

Efeitos da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre a funcionalidade da barreira hematoencefálica em núcleos de controle autonômico: Mecanismos envolvidos no transporte paracelular e transcelular

Sabe-se que a hipertensão arterial cursa com disfunção autonômica, hipertonia simpática e importante hiperatividade do sistema renina angiotensina plasmático e tecidual, e que esses déficits podem ser corrigidos/reduzidos pelo treinamento físico. Trabalhos recentes demonstraram haver em hipertensos crônicos lesão da barreira hematoencefálica (BHE) em áreas de controle autonômico, com acesso da angiotensina II plasmática ao parênquima cerebral, o que comprometia ainda mais a disfunção autonômica, e que o treinamento físico também melhorava a funcionalidade da BHE. Os mecanismos pelos quais a hipertensão prejudica o funcionamento da BHE, ainda não estão totalmente esclarecidos e praticamente nada se sabe sobre os mecanismos que corrigem a função de barreira em hipertensos treinados. No presente trabalho objetivamos avaliar em SHR e seus controles normotensos os efeitos da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre a funcionalidade da BHE, analisando a ultraestrutura de capilares encefálicos dos núcleos paraventricular do hipotálamo (PVN), trato solitário (NTS) e região rostroventrolateral do bulbo (RVLM), com especial ênfase nas vias de transporte transcelular e paracelular através do endotélio vascular. Ratos SHR e Wistar foram submetidos ao protocolo de treinamento aeróbio (T=50-60% da capacidade máxima, 1 hora/dia, 5 dias/semana) ou mantidos sedentários (S) por 4 semanas e cronicamente canulados para a avaliação de parâmetros hemodinâmicos/autonômicos. A permeabilidade da BHE foi avaliada pela microscopia de fluorescência após a administração intra-arterial de corantes fluorescentes de alto e baixo peso molecular e sua integridade/lesão pela microscopia eletrônica de transmissão em cortes transversais ultrafinos dos capilares encefálicos. SHR-S vs Wistar-S apresentavam elevada PA média e FC basais, aumento da variabilidade da PA sistólica, reduzida variabilidade da FC e do barorreflexo espontâneo, elevado extravasamento do corante de baixo peso molecular, indicativo do aumento da permeabilidade da BHE, acompanhadas nas 3 áreas autonômicas por aumento significativo do número de vesículas transcitóticas, mas sem alteração da expressão das junções oclusivas que limitam o transporte paracelular. Por sua vez o treinamento determinou nos SHR-T bradicardia de repouso, queda parcial da PA média, redução da variabilidade da PAS e aumento da variabilidade da FC com melhora substancial no controle autonômico da circulação, acompanhados nas 3 áreas autonômicas de normalização da permeabilidade da BHE e redução significativa do

número de vesículas transcitóticas nos capilares encefálicos, cujos valores foram similares aos apresentados pelos grupos normotensos. Ambos os grupos treinados apresentaram aumentos significativos na extensão das junções oclusivas que passaram a ocupar uma porcentagem maior da borda de contato entre 2 células endoteliais. Alterações na transcitose induzidas pela hipertensão e treinamento aeróbio foram confirmadas por alterações similares na expressão de caveolina-1, um dos principais constituintes das vesículas transcelulares. Observou-se no PVN, NTS e RVLM forte correlação positiva entre o número de vesículas transcitóticas e a permeabilidade da BHE. Adicionalmente, a permeabilidade da BHE correlacionava-se positivamente com a variabilidade da PA sistólica e negativamente com a variabilidade da FC. Nossos dados indicam que a perda da funcionalidade da BHE na hipertensão é devida ao aumento da transcitose vesicular, sem alteração do transporte paracelular. Indicam também que o treinamento melhora o controle autonômico da circulação de hipertensos por normalizar a transcitose, com ganho adicional na resistência das junções oclusivas.

Effects of hypertension and aerobic training on blood-brain barrier functionality in nuclei of autonomic control: Mechanisms involved in paracellular and transcellular transport.

It is well known that arterial hypertension courses with autonomic dysfunction, sympathetic hypertonia, plasma and tissue hyperactivity of the renin angiotensin system. It is also known that exercise training was able to correct/reduce these abnormalities. Recent studies demonstrated the presence of blood-brain barrier (BBB) lesion within autonomic nuclei with access of plasma angiotensin II into brain parenchyma, which augments autonomic impairment and that exercise training is able to improve BBB functionality. The mechanisms conditioning hypertension-induced BBB lesion are still controversial and nothing is known concerning the mechanisms determining training-induced restoration of BBB function. In the present study we aimed to evaluate in SHR and normotensive controls the effects of hypertension and exercise training on BBB function within capillaries of the paraventricular nucleus of hypothalamus (PVN), nucleus of the solitary tract (NTS) and rostroventrolateral medulla (RVLM), with focus on the transcellular and paracellular transports across the endothelium. SHR and Wistar rats were submitted to aerobic training (T=50-60% of maximal aerobic capacity, 1hour/day, 5 days/week) or kept sedentary (S) for 4 weeks. At the end of protocols rats were cannulated for hemodynamic/autonomic evaluation. BBB permeability was analyzed by fluorescence microscopy after intra-arterial administration of 2 fluorescent dyes of high and low molecular weight; the BBB lesion/integrity was evaluated by transmission electron microscopy in transverse ultrathin slices of brain capillaries. SHR-S vs Wistar-S exhibited high mean AP and HR, increased systolic AP variability, reduced HR variability and spontaneous baroreflex sensitivity and increased BBB leakage of the low molecular weight dye. These responses were accompanied by a significant increase of transcytotic vesicles number without changes in the expression of tight junctions that limited the transcellular transport. On the other hand, aerobic training caused in SHR-T resting bradycardia, partial mean AP fall, reduction of systolic AP variability, and increase in HR variability, with great improvement of autonomic control of the circulation that were accompanied by normalization of BBB permeability and significant reduction of transcytotic vesicles number in the 3 autonomic areas. Both trained groups exhibited marked increase in tight junctions' extension, which occupied a larger percentage of capillary border within 2

endothelial cells. Hypertension- and training-induced transcytosis were confirmed by similar changes in caveolin-1 expression, the main constituent of transcellular vesicles. There were strong positive correlations between the number of transcytotic vesicles and the BBB permeability within the PVN, NTS and RVLM. In addition, the BBB permeability was positively correlated with Systolic AP and negatively correlated with HR variability. Our data indicated that BBB dysfunction in hypertension is due to an increased transcytosis without changes in the paracellular pathway. Exercise training ameliorates SHR's autonomic control by normalizing transcytosis, with an additional improvement on tight junctions' tightness.

REVISÃO DE LITERATURA

Hipertensão arterial

A pressão arterial (PA), definida como a força exercida pelo sangue sobre as paredes arteriais, é condicionada por alterações da capacitância e retorno venoso, do débito cardíaco e da resistência periférica os quais movimentam o sangue através do sistema cardiovascular determinando momento a momento o conteúdo de sangue presente em cada segmento vascular (CONSOLIM-COLOMBO; KRIEGER, 2001; MICHELINI, 2012; IRIGOYEN). É de fundamental importância para a perfusão adequada de todos os tecidos corporais que a PA seja mantida em níveis relativamente constantes ao longo da vida do indivíduo.

A hipertensão arterial é uma condição clínica multifatorial caracterizada pela manutenção de níveis pressóricos elevados da PA ($\geq 140/90$ mmHg para a PA sistólica/diastólica, BARROSO et al., 2020). Constitui-se em um dos mais frequentes problemas de saúde pública, sendo o principal fator de risco para as doenças cardiovasculares e a elevada mortalidade em todo mundo, uma vez que a hipertensão crônica se encontra intimamente relacionada a eventos como morte súbita, acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica, doença renal crônica entre outros (ARQUIVO BRASILEIRO DE CARDIOLOGIA, 2016; BASU; MILLETT, 2013; JIA et al., 2014). Várias são as etiologias da hipertensão arterial, usualmente classificadas em hipertensão primária (de causa não identificada e de maior incidência, englobando cerca de 90-95% dos hipertensos) e hipertensão secundária (cujas causas são conhecidas, mas de incidência bastante reduzida). Evidências experimentais têm indicado que a hipertensão primária cursa com um importante componente neuro-hormonal, apresentando hiperatividade do sistema renina-angiotensina (SRA) e desequilíbrio no controle autonômico da circulação, com predominância do tônus simpático ao coração e vasos em detrimento da atividade parassimpática ao coração (CAMPOS et al., 2001; CHAAR et al., 2015; CERONI et al., 2009; FARACO; IADECOLA, 2013; FERRARIO, 1990; MASSON et al., 2014, 2015; OSBORN; ENGLAND, 1990).

Controle neural da circulação

Várias são as áreas encefálicas envolvidas com o controle autonômico da circulação. A geração do tônus simpático e parassimpático envolve a atividade

coordenada entre vias aferentes que carregam informações de receptores periféricos ao núcleo do trato solitário (NTS) e deste ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) e vias eferentes que se projetam do hipotálamo a várias áreas do tronco cerebral, incluindo entre elas o próprio NTS, a região rostroventrolateral do bulbo (RVLM), onde se localizam os corpos celulares dos neurônios pré-motores simpáticos e os núcleos ambíguo e dorsal motor do vago, onde estão localizados os corpos celulares dos neurônios pré-ganglionares parassimpáticos (MICHELINI; MORRIS, 1999; MICHELINI; STERN, 2009; MICHELINI, 2012; IRIGOYEN et al., 2001).

Diferentes fatores podem condicionar a hipertonia simpática na hipertensão. Entre eles o 'upregulation' do eixo Ang II-ECA-Receptor AT₁ do SRA cerebral com aumento da disponibilidade da angiotensina II (Ang II) e concomitante ativação do estresse oxidativo, das citocinas pró-inflamatórias os quais direta ou indiretamente aumentam a atividade de neurônios pré-motores simpáticos e conseqüentemente o tônus simpático à periferia (CHAAR et al., 2015; DiBONA, 2004; MASSON et al., 2014, 2015; PATON et al., 2007; SHI et al., 2010; ZUBCEVIC et al., 2011). Também a Ang II circulante, agindo em regiões desprovidas da BHE (órgãos circunventriculares), pode contribuir para o aumento da atividade simpática periférica. Além destes efeitos do SRA plasmático e tecidual, o grupo de Stern e cols (BIANCARDI et al., 2014) identificou em ratos hipertensos crônicos uma outra via pela qual a Ang II plasmática poderia potencializar a hipertonia simpática: utilizando-se de corantes fluorescentes de alto e baixo peso molecular e de Ang II marcada injetados endovenosamente, verificaram haver lesão da barreira hematoencefálica (BHE) no PVN, NTS e RVLM, importantes áreas encefálicas de controle autonômico da circulação. Demonstraram haver extravasamento do corante de baixo peso molecular e acesso de Ang II marcada ao parênquima cerebral, com prejuízo da perfusão cerebral, o que intensificava ainda mais a ativação neuronal. Realmente, a má perfusão ou a hipoperfusão cerebral tem sido apontadas por Paton et cols como uma das possíveis causas da elevada excitabilidade neuronal e hipertonia simpática na hipertensão neurogênica (PATON et al., 2008; WAKI et al., 2011).

Barreira hematoencefálica na hipertensão arterial

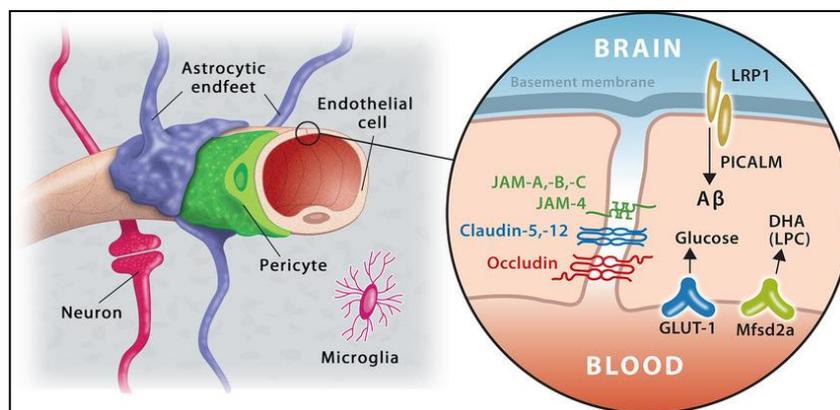
Uma vez instalada a hipertensão arterial promove, paralelamente à hipertonia simpática, a ativação a nível plasmático e tecidual do eixo vasoconstritor, trófico, pró-

oxidativo e pró-inflamatório do SRA os quais levam à hipertrofia cardíaca e ao remodelamento vascular com aumento da razão parede/luz em artérias e arteríolas periféricas e cerebrais, resultando em aumento mantido da resistência vascular e importante prejuízo da perfusão tecidual. Os trabalhos do grupo de Stern e cols (BIANCARDI et al., 2014; BIANCARDI; STERN, 2016) foram importantes em demonstrar que além das vias clássicas de ativação do SRA, a hipertensão crônica comprometia a seletividade da BHE em áreas de controle autonômico, e que o acesso de Ang II plasmática a estas áreas aumentava sua disponibilidade local potencializando suas ações deletérias. Sabe-se que a Ang II ativa vias intracelulares que aumentam o estresse oxidativo e a produção de citocinas pró-inflamatórias, e, conseqüentemente a excitabilidade neuronal e a atividade simpática (CAPONE et al., 2011; SHI et al., 2010; ZUBCEVIC et al., 2011). A maior disponibilidade de Ang II no PVN, NTS e RVLM subsequente à lesão da BHE (BIANCARDI et al., 2014) é, portanto, bastante lesiva ao controle cardiovascular por determinar marcante aumento da hipertonia simpática.

Em outras áreas cerebrais como o córtex, hipocampo e striatum os efeitos deletérios da permeabilidade da BHE determinando déficits cognitivos e motores já eram conhecidos de longa data (MUELLER; HEISTAD, 1980; TAMAKI et al., 1984). Apenas a partir dos trabalhos do grupo de Stern e cols é que se confirmou a possibilidade de a hipertensão arterial crônica comprometer também a seletividade da BHE no PVN, NTS e RVLM e prejudicar o controle autonômico da circulação, o que abriu uma nova linha de pesquisa destinada à investigação dos mecanismos passíveis de afetar o funcionamento da BHE na hipertensão.

Sabe-se que a BHE (Figura 1), uma interface regulatória que separa a circulação periférica do sistema nervoso central (SNC), é formada por um sistema celular complexo composto por células endoteliais que se apoiam na membrana basal contínua, os pericitos que se encontram embebidos na membrana basal e recobrem aproximadamente 30% da circunferência capilar e os podócitos dos astrócitos que envolvem e revestem externamente os capilares (ABBOTT et al., 2006; KEANEY; CAMPBELL, 2015). O endotélio dos capilares encefálicos formam, devido à presença de junções oclusivas entre as células endoteliais (Figura 1), uma *barreira paracelular física* bloqueando o transporte paracelular de substâncias hidrossolúveis (o que ocorre livremente na maioria dos demais endotélios), permitindo apenas o transporte transcelular entre o capilar e o interstício (ABBOTT et al., 2006; KEANEY; CAMPBELL, 2015). Funcionalmente há também uma “*barreira transcelular*” uma vez

que o transporte de macromoléculas através do citoplasma celular é bastante reduzido nos capilares encefálicos quando comparado ao observado em capilares periféricos, e, uma “*barreira enzimática*” representada por um complexo conjunto de enzimas (acetilcolinesterase, fosfatase alcalina, monoamina oxidase, gama-glutamiltanspeptidase, entre outras) que degradam diferentes compostos químicos (ANDREONE et al., 2017). Embora a micróglia não faça parte da estrutura física da BHE, ela participa de sua funcionalidade através da liberação de citocinas pró- e anti-inflamatórias (Figura 1, KEANEY; CAMPBELL, 2015).



Quadro 1- Modelo representativo das componentes da a barreira hematoencefálica (célula endotelial, membrana basal, pericitos e podócitos dos astrócitos) e, em maior aumento, o contato entre 2 células endoteliais indicando as proteínas que constituem as junções oclusivas. Reproduzido de Keaney & Campbell, 2015.

Estes constituintes e os neurônios adjacentes formam a chamada *unidade neurovascular* cuja função primordial é regular precisamente a transferência de íons, moléculas e células entre o sangue e o tecido neural, mantendo a constância do ambiente extracelular do parênquima cerebral, além de proteger o SNC de agentes patogênicos. Sabe-se que a BHE está completamente formada ao nascer, mantendo sua funcionalidade durante toda a vida nos indivíduos hígidos (HAGAN; BEN-ZVI, 2015). Por outro lado, a disfunção da BHE pode levar à desregulação iônica e hormonal, à alteração da sinalização neuronal, assim como à entrada de células e moléculas imunes no SNC, processos estes que levam à hiperexcitabilidade neuronal, podendo inclusive em situações mais graves evoluir para degeneração neuronal (BLANCHETTE; DANEMAN, 2015; DANEMAN; PRAT, 2015).

Como trabalhos anteriores de nosso laboratório já haviam demonstrado em ratos hipertensos espontâneos (SHR) que a hipertensão arterial desencadeava importante

ativação do SRA cerebral no PVN, NTS e RVLM e disfunção autonômica (FELIX; MICHELINI, 2007; CHAAR et al., 2015; SANGALETI et al., 2004), buscamos identificar nesta preparação a possível participação da BHE. Ao analisarmos o estado funcional da BHE durante a instalação da hipertensão, observamos que ela se encontrava íntegra na fase pré-hipertensiva, mas disfuncional após a instalação da hipertensão (BUTTLER et al., 2017). Observamos ainda que o aumento da permeabilidade da BHE na fase crônica da hipertensão era acompanhada de aumento da disponibilidade local de Ang II e correlacionava-se positivamente com o aumento da atividade simpática vasomotora e cardíaca e importante disfunção autonômica (BUTTLER et al., 2017). Neste trabalho pudemos ainda demonstrar pela primeira vez na literatura que tanto o aumento da permeabilidade da BHE quanto a disponibilidade de Ang II e a disfunção autonômica eram prontamente corrigidos pelo treinamento aeróbio de moderada intensidade (BUTTLER et al., 2017).

Treinamento aeróbio, hipertensão arterial e BHE

Trabalhos de nosso e outros laboratórios têm demonstrado a eficácia do treinamento aeróbio de baixa a moderada intensidade em determinar em ratos hipertensos crônicos redução acentuada da atividade do SRA encefálico, em diminuir a sinalização celular desencadeada pela Ang II, reduzindo marcadamente a produção de espécies reativas de oxigênio, a ativação da micróglia e a síntese de citocinas pró-inflamatórias (AGARWAL et al., 2011; CHAAR et al., 2015; MASSON et al., 2014, 2015; PELLEGRIN et al., 2015; SILVA et al., 2017). Importante ressaltar que as adaptações benéficas ao treinamento nos SHR correlacionavam-se com aumento da sensibilidade do reflexo barorreceptor, aumento da variabilidade da frequência cardíaca, redução da variabilidade da pressão arterial e sensível melhora do controle autonômico da circulação os quais eram acompanhados da instalação da bradicardia de repouso e queda parcial da pressão arterial (CHAAR et al., 2015; MASSON et al., 2014, 2015).

Estudos anteriores em animais submetidos à isquemia cerebral e outras doenças cerebrovasculares já haviam demonstrado os efeitos protetores do treinamento à integridade da BHE em outras áreas cerebrais (não diretamente ligadas ao controle neural da circulação), diminuindo sua permeabilidade e melhorando a locomoção, a memória e a cognição (DAVIS et al., 2007; DE SENNA et al., 2015; BERTRAN et al., 2016; GUO et al., 2008). Em nosso trabalho pioneiro relativo aos efeitos do treinamento

aeróbio sobre a permeabilidade da BHE em SHR, havíamos observado que apenas 2 semanas de exercício repetitivo eram eficazes em reverter e normalizar o elevado extravasamento da barreira no PVN, NTS e RVLM e corrigir a disfunção autonômica, valores esses que eram mantidos em níveis de normalidade até o final das 8 semanas experimentais (Buttler et al., 2017). Mais recentemente quantificando a funcionalidade da BHE e a expressão de caveolina-1 no PVN de ratos hipertensos e normotensos submetidos ao treinamento e sedentarismo pudemos observar uma correlação positiva entre a expressão de caveolina-1 e a atividade simpática periférica, sugerindo uma possível participação da caveolina-1 na disfunção da BHE (FRAGAS et al, 2021). Em conjunto todos esses trabalhos indicam que o treinamento aeróbio é eficaz em corrigir a elevada permeabilidade da BHE não só no córtex, hipocampo e striatum, mas também em áreas neurais de controle cardiovascular. Sabemos que a passagem de substâncias através da BHE pode ser determinada pelo transporte transcelular (a chamada transcitose) e/ou pelo transporte paracelular, mas desconhecemos o(s) mecanismo(s) que condicionam a elevada permeabilidade da BHE na hipertensão assim como aquele(s) que condicionam a correção da funcionalidade da BHE induzida pelo treinamento.

Dados conflitantes têm sido relatados: há evidências de que a 'lesão' da BHE seja devida à quebra/perda de proteínas constituintes das junções oclusivas no córtex e hipocampo de hipertensos (MOHAMMADI; DEGHANI, 2014; PELISCH et al., 2011), assim como preservação das mesmas, indicando via paracelular intacta (UENO et al., 2004). Comprometimento do transporte transendotelial e ausência de alterações nas junções oclusivas foram observados em ratos submetidos à isquemia cerebral subsequente ao acidente vascular cerebral (KRUEGER et al., 2013). Kukuc et al., (2002) sugeriram que fatores hemodinâmicos poderiam estar relacionados com a gênese da lesão da BHE e a disfunção endotelial. Por outro lado, tratando ratos hipertensos espontâneos e renais crônicos com losartan, Biancardi e cols (2014) reportaram redução significativa do extravasamento da BHE após bloqueio dos receptores AT₁, mas manutenção da lesão da BHE nos ratos tratados com hidralazina, sugerindo o envolvimento da Ang II na indução de déficits da BHE. De fato, trabalhos experimentais têm demonstrado que aumento na disponibilidade de Ang II, via receptores AT₁, modula a função das células endoteliais, aumenta a permeabilidade da BHE e causa edema cerebral, efeitos esses parcialmente revertidos pelo bloqueio

farmacológico do SRA (BIANCARDI et al., 2014; BIANCARDI et al., 2015; CAPONE et al., 2011; FLEEGAL-DE-MOTTA et al., 2009; PELISCH et al., 2011).

Frente à nossa observação anterior de que o elevado extravasamento do corante de baixo peso molecular indicativo do aumento da permeabilidade da BHE no PVN dos SHR sedentários era acompanhado de aumento da expressão gênica e proteica de caveolina-1, que a redução do extravasamento nos SHR treinados ocorria simultaneamente à redução significativa da expressão da caveolina-1 (FRAGAS et al., 2021), e, sabendo-se que a caveolina-1 é um dos principais constituintes das vesículas transcitóticas, é nossa hipótese de trabalho que tanto o aumento da permeabilidade da BHE na hipertensão crônica quanto sua normalização após o treinamento aeróbio sejam devidos a alterações para mais e para menos (respectivamente) da transcitose. Ainda a observação de que a hipertensão não alterava expressão gênica de claudina-5 (um constituinte das junções oclusivas) (FRAGAS et al., 2021) sugeria a inalteração do transporte paracelular pela hipertensão, o que deverá ser confirmado experimentalmente.

CONCLUSÕES

Em conjunto nossos dados experimentais demonstram que em áreas de controle autonômico tanto a elevada permeabilidade da BHE na hipertensão quanto sua correção pelo treinamento aeróbio são mediados por alterações para mais e para menos da transcitose através da célula endotelial dos capilares encefálicos, sugerindo ser este o principal mecanismo que modula o funcionamento da BHE nestas condições experimentais. Indicam ainda serem as alterações na transcitose as principais responsáveis pela disfunção autonômica (transcitose aumentada carreando constituintes plasmáticos ao parênquima cerebral) assim como por sua correção (transcitose normalizada, evitando o acesso de constituintes plasmáticos que podem interferir com o funcionamento de neurônios préautonômicos).

Nossos resultados sugerem ainda não haver alteração do transporte paracelular na hipertensão, indicando não ser esta via o fator determinante da disfunção da BHE induzida pela hipertensão. Por outro lado, o treinamento determina em normotensos e hipertensos aumento da densidade e da extensão das junções oclusivas e uma maior ocupação da borda de contato entre duas células endoteliais pelas junções oclusivas, conferindo maior resistência e seletividade às mesmas.

FINANCIAMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq) – Processo número 149265/2017-4, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Brasil (FAPESP) – Processo número 2018/14544-6) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) Código de Financiamento 001 e verba PROEX (Programa de Excelência Acadêmica).

REFERÊNCIAS

- 7ª DIRETRIZ BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3, supl. 3, 2016.
- ABOTT, N. J.; RÖNNBÄCK, L.; HANSSON, E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. **Nature**, v. 7, p. 41-53, 2006.
- AGARWAL, D.; WELSCH, M.; KELLER, J.; FRANCIS, J. Chronic Exercise Modulates RAS Components and Improves Balance between pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in the Brain of SHR. **Basic Research in Cardiology**, v. 106, n. 6, p. 1069–85, 2011.
- ANDREONE, B. J.; CHOW, B. W.; TATA, A.; LACOSTE, B.; BEN-ZVI, A.; BULLOCK, K.; DEIK, A. A.; GINTY, D. D.; CLISH, C. B.; GU, C. Blood-Brain Barrier Permeability Is Regulated by Lipid Transport-Dependent Suppression of Caveolae-Mediated Transcytosis. **Neuron**, v. 94, p. 1-14, 2017.
- ARMULIK, A.; GENOVÉ, G.; MÄE, M.; NISANCIOGLU, M. H.; WALLGARD, E.; NIAUDET, C.; HE, L.; NORLIN, J.; LINDBLOM, P.; STRITTMATTER, K.; JOHANSSON, B. R.; BETSHOLTZ, C. Pericytes regulate the blood-brain barrier. **Nature**, v. 468, p. 557-562, 2010.
- BARROSO, W. K. S et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 166, n. 3, p. 516-658, 2021.
- BASU, S.; MILLET, C. Social epidemiology of hypertension in middle-income countries: Determinants of prevalence, diagnosis, treatment, and control in the WHO SAGE study. **Hypertension**, v. 62, p. 18-26, 2013.
- BERTRAN, S.; BRIXIUS, K.; BRINKMANN, C. Exercise for the diabetic brain: how physical training may help prevent dementia and Alzheimer's disease in T2DM patients. **Endocrine**, v. 53, n. 2, p. 350-363, 2016.
- BIANCARDI, V. C.; SON, S. J.; AHMADI, S.; FILOSA, J. A.; STERN, J. E. Circulating angiotensin II gains access to the hypothalamus and brain stem during hypertension via breakdown of the blood-brain barrier. **Hypertension**, v. 63, p. 572-579, 2014.
- BIANCARDI, V. C.; STERN, J. E. Compromised blood-brain barrier permeability: novel mechanism by which circulating angiotensin II signals to sympathoexcitatory centers during hypertension. **J. Physiol.**, v. 594, p. 1591-1600, 2016.
- BIANCARDI, V. C.; STRANAHAN, A. M.; KRAUSE, E. G.; STERN, J. E. Crosstalk between AT1 receptors and Toll like receptor 4 in microglia contributes to angiotensin II- derived ROS production in the paraventricular nucleus. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 310, p. H404-H415, 2015.
- BLANCHETTE, M.; DANEMAN, R. **Mechanisms of development**, v. 138, p.8-16, 2015.
- BUTTLER, L.; JORDÃO, M. T.; FRAGAS, M. G.; RUGGERI, A.; CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Maintenance of blood-brain barrier integrity in hypertension: A

novel benefit of exercise training for autonomic control. **Frontiers in Physiology.**, v. 8, 2017.

CAMPOS Jr, R.; COLOMBARI, E.; CRAVO, S.; LOPES, O. U. Hipertensão arterial: o que tem a dizer o sistema nervosa. **Rev. Bras. Hipertens.**, v. 8, n. 1, p. 41-54, 2001.

CAPONE, C.; FARACO, G.; PARK, L.; CAO, X.; DAVISSON, R. L., IADECOLA, C. The cerebrovascular dysfunction induced by slow pressor doses of angiotensin II precedes the development of hypertension. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 300, p. H397- H407, 2011.

CAVALLERI, M. T.; BURGI, K.; CRUZ, J.C.; JORDÃO, M.T.; CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Afferent signaling drives oxytocinergic pre-autonomic neurons and mediates training- induced plasticity. **Am. J. Physiol. Reg. Int. Comp. Physiol.**, v. 301, p. R958-R966, 2011.

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.

CHAAR, L. J.; ALVES, T. P.; BATISTA JR, A. M.; MICHELINI, L. C. Early Training-Induced Reduction of Angiotensinogen in Autonomic Areas-The Main Effect of Exercise on Brain Renin-Angiotensin System in Hypertensive Rats. **Plos One**, v. 10, p. 1-16, 2015.

DANEMAN, R.; PRAT, A. The Blood – Brain Barrier. **Cold. Spring Harb. Perspect. Biol.**, v. 7, p. 1-24, 2015.

DAVIS, W.; MAHALE, S.; CARRANZA, A.; COX, B.; HAYES, K.; JIMENEZ, D.; DING, Y. Exercise pre-conditioning ameliorates blood–brain barrier dysfunction in stroke by enhancing basal lamina. **Neurological Research**, v. 29, p. 382-387, 2007.

DE VRIES, H. E.; KUIPER, J.; DE BOER, A. G.; VAN, BERKEL, T. J.; BREIMER DD. The blood-brain barrier in neuroinflammatory diseases. **Pharmacol Rev.**, v. 49, n. 2, p. 143-155, 1997.

DE SENNA, P. N.; XAVIER, L. L.; BANGATINI, P. B.; SAUR, L.; GALLAND, F.; ZANOTTO, C.; BERNARDI, C.; NARDIN, P.; GONÇALVES, A. A.; ACHAVAL, M. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. **Brain Research**, v. 1618, p. 75-82, 2015.

DiBONA, G. F. The Sympathetic Nervous System and Hypertension Recent Developments. **Hypertension**, v. 43, p. 147-150, 2004.

FARACO, G.; IADECOLA, C. Hypertension: A harbinger of stroke and dementia. **Hypertension**, v. 62, n. 5, p. 810-817, 2013.

FELIX, 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, p. 780-785, 2007.

FERRARIO, C. M. Importance of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAS) in the Physiology and Pathology of Hypertension: An Overview. **Drugs**, v. 39 (Suppl. 2), p. 1-8, 1990.

FLEEGAL-DE-MOTTA, M. A.; DOGHU, S.; BANKS, W. A. Angiotensin II modulates BBB permeability via activation of the AT1 receptors in brain endothelial cells. **J. Cerebral Blood Flow Metabol.**, v. 29, p. 640-647, 2009.

FRAGAS, M. G.; CÂNDIDO, V. B.; DAVANZO, G. G.; ROCHA-SANTOS, C. CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Transcytosis within PVN capillaries: a mechanism determining both hypertension-induced blood-brain barrier dysfunction and exercise-induced correction. **Am. J. Physiol. Reg. Int. Comp. Physiol.**, v. 321, n. 5, p. R732-R741, 2021.

GUO, M.; COX, B.; MAHALE, S.; DAVIS, W.; CARRANZA, A.; HAYES, K.; SPRAGUE, S.; JIMENEZ, D.; DING, Y. Pre-ischemic exercise reduces matrix metalloproteinase-9 expression and ameliorates blood– brain barrier dysfunction in stroke. **Neuroscience**, v. 151, p. 340-351, 2008.

GUO, S; SOM, A. T.; ARAI, K.; LO, E. H. Effects of angiotensin-II on brain endothelial cell permeability via PPARalpha regulation of para- and trans-cellular pathways. **Brain Res.**, 1722: 146353, 2019.

HAGAN N.; BEN-ZVI A. The molecular, cellular, and morphological components of blood-brain barrier development during embryogenesis. **Semin. Cell Dev. Biol.**, v. 38, p. 7–15, 2015.

HOM, S.; FLEEGAL, M. A.; EGLETON, R. D.; CAMPOS, C. R.; HAWKINS, B. T.; DAVIS, T. P. Comparative changes in the blood-brain barrier and cerebral infarction of SHR and WKY rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 292, p. 1881-1892, 2007.

IRIGOYEN, M. C.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; KRIEGER, E. M. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. **Rev. Bras. Hipertens.**, v. 8, p. 55-62, 2001.

JIA, L. L.; KANG, Y.; WANG, F.; LI, H.; ZHANG, Y.; YU, X.; QI, J.; SUO, Y.; TIAN, Z.; ZHU, Z.; ZHU, G.; QIN, D. Exercise training attenuates hypertension and cardiac hypertrophy by modulating neurotransmitters and cytokines in hypothalamic paraventricular nucleus. **Plos One**, v. 9, p. 1-8, 2014.

JIAO, H.; WANG, Z.; LIU, Y.; WANG, P.; XUE, Y. Specific role of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO-1 of the blood-brain barrier in a focal cerebral ischemic insult. **J. Mol. Neurosci.**, v. 44, n. 2, p. 130–139, 2011.

KEANEY, J.; CAMPBELL, M. The dynamics blood-brain barrier. **FEBS J**, v. 282, p. 4067-4079, 2015.

KNOWLAND, D.; ARAC, A.; SEKIGUCHI, K. J.; HSU, M.; LUTZ, S. E.; PERRINO, J.; STEINBERG, G. K.; BARRES, B. A.; NIMMERJAHN, A.; AGALLIU, D. Stepwise recruitment of transcellular and paracellular pathways underlies blood-brain barrier breakdown in stroke. **Neuron**, v. 82, n. 3, p. 603–617, 2014.

KRUEGER, M.; HÄRTIG, W.; REICHENBACH, A.; BECHMANN, I.; MICHALSKI, D. Blood- brain barrier breakdown after embolic stroke in rats occurs without ultrastructural evidence for disrupting tight junctions. **Plos ONE**, v. 8, p. e56419, 2013.

KUCUK, M.; KAYA, M.; KALAYCI, R.; CIMEN, V.; KUDAT, H.; ARICAN, N.; ELMAS, I.; KORKUT, F. Effects of losartan on blood-brain barrier permeability in long-term nitric oxide blockade-induced hypertensive rats. **Life Sci.**, v. 71, p. 937-946, 2002.

MASSON, G. S.; COSTA, T. S. R.; YSHII, L.; FERNANDES, D. C.; SOARES, P. P. S.; LAURINDO, F. R.; SCAVONE, C.; MICHELINI, L. C. Time-dependent effects of training on cardiovascular control in spontaneously hypertensive rats: role for brain oxidative stress and inflammation and baroreflex sensitivity. **Plos One**, v. 9, p. e94927, 2014.

MASSON, G. S.; NAIR, A. R.; DANGE, R. B.; SILVA-SOARES, P. P.; MICHELINI, L. C.; FRANCIS, J. Toll-like receptor 4 promotes autonomic dysfunction, inflammation and microglia activation in the hypothalamic paraventricular nucleus: Role of endoplasmic reticulum stress. **Plos One**, v.10, n. 3, p. 1-15, 2015.

MICHELINI, L. C. in AIRES, M. M. Fisiologia humana. **Quarta edição**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2012.

MICHELINI, L. C.; MORRIS, M. Endogenous vasopressina modulates the cardiovascular responses to exercise. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 897, p. 198-211, 1999.

MICHELINI, LISETE C.; STERN, JAVIER E. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. **Experimental Physiology**, v. 94, n. 9, p. 947-960, 2009.

MOHAMMADI, M. T.; DEHGHANI, G. A. Acute hypertension induces brain injury and blood-brain barrier disruption through reduction of claudins mRNA expression in rat. **Pathol. Research Pract.**, v. 210, n. 12, p. 985-990, 2014.

MUELLER, S. M.; HEISTAD, D. D. Effect of chronic hypertension on the blood-brain barrier. **Hypertension**, v. 2, n. 6, p. 809-812, 1980.

NAHIRNEY, P.C.; REESON, P.; BROWN, C. E. Ultrastructural analysis of blood-brain barrier breakdown in the peri-infarct zone in young adult and aged mice. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, v. 36, n. 2, p. 413-425, 2016.

NITTA, T.; HATA, M.; GOTOH, S.; SEO, Y.; SASAKI, H.; HASHIMOTO, N.; FURUSE, M.; TSUKITA, S. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. **J. Cell Biol.**, v. 161, n. 3, p. 653-660, 2003.

OSBORN, J.W.; ENGLAND, S. K. Normalization of arterial pressure after barodenervation: role of pressure natriuresis. **Am. J. Physiol.**, v.259, n. 6, p. 1172-1180, 1990.

PATON, J. F. R.; WANG, S.; POLSON, J. W.; KASPAROV, S. Signalling across the blood brain barrier by angiotensin II: Novel implications for neurogenic hypertension. **J. Mol. Med.**, v. 86, p. 705-710, 2008.

PATON, J. F.; WAKI, H.; ABDALA, A. P.; DICKINSON, J.; KASPAROV, S. Vascular-brain signaling in hypertension: role of angiotensin II and nitric oxide. **Curr. Hypertens. Rep.**, v. 9, n.3, p. 242-247, 2007.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. New York: Academic Press, 2009.

PELISCH, N. N.; HOSOMI, M.; UENO, D.; NAKANO, H.; HITOMI, M.; MOGI, K.; SHIMADA, K.; KOBORI, H.; HORIUCHI, M.; SAKAMOTO, H.; MATSUMOTO, M.; KOHNO, M.; NISHIYAMA, A. Blockade of AT1 Receptors Protects the Blood-Brain Barrier and Improves Cognition in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. *American Journal of Hypertension*. **Nature**, v. 24, n. 3, p. 362–368, 2011.

PELLEGRIN, M.; AUBERT, J. F.; BOUZOURÈNE, K.; AMSTUTZ, C. MAZZOLAI, L. Voluntary Exercise Stabilizes Established Angiotensin II-Dependent Atherosclerosis in Mice through Systemic Anti-Inflammatory Effects. **Plos One**, v. 24, n. 10, p. 1–12, 2015.

REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, v. 17, p. 208-212, 1963.

ROCHA-SANTOS, C.; BRAGA, D. C.; CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Activity-dependent neuroplastic changes in autonomic circuitry modulating cardiovascular control: the essential role of baroreceptors and chemoreceptors signaling. **Front Physiol.**, v. 11, n. 309, 2020.

ROSENBERG, G. A. Blood-brain barrier permeability in aging and Alzheimer's disease. **J. Prev. Alzheimers Dis.**, v. 1, n. 3, p. 138–139, 2014.

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. R.; RUGGERI, A.; CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Exercise training abrogates age-dependent loss of hypothalamic oxytocinergic circuitry and maintains high parasympathetic activity. **J. Neuroendocrinol.** e12601, 2018.

SHI, P.; DIEZ-FREIRE, C.; JUN, J. Y. QI, Y.; KATOVICH, M. J.; LI, Q.; SRIRAMULA, S.; FRANCIS, J.; SUMMERS, C.; RAIZADA, M. K. Brain microglial cytokines in neurogenic hypertension. **Hypertension**, v. 56, n. 2, p. 297-303, 2010.

SILVA, J. R. S. D.; ZAMPIERI, T. T.; RUGGERI, A.; CERONI, A.; ARAGÃO, D. S.; FERNANDER, F. B.; CASARINI, E. E.; MICHELINI, L. C. Downregulation of vascular renin-angiotensin system by aerobic training Focus on the balance between vasoconstrictor and vasodilator axes. **Circ. J.**, v. 79, p. 1372-1380, 2015.

SILVA, S. D. Jr.; JARA, Z. P.; PERES, R.; LIMA, L. S.; SCAVONE, C.; MONTEZANO, A. C.; TOUYZ, R. M.; CASARINI D, E.; MICHELINI, L. C. Temporal changes in cardiac oxidative stress, inflammation and remodeling induced by exercise in hypertension: Role for local angiotensin II reduction. **Plos One**, v. 12, n. 12, p. 1–19, 2017.

SOARES, P. P.; DA NOBREGA, A.C.; USHIZIMA, M.R.; IRIGOYEN M.C. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **Auton.Neurosci.**, v. 113, p. 24-31, 2004.

TAMAKI, K.; SADOSHIMA, S.; HEISTAD, D. D. Increased susceptibility to osmotic disruption of the blood-brain barrier in chronic hypertension. **Hypertension**, v. 6, n. 5, p. 633-638, 1984.

TIETZ, S.; ENGELHARDT, B. Brain barriers: crosstalk between complex tight junctions and adherens junctions. **J. Cell Biol.**, v. 209, n. 4, p. 493–506, 2015.

UENO, M.; SAKAMOTO, H.; TOMIMOTO, H; AKIGUCHI, I., ONODERA, M. HUANG, C. L.; KANENISHI, S. Blood-brain barrier is impaired in the hippocampus of young adult spontaneously hypertensive rats. **Acta Neuropathol.**, v. 107, p. 532-538, 2004.

WAKI, H.; GOURAND, S. S.; MAEDA, M.; RAIZADA, M. K.; PATON, J. F. Contributions of vascular inflammation in the brainstem for neurogenic hypertension. **Respir. Physiol. Neurobiol.**, v. 30, n. 3, p. 422-428, 2011.

WATSON, M. L. Staining of Tissue Sections for Electron Microscopy with Heavy Metals. **J Biophys Biochem Cytol.**, v. 4, n. 6, p. 727-730, 1958.

ZHANG, M.; QIN, D. N.; SUO, Y. P.; SU, Q.; LI, H. B.; MIAO, Y. W.; GUO, J.; FENG, Z. P. Q. I, J.; GAO, H. L.; MU, J. J.; ZHU, G. Q.; KANG, Y. M. Endogenous hydrogen peroxide in the hypothalamic paraventricular nucleus regulates neurohormonal excitation in high salt-induced hypertension. **Toxicol Lett**, v. 235, n. 3, p. 206–215, 2015.

ZLOKOVIC, B. V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. **Neuron**, v. 57, n. 2, p. 178-201, 2008.

ZUBCEVIC, J.; WAKI, H.; RAIZADA, M. K.; PATON, J. F. R. Autonomic-immune-vascular interaction: An emerging concept for neurogenic hypertension. **Hypertension**, v. 57, n. 6, p. 1026-1033, 2011.

ZHAO, Y. L.; SONG, J. N.; ZHANG, M. Role of caveolin-1 in the biology of the blood-brain barrier. **Rev. Neurosci.**, n. 25, n. 2, p. 247–254, 2014.

ZHEN, Z.; ZLOKOVIC, B. V. Blood-brain barrier: A Dual life of MFSD2A? **Neuron**, v.82, n. 4, p. 728-730, 2014.

