e WKY, treinados e sedentários obtidos nos diferentes tempos experimentais. Em nenhum período analisado foram encontradas diferenças na concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) entre WKY e SHR, com exceção de Ang (1-7) entre WKY e SHR sedentários após 12 semanas. O efeito do treinamento em reduzir as concentração dos 3 peptídeos do SRA analisados foi visível em todos os grupos já nas primeiras semanas.

Tabela 8 - Concentração de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em aorta torácica de SHR e WKY treinados e sedentários ao longo de 12 semanas.

Grupos	Ang I nmol/g		Ang II nmol/g		Ang (1-7) nmol/g	
	WKY	SHR	WKY	SHR	WKY	SHR
T ₀	0,067±0,015	0,093±0,018	0,048±0,010	0,056±0,009	1,364±0,186	1,073±0,351
T ₁	0,055±0,004	0,035±0,009#	0,022±0,007#	0,028±0,006#	0,185±0,016#	0,260±0,029#
T ₂	0,041±0,006	0,041±0,013#	0,017±0,003#	0,026±0,005#	0,130±0,030#	0,317±0,073#
T ₄	0,032±0,004#	0,036±0,002#	0,015±0,002#	0,021±0,002#	0,057±0,003#	0,436±0,052#
T ₈	0,029±0,006#	0,033±0,005#	0,016±0,002#	0,020±0,003#	0,075±0,016#	
T ₁₂	0,030±0,003#▲	0,037±0,013#▲	0,014±0,002#▲	0,020±0,007#▲	0,123±0,024#▲	0,135±0,047#
S ₀	0,067±0,015	0,093±0,018	0,048±0,010	0,056±0,009	1,364±0,186	1,073±0,351
S ₁₂	0,071±0,007	0,009±0,009	0,066±0,004	0,051±0,005	0,641±0,128†	0,331±0,110*†

T₀, T₁, T₂, T₄, T₈ e T₁₂ representam os animais treinados nas semanas 0, 1, 2, 4, 8 e 12 respectivamente; S₀ e S₁₂ representam os animais sedentários nas semanas 0 e 12. Os valores estão apresentados como média ± EPM de 5 amostras/tempo por grupo perfazendo um n de 40 WKY e 40 SHR. Significâncias (P < 0.05): * vs WKY correspondente, # vs T₀, ▲ vs S₁₂.

4.3.5.1 Angiotensina I

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang I em aorta torácica de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 32 (painéis A e B).

Os níveis de Ang I em aorta torácica no início dos protocolos experimentais, (Figura 32 A) não diferia entre SHR vs WKY (0.09 ± 0.02 vs 0.07 ± 0.02 nmol/g). Já em T₁ observou-se redução de 56% na concentração de Ang I nos SHR, (0.04 ± 0.01 nmol/g), a qual se manteve inalterada até a 12ª semana de treinamento (Tabela 7). Por outro lado os WKY só exibiram quedas dos níveis de Ang I após 4 semanas de treinamento (0.03 ± 0.00 nmol/g, correspondendo a uma redução de 57%), a qual permaneceu inalterada até T₁₂ (Tabela 8, Figura 31A). Ao longo das 12 semanas de treinamento não houve diferenças na concentração de Ang I entre os grupos.

Não houve diferença no conteúdo de Ang I nas semanas 0 e 12 entre SHR e WKY (valores na Tabela 8 e Figura 32B).

Figura 32: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang I em aorta torácica de SHR e WKY. Painei A: efeito do treinamento. Painei B: efeito do sedentarismo. Significância ($P < 0.05$): # vs semana 0.

Na Figura 33 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang I na aorta torácica de ratos SHR e WKY. Ao final dos protocolos os níveis de Ang I na aorta torácica eram 50% inferiores nos SHR treinados vs sedentários (0.04 ± 0.01 vs 0.08 ± 0.01 nmol/g). A concentração de Ang I na aorta de WKY treinado vs sedentário (0.03 ± 0.00 vs 0.07 ± 0.01 nmol/g) também estava reduzida em 58%. Ao compararmos SHR treinado ou sedentário com WKY treinado ou sedentário nenhuma diferença foi observada.

Figura 33: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre a expressão de Ang I na aorta torácica de SHR e WKY. Significância ($P < 0.05$): † vs S.

4.3.5.2 Angiotensina II

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang II em aorta torácica de ratos WKY e SHR, estão representados na Figura 34 (painéis A e B).

A concentração de Ang II na aorta torácica no início dos protocolos experimentais (Figura 34 A) não diferia entre SHR (0.06 ± 0.01 nmol/g) e WKY (0.05 ± 0.01 nmol/g). Em ambos os grupos houve já a partir de T₁, quedas de 50% em SHR e de 60% em WKY (valores na Tabela 8). Ao longo das 12 semanas de treinamento não houve diferença na concentração de Ang II entre os grupos SHR e WKY.

O conteúdo de Ang II em aortas de SHR (0.06 ± 0.01 nmol/g) e WKY na semana 0 (0.05 ± 0.01 nmol/g), não apresentou alteração decorrente do sedentarismo com inalteração dos valores até o final das 12 semanas. (Figura 34 B).

Figura 34: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang II na aorta torácica de SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significância ($P < 0.05$): # vs semana 0.

Na Figura 35 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang II em aorta torácica de ratos SHR e WKY. Os níveis de Ang II na aorta torácica mostraram-se 60% reduzidos nos SHR treinados vs sedentários (0.02 ± 0.01 vs 0.05 ± 0.00 nmol/g). Também nos WKY treinados houve redução de 86% quando comparados aos sedentários (0.01 ± 0.00

vs 0.07 ± 0.01 nmol/g). Ao compararmos SHR treinado ou sedentário com WKY treinado ou sedentário nenhuma diferença foi observada.

Figura 35: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang II na aorta torácica de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$) † vs S.

4.3.5.3 Angiotensina (1-7)

O efeito sequencial de 12 semanas de treinamento aeróbio bem como a consequência do sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) na aorta torácica de ratos WKY e SHR, são mostrados na Figura 36 (painéis A e B).

A concentração de Ang (1-7) em aorta torácica no início dos experimentos (Figura 36 A) não diferia entre SHR (1.36 ± 0.19 nmol/g) e WKY (1.07 ± 0.35 nmol/g). Já ao término da 1ª semana de treinamento SHR e WKY apresentaram reduções no conteúdo de Ang (1-7): -76% nos SHR e -86% nos WKY. Houve em T_2 e T_4 ligeira flutuação no conteúdo de Ang (1-7) dos SHR (reduções de 70 e 59%), com redução expressiva de 87% em T_{12} (valores na Tabela 8). Nos WKY a queda do conteúdo de Ang (1-7) foi progressiva atingindo reduções de 91% em T_{12} (Tabela 8, Figura 36 A). Ao longo das 12 semanas de treinamento analisadas não houve diferença na concentração de Ang II na aorta torácica entre os grupos WKY e SHR.

Em oposição a Ang I e Ang II e aos demais vasos, o sedentarismo reduziu a concentração de Ang (1-7) tanto nos SHR quanto nos WKY. Nos SHR houve redução de 1.07 ± 0.35 nmol/g na semana 0 para 0.33 ± 0.11 nmol/g na semana 12

e nos WKY houve redução de 1.36 ± 0.19 nmol/g na semana 0 para 0.64 ± 0.13 nmol/g na semana 12 (Figura 36 B).

Figura 36: Representação gráfica da evolução temporal do conteúdo de Ang (1-7) na aorta torácica de SHR e WKY. Painel A: efeito do treinamento. Painel B: efeito do sedentarismo. Significâncias ($P < 0.05$): # vs semana 0, † semana 12 vs semana 0.

Na Figura 37 comparamos o efeito de 12 semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a concentração de Ang (1-7) em aorta torácica de ratos SHR e WKY. O treinamento determinou redução de 81% no conteúdo de Ang (1-7) na aorta torácica WKY treinados (0.12 ± 0.02 nmol/g) quando comparados aos WKY mantidos sedentários (0.64 ± 0.13 nmol/g). A concentração de Ang II na aorta dos SHR treinados também estava reduzida quando comparada aos SHR sedentários (0.33 ± 0.11 vs 0.14 ± 0.05 nmol/g) mas a diferença foi menor e os valores não atingiram níveis de significância.

Figura 37: Comparação dos efeitos do treinamento ou sedentarismo sobre o conteúdo de Ang (1-7) em aorta torácica de SHR e WKY. Significâncias ($P < 0.05$): * vs WKY correspondente, † vs S.

4.3.6 Razão Ang II/Ang (1-7) ao Início e Fim do Treinamento

Na Tabela 9 estão apresentadas as razões de Ang II/Ang (1-7) nos tempos T_0 e T_{12} para os 4 segmentos arteriais analisados nos grupos WKY e SHR. Observa-se haver após o treinamento, aumento da proporção Ang II/Ang (1-7) (aorta torácica de SHR e WKY, na renal e femoral de WKY, e na carótida de SHR), mas redução da proporção Ang II/Ang (1-7) apenas na artéria renal dos SHR. A razão Ang II/Ang (1-7) não foi alterada na carótida de WKY e femoral de SHR.

Tabela 9 - Razão Ang II/Ang (1-7) nas artérias renais, femorais carótidas e torácicas referentes a T_0 e T_{12} em WKY e SHR.

Artéria	Razão Ang II/Ang (1-7) WKY			Razão Ang II/Ang (1-7) SHR		
	T_0	T_{12}	Alteração %	T_0	T_{12}	Alteração %
Renal	1,27	1,92	+51	3,95	3,07	-22
Femoral	0,72	1,00	+39	1,00	1,00	0
Carótida	1,56	1,50	0	2,92	3,50	+20
Aorta	0,03	0,08	+166	0,05	0,14	+150

Valores absolutos das concentrações de Ang II e de Ang (1-7) nas Tabelas 5, 6, 7 e 8.

5 DISCUSSÃO

A realização de testes de esforço ao longo dos nossos protocolos experimentais nos permitiu demonstrar a capacidade do treinamento em aumentar similarmente o desempenho físico de WKY e SHR treinados, bem como a manutenção do desempenho nos WKY e sua redução nos SHR mantidos sedentários. Nossos resultados em relação ao desempenho físico dos animais treinados e sedentários reproduzem e confirmam dados de trabalhos anteriores do laboratório (FELIX e MICHELINI, 2007; HIGA-TANAGUCHI; FÉLIX; MICHELINI, 2009; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003). O primeiro teste também demonstrou que os SHR partem de um nível superior de desempenho quando comparados aos controles normotensos. Esta diferença de desempenho pode ser atribuída a fatores comportamentais como a ansiedade (KULIKOV et al., 1997), e/ou locomoção e fuga a estímulos aversivos (RAMOS et al., 1997) características dos SHR. Importante ressaltar que apesar da maior capacidade física dos SHR em relação aos WKY, o ganho observado após 12 semanas de treinamento foi exatamente o mesmo em ambos os grupos, demonstrando a similaridade do estímulo aplicado. Em relação aos animais sedentários, SHR apresentaram pequeno declínio de desempenho não observado nos WKY, indicando que o sedentarismo para indivíduos hipertensos pode ser mais prejudicial do que para os normotensos.

Também analisamos em SHR e WKY treinados e sedentários, os efeitos do treinamento e sedentarismo sobre os parâmetros hemodinâmicos (PAM e FC). Semelhante a trabalhos anteriores, os valores de PAM obtidos em WKY não apresentaram alterações decorrentes do treinamento ou sedentarismo, permanecendo em torno de 123 ± 2 mmHg, durante todo o período experimental. Por outro lado observou-se que animais SHR quando submetidos ao treinamento aeróbio de baixa intensidade apresentaram reduções dos níveis pressóricos, também reproduzindo observações anteriores (CERONI et al., 2009; FÉLIX e MICHELINI, 2007; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003). Neste sentido SHR treinados apresentaram após 8 semanas de treinamento níveis inferiores de PAM quando comparados aos SHR sedentários.

Os SHR treinados também apresentaram pronunciada bradicardia de repouso, de instalação progressiva, e significativa a partir da 2ª semana de treinamento. Instalação da bradicardia também foi observada nos WKY treinados, apesar de diferença significativa ter sido observado mais tardiamente, a partir da 8ª semana de treinamento. A ocorrência da bradicardia de repouso induzida pelo treinamento físico é um importante índice indicativo da eficácia do treinamento, e já fora observada em estudos anteriores de nosso (AMARAL et al., 2000, 2001; CERONI et al., 2009; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003; HIGA-TANAGUCHI; FÉLIX; MICHELINI, 2009; FELIX e MICHELINI, 2007) e outros laboratórios (CORNELISSEN et al., 2010; VÉRAS e SILVA, 1997). A novidade do presente estudo é que enquanto todos os demais trabalhos quantificaram a bradicardia de repouso ao final do treinamento, nossa análise ao longo do protocolo nos permitiu identificar o momento de sua instalação (mais precoce nos SHR) o padrão progressivo, bem como comparar sua magnitude em ambos os grupos durante o treinamento.

A bradicardia de repouso decorrente do treinamento aeróbio tem sido atribuída a diversos fatores: alteração na atividade intrínseca do nódulo sinoatrial (SA), fatores hemodinâmicos, e neurais. A relação entre redução da frequência cardíaca de repouso e atividade do nódulo sinoatrial foi sugerida como um dos mecanismos envolvidos na bradicardia de repouso, ao se observar redução da frequência intrínseca de marcapasso após 13 semanas de treinamento aeróbio de baixa intensidade (BOYETT, 2009; NEGRAO et al., 1992). Bradicardia de repouso observada com o treinamento aeróbio também pode ser atribuída a melhora da eficiência contrátil do coração caracterizada pelo aumento do volume sistólico de ejeção, garantindo assim a manutenção do débito cardíaco com FC menor, como já demonstrado por Clausen (1977). Outro importante mecanismo a explicar a bradicardia de repouso são as adaptações neurais autonômicas relacionadas ao treinamento. Estudos de nosso laboratório demonstraram a capacidade do treinamento aeróbio de baixa intensidade em facilitar a modulação ocitocinérgica no complexo solitário-vagal dos indivíduos treinados, favorecendo a redução da FC basal, a qual relaciona-se com alteração do balanço simpato-vagal decorrente do aumento do tônus parassimpático ao coração (HIGA et al., 2002; HIGA-TANAGUCHI; FÉLIX; MICHELINI, 2009; MICHELINI, 2007). Esta adaptação é

decorrente de redução do tônus simpático ao coração (GAVA et al., 1995) e o simultâneo aumento da atividade vagal (HIGA-TANAGUCHI; FÉLIX; MICHELINI, 2009).

Nossos dados demonstraram que o conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) na semana 0 em ratos WKY e SHR é bastante heterogêneo entre os 4 segmentos do leito arterial analisados: há predominância da Ang II nas artérias renais e carótidas, balanço equilibrado entre Ang II e Ang (1-7) nas femorais e predomínio da Ang (1-7) na aorta torácica. A comparação entre SHR e WKY também mostrou concentrações elevadas nos SHR, com razões de 1,5 a 3,1 vezes mais elevadas nos SHR vs respectivos controles. Apesar de estudos anteriores terem demonstrado a expressão intracelular de componentes do SRA em vasos, além de outros órgãos como rins, cérebro e coração (BADER, 2010; FERREIRA et al., 2008; IGASE et al., 2005; RE, 2004; SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004; VARAGIC et al., 2008), não há na literatura nenhum estudo que tenha feito a comparação do conteúdo de Ang I, Ang II e Ang (1-7) entre os diferentes segmentos arteriais.

Uma vez que a Ang I não apresenta ações biológicas conhecidas, servindo principalmente como substrato para a formação de Ang II e Ang (1-7) não nos estenderemos na discussão sobre as alterações observadas no conteúdo deste peptídeo. Vale ressaltar que ao início dos protocolos, nas artérias renais o conteúdo de Ang I era menor em SHR vs WKY indicando uma alta atividade catalítica nos SHR. O fato da concentração de Ang II ser mais elevada e de Ang (1-7) ser mais reduzida nas renais de SHR vs WKY sugere maior atividade catalítica da ECA e predominância do eixo ECA - Ang II – receptor AT_1 , neste segmento arterial. Por outro lado nas artérias femorais a concentração de Ang I era superior em SHR vs WKY, sugerindo uma menor metabolização nos SHR o que pode ser decorrente de uma maior formação de Aogen nos SHR (FÉLIX e MICHELINI, 2007). No entanto ambas Ang II e Ang (1-7) apresentavam-se em maior concentração nos SHR. Nas artérias carótidas e na aorta torácica não houve diferenças nos níveis de Ang I entre WKY vs SHR, mas a formação de Ang II foi maior na carótida dos SHR, sugerindo maior atividade da ECA neste segmento vascular. Por outro lado houve uma maior formação de Ang (1-7) na aorta torácica de SHR e WKY sugerindo maior atividade do eixo ECA 2 – Ang (1-7) – receptor Mas neste vaso de condutância.

Dentre os segmentos arteriais analisados os maiores níveis de Ang II e Ang (1-7) foram encontrados nas artérias renais sugerindo o grande envolvimento do SRA no ajuste do fluxo sanguíneo renal, importante para que os rins possam desempenhar suas funções na regulação da excreção de sódio e água, no balanço hidroeletrólítico do organismo, bem como no controle da PA (KOBORI et al., 2007; NAVAR et al., 2011; YANG; SMOLDERS; DUPONT, 2011). O elevado conteúdo de Ang II nas carótidas (vs femorais e aorta torácica) também sugere que o SRA possa participar de forma importante no controle do fluxo sanguíneo cerebral. Por outro lado, menor concentração de angiotensinas foi encontrada na aorta torácica, o que acreditamos ser decorrente de suas características estruturais e funcionais uma vez que há predomínio de tecido elástico além de se tratar de um vaso de condutância não necessitando de ajustes de fluxo mais refinados como o observado em outros territórios.

O elevado conteúdo de Ang II nos SHR vs WKY (aumentos de 1,4 a 3,1 vezes na razão Ang II / Ang (1-7) confirmam a estreita relação entre o eixo ECA – Ang II – receptor AT_1 e a hipertensão arterial, uma vez que, já está amplamente difundido na literatura que indivíduos hipertensos com hiperatividade do SRA apresentam uma elevada concentração de Ang II quando comparados aos seus controles normotensos (CROWLEY et al., 2006; YANG; SMOLDERS; DUPONT, 2011). Há uma estreita correlação entre o conteúdo de Ang II e os efeitos vasoconstritores, tróficos e proliferativos que são mediados por receptores AT_1 . Por outro lado a elevada expressão de AT_2 e ou a predominância do eixo ECA 2 – Ang (1-7) – receptor Mas favorece os efeitos vasodilatadores, antiproliferativos e antitróficos (FERRARIO, 2011). O alto conteúdo de Ang II, associado ao menor conteúdo de Ang (1-7) nas artérias renais e carótidas de SHR vs WKY já ao início dos protocolos refletem a predominância do eixo ECA – Ang II – receptor AT_1 e da ação vasoconstritora na vasculatura de hipertensos (CROWLEY et al., 2006; YANG; SMOLDERS; DUPONT, 2011). Nas femorais o maior conteúdo de Ang II nos SHR vs WKY, parece ser compensado pelo elevado conteúdo de Ang (1-7). Se as femorais favorecem a vasoconstrição na hipertensão, com certeza o fazem em menor proporção que as renais. Por outro lado na aorta torácica os níveis de Ang II eram similares entre WKY e SHR, e menores que os de Ang (1-7) sugerindo a predominância do eixo ECA 2 – Ang (1-7) – receptor Mas neste segmento vascular e

reforçando o não envolvimento da aorta com o desenvolvimento/manutenção da hipertensão.

Em conjunto estas observações evidenciam que as artérias renais são entre os segmentos vasculares estudados, as mais importantes no desenvolvimento/manutenção da hipertensão não só por predominância do eixo ECA – Ang II – receptor AT_1 , predispondo a vasoconstrição mas também por controlarem o fluxo sanguíneo renal, a excreção de água e sódio e consequentemente a volemia (NAVAR et al., 2011; KOBORI et al., 2007).

Dado o envolvimento do SRA na hipertensão, inúmeros pesquisadores utilizando-se de abordagens farmacológicas (SANGALETI; CRESCENZI; MICHELINI, 2004) e não farmacológicas (FÉLIX e MICHELINI, 2007; GOMES-FILHO et al., 2008) têm se empenhado na busca de medidas capazes de reduzir a atividade do SRA plasmático e tecidual, trazendo-a de volta para os níveis normais, na expectativa de uma concomitante redução nos níveis de PA. Neste sentido o treinamento aeróbio de baixa intensidade comprovou ser uma estratégia não farmacológica capaz de promover importante redução no conteúdo de angiotensinas no tecido vascular paralelamente à redução da PA e FC. Trabalhos anteriores já haviam mostrado a potencialidade do treinamento em reduzir a atividade/expressão do SRA cerebral (FÉLIX e MICHELINI, 2007) e cardíaco (GOMES-FILHO et al., 2008). No entanto nenhum dos trabalhos anteriores havia comparado a alteração induzida pelo treinamento no SRA em diferentes vasos e nem estudado as alterações sequenciais durante o mesmo. Esta foi a originalidade do presente trabalho.

Com exceção da artéria femoral de WKY, a concentração de Ang II foi significativamente reduzida já ao final da 1ª semana de treinamento tanto nos WKY como nos SHR. Com a continuidade do treinamento houve manutenção (aorta torácica de SHR e WKY, demais vasos dos WKY) ou reduções adicionais (renais, carótidas e femorais dos SHR) do conteúdo de Ang II vascular. A queda nos níveis de Ang II pode ser determinada por redução na atividade enzimática da ECA, passo limitante para a formação de Ang II a partir da Ang I (NUSSBERGER, 2002; PEREIRA et al., 2009). Outra hipótese para a redução do conteúdo de Ang II vascular seria sua metabolização pela ECA 2 para formar Ang (1-7) (VARAGIC et al., 2008), mas em nenhum dos vasos durante o treinamento houve aumento do

conteúdo de Ang (1-7). Ao contrário e similar ao observado para a Ang II, o conteúdo vascular de Ang (1-7) de WKY e SHR foi reduzido pelo treinamento. Esta redução também ocorria precocemente em todos os vasos, a partir da 1ª semana de treinamento, com exceção das artérias femorais de WKY, em que a redução ocorreu somente após 8 semanas. Uma vez que Ang (1-7) pode ser formada a partir de Ang I ou Ang II (VARAGIC et al., 2008), é possível que a redução na concentração de Ang (1-7) esteja relacionada com a redução destes precursores, seja devida à redução da atividade da ECA 2 ou a ambos os fatores.

Em conjunto estas observações nos levam a supor que um dos principais efeitos do treinamento aeróbio sobre o SRA vascular seja a redução da atividade de todo o sistema, causado talvez pela redução do precursor – o angiotensinogênio. Em estudo anterior do laboratório observamos que o treinamento aeróbio causava redução significativa da expressão de RNAm de angiotensinogênio em áreas cerebrais envolvidas com o controle autonômico da circulação (sem alterar a expressão do receptor AT₁) e que esta redução correlacionava-se positivamente com a queda da PA induzida pelo treinamento (FÉLIX e MICHELINI, 2007). Também no modelo de hipertensão por coarctação subdifragmática da aorta observamos que a redução da pressão induzida pelo tratamento crônico com losartan era determinada basicamente pela redução da expressão de RNAm de angiotensinogênio especificamente em áreas cerebrais de controle cardiovascular como o NTS e o DMV, e que esta redução também se encontrava positivamente correlacionada com a queda da pressão arterial induzida pelo losartan (SANGALETI, CRESCENZI; MICHELINI, 2004). A proposição de que o treinamento aeróbio de baixa intensidade reduziria a atividade do SRA vascular por reduzir a expressão/síntese de seu precursor deverá ser confirmada experimentalmente.

Apesar da redução de Ang II e Ang (1-7) terem ocorrido nas 4 artérias analisadas tanto dos WKY como dos SHR, observamos que nas artérias renais dos SHR a redução de Ang (1-7) foi de menor magnitude (valor negativo da razão Ang II/Ang (1-7) na Tabela 9) nos permitindo supor que nas artérias renais de SHR houve durante o treinamento uma maior preservação da atividade do eixo ECA 2 – Ang (1-7) – receptor Mas (FERRARIO, 2011). O aumento da atividade deste eixo do SRA é de extrema importância no tratamento da hipertensão uma vez suas ações relacionam-se a efeitos vasodilatadores, antitróficos e antiproliferativos, as quais

antagonizam os efeitos vasoconstritores, tróficos e proliferativos do eixo ECA – Angio II – receptor AT₁ (FERRARIO, 2011).

Interessantemente, observa-se que durante o treinamento aeróbio a redução das concentrações de Ang II nas renais, carótidas e femorais foram mais intensas nos SHR que nos controles normotensos, determinando que, com exceção das carótidas, a concentração de Ang II nos SHR não mais diferisse daquela apresentada pelos WKY a partir da 1ª semana (renais) ou 8ª semana de treinamento (femorais). Estas observações reforçam a importância do treinamento aeróbio de baixa intensidade em limitar os efeitos do eixo vasoconstritor, trófico e proliferativo do SRA. Por outro lado o treinamento reduziu também o eixo vasodilatador, antitrófico e antiproliferativo, mantendo de certa forma o balanço entre estes dois eixos. Exceção se faça as artérias renais que, como comentado anteriormente, tiveram durante o treinamento uma redução proporcionalmente maior do eixo ECA – Ang II – receptor AT₁.

Interessante observar-se que a rapidez com que o treinamento foi eficaz em reduzir o SRA vascular: alterações significativas foram observadas com 1 – 2 semanas de treinamento na maioria dos vasos ou a partir da 8ª semana em alguns outros. Deve-se ter presente que a PA dos SHR só mostrou queda significativa a partir da 8ª semana de treinamento quando o SRA estava significativamente reduzido em todos os vasos analisados, precedendo portanto a queda da PA. É importante ressaltar que a hipoatividade do SRA vascular não determinava diretamente a queda da PA, uma vez que este efeito também foi observado no grupo WKY sem nenhuma alteração da PA.

Sabe-se que a hiperatividade do SRA plasmático e tecidual nos SHR favorece o remodelamento eutrófico para dentro das artérias/arteríolas tendo como consequência redução no diâmetro da luz do vaso (MULVANY, 1998; RIZZONI et al., 1998), disfunção endotelial resultando em alteração na produção e ação tanto dos fatores relaxantes derivados do endotélio como fatores contráteis derivados do endotélio (FÉLÉTOU; VERBEUREN; VANHOUTTE, 2009; PÚZSEROVÁ; KOPINCOVÁ; BERNÁTOVÁ, 2010), aumento do estresse oxidativo em áreas centrais de controle cardiovascular e vasos (CAVANAGH et al., 2010; TOUYZ e SCHIFFRIN, 2000), o aumento do tônus simpático vascular (SCHLAICH et al., 2004), fatores estes que contribuem para o aumento da resistência vascular e da

PA. Sabe-se também que a redução parcial da PA em SHR treinados depende do remodelamento eutrófico para fora de artérias/arteríolas (MULVANY et al., 2002), redução da razão parede/luz (AMARAL et al., 2000; AMARAL e MICHELINI, 2011; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003), correção da disfunção endotelial gerando uma maior disponibilidade de fatores relaxantes derivados do endotélio (BUUS et al., 2006; FURCHGOTT e VANHOUTTE, 1989; YANG et al., 2011), redução do estresse oxidativo central e periférico (CAVANAGH et al., 2010), da redução do simpático vasoconstritor (MUELLER, 2007) os quais conjuntamente determinavam redução parcial da resistência vascular periférica e PA. Sendo assim, acreditamos que a redução da atividade do SRA vascular (dados do presente trabalho) simultaneamente a redução em outros tecidos (FÉLIX e MICHELINI, 2007; GOMES-FILHO et al., 2008; SANGALETI; CRESECENZI; MICHELINI, 2004) após o treinamento aeróbico esteja modulando a melhora da função endotelial, redução do estresse oxidativo, o remodelamento vascular, a diminuição da atividade nervosa simpática e vasoconstrição, contribuindo para a queda da PAM observada nos SHR subsequente ao treinamento.

6 CONCLUSÕES

Em síntese nossos resultados confirmam a hiperatividade do SRA em SHR, mostrando adicionalmente sua participação relativa nos diferentes vasos (maior nas renais, moderada nas carótidas e bastante reduzida nas femorais e torácicas).

Nossos resultados demonstraram também a potencialidade do treinamento aeróbio de baixa intensidade em reduzir simultaneamente a concentração vascular de Ang II e Ang (1-7), os principais mediadores da atividade do SRA, mantendo o balanço adequado entre o eixo vasoconstritor, trófico e proliferativo e o eixo vasodilatador, antitrófico e antiproliferativo deste sistema nas carótidas, femorais e aorta torácica. Nas artérias renais dos SHR, o treinamento também reduziu ambos os eixos, mas foi proporcionalmente mais intenso na redução do eixo ECA – Ang II – receptor AT_1 .

Ao reduzir precocemente a atividade do SRA vascular, o treinamento aeróbio foi eficaz em se contrapor os efeitos deletérios orquestrados pela hiperatividade do SRA, contribuindo para a queda parcial da pressão arterial nos SHR treinados.

REFERÊNCIAS¹

- AGUILERA, G.; KISS, A. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and vasopressin secretion. Role of angiotensin II. **Adv. Exp. Med. Biol.** v., 396, p. 105–112, 1996.
- ALENINA, N.; XU, P.; RENTZSCH, B.; BADER, M. Genetically altered animal models for Mas and angiotensin- (1–7). **Exp. Physiol.**, v. 93, p. 528–537, 2008.
- ALLEN, A. M.; ZHUO, J.; MENDELSON, F. A. Localization and function of angiotensin AT1 receptors. **Am. J. Hypertens.**, v. 13, p. S31–S38, 2000.
- AMARAL, S. L.; ZORN, T. M. T.; MICHELINI, L. C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, v. 18, n. 11, p. 1563-1572, 2000.
- AMARAL, S. L.; MICHELINI, L. C. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 2011. In press.
- AMARAL, S. L.; SILVEIRA, N. P.; ZORN, T. M. T.; MICHELINI, L. C. Exercise training causes skeletal muscle venular growth and alters hemodynamic responses in spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, v. 19, n. 5, p. 931-940, 2001.
- AVERILL, D. B.; DIZ, D. I. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata. **Brain. Res. Bull.**, v. 51, p. 119–128, 2000.
- BADER, M. Tissue rennin-angiotensin-systems: Targets for pharmacological therapy. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** v. 50, p. 439–465, 2010.
- BADER, M.; GANTEN, D. Editorial: It's renin in the brain. **Circ. Res.**, v. 90, p. 8–10, 2002
- BADER, M.; GANTEN, D. Regulation of renin: new evidence from cultured cells and genetically modified mice. **J. Mol. Med.**, v. 78, p. 130–139, 2000.
- BEN-ARI, E. T.; GARRISON, J. C. Regulation of angiotensinogen mRNA accumulation in rat hepatocytes. **Am. J. P – Endocrinol. Metab.**, v. 255, n. 1, p. E70-E79, 1988.
- BENTER, I. F.; FERRARIO, C. M.; MORRIS, M.; DIZ, D. I. Antihypertensive actions of angiotensin-(1-7) in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 269. n. 1, p. H313-H319, 1995.
- BEZERRA, S. M. M. S.; SANTOS, C. M.; MOREIRA, E. D.; KRIEGER, E. M.; MICHELINI, L. C. Chronic AT1 receptor blockade alters autonomic balance and sympathetic responses in hypertension. **Hypertension**, v. 38, p. 569-575, 2001.

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BOYETT, M. R. 'And the beat goes on.' The cardiac conduction system: the wiring system of the heart. **Exp. Physiol.**, v. 94, n. 10, p. 1035–1049, 2009.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method of quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.**, v. 72, n. 7, p. 248-254, 1976.

BUUS, N. H.; SIMONSEN, U.; PILEGAARD, H. K.; MULVANY, M. J. Intracellular smooth muscle [Ca²⁺] in acetylcholine and nitric oxide-mediated relaxation of human small arteries. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 27, p. 243-247, 2006.

CAMPBELL, D. J.; BOUHNICK, J.; MENARD, J.; CORVOL, P. Identity of angiotensinogen precursors in rat brain and liver. **Nature**, v. 308, p. 206–208, 1984.

CAMPBELL, D. J.; HABENER, J. F. Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. **J. Clin. Invest.**, v. 78, p. 31–39, 1986

CARRETERO, O. A.; OPARIL, S. Essential hypertension - part II: treatment. **Circulation**, v. 101, p. 446-453, 2000.

CASSONATO, J.; POLITO, M. D. Post exercise hypotension: A systematic review. **Rev. Bras. Med. Esp.**, v. 15, n. 2, p. 151–157, 2008.

CAVANAGH, E. M.; FERDER, L. F.; FERDER, M. D.; STELLA, I. Y.; TOBLLI, J. E.; INSERRA, F. Vascular structure and oxidative stress in salt-loaded spontaneously hypertensive rats: effects of losartan and atenolol. **Am. J. Hypertens.**, v. 23, n. 12, p. 1318–1325, 2010.

CERONI, A.; CHAAR, L. J.; BOMBEIN, R. L.; MICHELINI, L. C. Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Exp. Physiol.**, v. 94, n. 6, p. 630 – 640, 2009.

CHOBANIAN, A. V.; BAKRIS, G. L.; BLACK, H. R.; CUSHMAN, W. C.; GREEN, L. A.; IZZO JÚNIOR, J. L.; JONES, D.W.; MATERSON, B. J.; OPARIL, S.; WRIGHT JÚNIOR, J. T.; ROCCELLA, E. J. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, p. 1206-1252, 2003.

CLAUSEN, J. P. Effect of physical training on cardiovascular adjustments to exercise in man. **Physiol Rev.**, v. 57, p. 779-815, 1977.

CLEROUX, J.; FEIDMAN, R. D.; PETREILA, R. J. Life style modifications to prevent and control hypertension. 4. Recommendations on physical exercise training. Canadian Hypertension Society, Canadian Coalition for High Blood Pressure Prevention and Control, Laboratory Centre for Disease Control at Health Canada, Heart and Stroke Foundation of Canada. **Canadian Medical Association Journal**, v. 160, p. S21-28, 1999.

COIMBRA, R.; SANCHEZ, L. S.; POTENZA, J. M.; ROSSONI, L. V.; AMARAL, S. L.; MICHELINI, L. C. Is gender crucial for adjustment induced by exercise training in female spontaneously hypertensive rats? **Hypertension**, v. 52, n. 3, p. 514–521, 2008.

CORNELISSEN, V. A.; GOETSCHALCKX, K.; VERHEYDEN, B.; AUBERT, A. E.; ARNOUT, J.; PERSU, A.; RADEMAKERS, F.; FAGARD, R. H. Effect of endurance training on blood pressure regulation, biomarkers and the heart in subjects at a higher age. **Scand. J. Med. Sci. Sports.**, v. 10, p. 1-9, 2010.

COWLEY Jr, A. W. Long-term control of arterial blood pressure. **Physiological Reviews**, v. 72, n. 1, p. 231-300, 1992.

CROWLEY, S. D.; GURLEY, S. B.; HERRERA, M. J.; RUIZ, P.; GRIFFITHS, R.; KUMAR, A.P.; KIM, H. S.; SMITHIES, O.; LE, T.H.; COFFMAN, T.M. Angiotensin _ causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.103, n. 47, p.17985–17990, 2006.

DARBY, I. A.; SERNIA, C. In situ hybridization and immunohistochemistry of renal angiotensinogen in neonatal and adult rat kidneys. **Cell Tissue Res.**, v. 281, p. 197–206, 1995.

DIBONA, G. F. Central sympathoexcitatory actions of angiotensin II: role of type 1 angiotensin II receptors. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 10, n. 11, p. S90-S94, 1999.

DONOGHUE, M.; HSIEH, F.; BARONAS, E.; GODBOUT, K.; GOSSELIN, M.; STAGLIANO, N.; DONOVAN, M.; WOOLF, B.; ROBISON, K.; JEYASEELAN, R.; BREITBART, R. E.; ACTON, S. A Novel Angiotensin-Converting Enzyme – Related to Angiotensin 1-9. **Circulation Research**, v. 87, p. E1-E9, 2000.

DZAU, V. J. Multiple pathways of angiotensin production in the blood vessel wall: Evidence, possibilities and hypotheses. **J. Hypertens.**, v. 7, p. 933–936. 1989.

DZAU, V. J.; BURT, D. W.; PRATT, R. E. Molecular biology of the renin-angiotensin system. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 255, p. F563-F573, 1988.

DZAU, V. J.; ELLISON, K. E.; BRODY, T.; INGELFINGER, J.; PRATT, R. E. A comparative study of the distributions of renin and angiotensinogen messenger ribonucleic acids in rat and mouse tissues. **Endocrinology**, v. 120, p. 2334-2338, 1987.

DZAU, V.J. Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. **Am. J. Cardiol.**, v. 59, p. 59A–65A, 1987.

EKKER, M.; TRONIK, D.; ROUGEON, F. Extra-renal transcription of the renin genes in multiple tissues of mice and rats. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 86, p. 5155–5158, 1989.

ENDO-MOCHIZUKI, Y.; MOCHIZUKI, N.; SAWA, H.; TAKADA, A.; OKAMOTO, H. Expression of renin and angiotensin-converting enzyme in human hearts. **Heart Vessels**, v. 10, p. 285–293, 1995.

FÉLÉTOU, M.; VERBEUREN, T. J.; VANHOUTTE, P. M. Endothelium-dependent contractions in SHR: a tale of prostanoid TP and IP receptors. **Br. J. Pharmacol.**, v. 156, n. 4, p. 563-574, 2009.

FÉLIX, J. V. C.; MICHELINI, L. C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. **Hypertension**, v. 50, n. 5, p. 780-785, 2007.

FERRARIO, C. M. ACE 2: more Ang (1-7) or less Ang II? **Curr. Op. in Nephrol. and Hyperten.**, v. 20, p. 1–6, 2011.

FERRARIO, C. M. Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7): an evolving story in cardiovascular regulation. **Hypertension**, v. 47, p. 515–521, 2006.

FERRARIO, C. M.; CHAPPELL, M. C.; DEAN, R. H.; IYER, S. N. Novel peptides regulate blood pressure endothelial function, and natriuresis. **Hypertension**, v. 9, p. 1716-1722, 1998.

FERRARIO, C. M.; CHAPPELL, M. C.; TALLANT, E. A.; BROSNIHAN, K. B.; DIZ, D. I. Counterregulatory actions of angiotensin-(1-7). **Hypertension**, v. 30, p. 535–554, 1997.

FERREIRA, J. C. B.; BACURAU, A. V.; EVANGELISTA, F. S.; COELHO, M. A.; OLIVEIRA, E. M.; CASARINI, D. E.; KRIEGER, J. E.; BRUM, P. C. The role of local and systemic renin angiotensin system activation in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 294, n. 1, p. R26-R32, 2008.

FINK, G. D. Long-term sympatho-excitatory effect of angiotensin II: a mechanism of spontaneous and renovascular hypertension. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 24, p. 91–95, 1997.

FREITAS, O. C.; CARVALHO, F. R.; NEVES, J. M.; VELUDO, P. K.; SILVA PARREIRA, R.; GONÇALVES, R. M.; DE LIMA, S. A.; BESTETTI, R. B. Prevalence of hypertension in the urban population of Catanduva, in the State of São Paulo, Brazil. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77, p. 9-21, 2001.

FURCHGOTT, R. F.; VANHOUTTE, P. M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. **FASEB J.**, v. 3, n. 9, p 2007-2018, 1989.

GAVA, N. S.; VERAS-SILVA, A. S.; NEGRAO, C. E.; KRIEGER, E. M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 26, p. 1129-1133, 1995.

GIRONACCI, M. M.; VALERA, M. S.; YUJNOVSKY, I.; PEÑA, C. Angiotensin-(1-7) inhibitory mechanism of norepinephrine release in hypertensive rats. **Hypertension**, v. 44, p. 783-787, 2004.

GOMES-FILHO, A.; FERREIRA, A. J.; SANTOS, S. H. S; NEVES, S. R.; SILVA CAMARGOS, E. R.; BECKER, L. K.; BELCHIOR, H. A.; DIAS-PEIXOTO, M. F.; PINHEIRO, S. V.; SANTOS, R. A. Selective increase of Angiotensin-(1-7) and its receptor in spontaneously hypertensive rat hearts subjected to physical training. **Exp. Physiol.**, v. 93, n. 5, p. 589–598, 2008.

GOMEZ, R. A.; LYNCH, K. R.; CHEVALIER, R. L.; EVERETT, A. D.; JOHNS, D. W. Renin and angiotensinogen gene expression and intrarenal renin distribution during ACE inhibition. **Am. J. Physiol.**, v. 254, p. 900–906, 1988.

GORELIK, G.; CARBINI, L. A.; SCICLI, A. G. Angiotensin 1-7 induces bradykinin-mediated relaxation in porcine coronary artery. **The J. Pharmacol. and Exp. Ther.**, v. 286, n. 1, p. 403-410, 1998.

GUS, I.; HARZHEIM, E.; ZASLAVSKY, C.; MEDINA, C.; GUS, M.; Prevalence, awareness and control of systemic arterial hypertension in the state of Rio Grande do Sul. **Arq Bras Cardiol.**, v. 83, p. 429-433, 2004.

HARRAP, S. B.; CLARK, S. A.; FRASER, R.; TOWRIE, A.; BROWN, A. J.; LEVER, A. F. Effects of sodium intake and aldosterone on the renal pressure-natriuresis. **Am. J. Physiol.**, v. 254, n. 5, p. F697-F703, 1988.

HIGA, K. T.; MORI, E.; VIANA, F. F.; MORRIS, M.; MICHELINI, L. C. Baroreflex control de heart rate by oxytocin in the solitarii vagal complex. American Journal of Physiology – **Reg. Int. and Comp. Physiol.**, v. 282, p. R537-R545, 2002.

HIGA-TANIGUCHI, K. T.; FELIX, J. V. C.; MICHELINI, L. C. Brainstem oxytocinergic modulation of heart rate control in rats: effects of hypertension and exercise training. **Exp. Physiol.**, v. 94, p. 1103-1113, 2009

HILGERS K. F.; KUCZERA, M.; WILHELM, M.J.; WIECEK, A.; RITZ. E. Angiotensin formation in the isolated rat hindlimb. **J. Hypertens.**, v. 7, p. 789–98, 1989.

IGASE, M.; STRAWN, W. B.; GALLAGHER, P. E.; GEARY, R. L.; FERRARIO, C. M. Angiotensin II AT1 receptors regulate ACE2 and angiotensin-(1–7) expression in the aorta of spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 289, n. 3, p. H1013-1019, 2005.

INGELFINGER, J. R.; ZUO, W. M.; FON, E. A.; ELLISON. K. E.; DZAU, V. J. In situ hybridization evidence for angiotensinogen messenger RNA in the rat proximal tubule. An hypothesis for the intrarenal renin angiotensin system. **J. Clin. Invest.**, v. 85, p. 417–423, 1990.

IWAI, M.; HORIUCHI, M. Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis. **Hypertens. Res.**, v. 32, n. 7, p. 533-536, 2009.

JAMES, M. N.; SIELECKI A. R. Stereochemical analysis of peptide bond hydrolysis catalyzed by the aspartic proteinase penicillopepsin. **Biochemistry**, v. 24, p. 3701-3713, 1985.

KAMBAYASHI, Y.; BARDHAN, S.; TAKAHASHI, K.; TSUZUKI, S.; INUI, H.; HAMAKUBO, T.; INAGAMI, T. Molecular cloning of a novel angiotensin II receptor isoform involved in phosphotyrosine phosphatase inhibition. **J. Biol. Chem.**, v. 268, p. 24543-24546, 1993.

KAR, S.; GAO, L.; ZUCKER, I. H. Exercise training normalizes ACE and ACE2 in the brain of rabbits with pacing-induced heart failure. **J. Appl. Physiol.**, v. 108, p. 923-932, 2010.

KATWA, L. C.; RATAJSKA, A.; CLEUTJENS, J. P.; SUN, Y.; ZHOU, G. Angiotensin converting enzyme and kininase-II-like activities in cultured valvular interstitial cells of the rat heart. **Cardiovasc. Res.**, v. 29, p. 57-64, 1995.

KLETT, C. P.; ANDERSON, D.; SHOLOOK, M.; GRANGER, J. P. Antisense oligodeoxynucleotides directed against a novel angiotensinogen mRNA-stabilizing protein reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 287, n. 3, p. R619-R626, 2004.

KLICKSTEIN, L. B.; KAEMPFER, C. E.; WINTROUB, B. U. The granulocyte-angiotensin system. Angiotensin I-converting activity of cathepsin. **J. Biol. Chem.**, v. 257, p. 15042-15046, 1982.

KOBORI, H.; NANGAKU, L. M.; NAVAR, G.; NISHIYAMA, A. The Intrarenal Renin-Angiotensin System: From Physiology to the Pathobiology of Hypertension and Kidney Disease. **Pharmacol. Review.**, v. 59, n. 3, p. 251-287, 2007.

KULIKOV, A.; AGUERRE, S.; BERTON, O.; RAMOS, A.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. Central serotonergic systems in the spontaneously hypertensive and Lewis rat strains that differ in the elevated plus-maze test of anxiety. **The J. Pharmacol. and Exp. Ther.**, v. 281, p. 775-784, 1997.

LEE, M. A.; BOHM, M.; PAUL, M.; GANTEN, D. Tissue Renin-Angiotensin Systems: Their Role in Cardiovascular Disease. **Circulation**, v. 87, p. IV7-IV13, 1993.

LINDPAINTNER, K.; JIN, M.; WILHELM, M. J.; SUZUKI, F.; LINZ, W.; SCHOELKENS, B. A.; GANTEN, D. Intracardiac generation of angiotensin and its physiologic role. **Circulation**, v. 77, p. 18-23, 1988.

LOMEZ, E. S. L.; ARAUJO, R. C.; BADER, M.; PESQUERO, J. B.; PESQUERO, J. L.; Expression and activity of tonin and kallikrein in the brain of transgenic rat line expressing human tissue kallikrein. **Hypertension**, v. 39, p. 229-232, 2002.

LOUTZENHISER, R.; BIDANI, A.; CHILTON, L. Renal myogenic response kinetic attributes and physiological role. **Circ. Res.**, v. 90, p. 1316-1324, 2002.

MACHADO, R. D.; SANTO, S. R. A.; ANDRADE, S. P. Opposing actions of angiotensins on angiogenesis. **Life Sci.**, v. 66, p. 67-76, 2000.

MANCIA, G.; GRASSI, G. Antihypertensive treatment: past, present and future. **J. Hypertens.**, v. 16, n. 1, p. S1-7, 1998.

MATOS, A. C.; LADEIA, A. M. Assessment of Cardiovascular Risk Factors in a Rural Community in the Brazilian State of Bahia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 81, p. 297-302, 2003.

MELO, R. M.; MARTINHO JR, E.; MICHELINI, L. C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: Wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles. **Hypertension**, v. 42, p. 851-857, 2003.

MEREDITH, I. T.; JENNINGS, G. L.; ESTER, M. D.; DEWAR, E. M.; BRUCE, A. M.; FAZIO, V. A. Time course of the antihypertensive and autonomic effects of regular endurance exercise in human subjects. **J. Hypertens.**, v.8, p. 859-866, 1990.

METZGER, R.; BADER, M.; LUDWIG, T.; BERBERICH, C.; BUNNEMANN, B.; GANTEN, D. Expression of the mouse and rat mas proto-oncogene in the brain and peripheral tissues. **FEBS Lett.**, v. 357, p. 27-32, 1995.

MICHELINI, L. C. Differential effects of vasopressinergic and oxytocinergic pre-autonomic neurons on circulatory control: reflex mechanisms and changes during exercise. **Clin. and exp. Pharmacol. and Physiol.**, v. 34, n. 4, p. 369 – 376, 2007.

MICHELINI, L. C. Fisiologia Cardiovascular. In: AIRES, M. M. **Fisiologia**. 3. ed. São Paulo, Brasil, Guanabara Koogan S.A, p. 375-604, 2008.

MICHELINI, L. C.; BONAGAMBA, L. G. H. Angiotensin II as a modulator of baroreceptor reflexes in the brainstem of conscious rats. **Hypertension**, v. 15, p. 45-50, 1990.

MICHELINI, L. C.; OLIVEIRA, M.; SANTOS, M. Baroreceptor reflex control of heart rate during development of coarctation hypertension. **Hypertension**, v. 19, p. II159-II163, 1992.

MICHELINI, L. C.; STERN, J. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. **Exp. Physiol.**, v. 94, n. 9, p. 947-960, 2009.

MIKINES, K. J.; SONNE, B.; FARRELL, P. A.; TRONIER, B.; GALBO, H. Effect of training on the dose-response relationship for insulin action in men. **J. Appl. Physiol.**, v. 66, n. 2, p. 695-703, 1989.

MIYATA, N.; PARK, F.; LI, X.F.; COWLEY JR, A.W. Distribution of angiotensin AT1 and AT2 receptor subtypes in the rat kidney. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.** v. 277, p. F437-F446, 1999.

MOE, O. W.; UJIE, K.; STAR, R. A.; MILLER, R. T.; WIDELL, J. Renin expression in renal proximal tubule. **J. Clin. Invest.**, v. 91; p. 774-779, 1993.

MONTEIRO, M. F.; SOBRAL FILHO, D. C. Exercício físico e o controle da pressão arterial. **Rev. Bras. Med. Esp.**, v.10, p. 513-516, 2004.

- MUKOYAMA, M.; NAKAJIMA, M.; HORIUCHI, M.; SASAMURA, H.; PRATT, R. E.; DZAU, V. J. Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven-transmembrane receptors. **J. Biol. Chem.**, v. 25, p. 24539-24542, 1993.
- MULLER, D. N.; HILGERS, K. F.; BOHLENDER, J.; LIPPOLDT, A; WAGNER, J.; FISCHLI, W.; GANTEN, D.; MANN, J. F. E.; LUFT, F. C. Effects of human renin in the vasculature of rats transgenic for human angiotensinogen. **Hypertension**, v. 26, p. 272–278, 1995.
- MULVANY, M. J. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on vascular remodeling of resistance vessels in hypertensive patients. **Metabolism**, v. 47, p. 20-23, 1998.
- MULVANY, M. J. Small artery remodeling and significance in the development of hypertension. **News Physiol. Sci.**, v. 17, p. 105-109, 2002
- MULVANY, M. J.; BAUMBACH, G. L.; AALKJAER, C.; HEAGERTY, A. M.; KORSGARR, D.; SCHIFFRIN, E. L. Vascular remodeling. **Hypertension**, v. 28, p. 505-506, 1996.
- MUNTNER, P.; ROCCELLA, H. E. J.; WHELTON, P. K. The impact of JNC-VI guidelines on treatments recommendations in the US population. **Hypertension**, v. 30, p. 897-902, 2002.
- MURPHY, T. J.; WAYNE, A. R.; GRIENDLING, K. K.; MARSCHALL, S. R.; BERNSTEIN, K. E. Isolation of a c-DNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor. **Nature**, v. 351, p. 233-236, 1991.
- NAFTILAN, A. J. Role of tissue rennin-angiotensin system in vascular remodeling and smooth muscle cell growth. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v. 3, p. 218-227, 1994.
- NAFTILAN, A. J.; ZHO, W. M.; INGELFINGER, J.; RYAN, T. J.; PRATT, R. E.; DZAU, V. J. Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expression in the vessel wall. **J. Clin. Invest.**, v. 87, p. 1300-1311, 1991.
- NAVAR, L. G.; PRIETO M.C.; SATOU, R.; KOBORI, H. Intrarenal angiotensin II and its contribution to the genesis of chronic hypertension. **Current. Opin. inPharmacol.** v. 11, p. 1-7, 2011.
- NEGRÃO, C. E.; FRIGOYEN, M. C.; MOREIRA, E. D.; BRUM, P. C.; FREIRE, P. M.; KRIEGER, E. M. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. **Am. J. Physiol.**, v. 265, n. 2, p. 365-370, 1993.
- NEGRÃO, C. E.; MOREIRA, E. D.; BRUM, P. C.; DENADAI, M. L. D. R.; KRIEGER, E. M. Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercise-trained rats. **Braz. J. Med. and Biol Res.**, v. 25, p. 1045-52, 1992.

NUSSBERGER, J. Angiotensin II Suppression in Humans by the Orally Active Renin Inhibitor Aliskiren (SPP100): Comparison With Enalapril. **Hypertension**, v. 39, p. 1-8, 2002.

ODUIT, G. Y.; HERZENBERG, A. M.; KASSIRI, Z.; WONG, D.; REICH, H. Loss of angiotensin-converting enzyme-2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis. **Am. J. Pathol.**, v. 168, p. 1808–1820, 2006.

PAFFENBARGER, R. S. Contributions of epidemiology to exercise science and cardiovascular health. **Med. Sci. Sports. Exerc.**, v. 20, n. 5, p. 426–438, 1988.

PARAVICINI, T. M.; TOUYZ, R. M. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. **Diabetes Care**, v. 31, p. S170–S180, 2008

PAUL, M.; WAGNER, D.; METZGER, R.; GANTEN, D.; LANG, R. E. Quantification of renin mRNA in various mouse tissues by a novel solution hybridization assay. **J. Hypertens.**, v. 6, p. 247–252, 1988.

PEART W. S. Evolution of renin. **Hypertension**, v. 18, p. 100-108, 1991.

PEREIRA, M. G.; FERREIRA, J. C. B.; BUENO, C. R.; MATTOS, K. C.; ROSA, K. T.; IRIGOYEN, M. C.; OLIVEIRA, E. M.; KRIEGER, J. E.; BRUM, P. C. Exercise training reduces cardiac angiotensin II levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. **Eur. J. App. Physiol.**, v. 105, p. 843-850, 2009.

PERSSON, P. B. Modulation of cardiovascular control mechanisms and their interaction. **Physiological Reviews**, v. 76, p. 193-244, 1996

PESCATELLO, L. S.; FRANKLIN, B. A.; FAGARD, R.; FARQUAHR, W. B.; KELLEY, G. A.; RAY, C. A. Exercise and Hypertension. **Med. Sci. Sports. Ex.**, v. 35, p. 533-553, 2004.

PETERSEN, O.; BECK-NIELSEN, H.; HEDING, I. Increased Insuline receptors after exercise in patients with insuline dependents Diabetes Mellitus. **N. Engl. J. Med.**, v. 302, p. 886-892, 1980.

PINHEIRO, S. V. B.; FERREIRA, A. J.; KITTEN, G. T.; DA SILVEIRA, K. D.; SILVA, D. A. Genetic deletion of the angiotensin(1–7) receptor Mas leads to glomerular hyperfiltration and microalbuminuria. **Kidney Int.**, v. 75, p. 1184–1193, 2009.

PÚZSEROVÁ, A.; KOPINCOVÁ, J.; BERNÁTOVÁ, I. Endothelial dysfunction in the experimental model of primary hypertension. **Cesk. Fysiol.** v. 59, n. 1, p. 4-14, 2010.

RABELO, L. A.; XU, P.; TODIRAS, M.; SAMPAIO, W. O.; BUTTGEREIT, J. Ablation of angiotensin (1–7) receptor Mas in C57Bl/6 mice causes endothelial dysfunction. **J. Am. Soc. Hypertens.**, v. 2, p. 418–424, 2008.

RAMOS, A.; BERTON, O.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. **Behav. Brain Res.**, v. 85, n. 1, p. 57-69, 1997.

RE, R. N. Mechanisms of disease: local renin-angiotensin-aldosterone systems and the pathogenesis and treatment of cardiovascular disease. **Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.**, v. 1, p. 42–47, 2004.

REN, Y.; GARVIN, J. L.; CARRETERO, O. A. Vasodilator action of angiotensin-(1–7) on isolated rabbit afferent arterioles. **Hypertension**, v. 39, p. 799–802, 2002.

RIBEIRO, J. M.; FLORÊNCIO, L. P. Bloqueio farmacológico do sistema renina angiotensina-aldosterona: inibição da enzima de conversão e antagonismo do receptor AT1. **Rev. Bras. Hipertens.**, v. 3, p. 293–302, 2000.

RIZZONI, D.; PORTERI, E.; CASTELLANO, M.; BETTONI, G.; MUIESAN, M. L.; MULVANY, M. J.; AGABITI, R. E. Effects of losartan and enalapril on small artery structure in hypertensive rats. **Hypertension**, v. 32, n. 2, p. 305–310, 1998.

SAMPAIO, W. O.; DE CASTRO H.; SANTOS, R. A.; SCHIFFRIN, E. L.; TOUYZ, R. M. Angiotensin-(1–7) counterregulates angiotensin II signaling in human endothelial cells. **Hypertension**, v. 50, p. 1093–1098, 2007.

SAMPAIO, W. O.; PINHEIRO, S. V.; SANTOS, R. A. S. Physiological and physiopathological aspects of renin-angiotensin system: focus on the vascular function. **Hypertension**, v. 12, n. 2, p. 42–43, 2009.

SANGALETI, C. T.; CRESCENZI, A.; MICHELINI, L. C. Endogenous angiotensin and pressure modulate brain angiotensinogen and AT1a mRNA expression. **Hypertension**, v. 43, p. 317–323, 2004.

SANTOS, C. M.; MOREIRA, E. D.; KRIEGER, E. M.; MICHELINI, L. C. Chronic AT1 receptor blockade alters aortic nerve activity in hypertension. **Hypertension**, v. 31, p. 937–977, 1998.

SANTOS, C. M.; PONTIERI, V.; LEOMIL NETO, M.; MICHELINI, L. C. Losartan improves baroreflex control of heart rate of coarcted hypertensive rats. **Am. J. Physiol - Heart and Circ. Physiol.**, v. 38, p. H812–H818, 1995.

SANTOS, R. A. S.; SIMOES E SILVA, A. C.; MARIO, C.; SILVA, D. M. R.; MACHADO, R. P.; BUHR, I.; HERINGER-WALTHER, S.; PINHEIRO, S. V. B.; LOPES, M. T.; BADERM, M. E. P.; LEMOS, S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; SCHULTHEISS, H. P.; SPETH, R.; WALTHER, T. Angiotensin-(1–7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 100, n. 14, p. 8258–8263, 2003.

SANTOS, R. A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; ANDRADE, S. P. Angiotensin-(1–7): an update. **Regul. Pept.**, v. 91, p. 45–62, 2000.

SANTOS, R. A.; CASTRO, C. H.; GAVA, E.; PINHEIRO S. V. B.; ALMEIDA, A. P. Impairment of in vitro and in vivo heart function in angiotensin-(1–7) receptor Mas knockout mice. **Hypertension**, v. 47, p. 996–1002, 2006.

SASAKI, K.; YAMANO, Y.; BARDHAN, S.; IWAI, N.; MURRAY, J.J.; HASEGAWA, M.; MATSUDA, Y.; INAGAMI, T. Cloning and expression of a complementary DNA

encoding a bovine adrenal angiotensin II type-I receptor **Nature**, v. 351, p. 230-232, 1991.

SCHELLING, P.; GANTEN, U.; SPONER, G.; UNGER, T.; GANTEN, D. Components of the renin-angiotensin system in the cerebrospinal fluid of rats and dogs with special consideration of the origin and the fate of angiotensin II. **Neuroendocrinology**, v. 31, p. 297–308, 1980.

SCHLAICH, M. P.; LAMBERT, E.; KAYE, D.M.; KROZOWSKI, Z.; CAMPBELL, D. J.; LAMBERT, G.; HASTINGS, J.; AGGARWAL, A.; ESLER, M. D. Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and Angiotensin neuromodulation. **Hypertension**, v. 43, p. 169-175, 2004.

SCHULZ, W. W.; HAGLER, H. K.; BUJA, L. M.; ERDOS, E. G. Ultrastructural localization of angiotensin I - converting enzyme (EC 3.4.15.1) and neutral metalloendopeptidase (EC 3.4.24.11) in the proximal tubule of the human kidney. **Lab. Invest.**, v. 59, p. 789–797, 1988.

SEALS D. R.; REILING, M. J. Effect of regular exercise on 24-hour arterial pressure in older hypertensive humans. **Hypertension**, v. 18, p. 583-592, 1991.

SERNIA, C.; MOWCHANUK, M. D. Brain angiotensinogen: in vitro synthesis and chromatographic characterization. **Brain Res.**, v. 259, p. 275–283, 1983.

SKEGGS Jr, L.T.; LENTZ, K. E.; KAHN J. R.; SHUMWAY, N. P.; WOODS, K. R. The amino acid sequence of hypertensin. II. **J. Exp. Med.**, v. 104, n. 2, p. 193-197, 1956.

Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 95, p. 1-51, 2010.

TIKELLIS, C.; BIALKOWSKI, K.; PETE, J.; SHEEHY, K.; SU, Q. ACE2 deficiency modifies renoprotection afforded by ACE inhibition in experimental diabetes. **Diabetes**, v. 57, p. 1018–1025, 2008.

TIPTON, C. M. Exercise training for treatment of hypertension: a review. **Clin. J. Sports. Med.**, v. 9, p. 104, 1999.

TOUYZ, R. M.; SCHIFFRIN, E. L., Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. **Pharmacology**, v. 52, p. 639-672, 2000.

TURNER, A. J. Exploring the structure and function of zinc metallopeptidases: old enzymes and new discoveries. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 31, p. 723-727, 2003.

TURNER, A. J.; HOOPER, N. M. The angiotensin-converting enzyme gene family: genomics and pharmacology. **Trends in Pharmacol Sci.**, v. 23, p. 177-183, 2002.

URATA, H.; STROBEL, F.; GANTEN, D. Widespread tissue distribution of human chymase. **J. Hypertens.**, v. 12, p. S17–S22, 1994.

VANHOUTTE, P. M. Endothelial dysfunction in hypertension. **J. Hipertens.**, v. 14, p. S83-S93, 1996.

VARAGIC, J.; TRASK, A. J.; JESSUP, J. E.; CHAPPELL, M. C., FERRARIO, C. M. New angiotensins. **J. Mol. Med.**, v. 6, p. 663-671, 2008.

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.**, v.273, p. 2627-2631, 1997.

WHELTON, S. P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann. Intern. Med.**, v. 136, p. 493-503, 2002.

WIDDOP, R. E.; SAMPEY, D. B.; JARROTT, B. Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**, v. 34, p. 964-968, 1999.

WILLIAMS, R. R.; HUNT, S. C.; HOPKIN, S. P. N.; HASSTEDT, S. J.; WU, L. L.; LALOUEL, J. M. Tabulations and expectations regarding the genetics of human hypertension. **Kid. Int. Suppl.**, v. 44, p. S57-64, 1994.

WONG, D. W.; OUDIT, G. Y.; REICH, H.; KASSIRI, Z.; ZHOU, J. Loss of angiotensin-converting enzyme-2 (Ace2) accelerates diabetic kidney injury. **Am. J. Pathol.**, v. 171, p. 438–51, 2007.

XIA, H.; LAZARTIGUES, E. Angiotensin-converting enzyme 2 in the brain: properties and future directions. **J. Neurochem.**, v. 107, p. 1482–1494, 2008.

XU, P.; GONCALVES, A. C. C.; TODIRAS, M.; RABELO, L.A.; SAMPAIO, W.O. Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in Mas gene-deleted mice. **Hypertension**, v. 51, p. 574–580, 2008.

YAMAMOTO, K.; OHISHI, M.; KATSUYA, T.; ITO, N.; IKUSHIMA, M. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II. **Hypertension**, v. 47, p. 718–726, 2006.

YANG, Q.; XUE, H. M.; WONG, W. T.; TIAN, X. Y.; HUANG, Y.; TSUI, S. K.; NG, P. K.; WOHLFART, P.; LI, H.; XIA, N.; TOBIAS, S.; UNDERWOOD, M. J.; HE, G. W. **Br. J. Pharmacol.**, 2011, in press.

YANG, R.; SMOLDERS, I.; DUPONT, A. G. Blood pressure and renal hemodynamic effects of angiotensin fragments. **Hypertens Res.** 2011, in press.

ZHUO, J.; MOELLER, I.; JENKINS, T.; CHAI, S.Y.; ALLEN, A.M. Mapping tissue angiotensin-converting enzyme and angiotensin AT1, AT2 and AT4 receptors. **J. Hypertens.**, v. 16, p. 2027–2037, 1998.