

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

**EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA DE INTENSIDADES
VARIADAS EM RATOS COM HIPERTENSÃO
RENOVASCULAR 2R1C**

Everton Rocha Soares

Ouro Preto - MG

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Everton Rocha Soares

**EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA DE INTENSIDADES
VARIADAS EM RATOS COM HIPERTENSÃO
RENOVASCULAR 2R1C**

Orientadora: Andréia Carvalho Alzamora

Co-orientadora: Raquel do Pilar Machado

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

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

Dedico este trabalho a Deus a Virgem Maria, a meus pais, a minha esposa e a meu filho.

AGRADECIMENTOS

À **Deus** e à **Virgem Maria**, por nunca me abandonarem.

À minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Andréia Carvalho Alzamora** e co-orientadora **Prof^a. Dr^a. Raquel do Pilar Machado** pela oportunidade, confiança, amizade e ensinamentos.

Aos meus **pais**, por sempre acreditarem em mim, me apoiando e incentivando nos momentos de alegria e tristeza e pelo exemplo de vida.

À minha esposa, **Branca** e ao meu filho **João Lucas**, razões de meu viver, pelo amor, confiança e apoio e pelo amável sorriso quando chego em casa.

Ao **Emerson, Erlon** e a **Evlin**, meus amados irmãos, por fazerem parte de minha vida.

Ao **Ismael**, meu irmão de coração, o grande culpado por este trabalho.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva**, pela prontidão, ajuda e carinho.

À **Prof^a. Dr^a. Cláudia Martins Carneiro** e ao **Prof. Dr. Wanderson Geraldo Lima**, pelos ensinamentos e grande ajuda na realização das análises histológicas.

Aos amigos do laboratório – **Alex, Amanda, Analina, Carolina, Cinthia, Edvaldo, Giselle, Graziela, Jamile, Janete, José Luiz, Lisandra, Luciana, Marcela, Mirian, Natália, Patrícia, Rosana e Uberdan** – pela amizade, ensinamentos e diversão. E em especial a **Juliana** e a **Pâmella** pela imensa prontidão e colaboração, onde sem as mesmas não seria possível à realização deste trabalho.

Aos amigos da Mata Burro – **Jesus, Lama, Lução, Marc, Mega Dan, Pedralva, Piti, Toicin e Relincho** – pela acolhida, incentivo, diversão e amizade.

Ao **Jair** e à **Maria**, onde além do atributo de suas funções, se mostraram verdadeiros mestres.

À **Cida**, pela simpatia e dedicação.

Ao **Ernani** e **Paulo** pela ajuda e cuidado com os animais.

Aos amigos **Diego, Fábio, Livia** e **Rafael**, pelo apoio.

Aos colegas e professores do **NUPEB**, pela amizade, colaboração e ensinamentos.

Aos **animais** que com inocência sacrificam suas vidas pela ciência.

RESUMO

Na hipertensão arterial (HA) ocorre uma inabilidade dos neurônios do bulbo ventrolateral caudal (CVLM) em contrabalancear o aparente aumento da atividade dos neurônios do bulbo ventrolateral rostral (RVLM). Além disso, o aumento da atividade do sistema renina angiotensina (SRA) representa uma importante alteração hormonal que leva à hipertensão, por aumentar o tônus vasomotor simpático e prejudicar a função barorreflexa.

A atividade física (AF) de baixa e moderada intensidade tem sido usada no tratamento não farmacológico ou coadjuvante da hipertensão, reduzindo ou restabelecendo as alterações provocadas pelos altos níveis de pressão arterial (PA). O Presente estudo teve como objetivo, avaliar o efeito da AF de natação com ou sem carga, sobre diferentes parâmetros cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular 2 rins 1 clipe (2R1C).

Foram utilizados ratos Fischer machos (9 a 11 semanas), pesando entre 150 e 200g. Após quatro dias das cirurgias (SHAM ou 2R1C), sob anestesia com quetamine e xilazina, os ratos foram separados em três grupos experimentais: sedentários (SD), submetidos à atividade física sem carga (SAF 0%) e com carga (SAF 3%). A AF foi realizada em cinco semanas de natação (uma hora por dia, cinco dias por semana) e a pressão arterial média (PAM) foi mensurada semanalmente por pletismografia de cauda. Após 48 horas da última sessão de AF, a PAM e frequência cardíaca (FC) foram monitoradas continuamente (no sistema de aquisição de dados Powerlab) em ratos dos diferentes grupos, anestesiados com uretana.

A PAM basal dos ratos 2R1C sedentários foi maior do que a PAM dos ratos SHAM SD e similar a dos ratos 2R1C SAF (0% e 3%). Entretanto, a PAM dos ratos 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% também foi semelhante a dos ratos SHAM SD. Reduções na FC basal foram observadas nos grupos 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% em relação aos ratos 2R1C SD.

A sensibilidade do bradicardia reflexa foi determinada através de alterações na PA induzidas por injeções endovenosas, em bolus, de doses crescentes de fenilefrina. A bradicardia reflexa nos ratos 2R1C SD foi menor em relação aos ratos SHAM SD. No entanto, a AF restaurou a bradicardia reflexa nos ratos 2R1C SAF 0% e, não nos ratos 2R1C SAF 3%.

A microinjeção de Ang-(1-7) na CVLM produziu efeito hipotensor similar entre os diferentes grupos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). Porém, o antagonista de Ang-(1-7), A-779, microinjetado na CVLM induziu um efeito hipotensivo maior no grupo 2R1C SD. O A-779 na CVLM produziu efeito similar ao da salina nos ratos 2R1C SAF 0% e 2R1C

SAF 3% e nos ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%). Além disso, a microinjeção do A-779 na CVLM aumentou a sensibilidade da bradicardia reflexa nos ratos 2R1C SD e 2R1C SAF 3%. A microinjeção do A-779 bloqueou o efeito da Ang-(1-7) por até 15 minutos em todos os grupos experimentais (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM e 2R1C.

A percentagem de redução do peso seco relativo dos rins dos animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foi maior que a apresentada pelos ratos SHAM SD. No entanto, a percentagem de redução do peso seco relativo dos rins foi similar entre os animais 2R1C SD e 2R1C SAF 0% e menor nos animais 2R1C SAF 3% comparado à dos 2R1C SD.

A análise morfológica cardíaca mostrou que os animais 2R1C SD apresentaram hipertrofia concêntrica, no entanto, nos animais 2R1C SAF 3%, a hipertrofia cardíaca foi excêntrica. A AF aboliu a hipertrofia nos ratos 2R1C SAF 0%.

Os níveis séricos de uréia nos ratos SD (SHAM e 2R1C) foram similares, no entanto, a AF (0% e 3%) reduziu estes níveis em ambos os grupos SHAM e 2R1C. Não houve diferença nos níveis séricos de creatinina entre os animais (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C. Os animais 2R1C apresentaram cinética dos níveis de lactato diferente e prejudicada em relação aos animais SHAM. Os animais 2R1C SD apresentaram uma menor relação de produção/ remoção do lactato sanguíneo em relação aos animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) e 2R1C (SAF 0% e SAF 3%).

Estes dados sugerem que a AF com e sem carga reduzem a PAM e FC basais e restabelecem a reatividade neuronal ao A-779 na CVLM. No entanto, a AF sem carga restaura a sensibilidade da bradicardia reflexa e impede a hipertrofia cardíaca patológica em ratos com hipertensão 2R1C.

ABSTRACT

In hypertension, caudal ventrolateral medulla neurons (CVLM) are unable to counteract the increased intrinsic activity of rostral ventrolateral medulla neurons. Besides, the increased activity of renin angiotensin system (RAS) represents an important humoral change that promotes hypertension, raising the sympathetic vasomotor tonus and impairing the baroreflex sensibility.

Physical activity of low and moderate intensity has been used associated to a pharmacological treatment as a non pharmacological treatment, reducing or restoring the alterations promoted by the high arterial pressure level (AP). The present study aimed to evaluate the contribution of swimming, with or without load, in different cardiovascular parameters in a rat model of hypertension 2 kidney 1 clip (2K1C).

Male Fisher rats (9 to 11 weeks), weighing 150 to 200 g, were used. The surgeries (SHAM or 2K1C) were performed under anesthesia (mixture of ketamine and xilazine). Four days later, rats were separated in three experimental groups: sedentary (SD), submitted to physical activity without (SPA 0%) and with load (SPA 3%). Physical activity was performed during five weeks (one hour per day, five days per week) and the mean arterial pressure (MAP) was measured weekly by tail cuff method. 48 h after the last session of physical activity, the animals were anesthetized (uretana) and MAP and heart rate (HR) were continuously measured (Powerlab system) in different group of rats.

Basal MAP levels of 2K1C SD rats were higher than SHAM SD and similar to 2K1C SPA (0% and 3%) rats. However, MAP of 2K1C SPA 0% and 2K1C SPA 3% rats were also similar to SHAM SD rats. Reductions in basal HR were observed in 2K1C SPA 0% and 2K1C SPA 3% groups in comparison to 2K1C SD rats.

The bradycardia baroreflex sensibility was determined through alterations in blood pressure (BP) assessed through i.v. bolus injection of phenylephrine. The baroreflex bradycardia in 2K1C SD was reduced compared to SHAM SD rats. However, physical activity restored the baroreflex bradycardia in 2K1C SPA 0%, but not in 2K1C SPA 3% rats.

The hypotension effect produced by microinjection of Ang-(1-7) in the CVLM was similar among all groups SHAM and 2K1C (SD, SPA 0% and SPA 3%). However, the microinjection of a receptor antagonist of Ang-(1-7), A-779, in the CVLM produced a significant hypotensive effect in 2K1C group. A-779 injected in the CVLM produced similar effect on MAP compared to saline in 2K1C SPA 0% and 2K1C SPA 3% and in SHAM (SD, SPA 0% and SPA 3%) rats. Otherwise, the microinjection of A-779 in the CVLM increased the bradycardia baroreflex sensibility in 2K1C SD and 2K1C SPA 3% rats. The microinjection of A-779 blunted the Ang-(1-7) effect in all experimental groups (SD, SPA 0% and SPA 3%) SHAM and 2K1C, for up to 15 minutes.

The percentage of reduction of the dry weight of the kidneys of the animals 2K1C (SD, SPA 0 % and SPA 3 %) was higher than the presented on SHAM SD rats. However, the percentage of reduction of the dry weight of the kidneys of the 2K1C (SD, SPA 0% and SPA 3%) was similar between the 2K1C SD and 2K1C SPA 0% and smaller in 2K1C SPA 3% compared to 2K1C SD animals.

The morphological cardiac analysis showed that the 2K1C SD animals presented concentric hypertrophy, however, in the 2K1C SPA 3% animals, the cardiac hypertrophy was eccentric. However, physical activity abolished the hypertrophy in 2K1C SPA 0% rats.

Plasma levels of urea in SD, SHAM and 2K1C rats were similar; however, physical activity (0% and 3%) reduced these levels in SHAM and 2K1C rats. There was no differences in plasma levels of creatinina. The 2K1C animals presented an impaired and different kinetic of the lactate in comparison to SHAM groups. The animals 2K1C SD presented a lower production/ removal ratio of blood lactate than SHAM (SD, SPA 0% and SPA 3%) and 2K1C (SPA 0% and SPA 3%) animals.

These data suggest that physical activity with and without load reduce basal MAP and HR and restores the neuronal reactivity of the A-779 in the CVLM. However physical activity without load restores the sensibility of bradycardia baroreflex and prevents the cardiac pathological hypertrophy in 2K1C hypertensive rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Foto Ilustrativa da implantação do clipe de prata na artéria renal esquerda.	15
Figura 2: Protocolo de AF aos quais foram submetidos os ratos SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).	16
Figura 3: Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.	17
Figura 4: Esquema utilizado para avaliação da sensibilidade da bradicardia reflexa.....	20
Figura 5: Esquema do local das microinjeções na CVLM de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	21
Figura 6: Protocolo para avaliação da sensibilidade da bradicardia reflexa em ratos (SAF 0% SAF3% e SD) SHAM ou 2R1C..	28
Figura 7: Protocolo para avaliação dos efeitos cardiovasculares produzidos pelas microinjeções de Ang-(1-7) e A-779, em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C..	29
Figura 8: Registros típicos de PAP, FC e PAM de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C	31
Figura 9: PAM e FC basais em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C	32
Figura 10: Alterações no índice de sensibilidade da bradicardia reflexa em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C	34
Figura 11: Alterações no índice de sensibilidade da bradicardia reflexa após a microinjeção de A-779 na CVLM em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	36
Figura 12: Registros típicos das alterações de PAP, PAM e FC produzidas pelas microinjeções de Salina, Ang-(1-7) e A-779 na CVLM de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	39
Figura 13: Alterações da PAM e FC produzidas por microinjeções de salina , Ang-(1-7) e A-779 na CVLM em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C	40
Figura 14: Efeito do A-779 na CVLM sobre microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) na CVLM na PAM e FC em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	43
Figura 15: Fotografia e diagrama da superfície ventral do bulbo ilustrando a localização típica das microinjeções na CVLM.	45
Figura 16: PAM mensurada através de pletismografia de cauda em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	47
Figura 17: Fotos ilustrativas dos rins dos ratos 41 dias após cirurgias SHAM ou 2R1C.....	49
Figura 18: Alterações do peso seco relativo dos rins esquerdos e rins direitos em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	49
Figura 19: Avaliação do % de redução do peso seco do rim esquerdo em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C	50

Figura 20: Fotomicrografias da região medular do rim esquerdo de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) dos grupos SHAM ou 2R1C (clipado).....	53
Figura 21: Fotomicrografias da região cortical do rim direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) dos grupos SHAM ou 2R1C (não-clipado).....	54
Figura 22: Luz tubular do rim esquerdo e direito em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	55
Figura 23: Espaço da cápsula de Bowman do rim esquerdo e direito em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	56
Figura 24: Alterações no peso seco relativo do coração e ventrículos em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	58
Figura 25: Análise quantitativa da espessura da parede do ventrículo esquerdo e direito, luz do ventrículo esquerdo e direito e RP/ L do ventrículo esquerdo de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	62
Figura 26: Fotomicrografias de vasos cardíacos de ratos dos grupos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	64
Figura 27: Espessura da parede vascular cardíaca de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	65
Figura 28: Contagem de células no miocárdio de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	66
Figura 29: Determinação do limiar anaeróbico pelo teste incremental de natação, em ratos SHAM e 2R1C.....	68
Figura 30: Concentração de lactato sanguíneo até 30 minutos de natação com sobrecarga fixa (3% do peso corporal) em ratos SHAM e 2R1C.....	70
Figura 31: Concentração de lactato sanguíneo após 30 minutos de natação com carga fixa (3% do peso corporal) em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores basais de PAM e FC e índice de correlação da regressão linear da avaliação da bradicardia reflexa antes e após a microinjeção do A-779 em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	37
Tabela 2: Alterações na PAM após microinjeções de Ang-(1-7), A-779 e salina na CVLM em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	41
Tabela 3: Alterações na FC após microinjeções de Ang-(1-7), A-779 e salina na CVLM em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	41
Tabela 4: Alterações da PAM e FC produzidas pelas microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) na CVLM antes e após a microinjeção do A-779 na CVLM de ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).	44
Tabela 5: Alterações da PAM e FC produzidas pela microinjeção sucessivas de Ang-(1-7) antes e após a microinjeção do A-779 na CVLM de ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).	44
Tabela 6: Valores de PAM mensurada através da pletismografia de cauda em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	47
Tabela 7: Valores do peso seco dos rins e valores do % de redução do peso seco do rim esquerdo em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	50
Tabela 8: Luz dos túbulos renais em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	55
Tabela 9: Espaço da cápsula de Bowman do rim esquerdo e direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	56
Tabela 10: Peso seco relativo dos coração, ventrículos e comprimento da tíbia em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	59
Tabela 11: Espessura da parede do ventrículo esquerdo e direito em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	63
Tabela 12: Luz do ventrículo esquerdo e direito em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	63
Tabela 13: Espessura da parede vascular cardíaca e luz dos vasos cardíacos em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	65
Tabela 14: Concentração sérica de uréia e creatinina em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.	67
Tabela 15: <i>Concentrações de lactato sanguíneo durante teste incremental de natação em ratos SHAM ou 2R1C.</i>	69
Tabela 16: Valores de lactato sanguíneo por até 30 minutos de natação com sobrecarga fixa (3% do peso corporal) em ratos SHAM ou 2R1C.	70
Tabela 17: Valores de lactato sanguíneo após 30 minutos de natação com carga fixa (3% do peso corporal) em ratos SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).	71

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	micrograma
µL	microlitro
µm	micrômetro
2R1C	hipertensão renal do tipo dois-rins, um clip de Goldblatt
A-779	antagonista específico da Ang-(1-7)
AF	atividade física
Ang II	angiotensina II
Ang-(1-7)	angiotensina-(1-7)
ANOVA	análise de variância
AT ₁	receptores angiotensinérgicos do tipo 1
AT _{1A}	receptores angiotensinérgicos do tipo 1, subtipo A
AT _{1B}	receptores angiotensinérgicos do tipo 1, subtipo B
AT ₂	receptores angiotensinérgicos do tipo 2
AVE	acidente vascular encefálico
bpm	batimentos por minuto
CVLM	bulbo ventrolateral caudal
DC	débito cardíaco
dL	decilitro
ECA	enzima conversora de angiotensina
EPM	erro padrão da média
FC	freqüência cardíaca
FCb	freqüência cardíaca basal
FCp	freqüência cardíaca pulsátil
HA	hipertensão arterial
HDL	lipoproteínas de alta densidade
i.p.	intraperitonal
i.v.	intravenosa
mmol/ L	milimol por litro
mmHg	milímetros de mercúrio
NA	núcleo ambíguo
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase
OMS	organização mundial de saúde
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial diastólica

PAM	pressão arterial média
PAP	pressão arterial pulsátil
PAS	pressão arterial sistólica
RVP	resistência vascular periférica
RVLM	bulbo ventrolateral rostral
SAF	submetidos à atividade física
SHAM	cirurgia fictícia, grupo normotenso, controle
SHR	rato espontaneamente hipertenso
SNA	sistema nervoso autônomo
SNP	sistema nervoso parassimpático
SNS	sistema nervoso simpático
SRA	sistema renina angiotensina
UI	unidades internacionais
VLDL	lipoproteína de muito baixa densidade
Δ	delta, variação

SUMÁRIO

RESUMO.....	VI
ABSTRAT	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XIII
1 – INTRODUÇÃO.....	4
REVISÃO DA LITERATURA.....	6
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo Geral.....	13
2.2. Objetivos Específicos.....	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1. Animais.....	14
3.2. Cirurgia para o Desenvolvimento da Hipertensão Renovascular.....	14
3.3. Atividade Física.....	15
3.4. Avaliação Indireta da PAM Através de Pletismografia de Cauda	17
3.5. Avaliação do Peso Corporal.....	18
3.6. Confeção de Cânulas Vasculares	18
3.7. Procedimentos Cirúrgicos.....	18
3.7.1. Anestesia.....	18
3.7.2. Traqueostomia.....	18
3.7.3. Canulação e Isolamento de Artéria e Veia Femorais.....	19
3.7.4. Exposição do Bulbo para Realização de Microinjeções na CVLM.....	19
3.8. Registro Direto da PAM e FC.....	19
3.9. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Barorreflexa	20
3.10. Procedimentos de Microinjeções na Superfície Ventrolateral Caudal do Bulbo.....	21
3.11. Coleta de Órgãos e Tecidos e Análise Histológica.....	22
3.12. Coleta de Plasma.....	23
3.13. Dosagens de Creatinina.....	24
3.14. Dosagens de Uréia	24

3.15. Dosagem de Ácido Lático	24
3.15.1. Teste do Lactato Mínimo ou Limiar Anaeróbico	25
3.15.2. Teste de Esforço com Carga Fixa – Estabilização do Lactato	26
3.15.3. Efeito da Natação por 5 Semanas sobre o Lactato Sanguíneo - Lactato Final	26
3.16. Drogas Utilizadas	26
3.16.1. Anestésicos:.....	26
3.16.2. Demais Drogas:.....	27
3.16.3. Kits e Reagentes:.....	27
3.17. Preparo de Soluções.....	27
3.18. Protocolos Experimentais	27
3.18.1. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Reflexa	27
3.18.2. Efeitos Cardiovasculares Produzidos pela Microinjeção de Ang-(1-7) e A-779 no Bulbo Ventrolateral Caudal.....	28
3.19. Análise Estatística.....	29
4. RESULTADOS	30
4.1. Avaliação Direta dos Parâmetros Cardiovasculares.....	30
4.1.1. Níveis Basais de PAM e FC	30
4.1.2. Avaliação da Bradicardia Reflexa	33
4.1.3. Efeito do A-779 na CVLM sobre a Bradicardia Reflexa	35
4.2. Avaliações Cardiovasculares após Microinjeções na CVLM	38
4.2.1. Efeito da Microinjeção de Ang-(1-7) e A-779 na CVLM sobre a PAM e FC	38
4.2.2. Bloqueio do Receptor da Ang-(1-7) na CVLM.....	42
4.3. Análise Histológica da CVLM.....	45
4.4. Avaliação de Diferentes Parâmetros da Hipertensão Renovascular.....	46
4.4.1. Evolução da PAM após Cirurgia para Produção da Hipertensão Renovascular 2R1C.....	46
4.4.2. Avaliação do Peso Seco dos Rins	48
4.4.3. Avaliação Histológica dos Rins.....	51
4.4.4. Avaliação do Peso Seco do Coração	57
4.4.5. Avaliação Histológica do Coração	59
4.4.6. Avaliação dos Níveis Séricos de Uréia e Creatinina	66
4.5. Estudo do Lactato Sanguíneo	67
4.5.1. Teste do Lacto Mínimo ou Limiar Anaeróbico.....	67
4.5.2. Teste de Verificação da Estabilização do Lactato.....	69
4.5.3. Teste de Verificação do Efeito da Natação sobre o Lactato Sanguíneo (lactato final)	71

5. DISCUSSÃO.....	72
5.1. Avaliação de Parâmetros Cardiovasculares.....	73
5.1.1. Pletismografia de Cauda	73
5.1.2. Níveis Basais de PAM e FC	74
5.1.3. Avaliação da Bradicardia Reflexa	75
5.1.4. Efeito do A-779 na CVLM sobre a Bradicardia Reflexa	76
5.1.5. Efeito do A-779 na CVLM sobre a PAM.....	77
5.2. Avaliação de Diferentes Parâmetros da Hipertensão Renovascular.....	79
5.2.1. Avaliação do Peso Corporal	79
5.2.2. Avaliação do Peso Seco e Histologia dos Rins.....	79
5.2.3. Avaliação do Peso Seco e Histologia do Coração	81
5.2.4. Avaliação da Uréia e Creatinina Plasmática	84
5.3. Estudo do Lactato Sanguíneo	84
5.3.1. Avaliações do Lacto Sanguíneo	85
6. SUMÁRIO e CONCLUSÕES	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS.....	102
A. Avaliação do peso corporal	102
B. PAM e FC basais.....	103
C. Análise histológica semi-quantitativas dos rins.....	104

1 – INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a hipertensão arterial (HA) é a terceira maior causa de morte no mundo, sendo que a cada oito óbitos que ocorrem um é causado por esta patologia (Coelho, 2003). No Brasil, 30% da população urbana adulta é hipertensa (SBH, 2006). A HA é uma síndrome multifatorial e a sua prevalência na população mundial, reforça o motivo pelo qual ela é considerada um dos principais fatores de risco de todas as doenças cardíacas (Polito e cols., 2003).

Crescentes buscas pelo maior entendimento da gênese e desenvolvimento da HA e suas complicações, vem ampliando os recursos terapêuticos direcionados ao tratamento e/ou prevenção da mesma (Ferrario, 2005). De acordo com Furtado (1992), o tratamento farmacológico, por si só, apesar de reduzir a PA e a incidência de algumas de suas complicações, como o acidente vascular encefálico (AVE), não previne a incidência, nem a mortalidade decorrente de doença coronária. Ademais, o uso de fármacos além de poder representar um custo financeiro adicional e muitas vezes não acessível à população mais carente, causa também efeitos adversos como o efeito hiperuricemiante (promovido pelos tiazídicos) (Furtado, 1992), aumento do colesterol total, VLDL e triglicérides plasmáticos, diminuição sérica dos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e resistência à insulina (promovidos pelos β -Bloqueadores) (Reneland e cols., 2000, e Reiter, 2004).

Em diversas formas de HA, dentre as quais a hipertensão renovascular está incluída, há uma relação com o desequilíbrio pressor e depressor crônico no bulbo (Heesch, 1999). Parte deste desequilíbrio surge a partir de uma inabilidade dos neurônios do bulbo ventrolateral caudal (CVLM) em contrabalancear o aparente aumento da atividade intrínseca dos neurônios do bulbo ventrolateral rostral (RVLM) em animais hipertensos (Carvalho e cols., 2003 e Pinho e cols., 2006). O aumento da atividade do sistema renina angiotensina (SRA) plasmático, tecidual e cerebral também representa uma importante alteração hormonal. A hiperatividade do SRA leva à hipertensão, ao aumento do tônus vasomotor simpático e ao prejuízo na função barorreflexa, por possuir importantes interações com neurônios no bulbo ventrolateral (Oliveira e cols., 1996, Cervenka e cols. 2002, Pladys e cols., 2004 e Wang e cols., 2005).

A adoção de bons hábitos higieno-dietéticos, tais como a redução do peso corporal, diminuição da ingestão de sódio e gorduras, redução ou descontinuação do uso de álcool e cigarro e a realização de atividades físicas (AF) regulares, compreendem inserções não-medicamentosas que impedem o desenvolvimento da HA ou dão suporte ao tratamento farmacológico, promovendo benefícios em todos os níveis de hipertensão (Furtado, 1992 e ACSM, 2004).

A AF realizada cronicamente provoca importantes adaptações autonômicas, hemodinâmicas e humorais que influenciam o sistema cardiovascular (Rondon e Brum, 2003), como redução do tônus simpático e melhora da sensibilidade barorreflexa (Krieger e cols., 1999, Brum e cols., 2000, Negrão e cols., 2001 e Rodrigues e cols., 2007) e menor atividade do SRA, com reduções nos níveis de renina (Hayashi e cols., 2000), Ang II, aldosterona e vasopressina plasmática (Braith e cols., 1999).

Programas de exercícios que envolvem principalmente atividades de exercício aeróbico (endurance) têm-se mostrado eficientes no controle e redução da PA em homens hipertensos (Jennings e cols., 1986, Hagberg e cols., 1987, Kinoshita e cols., 1989 e Fagard, 2001).

Apesar dos conhecimentos atuais conferirem uma grande importância à AF regular, no que concernem seus benefícios à saúde e em especial ao controle da PA, ainda há muito que se investigar em relação aos mecanismos envolvidos na redução da PA, uma vez que estes mecanismos podem envolver adaptações neurohumorais, vasculares e estruturais (ACSM, 2004).

Assim, considerando que a AF possa contribuir na prevenção ou na redução dos níveis de HA, o presente estudo investigou a contribuição da natação, sem ou com carga, sobre a sensibilidade da bradicardia reflexa, sobre a reatividade neuronal para Ang-(1-7) na CVLM e sobre possíveis alterações histológicas no coração e rins de ratos com hipertensão renal 2R1C.

REVISÃO DA LITERATURA

O sistema cardiovascular tem como primordial função suprir adequadamente os órgãos e tecidos de sangue. Este sistema é constituído de sistema de vasos arteriais e venosos e por uma bomba propulsora de sangue, o coração. O fornecimento de sangue é realizado através da diferença entre a pressão da árvore arterial e venosa, no entanto como a pressão venosa central (PVC) se mantém próxima de zero, conseqüentemente a pressão arterial média (PAM) constitui o elemento principal para garantir a função cardiovascular adequada (Guyton, 1985 e Constanzo, 1999).

O controle da pressão arterial (PA) ocorre através de mecanismos complexos que envolvem o sistema nervoso, renal e diversos mecanismos hormonais, em curto e longo prazo (Guyton, 1985 e Constanzo, 1999). A manutenção da PA dentro de uma faixa estreita de variação é mantida graças a ajustes finos de seus determinantes que são o débito cardíaco (DC) e resistência periférica total (RPT).

Entre os sistemas de controle em longo prazo da PA o mais amplamente estudado é o sistema renina angiotensina (SRA), por ser um importante regulador fisiológico da PA e do equilíbrio hidro-eletrolítico. Classicamente, o SRA tem sido visto como um sistema hormonal circulante que se inicia com a biossíntese da enzima renina nas células justaglomerulares das arteríolas renais aferentes, próxima à porção inicial do túbulo distal (Dzau, 1986). A renina cliva o angiotensinogênio produzido no fígado, formando o decapeptídeo inativo Ang I, que é posteriormente processado pela enzima conversora de angiotensina (ECA) formando o octapeptídeo Ang II (Kusserow e Unger, 2004).

Atualmente, além da Ang II outros peptídeos angiotensinérgicos são conhecidos por desempenharem uma variedade de atividades biológicas e neurobiológicas: tais como os produtos ativos carboxi-terminal da Ang II, Ang III, Ang IV e amino-terminal, Ang-(1-7) (Ferrario, 1990, Santos e Campagnole, 1994 e Santos e cols., 2000).

Entretanto, nos últimos anos, componentes do SRA têm sido identificados por técnicas de bioquímica e de biologia molecular em tecidos como o coração, vasculatura, rins, tecido adiposo, cérebro e glândulas endócrinas, sendo conceituados como SRA tecidual ou local (Santos e cols., 2000, Carrey e Siragy, 2003, Kusserow e Unger, 2004 e Ferrario e Strawn, 2006). O SRA humoral tem sua atividade aumentada principalmente pela redução do fluxo sanguíneo renal, estimulação simpática e redução da carga filtrada de sódio (Ferrario e cols., 1998 e Gasparo e cols., 2000).

As ações da Ang II e dos demais peptídeos angiotensinérgicos são mediadas por múltiplos receptores localizados na membrana plasmática de suas células alvo, em várias espécies. A multiplicidade desses receptores foi demonstrada com base em diferenças farmacológicas e confirmada por clonagem (Gasparo e cols., 2000, Santos e cols., 2000).

A Ang II se liga a dois subtipos de receptores distintos, AT1 e AT2, sendo o receptor AT1 o responsável pela maioria dos efeitos cardiovasculares que podem levar a hipertensão (Kusserow e Unger, 2004). A Ang II promove ações proliferativas e pró-fibróticas (Ferrario e Straw, 2006), através do aumento do tônus da musculatura lisa ou indiretamente pelo aumento da liberação de noradrenalina. Além disso, ativação dos receptores AT1 pode promover mudanças neuroendócrinas, como a ativação do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal, que estão associadas com a hipertensão essencial (Johren e cols., 2004).

Martinez e cols. (2002) mostraram que o antagonista de receptor AT1, losartan, administrado intraperitonealmente preveniu o aumento do efeito vascular promovido pela Ang II em rins isolados de ratos hipertensos. Além disso, este efeito do losartan foi associado com a restauração da expressão do RNAm da óxido nítrico sintase (NOS) e da atividade da NOS na vasculatura renal. Estes dados sugerem que durante o desenvolvimento da hipertensão, a Ang II inibe a expressão do RNAm da NOS, reduzindo o tônus vasodilatador promovido pelo óxido nítrico (NO) e aumentando a sensibilidade de agentes vasoconstritores na circulação renal.

Apesar dos receptores AT2 serem amplamente distribuídos no período fetal, sua expressão em adultos ocorre em órgãos como o cérebro, medula adrenal, rins e ovários (Johren e cols., 2004). A estimulação do receptor AT2 promove vasodilatação, via liberação de NO/ GMPc, inibição do crescimento do músculo liso vascular e apoptose celular (Thomas e Mendelsohn, 2003 e Kusserow e Unger, 2004).

O aumento na ocorrência dos receptores AT2 tem sido descritos em processos patológicos periféricamente (Nio e cols., 1995 e Wharton e cols., 1998) e centralmente em áreas importantes do controle cardiovascular (Lenkei e cols., 1997). Estudos mais recentes mostraram elevação da PAM em camundongos deficientes de receptores AT2, sugerindo um direto ou indireto papel dos receptores AT2 no controle cardiovascular e/ ou na homeostase dos fluídos corporais por meio de ações opostas às ações da Ang II mediadas pelos receptores AT1 (Johrem e cols., 2004).

A Ang-(1-7) é um heptapeptídeo que pode ser formada a partir da Ang I por endopeptidase neutra ou a partir da Ang II pela ECA 2 (Donaghue e cols., 2000 e Tipnis e cols., 2000). Alternativamente, a ECA2 pode clivar a Ang I em Ang-(1-9) que sofre ação da ECA formando a Ang-(1-7) (Thimothy, 2006). Vários estudos têm documentado a participação deste peptídeo do SRA sobre a função cardíaca (Fontes e cols., 1994, Santos e Campagnole, 1994, Gironacci e cols., 2000, Clark e cols., 2001 e Alzamora e cols., 2002 e 2006).

Em estudos anteriores, Santos e cols. (1996) observaram que a Ang-(1-7) possui um potente efeito antidiurético em ratos e que este efeito foi completamente bloqueado pelo

seu antagonista específico, o A-779. Recentemente um receptor ligado à proteína G, denominado receptor Mas, foi identificado como receptor endógeno da Ang-(1-7) (Santos e cols., 2003). Santos e cols. (2003) mostraram que a deleção genética desse receptor aboliu a ligação de Ang-(1-7) e que a aorta desses animais reduziu sua capacidade de relaxamento em resposta à administração de Ang-(1-7). Em estudos anteriores, Santos e cols. (1996) observaram que a Ang-(1-7) possui um potente efeito antidiurético em ratos e que este efeito foi completamente bloqueado pelo seu antagonista específico, o A-779.

Diversos trabalhos têm mostrado que a Ang-(1-7) pode atuar de maneira à contraregular as ações hemodinâmicas da Ang II (Gironacci e cols., 2000, Clark e cols., 2001 e Walters e cols., 2005). Esta ação contraregulatória tem sido descrita centralmente (Gironacci e cols., 2000) e periféricamente (Walters e cols. e 2005 e Gironacci e cols., 2007). Estes estudos sugerem a interação do receptor Mas para Ang-(1-7) com receptores AT₂, envolvendo mecanismos dependentes da bradicinina/ NO.

O barorreflexo é o principal mecanismo em curto prazo pelo qual o sistema nervoso central (SNC) regula a PA, momento a momento. As fibras barorreceptoras aferentes, localizadas no seio carotídeo e arco aórtico (Sved e Gordon, 1994 e Dampney e cols. 2002), se projetam para o bulbo, no núcleo do trato solitário (NTS), que integra os sinais periféricos com sinais que chegam de outras regiões como diencéfalo e telencéfalo, (Feldman e Ellemberger, 1988) para determinar a atividade do sistema nervoso autônomo (SNA). Vários estudos mostraram a existência de projeção excitatória do NTS para o bulbo ventrolateral (VLM) caudal (CVLM), a qual promove uma inibição sobre a região simpato-excitatória do VLM rostral (RVLM), através de uma via neuronal ascendente. Existe uma conexão entre a CVLM e o núcleo ambíguo (NA) e o motor do vago, permitindo a modulação dessa área, sobre a FC, através do sistema nervoso parassimpático (SNP) (McKittrick e Caleresu, 1997).

Os neurônios do VLM são modulados por peptídeos do SRA. O cérebro não é completamente independente do SRA periférico, uma vez que a angiotensina formada periféricamente pode interagir com o cérebro em regiões desprovidas de barreira hematoencefálica (Halbach, 2006).

Na hipertensão parece haver um desequilíbrio entre neurônios pressores e depressores, ou seja, uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aparente aumento da atividade pressora intrínseca dos neurônios da RVLM em animais hipertensos (Carvalho e cols., 2003). Hu e cols. (2002) mostraram um aumento na expressão de receptores AT₁ na RVLM de ratos hipertensos. Microinjeções de peptídeos angiotensinérgicos na RVLM promovem um efeito pressor associado com o aumento na atividade nervosa renal (Dampney, 1994 e Santos e Campagnole, 1994). A Ang II microinjetada na RVLM e na CVLM age como um agente excitatório, tanto em animais

anestesiados (Muratani e cols, 1993, Sesoko e cols., 1995, Averill e Diz, 2000, Alzamora e cols., 2002 e 2006) quanto em animais acordados (Fontes e cols.1997, Becker e cols., 2005).

Silva e cols. (1993) mostraram que microinjeções de Ang II e Ang-(1-7) na CVLM produzem uma resposta depressora em ratos anestesiados. Alzamora e cols. (2002) mostraram que o efeito hipotensor produzido por microinjeções de Ang II na CVLM depende principalmente de mudanças no tônus vascular adrenérgico, enquanto o efeito hipotensor de Ang-(1-7) envolve um mecanismo relacionado ao NO. Posteriormente, Alzamora e cols. (2006) mostraram que microinjeções de Ang II e Ang-(1-7) na RVLM não alteraram os componentes bradicárdico e taquicárdico do controle barorreflexo de FC. Entretanto, as microinjeções na CVLM desses peptídeos angiotensinérgicos induziram diferentes alterações no controle barorreflexo da FC. A microinjeção de Ang II na CVLM atenuou a taquicardia e melhorou a bradicardia barorreflexa, por outro lado, a microinjeção de Ang-(1-7) na CVLM, atenuou a bradicardia e melhorou a taquicardia barorreflexa. Dados recentes de nosso laboratório (Rodrigues e cols., 2007), mostraram uma alteração na responsividade dos receptores AT₂ nos neurônios da CVLM em ratos com hipertensão.

Os barorreceptores são capazes de se adaptarem a um novo “set point” e exercerem sua função em níveis mantidos de PA alta ou baixa. Diversos trabalhos têm mostrado o processo de adaptação deste novo “set point” dos barorreceptores para níveis mais elevados de PA nos hipertensos. Se a PA permanecer elevada por algum tempo, a sensibilidade do barorreflexo estará diminuída (Mc Cubbin e cols., 1956, Krieger e cols., 1987 e Kumada e cols., 1990). De acordo com Heesch (1999), este novo “set point” crônico pode contribuir para a manutenção da hipertensão.

A hipertensão renal experimental pode ser conseguida pela renofrectomia total ou parcial (renopriva) estenose renal, perinefrite, oclusão e desocclusão do pedículo renal, nefrectomia e coartação da aorta (Fazan Jr. e cols., 2001). Nesses modelos de hipertensão, o aumento da PA é associado, ao menos inicialmente, com o aumento dos níveis séricos de renina e Ang II (Fazan Jr. e cols., 2001). A estenose arterial renal é a principal causa da hipertensão renovascular. Este tipo de hipertensão pode ser produzido pela constrição parcial de uma artéria renal enquanto o rim contralateral é mantido intacto (hipertensão renal 2 rins e 1 clipe - 2R1C).

O modelo 2R1C de Goldblatt tem se mostrado eficiente para o estudo da hipertensão e suas complicações (Shaible e cols., 1984, Kobayashi e cols., 1999, Bursztyn e cols., 2001, Wang e cols., 2001, Wang e cols. 2005 e Rodrigues e cols., 2007). Em ratos, a hipertensão 2R1C apresenta um aumento gradual e crônico da PA, ocorrendo seu platô após 2 semanas (Leenen e de Jong, 1971).

As injúrias nos órgãos-alvo no modelo 2R1C são dependentes do grau da estenose e usualmente incluem disfunção endotelial, hipertrofia cardíaca (de 20 a 50 % de aumento no tamanho do coração) e hipertrofia do rim contralateral exposto à hipertensão (Akabane e cols., 1985 e Pinto e cols., 1998).

Estudos mostraram que a relação entre o desenvolvimento e manutenção dos níveis de HA e da Ang II no modelo de hipertensão 2R1C são semelhantes em várias espécies (Johns e cols., 1996, Duka e cols., 2001 e Lazartigues e cols., 2004). Lazartigues e cols. (2004) mostraram aumentos nos níveis plasmáticos de Ang II a partir da primeira semana da cirurgia 2R1C em camundongos. No entanto, um mês após a cirurgia 2R1C ocorreu uma redução nos níveis plasmáticos de Ang II. Por outro lado, os níveis cerebrais de Ang II, se encontravam aumentados na fase crônica da hipertensão renovascular desses animais. Sugerindo um papel importante da ativação do SRA cerebral nesse modelo de HA.

Atualmente, já está bem estabelecido que a atividade física regular está associada com efeitos benéficos no sistema cardiovascular. Haapanem e cols. (1997) mostraram uma significativa associação da redução no risco de ocorrências hipertensivas, em homens, que caminhavam até o trabalho e faziam atividades físicas no horário de lazer. Blair e cols. (1984) mostraram que pessoas com baixo condicionamento físico tiveram um risco relativo de 1,5 para o desenvolvimento de hipertensão quando comparadas com pessoas altamente condicionadas. Em outro estudo, Sawada e cols. (1993) confirmaram o risco de hipertensão relacionado ao condicionamento físico. Esses pesquisadores mostraram que o grupo de homens com menor condicionamento, teve 1,9 vezes aumentado o risco de hipertensão comparado com o outro grupo melhor condicionado fisicamente.

Diversos estudos (Rondon e Brum, 2003, Irigoyen e cols., 2003 e ACSM, 2004) mostraram que as reduções na PA após o treinamento são mediadas por adaptações estruturais e neurohumorais, como uma menor atividade nervosa simpática (Duncan e cols., 1985). Meredith e cols. (1991) observaram que as reduções na noradrenalina plasmática após treinamento aeróbico estavam relacionadas à menor liberação e não ao aumento da depuração no organismo de noradrenalina, sugerindo uma diminuição do tônus simpático.

Reduções na PA, após AF, também estão relacionadas a uma menor atividade do SRA, com reduções nos níveis de renina (Hayashi e cols., 2000), Ang II, aldosterona e vasopressina plasmática (Braith e cols., 1999).

Relacionado às mudanças estruturais advindas do treinamento físico, Dineno e cols. (2001) mostraram que indivíduos treinados têm uma maior luz arterial do que aqueles sem treinamento. No entanto Ferrier e cols. (2001) citam que o treinamento, em curto prazo, parece não aumentar a complacência arterial em indivíduos com hipertensão sistólica, justificando a adoção de um programa de AF regular como forma de estilo de vida

e não simplesmente como atividade esporádica e sazonal. Amaral e cols. (2001) em estudo com ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e Wistar Kyoto (WKY) submetidos a treinamento aeróbico (50 a 60 % do VO_2 máx – capacidade aeróbica máxima) por 13 semanas, observaram significativo aumento na densidade e no diâmetro da luz dos vasos somente nos ratos SHR treinados. Além disso, o grupo treinado apresentou aumento de 2 vezes na densidade venular correlacionado à redução na PAM.

A complexidade das diversas variações e associações dos componentes da AF aeróbica, como o tipo de atividade, duração, volume, frequência e intensidade, trazem inúmeros questionamentos de como, quanto e qual a melhor forma de combinação desses componentes para produzir uma resposta positiva e/ ou esclarecedora dos possíveis mecanismos envolvidos.

Atualmente, grande parte das pesquisas relacionadas à AF e ao sistema cardiovascular, tem mostrado de forma geral, que a AF aeróbica de baixa a moderada intensidade é mais eficiente no controle e aprimoramento das funções cardiovasculares (Hagberg e cols. 1987, Krieger e cols., 1999, Negrão e cols., 2001 e Gobatto e cols., 2001).

Em um estudo realizado por Véras-Silva e cols. (1997) foi mostrado que as adaptações de ratos SHR ao treinamento em esteira ergométrica de baixa e alta intensidade, reduziram significativamente a FC de repouso, DC, PAS, PAD e PAM somente para os ratos treinados em baixa intensidade. Semelhantemente, Medeiros e cols. (2000), ao avaliarem a bradicardia de repouso de ratos normotensos (não anestesiados), submetidos à natação de moderada intensidade, constataram uma redução na FC de repouso relacionada ao treinamento. Em contrapartida, Tipton e cols. (1984), não observaram uma redução significativa da FC de repouso em ratos SHR não anestesiados, apesar da redução significativa da PAM e DC após treinamento entre 40 e 70% do VO_2 máx.

Já está bem estabelecido que o exercício físico melhora as anormalidades na função barorreflexa em pacientes com hipertensão (Somers e cols. 1991) bem como em ratos SHR (Silva e cols., 1997 e Brum e cols., 2000). Brum e cols (2000) sugerem que a melhora da sensibilidade barorreflexa pelo treinamento físico pode estar relacionada a maior sensibilidade do nervo depressor aórtico. Estudos recentes realizados em nosso laboratório (Rodrigues e cols., 2007) mostraram uma efetiva redução na PA e restabelecimento da sensibilidade bradicárdica barorreflexa em ratos 2R1C treinados por meio de natação de baixa a moderada intensidade durante 4 semanas.

Dentre as diversas modalidades esportivas existentes, a natação tem sido cada vez mais prescrita como tratamento coadjuvante e não-farmacológico da hipertensão, obesidade e coronariopatias (Medeiros e cols., 2000). O uso de protocolos de treinamento de natação em ratos apresenta algumas vantagens sobre os protocolos de corrida em

esteira, uma vez que a natação é uma habilidade natural do rato (Gobatto e cols., 2001 e APS, 2006), utiliza equipamentos baratos e simples e é menos traumática para o animal, permitindo mensurar respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares ao exercício agudo e crônico (APS, 2006).

Apesar de já estar bem documentado os benefícios da AF em melhorar a sensibilidade do controle reflexo da FC, poucos estudos avaliaram alterações na principal área central moduladora do barorreflexo, a CVLM, em animais submetidos à AF. Dados recentes de Rodrigues e cols. (2007), em nosso laboratório, em ratos com hipertensão renovascular 2R1C, mostraram que a natação de baixa a moderada intensidade reduz os níveis da hipertensão, restaura a bradicardia reflexa e a reatividade neuronal da CVLM. No entanto, o exercício de natação não promoveu alterações cardiovasculares em ratos normotensos. Entretanto, em outro estudo Becker e cols. (2005) mostraram que o treinamento de natação de baixa intensidade por 4 semanas, induziu mudanças na responsividade para Ang II no RVLM de ratos normotensos.

Desta forma, uma vez que estudos sugerem que a AF e a HA podem alterar a responsividade de áreas bulbares às angiotensinas, propusemos com o presente trabalho, avaliar a participação do SRA no controle da PA através da avaliação da sensibilidade da bradicardia reflexa e da reatividade da CVLM à Ang-(1-7) e sobre possíveis alterações histológicas no coração e rins de ratos com hipertensão renovascular 2R1C.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito da atividade física sem e com sobrecarga sobre os diferentes parâmetros cardiovasculares em ratos com hipertensão renovascular (2R1C).

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da natação sobre a PAM e FC basais, em ratos 2R1C e SHAM sedentários e submetidos à atividade física, sem e com sobrecarga.
- Avaliar a sensibilidade da bradicardia reflexa e o efeito da microinjeção do A-779 na CVLM sobre a sensibilidade da bradicardia reflexa em ratos 2R1C e SHAM sedentários e submetidos à atividade física, sem e com sobrecarga.
- Avaliar o bloqueio de receptores Mas da Ang-(1-7) na CVLM pela microinjeção de A-779 sobre a PAM e FC em ratos 2R1C e SHAM sedentários e submetidos à atividade física, sem e com sobrecarga.
- Avaliar as alterações no peso do coração e rins em ratos 2R1C e SHAM sedentários e submetidos à atividade física, sem e com sobrecarga.
- Avaliar alterações na histologia renal e cardíaca em ratos 2R1C e SHAM sedentários e submetidos à atividade física, sem e com sobrecarga.
- Avaliar os níveis plasmáticos de uréia e creatinina, o limiar anaeróbico e as concentrações de lactato sanguíneo em ratos 2R1C e SHAM sedentários e submetidos à atividade física, sem e com sobrecarga.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados neste estudo ratos Fischer machos, com aproximadamente 9 a 11 semanas de vida, pesando entre 150 e 200g, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto. Os animais foram armazenados em caixas de plástico, quatro animais por caixa, com livre acesso a água e ração comercial para roedores. Mantidos em ambiente com ciclo claro/ escuro de 12 h, em uma temperatura média de 21º C e umidade relativa do ar de \pm 55%. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Ouro Preto.

3.2. Cirurgia para o Desenvolvimento da Hipertensão Renovascular

Para produção da hipertensão renovascular foi utilizado o método descrito por GOLDBLATT (1934) denominado 2 rins 1 clip (2R1C). Nos ratos (150 – 200g) após serem submetidos a jejum de 24 horas, com livre acesso à água, realizou-se a cirurgia para a promoção da hipertensão.

Sob anestesia produzida pela mistura de quetamine e xilazina (50 mg/ kg e 30 mg/ kg, ip, respectivamente), os animais foram colocados em decúbito dorsal em uma prancha cirúrgica e submetidos à tricotomia e assepsia da região abdominal com álcool iodado 2%. Em seguida foi feita uma incisão mediana de 4 a 6 cm abaixo do processo xifóide, sendo colocados refratores bilateralmente na incisão cirúrgica, as alças intestinais foram retraídas e, em seguida, a artéria renal esquerda foi isolada com o auxílio de pinças e cotonetes. Um clipe de prata 950 (contendo 5% de liga de cobre e com ótimo grau de dureza) apresentando 8 mm de comprimento e 2 mm de largura, em forma de U, cuja abertura era previamente fixada através do uso de um calibrador, foi colocado ao redor da artéria renal. O grau de constrição do clip escolhido foi de 0,20 mm de diâmetro interno, diâmetro este que mostrou-se mais eficiente para obtenção do índice PA > 130 mmHg (nível de pressão escolhida para selecionar os animais hipertensos) (BRITTO e cols., 1997 e Wang e cols., 2005). A figura 1 ilustra o momento da implantação do clipe.

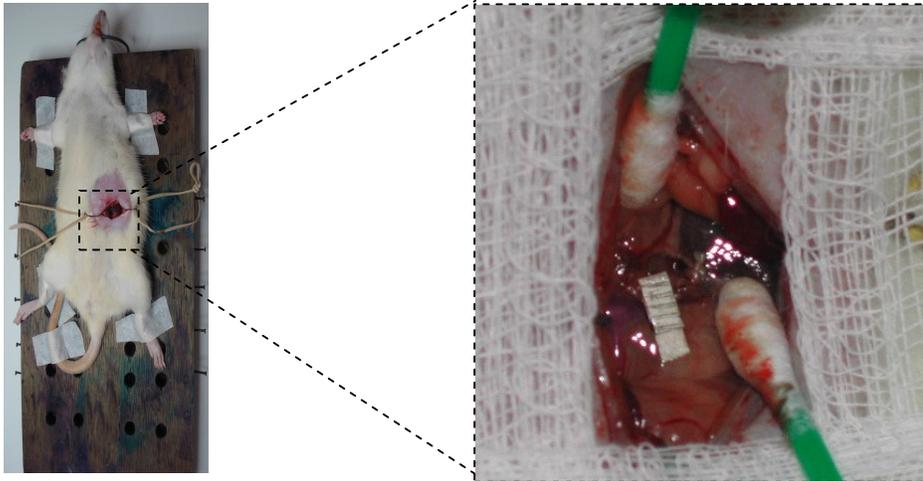


Figura 1: Foto Ilustrativa da implantação do clipe de prata na artéria renal esquerda.

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

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

3.3. Atividade Física

Após quatro dias da cirurgia, os ratos 2R1C e SHAM, com livre acesso à água e comida, foram separados em três grupos experimentais: ratos sedentários (SD), ratos submetidos à atividade física (SAF) de natação sem carga (SAF 0%) e ratos SAF de natação com 3% de sobrecarga em relação ao peso corporal (SAF 3%). A atividade física (AF) e o protocolo de exposição ao meio líquido (ratos SD) foram realizados cinco vezes por semana, por um período de cinco semanas, mais um dia. As sessões de AF e/ ou protocolo de exposição a água rasa foram iniciados individualmente, de forma que cada rato terminaria seu respectivo protocolo em dias distintos.

O grupo SD, foi colocado em baldes coletivos (4 ratos por balde) com água rasa (± 15 cm de altura, na temperatura de 31 ± 2 °C), para que o mesmo fosse semelhantemente manipulado e exposto às condições de estresse dos demais grupos SAF (0% e 3%). Na primeira sessão de exposição à água rasa, os ratos SD permaneciam no balde por 20 minutos, já a partir da segunda sessão os animais ficavam expostos à água rasa por 40 minutos até completarem as 26 sessões. Os ratos SD (SHAM ou 2R1C) foram pesados antes da 6^a, 9^a, 12^a, 15^a, 17^a, 20^a, 23^a e 26^a sessão de exposição à água rasa. As sessões

de AF foram realizadas em tanques coletivos (quatro ratos por tanque) de 40 x 60 x 50 cm. Ambos os grupos SAF 0% e SAF 3% (SHAM ou 2R1C) foram pesados antes da 6^a, 9^a, 12^a, 15^a, 17^a, 20^a, 23^a e 26^a sessão de AF. A temperatura da água foi mantida em 31 ± 2 °C (APS, 2006), através do uso de um termostato. O grupo SAF 0% realizou todas as sessões de AF livremente, sem qualquer adição de sobrecarga extra. Na primeira sessão de AF a duração foi de 20 minutos, na segunda sessão 40 minutos, e a partir da terceira sessão os animais nadavam 60 minutos até completarem as 26 sessões de AF. Ao grupo SAF 3%, foram afixadas sobrecargas (porcas e/ ou arruelas) presas à parte proximal de suas caudas, por meio de gomas elásticas a partir da sexta sessão de AF. Para efeito adaptativo, da sexta à nona sessão de AF, foram utilizadas sobrecargas de 2% ± 0,05 g do peso corporal. A partir da nona sessão, foram utilizadas sobrecargas de 3% ± 0,05 g do peso corporal de cada rato. Devido as possíveis alterações no peso corporal dos ratos ao longo do tempo em que ocorriam as sessões, as sobrecargas foram mantidas nos mesmos dias de mensuração do peso corporal.

A figura 2 ilustra o protocolo de AF para os grupos, SD, SAF 0% e SAF 3%.

GRUPO SD

Tempo de exposição ao meio líquido

	20 minutos	40 minutos
2R1C ou SHAM	1 ^a sessão (4 dias após cirurgia)	2 ^a a 26 ^a sessão

mensuração do peso corporal na 6^a, 9^a, 12^a, 15^a, 17^a, 20^a, 23^a e 26^a sessão

GRUPO SAF 0%

Tempo de natação

	20 minutos	40 minutos	60 minutos
2R1C ou SHAM	1 ^a sessão (4 dias após cirurgia)	2 ^a sessão	3 ^a a 26 ^a sessão

mensuração do peso corporal na 6^a, 9^a, 12^a, 15^a, 17^a, 20^a, 23^a e 26^a sessão

GRUPO SAF 3%

Tempo de natação e sobrecarga utilizada

	20 minutos	40 minutos	60 minutos	60 minutos - 2%	60 minutos - 3%
2R1C ou SHAM	1 ^a sessão (4 dias após cirurgia)	2 ^a sessão	3 ^a sessão	4 ^a a 8 ^a sessão	9 ^a a 26 ^a sessão

aferição da sobrecarga na 6^a, 9^a, 12^a, 15^a, 17^a, 20^a, 23^a e 26^a sessão

Figura 2: Protocolo de AF aos quais foram submetidos os ratos SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

3.4. Avaliação Indireta da PAM Através de Pletismografia de Cauda

A avaliação da PAM por pletismografia de cauda iniciou-se a partir da primeira semana após a cirurgia, nos ratos SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

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

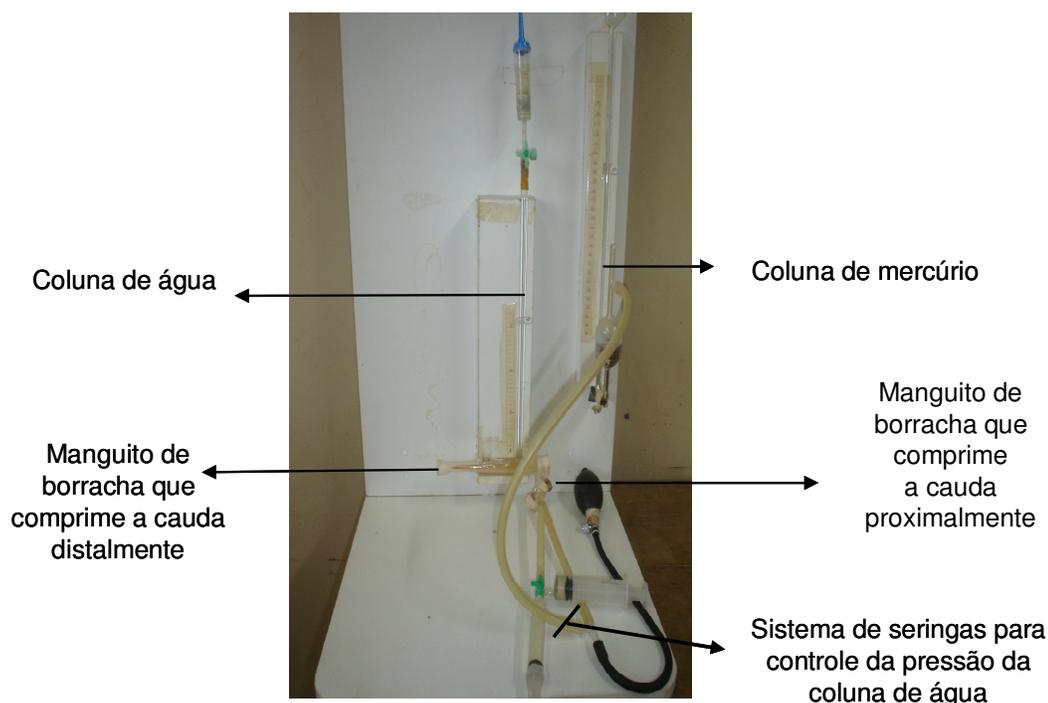


Figura 3: Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.

Os animais permaneciam, aproximadamente, por cerca de dois a três minutos em uma caixa de madeira aquecida através de uma lâmpada acesa de 150 watts para promover uma dilatação da artéria caudal e facilitar a medida da PAM. Posteriormente, os animais foram colocados em um sistema de contensão para proceder à medida. Neste sistema de contensão somente a cauda do animal foi mantida exteriorizada, comprimia-se a cauda com o manguito de borracha da coluna de água e posteriormente insuflava-se o manguito da coluna de mercúrio. Em seguida, a pressão na coluna de água foi reduzida e o nível do líquido na coluna mantido a aproximadamente 10 cm de altura da cauda do animal. Posteriormente, a pressão no manômetro de mercúrio foi reduzida lentamente ao mesmo tempo em que se observava alteração no nível do líquido na coluna de água do

pletismógrafo, o que ocorria em função do aumento do volume de sangue na cauda. Neste mesmo instante foi realizada a leitura da pressão na coluna de mercúrio que correspondia à PAM do animal.

3.5. Avaliação do Peso Corporal

O peso corporal dos animais (dados em anexo) foi verificado semanalmente, iniciando-se no dia da cirurgia de 2R1C e/ ou fictícia (SHAM), e posteriormente antes da 1^a, 6^a, 9^a, 12^a, 15^a, 17^a, 20^a, 23^a e 26^a sessão de AF ou de exposição à água rasa e, no dia do experimento. Foram avaliados os pesos obtidos no dia da cirurgia, da 1^a, 6^a, 12^a, 20^a sessão e do dia do experimento para avaliações cardiovasculares.

3.6. Confeccção de Cânulas Vasculares

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

3.7. Procedimentos Cirúrgicos

3.7.1. Anestesia

Todos os procedimentos cirúrgicos e avaliações cardiovasculares foram realizados com os ratos anestesiados. Após 41 dias do início da AF, os animais 2R1C ou SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) foram anestesiados com uretana (1,2 g/ kg, ip).

3.7.2. Traqueostomia

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

3.7.3. Canulação e Isolamento de Artéria e Veia Femorais

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

3.7.4. Exposição do Bulbo para Realização de Microinjeções na CVLM

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

3.8. Registro Direto da PAM e FC

A avaliação dos diferentes parâmetros cardiovasculares (PAM, FC e bradicardia reflexa) foi realizada através do registro direto da PA através das canulações arteriais dos ratos acopladas ao sistema computadorizado de aquisição de dados (Powerlab).

A PA foi monitorada por um transdutor de pressão modelo Gould conectado a um amplificador (PM-1000, CWE). O sinal de pressão arterial pulsátil foi derivado para um cardiotacômetro (PM-1000, CWE) para se obter a FC. A pressão arterial pulsátil (PAP) e FC foram continuamente amostradas por um sistema de conversão analógico/ digital de 12 bits (Powerlab 4/ 20) a uma freqüência de 800 Hz e armazenados em disco rígido (PC). Posteriormente, o sinal foi processado por um software (Powerlab 4/ 20) para se obter a PAM, as características temporais e as alterações máximas dos parâmetros desejados. Simultaneamente, a PAM e FC foram calculados a partir de pulsos de PA. Essas variáveis foram apresentadas simultaneamente em canais distintos no monitor e armazenadas em disco rígido do computador.

3.9. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Barorreflexa

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

O pico das alterações na FC ocorria durante os primeiros 5 - 10 segundos e correspondiam à máxima alteração na PAM produzidas pela fenilefrina. A FC foi convertida em intervalo de pulso (IP, ms) através da fórmula: 60.000/ FC (figura 4). O melhor ajuste da regressão linear foi extraído da média ± EPM das alterações de PAM e FC para cada dose de fenilefrina em cada animal. A curva de regressão linear foi usada como um índice de sensibilidade barorreflexa (ganho barorreflexo). A sensibilidade da bradicardia reflexa foi avaliada antes e após (5-15 minutos) da microinjeção do antagonista do receptor Mas da Ang-(1-7), A-779, na CVLM nos ratos 2R1C ou SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).

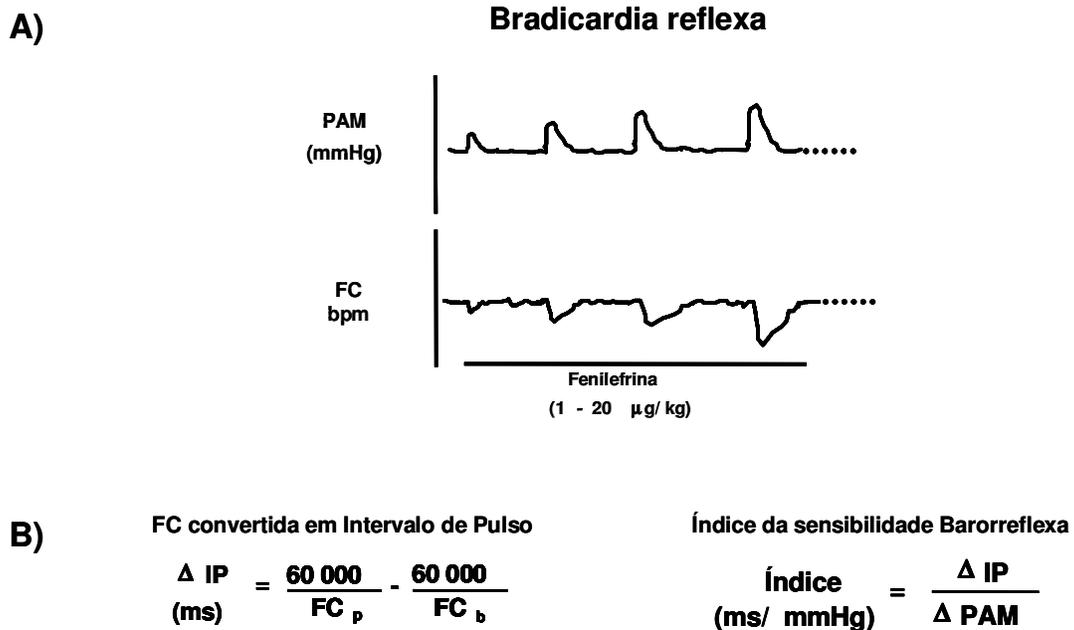


Figura 4: Esquema do teste de bradicardia reflexa através de injeções de doses crescentes de fenilefrina (painel A) e fórmulas de conversão da frequência cardíaca (FC, bpm) em intervalo de pulso (IP, ms) e do índice de sensibilidade barorreflexa (ms/ mmHg) (painel B). Pressão arterial média (PAM, mmHg); frequência cardíaca de pico (FCp, bpm); frequência cardíaca basal (FCb, bpm); delta de variação (Δ).

3.10. Procedimentos de Microinjeções na Superfície Ventrolateral Caudal do Bulbo

As microinjeções foram feitas através de micropipeta de vidro, devidamente fixada ao micromanipulador do estereotático. As microinjeções foram realizadas pela pressão de ar exercida por uma seringa de plástico conectada a extremidade distal da micropipeta. Para controlar os efeitos de volume e/ ou pressão exercida pela microinjeção de peptídeos, o mesmo volume de veículo (NaCl 0,9%) foi injetado no local da microinjeção. Microinjeções unilaterais de Ang-(1-7) (40 pmol), A-779 (50 pmol) e salina (NaCl 0,9%) (100 nl) foram efetuadas na área caudal na CVLM, tendo o óbex como ponto de referência antero-posterior e lateral. Os parâmetros utilizados para se localizar a CVLM foram 0,7 mm rostral e 1,8 mm lateral ao óbex; a profundidade foi determinada no momento em que a micropipeta tocou a superfície ventral do bulbo, sob a pia máter. A Figura 5 indica o local onde foram realizadas as microinjeções.

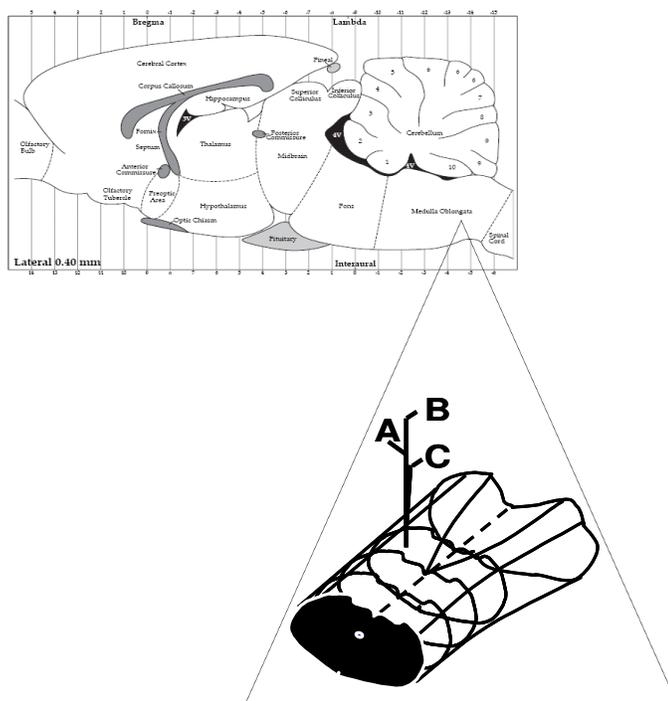


Figura 5: Esquema do local das microinjeções no bulbo ventrolateral caudal (CVLM) de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C. As microinjeções foram realizadas com micropipeta de vidro com 3 pontas: A = microinjeção de salina (100 nl); B = microinjeção de A-779 (50 pmol) e C = microinjeção de Ang-(1-7) (40 pmol). Adaptado de Paxinos e Watson, 1997.

3.11. Coleta de Órgãos e Tecidos e Análise Histológica

Ao término dos experimentos os animais foram sacrificados por decaptação, submetidos a uma laparotomia mediana para ressecção dos tecidos. Em necropsia, o cérebro, rins, coração e tibia direita foram coletados.

Durante a primeira fase do trabalho os rins e o coração foram pesados (peso úmido), desidratados em estufa e novamente pesados (peso seco). Os cérebros foram fixados em recipientes protegidos contra a luz, contendo solução de formalina tamponada. Através da utilização de um paquímetro analógico a tibia foi medida em seu comprimento e, juntamente com o cérebro, fixada em solução de formalina tamponada e acondicionada em recipiente protegido da luz.

Para avaliação histológica no cérebro, após fixação, o órgão foi lavado em água corrente para retirada do excesso de formalina e embebido em solução criopreservadora comercial de Tissue Tek® (Sakura) sendo posteriormente congelado. Secções criopreservadas do órgão com aproximadamente 50 µm de espessura foram obtidas por corte em criostato (Leica CM 1850). As secções criopreservadas foram dispostas em lâminas de vidro previamente gelatinadas e, após secagem por 24 horas, coradas pela coloração histológica de vermelho neutro. A confirmação da localização do sítio das microinjeções nos cortes histológicos foi realizada em microscopia ótica tendo como referência os diagramas do Atlas de Paxinos e Watson (1986). Cortes mais representativos em cada grupo de estudo foram selecionados e fotografados em lupa (Leica MZ6).

Já numa segunda fase do trabalho, ao final dos experimentos, coração e rins, após fixação em formalina, foram processados por técnicas histopatológicas de rotina. Estes órgãos foram desidratados, diafanizados, embebidos (processador histotécnico OMA metalúrgica) e emblocados em parafina. Secções parafinadas de aproximadamente quatro (4) µm de espessura foram obtidas em micrótopo, fixadas em lâminas de vidro previamente desengorduradas, tratadas com solução de albumina e coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE).

As análises histológicas foram inicialmente realizadas nos rins e no coração de maneira semi-quantitativa seguindo os seguintes padrões: (0 ou ausente) quando o tecido apresentava o aspecto histológico compatível com a normalidade do órgão; (+ ou leve) quando a lesão estudada era observada em 1/3 ou menos da região total observada; (++) ou moderada) quando lesão estudada atingia de 1/3 a 2/3 da região total observada; e (+++ ou intensa) quando a lesão estudada era evidenciada em mais de 2/3 da região total observada. Nos rins foi avaliada a esclerose glomerular, a dilatação tubular, a espessura da parede dos vasos sanguíneos, a congestão, a fibrose e a deposição protéica tecidual (Wang e cols., 2001; Evangelista e cols., 2003). Para o coração foram avaliados o espessamento da parede dos ventrículos, a distância média da luz ventricular, o

espessamento das paredes vasculares e inflamação ventricular focal (Wang e cols., 2001; Evangelista e cols., 2003; Wang e cols., 2005). Todos os dados foram expressos em um índice calculado pela divisão do total de cruzes observadas no grupo pelo total possível de observações. Neste índice, dados mais próximos a um (01) determinam lesões mais graves (Dados em anexo).

Baseado nas observações semi-quantitativas, avaliações quantitativas foram realizadas no laboratório Multiusuários do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - NUPEB/ UFOP. Imagens aleatórias dos tecidos corados pela técnica de HE foram obtidas no microscópio Leica BM5000 com câmera digital (Leica DFC 300 FX) acoplada com módulo RGB ativado e associada ao *software* de captura de imagens Leica Application Suite em objetiva microscópica de 40 vezes. Todas as imagens obtidas foram analisadas no *software* Leica Qwin V.3.2.1 (Leica Switzerland). Nos rins foi avaliada a espessura média do espaço da cápsula de Bowman (parede interna da cápsula até a membrana basal glomerular), através da medição interativa (desenho manual de uma linha de distância) de quatro diferentes pontos (dispostos em cruz). A espessura da luz tubular foi avaliada de maneira interativa medindo a distância interna entre as paredes de 50 túbulos fotografados ao acaso. Para o coração foi avaliada a espessura da parede dos ventrículos direito e esquerdo e a luz das cavidades ventriculares, através da medição morfométrica interativa de três diferentes pontos de cada região, avaliou-se também, a espessura média da parede vascular através da medição interativa de quatro diferentes pontos (dispostos em cruz), em 20 vasos fotografados ao acaso. Ainda no coração, para a determinação da presença de infiltrado inflamatório, foi contado de maneira automática (diferenciação de cores através da contagem de núcleo celulares) o número total de células presente em 20 campos microscópicos fotografados ao acaso (área total percorrida $1,5 \times 10^7 \mu\text{m}^2$), onde, um número de células diferentes do grupo controle (SHAM SD) representaria uma menor ou maior intensidade de inflamação.

3.12. Coleta de Plasma

Em outro grupo de animais SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), após 41 dias das cirurgias (2R1C ou SHAM) os animais foram decaptados em guilhotina, sem anestesia e amostras de sangue foram coletadas em tubos de polietileno (ependorf) contendo heparina sódica (25.000 UI/ 5 mL) para dosagem de uréia e creatinina. Os ependorfs eram mantidos em gelo e o sangue era imediatamente centrifugado a 4°C/ 2.500 rpm/ 20 min e o plasma rapidamente separado e estocado a -20°C até o processamento das amostras.

3.13. Dosagens de Creatinina

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

A creatinina e outros componentes do soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino, formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente. A adição de acidificante abaixa o pH para 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogêneos, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina verdadeira (Tonks, 1972).

Para a dosagem utilizou-se 125 µl de plasma. Após homogeneização do plasma e dos reagentes, fez-se a incubação destes em banho-maria a 37°C por 10 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm determinando-se a absorbância A_1 . Adicionou-se 50µl de acidificante e após 5 minutos em temperatura ambiente, determinou-se a absorbância A_2 em espectrofotômetro a 510 nm. Para a obtenção da concentração, subtraiu-se da absorbância A_2 da A_1 utilizando-se um padrão de creatinina de 4mg/ dl. (Tonks, 1972).

3.14. Dosagens de Uréia

Na intenção de usar a uréia como marcador biológico, foi realizada a dosagem de uréia plasmática de ratos 2R1C, ou SHAM (SAF 0% SAF 3% e SD). Nessa metodologia, a uréia é hidrolisada pela urease a íons de amônia e CO_2 . Em meio alcalino, os íons amônia reagem a salicinato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio, para formar o azul de indofenol. A absorbância do complexo azul formado, medida em 600 nm, é diretamente proporcional à concentração de uréia na amostra. (Tonks, 1972).

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

3.15. Dosagem de Ácido Láctico

Com a intenção de avaliar a intensidade sob a qual os animais estavam sendo SAF e a cinética do lactato nos 2R1C, ou SHAM (SAF 0% SAF 3% e SD), foi realizado o teste de lactato pelo método de tiras testes e analisador Accutrend® Lactate (Roche), conforme instruções do fabricante.

O princípio do teste se baseia na aplicação da amostra de sangue na zona reativa da tira. O sangue passa através de uma rede protetora até uma camada de vidro, onde os eritrócitos ficam retidos, de modo que apenas o plasma sanguíneo penetre na zona de detecção. O lactato é determinado através de um fotômetro de reflexão pela reação colorimétrica do medidor lactato-oxidase (LOD) a um comprimento de onda de 657 nm:



3.15.1. Teste do Lactato Mínimo ou Limiar Anaeróbico

Inicialmente para a detecção do limiar anaeróbico dos ratos 2R1C e SHAM, utilizou-se o teste adaptado descrito por Voltarelli e colaboradores em 2002. Foram utilizados quatro ratos do grupo SD (2R1C e SHAM) já adaptados por quatro semanas ao meio líquido (submetidos aos mesmos cuidados e protocolo de exposição à água rasa dos grupos SD). Para a realização do teste os animais foram colocados individualmente em tanques circulares (50 cm de diâmetro x 50 cm de altura), contendo água à 31 ± 2 °C e com a lâmina de água à ± 25 cm de altura, suportando sobrecarga de 50% do peso corporal (sobrecarga utilizada para provocar hiperlactemia). Desta forma, os ratos se exercitaram por meio de saltos durante 6 minutos (30 segundos de atividade, interrompidos por 30 segundos de repouso). Em seguida coletou-se amostra de sangue (± 25 µl) através do corte da extremidade distal da cauda (manobra de ordenha), para a determinação da concentração de lactato (mmol). Após 9 minutos de repouso os animais iniciaram individualmente o teste de cargas progressivas (agora com o tanque cheio de água). A carga inicial foi de 0% do peso corporal do rato, sendo acrescida de 1,5% a cada 5 minutos, até a exaustão. A cada troca de carga (com subseqüentes 30 segundos de repouso) foi coletada amostra de sangue (± 25 µl) para dosagem do lactato. O Lactato mínimo foi determinado a partir de uma tangente zero grau a uma função "SPLINE" ajustada à curva lactato sanguíneo em relação a carga de trabalho (Voltarelli e cols., 2002).

3.15.2. Teste de Esforço com Carga Fixa – Estabilização do Lactato

Uma semana após a realização do teste de Lactato mínimo, foi realizado um teste para verificar a ocorrência da estabilização do lactato sanguíneo durante a natação. Os ratos foram submetidos a uma sessão de natação de 30 minutos suportando cargas correspondentes a 3% do peso corporal em tanques circulares individuais (50 cm de diâmetro x 50 cm de altura) contendo água a 31 ± 2 °C. Foram feitas coletas de sangue (± 25 μ l) antes do início do teste e a cada 10 minutos (com subseqüentes 30 segundos de repouso) para dosagem de lactato. Entre a realização do teste de lactato mínimo e o de estabilização do lactato, todos os ratos continuaram expostos ao meio líquido em água rasa (31 ± 2 °C).

3.15.3. Efeito da Natação por 5 Semanas sobre o Lactato Sanguíneo - Lactato Final

Para verificar o efeito da AF nos grupos SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi realizado um teste 48 horas após a última sessão de AF (SAF 0% e SAF 3%) e exposição à água rasa (ratos SD não participantes dos testes anteriores). Todos os ratos foram submetidos individualmente a uma única série de natação por 30 minutos com sobrecarga de 3% do peso corporal. Foi realizada coleta de sangue (± 25 μ l) imediatamente após a sessão de AF para dosagem do lactato.

3.16. Drogas Utilizadas

3.16.1. Anestésicos:

Quetamine - Syntec do Brasil Ltda.

Xilazina - Divisão Vetbrands Saúde Animal.

Uretana - Sigma Chemical Co, St. Louis, USA.

3.16.2. Demais Drogas:

Angiotensina-(1-7) – Bachem, Torrance, CA (PM= 898).

A-779 antagonista de receptores Mas de Ang-(1-7) – Bachem, Torrance, CA (PM= 873).

Fenilefrina Hidroxiclorida - Sigma Chemical Co, St, Louis, USA.

3.16.3. Kits e Reagentes:

Uréia CE – Labtest, Lagoa Santa, MG, BRA.

Creatinina – Labtest, Lagoa Santa, MG, BRA.

Analizador Accutrend® Lactate - Roche, Mannheim, GER.

Tiras testes BM – Lactate - Roche, Mannheim, GER.

3.17. Preparo de Soluções

O agente hipertensor agonista adrenérgico, cloridrato de L-Fenilefrina (sal cloridrato) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), foi preparado em soluções de sete concentrações diferentes (0,5 µg/ ml; 1,0 µg/ ml; 2,5 µg/ ml; 5,0 µg/ ml; 10 µg/ ml, 20 µg/ ml e 50 µg/ ml) de L-Fenilefrina. Estas soluções foram alíquotadas em tubos de polietileno tipo “ependorf” e permaneceram congeladas até o momento do uso.

Os peptídeos, Ang-(1-7) e A-779 foram dissolvidos em solução salina (NaCl 0,9%) na concentração de 2mg/ ml e alíquotados em 10 µl em tubos ependorf e mantidos a - 20°C (solução estoque). No dia do experimento, a solução final de uso era preparada, a partir da solução estoque pela adição de 40 µl de salina estéril. A dose dos peptídeos e antagonistas utilizados nesse estudo foi escolhida com base em estudos anteriores (SILVA e cols, 1993; FONTES e cols, 1994; SANTOS e cols, 1994; ALZAMORA e cols, 2002 e 2006).

3.18. Protocolos Experimentais

3.18.1. Avaliação da Sensibilidade da Bradicardia Reflexa

Após 41 dias da cirurgia 2R1C e SHAM, os animais foram anestesiados com uretana, submetidos aos procedimentos cirúrgicos e posicionados no aparelho extereotáxico. A seguir, iniciou-se o registro da pressão arterial. Após um período de cinco minutos, a

micropipeta de vidro foi posicionada de acordo com as coordenadas 0,7 mm anterior e 1,8 mm lateral ao óbex. Observaram-se quedas típicas transitórias da PAM e FC produzidas pelo estímulo mecânico produzido pela micropipeta nos neurônios da CVLM. Estas quedas da PAM foram usadas como indicio da localização correta da micropipeta. Após um período de 10 minutos para estabilização da PAM e FC foi iniciado o teste do barorreflexo. A sensibilidade da bradicardia reflexa foi avaliada antes e após (5-15 minutos) a microinjeção do antagonista do receptor Mas da Ang-(1-7), A-779, na CVLM nos ratos 2R1C ou SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%). A figura 6 sumariza este protocolo:

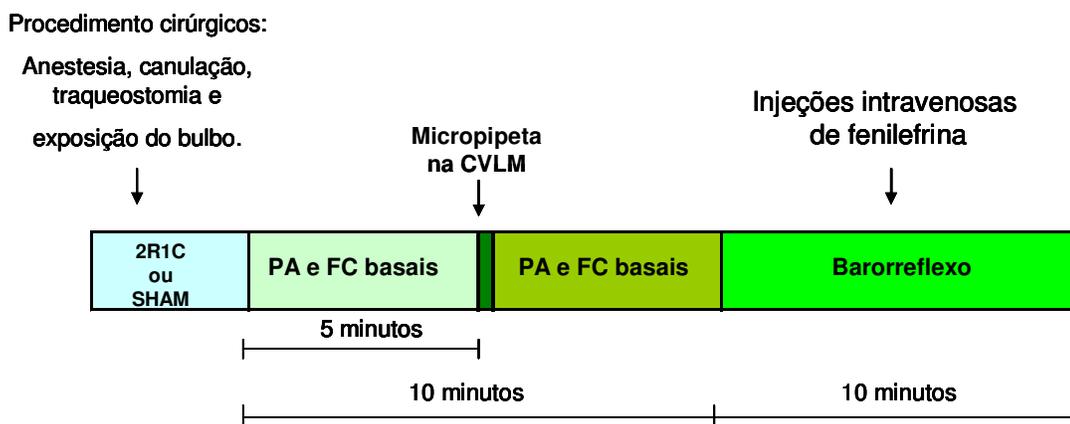


Figura 6: Esquema do protocolo para avaliação da bradicardia reflexa usado em ratos (SAF 0% SAF3% e SD) SHAM ou 2R1C.

3.18.2. Efeitos Cardiovasculares Produzidos pela Microinjeção de Ang-(1-7) e A-779 no Bulbo Ventrolateral Caudal

Após a realização do teste do barorreflexo inicial, procedia-se a microinjeção de salina (100 nl), Ang-(1-7) (40 pmol) e A-779 (50 pmol) na CVLM. Primeiramente após a estabilização dos sinais de PAM e FC foi microinjetada a salina, cinco minutos depois a Ang-(1-7) foi microinjetada; dez minutos posteriores à Ang-(1-7), foi microinjetado o seu inibidor seletivo, A-779. A microinjeção do A-779 foi determinada como T=0' (tempo igual a zero minuto), a partir daí a Ang-(1-7) foi novamente microinjetada nos tempos 5, 15 e 30 minutos (T=5', T=15' e T=30') para se avaliar o efeito do A-779 na CVLM ao longo do tempo. Entre o T=5' e o T=15', um novo teste de barorreflexo foi realizado, para se testar o efeito do A-779 sobre o mesmo. Apenas o lado esquerdo do bulbo foi estudado em cada

animal. Ao final dos experimentos o cérebro dos animais foi removido para posterior análise histológica. A figura 7 resume este protocolo:

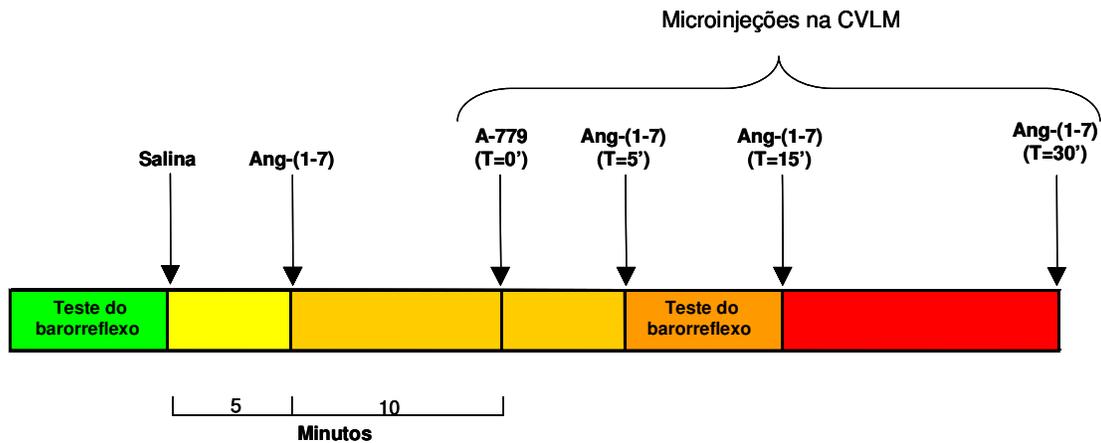


Figura 7: Esquema do protocolo para avaliações cardiovasculares produzidos pelas microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol) e A-779 (50 pmol), usado em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

3.19. Análise Estatística

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

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação Direta dos Parâmetros Cardiovasculares

4.1.1. Níveis Basais de PAM e FC

Os níveis basais de PAM e FC em animais normotensos SHAM e hipertensos 2R1C (SD, SAF 0%, e SAF 3%) anestesiados estão representados na figura 8 e 9.

Na figura 8 observam-se traçados típicos de PAP (mmHg), FC (bpm) e PAM (mmHg) basais de ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (painel **A**) e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) (painel **B**).

Como mostrado na figura 9 (painel **A**), a PAM basal nos ratos 2R1C SD (132 ± 5 mmHg, $n=10$) foi maior ($p<0,001$) do que a dos ratos SHAM SD (99 ± 4 mmHg, $n=10$). Os valores de PAM basal dos ratos 2R1C SAF 0% (114 ± 2 mmHg, $n=5$) e dos ratos 2R1C 3% (116 ± 5 mmHg, $n=12$) foram semelhantes ($p>0,05$) em relação aos dos ratos hipertensos 2R1C SD. No entanto, os valores de PAM basal nos ratos 2R1C SAF (0% e 3%) também foram similares ($p>0,05$) aos dos ratos normotensos SHAM SD (99 ± 4 mmHg, $n=10$). Não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos valores de PAM basal entre os animais SHAM SAF 0% (101 ± 3 mmHg, $n=8$) e SHAM SAF 3% (100 ± 4 mmHg, $n=10$) em relação aos dos animais SHAM SD.

A figura 9 (painel **B**) mostra que os valores basais de FC dos ratos 2R1C SD (438 ± 9 bpm, $n=11$) foram maiores ($p<0,01$) comparados aos dos ratos SHAM SD (372 ± 11 bpm, $n=10$). Entretanto, a FC basal dos ratos 2R1C SAF 0% (383 ± 13 bpm, $n=6$) e 2R1C SAF 3% (389 ± 13 bpm, $n=12$) foram menores ($p<0,05$ e $p<0,01$ respectivamente) em relação aos dos ratos 2R1C SD e, similares ($p>0,05$) às dos animais SHAM SD. Os valores de FC basal dos ratos SHAM SAF 0% (355 ± 14 bpm, $n=8$) e SHAM SAF 3% (379 ± 11 bpm, $n=10$) foram semelhantes ($p>0,05$) em relação aos dos ratos SHAM SD.

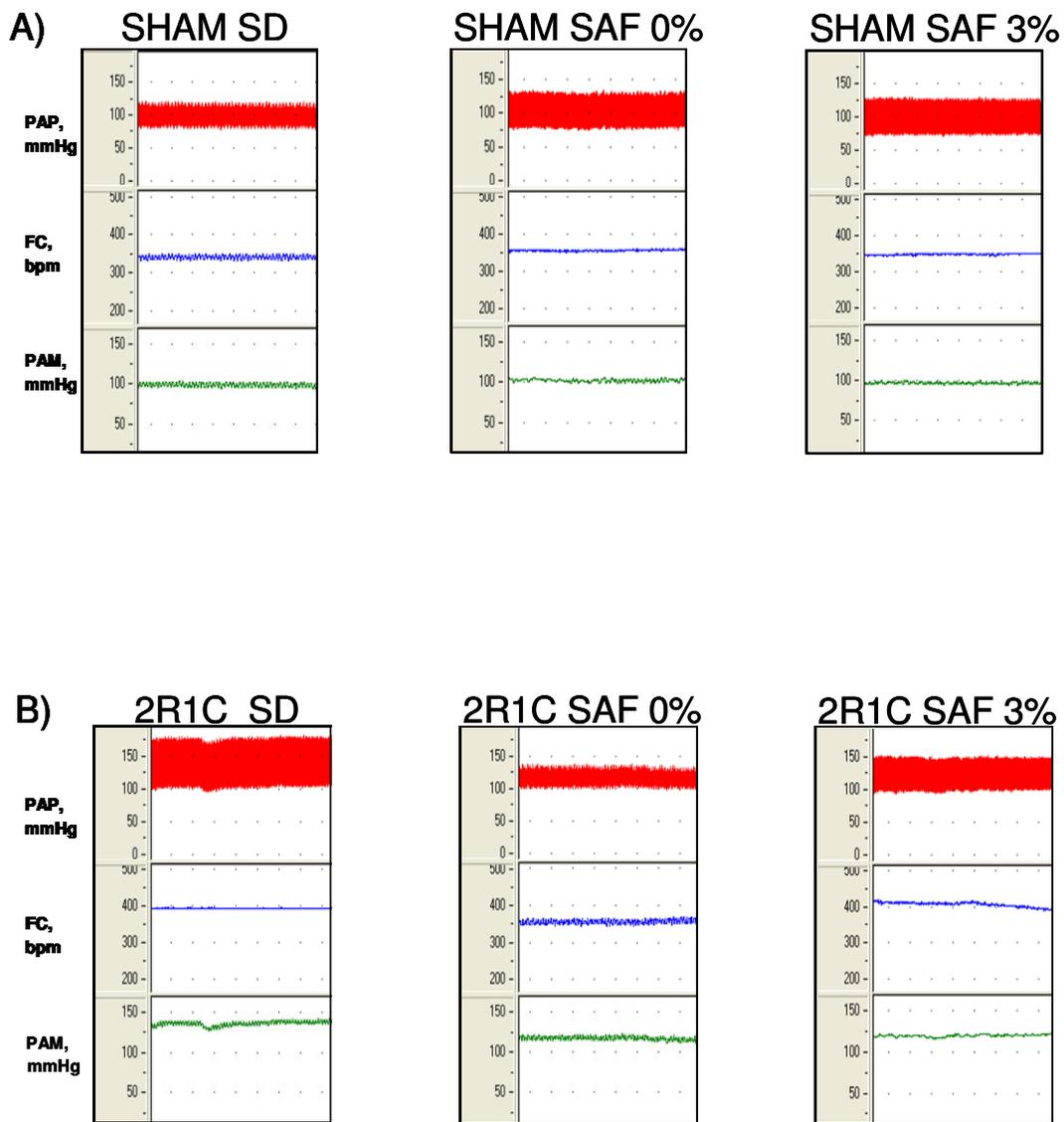


Figura 8: Registros típicos de pressão arterial pulsátil (PAP, mmHg), frequência cardíaca (FC, bpm) e pressão arterial média (PAM, mmHg) de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (painel **A**) ou 2R1C (painel **B**) anestesiados com uretana.

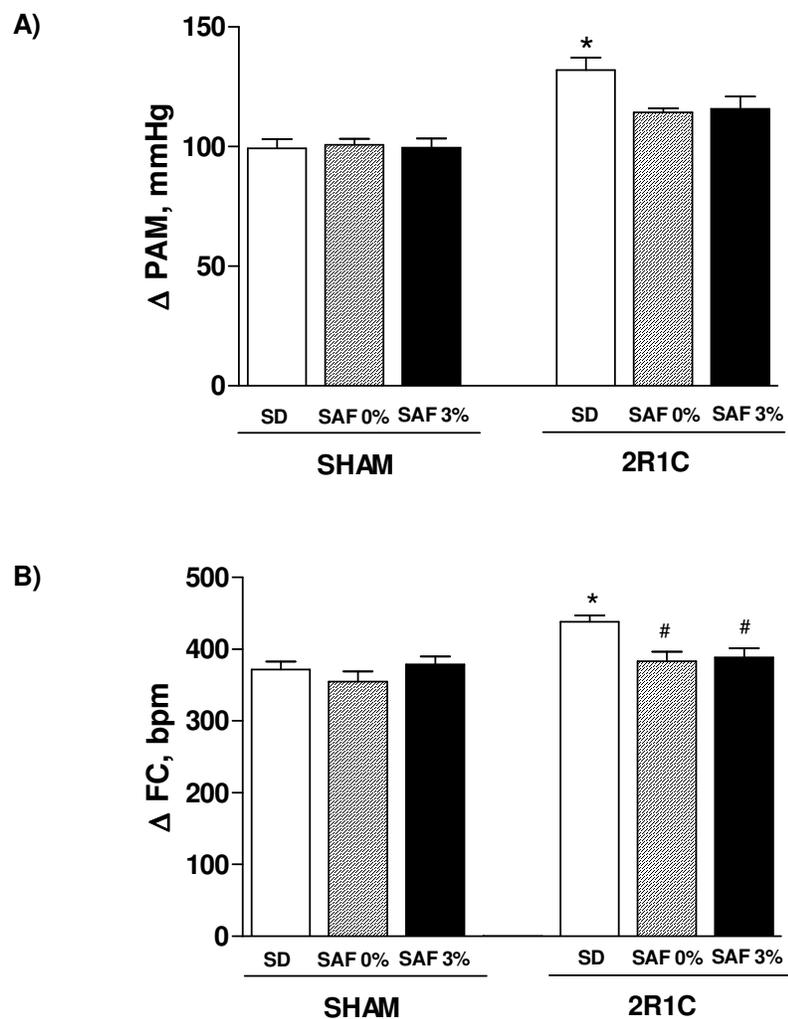


Figura 9: Pressão arterial média (PAM, mmHg, painel **A**) e frequência cardíaca (FC, bpm, painel **B**) basais em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (n=8-10) ou 2R1C (n=5-12). *p<0,05 em comparação com ratos do grupo SHAM SD. #p<0,05 em comparação com os ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Newman Keuls).

4.1.2. Avaliação da Bradicardia Reflexa

A avaliação da bradicardia reflexa dos grupos SD, SAF 0% e SAF 3% (2R1C e SHAM), mostrou que os valores de bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD ($0,088 \pm 0,03$ ms/ mmHg, n=11) foram menores ($p < 0,001$) que nos ratos SHAM SD ($0,37 \pm 0,05$ ms/ mmHg, n=10). A bradicardia reflexa nos animais 2R1C SAF 0% ($0,26 \pm 0,06$ ms/ mmHg, n=6) foi maior ($p < 0,01$) que nos animais 2R1C SD e similar à bradicardia dos ratos SHAM SD. Entretanto nos ratos 2R1C SAF 3%, a bradicardia reflexa ($0,084 \pm 0,02$ ms/ mmHg, n=11) foi similar ($p > 0,05$) a dos ratos 2R1C SD e menor ($p < 0,01$) que a dos ratos SHAM SD e 2R1C SAF 0% (figura 10, painel **A** e **B**).

Não houve diferença ($p > 0,05$) na bradicardia reflexa entre os animais SHAM SAF 0% ($0,30 \pm 0,03$ ms/ mmHg, n=6), SHAM SAF 3% ($0,30 \pm 0,03$ ms/ mmHg, n=9) em relação a bradicardia reflexa nos ratos SHAM SD (figura 10, painel **A** e **B**).

Os valores do índice de sensibilidade da bradicardia reflexa e o índice de correlação linear r^2 estão presentes na tabela 1.

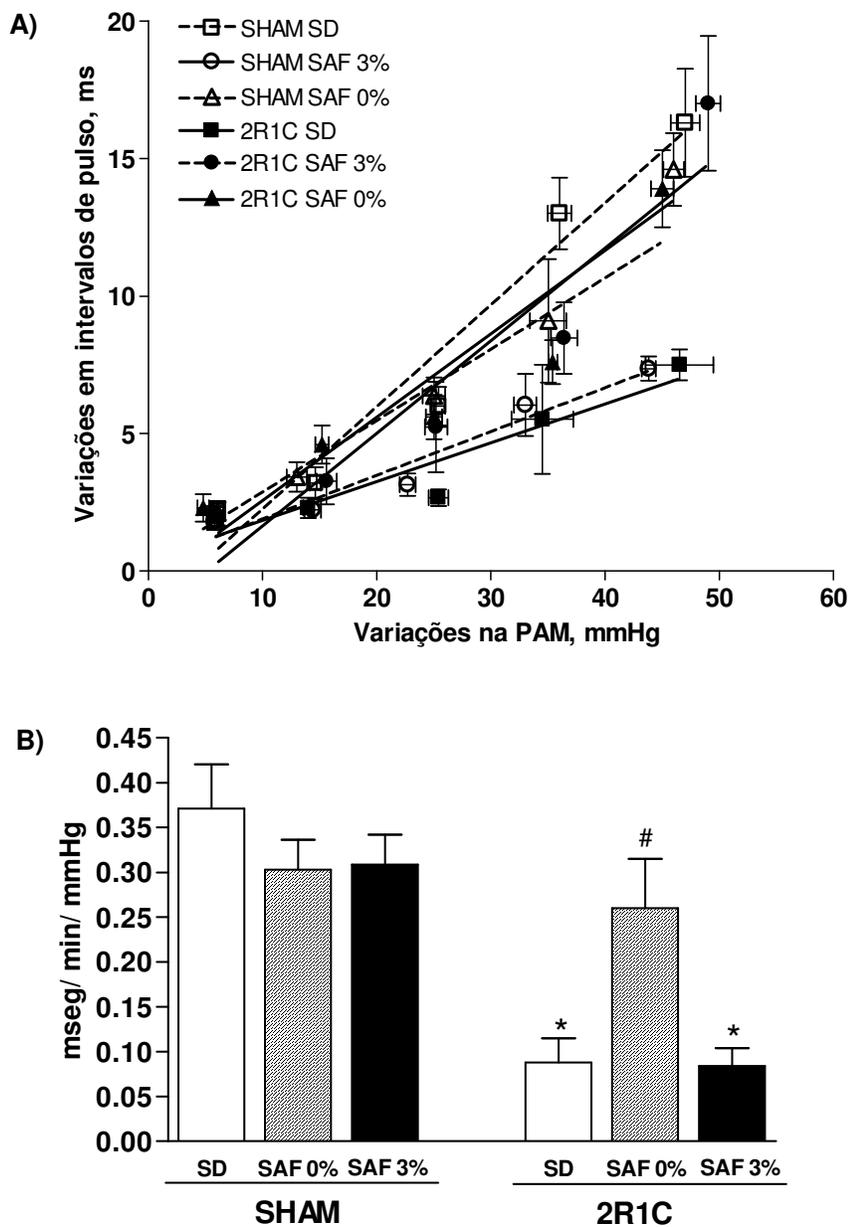


Figura 10: Alterações reflexas na FC (expressas em IP, ms) em resposta às variações na PAM (mmHg) produzidas por doses crescentes de fenilefrina (0,25 a 5 μ g, iv) em ratos SHAM SD (n=10); SHAM SAF 0% (n= 6); SHAM SAF 3% (n=8-9); 2R1C SD (n=11); 2R1C SAF 0% (n=6) e 2R1C SAF 3% (n=11). As linhas representam a reta de melhor ajuste obtida por regressão linear (painel A) e (painel B) o slope da sensibilidade da bradicardia reflexa Δ IP/ Δ PAM (ms/ mmHg). *p<0,05 comparado com animais normotensos. #p<0,05 comparado com os animais 2R1C SD. ANOVA seguido Newman Keuls (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.1.3. Efeito do A-779 na CVLM sobre a Bradicardia Reflexa

Com a intenção de avaliarmos se a diminuição da bradicardia reflexa nos animais hipertensos 2R1C (SD e SAF 3%) poderia ser decorrente de alterações nos receptores Mas para Ang-(1-7) na CVLM, investigamos o efeito do A-779 na sensibilidade da bradicardia reflexa nos ratos 2R1C SD e SAF (0% e 3%). A microinjeção do A-779 (50 pmol) na CVLM, produziu aumento significativo ($p=0,0064$) da bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD ($0,24 \pm 0,04$ ms/ mmHg em comparação a $0,088 \pm 0,03$ ms/ mmHg, $n=11$; antes do A-779) e nos animais 2R1C SAF 3% ($0,15 \pm 0,02$ ms/ mmHg em comparação a $0,084 \pm 0,02$ ms/ mmHg, $n=11$; antes do A-779) ($p<0,0428$) (figura 10). Entretanto, a microinjeção de A-779 na CVLM apesar de ter aumentado significativamente a sensibilidade da bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3%, não a restaurou completamente ($p<0,05$) comparado à dos animais SHAM SD. Por outro lado, a microinjeção do A-779 na CVLM, não produziu alteração ($p>0,05$) na bradicardia reflexa nos animais 2R1C SAF 0% ($0,26 \pm 0,07$ ms/ mmHg em comparação a $0,26 \pm 0,06$ ms/ mmHg, $n=6$; antes do A-779) (figura 11).

A microinjeção do A-779 não produziu alterações significativas ($p>0,05$) na bradicardia reflexa nos animais SHAM SD ($0,38 \pm 0,04$ ms/ mmHg em comparação a $0,37 \pm 0,05$ ms/ mmHg, $n=10$; antes do A-779) e nos animais SHAM SAF 0% ($0,22 \pm 0,05$ ms/ mmHg em comparação a $0,30 \pm 0,03$ ms/ mmHg, $n=6$; antes do A-779). No entanto, nos animais SHAM SAF 3%, a microinjeção do A-779 reduziu ($p=0,0142$) a bradicardia reflexa ($0,18 \pm 0,03$ ms/ mmHg em comparação a $0,30 \pm 0,03$ ms/ mmHg, $n=9$; antes do A-779) (figura 11).

Os valores do índice de sensibilidade da bradicardia reflexa e o índice de correlação linear r^2 estão presentes na tabela 1.

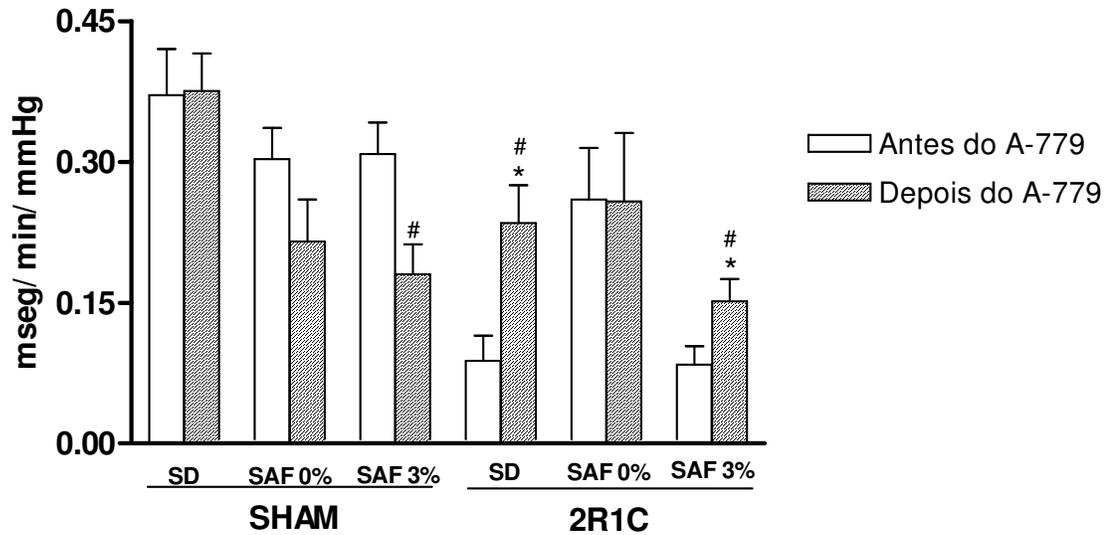


Figura 11: Alterações reflexas na FC (expressas em IP, ms) em resposta às variações na PAM (mmHg) produzidas por doses crescentes de fenilefrina (0,25 a 5 μ g, iv) antes e após a microinjeção de A-779 (50 pmol) na CVLM em ratos SHAM SD (n=10); SHAM SAF 0% (n= 6); SHAM SAF 3% (n=8-9); 2R1C SD (n=11); 2R1C SAF 0% (n=6) e 2R1C SAF 3% (n=11). *p<0,05 comparado com as microinjeções antes do A-779 no SHAM SD. #p<0,05 comparado com as microinjeções antes do A-779 no respectivo grupo SD. ANOVA seguido Newman Keuls (teste “t” de Student para observações pareadas).

Tabela 1: Valores basais de PAM (mmHg) e FC (bpm) e índice de correlação da regressão linear (r^2) da avaliação da bradicardia reflexa (Δ IP/ Δ PAM (ms/ mmHg) antes e após a microinjeção do A-779 (50 pmol) em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	Índice de Correlação da regressão Linear		Valores Basais Antes do A-779	
	(r^2) A-779		PAM (mmHg)	FC (bpm)
	Antes	Após		
SHAM SD (n=10)	0,9504	0,9672	86 ± 6	325 ± 18
SHAM SAF 0% (n=6)	0,9653	0,8831	94 ± 4	351 ± 10
SHAM SAF 3% (n=8-9)	0,9448	0,8988	80 ± 7	338 ± 15
2R1C SD (n=11)	0,8866	0,8658	91 ± 10	345 ± 15
2R1C SAF 0% (n=6)	0,8794	0,8087	97 ± 11	345 ± 23
2R1C SAF 3% (n=11)	0,9003	0,8528	99 ± 7	340 ± 15

Valores expressos em média ± erro padrão da média. ANOVA seguido de Newman Keuls.

4.2. Avaliações Cardiovasculares após Microinjeções na CVLM

4.2.1. Efeito da Microinjeção de Ang-(1-7) e A-779 na CVLM sobre a PAM e FC

Na intenção de verificar se o aumento na sensibilidade da bradicardia reflexa induzida pela AF poderia estar relacionada às alterações na reatividade neuronal da CVLM para Ang-(1-7), nós avaliamos o efeito da microinjeção de Ang-(1-7) em ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

A Figura 12 (painéis **A** e **B**) apresenta os registros típicos das alterações de PAP, PAM e FC produzidas pelas microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol), A-779 (50 pmol) e Salina (100nl) na CVLM de ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

A Ang-(1-7) microinjetada na CVLM produziu um efeito hipotensor maior ($p < 0,01$) em relação à microinjeção de salina nos ratos SHAM SD, SHAM SAF 0% e SHAM SAF 3% (figura 13, painel **A** e tabela 2). O efeito hipotensor da microinjeção da Ang-(1-7) foi similar ($p > 0,05$) entre os animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 13, painel **A** e tabela 2).

A Ang-(1-7) microinjetada na CVLM produziu um efeito hipotensor maior ($p < 0,01$) em relação à microinjeção de salina nos ratos 2R1C SD, 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% (figura 13, painel **A** e tabela 2). O efeito hipotensor da microinjeção da Ang-(1-7) foi similar ($p > 0,05$) entre os animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 12, painel **A** e tabela 2).

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) do efeito hipotensor induzido pela microinjeção de Ang-(1-7) na CVLM entre os animais SHAM e 2R1C.

A microinjeção do antagonista do receptor Mas, A-779, na CVLM não alterou ($p > 0,05$) a PAM basal em relação ao efeito produzido pela salina na CVLM nos respectivos grupos SHAM SD, SHAM SAF 0% e SHAM SAF 3% (figura 13, painel **A** e tabela 2).

Nos ratos 2R1C SD, a microinjeção do A-779 na CVLM produziu uma hipotensão maior ($p < 0,01$) em relação à microinjeção de salina. No entanto, as respostas produzidas pelo A-779 nos animais 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% foram semelhantes ($p > 0,05$) as respostas da salina microinjetada na CVLM dos respectivos animais (figura 13, painel **A** e tabela 2).

Não foram observadas alterações significativas ($p > 0,05$) na FC após a microinjeção de Ang-(1-7), e do A-779 em relação à salina na CVLM em todos os grupos 2R1C ou SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 13, painel **B** e tabela 3).

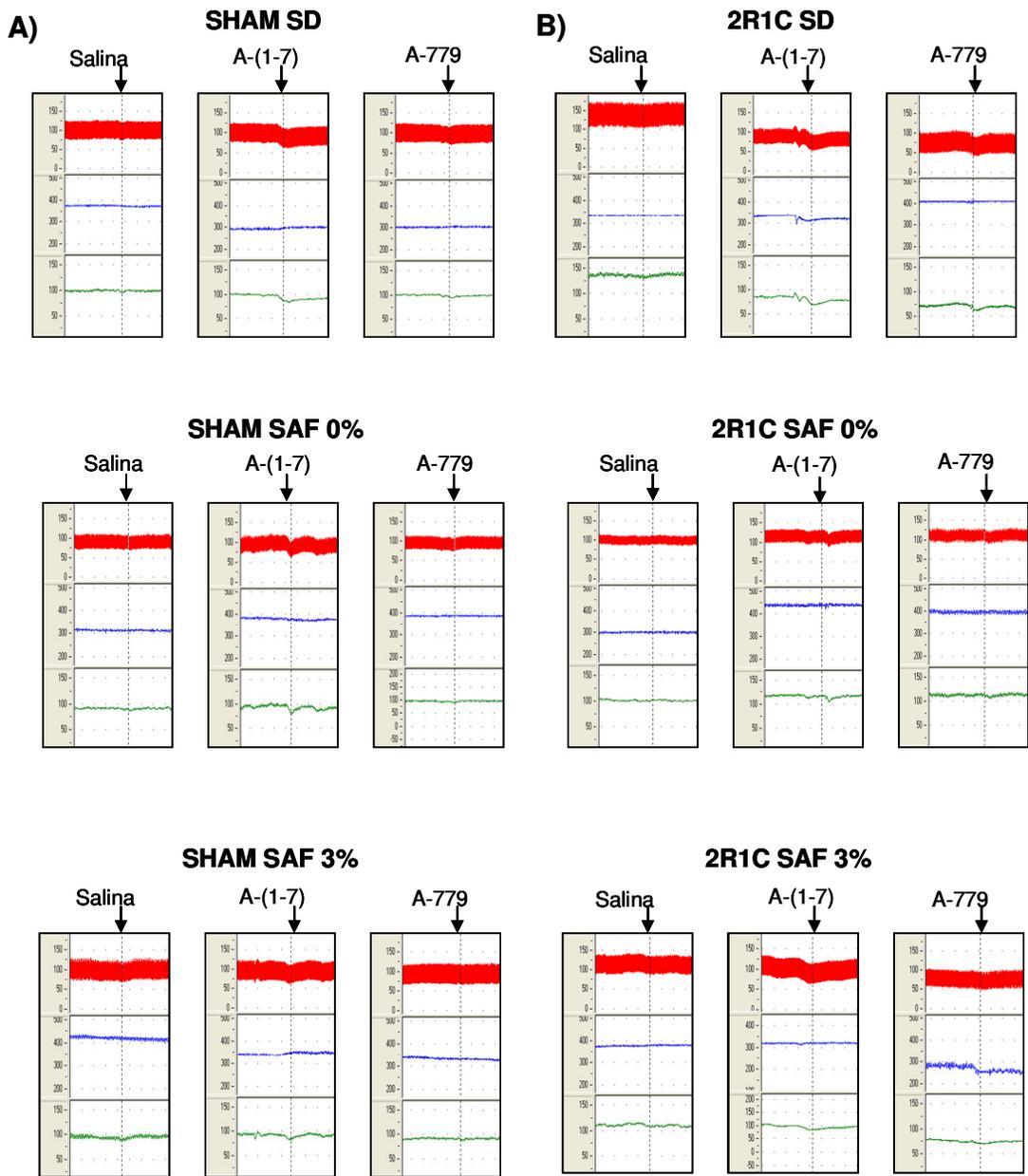


Figura 12: Registros típicos das alterações de PAP, PAM e FC produzidas pelas microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol), A-779 (50 pmol) e Salina (100nl) na CVLM de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (painel A) ou 2R1C (painel B). As setas indicam o momento das microinjeções.

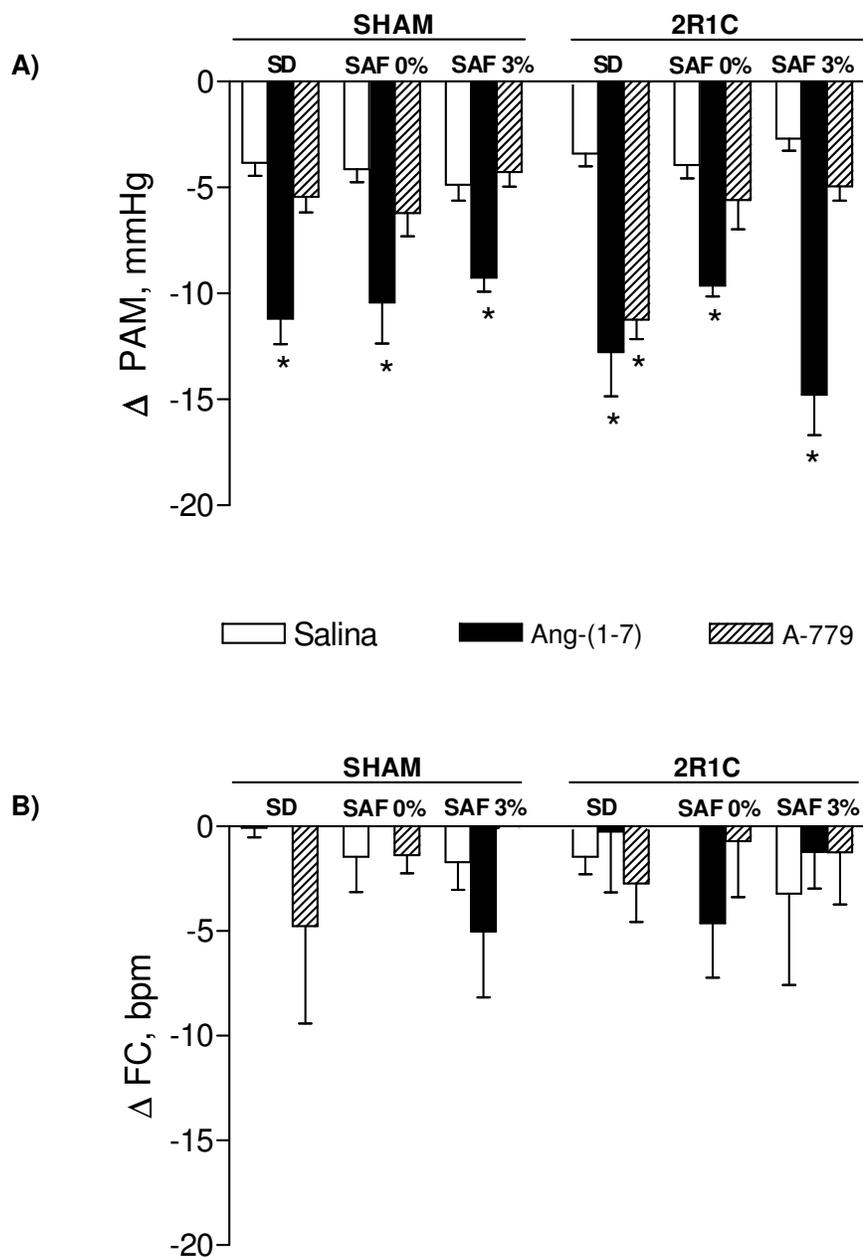


Figura 13: Alterações da PAM e FC produzidas por microinjeções de salina (100 nl), Ang-(1-7) (40 pmol) e A-779 (50 pmol) na CVLM em ratos SHAM (SD, n=10, SAF 0%, n=8 e SAF 3%, n=10) ou 2R1C (SD, n=11, SAF 0%, n=6 e SAF 3%, n=12). * $p < 0,05$ em comparação à salina. ANOVA seguido Dunnett. (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela 2: Alterações na PAM (mmHg) após microinjeções de salina (100 nl), Ang-(1-7) (40 pmol) e A-779 (50 pmol) na CVLM em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	ΔPAM após microinjeção					
	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Salina (100nl)	-3,8 ± 0,6	-4,1 ± 0,6	-4,9 ± 0,7	-3,4 ± 0,6	-3,9 ± 0,6	-2,7 ± 0,6
Ang-(1-7) (40 pmol)	-11,2 ± 1,2*	-10,4 ± 1,9*	-9,3 ± 0,6*	-12,8 ± 2,1*	-9,6 ± 0,5*	-12,6 ± 1*
A-779 (50 pmol)	-5,4 ± 0,7	-6,2 ± 1,1	-4,3 ± 0,7	-11,3 ± 0,9*	-5,6 ± 1,4	-4,9 ± 0,7
n	10	8	10	11	6	12

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação à salina do respectivo grupo. ANOVA seguido de Dunnett. (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela 3: Alterações na FC (bpm) após microinjeções de salina (100 nl), Ang-(1-7) (40 pmol) e A-779 (50 pmol) na CVLM em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	ΔFC após microinjeção					
	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Salina (100nl)	-0,1 ± 0,5	-1,5 ± 1,7	-1,7 ± 1,3	-1,5 ± 0,8	0,1 ± 0,9	-3,2 ± 4,3
Ang-(1-7) (40 pmol)	0,04 ± 1,1	-0,03 ± 1,3	-5,0 ± 3,2	-0,3 ± 2,9	-4,6 ± 2,6	-1,2 ± 1,8
A-779 (50 pmol)	-4,8 ± 4,6	-1,4 ± 0,9	0,1 ± 1,1	-2,7 ± 1,9	-0,7 ± 2,7	-1,2 ± 2,5
n	10	8	10	11	6	12

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação à salina do respectivo grupo. ANOVA seguido de Dunnett. (teste “t” de Student para observações não pareadas).

4.2.2. Bloqueio do Receptor da Ang-(1-7) na CVLM.

Com a intenção de verificar a duração do bloqueio dos receptores de Ang-(1-7) pelo A-779 sobre a PAM e FC, foi avaliado o efeito das microinjeções sucessivas na CVLM após 5, 15, e 30 minutos da microinjeção de A-779 (figura 14, painel **A** e **B** e tabela 4 e 5).

O antagonista do receptor Mas, A-779 na CVLM, bloqueou o efeito hipotensor da Ang-(1-7) na CVLM por até 15 minutos nos grupos de ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%). No entanto, a microinjeção de Ang-(1-7), 30 minutos após a microinjeção de A-779 na CVLM, não foi diferente ($p>0,05$) em relação à microinjeção de Ang-(1-7) antes da microinjeção deste antagonista na CVLM em todos os grupos de ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 14, painel **A** e tabela 4).

Não foram observadas alterações significativas ($p>0,05$) na FC após as microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) na CVLM antes e após a microinjeção de A-779 na CVLM em todos os grupos SHAM (figura 14, painel **B** e tabela 4).

Da mesma forma como observado nos animais SHAM, nos animais 2R1C, o antagonista do receptor Mas, A-779 na CVLM, bloqueou o efeito hipotensor da Ang-(1-7) na CVLM por até 15 minutos nos grupos de ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). No entanto a microinjeção de Ang-(1-7) 30 minutos após a microinjeção de A-779 na CVLM, não foi diferente ($p>0,05$) em relação à microinjeção de Ang-(1-7) antes da microinjeção deste antagonista na CVLM em todos os grupos de ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 14, painel **A** e tabela 5).

Não foram observadas alterações significativas ($p>0,05$) na FC após as microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) na CVLM antes e após a microinjeção de A-779 na CVLM em todos os grupos 2R1C (figura 14, painel **B** e tabela 5).

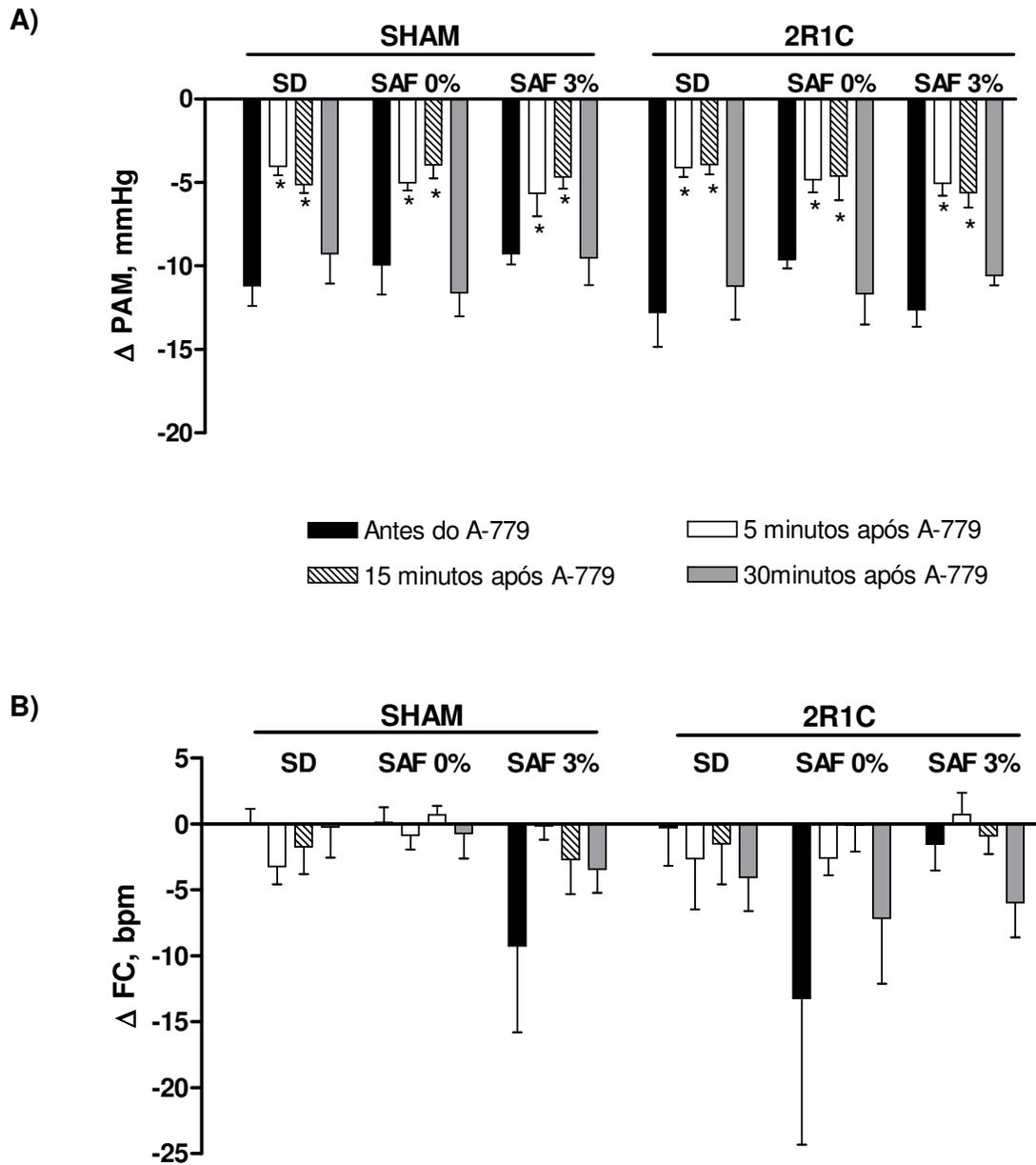


Figura 14: Efeito do A-779 (50 pmol) na CVLM sobre microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) (40 pmol) na CVLM na PAM (mmHg, painel **A**) e FC (bpm, painel **B**) em ratos SHAM SD (n=9-10); SHAM SAF 0% (n= 8); SHAM SAF 3% (n=8-10); 2R1C SD (n=8-11); 2R1C SAF 0% (n=6) e 2R1C SAF 3% (n=11-12). *p<0,05 comparado com a microinjeção da Ang-(1-7) antes do A779 nos respectivos grupos. ANOVA seguido Dunnett. (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela 4: Alterações de Δ PAM (mmHg) e Δ FC (bpm) produzidas pelas microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) (40 pmol) na CVLM antes e após a microinjeção do A-779 (50 pmol) na CVLM de ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).

	SHAM SD		SHAM SAF 0%		SHAM SAF 3%	
	PAM	FC	PAM	FC	PAM	FC
Ang -(1-7)	-11 ± 1	0,04 ± 1	-10 ± 2	0,03 ± 1,3	-9 ± 1	-9,2 ± 7
A-779 0'	-5 ± 1*	-4,8 ± 4,6	-6 ± 1*	-1,4 ± 0,9	-4 ± 1*	-0,1 ± 1,1
Ang-(1-7) 5'	-4 ± 1*	-3 ± 1	-5 ± 1*	-0,8 ± 1,1	-5 ± 1*	-0,1 ± 1
Ang-(1-7) 15'	-5 ± 1*	-2 ± 2	-4 ± 1*	0,7 ± 0,7	-5 ± 1*	-3 ± 3
Ang-(1-7) 30'	-9 ± 2	-0,2 ± 2	-12 ± 1	-0,7 ± 1,9	-10 ± 2	-3 ± 2
n	9-10		8		8-10	

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p< 0,05 em comparação a Ang-(1-7) (40 pmol) microinjetada antes do A-779 (50 pmol) nos respectivos grupos. ANOVA seguido de Dunnett. (teste “t” de Student para observações não pareadas).

Tabela 5: Alterações de Δ PAM (mmHg) e Δ FC (bpm) produzidas pela microinjeção sucessivas de Ang-(1-7) (40 pmol) antes e após a microinjeção do A-779 (50 pmol) na CVLM de ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

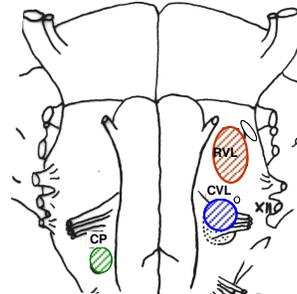
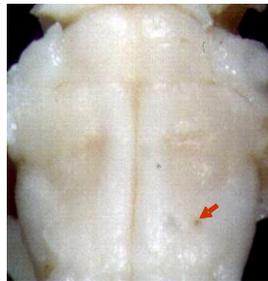
	2R1C SD		2R1C SAF 0%		2R1C SAF 3%	
	PAM	FC	PAM	FC	PAM	FC
Ang -(1-7)	-13 ± 2	-0,3 ± 2,9	-10 ± 1	-13,2 ± 11,1	-13 ± 1	-1,5 ± 2
A-779 0'	-11 ± 1	-2,7 ± 1,9	-6 ± 1*	-0,7 ± 2,7	-5 ± 1*	-1,2 ± 2,5
Ang -(1-7) 5'	-4 ± 1*	-2,6 ± 3,9	-5 ± 1*	-2,6 ± 1,3	-5 ± 1*	0,7 ± 1,7
Ang-(1-7) 15'	-4 ± 1*	-1,5 ± 3,1	-5 ± 2*	-0,1 ± 2	-6 ± 1*	-0,9 ± 1,4
Ang-(1-7) 30'	-11 ± 2	-4 ± 2,6	-12 ± 2	-7,2 ± 5	-11 ± 1	-6 ± 2,7
n	8-11		6		11-12	

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p< 0,05 em comparação a Ang-(1-7) (40 pmol) microinjetada antes do A-779 (50 pmol) nos respectivos grupos. ANOVA seguido de Dunnett. (teste “t” de Student para observações não pareadas).

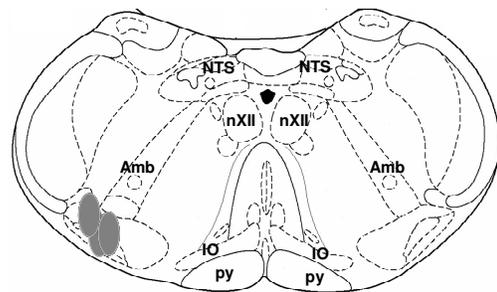
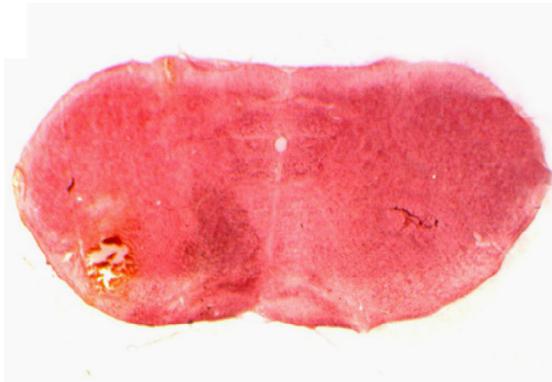
4.3. Análise Histológica da CVLM

A figura 15 apresenta uma fotografia de um corte frontal do bulbo ilustrando a localização das microinjeções na CVLM determinada pela lesão provocada pela micropipeta de vidro. A análise dos cortes histológicos dos animais desse estudo mostra que as microinjeções de Ang-(1-7) (40 pmol), A-779 (50 pmol) e salina estavam localizadas na porção ventral do núcleo reticular lateral.

A)



B)



-13.68 mm posterior
ao bregma

Figura 15: Painel **A** - Fotografia da superfície ventral do bulbo ilustrando a localização típica (seta vermelha) das microinjeções na CVLM. À direita da foto, diagrama da superfície ventral do bulbo ilustrando a localização das diferentes áreas de controle cardiovascular. Painel **B** - Fotografia de um corte frontal do bulbo corado com vermelho neutro, ilustrando o centro da microinjeção em um animal. À direita da foto, diagrama de corte frontal do bulbo extraído do Atlas de Paxinos e Watson (1997), mostrando a localização do centro de todas as microinjeções do presente estudo (círculos cinza). Amb= núcleo ambíguo; IO= núcleo olivar inferior; NTS= núcleo do trato solitário; nXII= núcleo do hipoglosso; Py= trato piramidal.

4.4. Avaliação de Diferentes Parâmetros da Hipertensão Renovascular

4.4.1. Evolução da PAM após Cirurgia para Produção da Hipertensão Renovascular 2R1C

Os valores de PAM (figura 16 e tabela 6) foram avaliados por pletismografia de cauda por 5 semanas em ratos SD, SAF 0% e SAF 3% com hipertensão renovascular 2R1C e normotensos SHAM.

Como mostrado na figura 16, os valores de PAM dos ratos 2R1C SAF 0% foram maiores ($p < 0,05$) em relação a dos animais SHAM SD somente na primeira semana após a realização da cirurgia 2R1C. Na segunda e terceira semana após as cirurgias (2R1C ou SHAM) os valores de PAM dos ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foram semelhantes ($p > 0,05$) entre si e superiores ($p < 0,01$) aos valores de PAM dos animais SHAM SD.

Na quarta semana após as cirurgias os valores de PAM dos animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foram maiores ($p < 0,01$) que os apresentados pelos ratos SHAM SD. No entanto, os animais dos grupos 2R1C SAF 0% e SAF 3% apresentaram uma redução significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) nos valores de PAM comparados aos dos animais 2R1C SD, mostrando que a AF (0% e 3%) reduziu os valores de PAM nos animais hipertensos. Porém, na quinta semana, somente os valores de PAM dos ratos 2R1C SAF 3% foram significativamente menores ($p < 0,01$) em relação aos valores de PAM do grupo 2R1C SD (figura 16 e tabela 6).

Em todas as semanas em que foi avaliada a PAM por pletismografia de cauda, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) na PAM entre os animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 16 e tabela 6).

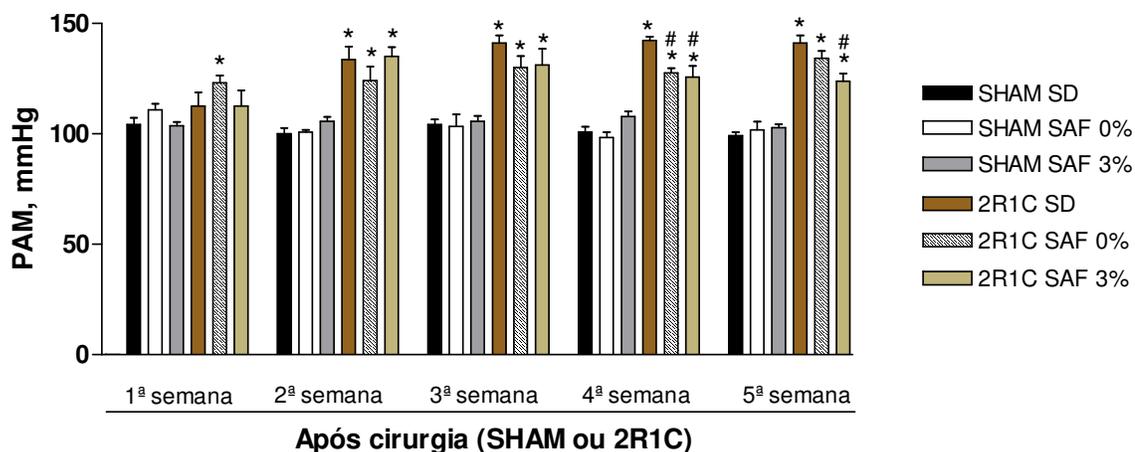


Figura 16: Pressão arterial média (PAM, mmHg) mensurada através de pletismografia de cauda em ratos acordados (SHAM SD, n=6; SHAM SAF 0%, n= 6; SHAM SAF 3%, n=7; 2R1C SD, n=4-9; 2R1C SAF 0%, n=5-6 e 2R1C SAF 3%, n=5-8) na 1ª, 2ª, 3ª, 4ª e 5ª semana após as cirurgias. *p<0,05 em comparação aos ratos SHAM SD. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Dunnett).

Tabela 6: Valores de PAM (mmHg) mensurada através da pletismografia de cauda em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana
SHAM SD (n=6)	104 ± 3	100 ± 3	104 ± 2	101 ± 2	99 ± 2
SHAM SAF 0% (n=6)	111 ± 3	101 ± 1	103 ± 5	98 ± 2	102 ± 4
SHAM SAF 3% (n=7)	104 ± 2	106 ± 2	106 ± 2	108 ± 2	103 ± 1
2R1C SD (n=4-9)	113 ± 6	134 ± 6*	141 ± 4*	142 ± 2*	141 ± 3*
2R1C SAF 0% (n=5-6)	123 ± 3*	124 ± 6*	130 ± 5*	128 ± 2*#	134 ± 3*
2R1C SAF 3% (n=5-8)	113 ± 7	135 ± 4*	131 ± 7*	126 ± 5*#	124 ± 4*#

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos ratos SHAM SD. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Dunnett).

4.4.2. Avaliação do Peso Seco dos Rins

Com o objetivo de confirmar se a estenose da artéria renal (rim clipado) poderia ser um parâmetro para avaliar a hipertensão renovascular, foi avaliado o peso seco relativo dos rins em relação ao comprimento da tibia dos animais 2R1C e SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).

A figura 17 (painel **A** e **B**) apresenta fotos dos rins dos ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) 41 dias após as cirurgias SHAM ou 2R1C.

A figura 18 e tabela 7 mostram que o peso seco relativo do rim esquerdo (clipado) dos animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi significativamente menor ($p < 0,001$, $p < 0,05$ e $p < 0,001$; respectivamente) em relação ao peso seco relativo do rim direito (não clipado) nos mesmos animais.

Por outro lado, o peso seco relativo do rim direito (não clipado) dos ratos com hipertensão renovascular 2R1C (SD e SAF 0%) foram significativamente maiores ($p < 0,001$ e $p < 0,01$ respectivamente) em relação ao peso seco do rim direito dos respectivos ratos SHAM (SD e SAF 0%). No entanto, os valores de peso seco relativo do rim direito dos ratos 2R1C SAF 3% foram semelhantes ($p > 0,05$) aos dos ratos SHAM SAF 3% (figura 18 e tabela 7).

Com a intenção de verificar se o grau de constrição da artéria renal nos ratos 2R1C SD e SAF (0% e 3%) foi semelhante ao do grupo SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi avaliado o percentual de redução do rim esquerdo (clipado) em relação ao rim direito (não-clipado). A figura 19 e tabela 7 mostram que os valores de percentual de redução dos ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foram significativamente maiores que os valores de percentual de redução dos respectivos animais SHAM [SD ($p < 0,001$), SAF 0% ($p < 0,001$) e SAF 3% ($p < 0,01$)].

Os valores de percentual de redução dos animais 2R1C SAF 0% foram similares ($p > 0,05$) aos dos 2R1C SD. Entretanto, os valores de percentual de redução dos animais 2R1C SAF 3% foram significativamente menores do que os valores dos animais 2R1C SD ($p < 0,01$) e 2R1C SAF 0% ($p < 0,001$) (figura 19 e tabela 7).

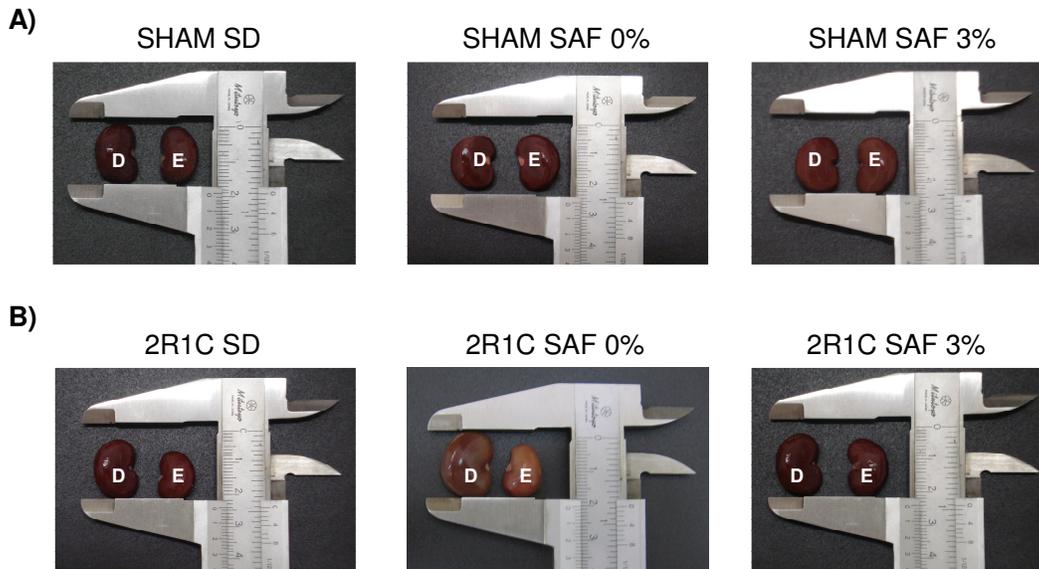


Figura 17: Fotos ilustrativas dos rins dos ratos 41 dias após cirurgias SHAM (painel **A**) ou 2R1C (painel **B**).

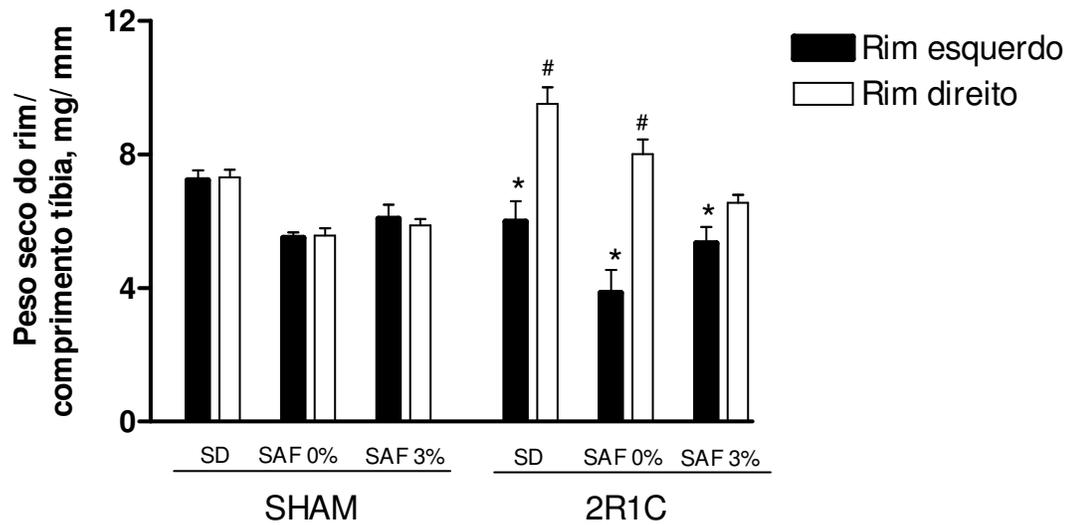


Figura 18: Alterações do peso seco relativo dos rins esquerdos/ comprimento da tibia e rins direitos/ comprimento da tibia (mg/ mm) em ratos SHAM SD (n=8); SHAM SAF 0% (n=6); SHAM SAF 3% (n=7); 2R1C SD (n=6); 2R1C SAF 0% (n=4) e 2R1C SAF 3% (n=7). * $p < 0,05$ em comparação aos respectivos rins direitos. # $p < 0,05$ em comparação aos respectivos rins direitos dos ratos SHAM (ANOVA seguido de Bonferroni).

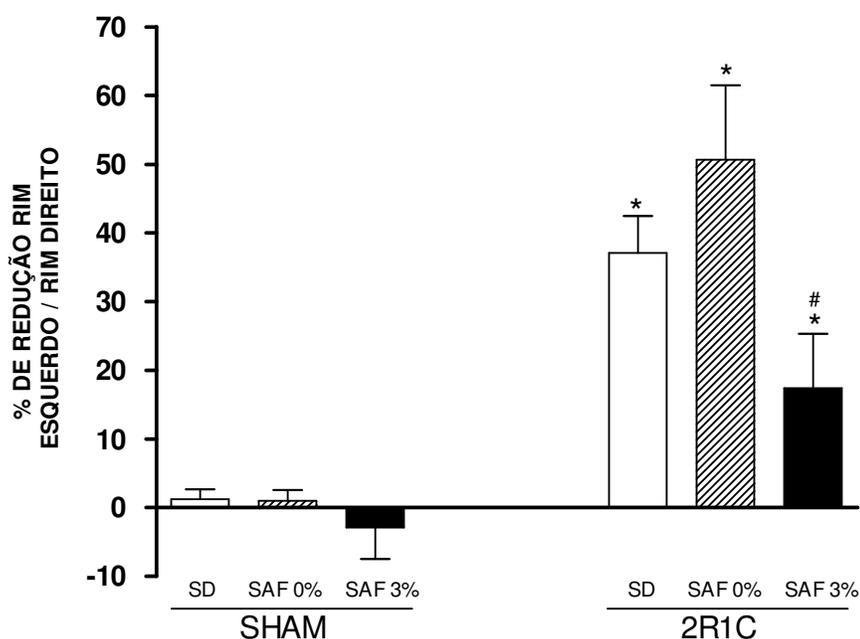


Figura 19: Avaliação do % de redução do peso seco do rim esquerdo (clipado) [(mg/ mm) (rim esquerdo/ rim direito x 100 - 100)] de ratos SHAM SD (n=8); SHAM SAF 0% (n=6); SHAM SAF 3% (n=7); 2R1C SD (n=6) 2R1C SAF 0% (n=4) e 2R1C SAF 3% (n=7). *p<0,05 em comparação aos respectivos animais SHAM. #p<0,05 em comparação aos animais 2R1C SD (ANOVA seguido de Bonferroni).

Tabela 7: Valores do peso seco dos rins (mg/ mm de comprimento da tibia) e valores do % de redução do peso seco do rim esquerdo (clipado) [(mg/ mm de comprimento da tibia) (rim esquerdo/ rim direito x 100 - 100)] em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Rim esquerdo	7,2 ± 0,3	5,5 ± 0,2	6,1 ± 0,4	5,9 ± 0,6*	3,8 ± 0,7 *	5,3 ± 0,5 *
Rim direito	7,3 ± 0,2	5,6 ± 0,2	5,9 ± 0,2	9,5 ± 0,5 #	8,0 ± 0,4 #	6,6 ± 0,2
% de redução	1 ± 1	1 ± 2	-3 ± 5	37 ± 5 †	51 ± 11 †	17 ± 8 †‡
n	8	6	7	6	4	7

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos respectivos rins direitos (contralateral). #p<0,05 em comparação aos respectivos rins direitos dos ratos SHAM. †p<0,05 em comparação aos respectivos animais SHAM. ‡p<0,05 em comparação aos animais 2R1C SD (ANOVA seguido de Bonferroni).

4.4.3. Avaliação Histológica dos Rins

A partir da avaliação das principais alterações patológicas observadas por análise semi-quantitativa (em ANEXO) no rim esquerdo e direito dos ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi realizada uma análise quantitativa da luz dos túbulos renais corticais e medulares e do espaço da cápsula de Bowman dos glomérulos.

A figura 20 e 21 ilustra as fotomicrografias e as principais alterações patológicas observadas por análise semi-quantitativa (em ANEXO), na região medular do rim esquerdo (figura 20) e cortical do rim direito (figura 21) de ratos dos grupos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

A figura 22 (painel **A**) e tabela 8 mostram os valores da luz dos túbulos renais do rim esquerdo e direito nos animais SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). A luz dos túbulos renais, no rim esquerdo, dos ratos SAF 3% (SHAM e 2R1C) foi maior ($p < 0,001$) que a dos ratos SHAM SD. No entanto, a luz dos túbulos renais do rim esquerdo dos ratos 2R1C SD e 2R1C SAF 0% foi menor ($p < 0,001$) que a dos ratos SHAM SD. A luz dos túbulos renais do rim esquerdo dos ratos SHAM SAF 0% foi e semelhante ($p > 0,05$) a dos ratos SHAM SD (figura 22, painel **A** e tabela 8).

Os valores da luz dos túbulos renais esquerdos dos animais 2R1C SAF 3% foram maiores ($p < 0,001$) que os dos animais 2R1C SD. No entanto, os valores da luz dos túbulos renais esquerdos dos animais 2R1C SAF 0% foram semelhantes ($p > 0,05$) aos dos animais 2R1C SD (figura 22, painel **A** e tabela 8).

Ao avaliarmos a luz dos túbulos renais direitos (figura 22, painel **B** e tabela 8) nos animais SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi observado que os valores de luz tubular renal direita nos animais 2R1C SAF 3% foram significativamente maiores ($p < 0,001$) em relação aos dos animais SHAM SD. No entanto, a luz dos túbulos renais direitos dos animais SHAM SAF 0% foi menor ($p < 0,001$) que a dos animais SHAM SD. Por outro lado, a luz dos túbulos renais direitos dos animais SHAM SAF 3%, 2R1C SD e 2R1C SAF 0% foi semelhante ($p > 0,05$) a dos animais SHAM SD.

Os valores da luz dos túbulos renais direitos dos animais 2R1C SAF 3% foram maiores ($p < 0,001$) em comparação aos dos animais 2R1C SD. No entanto a luz dos túbulos renais direitos dos animais 2R1C SAF 0% foi semelhante ($p > 0,05$) a dos animais 2R1C SD (figura 22, painel **B** e tabela 8).

A figura 23 e tabela 9 mostram o espaço da cápsula de Bowman nos glomérulos do rim esquerdo e direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) em ratos SHAM ou 2R1C. Ao avaliarmos o espaço da cápsula de Bowman nos glomérulos do rim esquerdo dos animais (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM e 2R1C, não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os grupos. No entanto ao avaliarmos o espaço da cápsula de Bowman no rim direito, foi

observado um maior ($p < 0,01$) espaço da cápsula de Bowman nos animais 2R1C SAF (0% e 3%) em comparação aos dos animais SHAM SD (figura 23 e tabela 9). Por outro lado, o espaço da cápsula de Bowman renal direito nos animais 2R1C SAF 3% foi maior ($p = 0,0401$) que o nos animais 2R1C SD. No entanto, nos animais 2R1C SAF 0% o espaço da cápsula de Bowman foi similar ($p > 0,05$) ao dos animais 2R1C SD. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a distância do espaço da cápsula de Bowman nos rins direitos entre os animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 23 e tabela 9).

Quando comparamos a distância do espaço da cápsula de Bowman entre o rim direito e esquerdo dos animais (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM e 2R1C, foi observado que o espaço da cápsula de Bowman do rim esquerdo dos animais 2R1C SAF (0% e 3%) foi menor ($p = 0,0376$ e $p = 0,0076$ respectivamente) em comparação com o espaço da cápsula de Bowman do rim direito nos respectivos animais. Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o espaço da cápsula de Bowman esquerdo e direito entre os animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) e 2R1C SD (figura 23 e tabela 9).

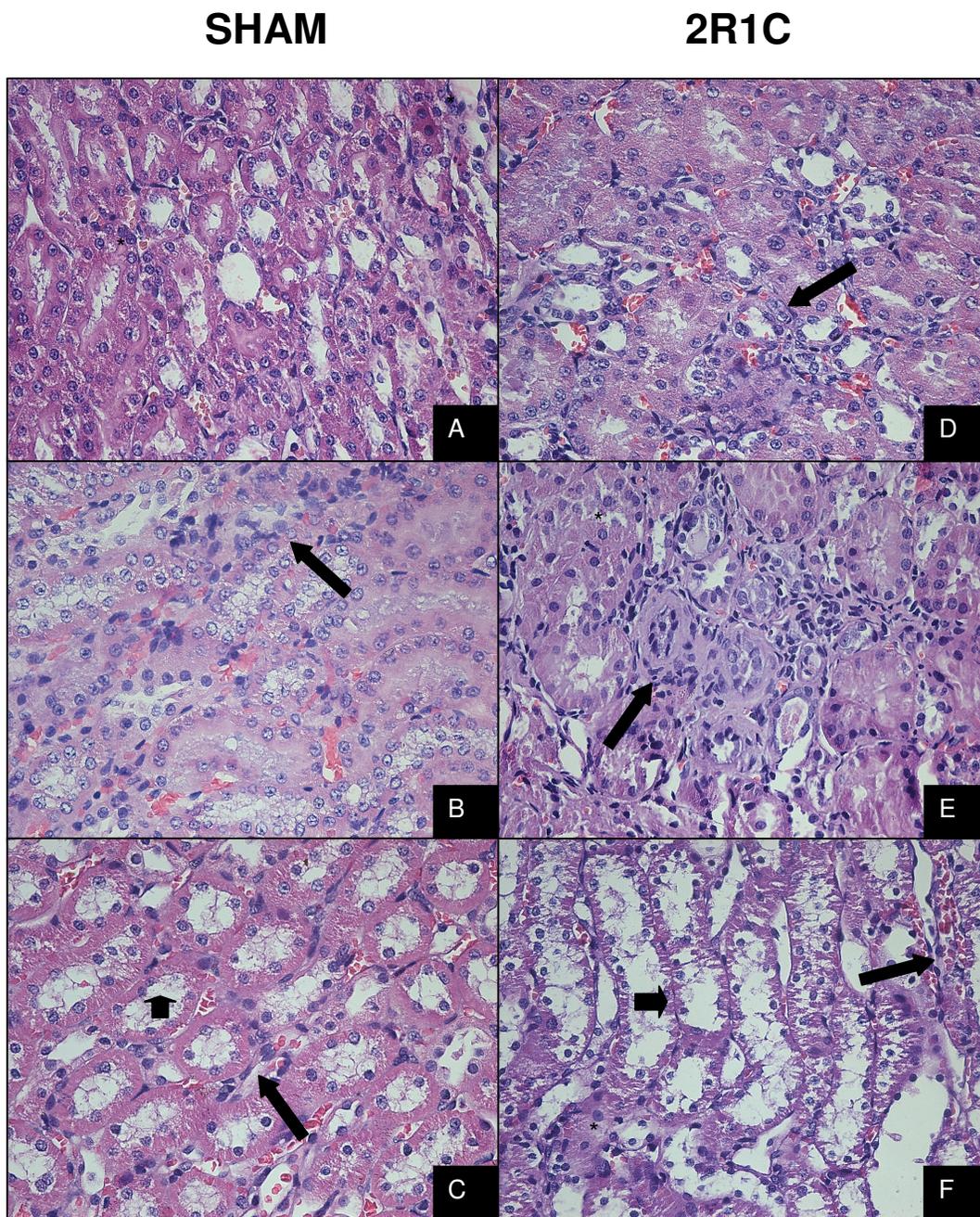


Figura 20: Fotomicrografias da região medular do rim esquerdo de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) dos grupos SHAM ou 2R1C (clipado). Observa-se aspecto histológico compatível com o quadro de normalidade nos ratos SHAM SD (**A**), dilatação tubular (cabeça de seta preta) acentuada, inflamação e fibrose (seta preta) moderada nos ratos SHAM SAF 3% (**C**) e 2R1C SAF 3% (**F**), inflamação e fibrose acentuada nos ratos 2R1C SAF 0% (**E**) e 2R1C SD (**D**), inflamação e fibrose moderada nos ratos SHAM SAF 0% (**B**). Observa-se também degeneração tubular (asterisco amarelo) nos animais SHAM SD, 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3%. Hematoxilina Eosina, X 40.

SHAM

2R1C

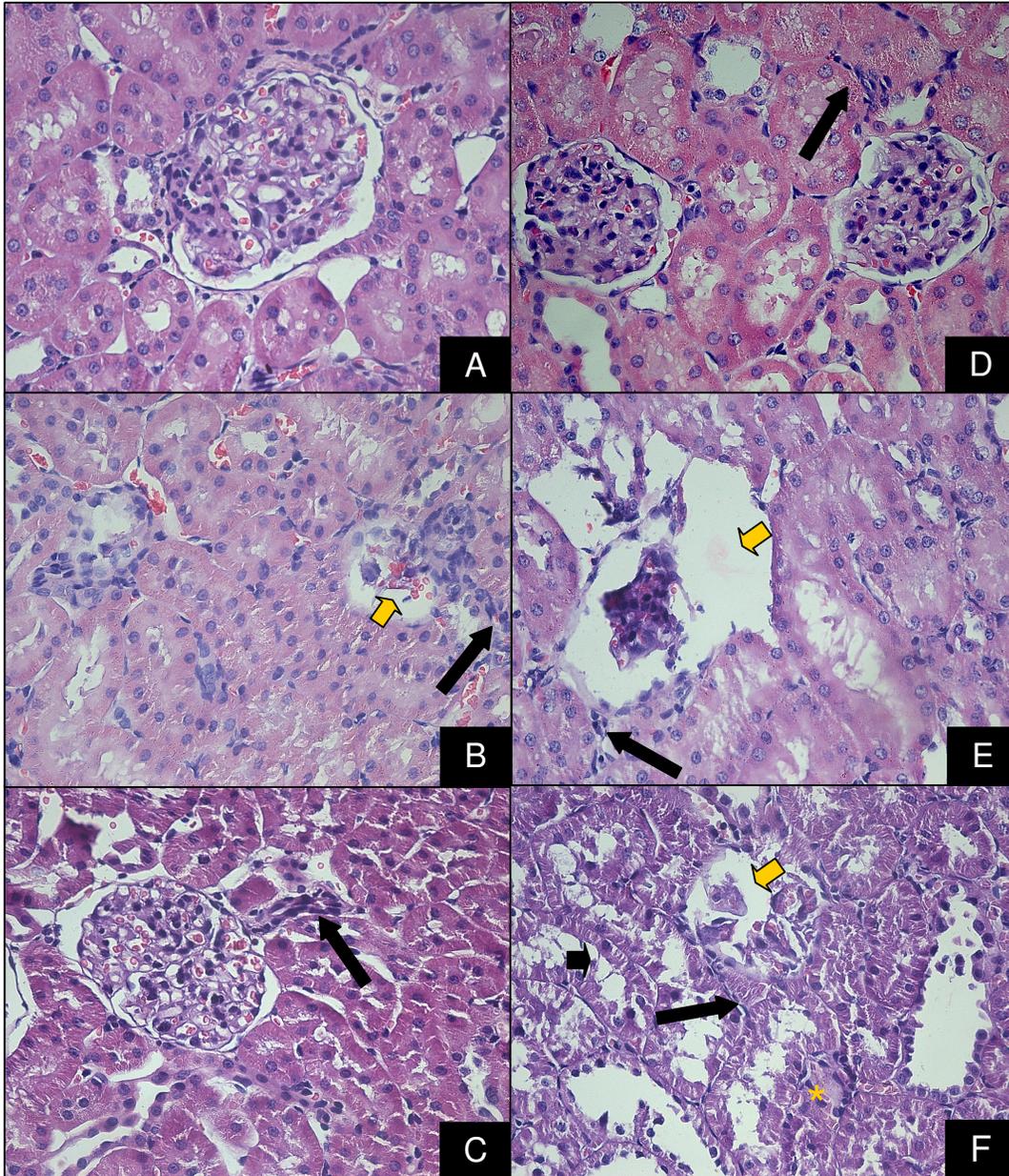


Figura 21: Fotomicrografias da região cortical do rim direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) dos grupos SHAM ou 2R1C (não-clipado). Observa-se aspecto histológico compatível com o quadro de normalidade nos ratos SHAM SD (A), fibrose e inflamação (seta preta) leve nos ratos SHAM SAF 3% (C) e 2R1C SD (D), esclerose glomerular (cabeça de seta amarela) nos ratos SHAM SAF 0% (B), 2R1C SAF 0% (E) e 2R1C SAF 3% (F), inflamação e degeneração tubular (asterisco amarelo) nos ratos 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% e dilatação tubular (cabeça de seta preta) nos ratos 2R1C SAF 3%. Hematoxilina Eosina, X 40.

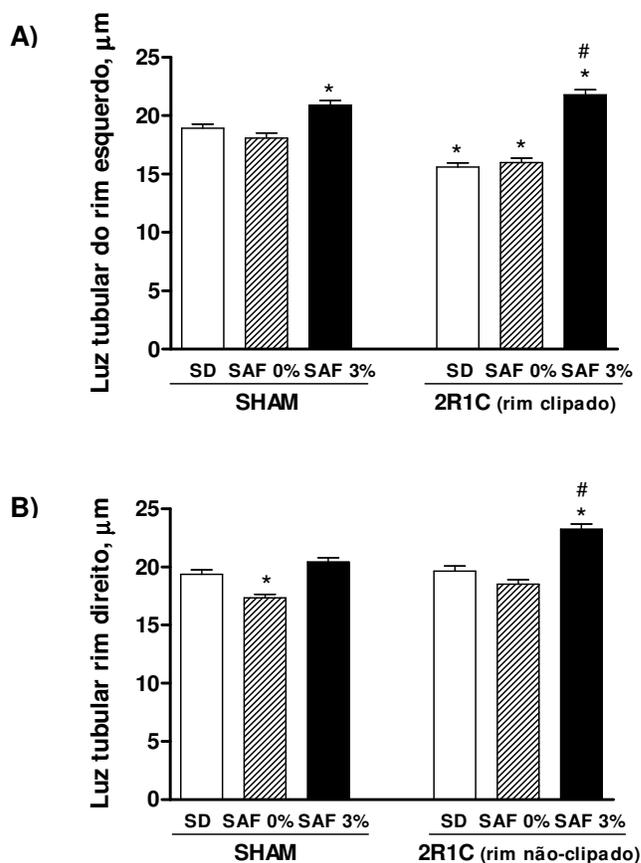


Figura 22: Luz tubular (μm) do rim esquerdo (painel **A**) e direito (painel **B**) de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ($n=3-4$) ou 2R1C ($n=3-4$). * $p<0,05$ em comparação aos ratos SHAM SD. # $p<0,05$ em comparação aos ratos 2R1C SD. (ANOVA seguido de Newman Keuls).

Tabela 8: Luz dos túbulos renais (μm) dos rins direito e esquerdo dos ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Rim esquerdo	18,9 \pm 0,4	18,1 \pm 0,5	20,9 \pm 0,4*	19,6 \pm 0,4*	15,9 \pm 0,4*	21,8 \pm 0,4**
Rim direito	19,4 \pm 0,4	17,3 \pm 0,3*	20,4 \pm 0,4	15,6 \pm 0,4	18,5 \pm 0,4	23,2 \pm 0,4**
n	4	4	3-4	4	4	3-4

Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p<0,05$ em comparação aos animais SHAM SD. # $p<0,05$ em comparação aos ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Newman Keuls).

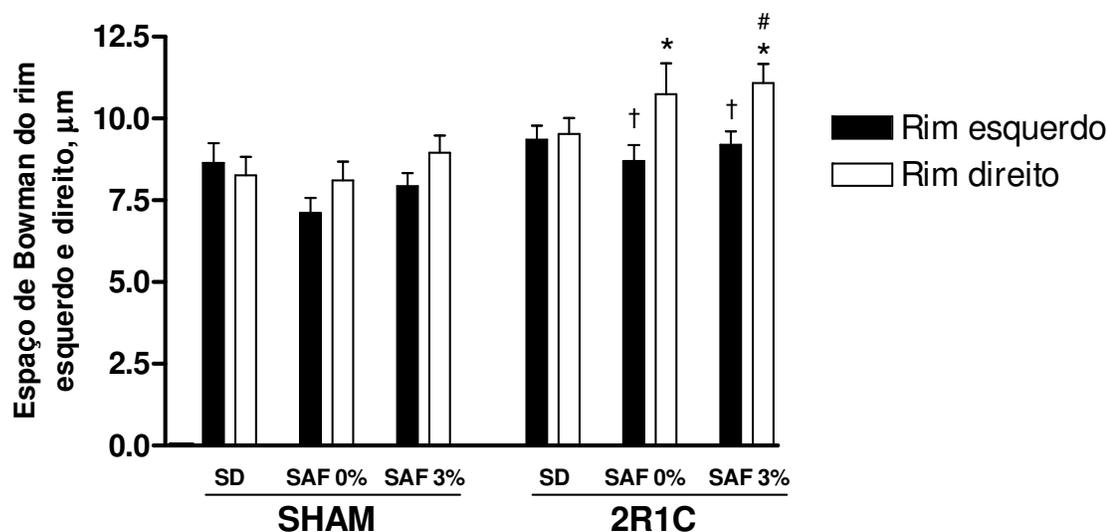


Figura 23: Espaço da cápsula de Bowman do rim esquerdo e direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (3-4) ou 2R1C (n=3-4). *p<0,05 em comparação com os animais SHAM SD. #p<0,05 em comparação aos animais 2R1C SD. †p<0,05 em comparação com o rim direito do mesmo animal. (ANOVA seguido de Newman Keuls) (Teste t de Student para observações não pareadas).

Tabela 9: Espaço da cápsula de Bowman do rim esquerdo e direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Espaço Bowman esquerdo	8,6 ± 0,6	7,1 ± 0,5	7,9 ± 0,4	9,4 ± 0,4	8,7 ± 0,5 [†]	9,2 ± 0,4 [†]
Espaço Bowman direito	8,3 ± 0,3	8,1 ± 0,6	8,9 ± 0,5	9,5 ± 0,5	10,8 ± 0,9*	11,1 ± 0,6*#
n	4	4	3 - 4	4	4	3 - 4

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação com os animais SHAM SD. #p<0,05 em comparação aos animais 2R1C SD. †p<0,05 em comparação o rim direito no mesmo animal. (ANOVA seguido de Newman Keuls) (Teste t de Student para observações não pareadas).

4.4.4. Avaliação do Peso Seco do Coração

A figura 24 (painel **A**) e tabela 10 mostram que o peso seco relativo do coração em relação ao comprimento da tíbia, dos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3% foram semelhantes ($p>0,05$) entre si e significativamente maiores ($p<0,05$) em relação ao peso seco relativo do coração dos respectivos animais SHAM SD. Entretanto os valores de peso seco relativo do coração dos animais 2R1C SAF 0% foram semelhantes ($p>0,05$) ao dos animais SHAM SD e portanto significativamente menores ($p<0,05$) que o dos animais 2R1C SD. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os valores de peso seco relativo do coração dos animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Em relação aos valores de peso seco relativo dos ventrículos em relação ao comprimento da tíbia, assim como os valores apresentados do peso seco relativo do coração, os animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3% apresentaram valores semelhantes ($p>0,05$) entre si e significativamente maiores ($p<0,05$) que os dos ventrículos dos respectivos animais SHAM SD. No entanto, os valores de peso seco relativo dos ventrículos dos animais 2R1C SAF 0% foram semelhantes ($p>0,05$) aos dos animais SHAM SD e significativamente menores ($p<0,05$) do que os dos animais 2R1C SD. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os valores de peso seco relativo dos ventrículos dos animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 24, painel **B** e tabela 10).

Os valores do comprimento da tíbia nos grupos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0%, SAF 3%) foram similares ($p>0,05$) entre estes grupos (tabela 10).

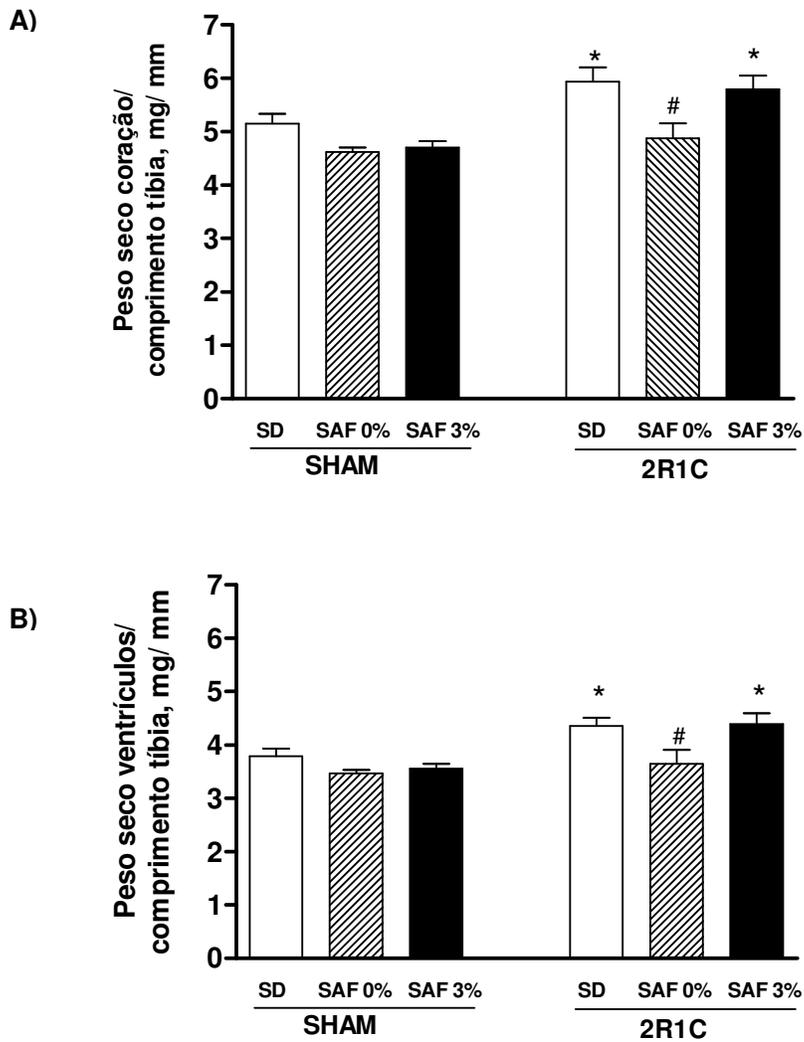


Figura 24: Alterações no peso seco relativo do coração/ comprimento tibia (mg/ mm) (painel **A**) e ventrículos/ comprimento tibia (mg/ mm) (painel **B**) de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (n=6-7) ou 2R1C (n=4-7). * $p < 0,05$ em comparação aos ratos SHAM SD. # $p < 0,05$ em comparação aos ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Newman keuls).

Tabela 10: Valores do peso seco relativo do coração/ comprimento tibia (mg/ mm), ventrículos/ comprimento tibia (mg/ mm) e comprimento da tibia (mm) em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF	SD	SAF 0%	SAF 3%
Peso Coração	5,1 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,7 ± 0,1	5,9 ± 0,3*	4,9 ± 0,3 [#]	5,8 ± 0,3*
Peso Ventrículos	3,8 ± 0,1	3,5 ± 0,6	3,6 ± 0,1	4,4 ± 0,2*	3,6 ± 0,3 [#]	4,4 ± 0,2*
Comprimento Tibia	38 ± 0,1	37 ± 0,3	38 ± 0,4	38 ± 0,4	38 ± 0,3	37 ± 0,3
n	7	6	7	5	4	7

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos ratos SHAM SD. [#]p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C SD. (ANOVA seguido de Newman keuls).

4.4.5. Avaliação Histológica do Coração

A partir das observações das principais alterações patológicas encontradas por análise semi-quantitativa (em ANEXO) no coração dos ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi realizada uma análise quantitativa da espessura da parede dos ventrículos, a luz dos ventrículos, relação parede do ventrículo esquerdo/ luz do ventrículo esquerdo, espessura da parede vascular cardíaca e o número de células inflamatórias no miocárdio. A figura 25 (painel **A**) e tabela 11 mostram os valores médios da espessura dos ventrículos esquerdos e direitos de ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Como esperado, os valores da espessura dos ventrículos esquerdos foram significativamente maiores (p<0,0001) que os valores dos ventrículos direitos em todos os grupos de animais SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 25, painel **A** e tabela 11).

Ao avaliarmos se a atividade física e/ ou hipertensão poderiam promover um espessamento na parede ventricular nos animais, não foi observada nenhuma hipertrofia significativa (p>0,05) no ventrículo esquerdo dos ratos SHAM SAF 0%, SHAM SAF 3% e 2R1C SAF 0% em relação à espessura da parede ventricular esquerda dos ratos SHAM SD. No entanto, a espessura média do ventrículo esquerdo nos ratos 2R1C (SD e SAF 3%) foi maior (p<0,01) que a espessura da parede ventricular esquerda dos ratos SHAM SD. Por outro lado, não houve diferença significativa (p>0,05) entre os valores da espessura da parede do ventrículo esquerdo entre os animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 25, painel **A** e tabela 11).

Não foi observada hipertrofia significativa ($p > 0,05$) entre os ventrículos direitos em todos os grupos de animais SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 25, painel **A** e tabela 11).

A figura 25 (painel **B**) e tabela 12 mostram os valores médios da luz do ventrículo esquerdo e direito de ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Foi observado maior luz do ventrículo esquerdo nos grupos SHAM SAF 3%, 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% ($p < 0,0019$, $p < 0,0393$ e $p < 0,0241$ respectivamente) em comparação à luz do ventrículo direito nos respectivos animais. No entanto, não foi observada diferença ($p > 0,05$) na luz do ventrículo esquerdo em comparação à respectiva do ventrículo direito dos grupos SHAM SD, SHAM SAF 0% e 2R1C SD (figura 25, painel **B** e tabela 12).

Na intenção de avaliarmos as alterações morfológicas no coração, em função das modificações na espessura e luz do ventrículo esquerdo promovidas pela AF e/ ou hipertensão. Foi feita a relação da espessura da parede ventricular esquerda/ luz do ventrículo esquerdo (RP/ L) (figura 25, painel **C**).

A RP/ L do ventrículo esquerdo, pode nos sugerir se a hipertrofia (quando observada) é excêntrica (fisiológica) ou concêntrica (patológica). De forma que, valores maiores da relação RP/ L caracterizariam uma hipertrofia concêntrica e valores menores da relação RP/ L caracterizariam uma hipertrofia excêntrica. Considerando que não ocorreu qualquer alteração cardíaca, em relação à luz e espessamento do ventrículo esquerdo nos animais SHAM SD, a RP/ L observada nestes ratos foi tida como controle, ou seja, sem nenhuma alteração concêntrica ou excêntrica.

A figura 25 (painel **C**) mostra que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na RP/ L entre os animais SHAM SAF 0% ($0,55 \pm 0,02$, $n=4$) e SHAM SAF 3% ($0,39 \pm 0,02$, $n=4$) em relação aos animais SHAM SD ($0,46 \pm 0,05$, $n=4$).

No entanto ao avaliarmos a RP/ L nos ratos que apresentaram hipertrofia cardíaca, 2R1C SD ($0,88 \pm 0,07$, $n=4$) e 2R1C SAF 3% ($0,66 \pm 0,04$, $n=4$), foi observado que a morfologia da hipertrofia nos animais 2R1C SD apresenta característica concêntrica ($p < 0,01$), em relação aos animais SHAM SD. Por outro lado, a morfologia da hipertrofia nos animais 2R1C SAF 3% foi diferente ($p < 0,05$) à dos animais 2R1C SD, caracterizando-se como excêntrica (em relação aos animais 2R1C SD) (figura 25, painel **C**).

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) na RP/ L nos animais 2R1C SAF 0% ($0,61 \pm 0,06$, $n=4$) em comparação aos animais SHAM SD (figura 25, painel **C**).

A figura 26 ilustra a Fotomicrografias de vasos cardíacos de ratos dos grupos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). A figura 27 e tabela 13 mostram os valores médios da parede vascular cardíaca de ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Os valores da espessura da parede vascular cardíaca nos animais 2R1C SD ($p < 0,01$), SAF 0% (SHAM e 2R1C) ($p < 0,05$) e SAF 3% (SHAM e 2R1C 3%) ($p < 0,001$) foram maiores que dos animais SHAM SD (figura 27 e tabela 13). Não houve diferença ($p > 0,05$) na espessura da parede vascular cardíaca entre os animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Ao avaliarmos os valores da luz vascular cardíaca dos ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), não foram observadas diferenças significativas entre os mesmos (tabela 13).

A figura 28 mostra a contagem de células observadas nos ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) em relação ao total de células observados nos ratos SHAM SD. Os animais SAF 3% (SHAM e 2R1C) apresentaram significativamente um maior número de células inflamatórias (167 ± 11 , $n=4$ e 152 ± 5 , $n=4$; respectivamente) em relação aos animais controle SHAM SD (136 ± 7 , $n=4$) ($p < 0,05$). No entanto não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no número de células nos animais SAF 0% (SHAM e 2R1C) (103 ± 8 , $n=4$; grupo SHAM e 128 ± 6 , $n=4$; grupo 2R1C) e 2R1C SD (121 ± 4 , $n=4$) em relação aos dos animais SHAM SD (figura 28).

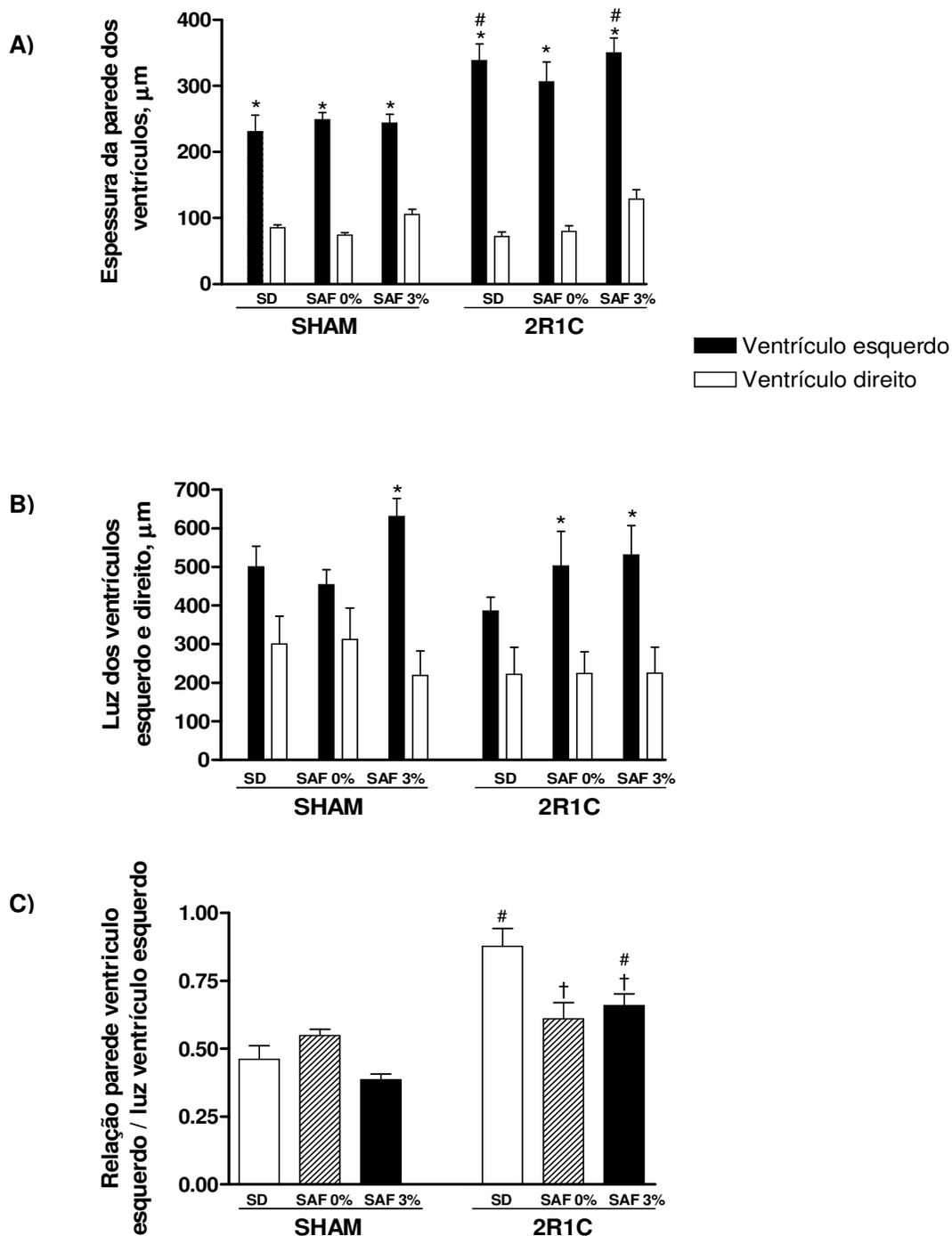


Figura 25: Painel **A**: Análise quantitativa da espessura da parede (μm) do ventrículo esquerdo e direito. Painel **B**: Luz do ventrículo esquerdo e direito (μm). Painel **C**: RP/ L ventrículo esquerdo de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C (n=4). * $p < 0,05$ em relação ao ventrículo direito. # $p < 0,05$ em relação aos ratos SHAM SD. † $p < 0,05$ em relação aos animais 2R1C SD. (ANOVA seguido de Dunnett) (Teste t de Student para observações não pareadas).

Tabela 11: Análise quantitativa da espessura (μm) da parede do ventrículo esquerdo e direito em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Ventrículo Esquerdo	231 \pm 25*	249 \pm 11*	244 \pm 13*	339 \pm 25*#	306 \pm 30*	350 \pm 23*#
Ventrículo Direito	85 \pm 5	74 \pm 4	106 \pm 8	72 \pm 7	80 \pm 8	129 \pm 14
n	4	4	4	4	4	4

Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ em relação ao ventrículo direito. # $p < 0,05$ em relação ao ventrículo esquerdo dos ratos SHAM SD. (ANOVA seguido de Dunnet) (Teste t de Student para observações não pareadas).

Tabela 12: Análise quantitativa da luz (μm) do ventrículo esquerdo e direito em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Ventrículo Esquerdo	500 \pm 54	454 \pm 39	631 \pm 47 *	386 \pm 36	502 \pm 90 *	531 \pm 76 *
Ventrículo Direito	300 \pm 72	313 \pm 81	219 \pm 63	222 \pm 70	224 \pm 56	225 \pm 68
n	4	4	4	4	4	4

Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ em relação ao ventrículo direito. (ANOVA seguido de Dunnet) (Teste t de Student para observações não pareadas).

SHAM

2R1C

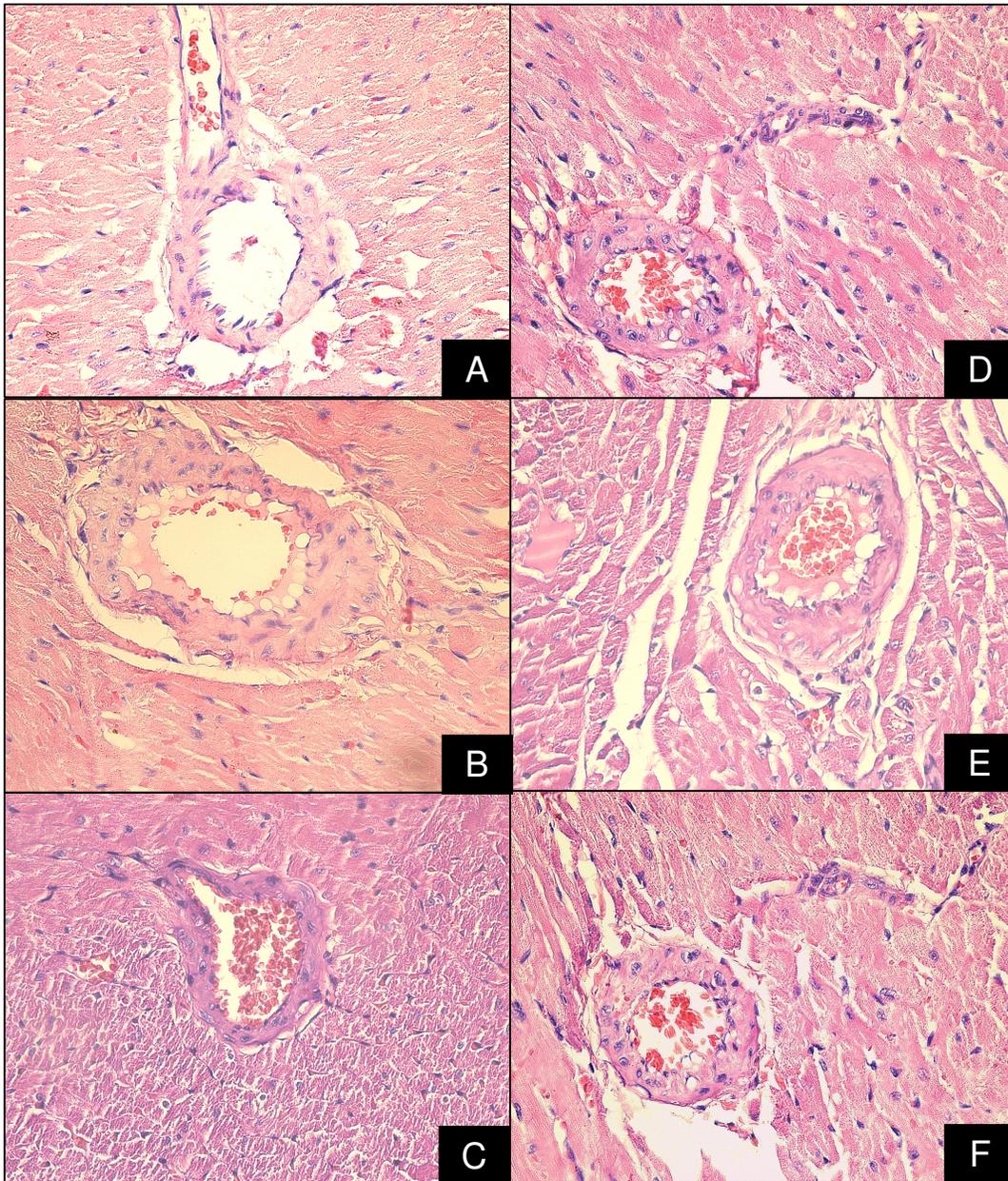


Figura 26: Fotomicrografias de vasos cardíacos de ratos dos grupos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C. Observa-se espessura compatível com o quadro de normalidade nos ratos SHAM SD (C), dilatação na parede vascular nos ratos SHAM SAF 0% (A), SHAM SAF 3% (B), 2R1C SAF 0% (D), 2R1C SAF 3% (E) e 2R1C SD (F). Hematoxilina Eosina, X 40.

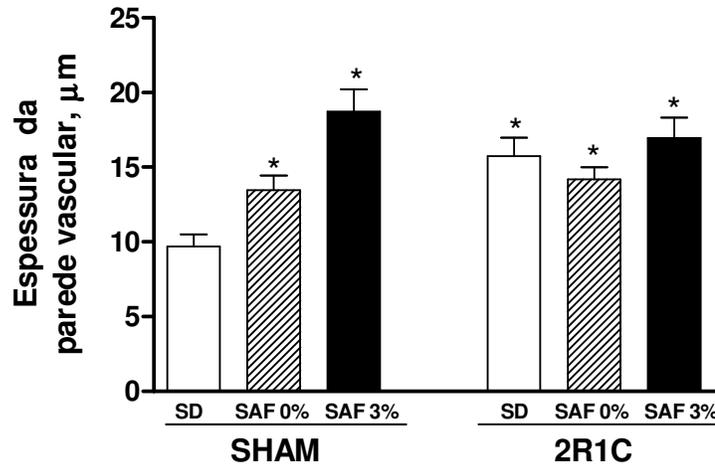


Figura 27: Espessura da parede vascular cardíaca (μm) de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C ($n=4$). * $p<0,05$ em relação aos ratos SHAM SD (ANOVA seguido de Newman Keuls).

Tabela 13: Espessura da parede vascular cardíaca (μm) e luz dos vasos cardíacos em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Parede do vaso	9,7 ± 0,8	13,5 ± 0,9 *	18,7 ± 1,5 *	15,7 ± 1,2 *	14,2 ± 0,8 *	16,9 ± 1,4 *
Luz do vaso	40 ± 5	59 ± 7	65 ± 7	46 ± 5	44 ± 4	61 ± 10
n	4	4	4	4	4	4

Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p<0,05$ em relação aos ratos SHAM SD. (ANOVA seguido de Newman Keuls).

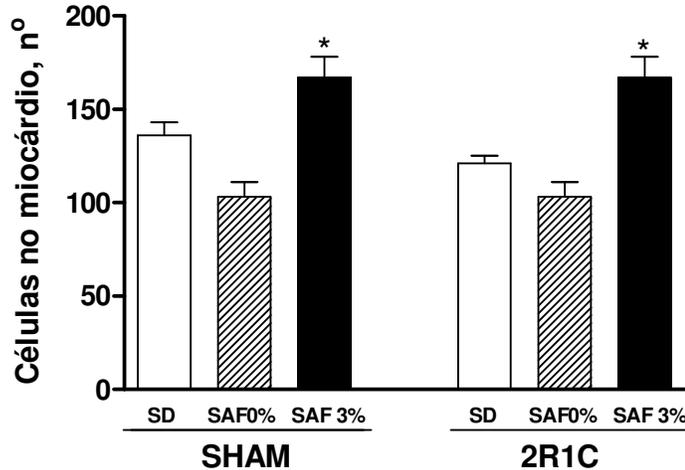


Figura 28: Contagem de células no miocárdio em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (n=4) ou 2R1C (n=4). * $p < 0,05$ em relação ao total de células mensuradas nos ratos SHAM SD (ANOVA seguido de Newman Keuls).

4.4.6. Avaliação dos Níveis Séricos de Uréia e Creatinina

A tabela 14 mostra os níveis séricos de uréia e creatinina plasmática de ratos 2R1C e SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) após cinco semanas das cirurgias (SHAM ou 2R1C).

Os níveis séricos de uréia não mostraram interação ($p > 0,05$) entre os valores do efeito das cirurgias (SHAM ou 2R1C) e da AF. No entanto, foi observado que os valores séricos de uréia nos animais SAF 0% [SHAM ($p < 0,01$) e 2R1C ($p < 0,0001$)] e SAF 3% [SHAM ($p < 0,01$) e 2R1C ($p < 0,0001$)] foram menores em relação aos dos respectivos animais SD, SHAM ($8,8 \pm 0,3$ mmol, n=5) e 2R1C ($11 \pm 0,3$ mmol, n=5). Por outro lado, os valores séricos de uréia dos animais SAF 0% (SHAM e 2R1C) foram semelhantes ($p > 0,05$) aos valores de uréia dos animais SAF 3% (SHAM e 2R1C) tabela 14.

Em relação aos níveis séricos de creatinina, não ocorreu interação ($p > 0,05$) entre o efeito da cirurgia (SHAM ou 2R1C) e o efeito da AF. Também não ocorreram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação à dosagem dos níveis séricos de creatinina entre os grupos SD ou SAF (0% e 3%) tanto para os grupos SHAM como para os grupos 2R1C (tabela 14).

Tabela 14: Concentração sérica de uréia (mmol/ L) e creatinina (mmol/ L) em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

Grupos	Uréia (mmol/ L)	Creatinina (mmol/ L)
SHAM SD	8,8 ± 0,3	116 ± 16
SHAM SAF 0%	7,6 ± 0,2 *	101 ± 12
SHAM SAF 3%	7,5 ± 0,1 *	91 ± 4
2R1C SD	11 ± 0,3	110 ± 19
2R1C SAF 0%	9,3 ± 0,4 *	95 ± 9
2R1C SAF 3%	8,7 ± 0,3 *	75 ± 5
n	5	5
Valor de p		
Atividade Física	<0,0001	NS
Hipertensão	<0,0001	NS
Interação	>0,05	NS

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação ao respectivo rato SD. (ANOVA Two-way seguido de pós teste de Bonferroni).

4.5. Estudo do Lactato Sanguíneo

4.5.1. Teste do Lacto Mínimo ou Limiar Anaeróbico

Na intenção de avaliar se o esforço físico entre os animais normotensos e hipertensos foi o mesmo, mensuramos o limiar anaeróbico dos ratos (SD) SHAM e 2R1C, utilizando o teste de lactato mínimo.

A figura 29 (painel **A**) e tabela 15 mostram a curva ajustada (linha verde) aos dados de lactato sanguíneo do teste com cargas progressivas para o grupo SHAM. O lactato mínimo foi indicado pela carga na qual a curva atingiu o seu ponto mínimo (“nadir”). O limiar anaeróbico médio, para o grupo SHAM, expresso como a carga na qual o lactato mínimo foi calculado, foi de 4,5 % do peso corporal dos ratos SHAM, enquanto que a concentração sanguínea média de lactato nessa carga foi de 11,87 mmol/ L. Por outro lado, para o grupo 2R1C não foi possível determinar o limiar anaeróbico médio, uma vez que a cinética do lactato sanguíneo ao teste com cargas progressivas, não produziu o nadir esperado no teste de lactato mínimo (figura 29, painel **B** e tabela 15).

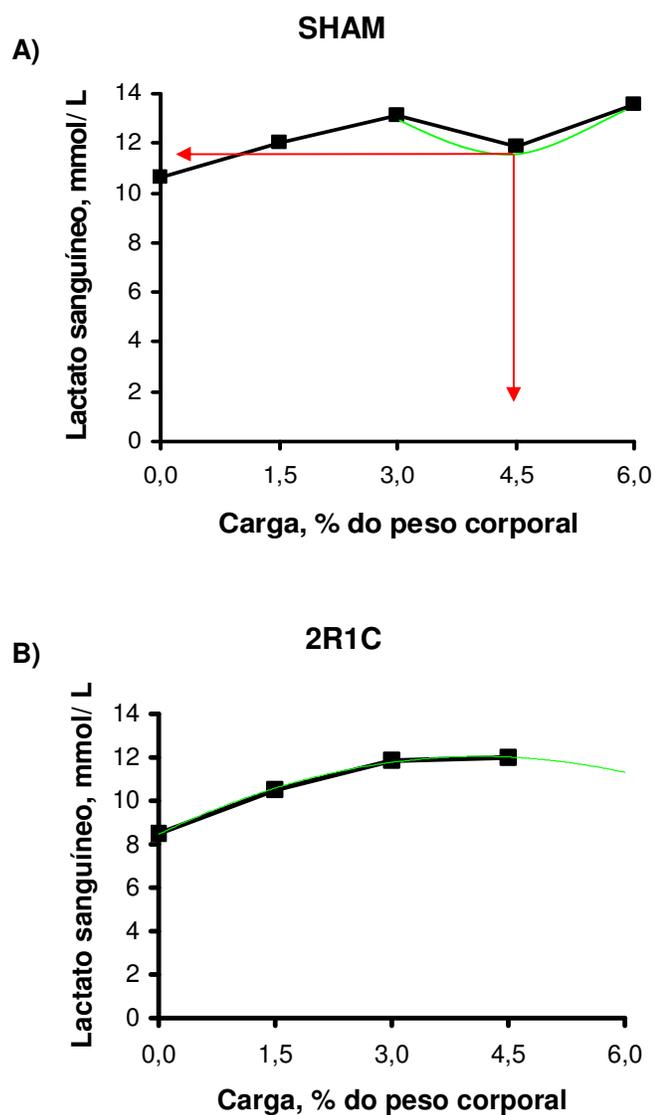


Figura 29: Teste para determinação do limiar anaeróbico (mmol/ L) pelo teste incremental de natação, em ratos SHAM (painéis **A**) e 2R1C (painel **B**). Cada ponto indica a concentração de lactato na ordenada após 5 minutos de AF com a carga indicada no eixo das abscissas. O lactato sanguíneo e a respectiva carga (%) foram calculados usando a função “Spline”. A seta vermelha vertical (painel **A** e **B**) indica a carga correspondente ao lactato sanguíneo, enquanto a seta horizontal vermelha indica a concentração interpolada de lactato sanguíneo. A linha verde indica o ajuste da curva de lactato (painel **A** e **B**).

Tabela 15: Concentrações de lactato sanguíneo (mmol/ L) durante teste incremental de natação em ratos SHAM ou 2R1C.

	Sobrecarga				
	0%	1,5%	3%	4,5%	6%
SHAM (n=4)	10,7 ± 0,8	12,1 ± 1,1	13,1 ± 1,2	11,9 ± 0,7	13,5 ± 1,3
2R1C (n=4)	8,5 ± 1,6	10,5 ± 2,2	11,9 ± 2	12 ± 1,5	
n	4	4	4	4	4 e 0

Os valores foram obtidos pelo ajuste da curva em formato de “U” (grupo SHAM) indicado pela carga (% do peso corporal) na qual a curva atingiu o ponto mínimo (“nadir”).

4.5.2. Teste de Verificação da Estabilização do Lactato

A figura 30 e tabela 16 mostram a concentração média de lactato sanguíneo durante natação com carga constante (3% do peso corporal) em ratos SD (SHAM e 2R1C).

Os animais SHAM apresentaram estabilização do lactato sanguíneo a partir de 10 minutos do início da natação com 3% do peso corporal na concentração de $8,6 \pm 0,8$ mmol/ L de lactato sanguíneo (figura 30 e tabela 16). Entretanto, os animais 2R1C somente mostraram estabilização na concentração de lactato sanguíneo a partir de 20 minutos do início da natação com 3% do peso corporal na concentração de $9 \pm 0,5$ m/mol/ L de lactato sanguíneo (figura 30 e tabela 16).

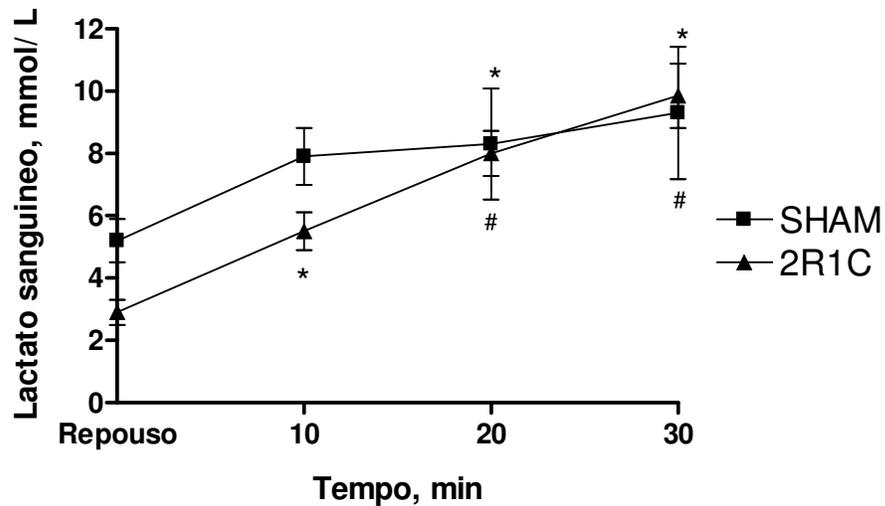


Figura 30: Concentração de lactato sanguíneo (mmol/ L) até 30 minutos de natação com sobrecarga fixa (3% do peso corporal) em ratos SHAM (n=4) e 2R1C (n=4). *p<0,05 em comparação com o repouso. #p<0,05 em comparação com 10 minutos de atividade física (ANOVA com medidas repetidas seguido de Newman Keuls).

Tabela 16: Valores de lactato sanguíneo (mmol/ L) por até 30 minutos de natação com sobrecarga fixa (3% do peso corporal) em ratos SHAM ou 2R1C.

	SHAM	2R1C
0 minuto	3,2 ± 0,7	2,9 ± 0,4
10 minutos	6,5 ± 0,9	5,5 ± 0,6*
20 minutos	8,8 ± 1,8*	8 ± 0,7#
30 minutos	10,5 ± 2,1*	9,9 ± 1,0#
n	4	4

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação com o repouso. #p<0,05 em comparação com 10 minutos de atividade física (ANOVA com medidas repetidas seguido de Newman Keuls).

4.5.3. Teste de Verificação do Efeito da Natação sobre o Lactato Sanguíneo (lactato final)

Para verificar o efeito da AF de natação sobre os níveis de lactato sanguíneo nos ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%), foi realizado após 5 semanas das cirurgias 2R1C ou SHAM, o teste, denominado de lactato final.

A concentração de lactato sanguíneo nos ratos 2R1C SD foi maior ($p < 0,05$) em relação a concentração de lactato sanguíneo dos ratos SHAM SD. No entanto, os ratos 2R1C SAF (0% e 3%) apresentaram concentração de lactato menor ($p < 0,05$) em relação aos ratos 2R1C SD e similares aos ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) (figura 31 e tabela 17). Os valores de lactato sanguíneo nos ratos 2R1C SD foram significativamente maiores ($p < 0,05$) que os dos ratos 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% (figura 31 e tabela 17).

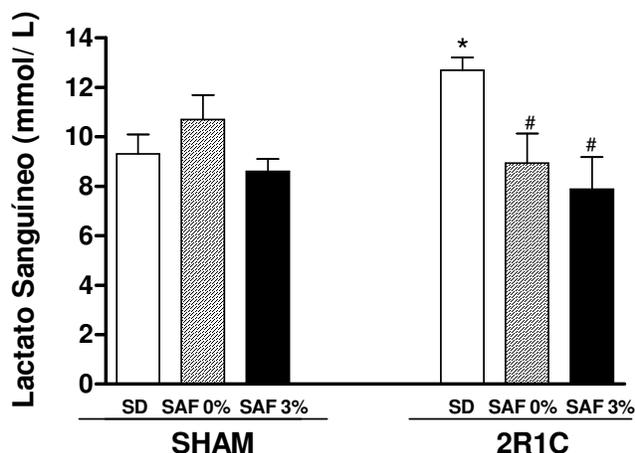


Figura 31: Concentração de lactato sanguíneo após 30 minutos de natação com carga fixa (3% do peso corporal) em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM (n=4) ou 2R1C (n=4). * $p < 0,05$ em comparação aos animais SHAM SD. # $p < 0,05$ em comparação aos animais 2R1C SD (ANOVA seguido de Newman Keuls).

Tabela 17: Valores de lactato sanguíneo (mmol/ L) após 30 minutos de natação com carga fixa (3% do peso corporal) em ratos SHAM ou 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

	SHAM			2R1C		
	SD	SAF 0%	SAF 3%	SD	SAF 0%	SAF 3%
Lactato sanguíneo	9,3 ± 0,8	10,7 ± 1	8,6 ± 0,5	12,7 ± 0,5*	8,9 ± 1,2#	7,9 ± 1,3#
n	4	4	4	4	4	4

Valores expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ em comparação aos animais SHAM SD. # $p < 0,05$ em comparação aos animais 2R1C SD (ANOVA seguido de Newman Keuls).

5. DISCUSSÃO

As implicações fisiológicas dos resultados apresentados serão abordadas após algumas considerações sobre a metodologia empregada. A utilização do anestésico deve ser considerada na interpretação de nossos resultados, pois as respostas cardiovasculares provocadas por angiotensinas centralmente ou a reatividade das diferentes vias eferentes podem ser modificadas pelo anestésico. A uretana, analgésico utilizado em nosso estudo, foi escolhido por sua ação anestésica de longa duração e por possuir propriedades relaxantes da musculatura esquelética (Strobel e Wollman, 1969, Servers e cols., 1981). Além disso, a uretana produz uma condição de anestesia cirúrgica que é caracterizada por uma pequena diminuição da atividade do sistema nervoso autônomo, o que torna este anestésico um dos mais apropriados para o estudo da função cardiovascular (Maggi e Meli, 1986). Apesar disso, ratos anestesiados com uretana apresentam uma diminuição da sensibilidade do controle reflexo da FC.

As micropipetas de vidro usadas em nossos experimentos possuem um diâmetro que variavam entre 100 a 150 μm , produzindo um dano mínimo às áreas circunvizinhas à microinjeção. Além disso, o estresse emocional imposto ao animal é minimizado, diminuindo a influência de estímulos eferentes, entre outros, de estruturas diencefálicas que interferem nos circuitos bulbares envolvidos no controle barorreflexo (Fontes e cols., 2001, Dampney e cols., 2002).

Outra consideração a ser feita, refere-se à AF escolhida para este estudo. A natação tem sido sugerida como o tipo mais eficiente de exercício para induzir condicionamento físico e hipertrofia cardíaca em animais (Schaible e Scheuer, 1979, APS, 2006) mesmo sob as condições de estresse impostas por este exercício. A exposição ao meio líquido do grupo de animais SD (SHAM ou 2R1C) buscou minimizar o efeito do estresse quando comparado os ratos SAF e SD. No entanto, em outro estudo, utilizando ratos e a natação, Evangelista e cols. (2003) mostraram não haver diferença nos níveis de corticóides e no peso da glândula adrenal entre os animais fisicamente ativos e sedentários.

5.1. Avaliação de Parâmetros Cardiovasculares

5.1.1. Pletismografia de Cauda

Os resultados no presente estudo mostram, em relação ao desenvolvimento da hipertensão, mensurado semanalmente através da pletismografia de cauda, que ocorreu um aumento na PAM a partir da primeira semana após a cirurgia 2R1C.

Os níveis mais altos de PAM já nas primeiras semanas após as cirurgias 2R1C, devem-se a principal característica desse modelo de hipertensão, a dependência do SRA (Leenen e de Jong, 1971 e Lerman e cols., 2005). Uma vez que a redução do fluxo renal para o rim clipado, faz com que o mesmo aumente a produção de renina e Ang II, levando a um aumento nos níveis plasmáticos de renina e Ang II. Entretanto, o maior fluxo sanguíneo no rim não-clipado, diminui de forma compensatória a produção de renina, mas por fatores ainda desconhecidos, esse rim aumenta a produção de Ang II (Navar e cols., 1998).

Nossos resultados mostraram que na quarta semana após as cirurgias, ocorreu reduções nos valores de PAM nos animais 2R1C SAF 0% e SAF 3%, em relação aos animais 2R1C SD. Entretanto, na quinta semana os valores de PAM permaneceram reduzidos somente nos animais 2R1C SAF 3% e não mais nos animais 2R1C SAF 0%. As reduções nos níveis de PA na hipertensão, após AF, são mediadas por adaptações estruturais e neurohumorais (Rondon e Brum, 2003, Irigoyen e cols., 2003 e ACSM, 2004), como uma menor atividade do SRA, com reduções nos níveis de renina (Hayashi e cols., 2000), Ang II, aldosterona e vasopressina plasmática (Braith e cols., 1999) e também por uma menor atividade simpática (Duncan e cols., 1985).

Acreditamos que a não manutenção de valores mais baixos de PAM, na quinta semana após as cirurgias nos ratos 2R1C SAF 3%, se deva principalmente pelo uso de uma metodologia indireta para medida da PAM (pletismógrafo de cauda), uma vez que fatores como o estresse do animal pode interferir na medida. Além disso, dados da literatura sugerem que a AF de baixa e moderada intensidade provocam diminuição da PA (Tipton e cols., 1984, Marceau e cols., 1993, Rogers e cols., 1996, Vêras-Silva e cols., 1997 e Krieger e cols., 1999). O que veio a ser confirmado posteriormente em nosso estudo, na avaliação da PAM feita diretamente.

5.1.2. Níveis Basais de PAM e FC

Em nosso estudo, os animais 2R1C, submetidos à natação (SAF 0% e SAF 3%) apresentaram redução de PAM basal, porém estes valores não foram diferentes à PAM dos ratos 2R1C SD, mas foram semelhantes à dos animais SHAM SD. Nossos dados sugerem que a AF (com ou sem carga) alterou a PAM basal dos ratos com hipertensão renovascular para valores de limiar entre a normotensão e hipertensão. Além disso, foi observada uma significativa redução na FC basal nos animais 2R1C SAF (0% e 3%), em comparação com a FC basal dos animais 2R1C SD. Nossos dados mostram também, que não houve diferença na FC basal entre a AF sem carga e com carga na PAM dos ratos 2R1C. Não foram observadas alterações significativas na PAM e FC basal entre os animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Já está bem estabelecido na literatura que a AF leva a uma redução na PAM de repouso (SBH, 2006). No entanto, essa redução tem se mostrado principalmente em indivíduos ou animais com hipertensão (Silva e cols., 1997, Medeiros e cols., 2000, Rodrigues e cols., 2007,).

Diversos estudos (Rondon e Brum, 2003, Irigoyen e cols., 2003 e ACSM, 2004) mostram que as reduções na PA após o treinamento são mediadas por adaptações estruturais e neurohumorais. Dentre estas adaptações, ocorre uma menor atividade nervosa simpática, associada com a redução nos níveis de noradrenalina plasmática ou da atividade nervosa simpática periférica (Duncan e cols., 1985, Meredith e cols., 1991). Reduções na PA após AF, também estão relacionadas a uma menor atividade do SRA, com reduções nos níveis de renina (Hayashi e cols., 2000), Ang II, aldosterona e vasopressina plasmática (Braith e cols., 1999).

Véras-Silva e cols. (1997) mostraram que a FC de repouso, DC, PAS, PAD e PAM foram reduzidos em ratos SHR treinados em esteira somente em baixa intensidade. Semelhantemente, Tipton e cols. (1984), observaram uma redução significativa na PAM e DC de repouso em ratos SHR acordados, após treinamento de baixa a moderada intensidade. Em adição, Gava e cols. (1995) observaram que a bradicardia de repouso após treinamento físico em SHR, estava associada com a diminuição do tônus simpático. Nossos dados do presente estudo, no grupo 2R1C SAF (0% e 3%), estão de acordo com esses autores, pois a atividade física de baixa e moderada intensidade reduziu a FC e os níveis de hipertensão, tornando os valores de PAM basal semelhantes à PAM basal de animais normotensos (SHAM SD).

Os mecanismos envolvidos na bradicardia de repouso, após AF crônica sofrem influência da modalidade física praticada. Na natação de baixa intensidade, a bradicardia esta associada ao aumento do tônus vagal (Medeiros e cols., 2004).

5.1.3. Avaliação da Bradicardia Reflexa

Em nosso estudo a bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD foi menor em relação aos animais normotensos (SHAM SD), este dado está de acordo com dados anteriores de nosso laboratório (Rodrigues e cols., 2007) e com vários estudos da literatura (Bristow e cols., 1969, Andresen e Brown, 1980, Kumagai e cols., 1990, Brito e cols., 1997, Krieger e cols., 1999, Farah e cols., 2000 e Wang e cols., 2005).

A redução do reflexo barorreceptor em hipertensos está associada ao aumento da atividade simpática ou redução da atividade parasimpática. É interessante observar que as áreas do SNC desprovidas de barreira hemato-encefálica, estão suscetíveis à modulação pelas angiotensinas circulantes, cujos níveis estão aumentados em ratos com hipertensão 2R1C. Áreas como a área postrema (fora da barreira hemato-encefálica) participam da modulação do barorreflexo, por possuírem conexões com áreas bulbares relacionadas com a regulação cardiovascular (Barnes e cols., 1984).

Estudos da literatura mostraram que após a cirurgia 2R1C, o desenvolvimento da hipertensão renovascular é caracterizado por estimulação do SRA. Durante a fase inicial dessa hipertensão, a atividade da renina plasmática e as concentrações circulantes de Ang II estão elevadas (Ploth, 1983, Mitchell e Navar., 1995, Cervenka e cols., 2002, Lazartigues e cols., 2004). Portanto, sugerindo que no modelo de hipertensão 2R1C as angiotensinas circulantes possam exercer influência sobre a modulação central do barorreflexo. Porém uma possível alteração na funcionalidade do SRA cerebral, também pode contribuir para a diminuição da sensibilidade barorreflexa neste modelo de hipertensão.

Estudos mostram (Okamura e cols., 1986; Nishimura e cols., 1992; Cervenka e cols. 2002; Lazartigues e cols., 2004) que as concentrações plasmáticas da renina e os níveis de Ang II se normalizam na fase crônica da hipertensão 2R1C, apesar da manutenção dos níveis elevados de PA. A hiperatividade do SRA em vários tecidos é responsável pelo aumento da PA nesta fase da hipertensão. Lazartigues e cols. (2004) mostraram que em 28 dias após a cirurgia 2R1C em camundongos, os níveis plasmáticos de Ang II estão normalizados, mas ocorre um aumento do nível de Ang II no bulbo e hipotálamo.

Em nosso estudo, os animais com hipertensão renovascular SAF 0% apresentaram sensibilidade bradicárdica reflexa semelhante à dos animais SHAM. Estes dados mostram que a AF sem carga restaurou a bradicardia reflexa em ratos 2R1C. Estudos anteriores em nosso laboratório (Rodrigues e cols., 2007) também mostraram melhora na bradicardia reflexa de ratos com hipertensão renovascular 2R1C após natação sem carga. Outros estudos na literatura mostraram que o exercício físico melhora as anormalidades na função barorreflexa em pacientes com hipertensão (Somers e cols. 1991) e em ratos SHR (Silva e cols., 1997 e Brum e cols., 2000). Assim, nossos dados sugerem também, que a AF sem

carga atuou sobre ambos os componentes do SNA, uma vez que diminuiu a atividade do SNS e aumentou a atividade do SNP, pois foi observada uma diminuição da PAM e melhora da bradicardia reflexa nos ratos 2R1C SAF 0%.

Por outro lado, em nosso estudo a AF realizada com sobrecarga não melhorou a reduzida sensibilidade bradicardia reflexa nos ratos 2R1C (SAF 3%). Apesar destes animais 2R1C (SAF 3%) apresentarem valores basais PAM e FC semelhantes a dos animais SHAM SD, após AF crônica, esperava-se que a melhora nesses parâmetros fosse pelo menos em parte, mediada pelo aumento na sensibilidade barorreflexa, o que de fato não ocorreu. Apesar da diminuição dos valores basais de FC e PAM sugerirem um aumento da atividade parassimpática, nosso dado sugere que a atividade simpática aumentada durante o exercício físico de maior intensidade (3%) seja mantida em altos níveis durante o repouso, uma vez que não foi observada melhora da sensibilidade da bradicardia reflexa nestes animais. Outra consideração

Não há dados na literatura sobre a bradicardia reflexa em ratos com hipertensão renovascular 2R1C submetidos a protocolo de natação com sobrecarga. No entanto, estudos com humanos mostraram que não ocorre alteração no controle cardio-vagal ou na sensibilidade barorreflexa (Loimaala e cols., 2000) após treinamento de força (Cooke e Carter, 2005) e corrida de moderada e alta intensidade (Loimaala e cols., 1999).

5.1.4. Efeito do A-779 na CVLM sobre a Bradicardia Reflexa

Em diversas formas de HA, dentre as quais a hipertensão renovascular está incluída, há uma relação com o desequilíbrio pressor e depressor crônico no bulbo (Heesch, 1999). Parte deste desequilíbrio surge a partir de uma inabilidade dos neurônios da CVLM em contrabalancear o aparente aumento da atividade intrínseca dos neurônios da RVLM em animais hipertensos (Carvalho e cols., 2003 e Pinho e cols., 2006).

No presente estudo, avaliamos se a redução da sensibilidade da bradicardia reflexa poderia ser decorrente de alterações dos receptores Mas para Ang-(1-7) nos ratos 2R1C. Nossos dados mostraram que os ratos 2R1C SD apresentaram uma hiperatividade neuronal para os receptores MAS na CVLM, uma vez que a microinjeção do A-779 na CVLM melhorou a sensibilidade da bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD. Esses dados estão de acordo com outro estudo em nosso laboratório (Cangussu, 2008 – dados não publicados), que também mostraram que a microinjeção de A-779 na CVLM melhora a bradicardia reflexa em ratos com hipertensão renovascular.

Está bem estabelecido que a ANG II e a Ang-(1-7) atuam como moduladores contraregulatórios no controle barorreflexo em ratos normotensos (Campagnole e cols., 1992, Ferrario e cols., 1997 e Polson e cols., 2007) e hipertensos (Britto, 1997, Chaves,

2000 e Heringer-Walter, 2001). Enquanto a Ang II reduz a sensibilidade barorreflexa (Castro e Phillips, 1986, Head 1996), a Ang-(1-7) induz a facilitação do barorreflexo, tanto periféricamente (Santos e Campagnole, 2000) quanto centralmente, ICV (Campagnole e cols., 1992, Oliveira e cols., 1996, Britto, 1997, e Santos e Campagnole, 2000). No entanto, efeitos distintos foram observados após microinjeções de peptídeos angiotensinérgicos na VLM. Alzamora e cols. (2006) mostraram que a microinjeção de Ang II melhorou a bradicardia reflexa, enquanto a microinjeção da Ang-(1-7) na CVLM reduziu a bradicardia reflexa. Os resultados do presente estudo corroboram com esses dados uma vez que a microinjeção do antagonista da Ang-(1-7), o A-779, melhorou a sensibilidade da bradicardia reflexa nos ratos 2R1C SD e 2R1C SAF 3%. Entretanto, a microinjeção de A-779 na CVLM dos ratos 2R1C SD e 2R1C SAF 3% apesar de ter aumentado significativamente a sensibilidade da bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3%, não a restaurou completamente comparado aos animais SHAM SD. Mais estudos precisam ser realizados para melhor compreensão desses dados.

5.1.5. Efeito do A-779 na CVLM sobre a PAM

À respeito da importância da CVLM no controle cardiovascular, a participação deste centro bulbar na gênese ou manutenção da hipertensão não está completamente estabelecida (Smith e Barron, 1990, Muratani, 1993 Sved, 2000, e Pinho 2006).

Na intenção de verificarmos se alterações induzidas pela atividade física poderiam estar relacionadas à reatividade da CVLM para Ang-(1-7), foi avaliado o efeito da microinjeção de Ang-(1-7) sobre a PAM em ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Em nosso estudo, a microinjeção na CVLM de Ang-(1-7) foi significativamente maior em relação ao efeito da salina tanto nos animais SHAM como nos animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). O efeito hipotensor produzido pela Ang-(1-7) foi de magnitude semelhante entre os animais SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

Dados da literatura são contraditórios em relação à magnitude do efeito induzido por peptídeos angiotensinérgicos na CVLM de ratos hipertensos. Estudos têm mostrado que a microinjeção de Ang II na CVLM produziu um efeito depressor significativamente maior em ratos SHR do que em ratos Wistar (Muratani e cols. 1993). Entretanto, dados recentes de nosso laboratório mostram que a microinjeção de Ang II na CVLM produziu um efeito depressor similar em 2R1C (Rodrigues e cols. 2007). Ferreira e cols. (2008) mostraram também, em ratos SHR, que a microinjeção de Ang II na CVLM produziu efeito hipotensor semelhantes. Recentemente Cangussu (2008, dados não publicados) mostrou que a Ang-(1-7) na CVLM produz um efeito hipotensor similar em ratos 2R1C e SHAM. Similarmente,

os resultados do presente estudo mostraram que a Ang-(1-7) exógena reduziu a PAM em ratos 2R1C na mesma magnitude ao observado para os ratos SHAM.

Em nosso estudo, a microinjeção do A-779 na CVLM de ratos 2R1C SD produziu um efeito hipotensor significativamente maior que o efeito da salina, sugerindo uma hiperatividade neuronal na CVLM na hipertensão renovascular. No entanto, este antagonista, o A-779, microinjetado na CVLM produziu uma resposta hipotensora semelhante à microinjeção de salina em ratos SHAM SD.

Em um estudo recente de nosso laboratório, Cangussu (2008, dados não publicados) mostrou que a microinjeção do antagonista de Ang-(1-7), A-779 na CVLM, produz efeito hipotensor. Enquanto a microinjeção do antagonista do receptor AT1, losartan, na CVLM não alterou a PAM em ratos 2R1C ou SHAM. Portanto, juntos, estes dados sugerem uma alteração seletiva do SRA cerebral, com um possível aumento no nível de Ang-(1-7) ou receptores Mas na CVLM de ratos com hipertensão renovascular.

É interessante observar que em estudos prévios em nosso laboratório (Rodrigues e cols., 2007), o antagonista de receptor AT2, PD 123319, microinjetado na CVLM induziu efeito hipotensor significativo somente em ratos 2R1C. Portanto, uma possibilidade para explicar estes dados, seria a existência de uma interação entre a Ang-(1-7) e receptores AT2 e/ ou a ocorrência de interação (“crosstalk”) entre os receptores Mas e AT2 na CVLM de ratos 2R1C.

Lazartigues e cols. (2004) mostraram que os níveis de Ang II aumentam progressivamente no tronco cerebral na hipertensão 2R1C, em camundongos. É possível que na hipertensão 2R1C, o aumento nos níveis de Ang II sejam contrabalanceados por mecanismos que atuem principalmente entre os receptores Mas/ ou AT2 no cérebro.

Estudos têm mostrado que em algumas circunstâncias, como na hipertensão SHR ou 2R1C, o efeito da Ang-(1-7) pode ser abolido pelo antagonista de AT2, PD 1233319, no hipotálamo (Gironacci e cols., 2000) ou no núcleo paraventricular (Santos e cols., 1994 e Gironacci e cols., 2000) e periféricamente (Soares e cols., 2004 e Walters e cols., 2005).

Diversos trabalhos mostram, que a atividade física induz uma neuroplasticidade em ratos normotensos (Mueller e Eillen, 2006 e Mueller, 2007) e hipertensos (Kraemer e cols., 2001, DiCarlo e cols., 2002, Zucker e cols., 2004 e Rodrigues e cols., 2007).

Em nosso presente estudo, nos ratos 2R1C SAF (0% e 3%), a microinjeção de A-779 na CVLM produziu um efeito hipotensor semelhante à salina, sugerindo que a AF foi capaz de restabelecer essa reatividade neuronal aumentada para o A-779 na CVLM dos ratos 2R1C SD. Efeito similar foi observado em estudos de nosso laboratório (Rodrigues e cols., 2007) ao mostrarem que a AF de natação sem carga, restabeleceu a reatividade neuronal aumentada para o PD 1233319 na CVLM de ratos com hipertensão renovascular 2R1C. Nossos resultados mostram ainda que o bloqueio dos receptores Mas pelo A-779 foi

efetivo por até 15 minutos tanto nos ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%) como nos ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). No entanto, mais estudos precisam ser realizados para melhor compreensão desses dados.

5.2. Avaliação de Diferentes Parâmetros da Hipertensão Renovascular

5.2.1. Avaliação do Peso Corporal

Com relação à avaliação semanal do ganho de peso corporal, nossos dados mostram que nas cinco semanas após as cirurgias, nem a atividade física (0% e 3%) nem a hipertensão renovascular promoveram alterações no peso corporal dos ratos SHAM e 2R1C. Embora o grupo 2R1C SAF 0% tenha apresentado uma redução no peso corporal na quarta semana em relação ao grupo 2R1C SD, esse grupo o recuperou na quinta semana após a cirurgia. Nossos dados corroboram com Schaible e Scheuer (1981), Medeiros e cols. (2004) e Evangelista e cols. (2003) que não encontraram alterações no peso corporal de animais fisicamente ativos em relação a animais sedentários.

Apesar de não termos diferenciado neste estudo a massa muscular, o tecido adiposo e o peso total nos animais dos diferentes grupos deste estudo, não ter variado, relacionamos os pesos do coração, ventrículos e rins pelo comprimento da tibia, por ser uma medida que não sofre interferência de variáveis como a massa gorda (gordura) ou magra (tecido muscular, demais ossos e água)

5.2.2. Avaliação do Peso Seco e Histologia dos Rins

O peso seco relativo do rim esquerdo (clipado) dos animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foi menor do que o peso seco relativo do rim direito (não clipado) nos mesmos animais. O rim direito dos ratos com hipertensão renovascular 2R1C (SD e SAF 0%) foram maiores que o peso seco do rim direito dos respectivos ratos SHAM (SD e SAF 0%), sugerindo uma hiperfunção compensatória em decorrência do aumento do fluxo sanguíneo para este rim. No entanto, o peso seco do rim direito dos ratos 2R1C SAF 3% foram semelhantes aos dos ratos SHAM SAF 3%.

Os valores de percentual de redução do peso seco relativo do rim esquerdo sobre o do rim direito dos ratos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foram significativamente maiores que os valores de percentual de redução dos respectivos animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%), sugerindo que a cirurgia para desenvolvimento da hipertensão 2R1C, foi eficiente

para os animais dos grupos 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). Os valores de percentual de redução dos animais 2R1C SAF 0% foram similares aos dos 2R1C SD. Entretanto, os valores de percentual de redução renal dos animais 2R1C SAF 3% foram menores do que os valores dos animais 2R1C SD, devido ao rim direito não ter apresentado aumento compensatório do peso seco, como ocorrido para o rim direito dos demais grupos 2R1C (SD e SAF 0%). Este dado sugere um aumento da atividade simpática nesse animal em decorrência da sobrecarga de 3% na AF que não é reduzida durante o repouso, caracterizando uma intensidade de esforço extenuante para estes animais. Em adição, corroborando com esta idéia, a AF com sobrecarga de 3% a qual os animais 2R1C foram submetidos não melhorou a sensibilidade da bradicardia reflexa, diferentemente dos ratos 2R1C SAF 0%.

Lupu e cols., 1972, mostraram que reduções muito intensas no fluxo renal unilateral (maior que 50%) podem levar a estados hipertensivos mais prolongados, sendo a severidade da hipertensão proporcional ao grau de obstrução da artéria renal. Em nosso estudo, no entanto, não analisamos o fluxo sanguíneo renal, porém, percebemos, através da análise histológica, que animais que apresentaram um percentual de redução do peso seco relativo do rim esquerdo em relação ao direito, superior a 40% apresentavam comprometimento da estrutura do rim esquerdo com intensa inflamação e fibrose (ANEXO). Os animais do nosso estudo que apresentaram comprometimento estrutural do rim, ou seja, partes visíveis de isquemia foram desprezados. Uma intensa constrição da artéria renal leva a um comprometimento do rim, descaracterizando o modelo 2R1C.

Por outro lado, nossas avaliações histológicas dos rins mostraram uma maior dilatação tubular, redução de inflamação e fibrose no rim clipado dos animais 2R1C SAF 3% em relação aos demais animais 2R1C (SD e SAF 0%), sugerindo que o maior esforço na natação com sobrecarga tenha promovido, de alguma forma, um melhor quadro histopatológico e uma maior dilatação nos túbulos renais esquerdos desses ratos. Em nosso estudo, no entanto, a dilatação tubular parece ser intensidade-dependente, uma vez que os túbulos do rim esquerdo dos animais SHAM SAF 3% também se apresentaram dilatados. O que poderia ser justificado por uma adaptação renal crônica à AF de natação com sobrecarga (3%). Além disso, os rins clipados dos ratos 2R1C SD e SAF 0% apresentaram redução da luz tubular em relação aos ratos SHAM, reforçando a relação ao fluxo sanguíneo renal diminuído nesses rins e que a AF sem carga não foi suficiente para alterar este parâmetro.

Ao avaliarmos a dilatação tubular no rim direito, foi observado que os ratos SHAM SD apresentaram valores semelhantes aos ratos SHAM SAF 3% e maiores em relação aos ratos SHAM SAF 0%. Acredita-se que essa menor dilatação tubular observada nos ratos SHAM SAF 0%, tenha ocorrido em função à adaptação a AF sem carga (0%), uma vez que

tanto a AF com sobrecarga e a hipertensão não promoveram reduções na luz tubular do rim direito dos demais grupos SHAM (SD e SAF 3%) e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). No entanto, não foram observadas alterações significativas na dilatação tubular do rim esquerdo dos ratos SHAM SAF 0%.

O mesângio é um componente importante do corpúsculo renal, que consiste de células mesangiais e matriz mesangial. As células mesangiais são estruturalmente semelhantes aos monócitos. Elas cercam os capilares glomerulares, fornecem suporte estrutural para esses capilares, secretam à matriz extracelular, exibem atividade fagocítica e secretam prostaglandinas e citocinas. Visto que essas células também apresentam atividade contrátil e são adjacentes aos capilares glomerulares, elas podem influenciar a intensidade da filtração glomerular regulando o fluxo sanguíneo pelos capilares glomerulares, ou pela alteração da área da superfície capilar (Berne e cols., 2000).

Como observado anteriormente, a análise do peso seco relativo do rim direito dos ratos 2R1C nos sugere uma hipertrofia compensatória e conseqüentemente um aumento de função. Acreditamos que os menores níveis de uréia plasmática associado ao maior espaço da cápsula de Bowman no rim direito dos animais 2R1C SAF (0% e 3%), representem uma melhor função renal promovida pela atividade física. Uma vez que nos animais 2R1C SD, o nível sérico de uréia foi maior que dos animais SAF (0% e 3%) e o espaço da cápsula de Bowman no rim direito foi menor ao observado nos animais 2R1C (SAF 0% e SAF 3%).

5.2.3. Avaliação do Peso Seco e Histologia do Coração

A hipertrofia cardíaca pode acontecer como uma resposta adaptativa fisiológica (atividade física) ou patológica (doenças valvulares, hipertensão ou obesidade) ao aumento do trabalho cardíaco (Scheuer e cols., 1982 e Hunter e cols., 1999). Durante a atividade física o aumento metabólico induz um aumento do débito cardíaco levando, em curto prazo, ao incremento da PA, FC, contratilidade do miocárdio e aumento da resistência periférica total. Em longo prazo, o exercício físico melhora a função cardíaca por alterar o fenótipo celular e molecular dos miócitos cardíacos, incluindo alterações adaptativas no tamanho da célula, função contrátil e resistência para alterações metabólicas (Moore e cols., 1993, Mokelke e cols., 1997 e Iemitsu e cols., 2001)

Nossos dados mostraram que houve aumento no peso relativo do coração nos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3% similarmente, o peso seco relativo dos ventrículos, aumentou somente nos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3%. Além disso, nos ratos 2R1C a AF sem carga (0%) reduziu à hipertrofia cardíaca ventricular em comparação a hipertrofia

observada nos ratos 2R1C SD. No entanto, os animais SHAM mostraram que a AF não induziu hipertrofia cardíaca.

Nossos dados em conjunto, corroboram com o estudo de Evangelista e cols. (2003), que observaram hipertrofia cardíaca ventricular (esquerda) somente em camundongos submetidos à AF com sobrecarga (2% e 4% do peso corporal) e nos camundongos que nadaram sem carga por 90 minutos, 2 vezes por dia, durante 6 semanas, porém, estes autores não observaram hipertrofia cardíaca nos camundongos que nadaram sem carga por 60 minutos, 2 vezes por dia, durante 6 semanas. Sugerindo que a hipertrofia cardíaca (fisiológica) é dependente da intensidade e/ ou tempo de treinamento.

A análise histológica quantitativa da espessura da parede ventricular mostrou que a espessura dos ventrículos esquerdos foi maior que a dos ventrículos direitos em todos os animais SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%). No entanto, os animais 2R1C SD e SAF 3% apresentaram hipertrofia ventricular esquerda maior em relação aos ratos SHAM SD. Porém, a AF sem carga nos ratos hipertensos 2R1C (SAF 0%) preveniu a hipertrofia cardíaca observada nos ratos 2R1C SD, sendo da mesma forma à morfologia cardíaca observada nos ratos SHAM SAF (0% e 3%), que não apresentou hipertrofia ventricular esquerda em relação aos ratos SHAM SD.

Estes dados, em conjunto, confirmam os resultados apresentados anteriormente em relação ao peso seco relativo do coração e ventrículos.

Nossos resultados em relação à luz do ventrículo esquerdo mostraram que apesar da hipertrofia apresentada no ventrículo esquerdo dos ratos 2R1C SD, não foi observado aumento na luz do ventrículo esquerdo, sugerindo uma hipertrofia concêntrica (patológica). Corroborando com nosso estudo, dados da literatura mostram que a hipertrofia ventricular esquerda, induzida pela hipertensão é usualmente seguida de rarefação estrutural nos micro-vasos devido à inadequada proliferação capilar, promovendo isquemia, arritmia e insuficiência cardíaca (Messerli e Ketelhut, 1991). Alterações morfológicas no ventrículo esquerdo na hipertensão podem ser interpretadas como uma adaptação do miocárdio ao aumento da pós-carga, força de contração e uma maior economia no uso de trifosfato de adenosina (ATP) (Schultheiss, 1990). Assim como em nosso estudo, Wang e cols. (2005) mostraram que o espessamento do ventrículo esquerdo em três modelos animais de hipertensão (2R1C, DOCA sal e tratados com L-NAME) foi acompanhado por uma redução na luz ventricular esquerda.

Por outro lado, nossos dados mostraram que ocorreu aumento na luz ventricular esquerda nos ratos 2R1C SAF (0% e 3%) e nos ratos SHAM SAF 3%, sugerindo adaptações fisiológicas à AF nestes animais. O aparente crescimento longitudinal dos cardiomiócitos por acréscimos de sarcômeros em série são evidentes em estudos sobre o efeito do treinamento físico sobre a massa de miocárdio (Wisloff e cols., 2002). Este

mecanismo celular induz uma hipertrofia ventricular excêntrica que ocorre em humanos (Morganroth e cols., 1975, Spirito e cols., 1994 e Fagard, 1997) e animais (Evangelista e cols., 2003 e Wisloff e cols., 2001) submetidos a programas de treinamento físico.

No entanto, ao relacionarmos a espessura da parede do ventrículo esquerdo com a luz do ventrículo, foi observado que a hipertrofia nos animais 2R1C SD tem característica concêntrica, por apresentarem aumento na parede ventricular em relação a sua luz ventricular. Por outro lado, a hipertrofia nos animais 2R1C SAF 3% caracteriza-se como excêntrica, em relação aos animais 2R1C SD, por apresentarem aumento na luz ventricular esquerda em relação a sua parede. Já os animais 2R1C SAF 0%, a AF impediu a ocorrência de hipertrofia concêntrica produzida pela hipertensão renovascular 2R1C.

Existem evidências que apontam que o SRA cardíaco participa no remodelamento cardíaco. Shyu e cols. (1995) mostraram que o estiramento cíclico de cardiomiócitos “in vitro”, aumenta a expressão gênica do angiotensinogênio. Além disso, o aumento no ventrículo após coarctação da aorta, foi completamente abolido por inibidor da ECA (Baker e cols., 1990). Assim, como em nosso modelo experimental de HA, 2R1C, ocorre hiperatividade do SRA, talvez ocorra fatores e/ ou interações entre este tipo de HA e a AF, mais estudos serão necessários para maiores esclarecimentos.

Ao avaliarmos a parede dos vasos cardíacos, foi observado um aumento na espessura da mesma nos animais submetidos à AF e com hipertensão, em relação aos animais SHAM SD. Sugerindo que tanto a sobrecarga imposta ao coração pela AF como pela hipertensão promove um espessamento na parede vascular. Nossos dados corroboram com o estudo de Amaral e cols. (2001), que observaram um significativo aumento na densidade, diâmetro e da luz dos vasos em ratos SHR submetidos à AF e com o estudo de Wang e cols. (2005) que mostraram um aumento na parede dos vasos cardíacos em diferentes modelos de animais hipertensos (2R1C, DOCA sal e tratados com L-NAME).

A avaliação da presença de inflamação no músculo cardíaco mostrou que os animais SHAM SAF 3% e 2R1C SAF 3% apresentaram um maior número de células em relação aos animais SHAM SD, sugerindo maiores intensidades de inflamação cardíaca. Estes dados sugerem que a natação com sobrecarga (3% do peso corporal) representa um maior esforço para o miocárdio em relação a AF sem carga. Além disso, Wang e cols. (2005) mostraram que alguns fatores inflamatórios como a Ang II e endotelina (ET-1) estão aumentados nos ratos hipertensos 2R1C e DOCA, respectivamente, já nos ratos hipertensos tratados com L-NAME, Wang e cols. mostraram ter ocorrido aumento em fatores necrose tumoral como TNF- α e interleucina 1 β (IL-1 β), no entanto, a concentração plasmática de Ang II e ET-1 não estavam alteradas nesse animais.

O processo inflamatório nem sempre leva a morte celular e comprometimento na capacidade funcional do órgão. O processo inflamatório é uma reação celular normal a algum agente ou estímulo externo que de alguma forma possa estar dificultando o seu funcionamento, diante desta dificuldade que lhe está sendo imposta a célula tem como se adaptar e voltar a funcionar normalmente ou então, perder sua função (Filho, 2006).

5.2.4. Avaliação da Uréia e Creatinina Plasmática

Os níveis séricos de uréia não mostraram interação entre as cirurgias (SHAM ou 2R1C) e a AF. No entanto, o efeito da AF foi significativamente diferente entre os grupos de animais SD (SHAM e 2R1C). Foi observado que os valores séricos de uréia nos animais normotensos ou hipertensos submetidos à natação (SAF 0% e SAF 3%), foram significativamente menores em relação aos animais SD (SHAM ou 2R1C).

Já em relação aos níveis séricos de creatinina, não foi observada interação entre as cirurgias (SHAM ou 2R1C). Ademais, foi observado que os valores séricos de creatinina nos animais SAF 0% e SAF 3% (SHAM e 2R1C) foram similares aos dos animais SD (SHAM e 2R1C). Mostrando que nem a hipertensão 2R1C, nem a AF sem e com sobrecarga alteraram os níveis séricos de creatinina.

Fazan e cols., 2001, mostraram que a função renal, em termos de uréia e creatinina sanguíneas é normal na hipertensão de Goldblatt, tanto 2R1C como 1R1C, nossos dados estão de acordo com Fazan e colaboradores uma vez que os níveis séricos de uréia e creatinina nos animais 2R1C SD foram semelhantes aos dos ratos controle (SHAM SD).

Wasserman e cols. (1991) mostraram que durante o exercício há aumento da concentração sérica de uréia, da excreção urinária e das perdas através do suor. Por outro lado, Kanazawa e cols. (2006) observaram que tanto a AF crônica (12 semanas), quanto o inibidor da ECA (Enalapril), aboliram a proteinúria, reduziram os níveis séricos de creatinina e uréia, sugerindo um efeito renoprotetor produzido pelo exercício. Entretanto, Kohzuki e cols. (2001), mostraram que o exercício físico moderado por 4 semanas não foi suficiente para reduzir a creatinina plasmática em SHR. Em nosso estudo a AF por 5 semanas, promoveu uma redução nos níveis séricos de uréia e não modificou os níveis de creatinina. Sugerindo que a AF, pelo menos em parte, tenha promovido um efeito renoprotetor nos animais SAF (0% e 3%).

5.3. Estudo do Lactato Sanguíneo

O limiar anaeróbico ou limiar de lactato tem sido atualmente, uma medida muito utilizada na avaliação da intensidade e efetividade do treinamento e da capacidade

aeróbica de atletas de resistência (endurance). Wasserman e McIlroy (1964) definiram o termo limiar anaeróbico pela primeira vez como a mudança metabólica para o sistema anaeróbico em resposta ao aumento exponencial da concentração de CO₂ sanguíneo.

Os resultados obtidos no presente estudo, a cerca dos níveis de lactato sanguíneo nos animais SHAM e 2R1C, foram traçados na tentativa de classificar a intensidade da AF, como esses animais responderiam ao esforço físico e sua adaptação a ele. No entanto, até onde sabemos, não há relatos na literatura de estudos que tenham investigado a cinética do lactato sanguíneo em ratos hipertensos e sobretudo submetidos à cirurgia 2R1C. O que em parte pode limitar a interpretação de nossos dados. Principalmente no aspecto de se estabelecer um protocolo adequado para mensuração da cinética do lactato sanguíneo, o qual não era objetivo inicial de nosso estudo. Diante disso e de posse dos estudos pertinentes ao assunto, buscamos avaliar as respostas do lactato sanguíneo em nosso estudo.

5.3.1. Avaliações do Lacto Sanguíneo

Dentre as várias denominações e formas de mensurar o lactato sanguíneo no exercício físico, Tegtbur e cols., (1993) desenvolveram o teste de “Lactato Mínimo”, definido como a velocidade na qual a curva de lactato sanguíneo, em forma da letra “U”, derivada de um teste incremental, alcança seu valor mínimo de concentração plasmática (nadir) . Este teste envolve a realização de um exercício de intensidade supramáxima (acima da capacidade máxima), por um curto período de tempo, de forma a induzir uma hiperlactemia antes do início do teste de cargas progressivas na esteira ergométrica. Tendo como característica a determinação do limiar anaeróbico em um único teste e em um único dia.

Apesar de diversos estudos envolvendo exercícios físicos, utilizarem modelos animais (especialmente ratos) em suas investigações (Krieger e cols., 1999, Silva e Mello, 2000 e Lunz e cols., 2006), poucas são as informações disponíveis na literatura sobre a cinética do lactato em ratos durante exercícios.

Voltarelli e cols., (2002) ao adaptarem o teste de lactato mínimo de Tegtbur e cols., (1993) para ratos submetidos à natação encontraram uma potencial aplicação deste teste para determinação do limiar anaeróbico em ratos. Em nosso estudo, a avaliação do lactato sanguíneo, foi feita com base na metodologia descrita por Voltarelli e cols., (2002).

Em nosso estudo, a avaliação do limiar anaeróbico, para o grupo normotenso (SHAM), expresso como a carga no qual o lactato mínimo foi calculado, foi de 4,5 % do peso corporal para esses ratos, enquanto que a concentração sanguínea média de lactato nessa carga foi de 11,87 mmol/ L. Por outro lado, para o grupo 2R1C não foi possível

determinar o limiar anaeróbico médio, uma vez que a cinética do lactato sanguíneo ao teste com cargas progressivas, não produziu a curva em forma da letra “U” (nadir) esperada no teste de lactato mínimo.

Acredita-se que a diferença observada na cinética do lactato entre esses ratos, se deva a hipertensão renovascular 2R1C. Fornecendo uma intensidade de esforço a mais aos ratos 2R1C, estes ratos não conseguiram chegar ao final do teste, como ocorrido para os ratos SHAM. Lacerda e cols. (2006a) mostraram que o bloqueio central de óxido nítrico (NO), aumentou a taxa metabólica, reduzindo a eficiência mecânica de ratos em esteira ergométrica. Posteriormente Lacerda e cols. (2006b) mostraram que a inibição do NO central, aumentou a concentração de lactato sanguíneo nos ratos submetidos a AF em esteira ergométrica em relação ao grupo controle. Martinez e cols. (2002) mostraram que a atividade e expressão da NOS está diminuída na hipertensão. Dessa forma, uma possibilidade seria que a menor atividade do NO contribua para uma maior intensidade relativa de esforço aos ratos hipertensos 2R1C.

No estudo de Voltarelli e cols. (2002) o limiar anaeróbico, determinado pelo teste de lactato mínimo estimado (4,95 % de sobrecarga do peso corporal) em ratos Wistar, foi semelhante ao encontrado em nosso estudo (4,5 % de sobrecarga do peso corporal de ratos SHAM). Entretanto as concentrações de lactato sanguíneo em que o limiar anaeróbico ocorreu foram diferentes entre os estudos (7,17 mmol/ L no referido estudo e 11,87 mmol/ L no presente estudo). O que sugere uma maior capacidade física nos ratos Fisher de nosso estudo. Apesar das cargas indicativas do limiar anaeróbico serem semelhantes, nossos animais, em teoria, suportaram uma maior concentração de lactato antes da fadiga. No entanto, as diferentes metodologias usadas para coleta de sangue e mensuração do lactato sanguíneo foram diferentes, o que pode ter influenciado nessa diferença na concentração de lactato sanguíneo entre os estudos.

Uma semana após a realização do teste de Lactato mínimo, foi realizado um teste para verificar a ocorrência da estabilização do lactato sanguíneo durante a natação. Foi observado que os animais SHAM mostraram estabilização do lactato sanguíneo a partir de 10 minutos do início da natação com carga fixa (3% do peso corporal). Já os animais 2R1C somente mostraram estabilização na concentração de lactato sanguíneo a partir de 20 minutos do início da natação com carga fixa (3% do peso corporal). Com base nos resultados obtidos com o teste de lactato mínimo, era de se esperar que os ratos SHAM apresentassem uma resposta no tempo de estabilização do lactato diferente dos ratos 2R1C, o que de fato foi observado.

Gobatto e cols. (2001) e Voltarelli e cols. (2002) mostraram que a relação produção/remoção de lactato em ratos Wistar adultos, submetidos a um exercício de natação agudo, alcançou seu máximo estado de equilíbrio entre as cargas de 5% e 6% do peso corporal.

Sugerindo, que a carga utilizada em nosso estudo (3% do peso corporal) representou uma intensidade sub-máxima (moderada) para os ratos SHAM e 2R1C. Embora a mesma tenha representado um maior esforço para os ratos 2R1C.

Dados da literatura mostram que a AF de natação para ratos suportando cargas entre 5% e 6% do peso corporal, representa um esforço moderado (abaixo do limiar anaeróbico) (Gobatto e cols., 2001, Voltarelli e cols., 2002, Prada e cols., 2004, Voltarelli e cols., 2004). Inicialmente, o delineamento experimental de nosso estudo, utilizava sobrecargas de 5% do peso corporal, tanto em ratos SHAM (n=14) como em 2R1C(n=20). Entretanto, em torno de 50% dos ratos SHAM e 2R1C que treinavam com sobrecarga de 5% do peso corporal, por 60 minutos, 5 dias na semana, durante 4 semanas, morriam e os 50% restantes, em sua grande maioria apresentavam grande dificuldade para completar as sessões de natação. A partir desse momento, passamos a adotar a sobrecarga de 3% do peso corporal, carga que os animais suportaram. Acreditamos que essa diferença em relação aos estudos supracitados, se dê principalmente pelas cirurgias (SHAM ou 2R1C), embora não tenhamos observado reduções significativas no peso corporal dos ratos SHAM ou 2R1C após as 5 semanas da cirurgia.

Ao avaliarmos efeito da natação no lactato sanguíneo nos grupos SAF 0%, SAF 3% e SD, foi realizado após 5 semanas das cirurgias 2R1C e SHAM, o teste, denominado por nós, de lactato final. Os valores de lactato sanguíneo, observados no teste de lactato final, nos ratos 2R1C SD foram significativamente maiores que os dos ratos SHAM SD, 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3%). O lactato sanguíneo dos animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%), 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% foram semelhantes entre si. Esses dados mostram mais uma vez, que a hipertensão 2R1C representou um maior esforço relativo para esses ratos. Porém, a AF diminuiu a concentração de lactato nos animais 2R1C SAF 0% e 2R1C 3% em relação aos animais 2R1C SD, sugerindo que a AF com ou sem carga, induziu um condicionamento físico melhor nos ratos hipertensos.

Diante do exposto, os dados de nosso estudo nos mostram que pelo menos para os ratos normotensos (SHAM), a sobrecarga de 3% do peso corporal, representou uma intensidade de esforço moderada durante as 5 semanas de natação, uma vez que o limiar anaeróbico desses animais ocorreu em uma carga maior (4,5% do peso corporal). Por outro lado, a impossibilidade de se ter avaliado o limiar anaeróbico, pelo teste de lactato mínimo, nos ratos 2R1C, juntamente com a cinética do lactato nos testes de carga fixa, em relação aos ratos SHAM, nos sugerem um prejuízo na cinética do lactato sanguíneo nos animais 2R1C, embora, a AF por cinco semanas tenha sido capaz de minimizar estas alterações (como visto no teste de lactato final).

Por outro lado, acreditamos que a natação sem sobrecarga, tenha representado um esforço de baixa a moderada intensidade tanto para os ratos 2R1C como para os SHAM,

uma vez que foram observadas nos animais 2R1C, alterações benéficas em indicadores de condicionamento físico como hipertrofia ventricular e bradicardia de repouso; por outro lado, acreditamos que a não observação nesses fatores que evidenciam uma melhor condição física nos ratos SHAM, tenha ocorrido em função do tempo de duração do protocolo (5 semanas) de natação, uma vez que outros estudos, como maior tempo de treinamento mostraram hipertrofia cardíaca fisiológica e bradicardia de repouso (Evangelista e cols., 2003, Medeiros e cols., 2000). Ademais, possíveis questões metodológicas, como o número de animais utilizados, a não adequação correta do protocolo de lactato mínimo utilizado como referência (VOLTARELLI e cols., 2002 - ratos Wistar) para nossos animais (Fischer, SHAM ou 2R1C) e o método escolhido para mensurar o lactato sanguíneo possam ter contribuído para as lacunas encontradas em nossos resultados.

6. SUMÁRIO e CONCLUSÕES

Em síntese, os resultados do presente estudo mostram que:

- A AF reduziu a PAM e FC basal nos ratos 2R1C SAF (0% e 3%) para níveis similares aos dos animais normotensos e não alterou estes parâmetros em ratos normotensos (SHAM SAF 0% e SAF 3%).
- A bradicardia reflexa dos ratos 2R1C SD foi significativamente menor em relação aos ratos SHAM. No entanto, somente a AF sem carga foi efetiva em restaurar a sensibilidade da bradicardia reflexa nos ratos com hipertensão renovascular.
- A microinjeção do antagonista do receptor Mas, A-779 na CVLM, restaurou a sensibilidade da bradicardia reflexa nos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 3%.
- A microinjeção de Ang-(1-7) na CVLM produz uma significativa redução na PAM nos ratos 2R1C similar aos ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).
- A microinjeção de A-779 na CVLM produziu um efeito depressor em ratos 2R1C SD que foi atenuado nos ratos 2R1C SAF (0% e SAF 3%). Não foram observadas mudanças significativas na PAM após a microinjeção de A-779 na CVLM de ratos SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).
- O antagonista de receptor Mas, A-779, inibiu o efeito da Ang-(1-7) na CVLM, por até 15 minutos, nos ratos SHAM e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).
- A porcentagem de redução do peso seco dos rins clipados foi similar entre os animais 2R1C SD e 2R1C SAF 0%. Entretanto o percentual de redução dos animais 2R1C SAF 3% foram menores em relação aos dos animais 2R1C SD e maiores em comparação aos ratos SHAM SD.
- A luz tubular do rim esquerdo dos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 0% foi menor que a dos animais SHAM SD. Entretanto a luz tubular do rim esquerdo dos animais SAF 3% (SHAM e 2R1C) foi maior que a dos animais SHAM SD. Além disso, a luz tubular do rim direito dos animais 2R1C SD e 2R1C SAF 0% foi semelhante a dos animais SHAM SD. Entretanto, a luz tubular do rim direito nos animais 2R1C SAF 3% foi maior que a dos animais SHAM SD.

- O espaço da cápsula de Bowman no rim esquerdo dos animais 2R1C SAF 0% e 2R1C SAF 3% foi menor que a dos animais SHAM SD e 2R1C SD.
- Os ratos 2R1C (SD e SAF 3%) apresentaram hipertrofia cardíaca. A morfologia cardíaca mostrou que os ratos 2R1C SAF 0% não apresentaram hipertrofia cardíaca ou ventricular. Entretanto, nos animais 2R1C SD ocorreu hipertrofia concêntrica, enquanto nos animais 2R1C SAF 3% ocorreu hipertrofia excêntrica.
- A parede vascular cardíaca dos animais SHAM (SAF 0% e SAF 3%) e 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%) foi maior que a dos animais SHAM SD.
- Os animais SAF 3% (SHAM e 2R1C) apresentaram uma maior quantidade de células inflamatórias no miocárdio em comparação aos animais SHAM SD.
- A AF (0% e 3%) reduziu os níveis séricos de uréia tanto nos ratos 2R1C como nos SHAM. Entretanto, não houve diferença nos níveis séricos de creatinina entre os animais (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.
- Os animais 2R1C apresentaram cinética de lactato diferente e prejudicada em relação aos animais SHAM. Os animais 2R1C SD apresentaram uma menor relação produção/ remoção de lactato sanguíneo em relação aos animais SHAM SD. No entanto, a AF (0% e 3%) reduziu o lactato sanguíneo em relação aos animais 2R1C SD.

Os resultados do presente estudo mostram em síntese, que a AF reduz os níveis basais de PAM e FC nos animais 2R1C, melhora a bradicardia reflexa somente nos animais 2R1C submetidos à AF sem carga e que a AF sem e com carga restaurou a responsividade dos receptores Mas nos neurônios da CVLM nos ratos sedentários com hipertensão 2R1C. Além disso, os animais 2R1C fisicamente ativos apresentaram adaptações benéficas induzidas pela AF como prevenção da hipertrofia cardíaca concêntrica, redução nos níveis séricos de uréia e melhora na cinética do lactato sanguíneo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACSM. (American College of Sports Medicine). Exercise and Hypertension. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2004.
- AKABANE S., NATSUME T., MATSUSHIMA Y., DEGUCHI F., KURAMOCHI M., ITO K. Alterations in renal Na⁺K⁺ATPase activity and [3H] ouabain binding in Goldblatt hypertensive rabbits. *J. Hypertens.*, 1985; 3 (5): 469-474.
- ALZAMORA A.C., SANTOS R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. Baroreflex modulation by angiotensins at the rat rostral and caudal ventrolateral medulla. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2006; 290: R1027-R1034.
- ALZAMORA A.C., SANTOS R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. Hypotensive effect of ANG II and ANG-(1-7) at the caudal ventrolateral medulla involves different mechanisms. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2002; 283: R1187-R1195.
- AMARAL S.L. Exercise training causes skeletal muscle venular growth and alters hemodynamic responses in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.*, 2001; 19 (5).
- ANDRESEN M.C., BROWN A.M. Baroreceptor function in spontaneously Hypertensive Rats. *Circulation Research*, 1980: 47: 829-834.
- APS. (American Physiological Society). *Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols*. Feb., 2006.
- AVERILL D.B. and DIZ D. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: Pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Research Bulletin*, 2000; 51(2): 119.
- BAKER K.M., CHERIN M.I., WIXON S.K., ACETO J.F. Renin-angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *Am J Physiol*. 1990; 259: H324-H332.
- BARNES K.L., FERRARIO C.M., CHERNICKY C.L., BROSNIHAN K.B. Participation of the area postrema in cardiovascular control in the dog. *Fed Proc.*, 1984, Dec; 43 (15): 2959 - 62.
- BECKER L.K., SANTOS R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. Cardiovascular effects of angiotensin II and angiotensin-(1-7) at the RVLM of trained normotensive rats. *Brain Research*, 2005; 1040: 121-128.
- BERNE R.M., LEY M.N., KOEPPEN B.M., STINTON B.A. Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 4ª ed., 2000.
- BLAIR S.N., GOODYEAR N.N., GIBBONS L.W., COOPER K.H. Physical fitness and incidence of hypertension in healthy normotensive men and women. *JAMA.*, 1984; 252: 487-490.
- BRAITH R., WELSCH, M., FEIGENBAUM, M., KLUSS, H., PEPINE, C. Neuroendocrine activation in heart failure is modified by endurance exercise training. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999, 34: 1170-5.
- BRISTOW J.D., HONOUR, A.J., PICKERING, G.W., SLEIGHT, P., SMYTH H.S. Diminished Reflex Sensitivity in High Blood Pressure. *Circulation*, 1969. 39: 48-54.
- BRITTO R.R., SANTOS R.A.S., FAGUNDES-MOURA C.R., KHOSLA, M.C., CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Role of Angiotensin-(1-7) in the Modulation of the Baroreflex in Renovascular Hypertensive Rats. *Hypertension*. 1997. 30: 549-556.
- BRUM P.C., SILVA G.J.J., MOREIRA E.D., IDA F., NEGRÃO C.E., KRIEGER E.M. Exercise Training Increases Baroreceptor Gain Sensitivity in Normal and Hypertensive Rats. *Hypertension*, 2000; 36: 1018-1022.

- BURSZTYN M., FLYVBJERG A., WEISS O., MEKLER J., RAZ I. Atrophy or Hypertrophy in Chronic Renal Ischemia: Role of the IGF-I System. *A. J. H.*, 2001; 14: 1211-1218.
- CAMPAGNOLE-SANTOS M.J., HERINGER S.B., BATISTA E.M., KHOSLA M.C., SANTOS R.A.S. Differential baroreceptor reflex modulation by centrally infused angiotensin peptides. *Am J Physiol.* 1992; 263: R89-94.
- CANGUSSU L.M. Efeitos Cardiovasculares Induzidos por Antagonistas Angiotensinérgicos no Bulbo Ventrolateral de Ratos com Hipertensão Renovascular. *Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto*, Ouro Preto, 2008.
- CAREY R.M., SIRAGY H.M. Newly Recognized Components of the Renin-Angiotensin System: Potential Roles in Cardiovascular and Renal Regulation. *Endocrine Review*, 2003; 24 (3): 261-271.
- CARVALHO T.H.F., BERGAMASCHI C.T., LOPES O.U. and CAMPOS R.R. Role of Endogenous Angiotensin II on Glutamatergic Actions in the Rostral Ventrolateral Medulla in Goldblatt Hypertensive Rats. *Hypertension* 2003; 42; 707-712.
- CASTRO R. and PHILLIPS M.I. *Neuropeptide action in nucleus tractus solitarius: angiotensin specificity and hypertensive rats.* *Am. J. Physiol.* 1986; 249: R341-347.
- CERVENKA L., HORÁČEK V., VANECKOVÁ I., HUBÁČEK J.A., OLIVERIO M.I., COFFMAN T.M., NAVAR L.G. Essential Role of AT1a Receptor in the Development of 2K1C Hypertension. *Hypertension*. 2002. 40:735-741.
- CHAPMAN C.B. and MITCHELL J.M. The Physiology of Exercise. *Sci. Am.* 1965; 212 (5): 88-96.
- CHAVES G.Z., CALIGIORNE S.M., SANTOS R.A., KHOSLA M.C., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. Modulation of the baroreflex control of heart rate by angiotensin-(1-7) at the nucleus tractus solitary of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 2000; 18:1841-1848.
- CLARCK M.A., DIZ D.I., TALLANT E. Angiotensin-(1-7) Downregulates the angiotensin II Type I Receptor in Vascular Smooth Muscle Cells. *Hypertension*, 2001; 37: 1141-1146.
- COELHO O.R. Comentário sobre o JNC - VII. *Revista Brasileira de Hipertensão*. São Paulo, 2003; Vol. 10 (2), p 145-148.
- CONSTANZO L. S. Fisiologia. Rio de Janeiro: *Guanabara koogan*, 1999.
- COOKE W.H., CARTER J.R. Strength training does not affect vagal-cardiac control or cardiovagal baroreflex sensitivity in young healthy subjects. *Eur J Appl Physiol.*, 2005 Mar; 93 (5-6): 719-25.
- DAMPNEY R.A.L. Functional organization of central pathways regulating the Cardiovascular System. *Physiol. Rev.*, 1994; 74 (2): 323-364.
- DAMPNEY R.A.L., COLEMAN M.J., FONTES M.A.P., HIROOKA Y., et al. Central Mechanisms Underlying Short- And Long-Term Of The Cardiovascular System. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2002; 29 (4): 261-268.
- DICARLO S.E., ZHENG H., COLLINS H.L., RODENBAUGH D.W., PATEL K.P. Daily exercise normalizes the number of diaphorase (NOS) positive neurons in the hypothalamus of hypertensive rats. *Brain Research*, 2002; Volume 955, Number 1, pp. 153-160(8).

- DINENNO F.A., TANAKA H., MONAHAN K.D., et al. Regular endurance exercise induces expansive arterial remodeling in the trained limbs of healthy men. *J. Physiol.*, 2001; 534: 287-295.
- 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 Carboxypeptidase (ACE2) Converts Angiotensin I to Angiotensin 1-9. *Circ. Res.* 2000; 87; e1-e9.
- DUKA I., KINTSURASHVILI E, GAVRAS I, JOHNS C, BRESNAHAN M, GAVRAS H. Vasoactive potential of the b(1) bradykinin receptor in normotension and hypertension. *Circ Res.* 2001; 88: 275–281.
- DUNCAN J.J., FARR J.E., UPTON S.J., HAGAN R.D., OGLESBY M.E., BLAIR S.N. The effect of aerobic exercise on plasma catecholamine and blood pressure in patients with mild essential hypertension. *JAMA.*, 1985.
- DZAU V.J. Circulation versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation*, 1988; 77: 14-13.
- DZAU V.J. Significance of the vascular rennin-angiotensin pathway. *Hypertension*, 1986; 8: 553-558.
- EVANGELISTA F.S., BRUM P.C., KRIEGER J.E. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Biol Res.*, 2003 Dec; 36 (12): 1751-9.
- FADEL P.J., STROMSTAD M., HANSEN J., SANDER M., HORN K., OGOH S., SMITH M.L., SECHER N.H., RAVEN P.B. Arterial baroreflex control of sympathetic nerve activity during acute hypotension: effect of fitness. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001; 280: H2524–H2532.
- FAGARD R.H. Exercise characteristics and blood pressure response to dynamic physical training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2001; 33 (6):S484-S492.
- FAGARD R.H. Impact of different sports and training on cardiac structure and function. *Cardiol Clin.* 1997; 15:397– 412.
- FAZAN JR. R., SILVA V.J.D., SALGADO H.C. Modelos de hipertensão arterial. *Rev. Bras. Hipertens.*, 2001; 8: 19-29.
- FARAH V.M.A., MOREIRA E.D., USHIZIMA M., CESTARI L.A., IRIGOYEN M.C., KRIEGER E.M. acute AT1 receptor blockade does not improve the depressed baroreflex in rats with chronic renal hypertension. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2000; 33: 1491-1496.
- FELDMAN, J.L; ELLENBERGER, H.H. Central coordination of respiratory and cardiovascular control in mammals. *Annu. Rev. Physiol.* 1988. 50: 593.
- FERRARIO C.M. Importance of renin-angiotensin-aldosterone system (RAS) in the physiology and pathology of hypertension. *Drugs*, 1990; 39(2): 1-8.
- FERRARIO C.M. New Approaches to Hypertension Management: Always reasonable But Now Necessary. *AJH*, 2005;18: 23S-25S.
- FERRARIO C.M., STRAWN W.B. Role of the Renin-Angiotensin System and Proinflammatory Mediators in Cardiovascular Disease. *Am. J. Cardiol*, 2006; 98: 121-128.
- FERRARIO C.M., CHAPPELL M.C., DEAN R.H. AND IYER S.N. Novel Angiotensin Peptides Regulate Blood Pressure, endothelial Function, and Natriuresis. *J Am Soc Nephrol*, 1998; 9:1716-1722.

- FERREIRA P.M., ALZAMORA A.C., SANTOS R.A.S., Campagnole-Santos, M.J. Hemodynamic effect produced by microinjection of angiotensins at the caudal ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats. *Neuroscience*, 2008; v. 151, p. 1208-1216.
- FERRIER K. E., WADDELL T.K., GATZKA C.D., CAMERON J.D., DART A.M., KINGWELL B.A. Aerobic exercise training does not modify large-artery compliance in isolated systolic hypertension. *Hypertension*, 2001; 38: 222-226.
- FILHO G.B. *Bogliolo Patologia*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2006.
- FONTES M.A.P., DAMPEY R.A.L. Cardiovascular effects produced by blockade AT1 receptors in the rostral ventrolateral medulla during hypoxia in anaesthetized rats. *Hypertension*. 2001; 37 (3): 1009.
- FONTES M.A.P., MARTINS PINGE M.C., NAVES V., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J., LOPES P.O., KHOSLA M.C., SANTOS R.A.S. Cardiovascular effects produced by microinjection of angiotensin and angiotensin antagonists into the ventrolateral medulla of freely moving rats. *Brain Res*. 1997; 750:305-10.
- FONTES M.A.P., SILVA L.C.S., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J., KHOSLA M.C., GUERTZENSTEIN P.G. and SANTOS R.A.S. Evidence that angiotensin-(1-7) plays a role in the central control of blood pressure at the ventro-lateral medulla acting through specific receptors. *Brain Research*. Volume 665, Issue 1, 28 November 1994, Pages 175-180.
- FURTADO M.R. Terapêutica não-farmacológica da hipertensão arterial. *Rev Soc Cardiol ESP.*, 1992; 4:30-34.
- GASPARO M., CATT K. J., INAGAMI T., WRIGHT J. W., AND UNGER TH. International Union of Pharmacology. XXIII. The Angiotensin II Receptors. *Pharmacol Rev*, 2000; 52:415-472.
- GAVA N.S., VÉRAS-SILVA A.S., NEGRÃO C.E., KRIEGER E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac β -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1995; 26 (pt 2): 1129-1133.
- GIRONACCI M.M., VATTA M., RODRIGUEZ-FERMEPÍN M., FERNÁNDEZ B.E., PEÑA C. Angiotensin-(1-7) Reduces Norepinephrine Release Through a Nitric Oxide Mechanism in Rat Hypothalamus. *Hypertension*, 2000; 35: 1248-1252.
- GOBATTO C.A., MELLO M.A.R., SIBUYA C.Y., AZEVEDO J.R.M., SANTOS L.A., KOKUBUN E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2001; 130: 21-27.
- GOLDBLATT H., LYNCH J., HANZAL R.F., SUMMERVILLE W.W. Studies on experimental hypertension: I the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J. Exp. Med*, 1934; 59: 347-9.
- GUYTON A. C. *Fisiologia Humana*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1985.
- HAAPANEN N., MIILUNPALO S., VUORI I., OJA P., PASANEN M. Association of leisure time physical activity with the risk of coronary heart disease, hypertension and diabetes in middle aged men and women. *Int. J. Epidemiol.*, 1997; 26: 739-747.
- HAGBERG J.M., MONTAIN S.J., MARTIN III W.H. Blood pressure and hemodynamic responses after exercise in older hypertensive. *American physiological Society*, 1987; 63(1):270-276.
- HAYASHI, A.; KOBAYASHI, A.; TAKAHASHI, R.; Suzuky, F.; NAKAGAWA, T.; KIMOTRO, K. Effects of voluntary running exercise on blood pressure and rennin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats normotensive Wistar-Kyoto rats. *J. Ntr. Sci. Vitaminol.*, 2000. 46 (4): 165-70.

- HEAD G.A. *Role of AT1 receptors in the central control of sympathetic vasomotor function.* Clin Exp. Pharmacol. And Physiol.1996; 3: S93-98.
- HEESCH C.M. Reflex That Control Cardiovascular Function. *Am. J. Physiol.*, 1999; 22:S234-S243.
- HERINGER-WALTHER S., BATISTA E.N., WALTHER T., KHOSLA M.C., SANTOS R.A., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. *Baroreflex improvement in SHR after ace inhibition involves angiotensin-(1-7).* Hypertension. 2001; 37: 1309-1314.
- HU, L., ZHU, D., YU, Z., WANG, J.Q. Expression of angiotensin II type 1 (AT1) receptor in the rostral ventrolateral medulla in rats. *J. Appl. Physiol.*, 2002. 92: 2153.
- HUNTER JJ, CHIEN KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. N Engl J Med., 1999; 341 (17):1276-83.
- IEMITSU M., MIYAUCHI T., MAEDA S., SAKAI S., KOBAYASHI T., FUJII N., MIYAZAKI H., MATSUDA M. & YAMAGUCHI I. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat. *American Journal of Physiology*, 2001; 281: R2029-R2036.
- IRIGOYEN M.C. Exercício físico no diabetes melito associado à hipertensão arterial sistêmica. *Rev. Bras. Hipertens.*, 2003; Vol. 10 (2): 109-116.
- JENNINGS S.G., NELSON L., DEWAR E., et al. Antihypertensive and haemodynamic effects of one year's regular exercise. *J. Hypertension*, 1986; 4 (suppl): 659-661.
- JOHNS C., GAVRAS I., HANDY D.E., SALOMAO A., GAVRAS H. Models of experimental hypertension in mice. *Hypertension*. 1996; 28: 1064-1069.
- JÖHREN O., DENDORFER A., DOMINIAK P. Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptors. *Cardiovascular Research*, 2004; 62: 460-467.
- KANAZAWA M., KAWAMURA T., LI L., SASAKI Y., MATSUMOTO K., KATAOKA H., ITO O., MINAMI N., SATO T., OOTAKA T. and KOHZUKI M. Combination of Exercise and Enalapril Enhances Renoprotective and Peripheral Effects in Rats With Renal Ablation. *Am J Hypertens*, 2006; 19, 80–86.
- KINOSHITA A., TANABE Y., URATA H., et al. What types of hypertensives respond better to exercise therapy? *J. Hypertens*, 1989; 6 (suppl 4): 5631-5633.
- KOBAYASHI S., ISHIDA A., MORIYA H., MORI N., FUKUDA T., TAKAMURA T. Angiotensin II receptor blockade limits kidney injury in two-kidney, one-clip GOLDBLATT hypertensive rats with special reference to phenotypic changes. *J. Lab. Clin. Med.*, 1999; 133 (2) 134-143.
- KOHZUKI M., KAMIMOTO, M., WU X., XU H., KAWAMURA T., MORI N., NAGASAKA M., KUROSAWA H., MINAMI N., KANAZAWA M., SAITO T., YOSHIDA K. Renal protective effects of chronic exercise and antihypertensive therapy in hypertensive rats with chronic renal failure. *Journal of Hypertension*, 2001; 19(10):1877-1882.
- KRAMER J.M., BEATTY J.A., LITTLE H.R., PLOWEY E.D., WALDROP T.G. Chronic exercise alters caudal hypothalamic regulation of the cardiovascular system in hypertensive rats. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 2001; vol. 49, n°2, pp. R389-R397.
- KRIEGER E.M. Aortic diastolic caliber changes as a determinant for complete aortic Baroreceptor resetting. *Fed. Proc.*, 1987; 46(1) 41-45.

- KRIEGER E.M., BRUM P.C., NEGRÃO C.E. State-of-the-Art Lecture: Influence of Exercise Training on Neurogenic Control of Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension*, 1999; 34; 720-723.
- KUMADA M., TERUI N., KUWAKI T. Arterial baroreceptor reflex: its central and peripheral neural mechanisms. *Prog. Neurobiol.*, 1990; 35: 331-361.
- KUSSEROW H., UNGER T., Vasoactive Peptides, their Receptors and Drug Development. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2004; 94: 5-12.
- LACERDA A.C.R., MARUBAYASHI U., BALTHAZAR C.H., COIMBRA C.C. Evidence that brain nitric oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. *Neurosc. Lett.* 393; 260-263, 2006a.
- LACERDA A.C.R., MARUBAYASHI U., BALTHAZAR C.H., LEITE L.H.R., COIMBRA, C.C. Central nitric oxide inhibition modifies metabolic adjustments induced by exercise in rats. *Neurosc. Lett.*, 2006b; 410; 152-156.
- LAZARTIGUES E., LAWRENCE A.J., LAMB, F.S. and DAVISSON R.L. Renovascular Hypertension in Mice With Brain-Selective Overexpression of AT1a Receptors Is Buffered by Increased Nitric Oxide Production in the Periphery. *Circ. Res.* 2004; 95; 523-531.
- LEENEN F.H.H., DE JONG W. A solid silver clip for induction of predictable levels of renal hypertension in the rat. *J. Appl. Physiol.*, 1971; 31: 142-4.
- LENKEI Z., PALKOVITS M., CORVOL P., LLORENS-CORTE`S C. Expression of Angiotensin Type-1 (AT1) and Type-2 (AT2) Receptor mRNAs in the Adult Rat Brain: A Functional Neuroanatomical Review. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1997; 18, 383-439.
- LERMAN L.O., CHADE A.R., SICA V., NAPOLI C. Animals models of hypertension: An overview. *J. Lab. Clin. Med.*, 2005; 146 (3): 160-173.
- LOIMAALA A., HEIKKI H., PEKKA O., MATTI P., and ILKKA V. Controlled 5-mo aerobic training improves heart rate but not heart rate variability or baroreflex sensitivity. *J Appl Physiol.* 89: 1825-1829, 2000.
- LUNZ W., OLIVEIRA E.C., NEVES M.T.D., FONTES E.P.B., DIAS C.M.G.C., NATALI A.J. Anabolic steroid- and exercise-induced cardiac stress protein (HSP72) in the rat. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2006; 39: 889-893.
- LUPU AN, MAXWELL MH, KAUFMAN JJ, WHITE FN. Experimental unilateral renal artery constriction in the dog. *Circ Res.*, 1972; 30 (5): 567-74.
- MAGALDI J.B. Relatório de um estudo sobre nutrição realizado sob os hospícios dos "Fundos Universitários de Pesquisa para Defesa Nacional", São Paulo Médico, 207, 1944.
- MAGGI C.A, MELLI A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigation in various systems. *Cardiovascular System. Experientia*, 1986. (part2) 40: 51-59.
- MARCEAU M., KOUAME N., LACOURCIERE Y. and CLEROUX J. Effects of different training intensities on 24-hour blood pressure in hypertensive Subjects. *Circulation* 1993; 88; 2803-2811.
- MARTINEZ Y., MARTINEZ S., MEANEY A., MEANEY E., ESCALANTE B. Angiotensin II type 1 Receptor blockade Restores Nitric Oxide-dependent Renal Vascular Responses in Renovascular hypertension. *J. Cardiol. Pharmac.*, 2002; 40: 381-387.
- MCCUBIN J.W., GREEN J.H., PAGE IH. Baroreceptor function in chronic renal hypertension. *Clin. Res.*, 1956; 4 (2) 205-210.

- MCKITRICK D.J., CALERRESU F.R. Reciprocal connection between nucleus ambiguus and caudal ventrolateral medulla. *Brain Research*. 1997; 742: 203-210.
- MEDEIROS A., GIANOLLA R.M. KALIL A.M.P., BACARAU R.F.P., ROSA L.F.B.C., NEGRÃO C.E., BRUM P.C. Efeito do Treinamento com Natação sobre o Sistema cardiovascular de Ratos Normotensos. *Rev. paul. Educ. Fis.*, 2000; 14(1): 7-15.
- MEDEIROS A.; OLIVEIRA, E.M.; GIANOLLA, R.; CASARINI, D.E.; NEGRÃO, C.E.; BRUM, P.C. Swimming training increases cardiac vagal effect and induces cardiac hypertrophy in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, 2004.
- MEREDITH I.T., FRIBERG P., JENNINGS G.L. Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans. *Hypertension*, 1991; 18: 558-582.
- MESSERLI, F.H., KETELHUT R. Left ventricular hypertrophy: an independent risk factor. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991; 17 (suppl): S59–S67.
- MITCHELL K. D. E NAVAR L. G. (1995). Intrarenal actions of angiotensin II in the pathogenesis of experimental hypertension. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, editado por J. H. Laragh and B. M. Brenner. New York: Raven, 1995, p. 1437-1450.
- MOKELKE E.A., PALMER B.M., CHEUNG J.Y., AND MOORE R.L. Endurance training does not affect intrinsic calcium current characteristics in rat myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1997; 273: H1193-H1197.
- MOORE R.L., MUSCH T.I., YELAMARTY R.V., SCADUTO-RC J., SEMANCHICK A.M., ELENSKY M., AND CHEUNG J.Y. Chronic exercise alters contractility and morphology of isolated rat cardiac myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 264: C1180-C1189, 1993
- MORGANROTH J., MARON B.J., HENRY W.L., EPSTEIN S.E. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Ann Intern Med*. 1975; 82: 521–524.
- MUELLER P.J. Exercise training attenuates increases in lumbar sympathetic nerve activity produced by stimulation of the rostral ventrolateral medulla. *J Appl Physiol.*, 2007; 102: 803-813.
- MUELLER P.J. and EILEEN, H.M. Putative role of the NTS in alterations in neural control of the circulation following exercise training in rats. *Am J Physiol. regulatory Integrative Comp Physiol*, 2006; 290: 383-392.
- MURATANI H., FERRARIO C.M., AVERILL, D.B., Ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats: role of angiotensin II. *Am. J. Physiol.*, 1993. 264 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 33): R388.
- NAVAR L.G., ZOU L., THUN A.V., WANG C.T., IMIG J.D., MITCHELL K.D. Unraveling the Mystery of Goldblatt Hypertension. *News Physiol. Sci*. 1998. 13: 170-176.
- NEGRÃO C.E., URBANA M., RONDON M.U.P.B. Exercício físico, hipertensão e controle barorreflexo da pressão arterial. *Rev. Bras. Hipertens.*, 2001; 8:89-95.
- NIO Y., MATSUBARA H., MURASAWA S., KANASAKI M., INADA M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest*. 1995; 95: 46 – 54.
- NISHIMURA M, MILSTED A, BLOCK CH, BROSNIHAN KB, FERRARIO CM. Tissue renin-angiotensin systems in renal hypertension. *Hypertension*. 1992 Aug; 20 (2): 158-67.
- OKAMURA T., MIYAZAKI M., INAGAMI T., TODA N. Vascular renin-angiotensin system in two-kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension*. 1986; 8: 560-565.

OLIVEIRA D.R., SANTOS R.A.S., SANTOS G.F.P., KHOSLA M.C., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. Changes in the Baroreflex Control of Heart Rate Produced by Central Infusion of Selective Angiotensin Antagonists in Hypertensive Rats. *Hypertension*. 1996; 27: 1284-1290.

PAXINOS G. and WATSON C. (1997). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, compact 3rd ed. CD.

PINHO D. SOUZA T. MORATO M., TAVARESC L., ALBINO-TEIXEIRA A. Lesion of the caudal ventrolateral medulla prevents the induction of hypertension by adenosine receptor blockade in rats. *Brain Research*. 2006; (1073-1074): 374-382.

PINTO Y.M., PAUL M., GANTEN D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc. Res*. 39 (1): 77-88, 1998.

PLADYS P., LAHAIE I., CAMBONIE G., THIBAUT G., LÊ N. L. O., ABRAN D. and NUYT A. M. Role of Brain and Peripheral Angiotensin II in Hypertension and Altered Arterial Baroreflex Programmed During Fetal Life in Rat. *Pediatric Research*. 2004; 55 (6): 1042-1049.

PLOTH D.H. Angiotensin-dependent renal mechanism in two-kidney, one clip renal vascular hypertension. *Am J Physiol*. 1983; 245: F131-141.

POLITO M.D., SIMÃO R., SENNA G.W., FARINATTI T.V. Hypotensive effects of resistance performed at different intensities and same work volumes. *Rev. Bras. Med. Esport*. 2003. Vol. 9 (2): 74-77.

POLSON W., DAMPNEY R.A.L., BOSCAN P., PICKERING A.E., PATON J.F.R. *Differential baroreflex control of sympathetic drive by angiotensin II in the nucleus tractus solitarii*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007; 293: R1954-1960.

PRADA F.J.A., VOLTARELLI F.A., OLIVEIRA C.A.M. GOBATTO C.A., MACEDO D.V. MELLO M.A.R. condicionamento aeróbico e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbico. *R. Brás. Ci. E Mov*. 2004 : p 29-34.

REITER, M. J. Cardiovascular Drug Class Specificity: B-Blockers. *Progress in Cardiovascular Diseases*, Vol. 47, No. 1, (July/August) 2004: pp 11-33.

RENELAND R., ALVAREZ E., ANDERSSON P-E., HAENNI A., BYBERG L. and LITHELL H. Induction of insulin resistance by betablockade but not ACE-inhibition: longterm treatment with atenolol or trandolapril. *Journal of Human Hypertension*. (2000) 14, 175–180.

RODRIGUES M.C., CAMPAGNOLE M.J., MACHADO R.P., SILVA M.E. ROCHA J.L.M.; FERREIRA P.M. et al. Evidence for a role of AT2 receptors at the CVLM in the cardiovascular changes induced by low-intensity physical activity in renovascular hypertensive rats. *Peptides*, 2007; 28: 1375-1382.

ROGERS M.W., PROBST, M.M, GRUBER J.J., BERGER R., BOONE Jr, J.B. Differential effects of exercise training intensity on blood pressure and cardiovascular responses to stress in borderline hypertensive humans. *J Hypertens*. 1996 Nov; 14 (11):1377-8.

RONDON M.U.P.B. e BRUM P.C. Exercício físico como tratamento não-farmacológico da hipertensão arterial. *Revista Brasileira de Hipertensão*. São Paulo, 2003; Vol. 10 (2), p 134-139.

SANTOS R.A., BROSNIHAN K.B., CHAPPELL M.C., PESQUERO J., et al. Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in the dog brainstem. *Hypertension*, 1998; 11 (2 Pt 2): 1153-7.

SANTOS R.A., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J. Central and peripheral actions of angiotensin-(1-7). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1994; 27 (4): 1033-47.

- SANTOS, R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J., BARACHO N.C.V., FONTES M.A.P.SILVA L.C.S.S., et al. Characterization of a new angiotensin antagonist selective for angiotensin-(1-7): Evidence that the actions of angiotensin-(1-7) are mediated by specific angiotensin receptors. *Brain Research Bulletin*, 1994; 35 (4): 293-298.
- SANTOS R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J., ANDRADE S.P. Angiotensin-(1-7): an update. *Regulatory Peptides*, 2000; 91: 45-62.
- SANTOS R.A.S., SIMÕES E SILVA A.C., MAGALDI A.J., KHOSLA M.C., CESAR K.R., PASSAGLIO T., BARACHO N.C.V. Evidence for a physiological role of angiotensin-(1-7) in the control of hydroelectrolyte balance. *Hypertension*, 1996; 27:875-884.
- SANTOS R.A.S., SIMÕES E SILVA A.C., MARIC C., SILVA D.M.R., et al. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *PNAS*, 2003; 100 (14): 8258-8263.
- SAWADA, S., TANAKA H., FUNAKOSHI M., SHINDO M., KONO S., ISHIKO T. Five-year prospective study on blood pressure and maximal oxygen uptake. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 1993; 20: 483-487.
- SEVERS W.B., KEIL L. C., KLASE P.A., DEEN K.C. Urethane anesthesia in rats. Altered ability to regulate hydration. *Pharmacology*, 1981; v.22, n.4, p.209-26.
- SBH. (Sociedade Brasileira de Hipertensão). V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. *Hipertensão*. Campos do Jordão (SP), 2006.
- SCHAIBLE T.F., CIAMBRONE G.J., CAPASSO J. M., SCHEUER J. Cardiac Conditioning Ameliorates Cardiac Dysfunction Associated with Renal Hypertension in Rats. *J. Clin. Invest.*, 1984; 73: 1086-1094.
- SCHAIBLE, T.F., and SCHEUER, J. Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. *J. Appl. Physiol. Respirat. Environ. Exercis. Physiol.*, 1981; 50: 1140-1145.
- SCHEUER J, MALHOTRA A, HIRSCH C, CAPASSO J, SCHAIBLE TF. Physiologic cardiac hypertrophy corrects contractile protein abnormalities associated with pathologic hypertrophy in rats. *J Clin Invest.*, 1982; 70 (6):1300-5.
- SCHULTHEISS HP. Effect on the myocardial energy metabolism of angiotensin-converting enzyme inhibition in chronic heart failure. *Am J Cardiol*, 1990; 65:G74-G81.
- SESOKO, S., MURATAMI, H., TAKESHITA, S., TERUYA, H., KAWAZOE, N., FUKUYAMA, K. Modulation of baroreflex function by angiotensin II endogenous to the caudal ventrolateral medulla. *Brain Research*, 1995; 671: 38.
- SHELDAHL L.M., EBERT T.J., COX B., TRISTANI F.E. Effect of aerobic training on baroreflex regulation of cardiac and sympathetic function. *J Appl Physiol*, 1994; 76: 158-165.
- SHYU K.G., CHEN J.J., SHIH N.L., CHANG H., WANG D.L., LIEN W.P., LIEW C.C. Angiotensinogen gene expression is induced by cyclical mechanical stretch in cultured rat cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211: 241-248.
- SILVA G.J.J., BRUM P.C. NEGRÃO C.E., KRIEGER E.M. Acute and chronic effects of exercise on baroreflex in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1997; 30: 714-719.
- SILVA L.C.S., FONTES M.A.P., CAMPAGNOLE-SANTOS M.J., KHOSLA M.C., CAMPOS JR.R.R., et al. Cardiovascular effects produced by micro-injection of angiotensin-(1-7) on vasopressor and vasodepressor sites of the ventrolateral medulla. *Brain Research*, 1993; 613 (2): 321-325.

SILVA R.G., MELO M.A.R. Efeitos da ingestão de dieta hipotroteica e de exercício físico moderado sobre a evolução da gestação e o desenvolvimento fetal em ratas jovens. *Rev. Paul. Educ. Fis.*, 2000; 14 (2): 118-27.

SMITH J.K, BARRON K.W. The rostral and caudal ventrolateral medulla in young spontaneous hypertensive rats. *Brain Res.*1990; 506: 153-8.

SOARES M.R., RESENDE A.C., EMILIANO A.F. The role of bradikinin, AT2 and angiotensin-(1-7) in the EDRF-dependent vasodilatador effect of angiotensin II on the isolated mesenteric vascular bed of the rat. *Br J Pharmacol.* 2004; 141: 860-866.

SOMERS V.K., CONWAY J., JOHNSTON J., SLEIGHT P. Effects of endurance training on baroreflex sensitivity and blood pressure in borderline hypertension. *Lancet*, 1991; 337: 1363-1368.

SPIRITO P., PELLICIA A., PROSCHAN M.A., GRANATA M., SPATARO A., BELLONE P., CASELLI G., BIFFI A., VECCHIO C., MARON B.J. Morphology of the "athlete's heart" assessed by echocardiography in 947 elite athletes representing 27 sports. *Am J Cardiol.* 1994;74:802–806.

STROBEL M., WOLLMAN H. Pharmacology of anesthetic agents. *Fedn. Proc.* 1969; 28: 1386-1403.

SVED A.F., GORDON F.J. Amino Acids as Central Neurotransmitters in the Baroreceptor Reflex Pathway. *Am. Physiol. Soc.*, 1994; 9:243-246.

TEGTBUR U.W.E., BUSSE M.W., BRAUMANN K.M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 1993; 25 (5): 620-627.

THOMAS W.G., MENDELSON FAO. Angiotensin receptors: form and function and distribution. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2003; 35: 774-779.

TIMOTHY L. R. A Place in Our Hearts for the Lowly Angiotensin 1-7 Peptide? *Hypertension*, 2006; 47; 811-815.

TIPNIS S.R., HOOPER N.M., HYDE R., KARRAN E., CHRISTIE G. & TURNER A.J. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captoprilinsensitive carboxypeptidase. *J Biol Chem*, 2000; 275, 33238–33243.

TIPTON C.M. Exercise, training, and hypertension. *Exerc. Sport. Sci. Rev.*, 1984; 12: 245-306.

TONKS D.B. Quality Control in Clinical Laboratories, *Diagnostic Reagents Division, Scarbrough*. Canada, 1972.

VÉRAS-SILVA A.S., MSATTOS K.C., GAVA N.S. BRUM P.C., NEGRÃO C.E., KRIEGER E.M. Low-intensity exercise training decrease cardiac output and hypertension in spontaneous hypertensive rats. *AJP – Heart*, 1997, 273: 2627-2631.

VOLTARELLI F.A., GOBATTO C.A., MELLO M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2002; 35 (11): 1389-1394.

VOLTARELLI F.A., MELLO M.A.R., GOBATTO C.A. Glicogênio muscular e limiar anaeróbico determinado em ratos durante a natação. *Motriz*, 2004; 10: p 25-30.

WALTERS P.E., GASPARI T.A., WIDDOP R.E. *Angiotensin-(1-7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats.* *Hypertension*, 2005; 45: 960-966.

WANG C., DOBRZYNSKI E., CHAO J., CHAO L. Adrenomedullin gene delivery attenuates renal damage and cardiac hypertrophy in Goldblatt hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2001; 280: F964-F971.

WANG D.S., XIE H.H., SHEM F.M., CAI G.J., SU D.F. Blood Pressure Variability, Cardiac Baroreflex Sensitivity and Organ Damage in Experimentally Hypertensive Rats. *Clin. Experim. Pharm. Physiol.*, 2005; 32: 545-552.

WASSERMAN D.H., GEER R.J., WILLIAMS P.E., BECKER T., LACY D.B., ABUMRAD N.N. Interaction of gut and liver in nitrogen metabolism during exercise. *Metabolism*, 1991; 40(3):307-14.

WASSERMAN K., MCLLROY M.B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *The American Journal of Cardiology*, 1964; 14: 844-852.

WHARTON J., MORGAN K., RUTHERFORD R.A., et al. Differential distribution of angiotensin AT2 receptors in the normal and failing human heart. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998; 284: 323-36.

WISLOFF U, LOENNECHEN JP, CURRIE S, SMITH GL, ELLINGSEN Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.*, 2002; Apr; 54 (1):162-74.

WISLOFF U., HELGERUD J., KEMI O.J. & ELLINGSEN O.. Intensitycontrolled treadmill running in rats: VO₂ (2 max) and cardiac hypertrophy. *American Journal of Physiology*, 2001; 280: H1301-H1310.

ZUCKER IH, PATEL KP, SCHULTZ HD, LI YF, WANG W, PLIQUETT RU. Exercise training and sympathetic regulation in experimental heart failure. *Exerc Sport Sci Rev.*, 2004, 32 (3): 107-11.

ANEXOS

A. Avaliação do peso corporal

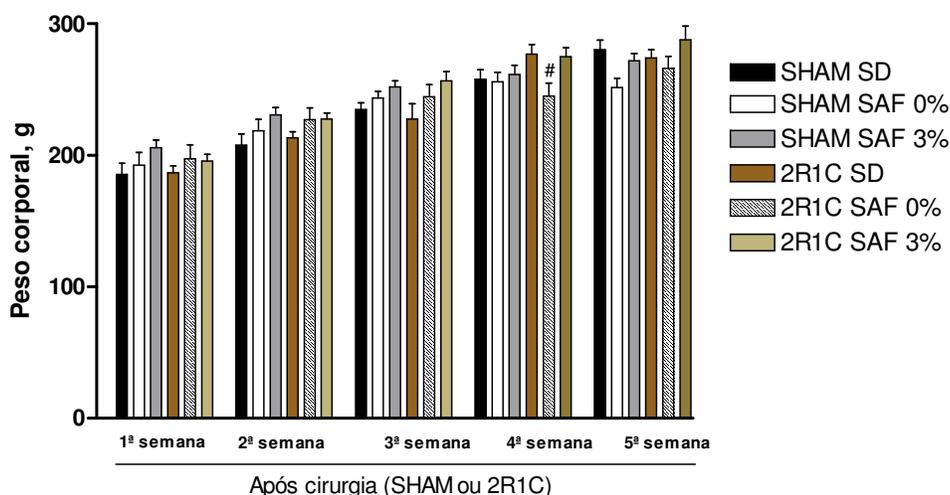


Figura 32: Avaliação do peso corporal (g) em ratos SHAM SD (n=9); SHAM SAF 0% (n= 6); SHAM SAF 3% (n=7); 2R1C SD (n=8); 2R1C SAF 0% (n=6) e 2R1C SAF 3% (n=9), na 1ª, 2ª, 3ª, 4ª e 5ª semana após as cirurgias. *p<0,05 em comparação aos ratos SHAM SD. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Dunnett).

Tabela 18: Valores de peso corporal (g) avaliados por cinco semanas após cirurgias (SHAM ou 2R1C) em ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM e 2R1C.

	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana
SHAM SD (n=9)	185 ± 8	208 ± 9	235 ± 5	258 ± 7	280 ± 7
SHAM SAF 0% (n=6)	192 ± 10	219 ± 8	244 ± 5	256 ± 7	251 ± 7
SHAM SAF 3% (n=7)	206 ± 6	231 ± 6	252 ± 5	261 ± 7	272 ± 6
2R1C SD (n=8)	187 ± 5	213 ± 5	227 ± 12	277 ± 7	274 ± 6
2R1C SAF 0% (n=6)	197 ± 11	227 ± 9	244 ± 9	245 ± 10 [#]	266 ± 9
2R1C SAF 3% (n=9)	196 ± 5	227 ± 5	256 ± 7	275 ± 7	288 ± 10

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos ratos SHAM SD. #p<0,05 em comparação aos ratos 2R1C SD (ANOVA seguido de Dunnett).

B. PAM e FC basais

Tabela 19: Valores basais de PAM (mmHg) e FC (bpm) no início do registro, antes das microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) (antes e após A-779), do A-779 e salina na CVLM em animais SHAM (SD, SAF 0% e SAF 3%).

	SHAM SD		SHAM SAF 0%		SHAM SAF 3%	
	PAM	FC	PAM	FC	PAM	FC
Início registro	99 ± 4	372 ± 22	101 ± 3	255 ± 14	100 ± 4	373 ± 12
Salina	93 ± 5,6	342 ± 16,6	99 ± 3	355 ± 15,8	91 ± 5,4	364 ± 6,7
Ang –(1-7)	94 ± 4,2	342 ± 16,2	101 ± 2,7	353 ± 13,1	88 ± 4,5	350 ± 14
A-779	86 ± 5,5	325 ± 17,9	94 ± 4,4	351 ± 9,7	80 ± 7,0	338 ± 14,5
Ang –(1-7) 5'	80 ± 6,0	314 ± 17,9	90 ± 3,7	347 ± 10,3	78 ± 4,4*	339 ± 10,2
Ang-(1-7) 15'	69 ± 8,2*	311 ± 18,8	85 ± 8,2	350 ± 11,4	65 ± 6,0*	337 ± 14,7
Ang-(1-7) 30'	69 ± 8,7*	318 ± 18,6	87 ± 4,7	354 ± 11,3	66 ± 6,4*	302 ± 17,9*
n	9-10		8-9		8-10	

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos valores no início do registro no respectivo grupo. (ANOVA seguido de Dunnett).

Tabela 20: Valores basais de PAM (mmHg) e FC (bpm) no início do registro, antes das microinjeções sucessivas de Ang-(1-7) (antes e após A-779), do A-779 e salina na CVLM em animais 2R1C (SD, SAF 0% e SAF 3%).

	2R1C SD		2R1C SAF 0%		2R1C SAF 3%	
	PAM	FC	PAM	FC	PAM	FC
Início registro	132 ± 5	438 ± 9	114 ± 2	383 ± 13	116 ± 5	388 ± 13
Salina	118 ± 6,3	362 ± 12,2*	115 ± 5,1	363 ± 23,4	104 ± 6,9	327 ± 25,5
Ang –(1-7)	104 ± 6,8	350 ± 14,4*	103 ± 6,0	354 ± 26,5	105 ± 5,7	349 ± 10,3
A-779	91 ± 9,8*	345 ± 15,2*	97 ± 10,6	345 ± 23,3	99 ± 7,4	340 ± 15,5
Ang –(1-7) 5'	88 ± 9,8*	340 ± 15,5*	98 ± 9,6	329 ± 23,9	93 ± 8,8	342 ± 16,7
Ang-(1-7) 15'	70 ± 10,9*	330 ± 14,6*	85 ± 7,8	324 ± 23,1	81 ± 8,4*	340 ± 18,2
Ang-(1-7) 30'	73 ± 11,8*	317 ± 16,3*	86 ± 14,2	313 ± 24,2	80 ± 6,0*	320 ± 18,6
n	8-11		6		11-12	

Valores expressos em média ± erro padrão da média. *p<0,05 em comparação aos valores no início do registro no respectivo grupo. (ANOVA seguido de Dunnett).

C. Análise histológica semi-quantitativas dos rins

Tabela 21: Índice das intensidades das alterações histológicas renais observadas no rim esquerdo de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	Congestão	Degeneração Tubular Focal	Esclerose	Fibrose	Inflamação	Deposição Protéica
SHAM SD (n=4)	0,33	0,42	0,25	0,08	0,17	0,00
SHAM SAF 0% (n=4)	0,42	0,00	0,08	0,08	0,25	0,00
SHAM SAF 3% (n=4)	0,33	0,00	0,08	0,08	0,17	0,00
2R1C SD (n=4)	0,33	0,00	0,00	0,25	0,75	0,25
2R1C SAF 0% (n=4)	0,42	0,33	0,08	0,42	0,75	0,17
2R1C SAF 3% (n=3)	0,22	0,33	0,00	0,22	0,22	0,33

Valores obtidos pelo método de classificação por cruzes (1/ 12 para n=4 e 1/ 9 para n=3). Valores próximos a 1 indicam as maiores intensidades nas alterações patológicas e valores próximo a 0 indicam as menores intensidades nas alterações patológicas observadas.

Tabela 22: Índice das intensidades das alterações histológicas renais observadas no rim direito de ratos (SD, SAF 0% e SAF 3%) SHAM ou 2R1C.

	Congestão	Degeneração Tubular Focal	Esclerose	Fibrose	Inflamação	Deposição Protéica
SHAM SD (n=4)	0,50	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00
SHAM SAF 0% (n=4)	0,25	0,00	0,08	0,08	0,17	0,08
SHAM SAF 3% (n=3)	0,33	0,00	0,00	0,11	0,11	0,00
2R1C SD (n=4)	0,33	0,00	0,00	0,08	0,17	0,25
2R1C SAF 0% (n=4)	0,42	0,08	0,17	0,25	0,33	0,17
2R1C SAF 3% (n=4)	0,33	0,25	0,08	0,33	0,33	0,00

Valores obtidos pelo método de classificação por cruzes (1/ 12 para n=4 e 1/ 9 para n=3). Valores próximos a 1 indicam as maiores intensidades nas alterações patológicas e valores próximo a 0 indicam as menores intensidades nas alterações patológicas observadas.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)