

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa interinstitucional de Pós- Graduação em Ciências Fisiológicas
UFSCAR/UNESP

**EFEITO DO PRÉ-CONDICIONAMENTO FÍSICO NA
HIPERTENSÃO INDUZIDA PELA DEXAMETASONA: PAPEL DO
SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA**

Aluna: Paula Bessi Constantino Prazeres

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso

São Carlos
Março – 2014

Paula Bessi Constantino Prazeres

**EFEITO DO PRÉ-CONDICIONAMENTO FÍSICO NA HIPERTENSÃO
INDUZIDA PELA DEXAMETASONA: PAPEL DO SISTEMA RENINA
ANGIOTENSINA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa Interinstitucional de Pós-
Graduação em Ciências Fisiológicas do
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
da Universidade Federal de São Carlos
como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Ciências Fisiológicas

Orientadora: Prof^a Dr^a Sandra Lia do Amaral Cardoso.

São Carlos
Março – 2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

P921ep Prazes, Paula Bessi Constantino.
Efeito do pré-condicionamento físico na hipertensão induzida pela dexametasona : papel do sistema renina angiotensina / Paula Bessi Constantino Prazeres. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
70 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Fisiologia. 2. Glicocorticóides. 3. Exercícios físicos. 4. Pressão arterial. 5. Angiotensina II. I. Título.

CDD: 612 (20^a)

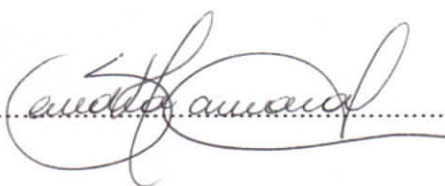
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

Dissertação de Mestrado de Paula Bessi Constantino
Prazeres

Dia 28/03/2014

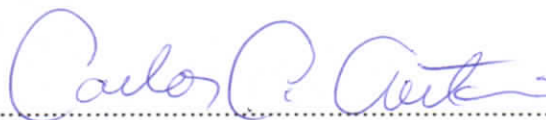
Prof^a. Dr^a. Sandra Lia do Amaral Cardoso.....



Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos.....



Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani.....



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, a minha Família que sempre me apoiou e incentivou e ao meu marido Jhony que apesar de me apoiar muito teve que aguentar todos os momentos de estresse.

AGRADECIMENTOS

Ao departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, a todos os professores e funcionários.

Ao secretário Alexandre, por tirar todas as nossas dúvidas e ser prestativo.

Agradeço ao suporte financeiro realizado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP.

Agradeço ao suporte financeiro realizado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

Ao Thiago J. Dionísio (FOB-USP) pela sua paciência, e disponibilidade de tempo para me ensinar a técnica de PCR e por ter me ajudado muito no meu crescimento como pesquisadora.

Aos meus amigos de laboratório (Aline, André, Anderson, Francine, Lidiane e Naiara) pelas ajudas, risadas e leves discussões que foram essenciais na minha formação como mestranda e pessoa.

Em especial a Aline, minha amiga, que irá fazer muita falta nesse laboratório. A Francine e Naiara que tiveram que aguentar a mim e a meus ratos (que não foram poucos).

Em especial também a Professora Dr^a Sandra que é uma pessoa maravilhosa, compreensiva e orientadora de verdade. Sandra, sempre serei grata por ter me dado a oportunidade de realizar o mestrado, mostrando que este não era um sonho distante. Obrigada pelos seus ensinamentos, incentivos, puxadas de orelha e confiança no meu trabalho. Graças a você consegui tudo o que tenho hoje! Muito obrigada!!

A minha Família que acreditou na minha capacidade, me incentivando e me amparando em todos os momentos de fraqueza, dúvidas e desânimo.

A meu marido Jhony, por sempre estar ao meu lado, me apoiando, incentivando e contribuindo para o meu sucesso.

RESUMO

A Dexametasona (DEX) é amplamente utilizada no tratamento de inflamações e alergias, porém seu uso crônico determina vários efeitos colaterais como hiperglicemia, atrofia muscular e hipertensão (HA). O sistema renina-angiotensina (SRA) é um importante regulador da pressão arterial e sua maior atividade pode ser um dos possíveis mecanismos responsáveis pelo aumento da pressão arterial (PA) induzida pela DEX. Por outro lado, o exercício físico aeróbio, de baixa e moderada intensidade, tem sido recomendado como coadjuvante no tratamento da HA e seus benefícios sobre as alterações do SRA têm sido demonstrados. Observamos recentemente que o pré-condicionamento físico atenua a HA induzida pela DEX, no entanto pouco se sabe sobre os mecanismos responsáveis por esta resposta. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar se o SRA participava do aumento da PA induzido pela DEX e se a redução da PA induzida pelo pré-condicionamento aeróbio estava associada com a alteração dos componentes do SRA. Ratos Wistar foram submetidos a um protocolo de exercício físico aeróbio na esteira ou mantidos sedentários por 8 semanas. Além disso, os animais foram tratados ou não com DEX (1,0 mg/kg de peso corporal, por dia, *i.p.*, por 10 dias) e tratados ou não com losartan, compondo assim 8 grupos, a saber: sedentário controle (SC), sedentário DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado DEX (TD), sedentário losartan (SCL), sedentário DEX e losartan (SDL), treinado losartan (TCL) e treinado DEX e losartan (TDL). Foram analisados peso corporal (PC), glicemia de jejum e pressão arterial de repouso. Após a eutanásia, os músculos tibial anterior (TA), sóleo (SOL), flexor longo do hálux (FHL) e ventrículo esquerdo (VE) foram coletados para a avaliação da expressão gênica e proteica dos componentes do SRA. O tratamento com DEX determinou redução do PC e do peso muscular (PM) do TA e FHL, além de aumento da glicemia de jejum (+132%) e PA (16%). Os animais tratados com losartan não apresentaram atenuação do aumento da PA após tratamento com DEX. O treinamento físico não preveniu a perda do PC e PM, no entanto atenuou o aumento da glicemia de jejum (60%) e da PA (7%). No VE observamos que o treinamento aumentou o mRNA de AT1 e ECA que foram reduzidos no grupo TD e aumentou em 31% (TC) e 47% (TD) os níveis proteicos do AGT. No músculo TA, a DEX aumentou o mRNA em 270% do AT1 e 175% do MAS, por outro lado o grupo TD apresentou aumento do mRNA do AT2 (+142%) e do MAS (+78%). A DEX determinou redução dos níveis proteicos do AT2 (-5%) e o treinamento não preveniu esta redução (-13%, TD). No músculo SOL, a DEX aumentou o mRNA em 87% do AGT. Os animais treinados apresentaram aumento de mRNA do AT1 (+32%) e ECA (+50%) e no grupo TD houve aumento de ECA (+53%), AT1 (+51%) e AGT (+155%), sem qualquer alteração nas proteínas. No músculo FHL a DEX determinou redução das proteínas dos componentes vasodilatadores do SRA (-20% AT2; -33% ECA2 e -36% MAS), apesar do grupo TC também ter uma redução de ECA2 (-16%) e MAS (-27%), por outro lado o grupo TD aumentou em 47% as quantidades de ECA2. Estes resultados, associados com a não atenuação da PA após tratamento com losartan, sugerem que o SRA não seja o principal mecanismo envolvido no aumento da PA neste modelo induzido pela DEX e provavelmente outros mecanismos estejam contribuindo para este aumento.

Palavras chave: Glicocorticoides, exercício físico, pressão arterial, Angiotensina II.

ABSTRACT

Dexamethasone (DEX) is widely used to treat inflammation and allergies, but its chronic use determines several side effects such as hyperglycemia, muscle atrophy and hypertension (H). The renin-angiotensin system (RAS) is an important regulator of blood pressure (BP) and its increased activity may be one possible mechanism responsible to increase BP induced by DEX. On the other hand, low to moderate aerobic exercise has been recommended for treatment of hypertension and its effects on RAS have been demonstrated. We recently demonstrated that physical preconditioning attenuates H induced by DEX, however little is known about the mechanisms responsible for this response. Therefore, the aim of this study was to investigate whether RAS participated in the BP increase induced by DEX and BP reduction induced by aerobic preconditioning was associated with an alteration of RAS components. Rats were subjected to an aerobic exercise protocol on the treadmill or kept sedentary for 8 weeks. Additionally, animals were treated with DEX (1.0mg/kg of body weight per day *i.p.* for 10 days) and treated or not with losartan. Groups were: sedentary control (SC), DEX sedentary (SD), trained control (TC) and trained DEX (TD), sedentary losartan (SCL), sedentary DEX and losartan (SDL), trained losartan (TCL) and trained DEX and losartan (TDL). Body weight (BW), fasting glucose and resting blood pressure were analyzed. After euthanasia, the tibialis anterior (TA), soleus (SOL), flexor hallucis longus (FHL) and left ventricle (LV) were collected for evaluation of gene expression and protein levels of RAS components. Treatment with DEX caused decrease of BW and TA and FHL muscle weight (MW), and determined an increase in fasting glucose (+132%) and BP (16%). Losartan treated animals did not present BP attenuation after DEX treatment. Physical training did not prevent BW or MW loss, however it attenuated the increase in fasting glucose (60%) and BP (7%). Training increased ACE and AT1 mRNA which were further reduced in the LV muscle of TD group. Also, training increased 31% (TC) and 47% (TD) the protein levels of AGT. In the TA muscle, DEX increased by 270% the AT1 mRNA and by 175 % the MAS mRNA. TD group showed increases on AT2 mRNA (+142%) and MAS (+78%). DEX also reduced AT2 (-5%) protein levels and training did not prevent this reduction (-13%, TD). In the SOL muscle DEX increased 87% AGT gene expression and trained rats presented an increase of AT1 (+32%) and ACE (+50%) mRNA. TD group presented increases of ACE (+53%), AT1 (+51%) and AGT (+155%) gene expression and no changes on protein levels were observed. In FHL muscle DEX determined protein level reduction of vasodilators RAS components (-20 % AT2; -33% ACE2 and -36% MAS), although the TC group also presented a reduction on ACE2 (-16%) and MAS (-27%). TD group presented an increase of 47% on ACE2 protein level. Taken together these and the no effect of losartan on BP, we can suggest that RAS is not the main mechanism involved in this model of Hypertension induced by DEX.

Key words: glucocorticoids, exercise, blood pressure, Angiotensin II.

LISTA DE FIGURAS:

FIGURA 1: demonstraç o esquem tica da formação da angiotensina II e angiotensina (1-7). Enzima conversora de angiotensina (ECA); enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2); neutra endopeptidase (NEP); prolil endopeptidase (PEP); receptor 1 da Ang II (AT1); receptor 2 da Ang II (AT2); receptor da Ang 1-7 (MAS).....16

FIGURA 2: linha do tempo do protocolo experimental, peso corporal (PC), pressão caudal (PA).....23

FIGURA 3: Capacidade física dos animais nos testes de esforç o máximo em esteira ergométrica no início, meio e fim do protocolo de treinamento. **A:** animais tratados com Dexametasona, Sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=23), treinado controle (TC, n=20) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=23); **B:** animais tratados com Dexametasona e losartan, Sedentário tratado com losartan (SCL, n=10), sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL, n=10), treinado controle tratado com losartan (TCL, n=10) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=10). Análise de variância (ANOVA) de 3 caminhos; Significância: b – intera o entre treinamento e momento. $p < 0,001$31

FIGURA 4: Valores de massa corporal durante as 8 semanas de treinamento físico e no período de tratamento com Dexametasona e/ou losartan (10 dias). **A:** animais tratados Dexametasona, sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=23), treinado controle (TC, n=20) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=23); **B:** animais tratados Dexametasona e losartan, sedentário controle losartan (SCL, n=10), sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL, n=10), treinado controle losartan (TCL, n=10) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=10). Análise de variância (ANOVA) de 3 caminhos; Significância: a – intera o entre tratamento e momento, $p < 0,001$; b – intera o entre treinamento e momento, $p < 0,05$33

FIGURA 5: Glicemia de jejum dos animais dos grupos sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=11), treinado controle (TC, n=10) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=11). Antes do treinamento (1), depois de 8 semanas de treinamento (2) e depois do tratamento com Dexametasona (3). Análise de variância (ANOVA) de 3 caminhos, Significância: a – intera o entre tratamento e momento; $p < 0,05$34

FIGURA 6: Valores basais de pressão caudal antes do treinamento aeróbio (0) e em dias alternados (2, 4, 6, 8 e 10) durante o tratamento. Sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=13), treinado controle (TC, n=10) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=13). Análise de variância (ANOVA) de 3 caminhos; Significância: * vs controle; + vs sedentário, $p < 0,05$34

FIGURA 7: Valores basais da pressão arterial, 48 horas após o último dia de tratamento com Dexametasona e/ou Losartan. **A:** animais tratados com Dexametasona, Sedentário controle (SC, n=5), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexametasona (TD,

n=4). **B**: animais tratados com Dexametasona e losartan, sedentário controle losartan (SCL, n=9), sedentário tratado com Dexametasona losartan (SDL, n=8), treinado controle losartan (TCL, n=9) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=7). Análise de variância de 2 caminhos (ANOVA); Significância: * vs controle; + vs sedentário; Δ losartan vs salina; p< 0,05.....35

FIGURA 8: mRNA dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina A, B, C, G, H, I em animais tratados com Dexametasona por 10 dias (1mg/Kg/dia) e D, E, F, J, K, L em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia) e losartan (50mg/Kg/dia) por 10 dias normalizado por GAPDH no músculo VE. **A** e **D**= Angiotensinogênio (AGT); **B** e **E**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C** e **F**= Receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1a); **G** e **J** = Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **H** e **K** = Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **I** e **L**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). sedentário controle losartan (SCL); sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL), treinado controle losartan (TCL), treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL). Análise de variância de 2 caminhos (ANOVA); Significância: * vs controle; p<0,05; entre () valor do n de cada grupo.....38

FIGURA 9: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo VE. **A**= Angiotensinogênio (AGT); **B**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C**= Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: + vs sedentário p<0,05.....39

FIGURA 10: mRNA dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona por 10 dias (1mg/Kg/dia) normalizado por GAPDH no músculo TA. **A**= Angiotensinogênio (AGT); **B**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C**= Receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1a); **D**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; p<0,05.....40

FIGURA 11: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo TA. **A**= Angiotensinogênio (AGT); **B**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C**= Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; p<0,05.....41

FIGURA 12: mRNA dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona por 10 dias (1mg/Kg/dia) normalizado por GAPDH no

músculo SOL. **A**= Angiotensinogênio (AGT); **B**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C**= Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; $p < 0,05$42

FIGURA 13: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo SOL. **A**= Angiotensinogênio (AGT); **B**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C**= Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD).....42

FIGURA 14: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo FHL. **A**= Angiotensinogênio (AGT); **B**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C**= Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; + vs sedentário; $p < 0,05$43

LISTA DE TABELAS:

Tabela 1: Comparação dos valores de massa muscular e glândula adrenal normalizados pela tíbia entre os grupos tratados com Dexametasona e losartan.....	37
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH – hormônio adrenocorticotrófico
AGT – angiotensinogênio
Ang I – angiotensina I
Ang II – angiotensina II
Ang (1-7) – angiotensina (1-7)
ANP – peptídeo atrial natriurético
AT1 – receptor 1 de angiotensina II
AT2 – receptor 2 de angiotensina II
CRH – corticotropina
DEX – Dexametasona
ECA – enzima conversora de angiotensina
ECA 2 – enzima conversora de angiotensina 2
eNOS – enzima óxido nítrico sintase
FHL – flexor longo do hálux
HA – hipertensão arterial
MAS – receptor de angiotensina (1-7)
NO – óxido nítrico
NTS – núcleo do trato solitário
PA – pressão arterial
PAD – pressão arterial diastólica
PAM – pressão arterial média
PAS – pressão arterial sistólica
SNC – sistema nervoso simpático
SOL – sóleo
SRA – sistema renina-angiotensina
TA – tibial anterior
VE – ventrículo esquerdo
SC – sedentário controle
SD – sedentário DEX
TC – treinado controle
TD – treinado DEX
SCL – sedentário controle losartan
SDL – sedentário DEX e losartan
TCL – treinado controle losartan
TDL – treinado DEX losartan

Sumário

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Glicocorticoides:.....	12
1.2 Dexametasona e seus efeitos colaterais:.....	13
1.3 Sistema Renina-Angiotensina no controle da pressão:	15
1.4 Efeito do exercício físico sobre a hipertensão:	18
2 OBJETIVOS	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Avaliação da capacidade física máxima dos animais	21
3.2 Grupos experimentais.	21
3.3 Protocolo de treinamento físico	23
3.4 Determinação da pressão de cauda	23
3.5 Tratamento farmacológico	24
3.6 Determinação da pressão arterial	24
3.6.1 Confeção de cânulas.....	24
3.6.2 Registro de PA e frequência cardíaca	24
3.7 Determinação da Glicemia de Jejum	25
3.8 Retirada dos músculos esqueléticos e cardíaco.....	25
3.8.1 Extração de RNA total.....	25
3.8.2 Quantificação e qualificação do DNA	26
3.8.3 Tratamento do RNA total com DNase e transcrição reversa	26
3.8.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) quantitativa	27
3.8.5 Protocolo de dosagem de proteína.....	28
3.8.6 Procedimentos de <i>Western Blotting</i>	29
3.9 Métodos estatísticos	30
4 RESULTADOS	31
5 DISCUSSÃO	44
6 CONCLUSÃO.....	53
7 REFERÊNCIAS.....	54
ANEXO 1:	70

1 INTRODUÇÃO

1.1 Glicocorticoides:

Os Glicocorticoides são hormônios esteroides secretados pela glândula supra-renal. Sua síntese e secreção é estimulada e aumentada em situações de infecções, estresse, cirurgia, dor excessiva, traumatismos graves, queimaduras, hipovolemia e choque (ANTI et al., 2008). Durante essas situações de estresse um sinal é transmitido do local de estresse para o sistema nervoso central (SNC), o qual estimula os corpos celulares de neurônios localizados no núcleo paraventricular do hipotálamo a liberar corticotropina (CRH). O CRH é secretado para o sistema porta-hipofisário e transportado até a hipófise anterior, onde estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pelas células corticotróficas (GUYTON e HALL, 2011). Uma vez que o ACTH cai na corrente sanguínea ele irá se ligar ao seu receptor específico, nas glândulas supra-renais, onde estimula a esteroidogênese adrenal produzindo Glicocorticoides nos humanos (cortisol) e corticosterona nos roedores (AIRES et al., 2008).

O principal glicocorticoide produzido é o cortisol, sintetizado no córtex da glândula supra-renal (GUYTON e HALL, 2011). O cortisol é transportado por proteínas carreadoras na corrente sanguínea (transcortina) e atua praticamente sobre todos os órgãos e tecidos (KIRWAN, 1998).

Dentre os principais efeitos fisiológicos pode-se citar a mobilização de ácidos graxos livres, de proteínas e redução da utilização celular de glicose que, conseqüentemente, disponibiliza glicose sanguínea para uso imediato (GUYTON e HALL, 2011; AIRES et al., 2008). O cortisol também age como anti-inflamatório em tecidos lesados por traumas, infecções bacterianas e artrite reumatoide. Desde a década de 50 até hoje, os Glicocorticoides sintéticos, dentre eles a Dexametasona (DEX), estão sendo amplamente utilizados no tratamento de doenças autoimunes, doenças reumáticas crônicas, prevenção de rejeição de enxertos, em alergias e inflamações (HENCH et al., 1949; WARD et al., 1951; SHIH e JACKSON, 2007). Recentemente alguns estudos têm demonstrado uso como anti-emético pós-cirúrgico (PANDA et al.,

2004; MADAN et al., 2005 e CARDOSO et al., 2013) e proteção contra delírios pós cirurgia cardíaca (MARDANI e BIGDELIAN, 2013).

1.2 Dexametasona e seus efeitos colaterais:

Tem sido demonstrado que o uso crônico de DEX traz alguns efeitos colaterais como resistência à insulina, associado a uma reduzida captação periférica da glicose pela musculatura esquelética, hiperglicemia e hiperinsulinemia (WEINSTEIN et al., 1998; SCHNEITER e TAPPY, 1998; GIOZZET et al., 2008; RAFACHO et al., 2007; SANTOS et al., 2007; BAREL et al., 2010; DIONISIO et al., 2014). Estas respostas são normalmente determinadas por um reajuste metabólico que aumenta a oferta de glicose na corrente sanguínea, reduzindo a captação periférica de glicose nos músculos, fígado e adipócitos e aumentando a glicogenólise e neoglicogênese (SAAD, 1994).

Além destes efeitos metabólicos, vários grupos, inclusive o nosso, têm demonstrado que o uso crônico de DEX causa redução significativa de peso corporal em animais (TONOLO et al., 1988; MONDO et al., 2006; BECHTOLD et al., 2008; BAREL et al., 2010 e DIONISIO et al., 2014). Esta diminuição de peso corporal quase sempre está associada com uma menor ingestão alimentar (SANTOS et al., 2007; MACEDO et al., 2012; MARTUCELLI et al., 2011; SOUZA et al., 2012), que pode ser provocada pela redução dos níveis do neuropeptídeo Y e do CRH no núcleo paraventricular, ambos relacionados a regulação do apetite e da termogênese no hipotálamo (MCKIBBIN et al. 1992; MICHEL e CABANAC, 1999; BELL et al., 2000; GINSBERG et al., 2003). Santos et al. (2007) já haviam demonstrado que 5 dias de tratamento com DEX promovia redução significativa da ingestão alimentar e Macedo et al., (2012) observaram que após 10 dias de tratamento com DEX os animais consumiram 44% menos ração que os animais controle.

Outro mecanismo que tem sido implicado na redução significativa de peso corporal é a atrofia muscular (MA et al., 2003; GILSON et al., 2007) sendo este efeito colateral observado frequentemente por nosso grupo (DIONÍSIO, 2010; BAREL et al., 2010 e MARTUSCELLI et al., 2011, DIONISIO et al.,

2014). Os mecanismos responsáveis pela atrofia muscular são ainda controversos, podendo ser um desbalanço entre as proteínas que são responsáveis pelo aumento ou degradação da massa muscular (ZHAO et al., 2009; ZANCHI, 2010).

Tem sido demonstrado que o uso da DEX causa aumento significativo da pressão arterial (PA), tanto em humanos (SUDHIR et al., 1989; BROTMAN et al., 2005) como em animais (SUZUKI, et al., 1982; DODIC et al., 1999; DODIC et al., 2006; MONDO et al., 2006; BAREL, 2010; AMARAL et al., 2011; ONG et al., 2013). Alguns trabalhos têm sugerido que este aumento de PA induzido pela DEX seja determinado por alterações genéticas, uma vez que seus efeitos são observados também em gerações subsequentes (DODIC et al., 1999; WYRWOLL et al., 2007; BECHTOLD et al., 2008; ROGHAIR et al., 2008). No entanto, os mecanismos responsáveis pelo aumento da pressão arterial induzida pela DEX ainda não são conclusivos. Estudos têm mostrado que o tratamento crônico com DEX suprime a vasodilatação do endotélio microvascular pela queda na produção da enzima responsável pela produção de óxido nítrico (NO), a óxido nítrico sintase (eNOS), fazendo com que a produção deste potente vasodilatador seja reduzida (WALLERATH et al., 1999; SEVERINO et al., 2002; SCHÄFER et al., 2005; MONDO et al., 2006). Resultados preliminares de nosso laboratório têm revelado que esta enzima já está reduzida com 5 dias de tratamento com DEX (SOUZA et al., 2012). Concordando, Schäfer et al. (2005), mostraram que a DEX diminui o aminoácido catiónico transportador-1 (CAT 1), o qual é responsável por transportar L-arginina, principal substrato do NO, em células endoteliais. Além disso, a DEX também aumenta a produção de ânions superóxidos (O_2^-), que causa destruição de estruturas celulares e oxida o NO, reduzindo sua biodisponibilidade (MONDO et al., 2006; ROGHAIR et al., 2008). Tem sido relatado também que o aumento da PA, após tratamento crônico com DEX, possa estar associado com a diminuição do peptídeo atrial natriurético (ANP), que é um hormônio responsável pela diurese, natriurese e vasodilatação (TONOLO et al., 1988), apesar desta diminuição não ser consenso na literatura (MATSUBARA et al., 1987; TABARIN et al., 1990; SOSYNSKI et al., 1991; GUARINO et al., 2001; LIU et al., 2010).

Outro importante mecanismo responsável pelo aumento da PA após tratamento com DEX é a ativação do sistema renina-angiotensina (SRA) (SUZUKI et al., 1982). Tem sido demonstrado que a DEX promove aumento do número de receptores tipo 1 de angiotensina II (AT_1) que, quando ligado à Angiotensina II, promove potente ação vasoconstritora (SATO et al., 1994; SARUTA, 1996; SHELAT et al., 1999; BOGDARINA et al., 2009). Mais recentemente, Roy et al. (2009) mostraram em seu trabalho, que o excesso de glicocorticoide causa remodelação cardíaca (hipertrofia do ventrículo esquerdo) e alterações patofisiológicas no miocárdio via sinalização da Ang II, contribuindo para o aumento da PA. Além disso, Roghair et al. (2008) demonstraram que a DEX aumenta a atividade da Ang II, a qual tem sido implicada também no aumento do estresse oxidativo.

1.3 Sistema Renina-Angiotensina no controle da pressão:

O sistema renina-angiotensina (SRA) é um dos sistemas mais importantes para o controle da pressão arterial (PA) e do controle hidroeletrólítico, pois é ele quem regula a volemia e a osmolaridade plasmática. Inicialmente foi descoberta a existência de um SRA circulante, no qual os diferentes componentes do SRA (angiotensinogênio, renina, enzima de conversão da Angiotensina – ECA) eram produzidos em órgãos específicos (fígado, rim e pulmão, respectivamente) contribuindo para a formação de Ang II no sangue. Esta, por sua vez, atingiria os diferentes territórios pela circulação. Atualmente sabe-se que também há o SRA tecidual, com os diferentes componentes sendo expressos em vários tecidos. (GANTEN et al., 1986; SANTOS 1997; BALTATU et al., 2001; BADER et al., 2001; BALTATU et al., 2011; CAMPOS et al., 2012).

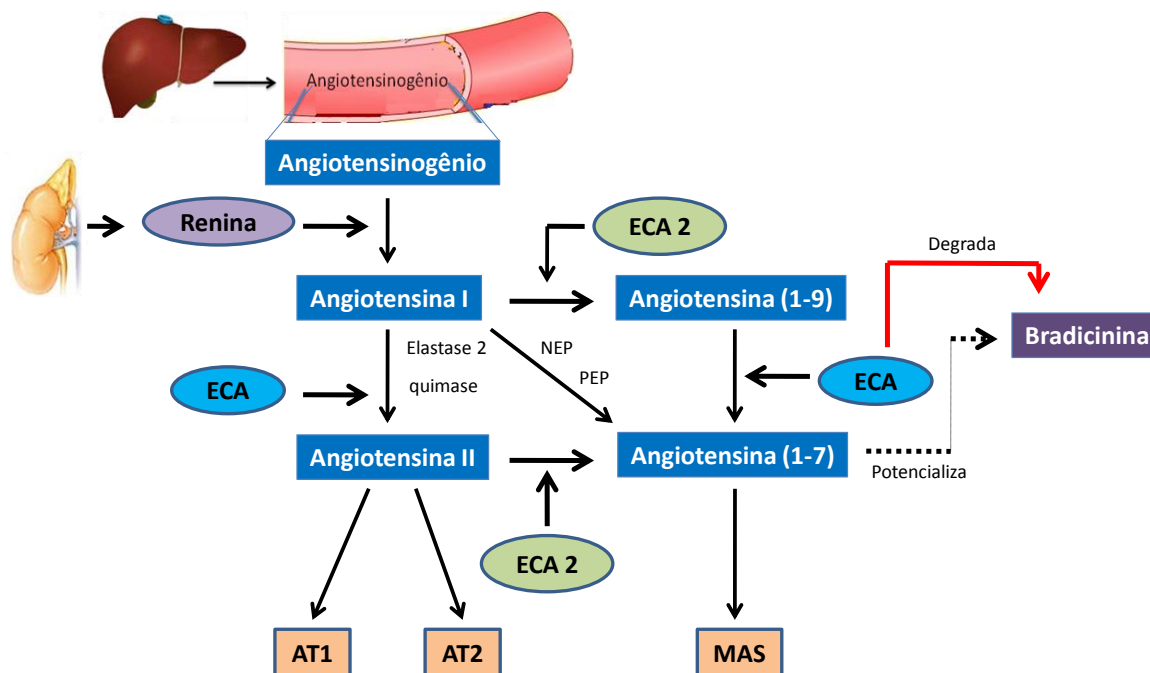


FIGURA 1: Demonstração esquemática da formação da angiotensina II e angiotensina (1-7). Enzima conversora de angiotensina (ECA); enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2); neutra endopeptidase (NEP); prolil endopeptidase (PEP); receptor 1 da Ang II (AT₁); receptor 2 da Ang II (AT₂); receptor da Ang 1-7 (MAS).

A Figura 1 representa os diferentes componentes do SRA, com as respectivas formações de diferentes angiotensinas, bem como seus receptores. Já está bem estabelecido na literatura que a angiotensina II (Ang II) é o principal efetor do SRA, responsável pelo controle da PA. O principal efeito da Ang II é aquele mediado pelo receptor AT₁, ou seja, vasoconstrição intensa das arteríolas e suave nas veias, que causa aumento da resistência periférica total e do retorno venoso e, conseqüentemente da PA. O aumento da PA pela Ang II pode também ser devido a sua atuação diretamente nos rins (DEJI et al., 2012), pois promove redução da excreção de sal e de água e aumenta o volume do líquido extracelular (DEJI et al., 2012). A Ang II também age sobre o córtex da supra renal, estimulando a secreção de aldosterona que promove reabsorção de sódio nos rins (MORRIS et al., 2000; AIRES et al., 2008). O SRA cerebral também tem recebido destaque no controle da PA nas últimas décadas. Baltatu et al. (2000) demonstraram que em ratos transgênicos, com ausência do sistema renina angiotensina (SRA) cerebral, possuíam a PA mais baixa mesmo quando infundida Ang II comparada com o controle. A Ang II diminui a sensibilidade dos barorreceptores (CAMPAGNOLE-SANTOS et al.,

1992; SAKIMA et al., 2005; HUANG et al., 2006; TAN et al., 2007; MOUSA et al., 2008) e aumenta a atividade do sistema nervoso simpático, via ativação do núcleo paraventricular (SILVA et al., 2012) e bulbo ventrolateral (ANDREATA et al., 1988; SASAKI e DAMPNEY, 1990). Felix e Michelini (2007) também demonstraram que ratos espontaneamente hipertensos apresentam aumento da expressão genética de AT1 e angiotensinogênio (AGT) no núcleo do trato solitário (NTS). De acordo com estes achados, Thorén (1987) já havia observado que nos ratos hipertensos havia uma elevada descarga nervosa renal que ocasiona uma menor excreção de sódio.

Por outro lado, a angiotensina (1-7), formada a partir de Ang I ou Ang II pela ação da neutra endopeptidase (NEP) e prolil endopeptidase (PEP) e ECA-2, respectivamente (Figura 1), possui efeito antagônico ao da Ang II (BENTER et al., 1995; ALMEIDA et al., 2000; XU et al., 2008; SAVERGININI et al., 2010), reduzindo a PA. Ao se ligar ao seu receptor específico, MAS, causa diminuição da via pro-oxidante, aumentando a produção de eNOS, que conseqüentemente aumenta a produção de NO e gera vasodilatação (LEMOS et al., 2005; FARIA-SILVA et al., 2005; SAMPAIO et al., 2006; COSTA-GONÇALVES et al., 2007; XU et al., 2008; LEE et al., 2011). Outra ação importante da Ang (1-7) é a potencialização do efeito da bradicinina que é um potente vasodilatador (ALMEIDA et al., 2000). Tem sido destacado também que a Ang (1-7) possa atuar como antioxidante, pois a deficiência de receptor MAS causa aumento do estresse oxidativo (XU et al., 2008) e aumento da fibrose no tecido (COSTA-GONÇALVES et al., 2007). Outro fator importante da Ang (1-7) é causar aumento da sensibilidade do barorreceptor (CAMPAGNOLE-SANTOS et al., 1992; BENTER et al., 1995; CHAVEZ et al., 2000; SAKIMA et al., 2007).

A partir destes achados, vários medicamentos (bloqueadores do SRA) foram desenvolvidos. Trabalhos mostram que o uso de losartan, causa queda significativa da PA tanto em animais como em humanos hipertensos (FERRARIO et al., 2005; DOUMAS et al., 2004; MIHAILOVIĆ-STANOJEVIĆ et al., 2009; AL-THANNON et al., 2012), por ele bloquear o receptor AT₁, disponibilizando assim, mais Ang II que será metabolizada pela ECA-2 formando Ang (1-7) no coração (FERRARIO et al., 2005). Outros medicamentos utilizados para diminuição da PA são os inibidores da ECA, tais

como captopril, lisinopril, enalapril e ramipril, entre outros (PITT et al., 2003; FERRARIO et al., 2005; ANDERSEN et al., 2009; CONNELLY et al., 2011; ALTHANNON et al., 2012). Estes medicamentos, por inibir a ação da ECA, facilitam a formação de Ang (1-7) a partir da ação da ECA-2 (FERRARIO et al., 2005). Pitt et al. (2003) mostraram que o enalapril é eficiente em reduzir a hipertrofia do ventrículo esquerdo causado pela hipertensão, no entanto, quase nada se sabe se o SRA tem papel importante no aumento da PA induzida pela DEX.

1.4 Efeito do exercício físico sobre a hipertensão:

Já está bem estabelecido na literatura que um programa regular de exercícios de baixa intensidade reduz significativamente os níveis pressóricos, fazendo com que os exercícios sejam recomendados como coadjuvante do tratamento farmacológico para hipertensos (AMARAL et al., 2001; BRANDÃO-RONDON et al., 2002; ACSM, 2004; FELIX e MICHELINI, 2007; BELABBAS et al., 2008; AGARWAL et al., 2009; JORDÃO et al., 2011; AMARAL e MICHELINI, 2011; ROSSONI et al., 2011).

Vários são os mecanismos responsáveis pela queda de PA após um programa de exercícios. Tem sido demonstrado que o treinamento físico reduz significativamente a atividade nervosa simpática (LATERZA et al., 2007; CAVALCANTI et al., 2009; MARTINEZ et al., 2011; ANTUNES-CORREA et al., 2010), melhora o controle autonômico para o coração (HIGA-TANIGUCHI et al., 2007; BURGI et al., 2011) e melhora o controle barorreflexo em indivíduos ou animais hipertensivos (BRUM et al., 2000; LATERZA et al., 2007; MOUSA et al., 2008; MARTINEZ et al., 2011). Além disso, os exercícios aeróbios regulares de baixa intensidade reduzem hipertrofia cardíaca (AGARWAL et al., 2009; BERNARDO et al., 2010) concêntrica e promove a excêntrica, que melhoram o volume de ejeção fazendo com que o coração trabalhe mais eficientemente e com menor gasto energético (HAMBRECHT et al., 2000).

Periféricamente, o exercício físico contribui para reduzir a resistência vascular periférica, que é o principal responsável por manter a PA elevada na hipertensão crônica (GUYTON & HALL, 2011; ANTUNES-CORREA et al.,

2010). Neste sentido, o treinamento físico tem promovido redução da razão parede-luz de arteríolas da musculatura esquelética (AMARAL et al., 2000; AMARAL et al., 2001; MELO et al., 2003; AMARAL et al., 2011; MAIORANA et al., 2011; ROSSONI et al., 2011) e normalização das fibras elásticas (elastina), as conectivas do tecido (colágeno) e o músculo liso (α -actina) que nos hipertensos estão elevados causando rigidez na aorta torácica após treinamento físico crônico (JORDÃO et al., 2011).

Outro importante mecanismo que tem sido implicado na redução da PA pelo exercício físico é uma alteração no SRA. São poucos os trabalhos que avaliam os efeitos do treinamento físico sobre o SRA e os resultados ainda não são conclusivos. Mousa et al. (2008) relacionaram a diminuição de PA em animais hipertensos à redução das quantidades plasmáticas de Ang II. Da mesma forma, Belabbas et al. (2008) mostraram que o exercício atenua o aumento da pressão arterial causado pela Ang II. Felix e Michelini (2007) demonstraram que o exercício físico diminui a expressão do mRNA de AGT no núcleo do trato solitário (NTS) sendo esta queda associada com redução da PA. Mais recentemente, KAR et al. (2010) observaram redução da expressão da ECA e aumento da ECA-2 em coelhos com insuficiência cardíaca após um período de treinamento físico. O treinamento físico também diminui a produção proteica de AGT e quantidades de Ang I e Ang II, além de aumentar a produção proteica de ECA 2, quantidades de angiotensina (1-7) e expressão gênica de receptores AT1 no coração (FERNANDES et al., 2011). No entanto, não há trabalhos que demonstrem efetivamente a ação da DEX modulando o SRA e os efeitos do exercício sobre esta ação.

Dados do laboratório (ainda não publicados) têm evidenciado que a DEX causa aumento da PA nos animais e que o exercício físico aeróbio é capaz de atenuar este aumento da PA induzido pela DEX. Portanto, se o tratamento crônico com DEX aumenta a atividade do SRA e este pode ser um dos mecanismos responsáveis pelo aumento de PA, é bastante plausível a ideia de que o exercício físico aeróbio, realizado antes e concomitante ao tratamento com a droga possa atenuar o aumento da PA por alterar a expressão dos diferentes componentes do SRA na musculatura esquelética e cardíaca recrutada no exercício em esteira.

2 OBJETIVOS

Geral: Investigar se os mecanismos desencadeados pelo exercício aeróbio na atenuação da hipertensão arterial induzida pela Dexametasona envolvem o SRA.

Específicos:

1. Determinar se o aumento da PA induzido pela Dexametasona envolve a participação do SRA.
2. Determinar se a redução de PA induzida pelo pré-condicionamento aeróbio está associada com a alteração dos componentes do SRA.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 126 ratos (Wistar) de 7-8 semanas de idade (200-250g, jovens), provenientes do Centro de Pesquisa e Produção de animais da UNESP (Botucatu). Durante todo o protocolo, os animais foram mantidos em gaiolas com até quatro animais, no Biotério de Manutenção da Faculdade de Ciências do campus da UNESP de Bauru, com ciclo claro escuro de 12:12 horas e temperatura controlada (22°C). Ração e água foram fornecidas *ad libitum*. Os ratos foram pesados semanalmente do início ao fim dos estudos (balança Filizola). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP (Protocolo nº 2012-02254) (Anexo 1).

3.1 Avaliação da capacidade física máxima dos animais

A capacidade máxima foi avaliada de forma indireta por meio de teste de esforço máximo (TEM) em esteira ergométrica adaptada para ratos (10 raias suspensas de ferro, Inbramed, Millennium). Após um período inicial de adaptação à esteira (10 dias), os ratos adaptados foram selecionados segundo sua habilidade em andar/correr na esteira ergométrica. Após esta pré-seleção, eles realizaram um teste de esforço máximo (TEM), utilizando um protocolo escalonado previamente validado e publicado por Silva et al. (1997), com incrementos de 3 m/min a cada 3 min.

O teste foi realizado com um animal de cada vez na esteira e a carga máxima foi determinada quando o animal não conseguia mais correr espontaneamente.

3.2 Grupos experimentais.

Após a avaliação da capacidade física, os ratos foram divididos em oito grupos experimentais, seguindo protocolo de 70 dias. Todos os grupos apresentaram capacidade física, peso corporal, glicemia e pressão arterial semelhantes antes do protocolo experimental.

Grupo 1: 20 animais que permaneceram sedentários durante todo o período e não receberam tratamento com Dexametasona (SC, solução salina *i.p.*).

Grupo 2: 23 animais que permaneceram sedentários por todo o período e receberam tratamento com Dexametasona nos últimos 10 dias (SD, 1,0 mg / kg de peso corporal por dia, *i.p.* decadron®).

Grupo 3: 20 animais que foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por 70 dias e não receberam tratamento com Dexametasona (TC, solução salina *i.p.*).

Grupo 4: 24 animais que foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por 70 dias seguido de tratamento com Dexametasona por 10 dias (TD, 1,0 mg / kg de peso corporal por dia, *i.p.* decadron®). Os animais treinados continuaram a treinar durante o período de tratamento medicamentoso.

Grupo 5: 10 animais que permaneceram sedentários durante todo o período e não receberam tratamento com Dexametasona (solução salina *i.p.*) e juntamente com a salina também foram tratados com losartan (50 mg/dia) via gavagem (SCL).

Grupo 6: 10 animais que permaneceram sedentários durante todo o período e receberam tratamento com Dexametasona nos últimos 10 dias (1,0 mg / kg de peso corporal por dia, *i.p.* decadron®) e juntamente com a Dexametasona também foram tratados com losartan (50 mg/dia) via gavagem (SDL).

Grupo 7: 10 animais que foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por 70 dias e não receberam tratamento com Dexametasona (solução salina *i.p.*) e juntamente com a salina também foram tratados com losartan (50 mg/dia) via gavagem (TCL).

Grupo 8: 10 animais que foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por 70 dias e receberam tratamento com Dexametasona nos últimos 10 dias (1,0 mg / kg de peso corporal por dia, *i.p.* decadron®) e juntamente com a Dexametasona também foram tratados com losartan (50 mg/dia) via gavagem (TDL).

Os animais não tratados com Dexametasona receberam placebo (solução salina) pelo mesmo período de tratamento.

A Figura 2 demonstra o protocolo experimental que foi utilizado.

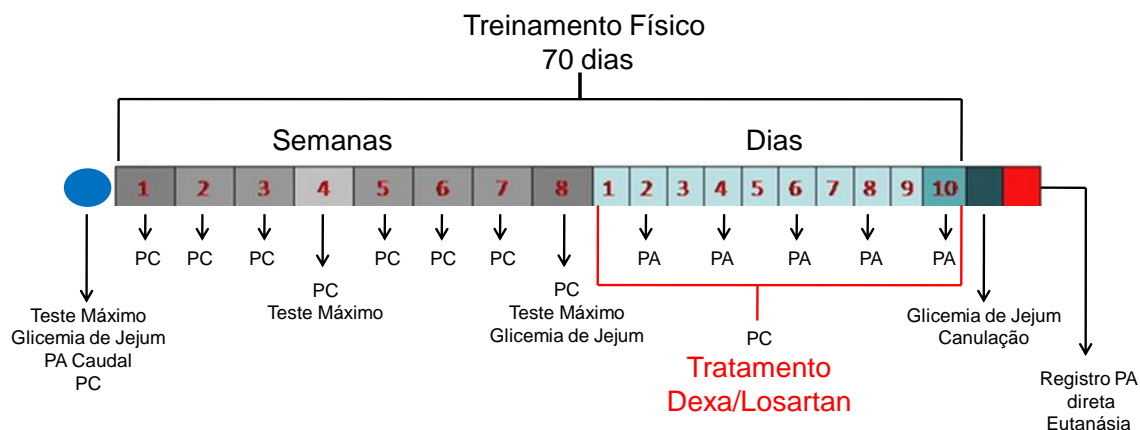


FIGURA 2: linha do tempo do protocolo experimental, peso corporal (PC), pressão caudal (PA).

3.3 Protocolo de treinamento físico

O treinamento físico de intensidade moderada foi realizado em esteira ergométrica durante uma hora por dia, por 70 dias, com intensidade de 50-60% da velocidade máxima atingida no teste de esforço inicial (TEM-1), conforme previamente publicado (BAREL et al, 2010). Foram realizados outros TEM para readequação da carga de treino ao final de 4 semanas (TEM-2) e 8 semanas (TEM-3). Os ratos sedentários realizaram os testes de capacidade máxima no mesmo período em que os treinados e permaneceram sedentários durante o período de treino (somente foram colocados na esteira quinzenalmente para adaptação da mesma).

3.4 Determinação da pressão de cauda

A evolução da pressão de cauda foi observada no período do tratamento com DEX, pelo mesmo investigador, no período da manhã, utilizando o esfigmomanômetro marca Panlab LE5001 (Barcelona, Spain), com os ratos acordados. Os animais foram colocados em uma pequena gaiola de aquecimento (37°) por um tempo de 10 minutos, com restrição de movimentos. A pressão caudal foi considerada como uma média de 10 aferições, sendo descartadas as duas primeiras.

3.5 Tratamento farmacológico

A Dexametasona utilizada foi o DECADRON injetável (fosfato dissódico de Dexametasona - 4mg/ml ampola de 2,5ml) do laboratório farmacêutico Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A..

O losartan utilizado foi preparado pela farmácia de manipulação Específica em Bauru, com uma concentração de 50mg/ml.

3.6 Determinação da pressão arterial

3.6.1 Confeção de cânulas

Os animais foram anestesiados com Tribromo Etanol (2,5g/100ml) 1ml para cada 100g do peso corporal e foi feita uma incisão na perna direita ou no pescoço do animal. Após localizar a artéria femoral ou carótida, foi feita uma pequena incisão no vaso para introduzir a parte mais fina da cânula, a qual foi preenchida com solução fisiológica heparinizada. A outra extremidade da cânula foi exteriorizada na região dorsal do animal. Logo após o procedimento de confecção de cânula foi aplicado de forma cutânea no animal um analgésico (Banani 0,3ml). Foi esperado um período de 24 horas para a recuperação dos animais.

3.6.2 Registro de PA e frequência cardíaca

Após 24 horas da cirurgia de cateterização, a PA foi registrada continuamente nos ratos acordados e com livre movimentação. A cânula da artéria femoral foi conectada ao sistema de registro (transdutor + pré-amplificador, ADInstrumentst®) que foi conectado ao computador utilizando um software LabChartPro. Foi obtida a PA pulsátil. A FC foi computada diretamente pelo software a partir da PA pulsátil.

3.7 Determinação da Glicemia de Jejum

Após 12 horas de jejum e 24 horas após a última sessão de exercício, os animais foram submetidos à avaliação da glicemia de jejum. Foi realizada uma punção, com agulha, na cauda de cada animal permitindo a saída de uma única gota de sangue. A glicemia dos animais foi mensurada com glicosímetro Johnson & Johnson modelo “One-Touch” Ultra como previamente publicado (BAREL et al, 2010 e DIONÍSIO et al, 2014). Esta avaliação da glicemia foi realizada antes e após as 8 semanas iniciais (treinamento físico) bem como antes e após o tratamento com Dexametasona.

3.8 Retirada dos músculos esqueléticos e cardíaco

Após os protocolos experimentais, os animais foram eutanasiados por overdose de anestésico ANASEDAN® (cloridrato de xilasina, 20mg/Kg), CEVA e DOPALEN® (cloridrato de quetamina, 160mg/Kg), VETBRANDS do Brasil (na proporção de 1:1, 1mg/kg de peso corporal). Após a confirmação da eutanásia, o ventrículo esquerdo (VE) e os tecidos musculares sóleo (SOL), tibial anterior (TA) e extensor longo do hálux (FHL) foram removidos, limpos e imediatamente pesados. Os músculos de uma perna foram armazenados a -80°C para análises de proteína e o da outra perna foi acondicionada na solução RNAlater (Applied Biosystems) a -80°C até o momento de extração de RNA.

Estes músculos foram escolhidos pelo fato do VE estar relacionado ao controle da PA, já os músculos SOL e TA são recrutados no exercício em esteira sendo que o primeiro é um músculo de fibras vermelhas (oxidativo) e o segundo de fibras brancas (glicolítico) e o músculo FHL é glicolítico, mas não é muito recrutado no exercício em esteira.

3.8.1 Extração de RNA total

Toda a parte de extração de RNA e expressão gênica foi realizada em colaboração com o Prof. Titular. Carlos Ferreira dos Santos (FOB-USP),

responsável pelo equipamento de PCR (reação em cadeia da polimerase) em tempo real Viiia 7 (Applied Biosystems®, Estados Unidos), adquirido em processo Multiusuário FAPESP (2009/53848-1) em colaboração com nosso grupo.

Para a extração do RNA total foi utilizado o RNeasy mini kit (Qiagen) segundo protocolo do fabricante, contendo colunas e buffers. Brevemente, foi coletado 10mg de amostra dos tecidos musculares que foram homogeneizados com 150uL de solução de lise do kit (Buffer RLT + β -Mercaptoetanol), em seguida foi adicionado 250uL de água livre de RNase e 5uL de proteinase K. As amostras foram para o banho Maria por 10min a 55°C e centrifugadas por 3min a 10000rpm, foi coletado o sobrenadante em um novo eppendorf e álcool absoluto foi adicionado. Feito isso, todo o homogenato foi colocado nas colunas de purificação do kit e centrifugado a temperatura ambiente na velocidade de ≥ 8000 g por 20 segundos. O RNA foi retido nesta coluna, a qual foi lavada por dois tampões específicos (RW1 e RPE) e álcool 80% antes da eluição do RNA em 14uL de água livre de RNase.

3.8.2 Quantificação e qualificação do DNA

Uma vez reconstituído, o RNA total das amostras foi quantificado e qualificado no espectrofotômetro Nanodrop 1000 Thermo Scientific (USA). Foram utilizados 2 μ L de cada amostra para obtenção das leituras nos comprimentos de onda de 260 nm (A260) e 280 nm (A280), os quais forneceram informações sobre a quantidade e qualidade do RNA. Amostras com valores entre 1,9 e 2,1 na relação A260/A280 foram transcritas.

3.8.3 Tratamento do RNA total com DNase e transcrição reversa

Para evitar a possibilidade de contaminação do RNA total extraído por DNA genômico, procedeu-se o tratamento de todas as amostras com 2 μ L DNase (gDNA wipeout - Qiagen, Alemanha) durante 2 minutos a 42°C sendo este procedimento realizado segundo as orientações do fabricante.

Após o tratamento com DNase o RNA total foi imediatamente submetido ao processo de transcrição reversa com o kit Quantitect® Reverse Transcription (Qiagen). Neste RNA tratado com DNase foi adicionado uma mistura de 1 µL dos primers randômicos e oligo dT, 1 µL da transcriptase reversa e 4 µL do tampão Quantscript RT. Esta mistura foi incubada à 42°C por 30 minutos, seguido de outra incubação a 95°C por 3 minutos.

3.8.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) quantitativa

A quantificação relativa dos componentes do SRA foi analisada por meio de reações de PCR em tempo real, utilizando-se o sistema Taqman (Applied Biosystems, Foster City, USA) no aparelho Viia 7 (Applied Biosystems, Foster City, USA). Foram utilizados ensaios da Applied Biosystems, Foster City, USA. Esse sistema realiza as reações de amplificação, detecção de nucleases fluorogênicas e quantificação relativa a um gene de referências (GAPDH) por meio do software Viia 7 Software versão 1.1. Para a reação foram adicionados aos poços da placa de reação de PCR, o DNA complementar sintetizado a partir do RNA mensageiro, o Taqman gene expression master mix (Applied Biosystems, USA) e cada ensaio constante no quadro 1.

A ciclagem térmica consistiu de uma incubação de 2 min a 50°C, seguida de outra incubação de 10 minutos a 95°C e 40 ciclos de 15 s a 95°C e 1 min a 60°C. Para cada reação de volume final = 5 µL, foi utilizado 1 µL da amostra (a 50 ng/µL), 2,5 µL do Taqman gene expression master mix, 0,25 µL dos primers e sondas (ensaio inventariado) e 1,25 µL de água milliQ. Cada amostra foi analisada em duplicata. A eficiência da reação de PCR para todos os alvos foi de 100%. Os dados de expressão do mRNA foram calculados pelos valores do ciclo threshold (Ct) usando o método $\Delta\Delta Ct$ e logo foi utilizado a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$ para calcular a quantificação relativa.

Quadro 1. Números de catálogo para cada PCR inventoriados (Applied Biosystems).

ALVO	Número de catálogo
GAPDH	Rn01775763_gl
AT1a	Rn00578456_ml
AT2	Rn00560677_sl
ECA	Rn00561094_ml
ECA-2	Rn01416293_ml
Receptor do tipo MAS	Rn00562673_sl
Renina	Rn00561847_ml
Angiotensinogênio	Rn00593114_ml

3.8.5 Protocolo de dosagem de proteína

Os tecidos foram homogeneizados com um homogeneizador Polytron em uma solução de RIPA (Cell Signaling Thechnology, Inc) concentrado 10x contendo vários inibidores de protease e adicionado 1% de PMSF e PIC (Coquetel inibidor de protease, Sigma aldrich) na hora de usar. As amostras foram centrifugadas a 10.000rpm por 10 minutos na temperatura de 4 graus com aceleração e desaceleração igual a 7, em seguida o sobrenadante foi coletado e transferido para um novo tubo.

A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford utilizando um kit comercial (Bio-Rad Kit, Laboratories, Inc, Hercules, CA) com albumina (Protein Assay Standard II, Bio-Rad) como padrão, como previamente publicado (AMARAL et al, 2001). Os valores de absorbância foram analisados no leitor de Elisa (BMG Labtech, Spectro Star nano) utilizando uma placa de 96 poços. Após a dosagem as amostras foram estocadas a -20°C até serem utilizadas para os experimentos de Western Blotting.

3.8.6 Procedimentos de *Western Blotting*

As proteínas foram eletroforeticamente separadas por tamanho, usando um sistema de gel de poliacrilamida conforme publicação prévia do laboratório (AMARAL et al., 2001). Basicamente, foi utilizado um gel com duas camadas de poliacrilamida, em diferentes concentrações: 5% na camada superior e de 8 a 12% na camada inferior, dependendo do peso molecular da proteína. A solução tampão de corrida consistiu de: 190 mM de glicina, 25 mM de Tris, 0,1% de SDS, pH 8,3. As amostras foram colocadas para correr por aproximadamente 60 minutos a 200V. Marcadores de peso molecular (Bio-Rad) foram simultaneamente utilizados como tamanho padrão. As proteínas foram transferidas eletroforeticamente para uma membrana de nitrocelulose com aplicação de corrente de 120V por 1 hora e meia em um tampão: 190 mM de glicina, 25 mM de Tris, 20% de metanol, pH 8,3. Logo após a transferência, a equivalência da quantidade de proteína colocada em cada coluna foi conferida com a coloração de *Ponceau* e imediatamente depois as membranas foram lavadas em solução TBS-T (0,95g de Trisma -HCl; 0,50g de Trisma Base; 8,8g de NaCl e 1ml de Tween 20 para um litro de água destilada). Na etapa seguinte foi utilizado o aparelho Snap i.d (Millipore) para incubação das membranas com solução bloqueadora com 5% de albumina diluída em solução TBS-T por 2 minutos e incubadas por 10 minutos com diluição apropriada do anticorpo para renina (Cell Signaling Thechnology, Inc 3 Trask Lane, Danvers), anti-rabbit monoclonal anti-angiotensinogênio (clone EPR 2931, Millipore 290 Concord Rd Billerica), anti-AT1 receptor (Millipore 290 Concord Rd Billerica), anti-AT2 receptor (Millipore 290 Concord Rd Billerica), anti-angiotensina (1-7) anti-Mas receptor (Alomone Labs, Ltd PO Box 4287 Jerusalem 91042, Israel) e rabbit anti-human monoclonal ECA-2 (EPR4435(2)). Logo após, as membranas foram lavadas 3 vezes de 5 ml com solução TBS-T e incubadas com o anticorpo secundário, IgG anti-coelho ou anti mouse, dependendo da origem de cada anticorpo primário, por 10 minutos e depois lavado. O anticorpo foi detectado por luminescência química aumentada (Super signal Pico, Pierce®) e as membranas foram expostas a filme de radiografia. As bandas foram analisadas utilizando um programa de computador (Scion Image, Corporation,

0.4.0.2) a qual foi comparada com o grupo sedentário controle (SC), sendo este considerado como 100%.

3.9 Métodos estatísticos

Todos os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi utilizada a análise de variância de dois caminhos (ANOVA), com um caminho sendo o treinamento e outro o tratamento. Nas análises de comportamento de peso, pressão de cauda e capacidade física máxima foi utilizada a análise de variância de três caminhos (ANOVA). As amostras que apresentaram diferenças significativas foram analisadas pelo post-hoc de Tukey. O nível de significância considerado foi de $\alpha < 0,05$.

4 RESULTADOS

Todos os animais realizaram os três testes de capacidade física máxima (antes, durante e no final) e na Figura 3 pode ser observado o resultado pré e pós treinamento físico. Importante destacar que a capacidade física dos animais de todos os grupos era semelhante no início do treinamento físico na esteira. Os animais treinados melhoraram sua capacidade física de 735 ± 24 seg para 1018 ± 29 seg, enquanto que o grupo sedentário piorou a capacidade física de 737 ± 27 seg para 577 ± 29 seg. Os animais treinados dos grupos que foram tratados com losartan também apresentaram uma melhora na capacidade física de 806 ± 18 seg para 1093 ± 16 seg enquanto que o grupo sedentário piorou a capacidade física de 802 ± 28 seg para 739 ± 29 seg. A análise estatística demonstrou que houve melhora nos animais treinados independente de juntar todos os animais, pôde-se observar que os animais que realizaram treinamento aeróbio tiveram uma melhora significativa de 37,5% da capacidade física (de $758 \pm 18,2$ seg para $1042 \pm 20,8$ seg, $p < 0,05$), enquanto que o grupo sedentário apresentou uma redução de 17% da capacidade física (de $758 \pm 20,5$ seg para $628 \pm 23,8$ seg), portanto o treinamento mostrou ser eficiente na melhora da capacidade física dos animais.

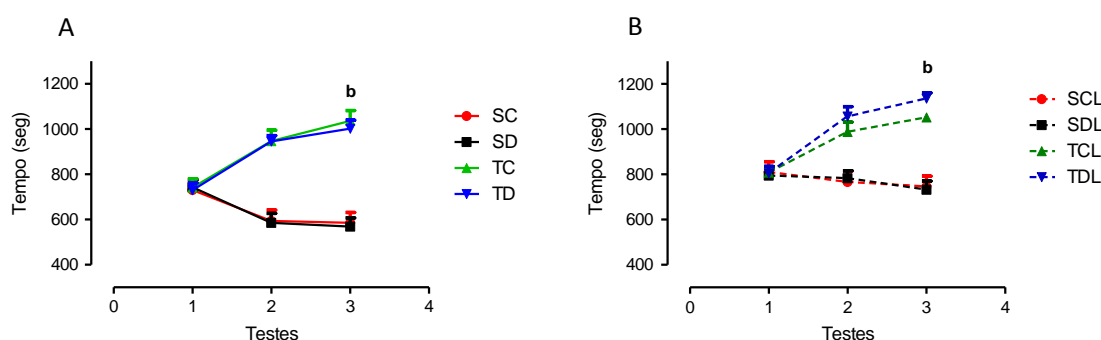


FIGURA 3: Capacidade física dos animais nos testes de esforço máximo em esteira ergométrica no início, meio e fim do protocolo de treinamento. **A:** animais tratados com Dexametasona, Sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=23), treinado controle (TC, n=20) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=23); **B:** animais tratados com Dexametasona e losartan, Sedentário tratado com losartan (SCL, n=10), sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL, n=10), treinado controle tratado com losartan (TCL, n=10) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=10). Análise de variância de 3 caminhos (ANOVA); Significância: b – interação entre treinamento e momento. $p < 0,001$.

A Figura 4 ilustra a peso corporal dos animais antes e após as 8 semanas de treinamento físico e antes e após os 10 dias de tratamento com DEX e/ou losartan. Observa-se que todos os animais ganharam peso durante as 8 semanas de treinamento aeróbio, independente de seu estado de treinamento. Por outro lado, ao final do tratamento com DEX, todos os animais tratados, independente do estado de treinamento perderam significativamente peso corporal. O grupo SD perdeu 21,7% (de $405 \pm 10,2\text{g}$ para $317 \pm 7,7\text{g}$ para SD,) do peso corporal e os animais do grupo TD apresentaram uma perda de 19,7% (de $381,4 \pm 7,8\text{g}$ para $306 \pm 5,8\text{g}$ para TD, do 1º ao 10º dia de tratamento) do peso corporal (Fig. 4A). Da mesma forma, os grupos SDL e TDL apresentaram uma perda de 19,09% e 19,99% do peso corporal, respectivamente (de $405,3 \pm 15\text{g}$ para $327,9 \pm 12\text{g}$ para SDL do 1º ao 10º dia de tratamento e de $383 \pm 13\text{g}$ para $306,5 \pm 13\text{g}$ para TDL do 1º ao 10º dia de tratamento) (Fig. 4B). Os grupos controles mantiveram o peso corporal estável durante estes 10 dias.

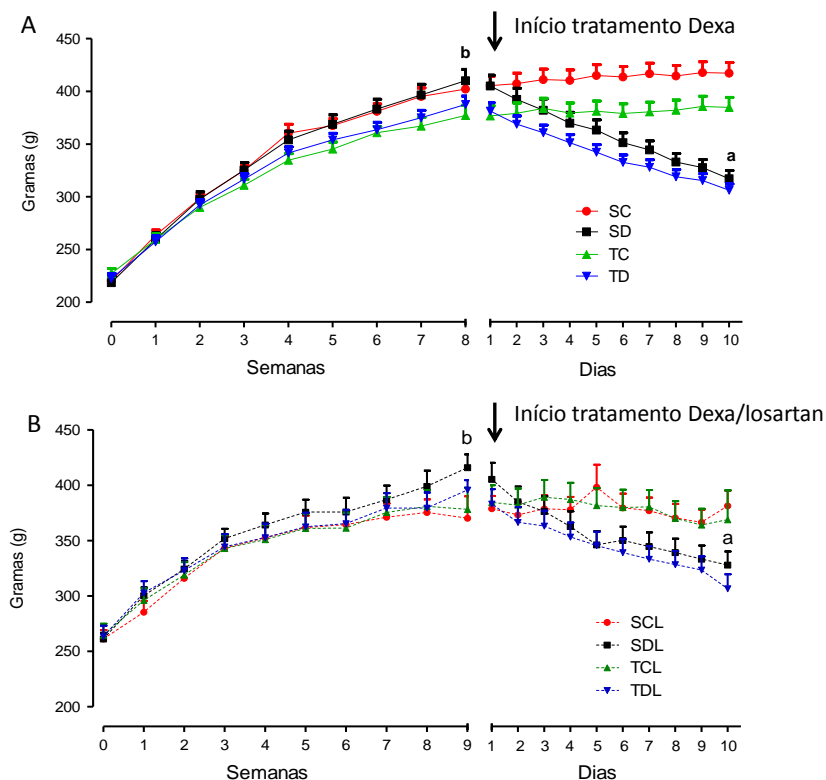


FIGURA 4: Valores de massa corporal durante as 8 semanas de treinamento físico e no período de tratamento com Dexametasona e/ou losartan (10 dias). **A:** animais tratados Dexametasona, sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=23), treinado controle (TC, n=20) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=23); **B:** animais tratados Dexametasona e losartan, sedentário controle losartan (SCL, n=10), sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL, n=10), treinado controle losartan (TCL, n=10) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=10). Análise de variância de 3 caminhos (ANOVA); Significância: a – interação entre tratamento e momento, $p < 0,001$; b – interação entre treinamento e momento, $p < 0,008$.

Quanto a glicemia de jejum dos animais pode-se observar que após o tratamento com DEX houve um aumento de 132% ($181,3 \pm 26\text{mg/dL}$ vs $78 \pm 3\text{mg/dL}$, para SD vs SC, respectivamente $p < 0,001$). Por outro lado, os animais que realizaram treinamento previamente ao tratamento farmacológico tiveram este aumento de glicemia de jejum atenuado (não significativamente), o qual aumentou apenas 60% ($133,3 \pm 13\text{mg/dL}$ vs $83 \pm 3\text{mg/dL}$, para TD vs TC, respectivamente, $p = 0,122$, Figura 5).

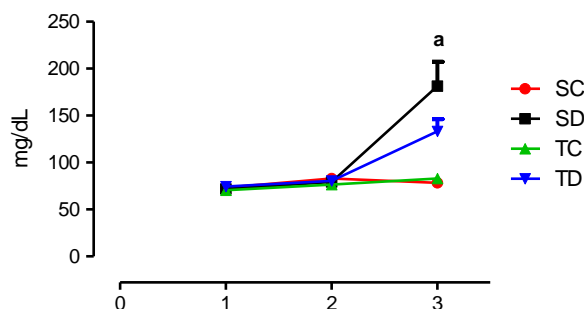


FIGURA 5: Glicemia de jejum dos animais dos grupos sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=11), treinado controle (TC, n=10) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=11). Antes do treinamento (1), depois de 8 semanas de treinamento (2) e depois do tratamento com Dexametasona (3). Análise de variância de 3 caminhos (ANOVA), Significância: a – interação entre tratamento e momento; $p < 0,05$.

A Figura 6 mostra os valores de pressão caudal dos animais que foi aferida antes e durante o tratamento com DEX. Pode-se observar que os animais sedentários e tratados com DEX apresentaram um aumento de pressão caudal de 39,4% quando comparados com o SC (de $122 \pm 3,88$ mmHg para $170 \pm 5,21$ mmHg, $p < 0,001$). Por outro lado, os animais treinados e tratados com DEX apresentaram um menor aumento da PA caudal, de apenas 15% quando comparado com o SC (de $122 \pm 3,88$ mmHg para $140,7 \pm 3,6$ mmHg). Nos animais controle não houve diferença de PA caudal, como pode ser observado na Figura 6.

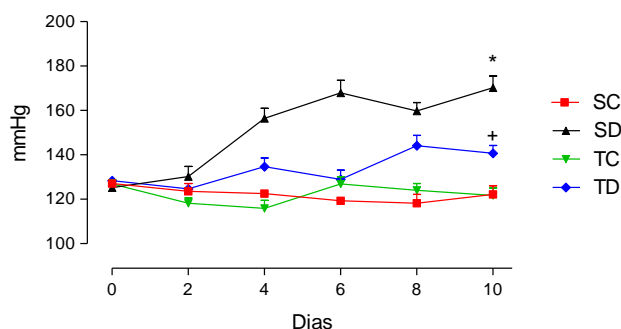


FIGURA 6: Valores basais de pressão caudal antes do treinamento aeróbio (0) e em dias alternados (2, 4, 6, 8 e 10) durante o tratamento. Sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=13), treinado controle (TC, n=10) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=13). Análise de variância de 3 caminhos (ANOVA); Significância: * vs controle; + vs sedentário, $p < 0,05$.

O aumento da PA determinada pela DEX foi comprovado pela medida da pressão direta, na qual se observou aumento de 8% na PAM ($114 \pm 1,4$ mmHg vs $106 \pm 2,7$ mmHg, para SD vs SC, respectivamente) do grupo SD

e aumento de 16% na PAS ($131 \pm 3,5$ mmHg vs $113 \pm 2,6$ mmHg, para SD vs SC, respectivamente). Houve também uma alteração de PAD de 3% que não foi significativa (Fig. 7A). Ao analisar o grupo TD, observou-se que estes animais apresentaram um aumento não significativo de 7% na PAM (114 ± 2 mmHg vs 107 ± 2 mmHg, para TD vs TC, respectivamente) e apresentaram uma atenuação de 7% no aumento da PAS ($131 \pm 3,5$ mmHg vs $122 \pm 1,5$ mmHg, para SD vs TD, respectivamente). Ao analisar a PA direta dos animais tratados com losartan (Fig. 7B) pode-se observar que o grupo SDL teve um aumento de 14,8% na PAS (127 ± 5 mmHg vs 111 ± 3 mmHg, para SDL vs SCL, respectivamente) e 13,9% na PAD (111 ± 4 mmHg vs 97 ± 2 mmHg, para SDL vs SCL, respectivamente) e consequentemente 13,44% na PAM (119 ± 4 mmHg vs 105 ± 2 mmHg, para SDL vs SCL, respectivamente). Por outro lado, os animais que realizaram o treinamento tiveram o aumento da PA induzido pela DEX atenuado, ou seja, houve alteração não significativa de 6% na PAS, 7% na PAD e 5% na PAM.

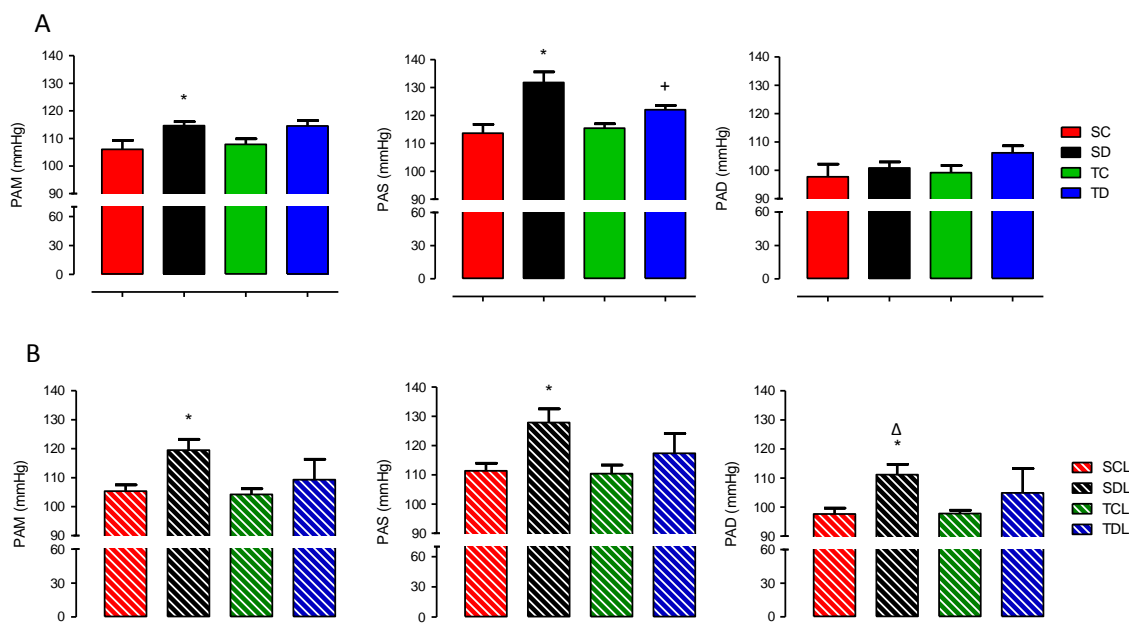


FIGURA 7: Valores basais da pressão arterial, 48 horas após o último dia de tratamento com Dexametasona e/ou Losartan. **A:** animais tratados com Dexametasona, Sedentário controle (SC, n=5), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4). **B:** animais tratados com Dexametasona e losartan, sedentário controle losartan (SCL, n=9), sedentário tratado com Dexametasona losartan (SDL, n=8), treinado controle losartan (TCL, n=9) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=7). Análise de variância de 2 caminhos (ANOVA); Significância: * vs controle; + vs sedentário; Δ losartan vs salina; $p < 0,05$.

Após realizar a eutanásia, os músculos TA, FHL, SOL e VE foram removidos e pesados. Pode-se observar na Tabela 1 que o tratamento com DEX determinou redução de 22,7% na massa muscular do TA dos animais SD ($137,3 \pm 4,5\text{mg/cm}$ vs $177,8 \pm 5,1\text{mg/cm}$, para SD vs SC respectivamente) e de 19,2% nos animais TD ($139 \pm 3,8\text{mg/cm}$ vs $172 \pm 5,24$, para TD vs TC respectivamente). Nos grupos tratados com DEX e losartan também houve redução do peso muscular do TA em 21,26% ($118,86 \pm 3,86\text{mg/cm}$ vs $150,97 \pm 6,16\text{mg/cm}$, para SDL vs SCL, respectivamente) no grupo SDL e 13,24% ($135,9 \pm 5,24\text{mg/cm}$, vs $156,64 \pm 6,13\text{mg/cm}$, para TDL vs TCL, respectivamente) no grupo TDL. No músculo FHL, o grupo SD teve uma redução do peso muscular de 30,45% ($83,8 \pm 2\text{mg/cm}$ vs $120,5 \pm 4\text{mg/cm}$, para SD vs SC respectivamente) e redução de 16,29% ($91,3 \pm 1,4\text{mg/cm}$ vs $109 \pm 8,8\text{mg/cm}$, para SDL vs SCL, respectivamente) no grupo SDL. O grupo TD reduziu 20,32% ($92,6 \pm 2,2\text{mg/cm}$ vs $116,2 \pm 2,8\text{mg/cm}$ para TD vs TC respectivamente) (Tab. 1) do peso muscular, demonstrando que o treinamento aeróbico em esteira não conseguiu atenuar ou prevenir a redução de peso muscular nestes músculos. No entanto, no grupo TDL observou-se redução não significativa de 5,8% ($100,6 \pm 3,5\text{mg/cm}$ vs $106,8 \pm 3,5\text{mg/cm}$, para TDL vs TCL, respectivamente) do músculo FHL, mostrando que o tratamento com losartan e treinamento conseguiram reverter a perda de massa muscular. No músculo VE observou-se um aumento de 10,5% do peso muscular nos animais SDL, no entanto este aumento foi revertido com o treinamento. Por outro lado não houve qualquer efeito do tratamento com DEX ou treinamento nos músculos SOL e VE.

A Tabela 1 também demonstra que a glândula adrenal estava 52,4% atrofiada nos animais sedentários tratados com DEX (SD) e 31% nos animais treinados e tratados com DEX.

TABELA 1: Comparação dos valores de massa muscular e glândula adrenal normalizados pela tibia entre os grupos tratados com Dexametasona e losartan.

	SC	SD	TC	TD	SCL	SDL	TCL	TDL
Tíbia (cm)	4,2±0,03	4,2±0,03	4,2±0,05	4,2±0,05	4,2±0,5	4,3±0,05	4,2±0,03	4,2±0,05
VE (g)	0,87±0,03	0,83±0,03	0,8±0,02	0,8±0,02	0,7±0,02	0,8±0,03*	0,7±0,02	0,7±0,03
VE/PC (mg/g)	2,2±0,04	2,8±0,07*	2,2±0,04	2,7±0,09*	2±0,05	2,5±0,09*	2±0,06	2,4±0,06*
VE/Tíbia (mg/cm)	206±7	199±8	195±5	188±6	161±6Δ	178±7*	165±4	176±6
TA (g)	0,75±0,02	0,57±0,02*	0,7±0,02	0,6±0,01*	0,6±0,02	0,5±0,02*	0,7±0,03*	0,6±0,03
TA/PC (mg/g)	1,9±0,06	1,9±0,06	2±0,06	2±0,07	1,8±0,04	1,6±0,07*	1,9±0,07	1,8±0,05+
TA/Tíbia (mg/cm)	177±5	137±4*	172±5	139±4*	151±6	118±4*Δ	157±6	136±5*
SOL (g)	0,18±0,01	0,17±0,01	0,2±0	0,2±0	0,1±0,01	0,2±0,01	0,2±0,01	0,2±0,01
SOL/PC (mg/g)	0,4±0,01	0,6±0,01*	0,5±0,01+	0,6±0,02*	0,4±0,03	0,5±0,03*	0,5±0,02	0,6±0,02
SOL/Tíbia (mg/cm)	43±2	41±2	43±1	43±2	36±3Δ	38±2	40±1	41±3
FHL (g)	0,51±0,02	0,35±0,01*	0,5±0,01	0,4±0*+	0,5±0,04	0,4±0,01	0,5±0,02	0,4±0,02
FHL/PC (mg/g)	1,2±0,03	1,2±0,03	1,3±0,03	1,3±0,03+	1,3±0,07	1,9±0,05	1,3±0,04	1,4±0,04
FHL/Tíbia (mg/cm)	120±4	84±2*	116±3	92±2*	109±9	91±1*Δ	107±3	101±3
G.A (g)	0,1±0	0,03±0*	0,1±0,02	0,04±0*	-	-	-	-
G.A/PC (mg/g)	0,15±0,01	0,1±0	0,24±0,06+	0,11±0*	-	-	-	-
G.A/Tíbia (mg/cm)	16±1	8±1*	21±5	8±1*	-	-	-	-

Músculo tibial anterior (TA), músculo flexor longo do hálux (FHL), músculo sóleo (SOL), músculo do miocárdio ventrículo esquerdo (VE) e glândula adrenal (G.A). Sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=18), treinado controle (TC, n=20) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=16). Sedentário controle losartan (SCL, n=10), sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL, n=11), treinado controle losartan (TCL, n=10) e treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL, n=9). Significância: * vs controle; + vs sedentário; Δ losartan vs salina; p < 0,05. (-) resultados não existentes.

Com o intuito de confirmar a participação do SRA no aumento da PA induzido pela DEX, foi feita a análise da expressão gênica e produção proteica dos componentes do SRA. Na Figura 8 pode-se observar no VE que os animais que foram tratados com DEX não tiveram nenhuma alteração na expressão gênica quando comparado ao controle para AGT, ECA e receptor AT1. Os animais que apenas treinaram tiveram um aumento de 96% da expressão gênica da ECA e 88,5% no receptor AT1. No entanto, os animais treinados e tratados com DEX tiveram uma redução de 51,8% na expressão do mRNA para ECA e de 49,5% no receptor AT1a (TD vs TC). Nas Figuras 8G,

8H e 8I pode-se observar que nem o treinamento nem o tratamento com DEX não causaram nenhuma alteração nos componentes vasodilatadores do SRA.

A Figura 8 (D, E, F, J, K, L) também ilustra os valores de mRNA dos componentes do SRA no VE dos animais tratados com DEX e losartan. O que se observa é que não houve nenhuma alteração no mRNA dos componentes do SRA quando comparados aos animais tratados com os seus controles, com exceção do receptor MAS que apresentou expressão gênica aumentada após tratamento com DEX e losartan (+46%).

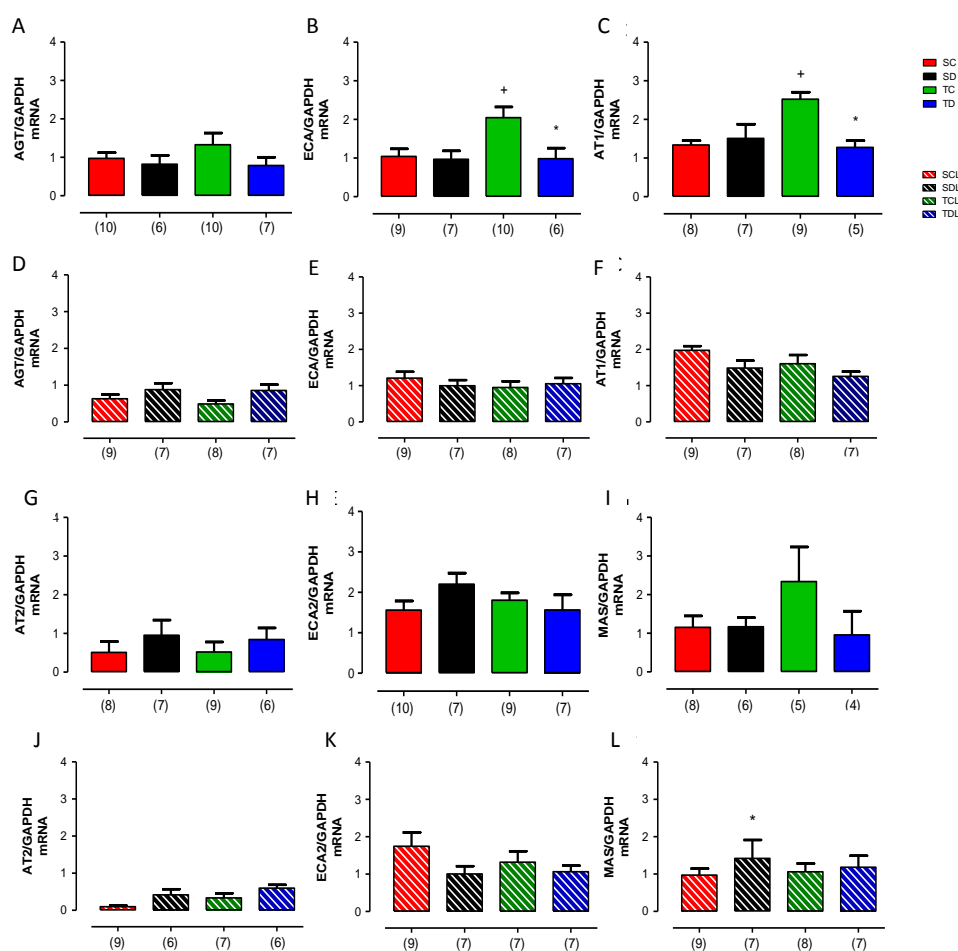


FIGURA 8: mRNA dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina A, B, C, G, H, I em animais tratados com Dexametasona por 10 dias (1mg/Kg/dia) e D, E, F, J, K, L em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia) e losartan (50mg/Kg/dia) por 10 dias normalizado por GAPDH no músculo VE. **A** e **D**= Angiotensinogênio (AGT); **B** e **E**= Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C** e **F**= Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **G** e **J**= Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **H** e **K**= Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **I** e **L**= Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). sedentário controle losartan (SCL); sedentário tratado com Dexametasona e losartan (SDL), treinado controle losartan (TCL), treinado tratado com Dexametasona e losartan (TDL). Análise de variância de 2 caminhos (ANOVA); Significância: * vs controle; p<0,05; entre () valor do n de cada grupo.

A Figura 9 demonstra que o tratamento com DEX não alterou a produção proteica de nenhum dos componentes do SRA no VE nos animais sedentários. No entanto, os grupos TC e TD tiveram um aumento de 31% e 47%, respectivamente, somente na proteína AGT.

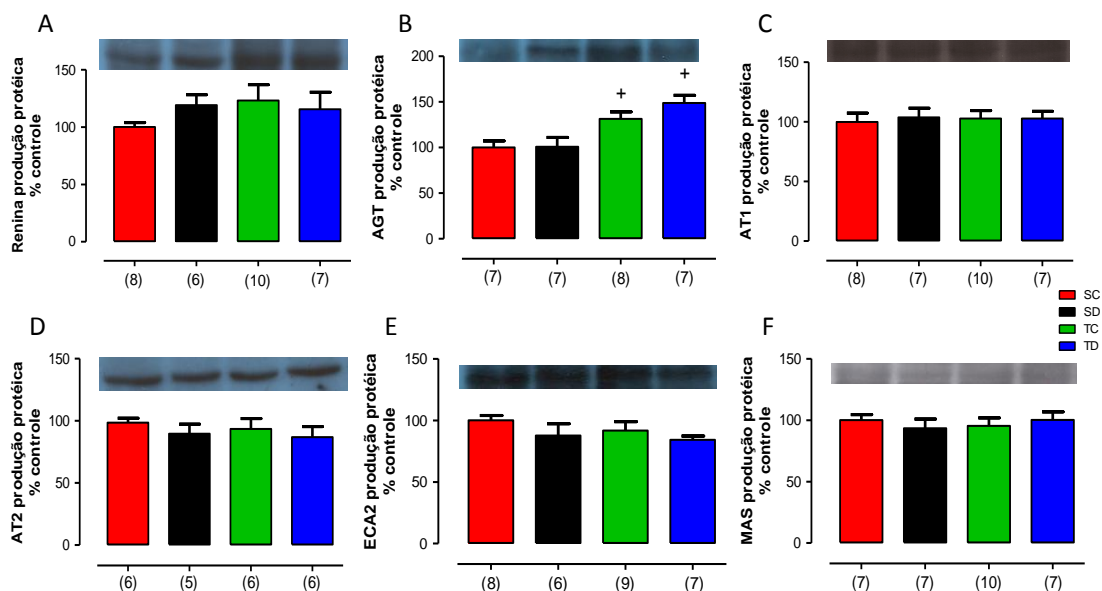


FIGURA 9: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo VE. **A=** Angiotensinogênio (AGT); **B=** Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C=** Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D=** Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E=** Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F=** Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: + vs sedentário $p < 0,05$; entre () valor do n de cada grupo.

No músculo TA a DEX determinou aumento de 270% na expressão do mRNA do receptor AT1 e 175% do receptor MAS, por outro lado o treinamento físico não reverteu o aumento de receptor AT1, porém aumentou a expressão do receptor AT2 (+142%) e do receptor MAS (+78%) (Fig. 10).

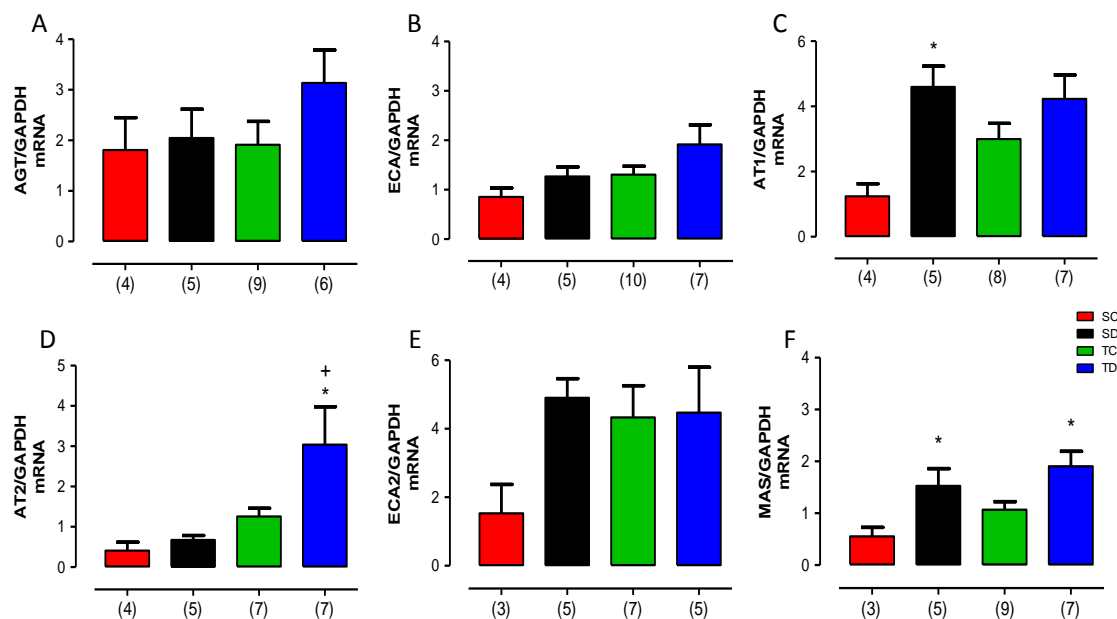


FIGURA 10: mRNA dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona por 10 dias (1mg/Kg/dia) normalizado por GAPDH no músculo TA. **A=** Angiotensinogênio (AGT); **B=** Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C=** Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D=** Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E=** Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F=** Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; p<0,05; entre () valor do n de cada grupo.

Na Figura 11 pode-se observar que a DEX determinou redução de 5% na produção da proteína do receptor AT2 no músculo TA, que não foi revertido pelo treinamento (-13%, TD).

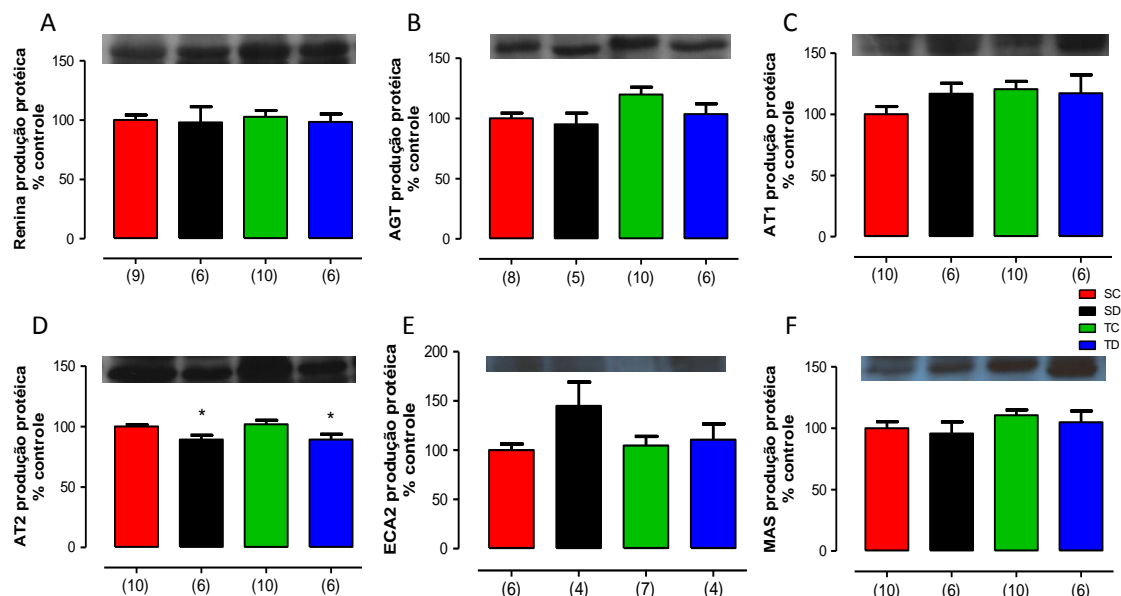


FIGURA 11: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo TA. **A=** Angiotensinogênio (AGT); **B=** Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C=** Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D=** Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E=** Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F=** Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; $p < 0,05$; entre () valor do n de cada grupo.

No músculo SOL houve aumento 87% da expressão gênica de AGT no grupo SD. Os animais treinados tiveram um aumento da expressão de receptor AT1(+32%) e ECA2 (+50%), no entanto o grupo TD também teve um aumento de 155% de AGT, 53% de ECA e 51% de receptor AT1.

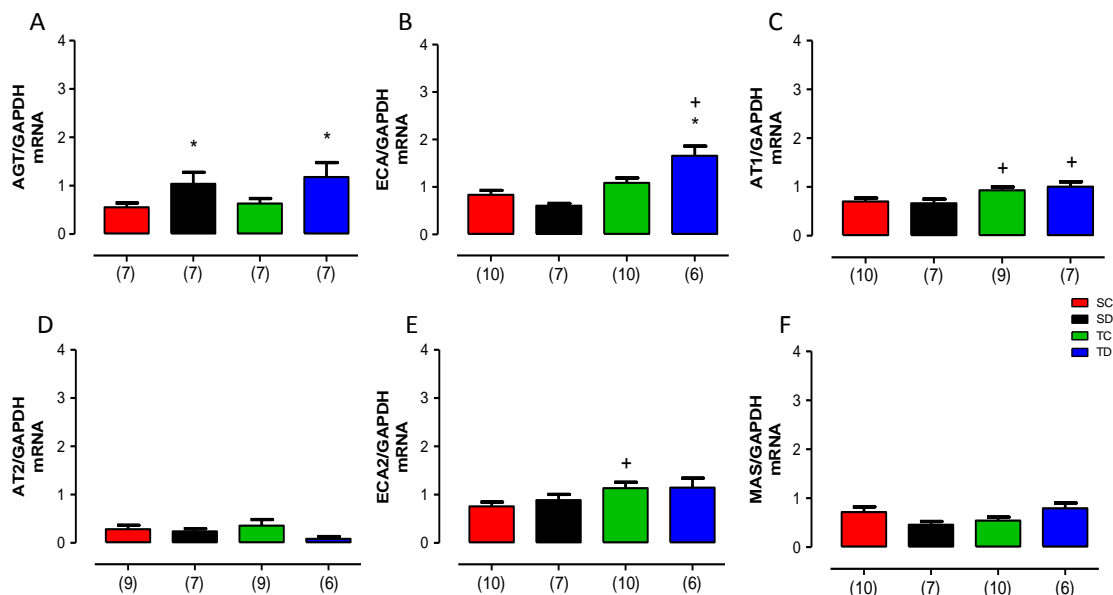


FIGURA 12: mRNA dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona por 10 dias (1mg/Kg/dia) normalizado por GAPDH no músculo SOL. **A=** Angiotensinogênio (AGT); **B=** Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C=** Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D=** Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E=** Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F=** Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; $p < 0,05$; entre () valor do n de cada grupo.

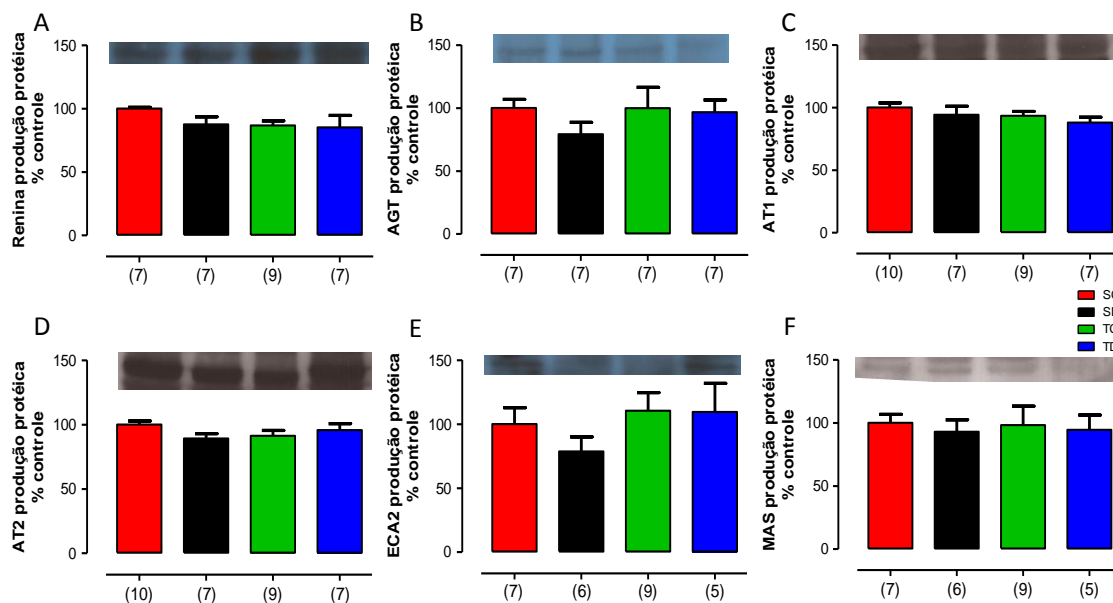


FIGURA 13: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo SOL. **A=** Angiotensinogênio (AGT); **B=** Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C=** Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D=** Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E=** Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F=** Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD).

Quanto a produção proteica no músculo SOL não foi observada nenhuma alteração significativa dos componentes do SRA (Fig. 13).

Foi no músculo FHL em que observamos efeitos mais significativos da DEX, pois ela determinou redução do receptor AT2 (-20%), ECA2 (-33%) e receptor MAS (-36%), apesar de que o treinamento também causou redução da ECA2 (-16%) e receptor MAS (-27%). Os animais treinados e tratados com DEX tiveram um aumento dos níveis de proteína ECA2 (+47%) no FHL quando comparado com o SD.

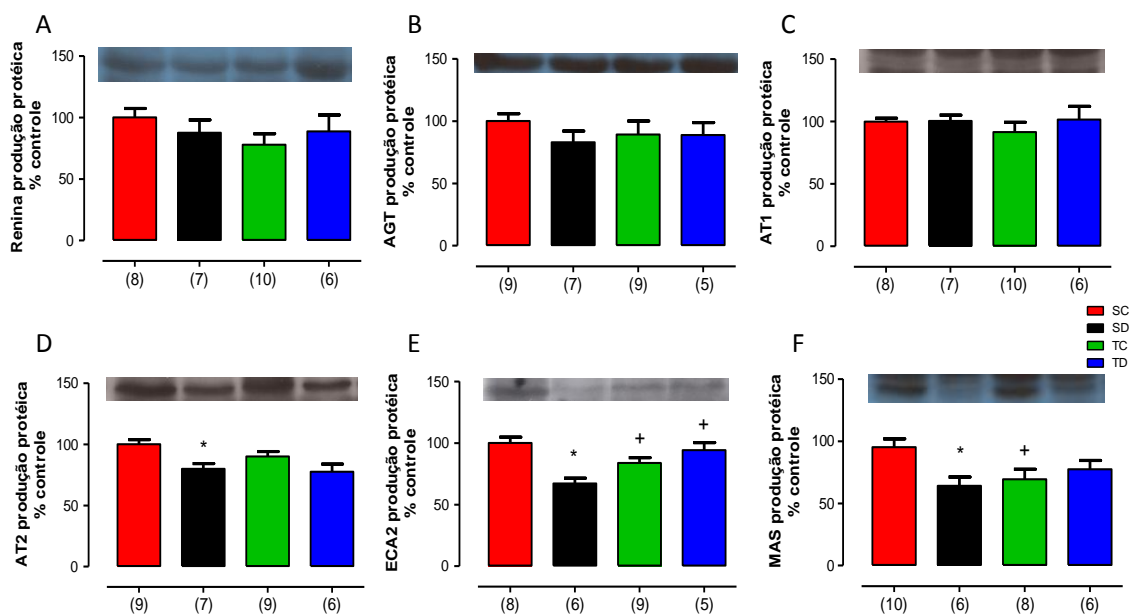


FIGURA 14: Valores das análises quantitativas da produção das proteínas dos componentes do Sistema Renina-Angiotensina em animais tratados com Dexametasona (1mg/Kg/dia), utilizando a técnica de Western Blotting no músculo FHL. **A=** Angiotensinogênio (AGT); **B=** Enzima Conversora de Angiotensina (ECA); **C=** Receptor tipo 1 de angiotensinall (AT1a); **D=** Receptor tipo 2 de Angiotensinall (AT2); **E=** Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2); **F=** Receptor de angiotensinal (1-7) (MAS). Grupos: sedentário controle (SC); sedentário tratado com Dexametasona (SD), treinado controle (TC), treinado tratado com Dexametasona (TD). Significância: * vs controle; + vs sedentário; p<0,05; entre () valor do n de cada grupo.

5 DISCUSSÃO

Os principais resultados encontrados neste presente estudo foram que o tratamento crônico com DEX determinou aumento da PA acompanhado de aumento da glicemia de jejum e que o pré-condicionamento físico aeróbio contínuo na esteira foi efetivo em atenuar estas respostas. A pequena, mas não significativa atenuação da PA observada nos animais tratados com DEX e losartan, associada por isoladas alterações das expressões gênicas e proteicas dos componentes do SRA sugerem que o SRA tem pouca participação na hipertensão induzida pelo tratamento crônico com a DEX.

A DEX é amplamente utilizada na clínica como antialérgico, anti-inflamatório, no tratamento de asma, bronquite, enxerto e recentemente como fármaco anti-emético pós-cirúrgico e proteção contra delírios pós cirurgia cardíaca (HENCH et al., 1949; WARD et al., 1951; PANDA et al., 2004; MADAN et al., 2005; SHIH e JACKSON, 2007; CARDOSO et al., 2013; MARDANI E BIGDELIAN, 2013) no entanto, o seu uso crônico determina alguns efeitos colaterais como hiperglicemia (RHEE et al., 2004; RAFACHO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008; GIOZZET et al., 2008, BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al, 2014), perda de peso corporal (TONOLO et al., 1988; MONDO et al., 2006; BECHTOLD et al., 2008; BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al, 2014), atrofia muscular (SEVERINO et al., 2002; MA et al., 2003; GILSON et al., 2007; ZHAO et al., 2009; BAREL et al., 2010 e MARTUSCELLI et al., 2011, DIONÍSIO et al, 2014) e aumento da pressão arterial (SUZUKI, et al., 1982; DODIC et al., 1999; DODIC et al., 2006; MONDO et al., 2006).

Na presente investigação, a administração de DEX por 10 dias promoveu um aumento de 132% na glicemia de jejum dos animais, o que corrobora com os achados na literatura (RHEE et al., 2004; RAFACHO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008; GIOZZET et al., 2008, BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al, 2014). Já está bem estabelecido que a hiperglicemia ocorra devido a um reajuste metabólico, o qual aumenta a oferta de glicose no sangue (SAAD, 1994) e reduz a translocação do GLUT4 para a membrana (NICASTRO et al., 2012), efeito este que pode ser obtido por alterações nas proteínas responsáveis por captar glicose, tanto em vias dependentes como

independentes de insulina (DIONÍSIO et al, 2014 e dados do laboratório ainda não publicados), que vão culminar no desenvolvimento de uma resistência periférica à insulina (WEISTEIN et al., 1995; RAFACHO et al., 2007; SANTOS et al., 2007; GIOZZET et al., 2008; DIONISIO et al, 2014). Por outro lado, os animais tratados que realizaram treinamento aeróbio prévio apresentaram um menor aumento da glicemia de jejum, quando comparados com seus controles treinados (+60%, $p > 0,05$), concordando com os achados de Barel et al. (2010) e Dionísio et al. (2014). Portanto, o treinamento foi eficiente em atenuar o aumento de glicose causado pela DEX. Tem sido demonstrado que o exercício físico aumenta a expressão de proteínas responsáveis pela captação de glicose independente de insulina, tais como AMPk e CaMKII (JENSEN e GOODYEAR et al., 2005), que poderiam estar contribuindo de forma significativa para a facilitação de translocação de GLUT4 para a membrana (NICASTRO et al., 2012) e conseqüentemente para a atenuação de hiperglicemia induzida pela DEX. Recentemente observamos em nosso laboratório que o treinamento físico aeróbio previne a redução das proteínas p-AMPK α 2, AMPK e CaMK II (dados ainda não publicados) e de IRS-1 e AKT (DIONÍSIO et al, 2014) envolvidas na translocação de GLUT4 na musculatura esquelética.

Outro efeito colateral comumente observado após tratamento crônico com DEX e confirmado nesta presente investigação foi a redução do peso corporal. Os animais tratados com DEX tiveram 21,7% do seu peso corporal reduzido, no entanto o treinamento aeróbio não foi eficiente em prevenir e/ou atenuar essa perda, pois os animais treinados e tratados tiveram uma perda de peso corporal (19,7%) similar aos sedentários. Esta resposta insuficiente do treinamento físico já havia sido observada anteriormente, tanto quando o treino era realizado prévia e concomitante (BAREL et al., 2010 e DIONISIO et al., 2014) quanto simultaneamente ao tratamento (AHTIKOSKI et al., 2004; PINHEIRO et al., 2009) ou mesmo quando o tipo de exercício era resistido (NICASTRO et al., 2012; MACEDO et al, 2013). A perda de peso pode ser explicada por redução generalizada de peso muscular nos animais tratados (GILSON et al., 2007) ou por redução na ingestão alimentar (SANTOS et al., 2007; NICASTRO et al., 2012; MACEDO et al., 2013;), que pode ser

controlada pela alteração na liberação de leptina e grelina (TULIPANO et al., 2007; JHANG et al., 2008), hormônios que controlam a fome e a saciedade, respectivamente. Os resultados do presente trabalho ainda mostram que o bloqueio dos receptores AT1 não impediu a redução de peso corporal nos animais tratados com DEX.

Esta redução de peso corporal é quase sempre acompanhada por redução expressiva no peso muscular. Como mostrado no presente trabalho, houve redução de 22,7% do peso muscular do TA e 30,4% no músculo FHL, mas não houve alteração dos músculos SOL e VE. Estas respostas se respaldam na premissa de que a DEX atua preferencialmente em músculos de fibras brancas como é o caso do músculo TA e FHL (FALDUTO et al., 1990, NAVA et al., 1996). O tratamento com losartan não impediu a redução de peso muscular observada após tratamento com DEX. No entanto, os resultados mostram que a redução de peso muscular induzida pela DEX foi menor nos animais previamente tratados com losartan quando comparados com os que não foram tratados com losartan, principalmente para o músculo FHL (-22,7% e -30,45%, para TA e FHL sem losartan e -21,26% e -16,29% para os com losartan).

Esta menor perda muscular nos animais tratados com DEX e losartan pode ser devido ao bloqueio do receptor AT1, que, quando estimulado pela Ang II, ativa uma série de fatores que podem levar a estimulação de citocinas pro-inflamatórias como o TNF- α , IL-1 e IL-6 (HILGERS et al., 2000; GARCIA, 2010; CAPETTINI et al., 2012; YOSHIDA et al., 2013), as quais por sua vez podem ativar a atrogina e a MuRF-1 que são proteínas atroficas (SEENE et al., 2003; ACHARYYA et al., 2004; DEKELBAB et al., 2007). Portanto, ao bloquear a ação da AngII, o estímulo atrofico pode ter sido reduzido. No entanto, mais estudos são necessários para maior entendimento desta prevenção da redução do peso muscular no FHL e nos outros músculos não avaliados no presente estudo.

O principal objetivo do presente trabalho era investigar se o pré-condicionamento físico poderia atenuar o aumento de PA induzido pelo tratamento crônico com DEX. Quando os animais foram tratados com a dose de 1mg/Kg por dia de DEX, pode-se observar o aumento persistente de PA,

confirmando os achados anteriores do laboratório (apresentados em forma de resumo, ainda não publicados).

O aumento da PA é um importante efeito colateral observado tanto em humanos quanto em animais tratados com DEX (SUZUKI, et al., 1982; DODIC et al., 1999; DODIC et al., 2006; MONDO et al., 2006; ROY et al, 2009; BAREL, 2010; AMARAL et al., 2010; ONG et al., 2013) e alguns autores têm sugerido que este aumento de PA induzido pela DEX seja determinado por alterações genéticas, uma vez que seus efeitos são observados também em gerações subsequentes (DODIC et al., 1999; WYRWOLL et al., 2007; BECHTOLD et al., 2008; ROGHAI et al., 2008). Os resultados do presente estudo mostram que 10 dias de tratamento com DEX são efetivos para aumentar significativamente os valores de PA em cerca de 18 mmHg. O que corrobora com Ong et al. (2013), que demonstraram que até mesmo baixas doses (10ug/rato/dia) dessa droga pode causar aumento significativo da PAS no 10º dia de tratamento.

Vários têm sido os mecanismos sugeridos para contribuir no aumento de PA induzido pela DEX, no entanto, os resultados não são conclusivos. Dentre os vários mecanismos citados, estão a redução do NO, aumento do estresse oxidativo e a redução do fator atrial natriurético (TONOLO et al., 1988; WALLERATH et al., 1999; GUARINO et al., 2001; ZHANG et al., 2004; MONDO et al., 2006; ONG et al., 2008). A ativação do SRA também tem sido implicada como determinante no aumento de PA induzido pela DEX, uma vez que Suzuki et al. (1982) observaram que o tratamento prévio com SQ14225 (inibidor da ECA) atenuava o aumento da PA induzido pelo tratamento de 7 dias com DEX (2mg/L na água). Da mesma forma, Roy et al. (2009) mostraram que os animais tratados com 35ug/100g de DEX oralmente por 15 dias apresentaram aumento de PA atenuado quando os animais foram tratados com losartan, sugerindo que o SRA seja um dos mecanismos responsáveis por este aumento da PA.

Um dos primeiros objetivos da presente investigação era determinar se o aumento da PA induzido pela DEX envolvia a participação do SRA. Neste sentido foram analisadas as expressões gênicas e níveis proteicos dos componentes do SRA: Renina, AGT, AT1, AT2, ECA, ECA-2 e MAS na musculatura cardíaca e esquelética após 10 dias de tratamento com DEX. Os

resultados do presente estudo revelaram que o tratamento crônico com DEX não promoveu nenhuma alteração significativa na expressão gênica dos componentes do SRA no miocárdio dos animais. No entanto, na musculatura esquelética observamos que a DEX determinou aumento da expressão gênica do receptor AT1 e MAS no TA e aumento de AGT no SOL. A expressão gênica é o primeiro sinal para formação da proteína, a qual é controlada por outras sequências de DNA (a partir de um estímulo) que ativam o gene, informando o momento no qual se deve expressar e em que intensidade (FARAH, 2007). Para ter certeza se esses componentes estavam sendo transcritos em proteína, foi feita a quantificação proteica pela técnica de western blotting que nos proporcionou um resultado diferente do que estava sendo mostrado no PCR em tempo real. Os resultados do presente estudo nos revelaram que a DEX não alterou os componentes do SRA no VE e SOL, porém reduziu o receptor AT2 no músculo TA e FHL, além de reduzir ECA2 e receptor MAS no FHL. Essa maior quantidade de respostas proteicas nos músculos de fibra branca (TA e FHL) pode ser pelo fato da DEX agir preferencialmente em músculos de fibra branca (FALDUTO et al., 1990, NAVA et al., 1996).

Trabalhos em cultura de células têm mostrado que a DEX causa aumento na expressão do mRNA da ECA e do AT1 e que dependendo da dose e do tempo haveria maior ou menor expressão destes mRNAs (SATO et al., 1993; SHELAT et al., 1999; BARRETO-CHAVES et al., 2001). Concordando com uma maior ativação do SRA, Hackenthal e Klett (1993) e Aubert et al. (1997) mostraram aumentos de AGT após tratamento com DEX em cultura de células. Masuzaki et al. (2003) demonstraram em camundongos transgênicos com super expressão de 11 β -HSD1 no tecido adiposo (enzima responsável pela redução de cortisona em cortisol), aumento significativo de PA que foi reduzida após tratamento com um antagonista do AT1 (GAo113). Nestes animais, estes autores observaram aumento de AGT, AngII, renina e aldosterona no plasma, aumento de AGT nos adipócitos do mesentério e nenhuma alteração no rim, aorta e fígado. Até o presente momento não existe na literatura trabalhos demonstrando os efeitos da DEX nos componentes do SRA na musculatura esquelética. Em conjunto com os achados do presente estudo, estes resultados sugerem que os efeitos da DEX sobre o SRA ainda

não estão totalmente elucidados e as respostas podem ser diferentes dependendo do tecido avaliado, da dosagem e forma de administração da droga.

Uma vez que os resultados do presente trabalho sugerem que o SRA não esteja sendo o principal componente responsável pelo aumento da PA neste modelo estudado (dosagem, via de administração da droga), é possível pensar em outras hipóteses, ou seja, talvez a DEX esteja agindo sobre receptores mineralocorticoides, como demonstrado por outros autores (KROZOWSKI e FUNDER, 1983; ARRIZA et al., 1987; RAFIQ et al., 2011). Esta ação da DEX nos receptores de mineralocorticoides, apesar de alguns autores sugerem que seja desprezível, poderia aumentar a ação da aldosterona e conseqüentemente aumentar a PA. Neste sentido, Mihailidou et al. (2009) mostraram que o tratamento de ratos infartados com DEX determinou aumento da isquemia no coração, no entanto, quando o receptor de mineralocorticoide foi bloqueado, este aumento da isquemia foi prevenido, o que não ocorreu quando o receptor de glicocorticoide foi bloqueado. Tem sido mostrado também que a maior liberação de aldosterona no organismo devido a um adenoma pode causar aumentos da PA, aumento este controlado quando administrado o antagonista de aldosterona (PAPPA et al., 2012). Outro mecanismo que pode estar contribuindo para o aumento da PA é a vasopressina (IIJIMA e MALIK, 1988; MURASAWA et al., 1995). Murasawa et al. (1995) mostraram que os animais quando tratados com Dexametasona apresentam um aumento na expressão gênica do receptor de vasopressina V1 no músculo liso da aorta. No entanto, quando foi administrado bloqueador ganglionar (hexametônio) e inibidor da ECA (MK 421) a PA dos animais tratados com DEX foi reduzida, assim como dos animais que receberam veículo. Por outro lado, quando estes animais receberam o antagonista do receptor de vasopressina v1 (d(CH₂)⁵Tyr(Me)AVP) apenas os animais tratados com DEX tiveram a PA reduzida.

Os resultados do presente estudo revelaram que o exercício físico aeróbio, realizado previamente ao tratamento com a DEX, foi eficiente em atenuar o aumento da PA nos animais tratados, o que concorda com os achados prévios de nosso laboratório. Os animais treinados que receberam o

tratamento tiveram uma resposta de aumento de PA 40% menor que os sedentários, demonstrando claramente a resposta benéfica do exercício físico para atenuar este efeito colateral da DEX.

O segundo objetivo da presente investigação era determinar se a redução de PA induzida pelo pré-condicionamento aeróbio estava associada com a alteração dos componentes do SRA. Os animais treinados que receberam o tratamento com DEX apresentaram redução significativa da expressão gênica de ECA e AT1 quando comparado com os treinados controles (no músculo VE), no entanto a expressão destes componentes não foi diferente daquela observada nos animais sedentários tratados. Por outro lado, no músculo TA os animais tratados e treinados tiveram aumento do mRNA do receptor AT2 e MAS que não foram transcritos em proteína. Este resultado mostra que o treinamento aeróbio não conseguiu reverter a redução do receptor AT2 determinado pela DEX. No músculo SOL observamos que apenas o treinamento aumentou as quantidades de mRNA do receptor AT1 e ECA2. Quando tratado com a DEX também houve aumento do mRNA do receptor AT1, AGT e ECA, no entanto, esses componentes não foram transcritos em proteína. O treinamento determinou redução proteica da ECA2 e do receptor MAS no músculo FHL. Por outro lado o exercício aeróbio foi eficiente em reverter a queda e aumentar a quantidade da ECA2 no grupo TD neste músculo. Apesar do exercício aeróbio ser eficiente em aumentar os níveis proteicos da ECA2, foi apenas em um músculo. Assim, sugere-se que a redução da PA, causada pelo exercício físico, não parece ser devido a alterações no SRA.

O exercício físico aeróbio de baixa intensidade vem sendo amplamente recomendado pelas sociedades de hipertensão como coadjuvante no tratamento de hipertensão, principalmente por apresentar efeitos tanto agudos quanto crônicos na PA (ACSM, 2004, VI DBH, 2010 e MANCIA et al., 2013). Vários são os mecanismos sugeridos para a redução de PA, entre eles a redução da resistência vascular periférica local, por meio de redução da razão parede-luz de arteríolas da musculatura esquelética (AMARAL et al., 2000; AMARAL et al., 2001; MELO et al., 2003; AMARAL et al., 2011; MAIORANA et al., 2011; ROSSONI et al., 2011), aumento da biodisponibilidade de NO

(BARBOSA et al., 2013; Cocks et al., 2013; FARAH et al., 2013), redução da atividade nervosa simpática (LATERZA et al., 2007; CAVALCANTI et al., 2009; MARTINEZ et al., 2011; ANTUNES-CORREA et al., 2010), melhora do controle barorreflexo (BRUM et al., 2000; LATERZA et al., 2007; MOUSA et al., 2008; MARTINEZ et al., 2011). Em relação ao SRA, alguns autores têm demonstrado que o treinamento físico pode trazer alguns efeitos benéficos. Fernandes et al. (2011) demonstraram redução das quantidades da proteína ECA e AGT, aumento da ECA2, AT2 e AT1 após treinamento em natação com ratos normotensos, alterações estas relacionadas com a hipertrofia cardíaca causada pelo exercício, no entanto, estes autores observaram aumento na quantidade de ECA e de renina no soro. Um treinamento de natação realizado em ratos obesos determinou redução da atividade da ECA, redução nas quantidades de Ang II e AT2, e aumento de ECA2 no VE (BARRETTI et al., 2012). Da mesma forma, Guimarães et al. (2012) demonstraram que camundongos que treinaram natação tiveram um aumento de Ang (1-7) no sangue e no VE. Concordando com estes resultados, os animais controles do presente estudo, que realizaram treinamento aeróbio, apresentaram aumento na expressão de mRNA da ECA e do receptor AT1 em relação ao grupo sedentário, e acredita-se que este aumento possa facilitar uma resposta de angiogênese, uma vez que sua PA não foi alterada. A relação entre SRA, exercício físico, VEGF e angiogênese vem sendo confirmada por vários autores, uma vez que o bloqueio dos receptores AT1 ou da ECA impede a angiogênese induzida por exercício (PAPANEK et al., 1996; CHUA et al., 1998; AMARAL et al., 2008; JI et al., 2012; NAPOLEONE et al., 2012). Interessante observar que os animais treinados que receberam a DEX apresentaram redução dos receptores AT1 e ECA quando comparados aos controles, o que concorda com os achados de Barel et al., (2010) pois estes autores observaram que a DEX reduzia a produção proteica de VEGF no miocárdio e o treinamento prévio não atenuava esta redução. No entanto, nenhum dos trabalhos que investigaram o SRA utilizaram o modelo de hipertensão com DEX.

Por fim, o último objetivo era verificar se o losartan (bloqueador do receptor AT1) inibia o aumento de pressão arterial desencadeado pela DEX.

Os resultados revelaram que a PA não foi atenuada pelo tratamento crônico com losartan, sugerindo assim que o aumento de PA não envolva a ação da Ang II no seu receptor AT1. Mais estudos são necessários para se avaliar se a dose de losartan usada neste trabalho foi insuficiente para a redução significativa de PA. Frente aos resultados de expressão gênica e produção proteica dos componentes do SRA após tratamento crônico com DEX, parece mesmo que o aumento de PA observado nos animais seja mediado uma pequena parte pela redução dos componentes vasodilatadores do SRA nos músculos esqueléticos (TA e FHL) e uma grande parte por outros mecanismos não avaliados no presente estudo. No entanto, a atenuação do aumento da PA pelo exercício aeróbio em esteira parece não envolver uma participação do SRA, além pelo fato dele aumentar a ECA2 em apenas um músculo, o que não contribui o suficiente para reduzir a PA do animal.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que o SRA não seja o principal mecanismo envolvido no aumento da PA neste modelo de hipertensão induzida pela DEX.

7 REFERÊNCIAS

ACHARYYA, S. LADNER, K.J.; NELSEN, L.L.; DAMRAUER, J.; REISER, P.J.; SWOAP, S. Cancer cachexia is regulated by selective targeting of skeletal muscle gene products. **J Clin Invest**, v.114, p.370-378, 2004.

AIRES, M.M et al. Fisiologia. 3ª Ed.; Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2008.

AGARWAL, D.; HAQUE, M.; SRIRAMULA, S.; MARIAPPAN, N.; PARIAUT, R. AND FRANCIS, J. Role of proinflammatory cytokines and redox homeostasis in exercise-induced delayed progression of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 54, n. 6, p.1393-1400, 2009.

AHTIKOSKI, A.M; RISO, E.M; KOSKINEN, S.O.A; RISTELI, J; TAKALA, T.E.S. Regulation of type IV collagen gene expression and degradation in fast and slow muscles during Dexamethasone treatment and exercise. **Eur J Physiol**, v. 448, n. 1 p. 123-130, 2004.

ALMEIDA, A.P.; FRÁBREGAS, B.C.; MADUREIRA, M.M.; SANTOS, R.J.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; SANTOS, R.A. Angiotensin-(1-7) potentiates the coronary vasodilatory effect of bradykinin in the isolated rat heart. **Braz J Med Biol Res**, v. 33, n. 6, p. 709-713, 2000.

AL-THANOON, Z.A.; MAHMOOD, I.H. Effects of losartan vs. enalapril on the markers of metabolic syndrome. **Oman Medical Journal**, v. 27, n. 1, p. 27-30, 2012.

AMARAL, S.L.; MICHELINI, L.C. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Braz J Med Biol Res**, v. 44, n.9, p. 814-826, 2011.

AMARAL, S.L.; SANCHEZ, L.S.; CHANG, A.J.; ROSSONI, L.V.; MICHELINI, L.C. Time course of training induced microcirculatory changes and of vegf expression in skeletal muscles of spontaneously hypertensive female rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 41, n.5, p. 424-31, 2008.

AMARAL, S.L.; LINDERMAN, J.R.; MORSE, M.M.; GREENE, A.S. Angiogenesis induced by electrical stimulation is mediated by angiotensin II and VEGF. **Microcirculation**, v. 8, n.1, p. 57-67, 2001 (b).

AMARAL, S.L.; PAPANEEK, P.E.; GREENE, A.S. Angiotensin II and VEGF are involved in angiogenesis induced by short-term exercise training. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 281, n. 3, p. H1163 – H1169, 2001(a).

AMARAL, S.L.; ROMAN, R.J.; GREENE, A.S. Renin gene transfer restores angiogenesis and vascular endothelial growth factor expression in Dahl S rats. **Hypertension**, v. 37, p. 386-390, 2001 (c).

AMARAL, S.L.; ZORN, T.M.T.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in

spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, v. 18, n. 11, p. 1563-1572, 2000.

American College Of Sports Medicine. Pesquisas do ACSM para a fisiologia do exercício clínico. **Ed. Guanabara**, 2004.

ANDERSEN, K.; WEINBERGER, M.H.; CONSTANCE, C.M.; ALI, M.A.; JIN, J.; PRESCOTT, M.F.; KEEFE, D.L. Comparative effects of aliskiren-based and ramipril-based therapy on the renin system during long-term (6 months) treatment and withdrawal in patients with hypertension. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 10, n. 3, p. 157-67, 2009.

ANDREATTA, S.H.; AVERILL, D.B.; SANTOS, R.A.; FERRARIO, C.M. The ventrolateral medulla. A new site of action of the renin-angiotensin system, **Hypertension**, v. 11, n. (2 Pt. 2), p. 163– 166, 1988.

ANTI, S.M.A; GIORGI, R.D.N; CHAHADE, W.H. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticoides. **Einstein**, v.6 (Supl1), p. S159-S65, 2008.

ANTUNES-CORREA, L.M.; MELO, R.C.; NOBRE, T.S.; UENO, L.M.; FRANCO, F.G.; BRAGA, A.M.; RONDON, M.U.; BRUM, P.C.; BARRETTO, A.C.; MIDDLEKAUFF, H.R.; NEGRAO, C.E. Impact of gender on benefits of exercise training on sympathetic nerve activity and muscle blood flow in heart failure. **European Journal of Heart Failure**, v. 12, n.1, p. 58–65, 2010.

ARRIZA, J.L.; WEINBERGER, C.; CERELLI, G.; GLASER, T.M.; HANDELIN, B.L.; HOUSMAN, D.E.; EVANS, R.M. Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. **Science**, v. 17, n. 237, p.268-75, 1987.

AUBERT, J.; DARIMONT, C.; SAFONOVA, I.; AILHAUD, G.; NEGREL, R. Regulation by glucocorticoids of angiotensinogen gene expression and secretion in adipose cells. **Biochem J**, v. 328, p. 701±706, 1997.

BADER, M.; PETERS, J.; BALTATU, O.; MÜLLER, D.N.; LUFT, F.C.; GANTEN, D. Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research. **J Mol Med (Berl)**, v. 79, n.(2-3), p. 76-102, 2001.

BALTATU, O.; SILVA, J.A. JR.; GANTEN, D.; BADER, M. The brain renin-angiotensin system modulates angiotensin II–induced hypertension and cardiac hypertrophy. **Hypertension**, v. 35 (1 Pt 2), p. 409-12, 2000.

BALTATU, O.; JANSSEN, B.J.; BRICCA, G.; PLEHM, R.; MONTI, J.; GANTEN, D.; BADER, M. Alterations in blood pressure and heart rate variability in transgenic rats with low brain angiotensinogen. **Hypertension**, v. 37 (2 Part 2), p. 408-13, 2001.

BALTATU, O.C; CAMPOS, L.A.; BADER, M. Local renin-angiotensin system and the brain – a continuous quest for knowledge. **Peptides**, v. 32, n. 5, p. 1083-1086, 2011.

BARBOSA, V.A.; LUCIANO, T.F.; MARQUES, S.O.; VITTO, M.F.; SOUZA, D.R.; SILVA, L.A.; SANTOS, J.P.A.; MOREIRA, J.C.; DAL-PIZZOL, F.; LIRA, F.S.; PINHO, R.A.; DE SOUZA, C.T. Acute exercise induce endothelial nitric oxide synthase phosphorylation via Akt and AMP-activated protein kinase in aorta of rats: Role of reactive oxygen species. **International Journal of Cardiology**, v.167, p. 2983–2988, 2013.

BAREL, M.; PEREZ, O.A.; GIOZZET, V.A.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R.; AMARAL, S.L. Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by Dexamethasone treatment. **Eur J Appl Physiol**, v. 108, n. 5, p. 999-1007, 2010.

BAREL, M.; PEREZ, O.A.B.; GIOZZET, V.; BOSQUEIRO, J.R.; AMARAL, S.L. Exercise Training Prevents Glycogen Loss And Muscle Atrophy Induced By Dexamethasone Treatment. In: XVII Congresso da Sociedade Inter-Americana de Hipertensão, 2007, Miami, USA. **Anais do XVII Congresso da Sociedade Inter-Americana de Hipertensão**, 2007.

BARRETO-CHAVES, M. L. M.; ANÉAS, I.; KRIEGER, J. E. Glucocorticoid regulation of angiotensin-converting enzyme in primary culture of adult cardiac fibroblasts. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 280, p. R25-R32, 2001.

BARRETTI, D.L.M.; MAGALHARÃES, F.C.; FERNANDES, T.; CARMO, E.C.; ROSA, K.T.; IRIGOYEN, M.C.; NEGRÃO, C.E.; OLIVEIRA, E.M. effects of aerobic exercise training on cardiac renin-angiotensin system in an obese zucker rat strain. **PLOS ONE**, v. 7, 2012.

BECHTOLD, A.G.; VERNON, K.; HINES, T.; SCHEUER, D.A. Genetic predisposition to hypertension sensitizes borderline hypertensive rats to the hypertensive effects of prenatal glucocorticoid exposure. **J Physiol**, v. 586, n. 2, p. 673-84, 2008.

BELABBAS, H.; ZALVIDEA, S.; CASELLAS, D.; MOLÉS, JP.; GALBES, O.; MERCIER, J.; JOVER, B. Contrasting effect of exercise and angiotensin II hypertension on in vivo and in vitro cardiac angiogenesis in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.295, n. 5, p. R1512-8, 2008.

BELL, M. E.; BHATNAGAR, S.; AKANA, S. F.; CHOI, S.; DALLMAN, M. F. Disruption of Arcuate/Paraventricular Nucleus Connections Changes Body Energy Balance and Response to Acute Stress. **The Journal of Neuroscience**, September 1, 20(17):6707-6713. 2000.

BENTER, I.F.; DIZ, D.I.; FERRARIO, C.M. Pressor and reflex sensitivity is altered in spontaneously hypertensive rats treated with angiotensin-(1–7). **Hypertension**, v. 26 (6 Pt 2), p.1138–1144, 1995.

BERNARDO, B.C.; WEEKS, K.L.; PRETORIUS, L.; MCMULLEN, J.R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacol Ther**, v. 128, n. 1, p. 191-227, 2010.

BOGDARINA, I.G.; KING, P.J.; CLARK, A.J. Characterization of the angiotensin (AT1b) receptor promoter and its regulation by glucocorticoids. **Journal of Molecular Endocrinology**, v.43, n.2, p. 73–80, 2009.

BOGDARINA, I.; HAASE, A.; LANGLEY-EVANS, S.; CLARK, A.J. Glucocorticoid effects on the programming of AT1b angiotensin receptor gene methylation and expression in the rat. **PLoS One**, v. 5, n. 2, 2010.

BRANDÃO RONDON, M.U.; ALVES, M.J.; BRAGA, A.M.; TEIXEIRA, O.T.; BARRETTO, A.C.; KRIEGER, E.M.; NEGRÃO, C.E. Postexercise blood pressure reduction in elderly hypertensive patients. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 39, n. 4, p. 676-82, 2002.

BROTMAN, D.J.; GIROD, J.P.; GARCIA, M.J.; PATEL, J.V.; GUPTA, M.; POSCH, A.; SAUNDERS, S.; LIP, G.Y.; WORLEY, S.; REDDY, S. Effects of short-term glucocorticoids on cardiovascular biomarkers. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 6, p. 3202-3208, 2005.

BRUM, P.C.; DA SILVA, G.J.; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; NEGRÃO, C.N.; KRIEGER, E.M. Exercise Training Increases Baroreceptor Gain Sensitivity in Normal and Hypertensive Rats. **Hypertension**, v. 36, n. 6, p. 1018-22, 2000.

BURGI, K.; CAVALLERI, M.T.; ALVES, A.S.; BRITTO, L.R.; ANTUNES, V.R.; MICHELINI, L.C. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity: simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 300, n. 2, p. R264-71, 2011.

CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; HERINGER, S.B.; BATISTA, E.N.; KHOSLA, M.C.; SANTOS, R.A. Differential baroreceptor reflex modulation by centrally infused angiotensin peptides. **Am J Physiol**, v. 263(1 Pt 2), p. R89–R94, 1992.

CAMPOS, L.A.; BADER, M.; BALATATU, O.C. Brain renin-angiotensin system in hypertension, cardiac hypertrophy, and heart failure. **Frontiers in Physiology**, v.2:115, 2012.

CAPETTINI, L.S.A.; MONTECUCCO, F.; MACH, F.; STERGIOPULOS, N.; SANTOS, R.A.S.; DA SILVA, R.F. Role of Renin-Angiotensin System in Inflammation, Immunity and Aging. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 00, 2012.

CARDOSO, M.M.; LEITE, A.O.; SANTOS, E.A.; GOZZANI, J.L.; MATHIAS, L.A. Effect of Dexamethasone on prevention of postoperative nausea, vomiting and pain after caesarean section: a randomised, placebo-controlled, double-blind trial. **Eur J Anaesthesiol**, v. 30, n: 3, p. 102-5, 2013.

CAVALCANTI, R.A.; da PUREZA, D.Y.; de MELO, M.P.; de SOUZA, R.R.; BERGAMASCHI, C.T.; AMARAL, S.L.; TANG, H.; LOESCH, A.; RIBEIRO, A.A. Low-intensity treadmill exercise-related changes in the rat stellate ganglion neurons. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 6, p. 1334–1342, 2009.

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 solitarii of normotensive and spontaneously hypertensive rats. **J Hypertension**, v.18, n.12, p.1841-1848, 2000.

CHUA, C.C.; HAMDY, R.C.; CHUA, B.H.L. Upregulation of vascular endothelial growth factor by angiotensin II in rat heart endothelial cells. **Biochim Biophys Acta**, v. 1401, p. 187-194, 1998.

COCKS,M.; SHAW, C.S.; SHEPHERD, S.O.; FISHER, J.P; RANASINGHE, A.M.; BARKER, T.A.; TIPTON, K.D.; WAGENMAKERS, A.J.M. Sprint interval and endurance training are equally effective in increasing muscle microvascular density and eNOS content in sedentary males. **J Physiol**, v. 591.3, p. 641-656, 2013.

CONNELLY, K.A.; ADVANI, A.; ADVANI, S.; ZHANG, Y.; THAI, K.; THOMAS, S.; KRUM, H.; KELLY, D.J.; GILBERT, R.E. Combination Angiotensin Converting Enzyme and Direct Renin Inhibition in Heart Failure following Experimental Myocardial Infarction. **Cardiovascular Therapeutics**, doi: 10.1111/j.1755-5922, 2011.

COSTA GONÇALVES, A.C.; LEITE, R; FRAGA-SILVA, R.A; PINHEIRO,S.V; REIS, A.B; REIS, F.M; TOUYZ, R.M; WEBB, R.C; ALENINA, N; BADER, M.; SANTOS, R.A. Evidence that the vasodilator angiotensin-(1-7)-Mas axis plays an important role in erectile function. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 4, p. H2588-96, 2007.

DEJI, N.; KUME, S.; ARAKI, S.; ISSHIKI, K.; ARAKI, H.; CHIN-KANASAKI, M.; TANAKA, Y.; NISHIYAMA, A.; KOYA, D.; HANEDA, M.; KASHIWAGI, A.; MAEGAWA, H.; UZU, T. Role of angiotensin II-mediated AMPK inactivation on obesity-related salt-sensitive hypertension. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 418, n. 3, p. 559-64, 2012.

DEKELBAB, B.H; WITCHEL, S.F; DEFRANCO, D.B. TNF- α and glucocorticoid receptor interaction in L6 muscle cells: A cooperative downregulation of myosin heavy chain. **STEROIDS**, v.72, p. 705-712, 2007.

DIONISIO, T.J.; LOUZADA, J.C.; VISCELLI, B.A.; DIONISIO, E.J.; MARTUSCELLI, A. M.; SANTOS, C. F.; BOSQUEIRO, J.R.; AMARAL, S. L. Dexamethasone negative side effects on insulin signaling is prevented by Exercise Training: role of IRS-1 and p-AKT In: Experimental Biology 2010, 2 Anaheim, CA, USA. **Faseb Journal**, v.24. p.806.10, 2010.

DIONÍSIO, T.J.; LOUZADA, J.C.A.; VISCELLI, B.A.; DIONÍSIO, E.J.; MARTUSCELLI, A. M.; BAREL, M.; PEREZ, O.A.B.; BOSQUEIRO, J.R.; BROZOSKI, D.T.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Aerobic training prevents Dexamethasone-induced peripheral insulin resistance. **Hormone and metabolic research**, aceito.

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

DODIC, M.; MCALINDEN, A.T.; JEFFERIES, A.J.; WINTOUR, E.M.; COCK, M.L.; MAY, C.N.; EVANS, R.G.; MORITZ, K.M. Differential effects of prenatal exposure to Dexamethasone or cortisol on circulatory control mechanisms mediated by angiotensin II in the central nervous system of adult sheep. **J Physiol**, v. 571(Pt 3), p.651-60, 2006.

DODIC, M.; WINTOUR, E.M.; WHITWORTH, J.A.; COGHLAN, J.P. Effect of steroid hormones on blood pressure. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 26, n. 7, p. 550-2, 1999.

DOUMAS, M.N.; DOUMA, S.N.; PETIDIS, K.M.; VOGIATZIS, K.V.; BASSAGIANNIS, I.C.; ZAMBOULIS, C.X. Different effects of losartan and moxonidine on endothelial function during sympathetic activation in essential hypertension. **The Journal Of Clinical Hypertension**, v. 6, n. 12, p. 682-9, 2004.

FALDUTO, M.T.; CZERWINSKI, S.M.; HICKSON, R.C. Glucocorticoid-induced muscle atrophy prevention by exercise in fast-twitch fibers. **J Appl Physiol**, v. 69, p. 1058-1062, 1990.

FARAH, C.; KLEINDIENST, A.; BOLEA, G.; MEYER, G.; GAYRARD, S.; GENY, B.; OBERT, P.; CAZORLA, O.; TANGUY, S.; REBOUL, C. Exercise-induced cardioprotection: a role for eNOS uncoupling and NO metabolites. **Basic Res Cardiol**, 2013.

FARAH, S.B. DNA segredos e mistérios. 2 ed. – São Paulo: **Sarvier**, 2007.

FARIA-SILVA, R.; DUARTE, F.V.; SANTOS, R.A. Short-term angiotensin(1-7) receptor mas stimulation improves endothelial function in normotensive rats. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 948-52, 2005.

FELIX, J.V.; MICHELINI, L.C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. **Hypertension**, v. 50, n. 4, p. 780-5, 2007.

FERNANDES, T.; HASHIMOTO, N.Y.; MAGALHÃES, F.C.; FERNANDES, F.B.; CASARINI, D.E.; CARMONA, A.K.; KRIEGER, J.E.; PHILLIPS, M.I.; OLIVEIRA, E.M. Aerobic exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves regulatory micrnas, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin II, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7). **Hypertension**, v. 58, n. 2, p. 182-9, 2011.

FERRARIO, C.M.; JESSUP, J.; CHAPPELL, M.C.; AVERILL, D.B.; BROSNIHAN, K.B.; TALLANT, E.A.; DIZ, D.I.; GALLAGHER, P.E. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. **Circulation**, v. 111, n. 20, p. 2605-10, 2005.

GANTEN, D.; LUDIWIG, G.; HENNHOFER, C. Genetic control of rennin in the tissues of different strains of mice. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v. 332, n. R59, 1986.

GARCIA GE. ANG II receptor antagonists as modulators of macrophages polarization. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 298, p. F868-9, 2010.

GILSON, H.; SCHAKMAN, O.; COMBARET, L.; LAUSE, P.; GROBET, L.; ATTAIX, D.; KETELSLEGERS, J.M.; THISSEN, J.P. Myostatin Gene Deletion Prevents Glucocorticoid-Induced Muscle Atrophy. **Endocrinology**, v. 148, n. 1, p. 452–460, 2007.

GINSBERG, A. B.; CAMPEAU, S.; DAY, H. E.; SPENCER, R. L. Acute glucocorticoid pretreatment suppresses stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormone secretion and expression of corticotropin-releasing hormone hnRNA but does not affect c-fos mRNA or fos protein expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 15, 1075-1083. 2003.

GIOZZET, V.A.; RAFACHO, A.; BOSCHERO, A.C.; CARNEIRO, E.M.; BOSQUEIRO, J.R. Dexamethasone treatment in vivo counteracts the functional pancreatic islet alterations caused by malnourishment rats. **Metabolism** v.57, n.5, p. 617-24, 2008.

GUARINO, N.; SHIMA, H.; PURI, P. Cardiac gene expression and synthesis of atrial natriuretic peptide in the nitrofen model of congenital diaphragmatic hernia in rats: effect of prenatal DEXmethazone treatment. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 36, n. 10, p. 1497-1501, 2001.

GUIMARÃES, G.G.; SANTOS, S.H.S.; OLIVEIRA, M.L.; PIMENTA-VELLOSO, E.P.; MOTTA, D.F.; MARTINS, A.F.; ALENINA, M.; BADER, M.; SANTOS, R.A.S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Exercise induces renin–angiotensin system unbalance and high collagen expression in the heart of Mas-deficient mice. **Peptides**, v. 38, p. 54–61, 2012.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Tratado de Fisiologia Médica. 12ª Ed.; Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2011.

HACKENTHAL, E. e KLETT, C. Angiotensin II and Dexamethasone regulate angiotensinogen mRNA by different mechanisms. **J Steroid Biochem Molec Biol**, v. 45, n. 1-3, p. 33-40, 1993.

HAMBRECHT, R.; GIELEN, S.; LINKE, A.; FIEHN, E.; YU, J.; WALTHER, C.; SCHOENE, N.; SCHULER, G. Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure. **JAMA**, v. 283, n. 23, p. 3095-101, 2000.

HATTORI, T.; MURASE, T.; SUGIURA, Y.; NAGASAWA, K.; TAKAHASHI, K.; OHTAKE, M.; OHTAKE, M.; MIYACHI, M.; MUROHARA, T.; NAGATA, K. Effects of salt status and blockade of mineralocorticoid receptors on aldosterone-induced cardiac injury. **Hypertension Research**, 2013.

HENCH, P.S.; KENDALL, E.C. et al. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone; compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. **Proc Staff Meet Mayo Clin**, v. 24, n. 8, p. 181-97, 1949.

HIGA-TANIGUCHI, K.T.; SILVA, F.C.; SILVA, H.M.; MICHELINI, L.S.; STERN, J.E. Exercise training-induced remodeling of paraventricular nucleus (nor)adrenergic innervation in normotensive and hypertensive rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 292, n. 4, p. R1717-27, 2007.

HILGERS, K.F.; HARTNER, A.; PORST, M. *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage infiltration in hypertensive kidney injury. **Kidney Int**, v. 58, p. 2408-19, 2000.

HUANG, C.; YOSHIMOTO, M.; MIKI, K.; JOHNS, E.J. The contribution of brain angiotensin II to the baroreflex regulation of renal sympathetic nerve activity in conscious normotensive and hypertensive rats. **J Physiol**, v. 574(Pt 2), p. 597-604, 2006.

IJIMA, F.; MALIK, K.U. Contribution of vasopressin in Dexamethasone-induced hypertension in rats. **Hypertension**, v.11(2 Pt 2), p. 142-6, 1988.

JESSEN, N. E GOODYEAR, L.J. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v.99, p. 330-337, 2005.

JHANG, J.W., KIM, N., RYU, V., YOO, S.B., KIM, T.K., HO-LEE, J. Dexamethasone reduces food intake, weight gain and the hypothalamic 5-HT concentration and increases plasma leptin in rats. **Europ J of Pharmacolog**, v.508, p.64-70, 2008.

JI, Y.; WANG, Z.; LI, Z.; LI, K.; LE, X.; ZHANG, T. Angiotensin II induces angiogenic factors production partly via at1/jak2/stat3/socs3 signaling pathway in mhcc97h cells. **Cell Physiol Biochem**, v. 29, p. 863-874, 2012.

JORDÃO, M.T.; LADD, F.V.; COPPI, A.A.; CHOPARD, R.P.; MICHELINI, L.C. Exercise Training Restores 2 Hypertension-Induced Changes in the Elastic Tissue of the Thoracic Aorta. **J Vasc Res**, v.48, n. 6, p. 513-524, 2011.

KAR, S.; GAO, L.; ZUCKER, I.H. Exercise training normalizes ACE and ACE2 in the brain of rabbits with pacing-induced heart failure. **J Appl Physiol**, v.108, n. 4, p. 923-32, 2010.

KIRWAN, JR. Systemic corticosteroids in rheumatology. In: Klippel J. Dieppe PA, editors. **Rheumatology**. 2^a Ed. London: Mosby; v.1, p. 1-6, 1998.

KROZOWSKI, Z.S.; FUNDER, J.W. Renal mineralocorticoid receptors and hippocampal corticosterone-binding species have identical intrinsic steroid specificity. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.19, p. 6056-60, 1983.

LATERZA, M.C.; DE MATOS, L.D.; TROMBETTA, I.C.; BRAGA, A.M.; ROVEDA, F.; ALVES, M.J.; KRIEGER, E.M.; NEGRÃO, C.E.; RONDON, M.U.

Exercise Training Restores Baroreflex Sensitivity in Never-Treated Hypertensive Patients. **American Heart Association**, v. 49, n. 6, p. 1298-306, 2007.

LEE, R.M.; BADER, M.; ALENINA, N.; SANTOS, R.A.; GAO, Y.J.; LU, C. Mas receptors in modulating relaxation induced by perivascular adipose tissue. **Life Sci**, v. 89, n. (13-14), p. 467-72, 2011.

LEMOES, V.S.; SILVA, D.M.; WALTHER, T.; ALENINA, N.; BADER, M.; SANTOS, R.A. The endothelium-dependent vasodilator effect of the nonpeptide Ang(1-7) mimic AVE 0991 is abolished in the aorta of mas-knockout mice. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 46, n. 3, p. 274-9, 2005.

LIU, C.; GUAN, J.; KANG, Y.; XIU, H.; CHEN, Y.; DENG, B.; LIU, K. Inhibition of dehydration-induced water intake by glucocorticoids is associated with activation of hypothalamic natriuretic peptide receptor-a in rat. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12 p. e15607, 2010.

LIU, C.; CHEN, Y.; KANG, Y.; NI, Z.; XIU, H.; GUAN, J.; LIU, K. Glucocorticoids improve renal responsiveness to atrial natriuretic peptide by up-regulating natriuretic peptide receptor-a expression in the renal inner medullary collecting duct in decompensated heart failure. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, V. 339, n. 1, p. 203–209, 2011.

LOUZADA, J.C.A.; VISCELLI, B. A.; DIONISIO, T.J.; DIONISIO, E.J.; MARTUSCELLI, A.M.; AMARAL, S.L. Exercício Físico atenua redução da proteína CaMK II induzida pela Dexametasona In: 17º Simpósio Internacional De Iniciação Científica, 2009, Ribeirão Preto. **Anais do 17º Simpósio Internacional De Iniciação Científica.**, 2009.

MA, K.; MALLIDIS, C.; BHASIN, S.; MAHABADI, V.; ARTAZA, J.; GONZALEZ-CADAVID, N.; ARIAS, J.; SALEHIAN, B. Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.285, n.2, p. E363-71, 2003.

MACEDO, A.G.; MARTUSCELLI, A.M.; AMARAL, S.L. Efeitos do treinamento aeróbio e resistido na hiperglicemia e atrofia muscular induzida por Dexametasona. In: XXXIII Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2012, São Paulo. **SOCESP**, 2012.

MACEDO, A.G. EFEITOS PREVENTIVOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO NA EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA ATROFIA MUSCULAR EM RATOS TRATADOS COM DEXAMETASONA. Dissertação de Mestrado, UFSCAR, 2013.

MADAN, R.; BHATIA, A.; CHAKITHANDY, S. et al. Prophylactic Dexamethasone for postoperative nausea and vomiting in pediatric strabismus surgery: a dose ranging and safety evaluation study. **Anesth Analg**, v.100, p. 1622–6, 2005.

MAIORANA, A.J.; NAYLOR, L.H.; EXTERKATE, A.; SWART, A.; THIJSSSEN, D.H.; LAM, K.; O'DRISCOLL, G.; GREEN, D.J. The impact of exercise training

on conduit artery wall thickness and remodeling in chronic heart failure patients. **Hypertension**, v. 57, n. 1, p. 56-62, 2011.

MANCIA, G.; FAGARD, R.; NARKIEWICZ, K.; REDON, J.; ZANCHETTI, A.; BOËHM, M.; CHRISTIAENS, T.; CIFKOVA, R.; BACKER, G.; DOMINICZAK, A.; GALDERISI, M.; GROBBEE, D.E.; JAARSMA, T.; KIRCHHOF, P.; KJELDSEN, S.E.; LAURENT, S.; MANOLIS, A.J.; NILSSON, P.M.; RUILOPE, L.M.; SCHMIEDER, R.E.; SIRNES, P.A.; SLEIGHT, P.; VIIGIMAA, M.; WAEBER, B.; ZANNAD, F. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **European Heart Journal**, v. 34, p. 2159–2219, 2013.

MARDANI, D. e BIGDELIAN, H. Prophylaxis of Dexamethasone protects patients from further post-operative delirium after cardiac surgery: A randomized trial. **J Res Med Sci**, v.18, n. 2, p. 137-143, 2013.

MARTINEZ, D.G.; NICOLAU, J.C.; LAGE, R.L.; TOSCHI-DIAS, E.; DE MATOS, L.D.; ALVES, M.J.; TROMBETTA, I.C.; DIAS DA SILVA, V.J.; MIDDLEKAUFF, H.R.; NEGRÃO, C.E.; RONDON, M.U. Effects of long-term exercise training on autonomic control in myocardial infarction patients. **Hypertension**, v. 58, n. 6, p. 1049-56, 2011.

MARTUSCELLI, A. M.; AMARAL, S.L. Effects of exercise training on myostatin protein expression in Dexamethasone-induced muscle atrophy. In: II International Meeting in Exercise Physiology IX Workshop em Fisiologia do exercício da UFSCAR, 2011, São Pedro. **International Journal of Exercise Science**, v.7, n. 1, p. S2, 2011.

MATSUBARA, H.; HIRATA, Y.; YOSHIMIL, H.; TAKATA, S.; TAKAGI, Y.; UMEDA, Y.; NISHIKAWA, M.; INADA, M. Ventricular myocytes from neonatal rats are more responsive to Dexamethasone than atrial myocytes in synthesis of atrial natriuretic peptide. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 148, n. 3, p. 1030-1038, 1987.

MASUZAKI, H.; YAMAMOTO, H.; KENYON, C.J.; ELMQUIST, J.K.; MORTON, N.M.; PATERSON, J.M.; SHINYAMA, H.; SHARP, M.G.F.; FLEMING, S.; MULLINS, J.J.; SECKL, J.F.; Flier, J.S. Transgenic amplification of glucocorticoid action in adipose tissue causes high blood pressure in mice. **J. Clin. Invest**, v. 112, p. 83-90, 2003.

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

MCKIBBIN, E. B.; COTTON, S. J.; H. MCCARTHY, D.; WILLIAMS, G. The effect of dexamethasone on neuropeptide y concentrations in specific hypothalamic regions. **Life Sciences**, Vol. 51, pp. 1301-1307. 1992.

MICHEL, C.; CABANAC, M. Effects of dexamethasone on the body weight set point of rats. **Physiology & Behavior** 68, 145-150. 1999.

MIHAILOVIĆ-STANOJEVIĆ, N.; MILORADOVIĆ, Z.; GRUJIĆ-MILANOVIĆ, J.; IVANOV, M.; JOVOVIĆ, D. Effects of angiotensin II type-1 receptor blocker losartan on age-related cardiovascular risk in spontaneously hypertensive rats. **Gen. Physiol. Biophys**, v.28, p. 112–118, 2009.

MIHAILIDOU, A.S.; LE, T.Y.L.; MARDINI, M.; FUNDER, J.W. Glucocorticoids activate cardiac mineralocorticoid receptors during experimental myocardial infarction. **Hypertension**, v. 54, p. 1306-1312, 2009.

MONDO, C.K.; YANG, W.S.; ZHANG, N.; HUANG, T.G. Anti-oxidant effects of atorvastatin in Dexamethasone-induced hypertension in the rat. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 33, n. 11, p. 1029-1034, 2006.

MORRIS D.J, SOUNESS G.W, BREM A.S, OBLIN M.E. Interactions of mineralocorticoids and glucocorticoids in epithelial target tissues. **Kidney Int**, v. 57, n. 4, p.1370–1373, 2000.

MOUSA, T.M.; LIU, D.; CORNISH, K.G.; ZUCKER, I.H. Exercise training enhances baroreflex sensitivity by an angiotensin II-dependent mechanism in chronic heart failure. **J Appl Physiol**. v. 104, n.3, p. 616-24, 2008.

MURASAWA, S.; MATSUBARA, H.; KIZIMA, K.; MARUYAMA, K.; MORI, Y.; INADA, M. Glucocorticoids regulate V1a vasopressin receptor expression by increasing mRNA stability in vascular smooth muscle cells. **Hypertension**, v. 26, n.4, p.665-9, 1995.

NAPOLEONE, E.; CUTRONE, A.; CUGINO, D.; AMORE, C.; DI SANTO, A.; IACOVIELLO, L.; DE GAETANO, G.; DONATI, M.B.; LORENZET, R. Inhibition of the renin-angiotensin system downregulates tissue factor and vascular endothelial growth factor in human breast carcinoma cells. **Thromb Res**, v.129, n. 6, p. 736-42, 2012.

NAVA, S; GAYAN-RAMIREZ, G; ROLLIER, H; BISSCHOP, A; DOM, R; DE BOCK, V; DECRAMER, M. Effects of acute steroid administration on ventilatory and peripheral muscles in rats. **Am j Respir Crit Care Med**, v. 153, n. 6, p. 1888-1896, 1996.

NICASTRO, H., ZANCHI. N.E., LUZ, C.R., MORAES, W.M., RAMONA, P.M., FILHO, M.S. Effects of leucine supplementation and resistance exercise on Dexamethasone-induced muscle atrophy and insulin resistance in rats. **Nutriton**, v. 4, p.1-7, 2012.

ONG, S.L.H.; ZHANG, Y.; WHITWORTH, J. A. Reactive oxygen species and glucocorticoid-induced hypertension. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 35, n. 4, p. 477–482, 2008.

ONG, S.L.H.; VOHRA, H.; ZHANG, Y.; SUTTON, M.; WHITWORTH, J.A. The effect of alpha-lipoic acid on mitochondrial superoxide and glucocorticoid-induced hypertension. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2013.

PANDA, N.B.; BHARADWAJ, N.; KAPOOR, P.; CHARI, P.; PANDA, N.K. Prevention of nausea and vomiting after middle ear surgery: combination of ondansetron and Dexamethasone is the right choice. **J Otolaryngol**, v. 33, p. 88–92, 2004.

PAPPA, T.; PAPANASTASIOU, L.; KALTSAS, G.; MARKOU, A.; TSOUNAS, P.; ANDROULAKIS, I.; TSIAVOS, V.; ZOGRAFOS, G.; VAMVAKIDIS, K.; SAMARA, C.; PIADITIS, G. Pattern of Adrenal Hormonal Secretion in Patients with Adrenal Adenomas: The Relevance of Aldosterone in Arterial Hypertension. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 4, p. E537–E545, 2012.

PAPANEK PE, RIEDER MJ, GREENE AS. Captopril blocks angiogenic response to short-term exercise. **Microcirculation**,v.3, p.100, 1996, Abstract.

PEREZ, O.A.B.; BAREL, M.; GIOZZET, V.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R.; AMARAL, S.L. Dexamethasone-induced hyperinsulinemia can be prevented by physical training. in: xvii congresso da sociedade inter-americana de hipertensão., 2007, Miami, USA. **Anais do XVII Congresso da Sociedade Inter-Americana de Hipertensão..** ,2007.

PINHEIRO, C.H.J.; FILHO, W.M.S.; NETO, J.O.; MARINHO, M.J.F.; NETO, R.M.; SMITH, M.M.R.L.; SILVA, C.A.B. Exercise prevents cardiometabolic alterations induced by chronic use of glucocorticoids. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n. 3, o. 372-380, 2009.

PITT, B.; REICHEK, N.; WILLENBROCK, R.; ZANNAD, F.; PHILLIPS, R.A.; RONIKER, B.; KLEIMAN, J.; KRAUSE, S.; BURNS, D.; WILLIAMS, G.H. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy : the 4e □left ventricular hypertrophy study. **Circulation**, v. 108, n. 15, p. 1831-8, 2003.

RAFACHO, A.; ROMA, L.P.; TABOGA, S.R.; BOSCHERO, A.C.; BOSQUEIRO, J.R. Dexamethasone-induced insulin resistance is associated with increased connexin 36 mRNA and protein expression in pancreatic rat islets. **Can J Physiol Pharmacol** v.85, n.5, p.536-45, 2007.

RAFIQ, K.; NAKANO, D.; IHARA, G.; HITOMI, H.; FUJISAWA, Y.; OHASHI, N.; KOBORI, H.; NAGAI, Y.; KIYOMOTO, H.; KOHNO, M.; NISHIYAMA, A. Effects of mineralocorticoid receptor blockade on glucocorticoid-induced renal injury in adrenalectomized rats. **J Hypertens**, v. 29, n. 2, p. 290–298, 2011.

RHEE, M.S.; PERIANAYAGAM, A.; CHEN, P.; YOUN, J.H.; MCDONOUGH, A.A. Dexamethasone treatment causes resistance to insulin-stimulated cellular potassium uptake in the rat. **Am J Physiol Cell Physiol**, v.289, n.1, p. 84-91, 2004.

RIBEIRO, D.L.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R.; TABOGA, S.R.; GÓES, R.M. Cellular changes in the prostatic stroma of glucocorticoid-treated rats. **Cell Tissue Res** v.332, n.3, p.499-508, 2008.

ROGHAIR, R.D.; MILLER, F.J. JR.; SCHOLZ, T.D.; LAMB, F.S.; SEGAR, J.L. Coronary constriction to angiotensin ii is enhanced by endothelial superoxide

production in sheep programmed by Dexamethasone. **International Pediatric Research Foundation**, v. 63, n. 4, p. 370-4, 2008.

ROSSONI, L.V.; OLIVEIRA, R.A.; CAFFARO, R.R.; MIANA, M.; SANZ-ROSA, D.; KOIKE, M.K.; AMARAL, S.L.; MICHELINI, L.C.; LAHERA, V.; CACHOFEIRO, V. Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 29, n. 12, p. 2349-58, 2011.

ROY, S.G.; DE, P.; MUKHERJEE, D.; CHANDER, V.; KONAR, A.; BANDYOPADHYAY, D.; BANDYOPADHYAY, A. Excess of glucocorticoid induces cardiac dysfunction via activating angiotensin II pathway. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 24, n. (1-2), p. 1-10, 2009.

SAAD, M.J. Molecular mechanisms of insulin resistance. **Braz J Med Biol Res**, v.27, p. 941 – 57, 1994.

SAMPAIO, W.O.; SOUZA DOS SANTOS, R.A.; FARIA-SILVA, R.; DA MATA MACHADO, L.T.; SCHIFFRIN, E.L.; TOUYZ, R.M. Angiotensin-(1-7) through receptor mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via AKT-dependent pathways. **Hypertension**, v. 49, n. 1, p. 185-92, 2006.

SANTOS, CM.; PONTIERI, V.; LEOMIL NETO, M.; MICHELINI, L.C. Losartan improves baroreflex control of heart rate of coarcted hypertensive rats. **Am. J. Physiol**, v. 269, n. (3 Pt 2), p. H812-H818, 1995.

SANTOS, C.L.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R. Efeitos da administração de Dexametasona *in vivo* sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes do tempo de tratamento. **Biosci J**, v. 23, n. 3, p. 101-110, 2007.

SANTOS, R.A.; SIMÕES E SILVA, A.C. Controle humoral da pressão arterial. In: Hipertensão arterial; departamento de hipertensão arterial Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Sarvier** – São Paulo, 1997.

SARUTA, T. Mechanism of glucocorticoid-induced hypertension. **Hypertens Res**, v.19, n. 1, p. 1-8, 1996.

SAVERGNINI, S.Q.; BEIMAN, M.; LAUTNER, R.Q.; DE PAULA-CARVALHO, V.; ALLAHADADI, K.; PESSOA, D.C.; COSTA-FRAGA, F.P.; FRAGA-SILVA, R.A.; COJOCARU, G.; COHEN, Y.; BADER, M.; ALMEIDA, A.P.; ROTMAN, G.; SANTOS, R.A. Vascular relaxation, antihypertensive effect, and cardioprotection of a novel peptide agonist of the mas receptor. **Hypertension**, v. 56, n. 1, p. 112-20, 2010.

SASAKI, S.; DAMPNEY, R.A. Tonic cardiovascular effects of angiotensin II in the ventrolateral medulla. **Hypertension**, v. 15, n. 3, p. 274-83, 1990.

SAKIMA, A.; AVERILL, D.B.; GALLAGHER, P.E.; KASPER, S.O.; TOMMASI, E.N.; FERRARIO, C.M.; DIZ, D.I. Impaired heart rate baroreflex in older rats role of endogenous angiotensin-(1-7) at the nucleus tractus solitarii. **Hypertension**, v. 46, n. 2, p. 333-40, 2005.

SAKIMA, A.; AVERILL, D.B.; KASPER, S.O.; JACKSON, L.; GANTEN, D.; FERRARIO, C.M.; GALLAGHER, P.E.; DIZ, D.I. Baroreceptor reflex regulation in anesthetized transgenic rats with low glia-derived angiotensinogen. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 292, n. 3, p. H1412-9, 2007.

SATO, A.; SUZUKI, H.; MURAKAMI, M.; NAKAZATO, Y.; IWAITA, Y.; SARUTA, T. Glucocorticoid increases angiotensin II type 1 receptor and its gene expression. **Hypertension**, v. 23, n. 1, p. 25-30, 1994.

SCHÄFER, S.C; WALLERATH, T.; CLOSS, E.I.; SCHMIDT, C.; SCHWARZ, P.M.; FÖRSTERMANN, U.; LEHR, H.A. Dexamethasone suppresses eNOS and CAT-1 and induces oxidative stress in mouse resistance arterioles. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 288, n. 1, p. H436-44, 2005.

SCHNEITER, P.; TAPPY, L. Kinetics of Dexamethasone-induced alterations of glucose metabolism in healthy humans. **Am J Physiol**, v.275, n.5 Pt 1, p. E806-13, 1998.

SEENE, T.; KAASIK, P.; PEHME, A.; ALEV, K.; RISO, E.M. The effect of glucocorticoids on the myosin heavy chain isoforms turnover in skeletal muscle. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.86, p. 201-206, 2003.

SEVERINO, C.; BRIZZI, P.; SOLINAS, A.; SECCHI, G.; MAIOLI, M.; TONOLO, G. Low-dose Dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.283, n.2, p. E367-73, 2002.

SHELAT, S.G.; FLANAGAN-CATO, L. M.; FLUHARTY, S. J. Glucocorticoid and mineralocorticoid regulation of angiotensin II type 1 receptor binding and inositol triphosphate formation in WB cells. **Journal of Endocrinology**, v. 162, n. 3, p. 381-91, 1999.

SHIH, A.; JACKSON, K.C. Role of Corticosteroids in Palliative Care. **Journal of Pain and Palliative Care Pharmacotherapy**, v. 21, n. 4, p. 69-76, 2007.

SILVA, A.Q.G.; XAVIERF, C.H.; CAMPAGNOLE-SANTOSA, M.J.; CALIGIORNEA, S.M.; BALATATUB, O.C.; BADERD, M.; SANTOSA, R.A.S.; FONTESA, M.A.P. Cardiovascular responses evoked by activation or blockade of GABAA receptors in the hypothalamic PVN are attenuated in transgenic rats with low brain angiotensinogen. **Brain research**, v. 1448, p. 101 – 110, 2012.

SILVA, G.J.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.30, n.3 Pt 2, p. 714-9, 1997.

SOSZYNSKI, P.; SLOWINSKA-SRZEDNICKA, J.; KASPERLIK-ZALUSKA, A.; ZGLICZYNSKI, S. Endogenous natriuretic factors: atrial natriuretic hormone and digitalis-like substance in Cushing's syndrome. **Journal of Endocrinology**, v.129, p.453–458, 1991.

SOUZA, L. M.; MACEDO, A. G.; AMARAL, S. L. Tratamento agudo e de curta duração com Glicocorticoides determina importantes efeitos colaterais no metabolismo glicídico, hemodinâmica e atrofia muscular de ratos. In: XX

Congresso da Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2012, São Paulo. **Revista Hipertensão** - resumos. São Paulo: SBH, 2012. v. 1. p. 196-196.

SUDHIR, K.; JENNINGS, G.L.; ESLER, M.D.; KORNER, P.I.; BLOMBERG, P.A.; LAMBERT, G.W.; SCOGGINS, B.; WHITWORTH, J.A.; Hydrocortisone-induced hypertension in humans: Pressor responsiveness and sympathetic function. **Hypertension**, v.13, n. 5, p. 416-421, 1989.

SUZUKI, H.; HANDA, M.; KONDO, K.; SARUTA, T. Role of renin-angiotensin system in glucocorticoid hypertension in rats. **Am J Physiol**, v. 243, n. 1, p. E48-51, 1982.

TABARIN, A.; CORCUFF, J.B.; LAVAL, M.; AUPETIT, B.; CARAYON, A.; FLORENTIN, C.; DUCASSOU, D.; ROGER, P. Plasma concentration of atrial natriuretic hormone during endogenous glucocorticoid hypercorticism. **Horm Res**, v. 34, n. (5-6), p. 229-33, 1990.

TAN, P.S.; KILLINGER, S.; HORIUCHI, J.; DAMPNEY, R.A. Baroreceptor reflex modulation by circulating angiotensin II is mediated by AT1 receptors in the nucleus tractus solitarius. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 293, n. 6, p. R2267-78, 2007.

THORÉN, P. Efferent renal nerve traffic in SHR. **Clin Exp Hypertens**, v. 9, Suppl 1, p. 259–279, 1987.

TONOLO, G.; FRASER, R.; CONNELL, J.M.; KENYON, C.J. Chronic low-dose infusions of Dexamethasone in rats: effects on blood pressure, body weight and plasma atrial natriuretic peptide. **J Hypertens**, v. 6, n. 1, p. 25-31, 1988.

TULIPANO, G.; TAYLOR, J.E.; HALEM, H.A.; DATTA, R.; DONG, J.Z.; CULLER, M.D.; BIANCHI, I.; COCCHI, D.; GIUSTINA, A. Glucocorticoid inhibition of growth in rats: partial reversal with the full-length ghrelin analog BIM-28125. **Pituitary**, v.10, p. 267-274, 2007.

XU, P.; COSTA-GONCALVES, A.C.; TODIRAS, M.; RABELO, L.A.; SAMPAIO, W.O.; MOURA, M.M.; SANTOS, S.S.; LUFT, F.C.; BADER, M.; GROSS, V.; ALENINA, N.; SANTOS, R.A. Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in *mas* gene-deleted mice. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 574-80, 2008.

YOSHIDA, T.; TABONY, A.T.; GALVEZ, S.; MITCH, W.E.; HIGASHI, Y.; SUKHANOV, S.; DELAFONTAINE, P. Molecular mechanisms and signaling pathways of angiotensin II-induced muscle wasting: potential therapeutic targets for cardiac cachexia. **The International Journal of Biochemistry e cell Biology**, v.45, p. 2322-2332, 2013.

ZANCHI, N.E.; LIRA, F.S.; SEELAENDER, M.; LANCHETA-JR, A.H. Experimental chronic low-frequency resistance training produces skeletal muscle hypertrophy in the absence of muscle damage and metabolic stress markers. **Cell Biochem Funct**, v. 28, n. 3, p. 232-8, 2010.

Zhang, Y.; Croft, K. D.; Mori, T. A.; Schyvens, C. G.; McKenzie, K. U.S.; Whitworth, J. A. The antioxidant tempol prevents and partially reverses

Dexamethasone-induced hypertension in the rat. **American Journal of Hypertension**, v. 17, n. 3, p. 260–265, 2004.

ZHAO ,W.; QIN, W.; PAN, J.; WU, Y.; BAUMAN, W.A.; CARDOZO, C. Dependence of Dexamethasone-induced Akt/FOXO1 signaling, upregulation of MAFbx, and protein catabolism upon the glucocorticoid receptor. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 378, n. 3, p. 668-72, 2009.

WALLERATH, T.; WITTE, K.; SCHÄFER, S.C.; SCHWARZ, P.M.; PRELLWITZ, W.; WOHLFART, P.; KLEINERT, H.; LEHR, H.A.; LEMMER, B.; FÖRSTERMANN, U. Down-regulation of the expression of endothelial NO synthase is likely to contribute to glucocorticoid-mediated hypertension. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 23, p. 13357-62,1999.

WARD, L.E.; SLOCUMB, C.H.; POLLEY, H.F.; LOWMAN, E.W.; HENCH, P.S. Clinical effects of cortisone administered orally to patients with rheumatoid arthritis. **Proc Staff Meet Mayo Clin**, v. 26, n. 20, p. 361-70, 1951.

WEINSTEIN, S.P.; WILSON, C.M.; PRITSKER, A.; CUSHMAN, S.W. Dexamethasone inhibits insulin-stimulated recruitment of GLUT4 to the cell surface in rat skeletal muscle. **Metabolism**, v. 47, n. 1, p. 3-6, 1998.

WEINSTEIN, S.P.; PAQUIN, T.; PRITSKER, A.; HABER, R.S. Glucocorticoid-induced insulin resistance: Dexamethasone inhibits the activation of glucose transport in rat skeletal muscle both insulin- and non-insulin-related stimuli. **Diabetes**, v.44, n.4, p. 441-445, 1995.

WYRWOLL, C.S.; MARK, P.J.; WADDELL, B.J. Developmental programming of renal glucocorticoid sensitivity and the renin-angiotensin system. **Hypertension**, v. 50, n. 3, p. 579-84, 2007.

ANEXO 1:**unesp**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba**Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)
Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)****CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "Efeito do pré-condicionamento físico na hipertensão induzida pela dexametasona: papel do sistema renina angiotensina" sob responsabilidade do Pesquisador SANDRA LIA DO AMARAL CARDOSO e colaboração de Paula Bessi Constantino Prazeres está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o protocolo 2012-02254.

CERTIFICATE

We certify that the research "Effect of pre-physical conditioning on the hypertension induced by dexamethasone: role of the renin angiotensin system", protocol number 2012-02254, under responsibility of SANDRA LIA DO AMARAL CARDOSO and with collaboration of Paula Bessi Constantino Prazeres agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.



Prof. Dr. Edilson Ervolino
Coordenador da CEUA
CEUA Coordenador