



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**ERICK BRYAN DE SOUSA LIMA**

**EXERCÍCIO MODERADO E BLOQUEIO DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA  
MELHORAM A DISMOTILIDADE GÁSTRICA INDUZIDA POR HIPERTENSÃO  
RENOVASCULAR (2 RINS 1 CLIPE) EM RATOS**

**TERESINA**

**2018**

**ERICK BRYAN DE SOUSA LIMA**

**EXERCÍCIO MODERADO E BLOQUEIO DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA  
MELHORAM A DISMOTILIDADE GÁSTRICA INDUZIDA POR HIPERTENSÃO  
RENOVASCULAR (2 RINS 1 CLIPE) EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção de título de Mestre em Farmacologia.

**Orientador: Prof. Dr. MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA**

**TERESINA**

**2018**

**ERICK BRYAN DE SOUSA LIMA**

**EXERCÍCIO MODERADO E BLOQUEIO DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA  
MELHORAM A DISMOTILIDADE GÁSTRICA INDUZIDA POR HIPERTENSÃO  
RENOVASCULAR (2 RINS 1 CLIPE) EM RATOS**

**Aprovado em: 08/03/2018**

**Banca examinadora:**



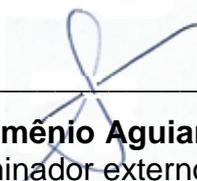
---

**Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva**  
(Orientador – Presidente da Banca) - UFPI



---

**Prof. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira**  
(Examinadora interna) – UFPI



---

**Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos**  
(Examinador externo) - UFC

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco  
Serviço de Processamento Técnico

L732e Lima, Erick Bryan de Sousa.  
Exercício moderado e bloqueio do sistema renina angiotensina melhoram a dismotilidade gástrica induzida por hipertensão renovascular (2 rins 1 clipe) em Ratos / Erick Bryan de Sousa Lima. – 2018.  
136 f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, 2018.

“Orientação: Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva”.

1. Angiotensina II. 2. Hipertensão 2R1C. 3. Esvaziamento Gástrico.  
4. Exercício Físico. 5. Sistema Renina Angiotensina. I. Título.

CDD 616.132

A TODOS QUE TIVERAM  
CONTRIBUIÇÃO DE FORMA DIRETA OU  
INDIRETA PARA QUE ESTE ESTUDO  
FOSSSE REALIZADO.

A MINHA FAMÍLIA, QUE ESTEVE AO  
MEU LADO EM TODOS OS MOMENTOS  
E SEMPRE ME APOIOU EM TODAS  
DECISÕES REALIZADAS A PARTIR DOS  
MEUS SONHOS.

**"TENHA TALENTO, TRABALHE COMO UM CONDENADO, SUE SANGUE, E VOCÊ CONSEGUIRÁ TUDO SEM ESFORÇO".**

**(HUMBERTO GESSINGER)**

# *Agradecimientos*

---

Primeiramente, agradeço a Deus por todas as oportunidades que tem me sido dadas para crescimento pessoal e profissional.

À Universidade Federal do Piauí por toda sua estrutura quanto a salas de aula, laboratórios, nível de corpo docente e funcionários, toda essa estrutura é essencial para que consigamos almejar e alcançar objetivos.

Ao Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM) e ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, que me recebeu tão bem assim quando cheguei, assim como a todos os professores do programa, por todos os conhecimentos repassados dia a dia, sempre disponíveis a sanar qualquer dúvida e nos ajudar na nossa caminhada para a formação em bons pensadores.

Ao meu Orientador, Professor Doutor Moisés Tolentino Bento da Silva, por toda a generosidade, paciência, carinho e empenho que tem com todos nós que fazemos parte do Laboratório de Exercício e TGI. Acredite, professor, você foi fundamental para essa vitória.

Agradeço imensamente aos meus pais, Expedito e Socorro, as minhas irmãs, Sayornara e Monalisa, por todo o carinho, cuidado, compreensão que tiveram comigo, nesses quase 2 anos em que houve toda a distância e o pouco convívio familiar devido aos dias inteiros dedicados à pesquisa.

A minha querida namorada e também mestranda em Farmacologia do PPGFARM, Simone, por toda a ajuda, paciência, amor e dedicação em que mutuamente compartilhamos durante os últimos anos. Obrigado por sempre poder contar com você.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Exercício Físico e Trato Gastrointestinal: Lúcia, Fernanda, Pedro, Raísa, Lara, Geovanne, Dyerson, Rainnerio, Patrick, Eveline, Mickael e Mariana. Meu muito obrigado a todos por todas as horas, dias, semanas, meses em que se dedicaram junto a mim a realizar o sonho de chegar até aqui. Podem contar comigo para o que precisarem.

Aos meus amigos da turma de mestrado. Agradeço por todos os momentos de companheirismo, ombro amigo e ajuda intelectual. Em especial ao Ruan, amigo de longa data que também esteve comigo na bancada, ao Rodrigo pelo convívio diário e por sempre ter uma palavra amiga a oferecer, ao Sávio, Ana Rita, Pollyana, pela amizade desde os tempos de Biomedicina, à Yara, Karol, Aline, Izabella, Layane, gratas surpresas que o mestrado trouxe para minha vida.

Aos funcionários do NPPM – Gleice Lima, Patrícia Portela, e ao Josi, por toda disponibilidade e atenção prestada, e além de tudo sua amizade.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo apoio financeiro e suporte técnico através do Portal de Periódicos e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão de financiamento do projeto de pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui.

*Érick Bryan de Sousa Lima*

LIMA, EBS. Exercício moderado e bloqueio do Sistema Renina Angiotensina melhoram a dismotilidade gástrica induzida por hipertensão renovascular (2 rins 1 clipe) em ratos [dissertação]. Piauí: Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Piauí; 2018

## RESUMO

A Hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada em níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA), iguais ou  $> 140$  mmHg, para a pressão sistólica, ou  $\geq 90$  mmHg para a pressão diastólica. O desenvolvimento da HAS pode estar relacionado a diversos fatores de risco e dentre os mecanismos fisiopatológicos relacionados com a causa da HAS cita-se a ativação do Sistema Renina Angiotensina (SRA), um sistema endócrino que através do seu principal mediador, Angiotensina II, visa principalmente o sistema renocardiocirculatório para manter o fluido e a homeostase de eletrólitos e controlar a pressão arterial (PA). Estudos relatam que o trato gastrointestinal expressa constitutivamente todos os componentes necessários para permitir a função autônoma do SRA e que a ANG II teve efeito direto sobre o músculo liso intestinal, musculatura circular do estômago e sobre o esvaziamento gástrico. Neste sentido, a hipertensão 2 rins-1 clipe (2R1C) é um modelo experimental bastante utilizado, em que há um aumento da atividade do SRA, mediada por Angiotensina II, que é essencial para o desenvolvimento e manutenção dessa hipertensão. Entretanto, pouco se sabe qual o efeito da Hipertensão 2R1C (H-2R1C) sobre a motilidade gastrointestinal. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da H-2R1C sobre a motilidade gástrica, bem como qual a influência do exercício e do bloqueio do SRA sobre esse fenômeno. Uma semana após os procedimentos cirúrgicos os ratos foram tratados com alisquireno (50 mg/kg), captopril (50 mg/kg) ou Losartana (10 mg/kg) por 4 semanas, via oral. Outro grupo de ratos H-2R1C foi submetido ao treinamento físico de (natação sobrecarga 5%, p.c). Após 4 semanas de tratamento farmacológico ou treinamento físico, avaliamos a retenção gástrica (RG), PAM, FC, VFC em todos os grupos. A H-2R1C aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) a RG, PAM e FC comparados aos ratos normotensos. O pré-tratamento com alisquireno, captopril, losartana bem como o exercício físico preveniram significativamente ( $p < 0,05$ ) os aumentos na RG, PAM, FC dos ratos H-2R1C comparados aos normotensos. A H-2R1C diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) a responsividade do fundo do estômago, fenômeno esse prevenido pelo exercício físico. No estudo realizado por meio de ensaio de contratilidade *in vitro*, os ratos com H-2R1C demonstraram uma responsividade reduzida e significativa ( $p < 0,05$ ) ao carbacol em comparação com os ratos normotensos nas diferentes concentrações investigadas, sugerindo que em ratos hipertensos há uma menor propagação do movimento contrátil. No entanto, quando os ratos com H-2R1C-Ex 5% foram avaliados quanto a sua contratilidade e comparado aos H-2R1C não treinados, verificou-se que o exercício físico alterou significativamente ( $p < 0,05$ ) a responsividade contrátil do fundo de estômago, promovendo uma recuperação na reposta contrátil ao carbacol nas concentrações investigadas. Concluímos que a H-2R1C aumenta a retenção gástrica. Esse fenômeno é ocasionado via SRA, onde o exercício físico e bloqueio com alisquireno, captopril e losartana previnem a dismotilidade.

**Palavras-Chave:** angiotensina II; hipertensão 2R1C; esvaziamento gástrico; exercício físico; sistema renina angiotensina

LIMA, EBS. Moderate exercise and blockade of the Renin Angiotensin System improve gastric dysmotility induced by renovascular hypertension (2 kidneys 1 clip) in rats [dissertação]. Piauí: Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Piauí; 2018

## ABSTRACT

Systemic arterial hypertension (SAH) is characterized in elevated and sustained blood pressure (BP) levels, equal or  $>140$  mmHg, for systolic pressure, or  $\geq 90$  mmHg for diastolic pressure. The development of hypertension may be related to several risk factors and among the pathophysiological mechanisms related to the cause of SAH is the activation of the Renin Angiotensin System (RAS), an endocrine system that, through its main mediator, Angiotensin II, aims to especially the renocardiovascular system to maintain electrolyte fluid and homeostasis and to control blood pressure (BP). Studies report that the gastrointestinal tract constitutively expresses all the necessary components to allow the autonomic function of the RAS and that ANG II had a direct effect on the intestinal smooth muscle, circular musculature of the stomach and on the gastric emptying. In this sense, the hypertension 2-kidney-1 clip (2K1C) is a widely used experimental model in which there is an increase in the activity of RAS, mediated by Angiotensin II, which is essential for the development and maintenance of this hypertension. However, little is known about the effect of 2K1C Hypertension (H-2K1C) on gastrointestinal motility. The objective of the study was to evaluate the effect of H-2K1C on gastric motility, as well as the influence of exercise and the blockade of RAS on this phenomenon. One week after the surgical procedures the rats were treated with aliskiren (50 mg/kg), captopril (50 mg/kg) or Losartan (10 mg/kg) for 4 weeks, orally. Another group of H-2K1C rats underwent physical training (swimming overload 5%, p.c). After 4 weeks of pharmacological treatment or physical training, we evaluated gastric retention (GR), MAP, HR, HRV in all groups. H-2K1C significantly increased ( $p < 0.05$ ) the RG, MAP and HR compared to normotensive mice. Pretreatment with aliskiren, captopril, losartan and physical exercise significantly ( $p < 0.05$ ) prevented increases in RG, MAP, HR of H-2K1C rats compared to normotensive rats. H-2K1C significantly decreased ( $p < 0.05$ ) the responsiveness of the stomach fund, a phenomenon prevented by physical exercise. In the study performed by *in vitro* contractility assay, H-2K1C mice demonstrated reduced and significant ( $p < 0.05$ ) responsiveness to carbachol compared to normotensive mice at the different concentrations investigated, suggesting that in hypertensive rats there are a lesser spread of contractile movement. However, when rats with 5% H-2K1C-Ex were evaluated for their contractility and compared to untrained H-2K1C, physical exercise significantly altered ( $p < 0.05$ ) the contractile responsiveness of the background of the stomach, promoting a recovery in the contractile response to carbachol at the concentrations investigated. We conclude that H-2K1C increases gastric retention. This phenomenon is caused by RAS, where physical exercise and blockade with aliskiren, captopril and losartan prevent dysmotility.

**Keywords:** angiotensin II; 2K1C hypertension; gastric emptying; physical exercise; renin angiotensin system

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Visão linear do Sistema Renina-Angiotensina (SRAA) .....	27
<b>Figura 2:</b> Efeitos da Angiotensina II em diferentes órgãos .....	28
<b>Figura 3:</b> Modelo de hipertensão renovascular Goldblatt I (2R1C) e principais alterações patofisiológicas .....	31
<b>Figura 4:</b> Representação ilustrativa das regiões anatômicas do estômago .....	34
<b>Figura 5:</b> Representação ilustrativa dos mecanismos fisiológicos que ocorrem durante o esvaziamento gástrico.....	35
<b>Figura 6:</b> Distribuição dos componentes do SRA no estômago .....	37
<b>Figura 7:</b> Locais de ação de agentes farmacológicos sobre o SRA .....	38
<b>Figura 8:</b> Representação esquemática de delineamento experimental.....	45
<b>Figura 9:</b> Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda.....	48
<b>Figura 10:</b> Protocolo de Exercício físico (5% p.c.) em execução.....	49
<b>Figura 11:</b> Foto ilustrativa do sistema computadorizado de aquisição de sinais biológicos. ....	51
<b>Figura 12:</b> Sistema in vitro utilizado. Transdutor de tensão acoplado a um amplificador de sinal .....	55
<b>Figura 13:</b> Valores de pressão arterial sistólica (PAS mmHg) obtidos pelo método de pletismografia de cauda, antes do início dos protocolos .....	57

<b>Figura 14:</b> Efeito do pré-tratamento com captopril (A) e losartana (B) sobre o aumento da retenção gástrica induzida por ANG II.....	59
<b>Figura 15:</b> Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento associado ao exercício físico (5% p.c) sobre a (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C.....	61
<b>Figura 16:</b> Registros originais da (PAM, mmHg) do grupo Alisquireno e Ex 5% em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos que contém a PAP (pressão arterial pulsátil) e a PAM (pressão arterial média) .....	62
<b>Figura 17:</b> Efeito do tratamento com Alisquireno e da sua associação ao exercício sobre os valores de Frequência cardíaca (FC, bpm), mensurada através de ECG.....	65
<b>Figura 18:</b> Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Exercício 5% sobre a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC).....	67
<b>Figura 19:</b> Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Exercício 5% sobre o índice de retenção gástrica .....	68
<b>Figura 20:</b> Correlação entre o componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com Alisquireno.....	70
<b>Figura 21:</b> Correlação entre o componente HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com Alisquireno.....	71
<b>Figura 22:</b> Correlação entre o componente LF/HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados	

com Alisquireno.....	72
<b>Figura 23:</b> Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento associado ao Exercício físico (5% p.c) sobre a (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos (2R1C) .....	74
<b>Figura 24:</b> Registros originais da (PAM, mmHg) do grupo Captopril e do Ex 5% em ratos normotensos e hipertensos (2R1C). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos que contém a PAP (pressão arterial pulsátil) e a PAM (pressão arterial média) .....	75
<b>Figura 25:</b> Efeito do tratamento com Captopril e da sua associação ao exercício sobre os valores de Frequência cardíaca (FC, bpm), mensurada através de ECG.....	78
<b>Figura 26:</b> Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento + Exercício 5% sobre a Variabilidade da Frequencia Cardíaca (VFC) .....	80
<b>Figura 27:</b> Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento + Exercício 5% sobre a taxa de retenção gástrica .....	81
<b>Figura 28:</b> Correlação entre o componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com captopril.....	83
<b>Figura 29:</b> Correlação entre o componente HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com captopril.....	84
<b>Figura 30:</b> Correlação entre o componente LF/HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com captopril.....	85
<b>Figura 31:</b> Efeito do tratamento com Losartana ou de tratamento + Exercício 5% sobre a (PAM, mmHg), em ratos normotensos e hipertensos 2R1C ....	86

<b>Figura 32:</b> Registros originais da (PAM, mmHg) do grupo Losartana e Ex 5% em ratos normotensos e hipertensos (2R1C). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos que contêm a PAP (pressão arterial pulsátil) e a PAM (pressão arterial média).....	87
<b>Figura 33:</b> Efeito do tratamento com Losartana e da sua associação ao exercício sobre os valores de Frequência cardíaca (FC, bpm), mensurado através de ECG.....	90
<b>Figura 34:</b> Efeito do tratamento com losartana ou de tratamento + Exercício 5% sobre a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) .....	92
<b>Figura 35:</b> Efeito do tratamento com Losartana ou de tratamento + Exercício 5% sobre a taxa de retenção gástrica .....	93
<b>Figura 36:</b> Correlação entre o componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com losartana.....	95
<b>Figura 37:</b> Correlação entre o componente HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com losartana.....	96
<b>Figura 38:</b> Correlação entre o componente LF/HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com losartana.....	97
<b>Figura 39:</b> Efeito da Hipertensão (2R1C) e do Exercício 5% sobre a responsividade ao Carbacol em tiras isoladas de fundo de estômago em ratos normotensos, hipertensos, normotensos treinados e hipertensos treinados.....	99

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Modelos experimentais de hipertensão com diferentes etiologias.....	30
--	----

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>1R1C</b>	1 rim – 1 clipe
<b>2R1C</b>	2 rins – 1 clipe
<b>2R2C</b>	2 rins – 2 cliques
<b>AM</b>	aminopeptidase
<b>ANG I</b>	angiotensina I
<b>ANG II</b>	angiotensina II
<b>ATP</b>	trifosfato de adenosina
<b>AT<sub>1</sub></b>	receptor de angiotensina I
<b>AT<sub>2</sub></b>	receptor de angiotensina II
<b>BPM</b>	batimentos por minuto
<b>CCh</b>	carbacol
<b>DOCA</b>	acetato de desoxicorticosterona
<b>ECA</b>	enzima conversora de angiotensina
<b>ECG</b>	eletrocardiograma
<b>EF</b>	exercício físico
<b>EG</b>	esvaziamento gástrico
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintase endotelial
<b>ET-1</b>	endotelina-1
<b>FC</b>	frequência cardíaca
<b>FFAs</b>	radicais livres
<b>HAS</b>	hipertensão arterial sistêmica
<b>ICC</b>	células intersticiais de cajal
<b>I.M</b>	intramuscular
<b>I.P</b>	intraperitoneal
<b>LF</b>	baixa frequência
<b>HF</b>	Alta frequência
<b>mRNA</b>	RNA mensageiro
<b>NADPH</b>	fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
<b>NaOH</b>	hidróxido de sódio
<b>NO</b>	óxido nítrico

<b>O2</b>	ânion superóxido
<b>PA</b>	pressão arterial
<b>PAD</b>	pressão arterial diastólica
<b>PAF</b>	fator de ativação de plaquetas
<b>PAM</b>	pressão arterial média
<b>PAP</b>	pressão arterial de pulso
<b>PAS</b>	pressão arterial sistólica
<b>PE</b>	polietileno
<b>PEN</b>	endopeptidase neutra
<b>i. p</b>	intraperitoneal
<b>RG</b>	retenção gástrica
<b>RR</b>	intervalo RR
<b>ROS</b>	espécies reativas de oxigênio
<b>SHR</b>	ratos espontaneamente hipertensos
<b>SNA</b>	sistema nervoso autônomo
<b>SNC</b>	sistema nervoso central
<b>SNE</b>	sistema nervoso entérico
<b>SNP</b>	sistema nervoso periférico
<b>SRA</b>	sistema renina angiotensina
<b>SRAA</b>	sistema renina angiotensina aldosterona
<b>TCA</b>	ácido tricloroacético
<b>TGI</b>	trato gastrointestinal
<b>VFC</b>	variabilidade da frequência cardíaca
<b>v.o</b>	via oral

## **UNIDADES**

<b>g</b>	grama
<b>h</b>	hora
<b>M</b>	molar
<b>N</b>	normal
<b>mg / kg</b>	miligrama por quilograma

<b>nm</b>	nanômetro
<b>μL</b>	microlitro
<b>μM</b>	micromoles
<b>μg</b>	micromol por grama

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	24
1.1. PROBLEMATIZAÇÃO .....	24
1.2. A HIPERATIVIDADE SIMPÁTICA E O SRA NO DESENVOLVIMENTO DA HAS .....	26
1.2.1. Modelos experimentais de hipertensão arterial .....	28
1.2.2. A influência da angiotensina II na hipertensão renovascular (2R1C) .....	30
1.3. SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NO TRATO GASTRINTESTINAL .....	32
1.3.1. O Sistema Renina Angiotensina no estômago.....	33
1.4. ESVAZIAMENTO GÁSTRICO.....	35
1.5. BLOQUEIO FARMACOLÓGICO DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA .....	38
1.6. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A HIPERTENSÃO ARTERIAL E O TRATO GASTRINTESTINAL .....	39
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	41
2.1. OBJETIVO GERAL .....	42
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	42
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	43
3.1. MATERIAIS .....	44
3.2. FÁRMACOS E REAGENTES.....	44
3.3. ANIMAIS .....	44
3.4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS .....	46
3.4.1. Influência da Angiotensina II sobre a motilidade gástrica .....	46
3.4.2. Indução de Hipertensão renovascular .....	46

3.4.3. Avaliação indireta da pressão arterial (PA) através de Pletismografia de cauda .....	46
3.4.4. Protocolo de Exercício Físico.....	48
3.4.5. Tratamento com os Anti-hipertensivos: Alisquireno, Captopril e Losartana .....	49
3.4.6. Canulação arterial e implantação de eletrodos para registro de eletrocardiograma (ECG) .....	50
3.4.7. Avaliação direta de PAM e FC .....	50
3.4.8. Análise da Variabilidade da frequência cardíaca (VLF).....	52
3.4.9. Avaliação do Esvaziamento Gástrico de Líquidos .....	54
3.4.10. Avaliação da Responsividade ao Carbacol (cch) em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos.....	54
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	55
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>57</b>
4.1. RESPOSTAS PRESSÓRICAS OBTIDAS ATRAVÉS DA PLETISMOGRAFIA DE CAUDA .....	57
4.2. EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE ANGIOTENSINA II E DOS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS – LOSARTANA E CAPTOPRIL SOBRE A MOTILIDADE GÁSTRICA .....	58
4.3. RESPOSTA DA PAM, FC, RR', RG E VFC EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C) AO TRATAMENTO COM ALISQUIRENO E SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO COM CARGA (5% p.c.) .....	60
4.3.1. Resposta da PAM em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Alisquireno e submetidos ou não ao Exercício com carga (5% p.c.).....	60

4.3.2. Resposta da FC em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Alisquireno e submetidos ou não ao exercício com carga (5% p.c.).....	65
4.3.3. Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Ex 5% sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos hipertensos 2R1C.....	66
4.3.4. Efeito do tratamento com alisquireno ou de tratamento + Ex 5% sobre o aumento da taxa de retenção gástrica induzida por hipertensão renovascular (2R1C) em ratos. ....	68
4.3.5. Correlação entre os componentes da VFC (LF, HF, LF/HF) e a retenção gástrica em animais hipertensos 2R1C submetidos ao Ex 5% e ao tratamento com Alisquireno.....	69
4.4. RESPOSTA DA PAM, FC, RR', RG E VFC EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C) AO TRATAMENTO COM CAPTOPRIL E SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO COM CARGA (5% p.c.) .....	73
4.4.1. Resposta da PAM em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Captopril e submetidos ou não ao Exercício com carga (5% p.c.).....	73
4.4.2. Resposta da FC em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) tratados com Captopril e submetidos ao Exercício com carga (5% p.c.).	78
4.4.3. Efeito do tratamento com captopril ou de tratamento + Ex 5% sobre o aumento da taxa de retenção gástrica induzida por hipertensão renovascular (2R1C) em ratos. ....	79
4.4.4. Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento + Ex 5% sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos hipertensos 2R1C.....	81
4.4.5. Correlação entre os componentes da VFC (LF, HF, LF/HF) e a retenção gástrica em animais hipertensos 2R1C submetidos ao Ex 5% e ao tratamento com Captopril .....	82

4.5. RESPOSTA DA PAM, FC, RR', RG E VFC EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C) AO TRATAMENTO COM LOSARTANA E SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO COM CARGA (5% p.c.).....	86
4.5.1. Resposta da PAM em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Losartana e submetidos ou não ao exercício com carga (5% p.c.).....	86
4.5.2. Resposta da FC em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) tratados com losartana e submetidos ao Exercício com carga (5% p.c.) .....	90
4.5.3. Efeito do tratamento com losartana ou de tratamento + Ex 5% sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos hipertensos 2R1C.....	91
4.5.4. Efeito do tratamento com losartana ou de tratamento + exercício 5% sobre o aumento da taxa de retenção gástrica induzida por hipertensão renovascular (2R1C) em ratos .....	93
4.5.5. Correlação entre os componentes da VFC (LF, HF, LF/HF) e a retenção gástrica em animais hipertensos 2R1C submetidos ao Ex 5% e ao tratamento com losartana.....	94
4.6. EFEITO DO EXERCÍCIO (5% P.C.) SOBRE A RESPONSABILIDADE AO CARBACOL (CCH) EM TIRAS ISOLADAS DE FUNDO DE ESTÔMAGO DE RATOS HIPERTENSOS 2R1C.....	98
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>101</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>101</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>111</b>
<b>ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CEEA/UFPI.....</b>	<b>126</b>

# *Introdução*

---

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1. PROBLEMATIZAÇÃO

No Brasil, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) atinge 32,5% (36 milhões) de indivíduos adultos, mais de 60% dos idosos, contribuindo direta ou indiretamente para 50% das mortes por doenças cardiovasculares (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016). A HAS é caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA), iguais ou acima de 140 mmHg, para a pressão sistólica, ou iguais ou acima de 90 mmHg para a pressão diastólica. O aumento da PA constitui fator de risco predominante para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e afeta mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo (FIGUEIREDO et al., 2009). Muitos fatores fisiopatológicos podem estar envolvidos no desenvolvimento da HAS, incluindo a diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), o estresse oxidativo (MANRIQUE et al., 2009), a hiperatividade do sistema nervoso simpático e distúrbios no Sistema Renina-Angiotensina (SRA) (MANRIQUE et al., 2009; PATEL et al., 2017).

O sistema nervoso autônomo tem papel importante no controle da PA. Esse controle se dá a curto ou em longo prazo (JOYNER; CHARKOUDIAN; WALLIN, 2010). Em curto prazo (segundos), esses ajustes são causados por mudanças na neurotransmissão autônoma em direção ao coração e aos vasos periféricos. O baroreflexo arterial é o mecanismo isolado mais importante de regulação da PA em curto prazo. Os componentes deste reflexo incluem os receptores sensoriais, as vias aferentes, o centro de integração do sistema nervoso central, as vias eferentes e os órgãos efetores (COWLEY et al., 1973). Por outro lado, em longo prazo (minutos ou dias), outros mecanismos, tais como as mudanças no débito cardíaco causadas por alterações no volume sanguíneo, passam a ter um papel mais importante no controle da PA, bem como modificações na homeostase do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) (WALLIN; CHARKOUDIAN, 2007, MANRIQUE et al., 2009).

O SRA mantém a tonicidade vascular regulando o volume de fluido extracelular e a pressão arterial (NAVAR, 2014). Além disso, esse sistema também regula a quantidade de água, de sangue, de plasma e de líquido intersticial, para

que ambos estejam em quantidades adequadas para o bom funcionamento do coração, dos demais órgãos pulsantes e dos rins (IRAVANIAN; DUDLEY, 2008). Entretanto, perturbações neste sistema podem alterar os valores pressóricos, podendo ocasionar doenças agudas ou crônicas levando até mesmo a quadros de morte súbita (PATEL et al., 2017).

No contexto de pesquisas voltadas para o estudo dos mecanismos que envolvem a hipertensão, o modelo experimental 2 rins e 1 clipe (2R1C) é frequentemente utilizado, visto que no mesmo ocorre aumento da concentração de renina e de angiotensina II (ANG II) e, conseqüentemente eleva-se a atividade do SRA, mimetizando a hipertensão que ocorre em humanos (OLIVEIRA - SALES et al., 2014).

A HAS frequentemente se associa a distúrbios metabólicos, incluindo alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo, sendo agravada pela presença de outros fatores de risco, como a dislipidemia, a obesidade abdominal e a diabetes do tipo 2 (WEBER et al., 2014). Além dessas disfunções, a hipertensão também pode ocasionar efeitos secundários em outros sistemas fisiológicos como o trato gastrointestinal (TGI), onde a mesma pode gerar sintomas de isquemia da parede gastrointestinal, eritema da mucosa e sangramento para o interior da cavidade gástrica (BURAK et al., 2001).

Nas últimas décadas, muitos estudos foram conduzidos para avaliar os efeitos do SRA no TGI. Assim, vários componentes do SRA foram encontrados amplamente distribuídos ao longo dos tecidos gastrintestinais, incluindo a enzima conversora de angiotensina (ECA), a ANG II e os seus receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>, dentre outros componentes (SECHI et al., 1993; HALLERSUND et al., 2011). Além disso, foi demonstrado experimentalmente que a administração intraperitoneal de ANG II diminuiu o esvaziamento gástrico de ratos, enquanto que o bloqueio farmacológico de receptores AT<sub>1</sub> pela saralasin reverteu esse efeito, sugerindo a importância do RAS na retenção gástrica (SCARPIGNATO et al., 1983).

Referente ao tratamento da HAS, o mesmo consiste na utilização de fármacos anti-hipertensivos, mais também inclui algumas medidas importantes, como alimentação saudável, combate ao tabagismo e redução da ingestão de bebidas alcoólicas (TSIOUFIS; THOMOPOULOS, 2017). Além disso, uma alternativa para os indivíduos que desenvolvem hipertensão é a adoção da prática regular de exercício

físico (EF), que nos últimos anos tem evoluído bastante, onde cada vez mais programas voltados para a qualidade de vida têm adotado como alvo principal a realização de EF orientado (MICHAEL; GARFINKLE, 2017).

As eventuais repercussões fisiológicas sistêmicas provocadas pela prática de exercício são pontos convergentes de grandes estudos epidemiológicos longitudinais, os quais buscam entender como as adaptações promovidas pelo exercício podem ser empregadas como terapia não farmacológica (DIPIETRO, 1995; GOLUBIC, et al., 2012). Portanto, é de fundamental importância ampliar os estudos que buscam compreender os mecanismos subjacentes das ações do SRA no TGI. Além disso, identificar o papel do EF sobre os parâmetros gastrintestinais também constitui uma área de pesquisa bastante relevante para a compreensão desses mecanismos.

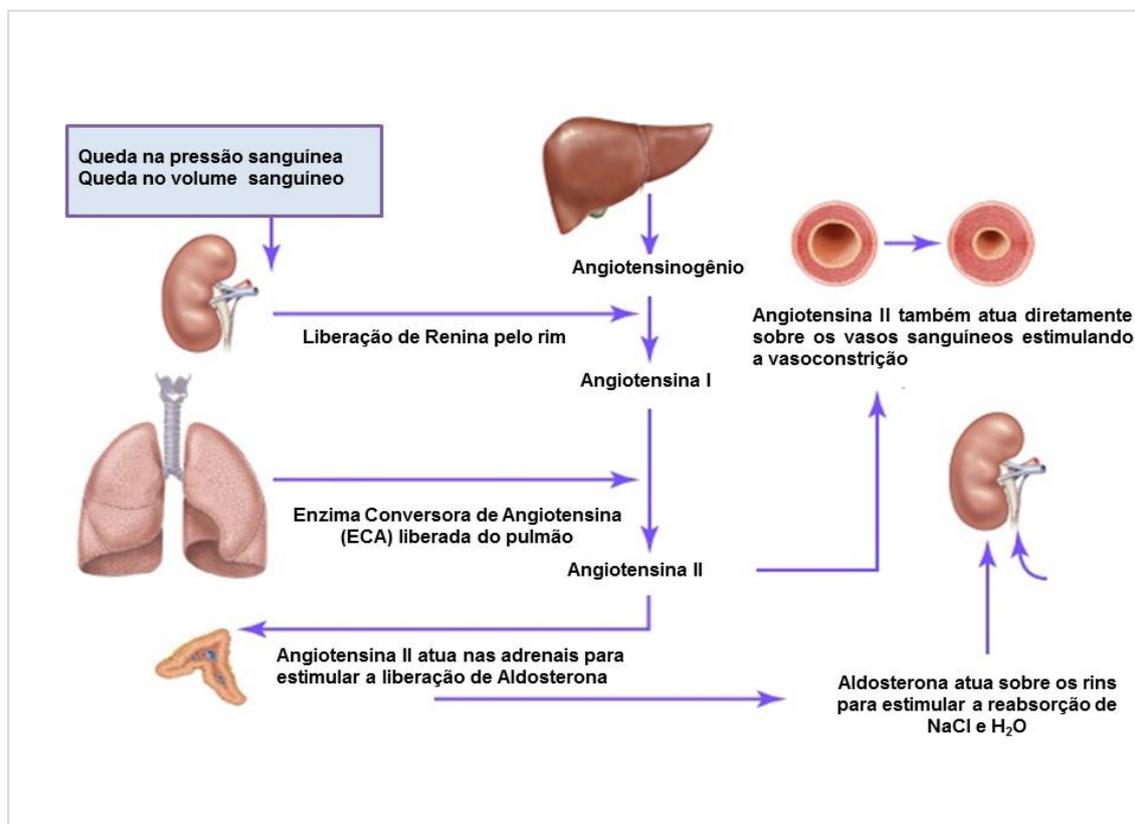
## **1.2. A HIPERATIVIDADE SIMPÁTICA E O SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NO DESENVOLVIMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA**

O sistema nervoso autônomo e o seu componente simpático desempenham papéis importantes na regulação (em curto prazo) da PA, especialmente através de mecanismos barorreflexos (JOYNER; CHARKOUDIAN; WALLIN, 2010). Entretanto, aumentos nos níveis plasmáticos circulantes de neurotransmissores adrenérgicos, como adrenalina e noradrenalina, estão relacionados com o desenvolvimento da HAS (FIGUEIREDO et al., 2009). Neste contexto, a hiperatividade simpática foi encontrada em muitos pacientes com hipertensão (BEEVERS; LIP, O'BRIEN, 2001), sendo descrita como fenômeno generalizado, independentemente dos aspectos clínicos heterogêneos que acompanham o estado de pressão alta. Além da hiperatividade simpática, a HAS também pode ter como causa uma desregulação no SRA (MANRIQUE et al., 2009).

O SRA é ativado quando há redução no volume sanguíneo, caracterizado por diminuição da PA ou deficiência de sódio. Esses eventos conduzem a elevação da expressão de renina, enzima que é liberada pelos rins (MANRIQUE et al., 2009). A renina age clivando o angiotensinogênio (liberado pelo fígado) no decapeptídeo angiotensina I (ANG I). Posteriormente, a ANG I é clivada no octapeptídeo ANG II por ação da ECA, expressa por células endoteliais, principalmente nos vasos sanguíneos dos pulmões (FANDRIKS, 2011). Nas glândulas suprarrenais, a ANG II

se liga aos seus receptores ( $AT_1$ ) e estimula a liberação de aldosterona, que por sua vez, mantém a homeostase de sódio e de potássio, estimulando os túbulos contorcidos proximais dos rins para aumentarem a reabsorção de sódio e consequentemente, para reduzir os níveis de potássio (Figura 1) (YATABE et al., 2011). Desequilíbrios neste sistema podem ocasionar a ativação excessiva do SRA e aumentar os riscos de desenvolvimento da HAS.

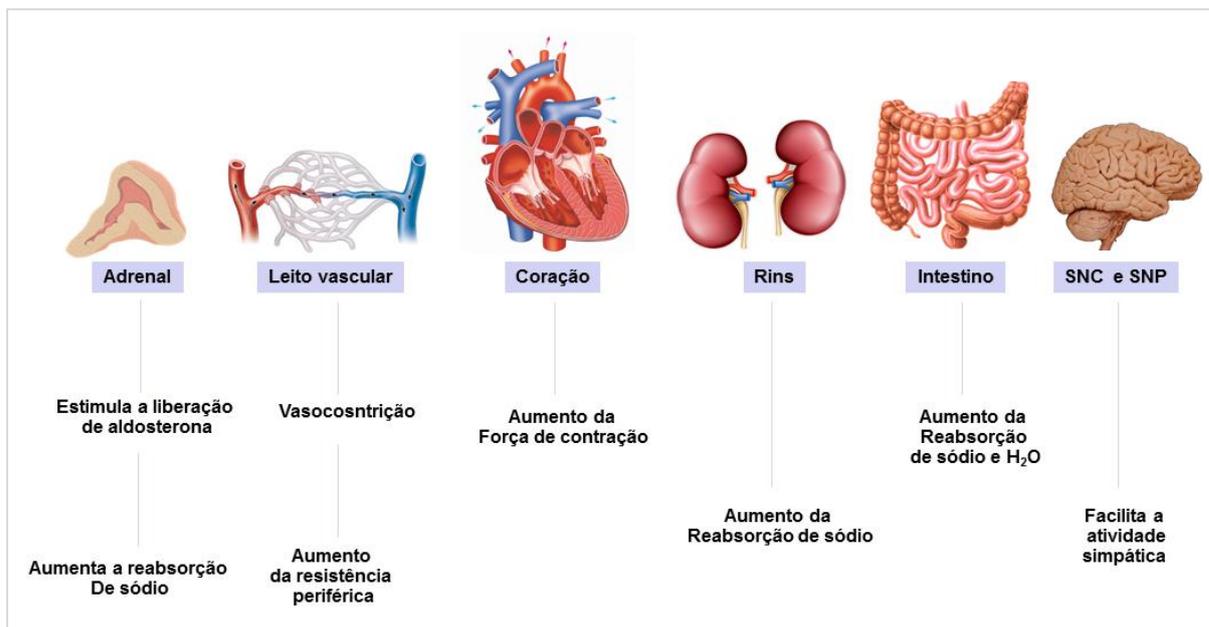
**Figura 1.** Visão linear do Sistema Renina-Angiotensina Aldosterona (SRAA).



Fonte: Adaptado de Enciclopédia Britânica, 2017.

A ANG II promove efeitos em muitos órgãos e sistemas. No leito vascular, esse octapeptídeo induz a vasoconstrição e o aumento da resistência periférica; no coração: aumenta a força de contração; nos rins: aumenta a retenção de sódio; no intestino: induz a reabsorção de sódio e água; no sistema nervoso central (SNC): estimula a liberação do hormônio antidiurético e aumenta a descarga simpática; no sistema nervoso periférico (SNP): aumenta a atividade adrenérgica, facilitando a atividade simpática (Figura 2) (NAVAR et al., 1998).

**Figura 2.** Efeitos da Angiotensina II em diferentes órgãos.



Fonte: Adaptado e modificado de NAVAR et al., 1998.

### 1.2.1. Modelos experimentais de hipertensão arterial

Há uma busca exaustiva por um modelo experimental que consiga repercutir a hipertensão, principalmente devido as suas causas multifatoriais e as suas eventuais repercussões sobre diversos sistemas fisiológicos (BEEVERS; LIP; O'BRIEN, 2001). Neste sentido, ao longo dos anos foram desenvolvidos diversos modelos experimentais para o estudo da HAS. Na década de sessenta, Okamoto e Aoki (1963) apresentaram um modelo de hipertensão experimental sem o envolvimento de intervenção fisiológica, farmacológica ou cirúrgica. Este modelo é conhecido como rato espontaneamente hipertenso (SHR), sendo originado de cepa genética de rato hipertenso. O SHR tornou-se o modelo animal de escolha para a triagem de agentes anti-hipertensivos, e a sua importância se deu principalmente pela similaridade da sua fisiopatologia com a hipertensão essencial (primária) humana (TRIPPODO; FROHLICH, 1981).

Outro modelo muito utilizado experimentalmente é a hipertensão induzida pela administração de acetato de desoxicorticosterona (DOCA) em combinação com cloreto de sódio em ratos com nefrectomia unilateral. Trata-se de um modelo animal caracterizado por estresse oxidativo e inflamatório no sistema cardiovascular (IYER;

CHAN; BROWN, 2010). Além desses modelos, a hipertensão também pode ser induzida pela administração prolongada de inibidores da síntese de óxido nítrico, como o L-NAME (RIBEIRO et al., 1992; NYADJEU et al., 2013), ou por alteração no sistema nervoso autônomo como ocorre na hipertensão neurogênica, que resulta de uma desregulação de mecanismos simpáticos e neuroendócrinos (LERMAN et al., 2005; STOCKER et al., 2017).

Um trabalho pioneiro realizado por Goldbalt et al., (1934), levou ao desenvolvimento de um dos primeiros modelos animais de hipertensão. Neste estudo, foi induzida a hipertensão em cães por meio da constrição unilateral da artéria renal, devido a colocação de um clipe de prata (GOLDBALT et al., 1934). Os modelos de hipertensão desenvolvidos por Goldbalt e colaboradores foram classificados como: 1 rim e 1 clipe (1R1C); 2 rins e 2 cliques (2R2C) e 2 rins e 1 clipe (2R1C). As principais características apresentadas em cada um desses modelos de hipertensão citados nesta seção estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Modelos experimentais de hipertensão com diferentes etiologias.

<b>Modelo experimental</b>	<b>Principais características</b>
Hipertensão genética - SHR	A hipertensão inicia-se na 5ª semana de vida com pico entre a 20ª e a 28ª semanas. Ocorre aumento da resistência periférica total, débito cardíaco normal ou diminuído e hipertrofia cardíaca (FAZAN JR et al., 2001).
Hipertensão endócrina - Administração de DOCA/NaCl	Ocorre hipertrofia; fibrose e disfunção endotelial. Há depleção da atividade do SRA, com diminuição da concentração plasmática de renina circulante (IYER; CHAN; BROWN, 2010).
Hipertensão farmacológica - Administração de L-NAME	A hipertensão inicia-se após 4 semanas do tratamento com L-NAME. Há dano tecidual cardíaco e aórtico além de fibrose vascular renal e glomerular. Ocorre também disfunção endotelial a medida que a PA eleva-se (NYADJEU et al., 2013).
Hipertensão renovascular	1R1C - Há níveis plasmáticos baixos de renina, angiotensina e aldosterona (CARRETERO et al., 1974); 2R2C - Os níveis circulantes de renina e aldosterona são aumentados principalmente na fase inicial da hipertensão (MOON, 2013); 2R1C - Há elevação na concentração de renina e de angiotensina II circulantes (LERMAN et al., 2005).

Legenda: SHR: rato espontaneamente hipertenso; NaCl: cloreto de sódio; SRA: sistema renina angiotensina; DOCA: acetato de desoxicorticosterona; PA: Pressão arterial; L-NAME: N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginina metil éster. Adaptado de LEONG et al., 2017.

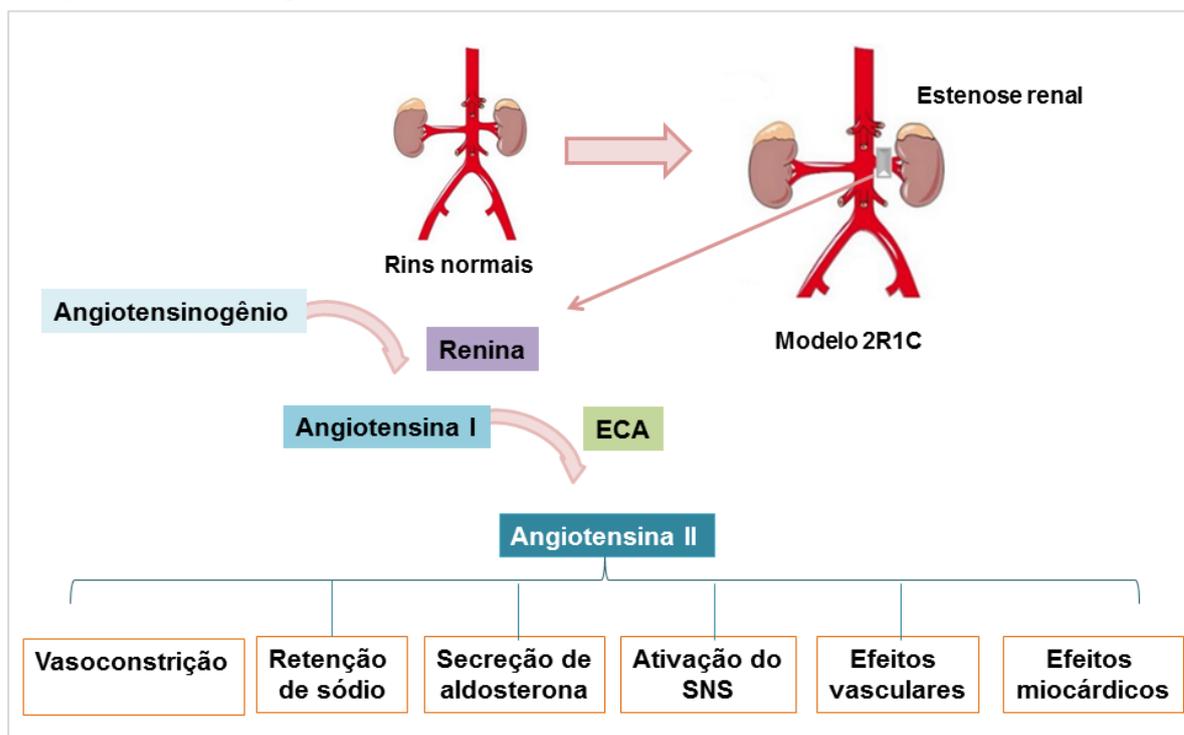
### **1.2.2. A influência da angiotensina II na hipertensão renovascular (2R1C)**

Na literatura, é bem descrito que o desenvolvimento da hipertensão após a redução do fluxo sanguíneo para um rim, devido à colocação de um clipe e a presença de um rim contralateral intacto, é mediado pelo SRA e é responsável por gerar índices de hipertensão satisfatórios, ou seja, maiores ou iguais a 140 mmHg (MARTINEZ-MALDONADO et al., 1991). Os valores pressóricos alcançados no

modelo 2R1C, assim como o tempo de manutenção da hipertensão dependem do tipo de animal utilizado e do grau de estenose da artéria renal, os ratos parecem desenvolver hipertensão renovascular mais facilmente que cães (FAZAN JR et al., 2001).

Nesse modelo há hiperativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Na fase inicial da hipertensão renovascular, a ativação do RAAS é importante para desencadear a pressão arterial e outros mecanismos envolvidos nas alterações cardiovasculares e renais (LINCEVICIUS et al., 2015). A alta concentração de ANG II conduz a maior ativação de receptor  $AT_1$  (NISHI et al., 2010), para induzir efeitos que atuam sobre o sistema cardiovascular, incluindo aumento do estresse oxidativo, disfunção barorreflexa (OLIVEIRA-SALES et al., 2008; LINCEVICIUS et al., 2015) e maior ativação do sistema nervoso simpático e consequentemente, o aumento da PA (Figura 3) (NAVAR et al., 1998; LERMAN et al., 2005). Por conta disso, o modelo de hipertensão 2R1C é bastante utilizado experimentalmente por se assemelhar com a hipertensão renovascular humana (FAZAN JR et al., 2001).

**Figura 3.** Modelo de hipertensão renovascular Goldbalt (2R1C) e principais alterações patofisiológicas.



Fonte: autoria própria, 2017.

De acordo com um estudo descrito por Oliveira - Sales, (2014), a hipertensão 2R1C em ratos evolui em três fases. A fase I dura em torno de 4 semanas após a colocação do clipe, onde o aumento quase que imediato da PA está associado com a elevação da atividade plasmática de renina e com o aumento da concentração de ANG II circulante. Nesta fase se o clipe for removido, após 7 a 10 dias, a PA poderá retornar aos valores normais. A fase II dura em torno de 5 a 8 semanas após a colocação do clipe. Durante essa fase a PA pode continuar estável ou aumentando, e os níveis plasmáticos de renina começam a diminuir. Entretanto, a infusão de ANG II exógena, durante essa fase, demonstrou aumento na sua sensibilidade, ou seja, é necessário menor nível de ANG II para aumentar a PA. Há também o aumento do volume plasmático e a elevação dos níveis de sódio. Nesta fase, se o clipe for retirado da artéria renal ou se houver tratamento com inibidores farmacológicos da ECA, como o captopril, a PA poderá voltar ao normal. Até esse ponto tem-se a fase renina-dependente. A fase III ocorre após 9 semanas da colocação do clipe. Dessa forma, a PA continua alta e mais elevada que na fase I, entretanto, há uma queda da atividade plasmática da renina e da concentração plasmática de ANG II quando comparado com a fase II. Deste modo, a remoção do clipe ou a administração de inibidores do SRA, são incapazes de restabelecer totalmente a PA aos seus parâmetros normais (OLIVEIRA - SALES, 2014).

### **1.3. O SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NO TRATO GASTRINTESTINAL**

O SRA foi, por muitos anos, descrito como um sistema endócrino com enzimas e peptídeos liberados na circulação sistêmica, e que atua em vários órgãos alvo (MANRIQUE et al., 2009). É amplamente descrito na literatura que a maioria dos órgãos, incluindo o cérebro, rins, coração, fígado, pâncreas, órgãos reprodutivos, pele e o TGI expressam constitutivamente todos os componentes necessários para permitir a função autônoma do SRA (GARG et al., 2012).

Os primeiros estudos demonstrando a influência do ANG II nas funções do TGI foram inicialmente publicados na década de 1960 (KHAIRALLAH; PAGE, 1962; TURKER; KAYAALP, 1967; BELESLIN et al., 1968). Assim, a compreensão do envolvimento do SRA no TGI evoluiu gradualmente desde a formulação da hipótese da ANG II ter efeito direto sobre o músculo liso intestinal (KHAIRALLAH; PAGE,

1962), além de um efeito indireto através de neurônios colinérgicos do plexo mioentérico (ROBERTSON; RUBIN, 1962).

Estudos mais avançados no campo da farmacodinâmica, assim como o uso de técnicas de imunohistoquímica, demonstrou a localização dos receptores de ANG II, principalmente ao longo da mucosa gastrintestinal de humanos saudáveis, incluindo o estômago, o intestino delgado e a mucosa colônica (HIRASAWA et al., 2002; CASSELBRANT et al., 2009; HALLERSUND et al., 2011). Do mesmo modo, foi observada a presença de receptores AT<sub>1</sub> em diferentes tipos de células endócrinas presentes na mucosa antral, sugerindo a existência da regulação da sinalização hormonal antral mediada por ANG II (HALLERSUND et al., 2011). Dentro desse mesmo contexto, no estudo realizado por Scarbignato et al., (1983) foi demonstrado que a administração de ANG II em ratos reduziu o esvaziamento gástrico, e esse efeito foi abolido quando se utilizou a saralasin (antagonista do receptor AT<sub>1</sub>), mostrando, portanto, a ação da ANG II em seus receptores específicos presentes no tecido gástrico animal. Além disso, o bloqueio da ANG II para inibir a contração do músculo liso do esôfago, demonstrou uma redução na amplitude de contração das ondas esofágicas peristálticas primárias e do esfíncter esofágico inferior durante um ensaio de manometria *in vivo* (CASSELBRANT et al., 2007).

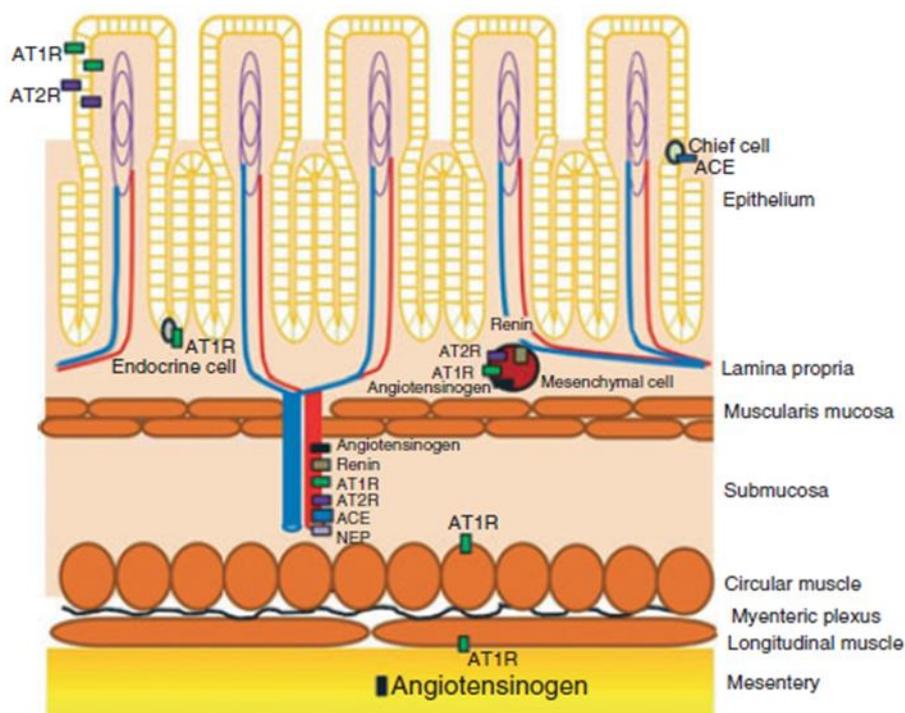
A presença dos vários componentes do SRA no TGI aumenta a possibilidade de que a modificação local deste sistema possa ser alvo com potencial terapêutico para um conjunto de doenças gastrointestinais, onde as estratégias atuais não são completamente eficazes. Entre essas doenças estão o câncer gastrintestinal, os distúrbios de motilidade intestinal, a isquemia mesentérica e a doença intestinal inflamatória, dentre outras (GARG et al., 2012).

### **1.3.1. O Sistema Renina Angiotensina no estômago**

Como descrito anteriormente, no TGI foram encontrados vários componentes do SRA tanto em amostras da mucosa antral quanto no corpo gástrico de adultos saudáveis (SECHI et al., 1993; HALLERSUND et al., 2011). A ECA foi identificada em células principais e em células secretoras de mucina, na região do antro gástrico (GARG et al., 2012). Além disso, tanto a renina quanto o angiotensinogênio foram

detectados em células mesenquimais da lâmina própria e em células endoteliais vasculares, e os receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> foram ambos observados no epitélio gástrico, principalmente na superfície basal, sugerindo os efeitos locais mediados pela ANG II nas funções epiteliais da mucosa, nas propriedades endócrinas antrópicas, na permeabilidade microvascular e na inflamação gástrica (HALLERSUND et al., 2011)

**Figura 4.** Distribuição dos componentes do SRA no estômago



Fonte: GARG et al., 2012.

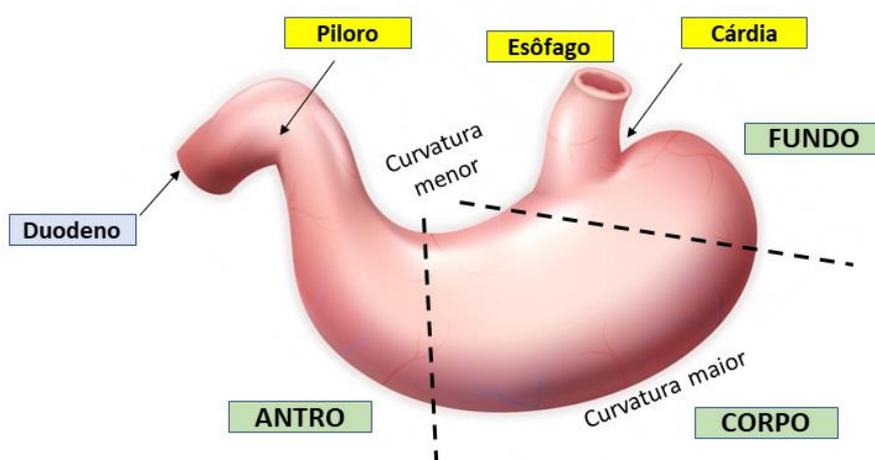
A ANG II é capaz de modular as funções gastrintestinais e tem efeito sobre a esvaziamento gástrico (SCARBIGNATO et al., 1983). Foi demonstrado experimentalmente que tanto a musculatura longitudinal, quanto a musculatura circular do estômago responderam ao tratamento com ANG II (LUDTKE et al., 1989). De modo semelhante, outros componentes do SRA também foram descritos como relevantes para o controle das funções gastrintestinais, por exemplo: Rani e Rao (1991) demonstraram, *in vitro*, que o captopril (inibidor da ECA) produziu um aumento dependente de concentração na motilidade gástrica de ratos. Demonstrou-se também que animais SHR possuem motilidade gástrica mais lenta devido a perturbações no sistema nervoso autônomo, incluindo a hiperatividade simpática e a

hipofunção parassimpática em resposta à carga estressante, quando comparados com ratos normotensos (HATANAKA et al.,1995; KASACKA et al. 2007). Esses estudos ressaltam a importância da modulação local do SRA para o controle de disfunções gástricas.

#### 1.4. Esvaziamento gástrico

O estômago, órgão presente no TGI superior, desempenha importante função na digestão dos alimentos, bem como na sua entrega ao intestino, para que haja a absorção dos nutrientes necessários ao organismo (WILLET; MILLS, 2016). Esse órgão pode ser anatomicamente subdividido em três regiões topográficas: fundo, corpo e antro, sendo limitado na porção superior pelo esfíncter esofágiano inferior (cárdia) e pelo esfíncter pilórico, na porção inferior do estômago, como demonstrado na (Figura 4) (NOAKES; REHRER; MAUGHAN, 1991). O fundo gástrico e o corpo são capazes de acomodar grandes quantidades de volume, mantendo uma pressão intragástrica relativamente baixa. Entretanto, alterações no tônus gástrico e na distensibilidade podem ocorrer em vários estados de doenças, incluindo a gastrite e disfunção vagal (SZARKA; CAMILLERI, 2009).

**Figura 5.** Representação ilustrativa das regiões anatômicas do estômago.



Fonte: Adaptado e modificado de Willet; Mills, 2016.

O estômago é inervado pelo sistema nervoso entérico (SNE), principalmente pelo plexo miontérico, responsável pela liberação de mediadores envolvidos na gastroproteção, na regulação fisiológica da secreção gástrica, na motilidade e na resposta a excitações químicas e mecânicas (FURNESS, 2012; WILLET; MILLS, 2016). A mucosa gástrica e os vasos submucosos são inervados por neurônios sensoriais aferentes, e suas fibras alcançam as células epiteliais (LAINE et al., 2008). Estas terminações nervosas detectam a presença de ácido gástrico, e a ativação destes nervos afeta as arteríolas submucosas e regulam o fluxo sanguíneo (GUTH, 1992).

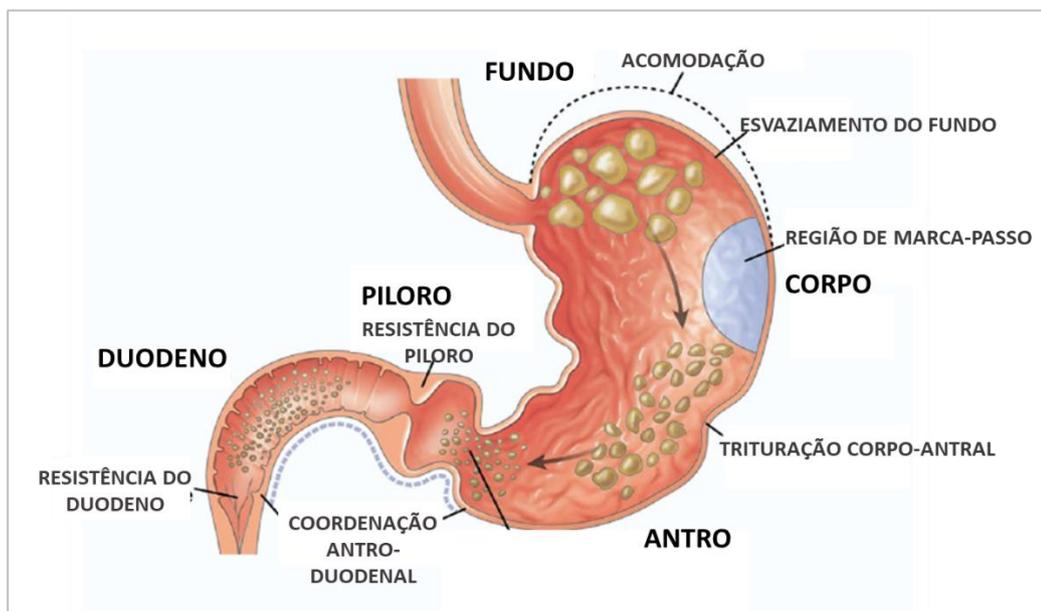
Quanto à motilidade gastrointestinal, foi observado que a coordenação dos eventos motores do fundo-antra-piloro-duodeno é cuidadosamente regulada e controlada pela atividade elétrica gastrointestinal através das Células Intersticiais de Cajal (ICC). Essas células têm funções importantes no peristaltismo gástrico através da conectividade neural de nervos entéricos e nervos vagais eferentes do SNC, sendo um dos determinantes para o esvaziamento gástrico (KOH et al., 1998; HIRST et al., 2002; PARKMAN et al., 2009).

As contrações coordenadas do estômago são respostas motoras integradas classicamente descritas como consistindo de componentes "neurogênicos" e "miogênicos" (HABA; SARNA, 1993; WARD et al., 2000). Nas duas últimas décadas, houve melhor compreensão dos elementos miogênicos usando abordagens genéticas, moleculares, morfológicas e fisiológicas. As abordagens identificaram vários tipos de células que contribuem para a motilidade gastrointestinal, incluindo as ICC, pois estas células são como marca-passos que desencadeiam a contração gástrica, além de atuarem como neuroefetores entre terminais do nervo motor do SNE e células musculares lisas (BURNS et al., 1996; WARD et al., 2000). Alterações nas ICC foram associadas a uma série de transtornos de motilidade gastrointestinal humana, incluindo a constipação e a enteropatia diabética (ORDÖG et al., 2000).

As contrações antrópicas rítmicas, geralmente em 3 ciclos por minuto, trituram grandes partículas de alimentos em um tamanho apropriado para a digestão intestinal. Em seguida, há o relaxamento do esfíncter pilórico, que permite que partículas liquefeitas de alimentos passem do estômago para o duodeno (Figura 5). Assim, o esvaziamento gástrico normal reflete o esforço coordenado entre o fundo e o antro do estômago, bem como do esfíncter pilórico e do duodeno (PARKMAN et

al., 2009). O relaxamento do esfíncter pilórico, sincronizado com as contrações antrópicas, permite que partículas de alimentos liquefeitas passem do estômago para o duodeno, este relaxamento é mediado através da liberação de neurotransmissores inibitórios, especialmente o NO e, possivelmente, o polipeptídeo intestinal vasoativo (CAMILLERI et al., 1998).

**Figura 6.** Representação ilustrativa dos mecanismos fisiológicos que ocorrem durante o esvaziamento gástrico.



Fonte: Adaptado de PARKMAN et al., 2009.

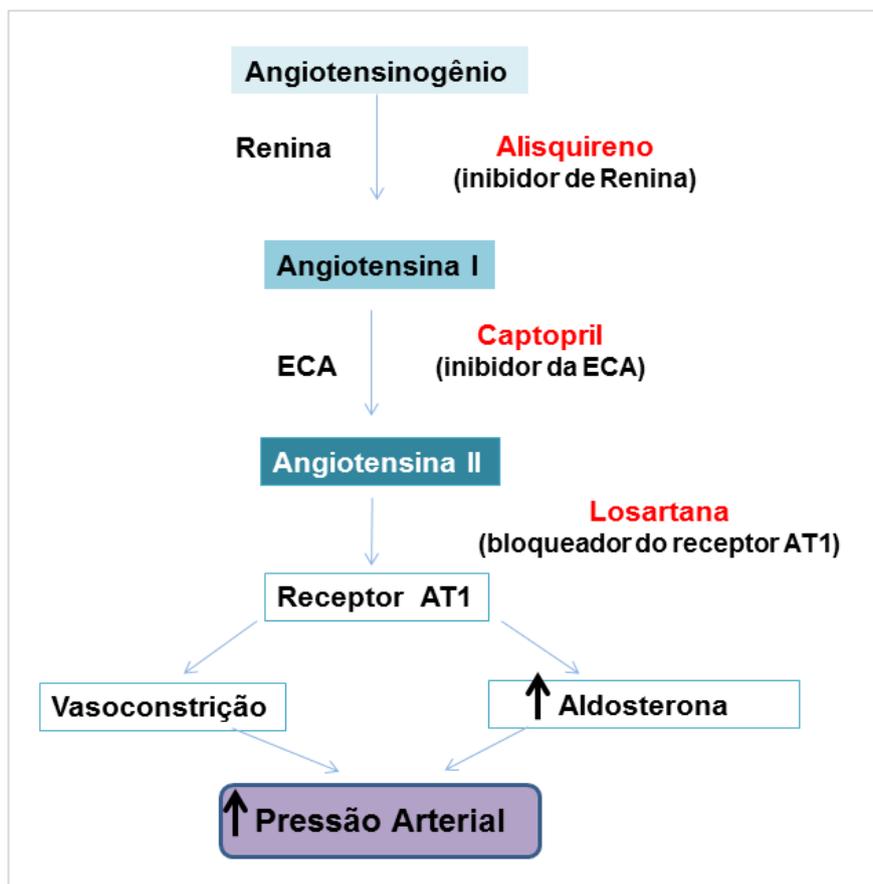
## 1.5. BLOQUEIO FARMACOLÓGICO DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA

Uma das formas de tratamento da HAS consiste no uso clínico de fármacos bloqueadores do SRA (Figura 7), como os inibidores de renina, os inibidores da ECA e os antagonistas de receptores  $AT_1$  (WOOD et al., 1994; RIBEIRO et al., 2000, RIBEIRO; FLORÊNCIO, 2000). Os inibidores de renina, tal como o Alisquireno, agem sobre a renina e também possui alta especificidade quanto ao seu substrato, o angiotensinogênio. Esses fármacos oferecem o potencial de bloquear o SRA no seu ponto inicial de ativação, impedindo a formação de ANG I e ANG II. O Alisquireno, portanto, oferecer perfil terapêutico distinto dos inibidores da ECA e dos antagonistas dos receptores  $AT_1$ , representando abordagem eficaz e inovadora para

o tratamento da hipertensão (STANTON et al., 2003, MARTINS-OLIVEIRA et al., 2013).

Os inibidores da ECA, como o Captopril, o Enalapril e o Ramipril, são uma classe de fármacos anti-hipertensivos utilizados há mais de 30 anos. O mecanismo de ação de ambos consiste na inibição da ECA e, assim, impedem a conversão de angio I em ANG II, reduzindo os níveis circulantes desse octapeptídeo (KARLBERG et al., 1993). No mesmo contexto, os fármacos Losartana e o Candesartana, antagonistas dos receptores AT<sub>1</sub>, medeiam as principais ações da ANG II, que é reconhecidamente relevante na fisiopatologia e na manutenção da HAS e na insuficiência cardíaca, principalmente devido a seus efeitos vasoconstritores e também aos efeitos pró-inflamatórios e pró-oxidantes nos vasos sanguíneos e no coração. Estes fármacos são usados principalmente em pacientes com hipertensão essencial devido ao seu controle sobre a PA por um período de 24h (MARTINS-OLIVEIRA et al., 2013).

**Figura 7.** Locais de ação de agentes farmacológicos sobre o SRA.



Fonte: Adaptado de RIBEIRO et al., 2000.

## 1.6. OS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A HIPERTENSÃO E O TRATO GASTROINTESTINAL

De acordo com a literatura, o exercício físico (EF) pode ser definido como qualquer atividade planejada e estruturada que leve ao aumento do gasto energético e da frequência cardíaca (DIAZ; SHIMBO, 2013). O exercício regular fornece benefícios importantes para a saúde porque reduz o risco de doenças cardiovasculares e endócrinas, estimula o desenvolvimento saudável de ossos e músculos e diminui a ansiedade e a depressão (GOMES et al., 2012). Além disso, a prática regular de EF pode ser especialmente eficaz na fase inicial do desenvolvimento da hipertensão, prevenindo e / ou atrasando a necessidade de intervenções farmacológicas (LEE et al., 2003; WARD et al., 2004; LARSEN; MATCHKOV, 2016).

O exercício físico pode ser classificado em 2 categorias principais (THIJSSSEN et al., 2015): 1) exercícios aeróbicos, que se concentram no aumento da resistência cardiovascular e podem ser de baixa a moderada intensidade, tendo como fonte principal de energia a glicose e os ácidos graxos livres. Como exemplos, cita-se o ciclismo, a caminhada, a corrida, a natação, entre outros; 2) exercícios anaeróbicos, que aumentam a força muscular a curto prazo (HURLEY et al., 2015) aumentando também a síntese de lactato e este aumento ocorre progressivamente no início e, então, mais rapidamente à medida que o exercício se torna mais intenso (GOODWIN et al., 2007). Uma concentração de lactato elevada pode ser indicativa de isquemia ou hipoxemia, mas também é descrito como um marcador fisiológico de resposta ao esforço. Um exemplo de exercício anaeróbico são os exercícios de flexibilidade (DIAZ; SHIMBO, 2013).

O estresse oxidativo está associado à patogênese da hipertensão arterial. A diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico é um dos mecanismos envolvidos nessa patogênese (MONTEZANO et al., 2015). Neste sentido, sugeriu-se que o exercício físico poderia ser estratégia potencial não farmacológica no tratamento da hipertensão devido aos seus efeitos benéficos sobre o estresse oxidativo e sobre a função endotelial (WIDLANSKY et al., 2003; GOMES et al., 2012).

O exercício físico também aumenta a sensibilidade de barorreceptores aórticos, o que pode resultar em regulação da pressão arterial ainda mais eficiente

(BRUM et al., 2000), bem como é capaz de modular negativamente o SRA (FERNANDES et al., 2011). Em dois estudos que realizaram diferentes protocolos experimentais de natação em animais, Fernandes et al., (2011) e Oliveira et al., (2009) investigaram o efeito do exercício sobre o papel do SRA local e sistêmico na hipertrofia fisiológica. Em ambos os estudos, encontrou-se aumento da expressão do gene do receptor AT<sub>1</sub> e os níveis cardíacos de angiotensinogênio estavam reduzidos. Além disso, ambos apresentaram redução nos níveis cardíacos de ANG I, como consequência da redução do substrato angiotensinogênio, conseqüentemente houve uma diminuição da ANG II, indicando atenuação no eixo ECA/ANG II pelo treinamento físico.

O exercício físico, dependendo da sua intensidade, pode ocasionar efeitos maléficos ou benéficos sobre o TGI (LIRA et al., 2008). Os efeitos maléficos sobre o TGI foram observados, principalmente, em praticantes de exercício aeróbico de longa duração, incluindo os maratonistas, os triatletas e os ciclistas (GIL; YAZAKI; EVANS, 1998). Os principais efeitos adversos observados foram vômitos, náuseas, azia, diarreia, cólica abdominal, perda de apetite, sangramento ou aumento da peristalse intestinal (SULLIVAN; WONG; HEIDENHEIM, 1994; SIMREN, 2002). Entretanto, o exercício de baixa intensidade tem efeito protetor sobre o TGI, visto que alguns estudos indicaram uma relação inversa entre a atividade física e as doenças gastrintestinais tais como, o câncer de cólon (COLDITZ; CANNUSCIO; FRAZIER, 1997), a diverticulite e a constipação (ALDOORI et al., 1995).

Há estudos experimentais que estabelecem o papel do exercício físico de baixa e de moderada intensidade sobre a hipertensão 2R1C, produzindo redução na frequência cardíaca e na pressão arterial média em ratos hipertensos (VÉRASSILVA et al., 1997; RODRIGUES et al 2007; SOARES et al., 2011). Demonstrou-se também que o exercício intermitente com corridas e caminhadas intercaladas tende a promover diminuição do esvaziamento gástrico de refeições a base de carboidratos (LEIPER et al., 2005). Entretanto, há uma lacuna na literatura quando se trata de pesquisas voltadas para a investigação dos efeitos da hipertensão 2R1C sobre a motilidade gástrica e do exercício físico sobre esse parâmetro. Assim, o campo de pesquisa permanece aberto para a busca pela elucidação desses mecanismos.

*Objetivo*

---

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

- Investigar o papel do exercício físico e do sistema renina angiotensina sobre a diminuição do esvaziamento gástrico induzida por hipertensão renovascular (2 rins 1 clipe) em ratos.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudar o possível papel do exercício físico aeróbico sobre as eventuais dismotilidades induzidas pela hipertensão renovascular;
- Elucidar o possível envolvimento dos anti-hipertensivos: Alisquireno (inibidor de renina), captopril (inibidor da ECA), Losartana (antagonista de receptor AT<sub>1</sub>), via pré-tratamento, sobre as alterações gastrointestinais em ratos com hipertensão renovascular submetidos ou não ao treinamento aeróbico;
- Caracterizar qual o efeito da hipertensão renovascular 2R1C e do Exercício físico aeróbico sobre a contratilidade de fundo gástrico;
- Investigar o papel da angiotensina II sobre a motilidade gástrica;

# *Material e Métodos*

---

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAIS

Utilizamos cânulas de polietileno (PE10, 50 e 90 Intramedic Clay Adams®), para a confecção de cânulas necessárias para a canulação dos animais; sistema eletrônico de aquisição de dados biológicos (PowerLab ADInstruments®), computador, lupa cirúrgica, materiais cirúrgicos, fio cirúrgico, leitor de microplacas, centrífuga refrigerada, baldes, pesos de chumbo para natação, entre outros equipamentos laboratoriais.

#### 3.2. FÁRMACOS E REAGENTES

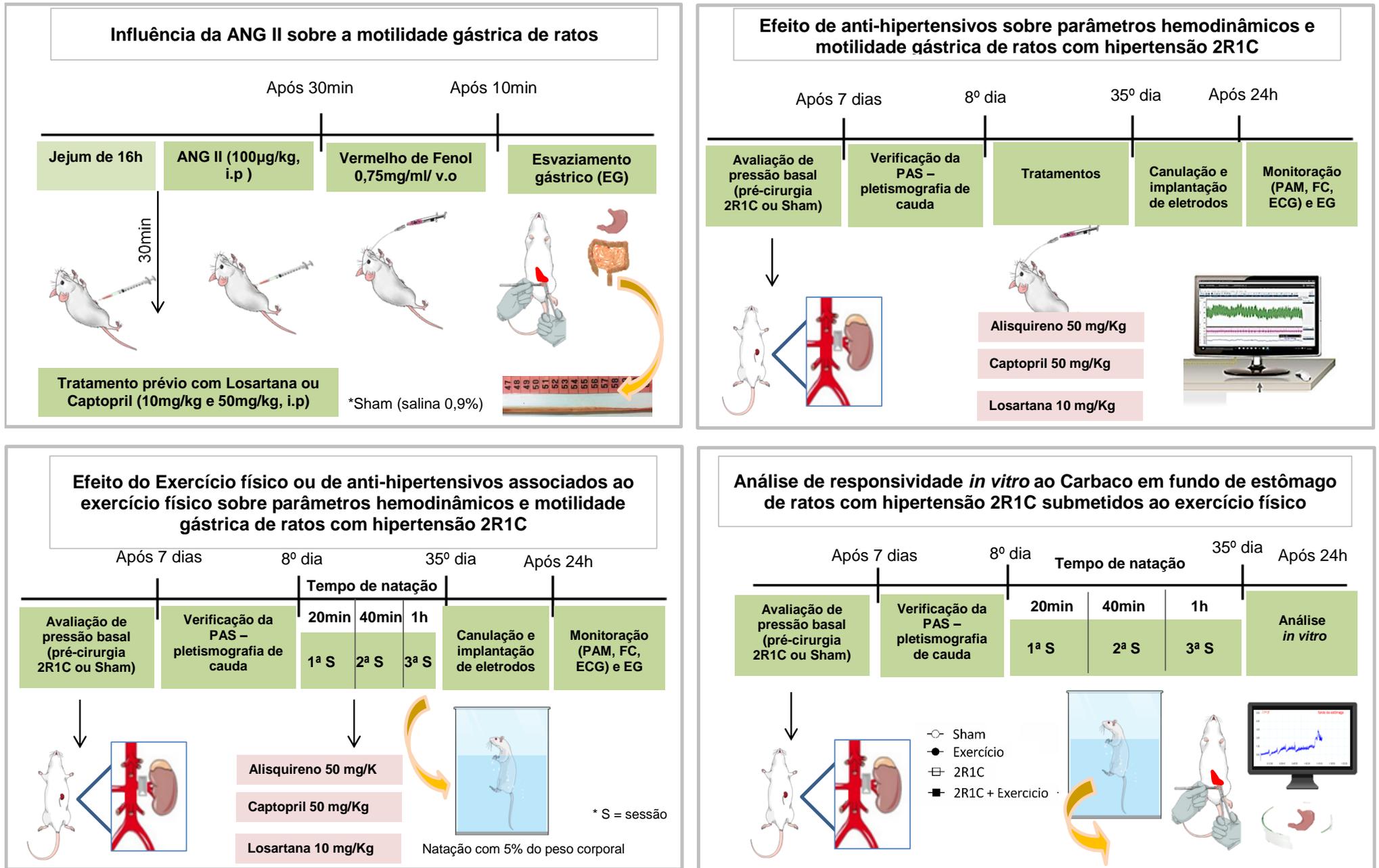
Os reagentes utilizados foram o vermelho de fenol (marcador), NaOH (hidróxido de sódio), TCA-20% (ácido tricloroacético). Anestésicos: Xilazina, Cetamina, Tiopental. Foram usados fármacos anti-hipertensivos, como a Losartana (antagonista de receptores de angiotensina II- AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>), Captopril (inibidor da enzima conversora de angiotensina I - ECA), Alisquireno Rasilez® (inibidor da enzima Renina) e Angiotensina II obtida da Sigma-Aldrich, MO, EUA e também o carbacol (agonista colinérgico).

#### 3.3. ANIMAIS

Foram utilizados 300 ratos machos, *Wistar*, pesando entre (180-220g) quando se iniciaram todos os protocolos, provenientes do Centro de Ciências agrárias (CCA), biotério central da Universidade Federal do Piauí, UFPI.

Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Biofísica e Fisiologia-UFPI, em temperatura ambiente de 22±1° sobre um ciclo de 12 h claro/escuro, com água e ração *ad libitum*. Todos os procedimentos foram realizados em conformidade com as normas éticas do Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA/UFPI), sob o número 044/15.

**Figura 8.** Representação esquemática de delineamento experimental utilizado.



### **3.4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS**

#### **3.4.1. Influência da Angiotensina II sobre a motilidade gástrica**

O protocolo de avaliação da influência da Angiotensina II sobre a motilidade gástrica em ratos (Figura 8) foi adaptado de acordo com Scarpignato et al., (1983). Após o jejum de 16 horas, os ratos foram divididos em 4 grupos de 10 e acomodados em gaiolas coletivas. Grupo I: Tratado com angiotensina II (100µg/kg por via i.p); Grupo II: Pré-tratado com losartana (10mg/ kg i.p) 30 minutos antes de receber angiotensina II (100µg/kg, i.p); Grupo III: Pré-tratado com captopril (50mg/kg via i.p) 30 minutos antes de receber angiotensina II (100µg/kg, i.p). Logo em seguida, todos os grupos de ratos receberam uma solução de vermelho fenol glicosada para posterior estudo da motilidade gástrica de acordo com Reynell e Spray (1956).

#### **3.4.2. Indução de Hipertensão renovascular**

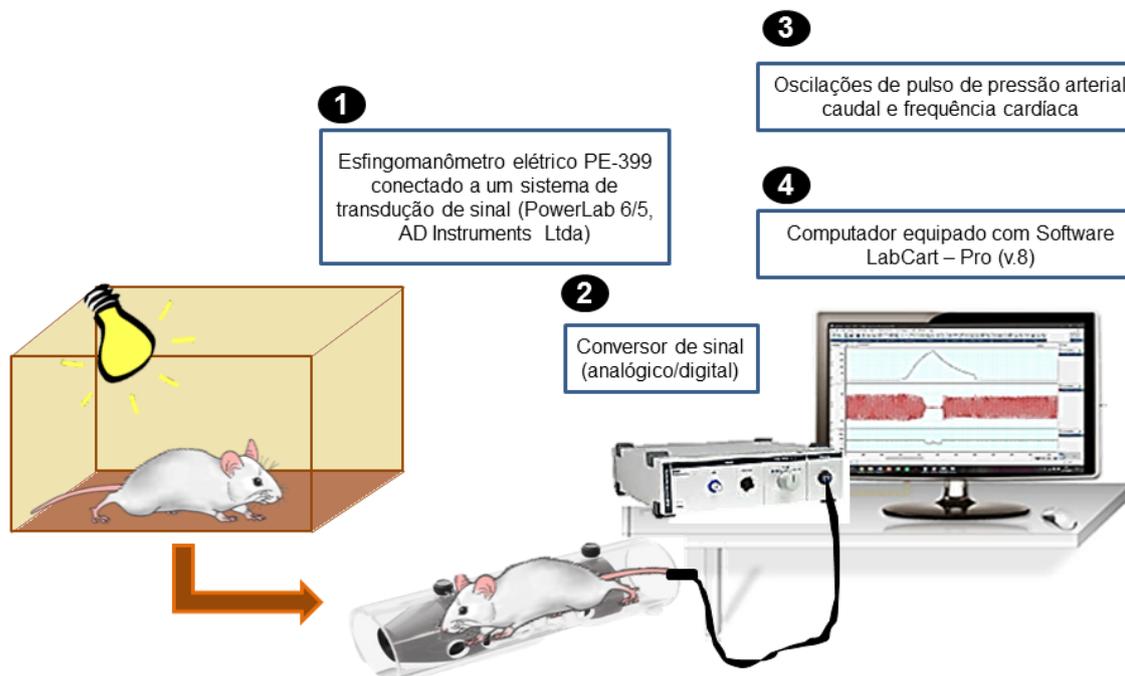
Para indução de hipertensão arterial foi utilizado o método descrito por Goldblatt et al., (1934), denominado 2 rins, 1 clip (2R1C). Os animais pesando entre (180-220g) foram submetidos a jejum de 12 horas, com livre acesso à água. No dia da cirurgia, os ratos foram anestesiados com (quetamina – 80mg/Kg e xilazina – 20mg/Kg/100g, via i.m.), de acordo com Ritschl et al., (2015). Após anestesiados foram colocados em decúbito dorsal sobre uma prancha cirúrgica, e submetidos à tricotomia e assepsia da região abdominal com polvidine. A seguir foi realizado laparotomia mediana de 3 a 5 cm para visualização, identificação e isolamento da artéria renal esquerda. Um clip de prata com 8 mm de comprimento e 2 mm de largura, em forma de “U”, cuja a abertura foi previamente fixada, em 0,20 mm, com auxílio de um calibrador de folga de velas com 20 lâminas. Esta abertura é amplamente descrita na literatura como capaz de propiciar Hipertensão. Os animais que apresentaram valores iguais ou superiores a 140 mmHg após o 7º dia de indução foram considerados hipertensos. O grupo SHAM foi submetido a cirurgia fictícia, que constitui em ser submetido a todos os procedimentos acima, sem colocação do clipe de prata na artéria renal esquerda. Importante ressaltar que a

cada 10 animais que passaram pela cirurgia 2R1C, 8 obtiam níveis pressóricos característicos de hipertensão e apresentavam baixa mortalidade. Todos os animais submetidos aos protocolos cirúrgicos foram suturados em pontos contínuos na camada muscular aberta, com fio cirúrgico próprio e ponto a ponto na camada na externa.

### **3.4.3. Avaliação indireta da pressão arterial (PA) através de Pletismografia de cauda**

A avaliação da pressão arterial sistólica (PAS) por pletismografia de cauda foi realizada no 7º dia após a cirurgia, em todos os grupos 2R1C ou grupos Sham, sempre pelo período da tarde. O método utilizado para verificar a PAS indireta dos animais foi o proposto por Magaldi (1944). Inicialmente, os animais passaram por um período de adaptação por 2 dias em um contensor cilíndrico, a fim de minimizar possíveis variações pressóricas ocasionadas pelo estresse. Este procedimento foi realizado uma vez ao dia durante dois dias e três dias após a cirurgia de indução da hipertensão. Este procedimento foi feito para posterior acomodação do animal ao ambiente propício para aferição da pressão caudal. Após o procedimento de adaptação foram iniciados os protocolos para determinação dos níveis PAS dos animais. Para isso os ratos foram aquecidos por 10 minutos em caixa de madeira contendo uma lâmpada de 150 watts para promover dilatação da artéria caudal e facilitar a medida da PAS e posteriormente colocados no cilindro de contenção. Um ocluser e um sensor foram ajustados à porção proximal da cauda do rato, acoplados ao esfigmomanômetro elétrico PE-399 conectado a um sistema de transdução de sinal (PowerLab 4/S, ADInstrument Pty Ltda) e este, estava ligado a um computador contendo um programa adequado para análise desse sinal (LabChart 7 Pro - ADInstruments Pty Ltda). Após o início de aferição da PAS através da artéria caudal dos animais, os mesmos foram monitorados e tiveram a pressão definida através da média aritmética realizada após três medidas sequenciais, feitas no intervalo de dois em dois minutos. Todos os ratos que apresentaram pressão arterial sistólica igual ou acima de 140mmHg foram incluídos no estudo. Os ratos com valores abaixo foram descartados do estudo.

**Figura 9:** Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.



Fonte: Adaptado e modificado de Silva, 2017.

#### 3.4.4. Protocolo de Exercício Físico

Uma semana após a indução da hipertensão e realizada a medida da pressão arterial via pletismografia de cauda, teve início o protocolo de exercício físico. Este protocolo foi executado adaptado de acordo com Becker, et al., (2005) e adaptado por Silva et al., 2010. Todos os grupos de animais, Sham, 2R1C bem como os tratamentos associados foram submetidos ao protocolo de treinamento físico de natação em tanques coletivos (100 cm de comprimento x 80 cm de largura x 80 cm de altura), que permitiu um treinamento simultâneo de 3 a 4 animais. O tanque foi preenchido com 50 cm de água com temperatura de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , através do uso de um termostato. O programa de treinamento foi conduzido ao longo de um total de 4 semanas. Após 8 dias da cirurgia, os ratos 2R1C e Sham, com livre acesso à água e comida, foram separados em grupos experimentais, e submetidos à atividade física aeróbica de alta intensidade. A atividade foi realizada 5 vezes por semana durante quatro semanas, com descanso de 2 dias por semana. Neste protocolo esses

animais nadavam 20 minutos na 1ª sessão, 40 minutos na 2ª sessão e a partir da 3ª sessão até a 20ª foram realizadas sessões de 1 h, em que esses animais passaram a treinar com carga de 5% do peso corporal. Este protocolo de exercício foi realizado sempre no período (11:00h – 14:00h) e após a sessão de natação os animais sempre eram secos e mantidos em suas gaiolas, ao fim de todos os procedimentos eram levados de volta ao biotério.

**Figura 10:** Protocolo de Exercício físico (5% p.c.) em execução.



Fonte: Autoria própria, 2017.

#### **3.4.5. Tratamento com os Anti-hipertensivos: Alisquireno, Captopril e Losartana**

Os tratamentos com Alisquireno (50mg/kg, v.o) e Losartana (10mg/kg, v.o) foram adaptados de acordo com Martins-oliveira, et al., (2013), o tratamento com Captopril (50mg/kg, v.o) foi adaptado de acordo com Gao et al., (2016). Os fármacos foram diluídos com solução salina e foram administrados por 1ml/100g. Os tratamentos iniciaram-se no 8º dia após a indução da Hipertensão (2R1C) e foi realizado durante 28 dias, sempre ao mesmo horário, às 9h da manhã.

### **3.4.6. Canulação arterial e implantação de eletrodos para registro de eletrocardiograma (ECG)**

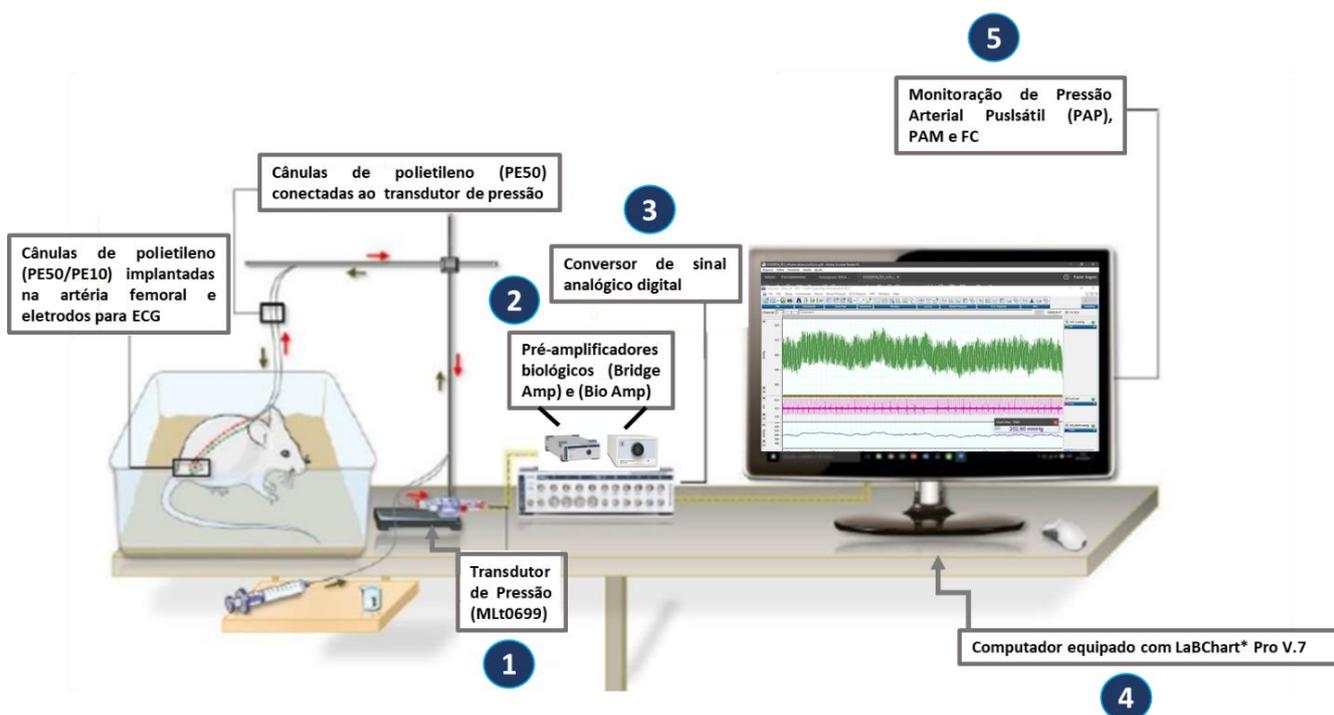
Vinte e quatro horas após a última sessão de treinamento, os ratos foram anestesiados com uma mistura de (quetamina – 80mg/Kg e xilazina – 20mg/Kg/100g, i.m.), de acordo com Ritsch, et al., (2015). Após anestesiados realizou-se uma pequena incisão na pele, na fossa ilíaca direita do animal e com auxílio de material cirúrgico foi separado a musculatura para localização do feixe vasculo-nervoso femoral e então feita a dissecação da artéria femoral. Em seguida, um pequeno corte foi feito na artéria femoral, a cânula introduzida e cuidadosamente fixada na artéria com auxílio de linha de costura. Após esse procedimento, as cânulas foram exteriorizadas na região dorsal do animal através de um trocáter. Após feita canulação da artéria femoral era iniciada a cirurgia de implantação de eletrodos para registro de ECG. Neste protocolo foram implantados 3 eletrodos de fios metálicos, sendo 2 na região torácica e 1 na pata direita traseira, após a implantação os eletrodos foram exteriorizados para região dorsal do animal com auxílio do trocáter e foram suturados em ponto a ponto na camada externa. A partir do registro do eletrocardiograma, foram avaliados o intervalo R-R” que serviu para derivação da frequência cardíaca (batimento a batimento) bem como estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) Os animais foram mantidos em caixas individuais durante todo o período pós-operatório, permitindo a recuperação dos efeitos anestésicos por um período de 24 horas.

### **3.4.7. Avaliação direta de PAM e FC**

A avaliação da pressão arterial média (PAM) foi realizada através do registro direto da Pressão Pulsátil (PP) nos ratos acordados através das cânulas, já o registro da frequência cardíaca foi realizado eletrocardiograma (ECG), onde os eletrodos colocados nos ratos foram acoplados ao sistema computadorizado de aquisição de dados (Powerlab). A PAM foi monitorada por um transdutor de pressão a um sistema computadorizado de aquisição de sinais biológicos Bridge Amp (Powerlab 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0). Através do transdutor o sinal era processado para obter-se a PAM, que foi calculada a partir de pulsos de PA. Já o

registro da frequência cardíaca (FC, em bpm) foi obtido a partir da conexão dos três fios metálicos a um bioamplificador (Bio Amp), também ligado ao sistema de aquisição de sinais biológicos para o registro contínuo do eletrocardiograma. Estes parâmetros eram apresentados simultaneamente em canais diferentes do monitor e armazenados no disco rígido do computador. Cada animal foi monitorado acordado e com movimentação livre na gaiola, por 30 minutos. Para avaliação da PAM e da FC foi realizada a média a partir de 1000 pontos do registro de pressão de cada animal.

**Figura 11: Foto ilustrativa do sistema computadorizado de aquisição de sinais biológicos.** Bridge Amp e Bio Amp (Powerlab 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0).



Legenda: Bridge Amp e Bio Amp (Powerlab 4/20, ADInstruments, LabChart Pro 7.0). Fonte: Adaptado e modificado de Silva, 2017.

### 3.4.8. Análise da Variabilidade da frequência cardíaca (VLF)

Após o período de treinamento e/ou tratamento farmacológico, derivamos o intervalo RR do ECG usando o software Acknowledge (LabChart 7.0 ADInstruments) e a variabilidade no intervalo RR usando a *fast Fourier transformation* (FFT), como descrito anteriormente (Malliani et al., 1991; Tarefa, 1996). Brevemente, a partir de um período de registro de linha de base não perturbado, escolhemos um período de 20 min para a determinação da VFC. Esse período foi submetido para a detecção de ondas R para derivar um intervalo de tacograma. Não foi necessário nenhum protocolo de correção. O tacograma foi pré-processado e a gravação foi dividida em segmentos de 1000 pontos de dados usando a janela de ajuste afiada "Hamming" para evitar vazamentos espectrais. O algoritmo FFT foi aplicado para construir periodogramas e estimar o espectro do intervalo R-R ". O algoritmo FFT produziu um gráfico da densidade espectral em função da frequência e nós integramos a área sob a curva para cada componente oscilatório, a saber, baixa frequência (LF) e alta frequência (HF). Os componentes oscilatórios foram então rotulados, LF (LF: 0,04-0,15 Hz) e HF (0,15-0,4 Hz). Os dados são expressos como uma relação LF / HF, que refletiu uma interação complexa entre modulação simpática e parasimpática, e como unidades normalizadas, que verificaram a porcentagem de influência de cada componente oscilatório na VFC global. O poder dos componentes LF e HF e sua relação foram expressos em unidades normalizadas (nu).

### 3.4.9. Avaliação do Esvaziamento Gástrico de Líquidos

A determinação do esvaziamento gástrico foi realizada a partir da técnica de diluição de corante (vermelho fenol), descrita por Reynell e Spray (1956). Após a canulação femoral e implantação de eletrodos, já descritos, os animais foram submetidos a um jejum de 16 horas de sólido, mas com livre acesso à água. No dia posterior os animais foram monitorados quanto a pressão arterial, eletrocardiograma e frequência cardíaca. Ao fim da monitoração iniciou-se o protocolo de Esvaziamento Gástrico de Líquidos, onde os animais receberam mediante sonda orogástrica (gavagem) 1,5 mL da refeição teste (solução glicosada a 5% contendo

vermelho fenol, 0,75mg/ml). Após um período pós-prandial de 10 minutos os ratos foram eutanasiados via overdose letal de anestésico (tiopental 50mg/kg), a eutanásia ocorreu via-cânula, diretamente na artéria femoral do animal. A seguir, executou-se uma laparotomia mediana, com auxílio de material cirúrgico, para retirada do estômago e intestino delgado foram feitas ligaduras nas junções gastro-duodenal, esôfago-gástrica e íleo-cecal, que em seguida foram levemente estendidos sobre a bancada, posteriormente foi realizada divisão do intestino delgado em três segmentos: proximal, parte inicial (40%), medial (30%) e distal, parte final, (30%).

Em seguida, foi realizado o volume do Estômago e de cada segmento do intestino, onde os mesmos foram colocados em uma proveta graduada contendo 100 mL de Hidróxido de Sódio (NaOH 0,1N). A seguir, os segmentos foram homogeneizados com auxílio de liquidificador manual, após homogeneização foram coletados através de auxílio de pipeta graduada 10 mL do sobrenadante e centrifugados a (2800 rpm por 10 minutos). Ao fim da centrifugação foram coletados 5 mL do sobrenadante, que foi adicionado a 500 µL de Ácido Tricloroacético (TCA – 20%), que é uma solução precipitante de proteínas, após isso foi levado a centrífuga novamente a (2800 rpm por 20 minutos). Ao fim de mais uma centrifugação foram coletados 3 mL da amostra e adicionados a 4 mL de Hidróxido de sódio (0,5N) para determinação final da absorvância das amostras pelo método colorimétrico, com o auxílio de um leitor de Elisa (Spectronic 20 Genesis), em comprimento de onda de 550nm.

A determinação da retenção de vermelho fenol em cada segmento foi calculada a partir das seguintes fórmulas: Retenção do segmento “X” = (volume da víscera + 100) x absorvância da víscera.

$$\text{Retenção fracional do Segmento X} = \frac{\text{Retenção Segmento (X) x 100}}{\text{Retenção no Estômago + Retenção Intestino}}$$

Taxa de EG (%) = 100 - Retenção Fracional Estômago.

### **3.4.10. Avaliação da Responsividade ao Carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos**

A fim de investigar o efeito da Hipertensão Renovascular (2R1C) sobre a responsividade de tiras isoladas de fundo gástrico e avaliar qual o efeito do exercício sobre o mesmo. Foram submetidos a este protocolo 4 grupos experimentais: Sham, 2R1C, Exercício 5% e 2R1C+Exercício 5%. Após o fim destes protocolos iniciou-se o protocolo para responsividade, onde os ratos foram eutanasiados via overdose letal de anestésico Tiopental (50mg/kg), sendo logo a seguir submetidos à laparotomia e remoção do estômago, em seguida foram livres de tecido conectivo e adiposo, com auxílio de pinças cirúrgicas. Tiras isoladas do fundo gástrico dos ratos foram montadas em câmaras para preparações isoladas de músculo liso, sendo mantidas, de acordo com a metodologia de Paton (1957), em solução de Tyrode a 37 °C, pH 7,4 e constantemente oxigenada com mistura carbogênica (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>). A tensão basal aplicada aos tecidos foi de 1 g.

As tiras de fundo gástrico foram acopladas a alças de aço inoxidável e suspensas por linhas de algodão fixadas a um transdutor de tensão acoplado a um amplificador de sinal (AECAD 1604, software AQCAD 2.3.6, AVS Projetos, SP) para o registro das tensões isométricas e conectado a um computador para o armazenamento dos dados. Durante este tempo, as soluções nutritivas foram trocadas a cada 15 min, durante 1h, para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970) Encerrando a lavagem e após estabilização iniciou-se o protocolo de responsividade ao carbacol (CCh) com concentrações cumulativas de (1nM, 10nM, 100nM, 1µM, 10µM e 100 µM) no fundo gástrico dos ratos pertencentes aos grupos experimentais já descritos.

**Figura 12.** Sistema *in vitro* utilizado. Transdutor de tensão acoplado a um amplificador de sinal.



Legenda: (AECAD 1604, software AQCAD 2.3.6, AVS Projetos, SP). Fonte: NPPM, 2016.

### 3.5. Análise Estatística

Os dados foram apresentados como a média  $\pm$  EPM de animais em cada grupo. Os testes estatísticos foram realizados no software *Graphpad Prism* (versão 6.0). A comparação estatística dos dados referentes aos índices hemodinâmicos foi realizada utilizando-se a análise de variância para amostras repetidas (ANOVA) seguidas pelo teste de Tukey. Para a análise dos parâmetros de contratilidade “*in vitro*”, utilizamos análise de variância dupla (Two Way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Os valores da EC50 foram calculados a partir do logEC50, que foi mensurado a partir dos valores simples de cada grupo através de regressões não-lineares das curvas traçadas. Já a comparação inter-grupos dos resultados foi feita mediante o teste “t” de Student não pareados. Foram considerados significativos valores de  $p < 0,05$ .

*Resultados*

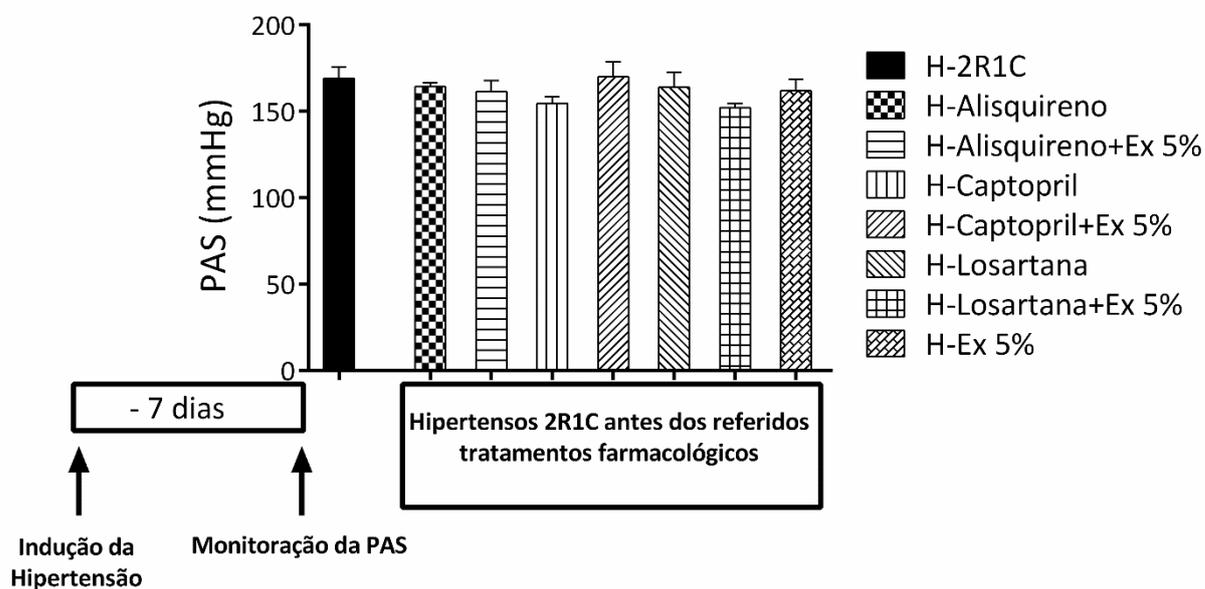
---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. RESPOSTAS PRESSÓRICAS OBTIDAS ATRAVÉS DA PLETISMOGRAFIA DE CAUDA

Na **figura 13**, são apresentados os valores médios da PAS obtidos por pletismografia de cauda quando completados 7 dias da indução de hipertensão através da colocação do clipe na artéria renal. Essa medição serviu para identificar quais animais tinham desenvolvido a hipertensão e quais ainda não. Após 7 dias de indução da hipertensão, os grupos 2R1C apresentaram índices de pressão sistólica acima de 140 mmHg (H-2R1C:  $169 \pm 6,7$ ; H-2R1C+Alisq:  $164,3 \pm 2,0$ ; H-2R1C+Alisq+Ex:  $161,3 \pm 6,4$ ; H-2R1C+Cap:  $154,6 \pm 3,6$ ; H-2R1C+Cap+Ex:  $169,9 \pm 8,6$ ; H-2R1C+Los:  $163,9 \pm 8,7$ ; H-2R1C+Los+Ex:  $152,2 \pm 2,3$ ; H-2R1C+Ex:  $162 \pm 6,3$  mmHg).

**Figura 13:** Valores de pressão arterial sistólica PAS (mmHg) obtidos pelo método de pletismografia de cauda, antes do início dos protocolos.

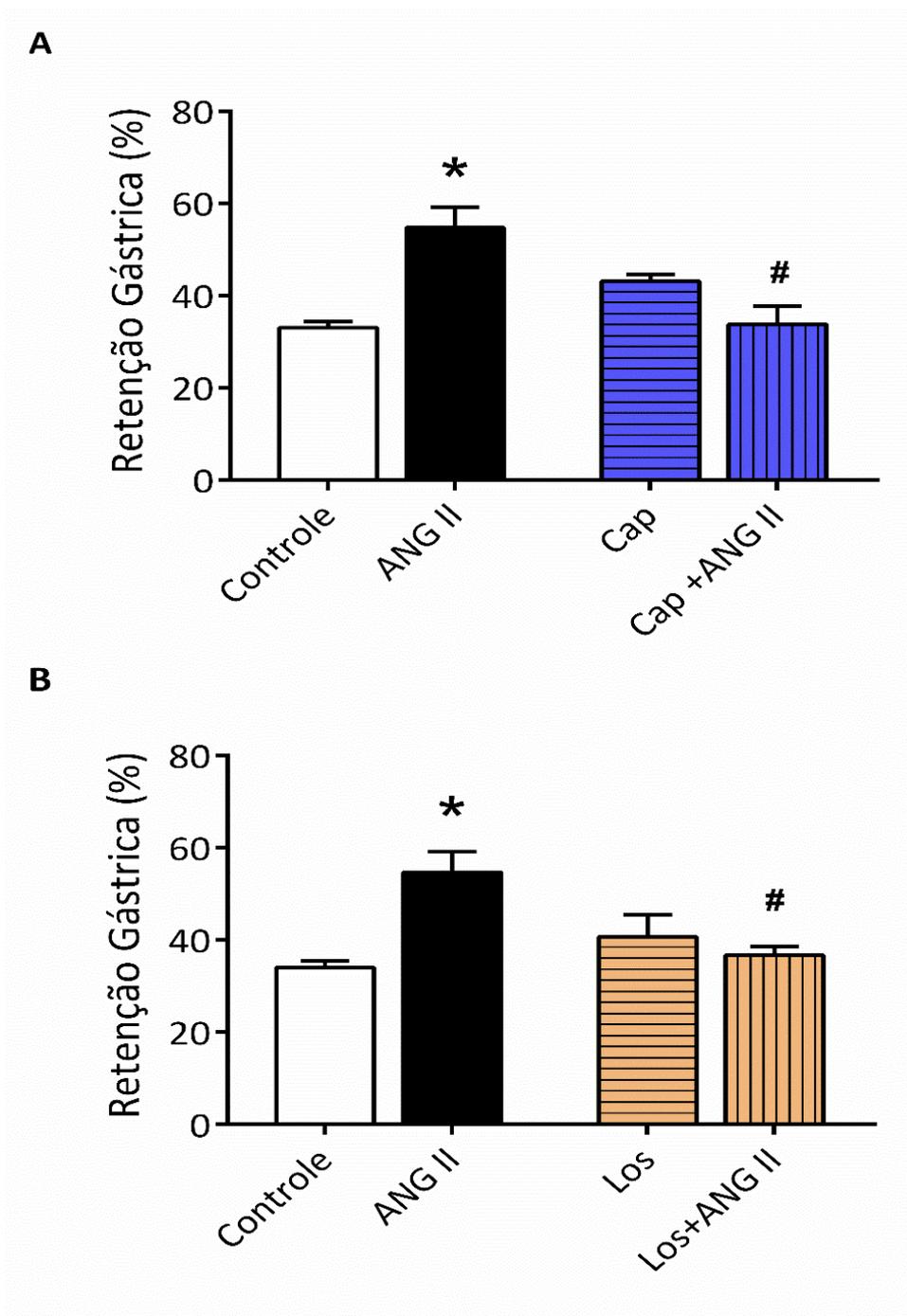


Legenda: Grupos experimentais: H-2R1C (n=15); H-2R1C submetidos aos tratamentos e exercício tiveram (n=10). Os níveis pressóricos foram avaliados no 7º dia após a indução da hipertensão, antes do início dos protocolos de exercício 5% e tratamento. Animais com PAS > 140 mmHg foram considerados hipertensos, animais com PAS < 140 mmHg foram retirados do estudo.

#### **4.2. EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE ANGIOTENSINA II E DOS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS – LOSARTANA E CAPTOPRIL SOBRE A MOTILIDADE GÁSTRICA.**

Na **figura 14.A**, pode-se notar que Ang II aumentou a retenção gástrica de forma significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle (Controle:  $33,05 \pm 1,39$  % vs ANG II:  $54,70$  vs  $4,41$  %). Além disso, o pré-tratamento realizado com captopril+ANG II inibiu significativo ( $p < 0,05$ ) o aumento da retenção gástrica em relação ao grupo somente Ang II (Ang II:  $54,70$  vs  $4,41$  vs Cap+ANG II:  $33,76 \pm 3,96$  %). Na **figura 14.B**, observa-se que o tratamento realizado com Losartana+ANG II inibiu significativo ( $p < 0,05$ ) o aumento da retenção gástrica em relação ao grupo ang II (Ang II:  $54,70$  vs  $4,416$  vs Los+ANG II:  $36,73 \pm 1,88$  %). Não observamos diferenças significativas entre os controles.

**Figura 14.** Efeito do pré-tratamento com captopril (A) e losartana (B) sobre o aumento da retenção gástrica induzida por ANG II.



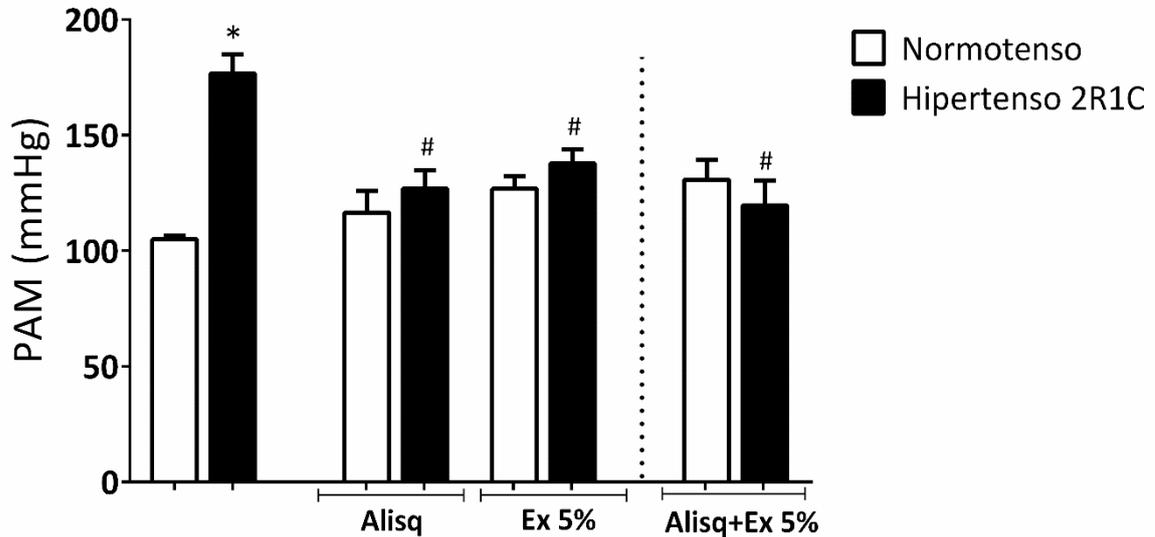
Legenda: Efeito de Ang II, Captopril e Losartana sobre a retenção gástrica (%). Grupos experimentais: Controle (n=10); Ang II (n=10); Captopril (n=7); Cap+Ang (n=8); Losartana (n=7); Los+Ang II (n=8). Para análise estatística foram usadas media  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguida de teste de Tukey, onde foram considerados significativos. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Controle vs ANG II; # - Los+ANG II vs ANG II; # - Cap+ANG II vs ANG II.

### **4.3. RESPOSTA DA PAM, FC, VFC E RG EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C) AO TRATAMENTO COM ALISQUIRENO E SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO COM CARGA (5% p.c.).**

4.3.1. Resposta da PAM em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Alisquireno e submetidos ou não ao Exercício com carga (5% p.c.).

Na **figura 15**, mostramos a pressão arterial media (PAM) de ratos normotensos e hipertensos, submetidos a exercício físico e/ou tratamento farmacológico com Alisquireno. Observamos que a PAM dos ratos 2R1C foi significativamente ( $p < 0,05$ ) elevada em comparação aos animais normotensos ( $104,9 \pm 1,6$  vs  $176,7 \pm 8,2$  mmHg). Observamos ainda, que os ratos dos grupos H-2R1C+Exercício bem como, os ratos do grupo H-2R1C+Alisquireno apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da PAM quando comparados aos ratos H-2R1C (H-2R1C:  $176,7 \pm 8,2$  vs H-2R1C+Ex 5%:  $137,8 \pm 14,9$ ; H-2R1C+Alisq:  $126,9 \pm 7,9$  mmHg). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos ratos H-2R1C+Alisquireno foi capaz de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da PAM comparados aos ratos do grupo somente H-2R1C (H-2R1C:  $176,7 \pm 8,2$  vs H-2R1C+Ex 5%  $137,8 \pm 6,1$  mmHg). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 15:** Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento associado ao exercício físico (5% p.c) sobre a (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C.



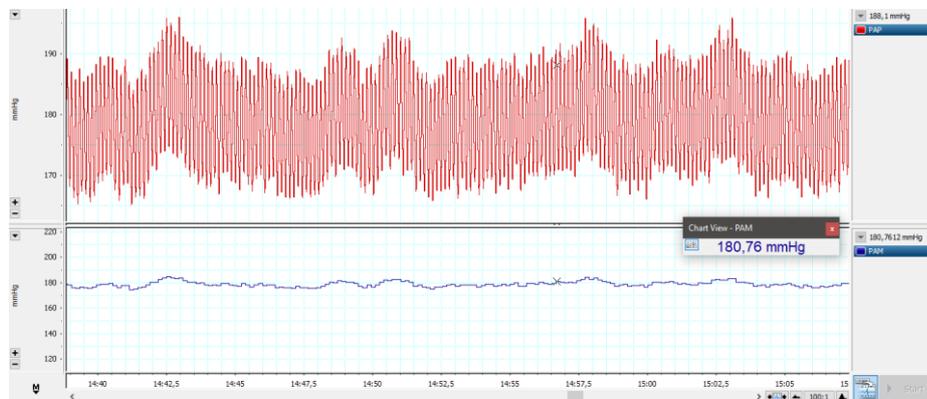
Legenda: Os níveis de pressão arterial média (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Alisq (n=6); H-2R1C+Alisq (n=6); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex 5% (n=6); Alisq+Ex (n=6); H-2R1C+Alisq+Ex (n=7). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs 2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Alisq; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - 2R1C vs H-2R1C+Alisq+Ex 5%.

**Figura 16:** Trechos originais da (PAM, mmHg) do grupo Alisquireno e Ex 5% em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos que contêm a PAP (pressão arterial pulsátil) e a PAM (pressão arterial média).

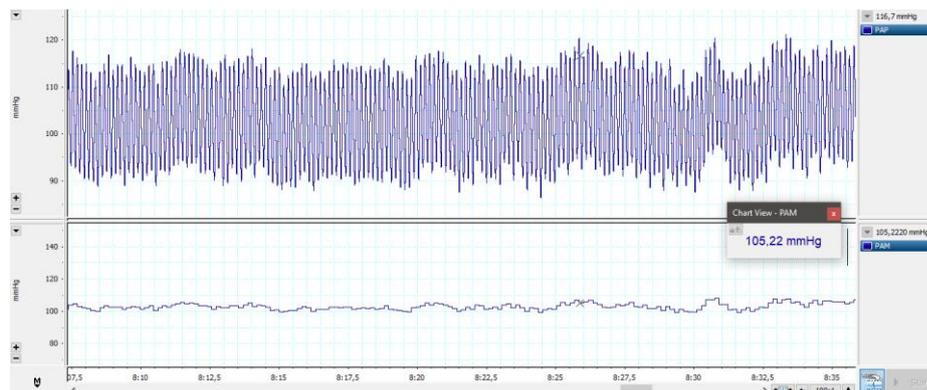
### A - Sham



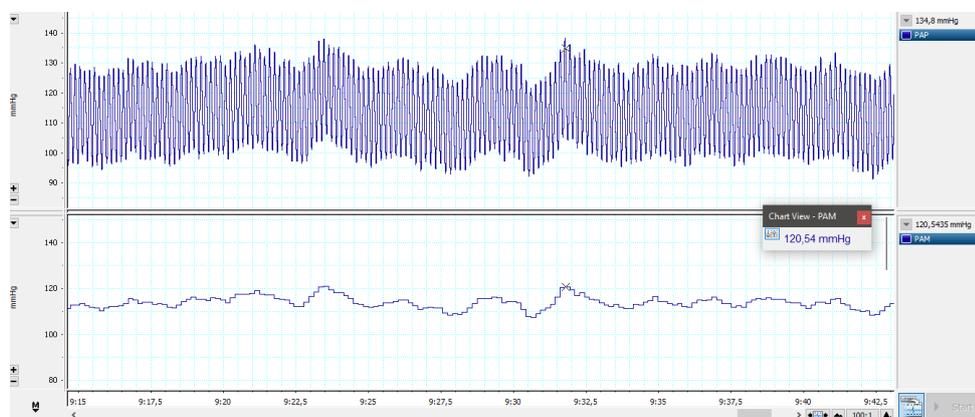
### B - H-2R1C



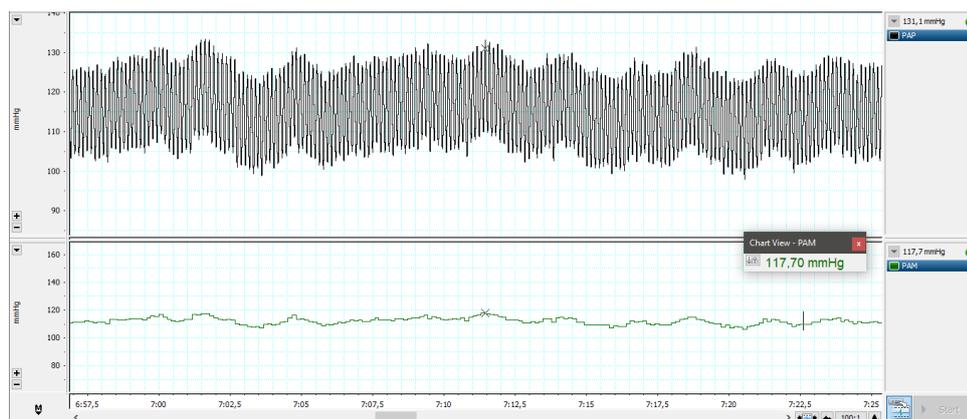
### C - Alisquireno



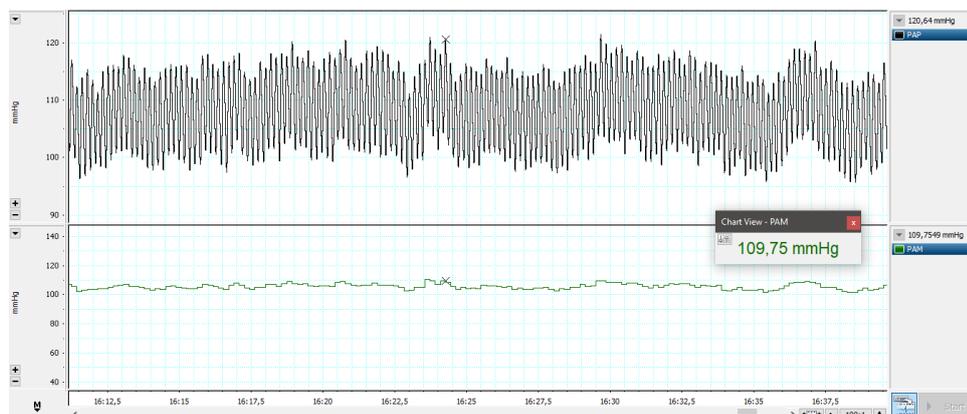
### D – H-2R1C+Alisquireno



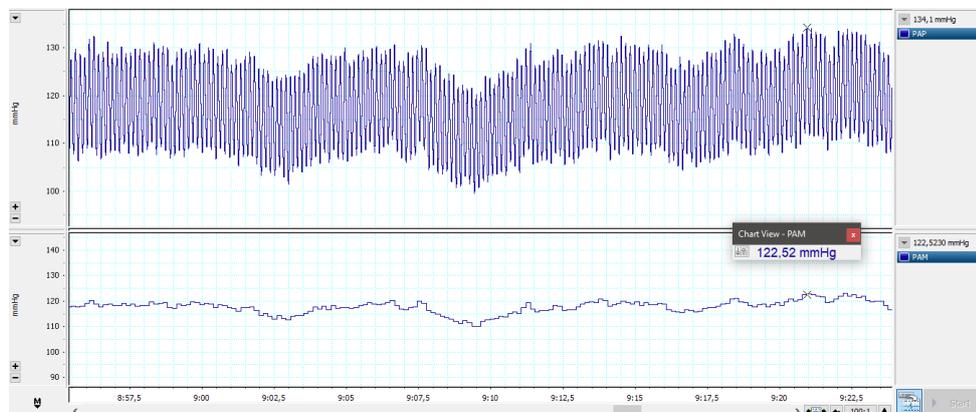
### E – Exercício 5%



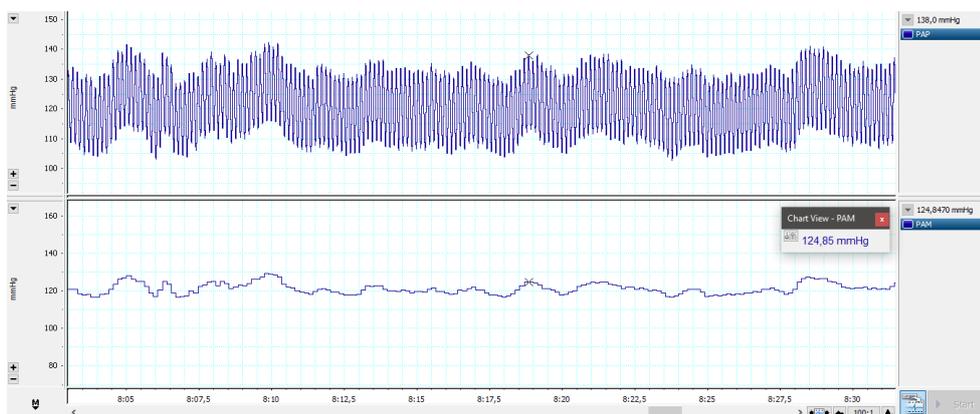
### F – H-2R1C+Ex 5%



### G – Alisquireno+Exercício-5%



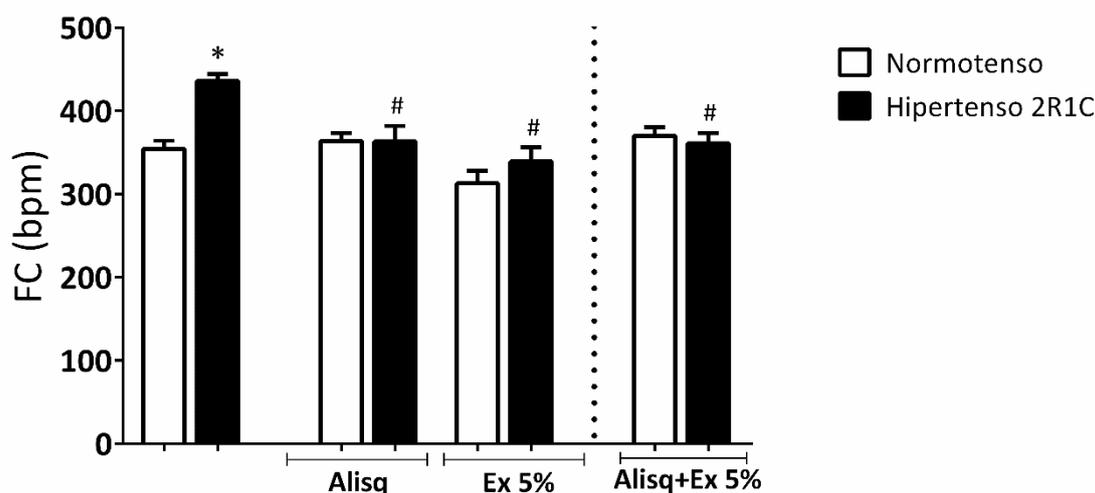
### H – H-2R1C+Alisquireno+Ex 5%



#### 4.3.2. Resposta da FC em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Alisquireno e submetidos ou não ao exercício com carga (5% p.c.).

Na **figura 17**, mostramos a frequência cardíaca (FC) de ratos normotensos e hipertensos, submetidos a exercício físico e/ou tratamento farmacológico com Alisquireno. A frequência cardíaca basal foi significativamente ( $p < 0,05$ ) aumentada quando comparado ratos hipertensos 2R1C aos normotensos (Sham:  $354,3 \pm 9,9$  vs H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  bpm). Observamos ainda, que os ratos dos grupos H-2R1C+Exercício bem como, os ratos H-2R1C+Alisquireno apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da FC quando comparados aos ratos 2R1C (H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  vs. H-2R1C+Ex 5%:  $339,1 \pm 17,9$ ; H-2R1C+Alsq 5%:  $363,2 \pm 18,6$  bpm). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos ratos 2R1C+Alisquireno foi capaz de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da FC comparados aos ratos do grupo somente 2R1C (H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  vs 2R1C+Alsq+Ex 5%:  $360,9 \pm 12,3$  bpm). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 17:** Efeito do tratamento com Alisquireno e da sua associação ao exercício sobre os valores de Frequência cardíaca (FC, bpm), mensurada através de ECG.



Legenda: Os valores da frequência cardíaca (FC, bpm) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Alsq (n=8); H-2R1C+Alsq (n=7); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex 5% (n=6); Alsq+Ex (n=9); H-2R1C+Alsq+Ex (n=9). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Alsq; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5% - # - H-2R1C vs H-2R1C+Alsq+Ex 5%.

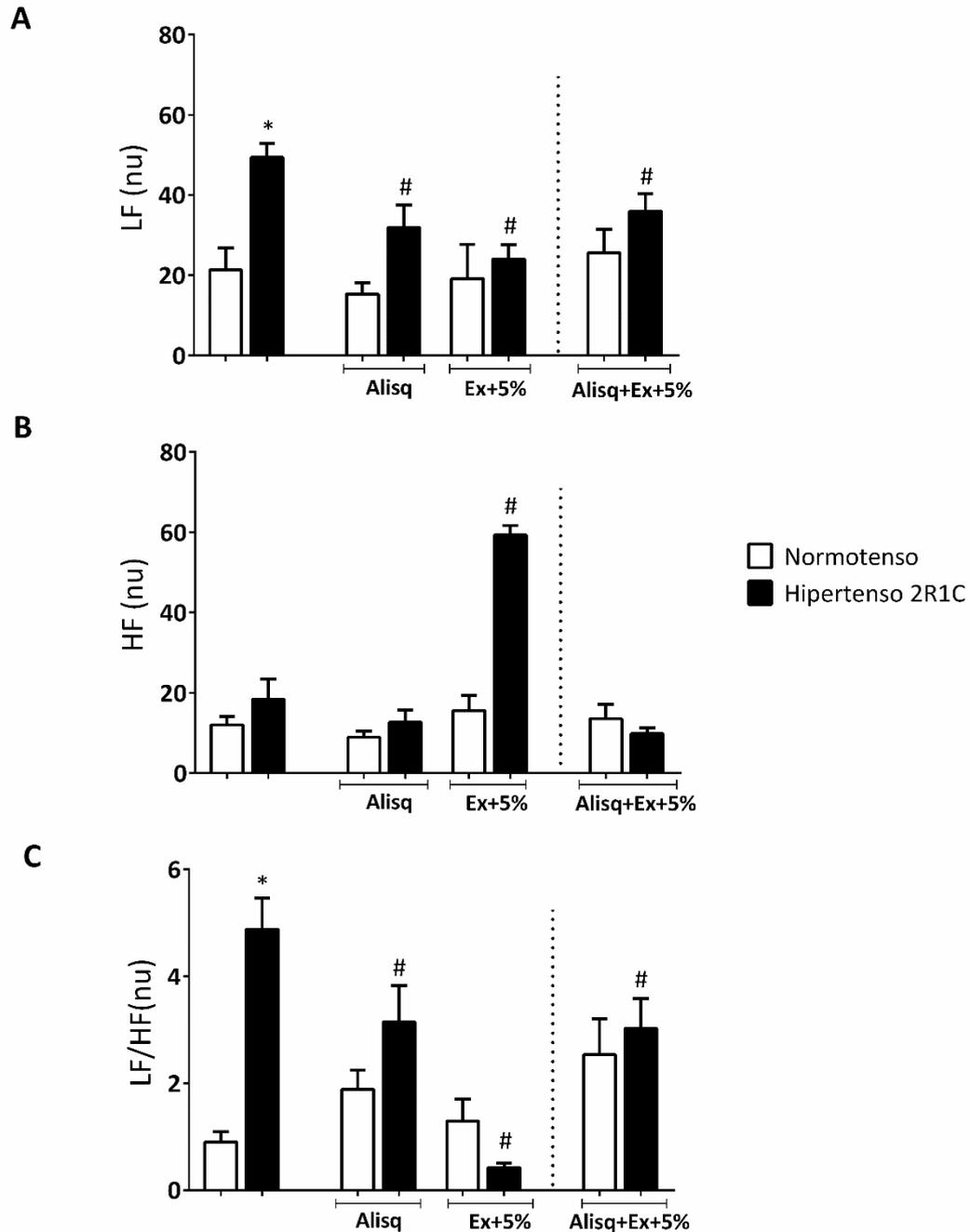
#### 4.3.3. Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Ex 5% sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos hipertensos 2R1C

Na **Figura 18.A**, o componente LF aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) em ratos hipertensos 2R1C comparados aos ratos normotensos (Sham:  $21,3 \pm 5,4$  vs H-2R1C+Ex5%:  $49,3 \pm 3,4$  nu), efeito que foi revertido pelo tratamento com Alisquireno onde houve redução ( $p < 0,05$ ) do componente LF em animais hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Alisq:  $24,7 \pm 2,5$  nu). O tratamento com Alisquireno associados ao Ex 5 % também reduziram ( $p < 0,05$ ) os índices do componente LF nos ratos hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Alisq+Ex5%:  $27,7 \pm 2,4$  nu). O Ex 5% realizado sozinho diminuiu o componente LF em ratos hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Ex5%:  $24,1 \pm 3,5$  nu).

Na **Figura 18.B**, m relação ao componente HF, o grupo submetido somente ao Ex 5% apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em relação aos grupos hipertensos tratados com Alisquireno (H-2R1C+Ex5%:  $59,3 \pm 2,3$  vs H-2R1C+Alisq:  $12,6 \pm 2,9$  nu) e, tratado e submetido ao Ex 5% (H-2R1C+Ex5%:  $59,3 \pm 2,3$  vs H-2R1C+Alisq+5%:  $9,8 \pm 1,4$  nu). O tratamento com Alisquireno reduziu a relação LF/HF nos ratos hipertensos (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Alisq  $2,6 \pm 0,3$  nu) e quando realizado tratamento com Alisquireno associado ao Ex 5% também houve uma diminuição ( $p < 0,05$ ) da relação LF/HF (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Alisq+Ex5%:  $3,2 \pm 0,7$  nu).

Na **Figura 18.C**, os animais hipertensos submetidos somente ao Ex 5% apresentaram uma redução na relação LF/HF em relação aos animais hipertensos (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Ex%:  $0,4 \pm 0,1$  nu). Além disso, observamos que o tratamento com Alisquireno não apresentou efeito sobre os componentes LF, HF e LF/HF dos ratos normotensos submetidos ao tratamento e ao tratamento associado ao Ex 5%.

**Figura 18:** Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Exercício 5% sobre a Variabilidade da Frequencia Cardíaca (VFC).

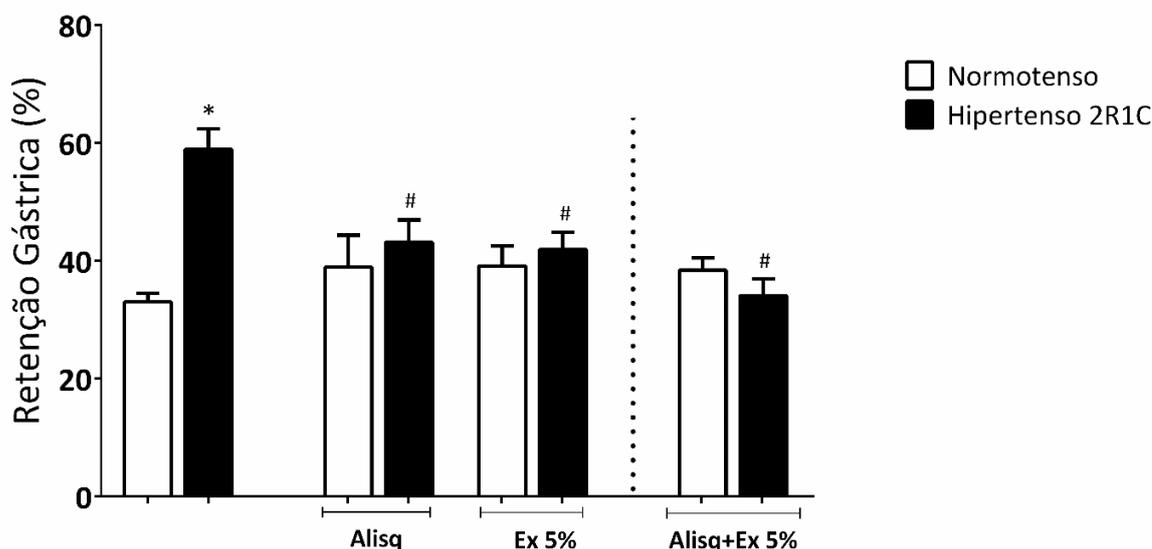


Legenda: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) – LF (baixa frequência); HF (alta frequência) e relação LF/HF - em ratos normotensos e hipertensos 2R1C, realizada com intervalo de 1500 batidas. Grupos Experimentais: Sham (n=10); 2R1C (n=10); Alsq (n=8); H-2R1C+Alsq (n=7); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Alsq+Ex (n=9); H-2R1C+Alsq+Ex (n=9). Para análise estatística foram usadas média ± EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância: p < 0,05: \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Alsq; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Alsq+Ex 5%.

#### 4.3.4. Efeito do tratamento com alisquireno ou de tratamento + Ex 5% sobre o aumento da taxa de retenção gástrica induzida por hipertensão renovascular (2R1C) em ratos

Na **Figura 19**, observamos um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na retenção gástrica dos ratos H-2R1C comparados aos normotensos (Sham:  $33,05 \pm 1,3$  vs H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  %). Observamos ainda, que os ratos dos grupos 2R1C+Exercício bem como, os ratos tratados com 2R1C+Alisquireno apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da retenção gástrica quando comparados aos ratos 2R1C (H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  vs. H-2R1C+Ex 5%:  $38,8 \pm 2,8$ ; H-2R1C+Alisq:  $43,1 \pm 3,7$  %). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos 2R1C+alisquireno foram capazes de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da retenção gástrica comparados aos ratos do grupo somente 2R1C (H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  vs H-2R1C+Alisq+Ex 5%:  $34,4 \pm 2,8$  %). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 19:** Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Exercício 5% sobre o índice de retenção gástrica.



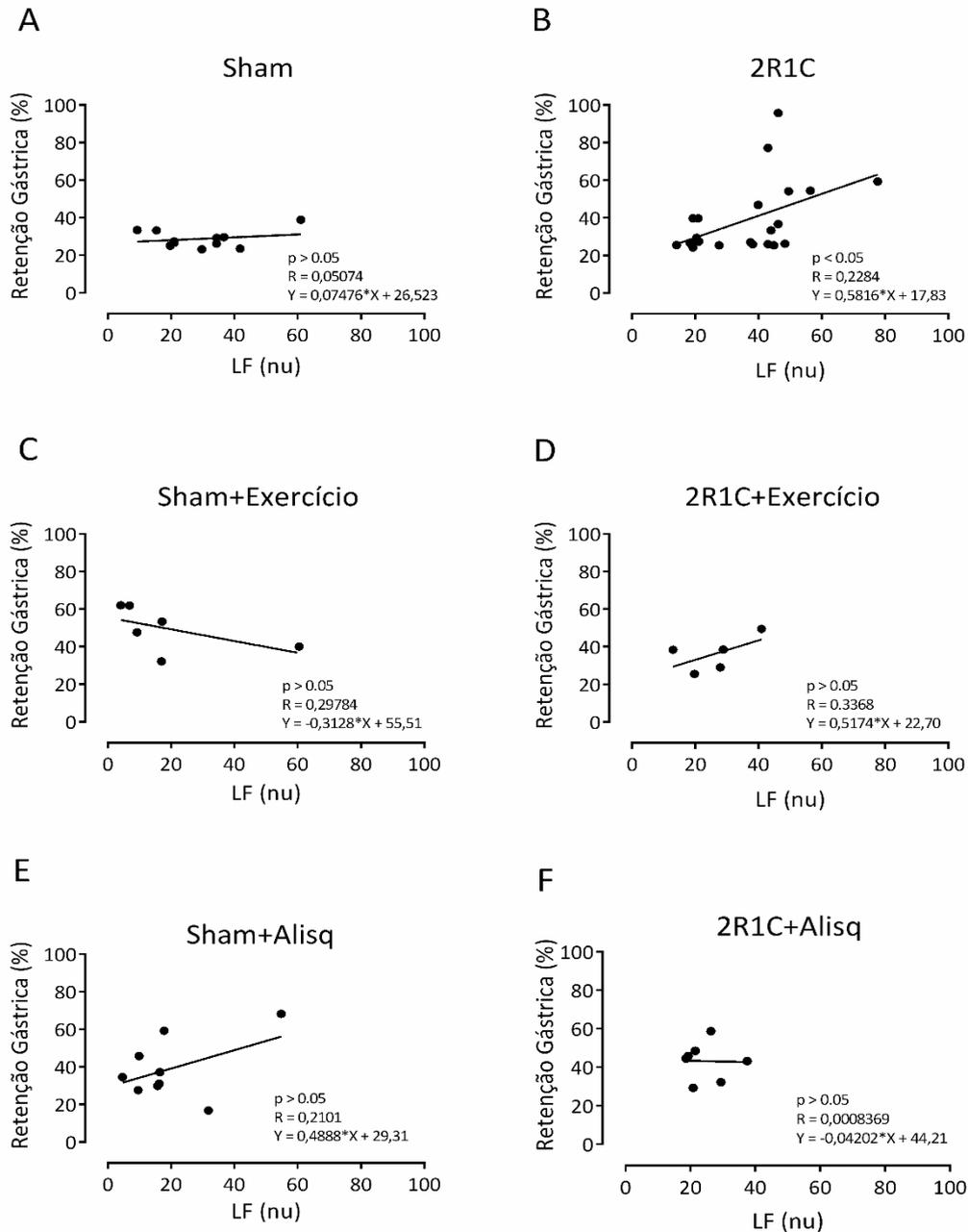
Legenda: Efeito do tratamento com Alisquireno e do Ex 5% sobre a retenção gástrica de ratos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=13); H-2R1C (n=14); Alisq (n=7); H-2R1C+Alisq (n=7); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Alisq+Ex (n=8); H-2R1C+Alisq+Ex (n=8). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Alisq; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Alisq+Ex 5%.

4.3.5. Correlação entre os componentes da VFC (LF, HF, LF/HF) e a retenção gástrica em animais hipertensos 2R1C submetidos ao Ex 5% e ao tratamento com Alisquireno.

Na **figura 20.B**, analisamos a correlação realizada a partir de todos os dados referentes ao componente LF e a retenção gástrica dos animais 2R1C, notamos que apenas o grupo H-2R1C apresentou uma correlação positiva ( $R = 0,228$ ) significativa ( $p < 0,05$ ) entre o componente LF e a recuperação fracional do marcador gástrico. Na **figura 21**, observamos que correlações positivas entre o componente HF e a retenção gástrica. Na **figura 22.D**, observamos os dados referentes a análise realizada sobre a relação LF/HF mostram uma correlação positiva ( $R = 0,893$ ) (Fig. 7) e significativa ( $p < 0,05$ ), no grupo hipertenso submetido ao Ex 5%.

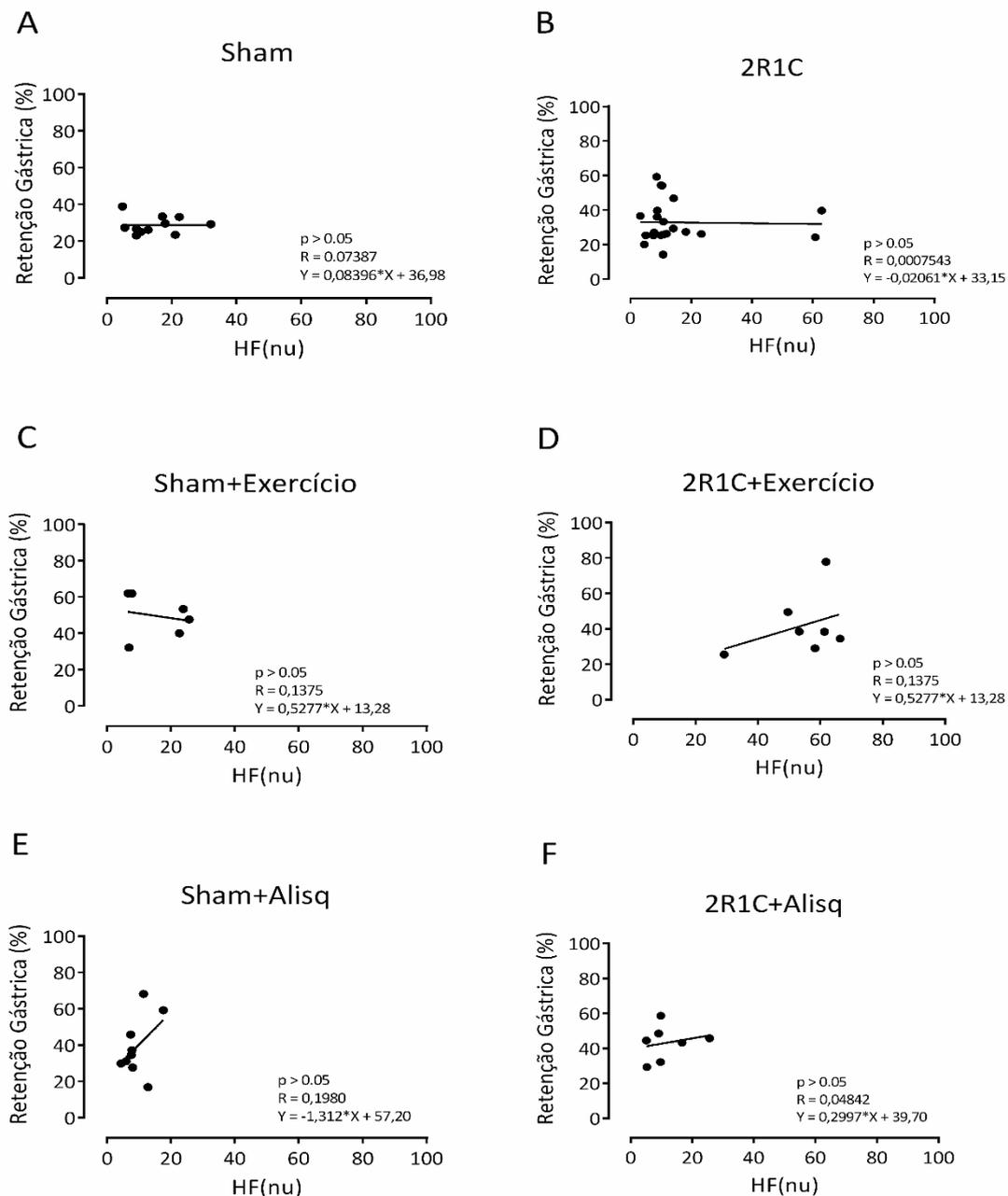
Em nenhum dos componentes da VLF houve correlação positiva entre os parâmetros utilizados frente aos grupos tratados com Alisquireno.

**Figura 20:** Correlação entre o componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com Alisquireno.



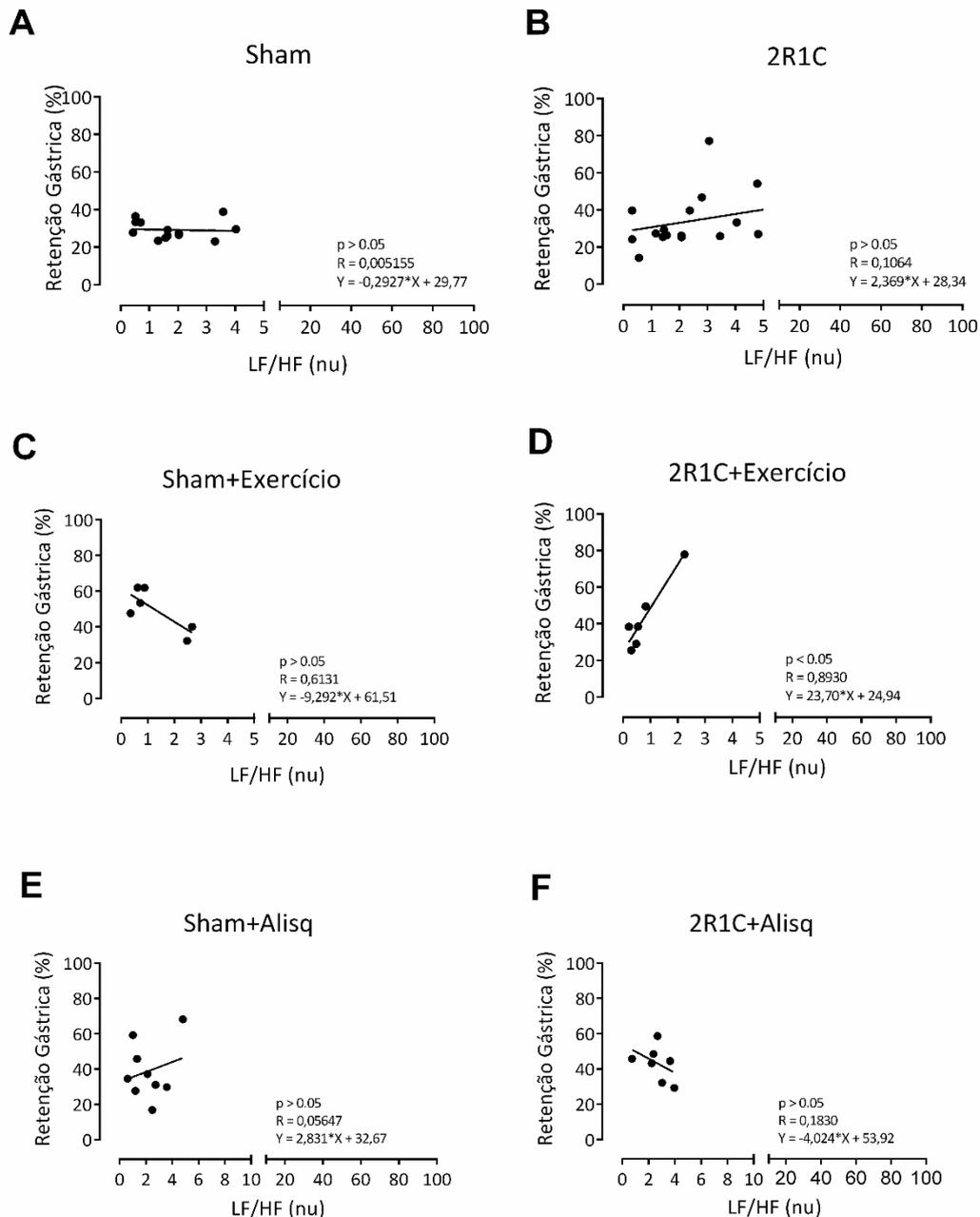
Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Alisquireno e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex (5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) de refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerado significativo ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente LF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

**Figura 21:** Correlação entre o componente HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com Alisquireno.



Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Alisquireno e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex (5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerado significativo ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente HF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

**Figura 22:** Correlação entre o componente LF/HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com Alisquireno.



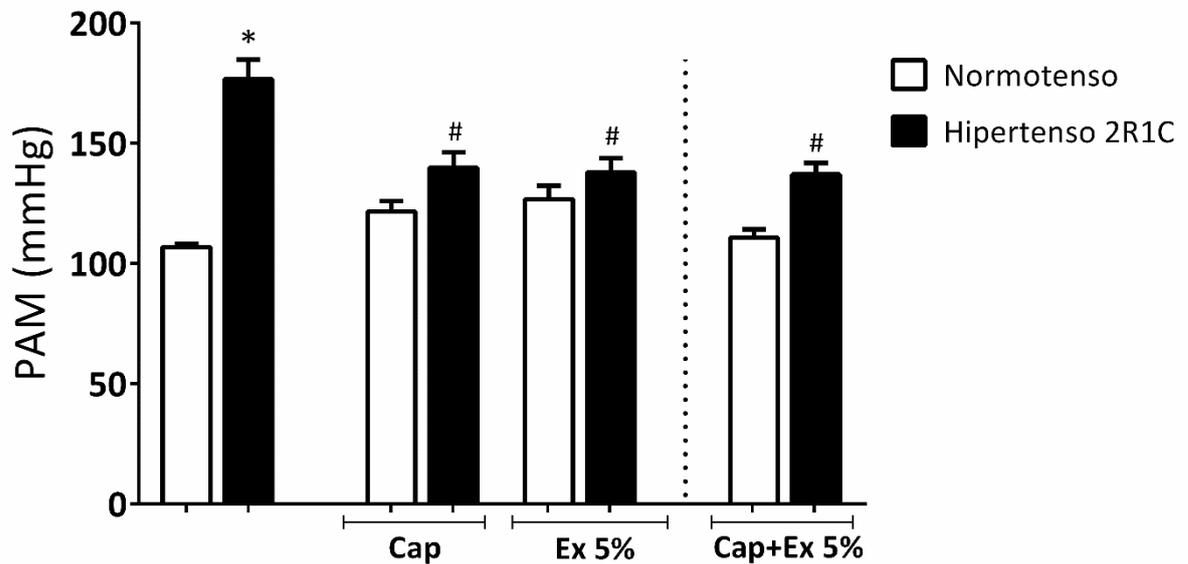
Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Alisquireno e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex (5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativo ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente LF/HF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

#### **4.4. RESPOSTA DA PAM, FC, VFC E RG EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C) AO TRATAMENTO COM CAPTOPRIL E SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO COM CARGA (5% p.c.).**

4.4.1 Resposta da PAM em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Captopril e submetidos ou não ao Exercício com carga (5% p.c.).

Na **figura 23**, observamos, que os ratos dos grupos H-2R1C+Exercício bem como, os ratos do grupo H-2R1C+Captopril apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da PAM quando comparados aos ratos H-2R1C (H-2R1C:  $176,7 \pm 8,2$  vs H-2R1C+Ex 5%:  $137,8 \pm 14,9$ ; H-2R1C+Cap:  $139,9 \pm 6,3$  mmHg). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos ratos H-2R1C+Captopril foi capaz de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da PAM comparados aos ratos do grupo somente H-2R1C (H-2R1C:  $176,7 \pm 8,2$  vs H-2R1C+Cap+Ex 5%  $137,1 \pm 4,7$  mmHg). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 23:** Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento associado ao Exercício físico (5% p.c) sobre a (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos (2R1C).



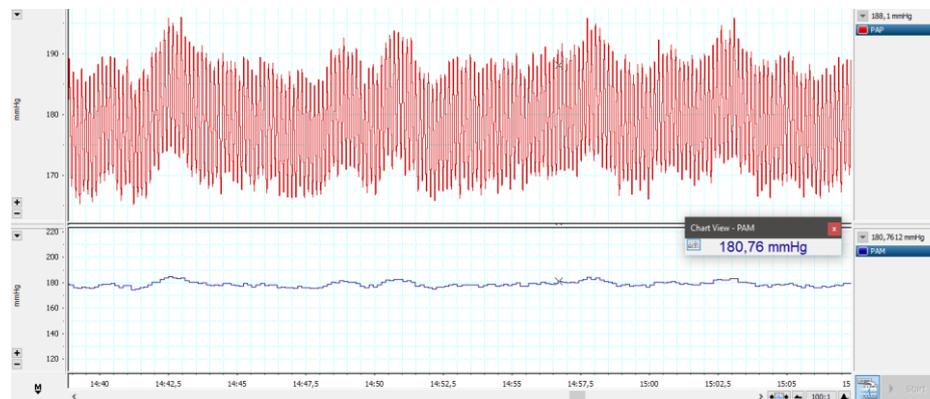
Legenda: Os níveis de pressão arterial média (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Cap (n=7); H-2R1C+Cap (n=6); Exercício (n=6); 2R1C+Ex (n=6); Cap+Ex (n=6); H-2R1C+Cap+Ex (n=6). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap+Ex 5%.

**Figura 24:** Registros originais da (PAM, mmHg) do grupo Captopril e do Ex 5% em ratos normotensos e hipertensos (2R1C). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos que contém a PAP (pressão arterial pulsátil) e a PAM (pressão arterial média).

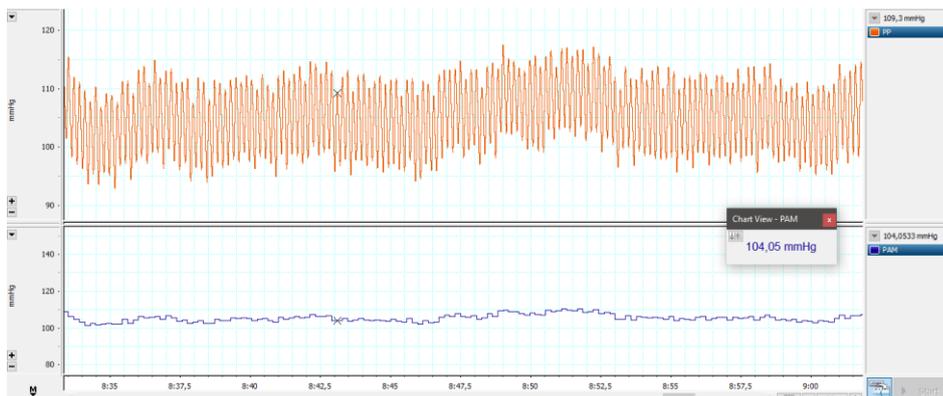
### A - Sham



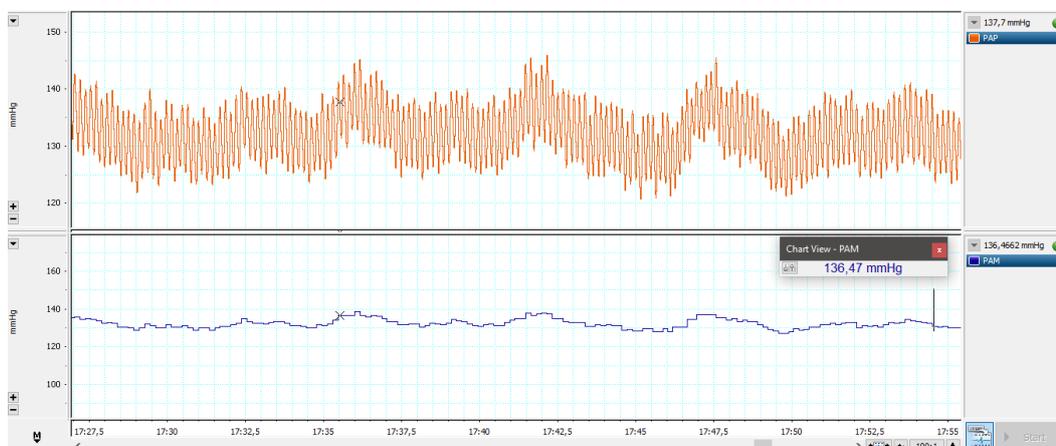
### B - H-2R1C



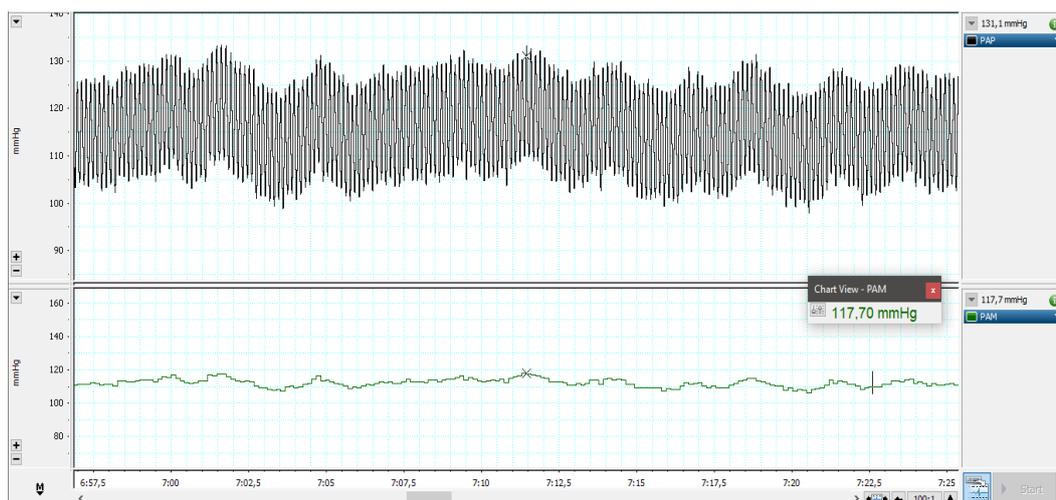
### C - Captopril



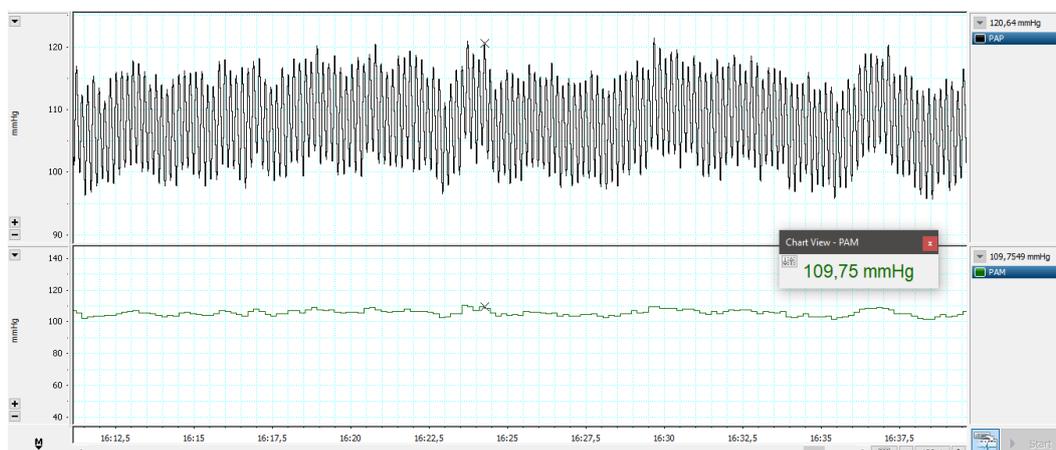
### D – H-2R1C+Captopril



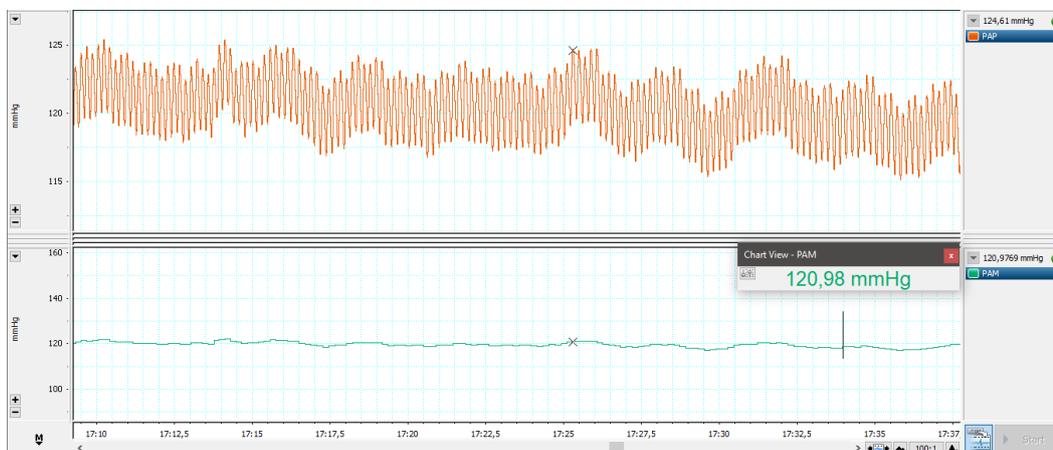
### E – Exercício 5%



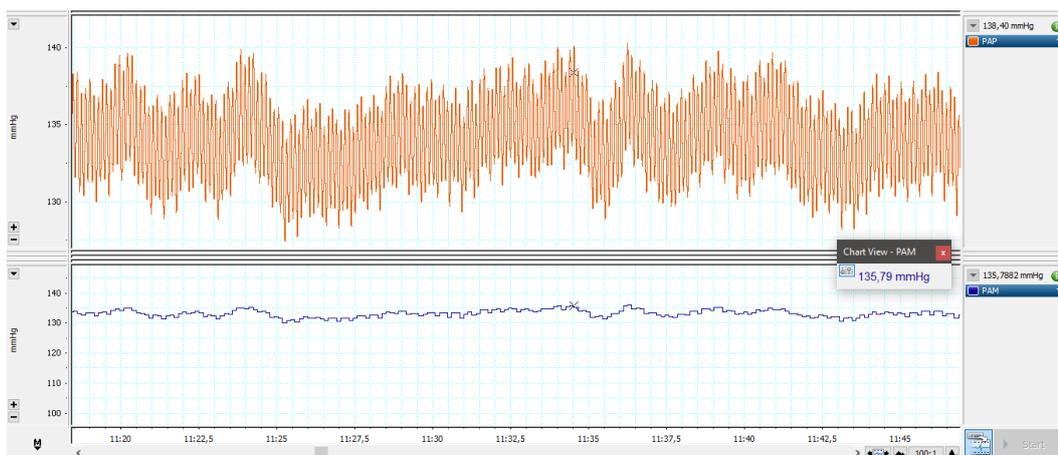
### F – H-2R1C+Ex 5%



### G – Captopril+Ex 5%



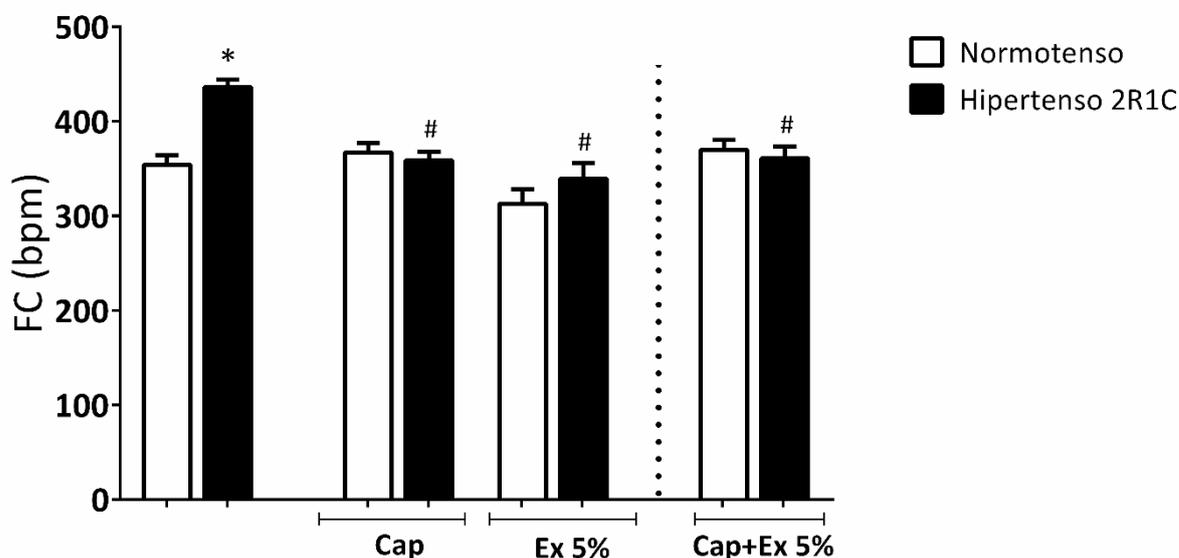
### H – H-2R1C+Captopril+Ex 5%



#### 4.4.2. Resposta da FC em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) tratados com Captopril e submetidos ao Exercício com carga (5% p.c.).

Na **figura 25**, mostramos que os ratos dos grupos H-2R1C+Exercício bem como, os ratos H-2R1C+Captopril apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da FC quando comparados aos ratos 2R1C (H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  vs. H-2R1C+Ex 5%:  $339,1 \pm 17,9$ ; H-2R1C+Cap:  $358,3 \pm 9,2$  bpm). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos ratos 2R1C+Captopril foi capaz de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da FC comparados aos ratos do grupo somente 2R1C (H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  vs 2R1C+Cap+Ex 5%:  $360,9 \pm 12,3$  bpm). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 25:** Efeito do tratamento com Captopril e da sua associação ao exercício sobre os valores de frequência cardíaca (FC, bpm), mensurada através de ECG.



Legenda: Os valores da frequência cardíaca (FC, bpm) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Cap (n=6); H-2R1C+Cap (n=6); Cap+Ex (n=6); Exercício (n=6); H+2R1C Ex (n=6); H-2R1C+Cap+Ex (n=6). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância anova, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap+Ex 5%.

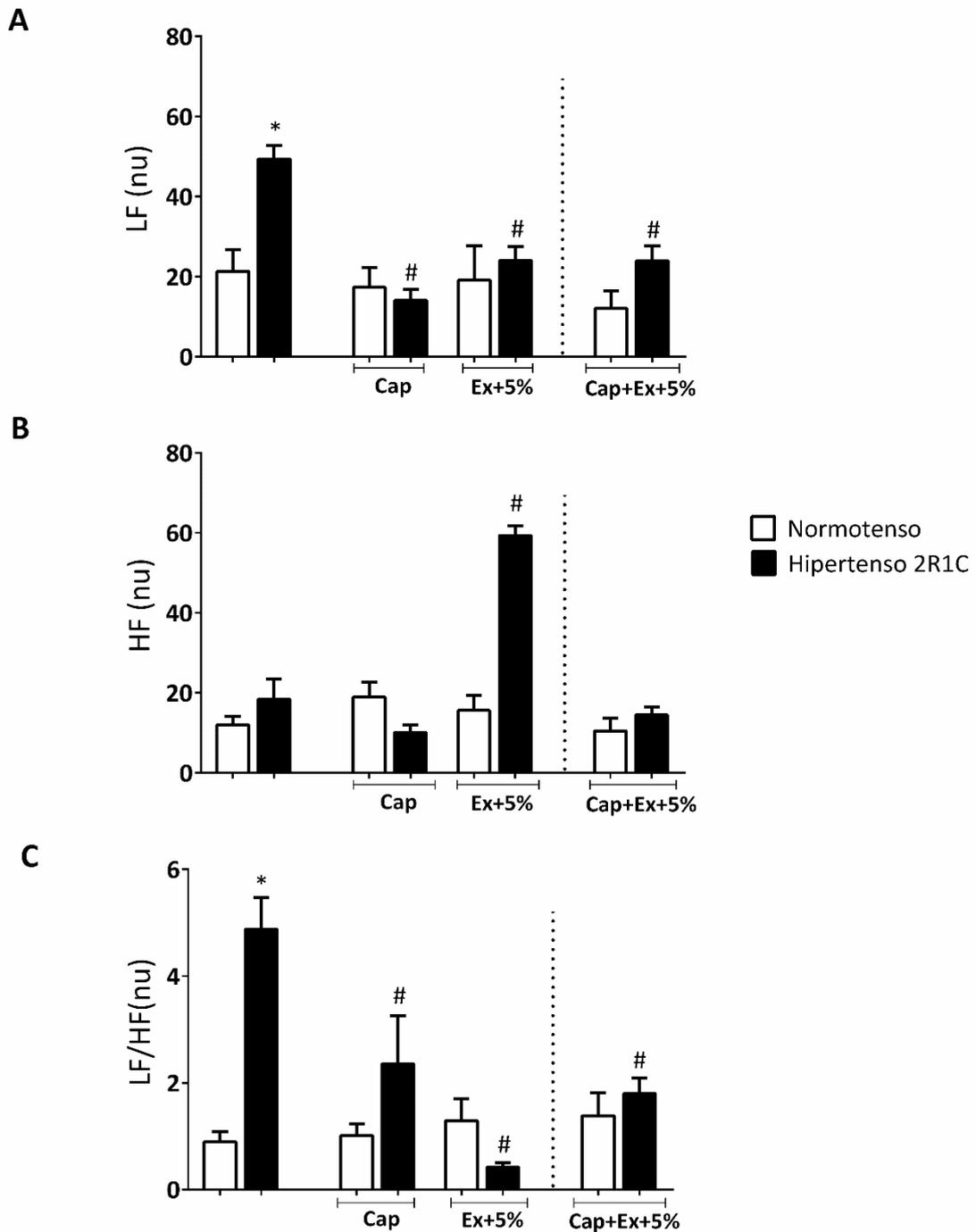
#### 4.4.3. Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento + Ex 5% sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos hipertensos 2R1C

Na **Figura 26.A**, o tratamento realizado com captopril onde houve redução ( $p < 0,05$ ) do componente LF em animais hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Cap:  $14,1 \pm 2,6$  nu). O tratamento com captopril associados ao Ex 5 % também reduziram ( $p < 0,05$ ) os índices do componente LF nos ratos hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Cap+Ex5%:  $23,9 \pm 3,6$  nu). O Ex 5% realizado sozinho diminuiu o componente LF em ratos hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Ex5%:  $24,1 \pm 3,5$  nu).

Na **Figura 26.B**, em relação ao componente HF, o grupo submetido somente ao Ex 5% apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em relação aos grupos hipertensos tratados com captopril (H-2R1C+Ex5%:  $59,3 \pm 2,3$  vs H-2R1C+Cap:  $10,1 \pm 1,9$  nu) e, tratado e submetido ao Ex 5% (H-2R1C+Ex5%:  $59,3 \pm 2,3$  vs H-2R1C+Cap+5%:  $14,4 \pm 2,0$  nu). O tratamento com captopril reduziu a relação LF/HF nos ratos hipertensos (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Cap:  $2,3 \pm 0,8$  nu) e quando realizado tratamento com captopril associado ao Ex 5% também houve uma diminuição ( $p < 0,05$ ) da relação LF/HF (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Cap+Ex5%:  $1,8 \pm 0,2$  nu).

Na **Figura 26.C**, os animais hipertensos submetidos somente ao Ex 5% apresentaram uma redução na relação LF/HF em relação aos animais hipertensos (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Ex5%:  $0,4 \pm 0,1$  nu). Além disso, observamos que o tratamento com Captopril não apresentou efeito sobre os componentes LF, HF e LF/HF dos ratos normotensos submetidos ao tratamento e ao tratamento associado ao Ex 5%.

**Figura 26:** Efeito do tratamento com Alisquireno ou de tratamento + Exercício 5% sobre a Variabilidade da Frequencia Cardíaca (VFC).

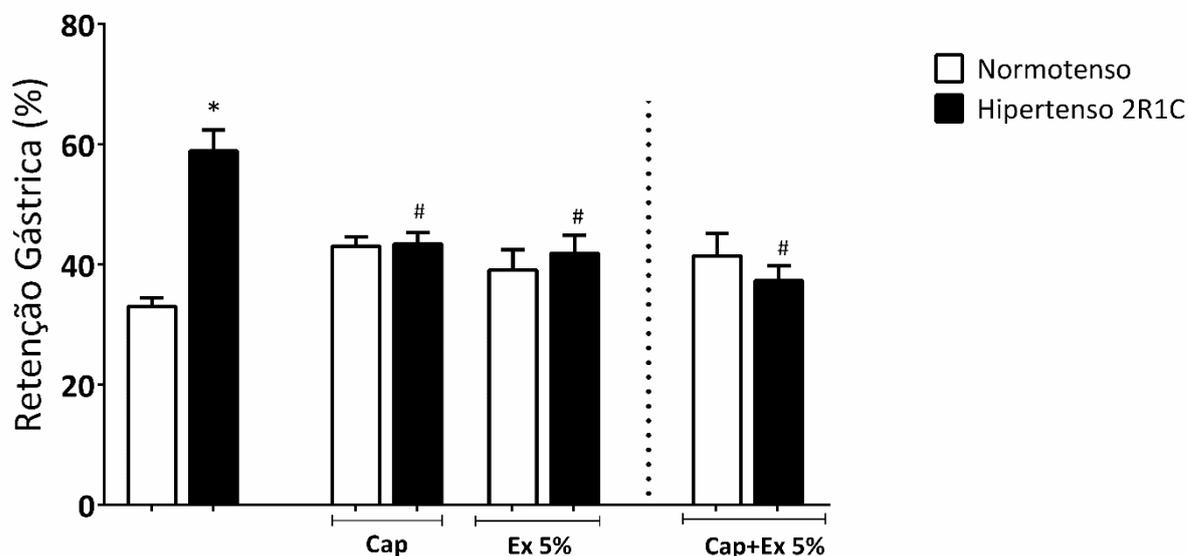


Legenda: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) – LF (baixa frequência); HF (alta frequência) e relação LF/HF - em ratos normotensos e hipertensos 2R1C, realizada com intervalo de 1500 batidas. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Cap (n=6); H-2R1C+Cap (n=6); Cap+Ex (n=6); H-2R1C+Cap+Ex (n=6). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância: \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap; # - H-2R1C vs H-2R1C 5%; # - H-2R1C vs 2R1C+Cap+Ex 5%.

#### 4.4.4. Efeito do tratamento com captopril ou de tratamento + Ex 5% sobre o aumento da taxa de retenção gástrica induzida por hipertensão renovascular (2R1C) em ratos.

Na **Figura 27**, observamos ainda, que os ratos dos grupos 2R1C+Exercício bem como, os ratos tratados com 2R1C+Captopril apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da retenção gástrica quando comparados aos ratos 2R1C (H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  vs. H-2R1C+Ex 5%:  $38,8 \pm 2,8$ ; H-2R1C+Cap:  $43,4 \pm 1,8$  %). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos 2R1C+captopril foram capazes de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da retenção gástrica comparados aos ratos do grupo somente 2R1C (H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  vs H-2R1C+Cap+Ex 5%:  $39,1 \pm 2,8$  %). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 27:** Efeito do tratamento com Captopril ou de tratamento + Exercício 5% sobre a taxa de retenção gástrica.

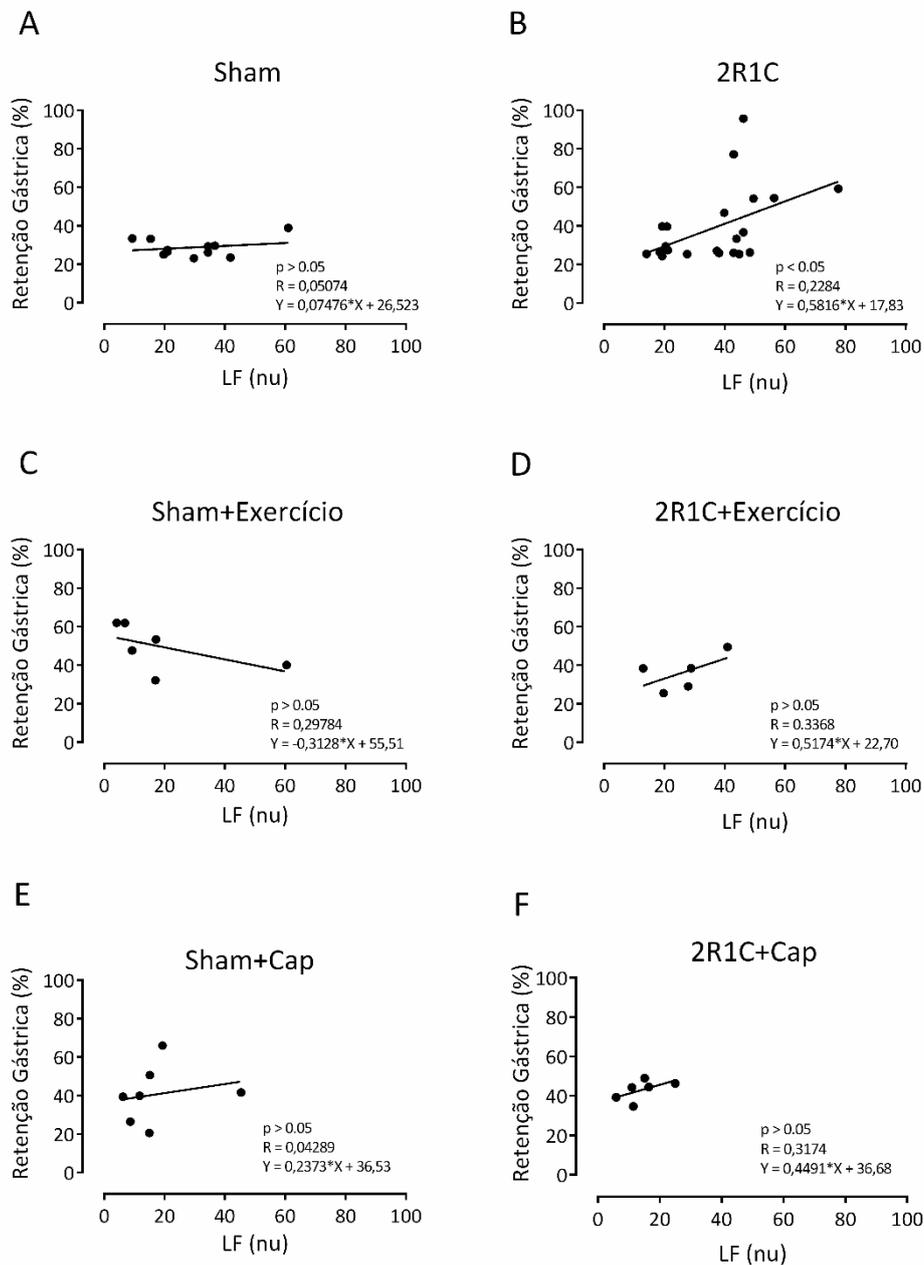


Legenda: Efeito do tratamento com Alisquireno e do Ex 5% sobre a retenção gástrica de ratos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=13); H-2R1C (n=14); Cap (n=7); H-2R1C+Cap (n=7); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Cap+Ex (n=7); H-2R1C+Cap+Ex (n=8). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Cap+Ex 5%.

4.4.5. Correlação entre os componentes da VFC (LF, HF, LF/HF) e a retenção gástrica em animais hipertensos 2R1C submetidos ao Ex 5% e ao tratamento com Captopril.

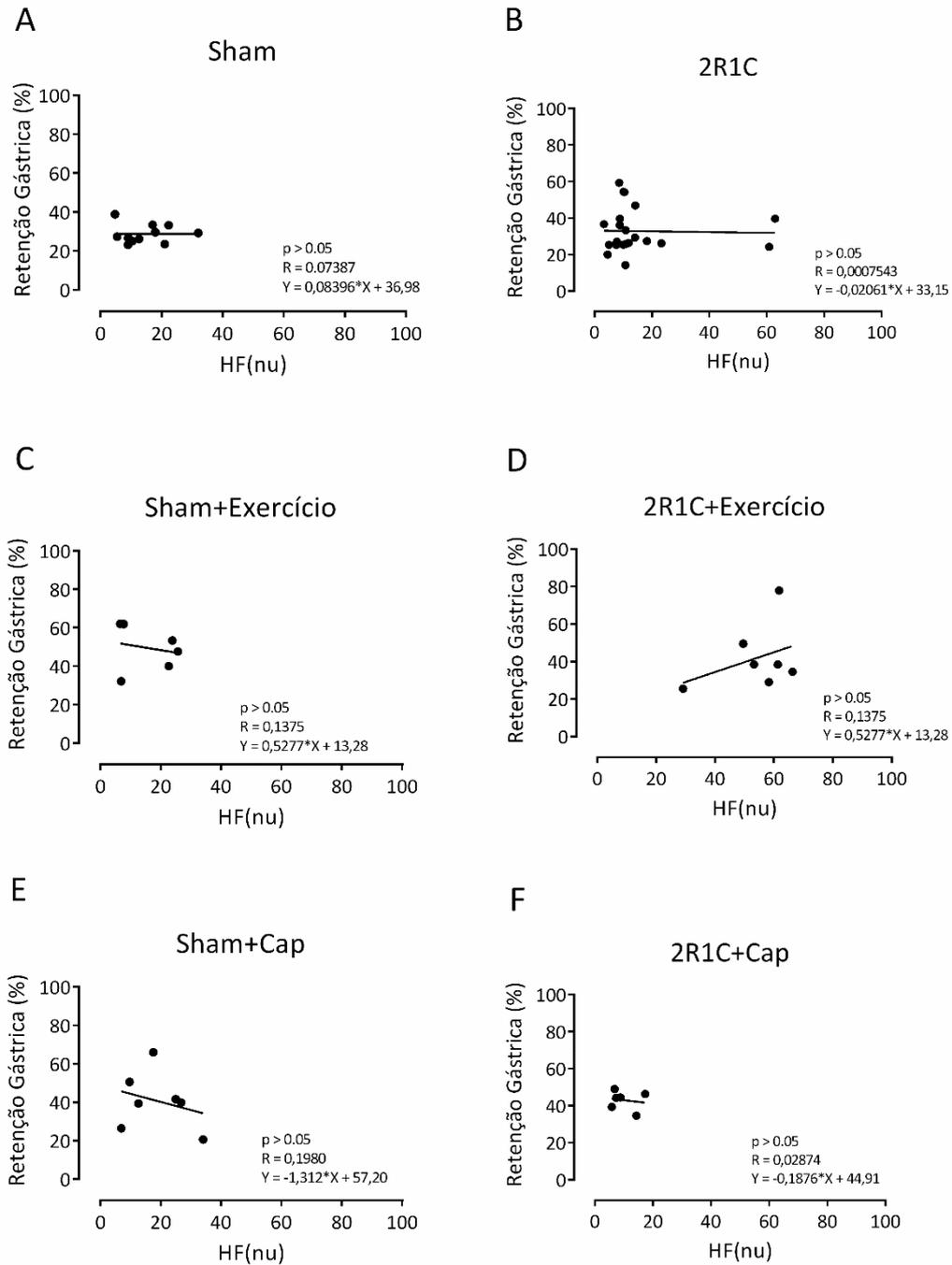
Na **figura 28.B**, a correlação realizada a partir de todos os dados referentes ao componente LF e a retenção gástrica dos animais 2R1C tratados com captopril, notamos que apenas o grupo H-2R1C apresentou uma correlação positiva ( $R = 0,228$ ) significativa ( $p < 0,05$ ) entre o componente LF e a recuperação fracional do marcador gástrico, ainda em relação ao componente LF, o tratamento com captopril não apresentou correlação positiva. Na **figura 29**, analisamos os dados referentes ao componente HF e a retenção gástrica notamos que os grupos apresentados não apresentam correlação positiva significativa em nenhum dos grupos estudados. Na **figura 30.D**, os dados referentes a análise realizada sobre a relação LF/HF mostram uma correlação positiva ( $R = 0,893$ ) e significativa ( $p < 0,05$ ), no grupo hipertenso submetido ao Ex 5% no entanto, não há uma correlação positiva entre os grupos tratados com captopril.

**Figura 28:** Correlação entre o componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com captopril.



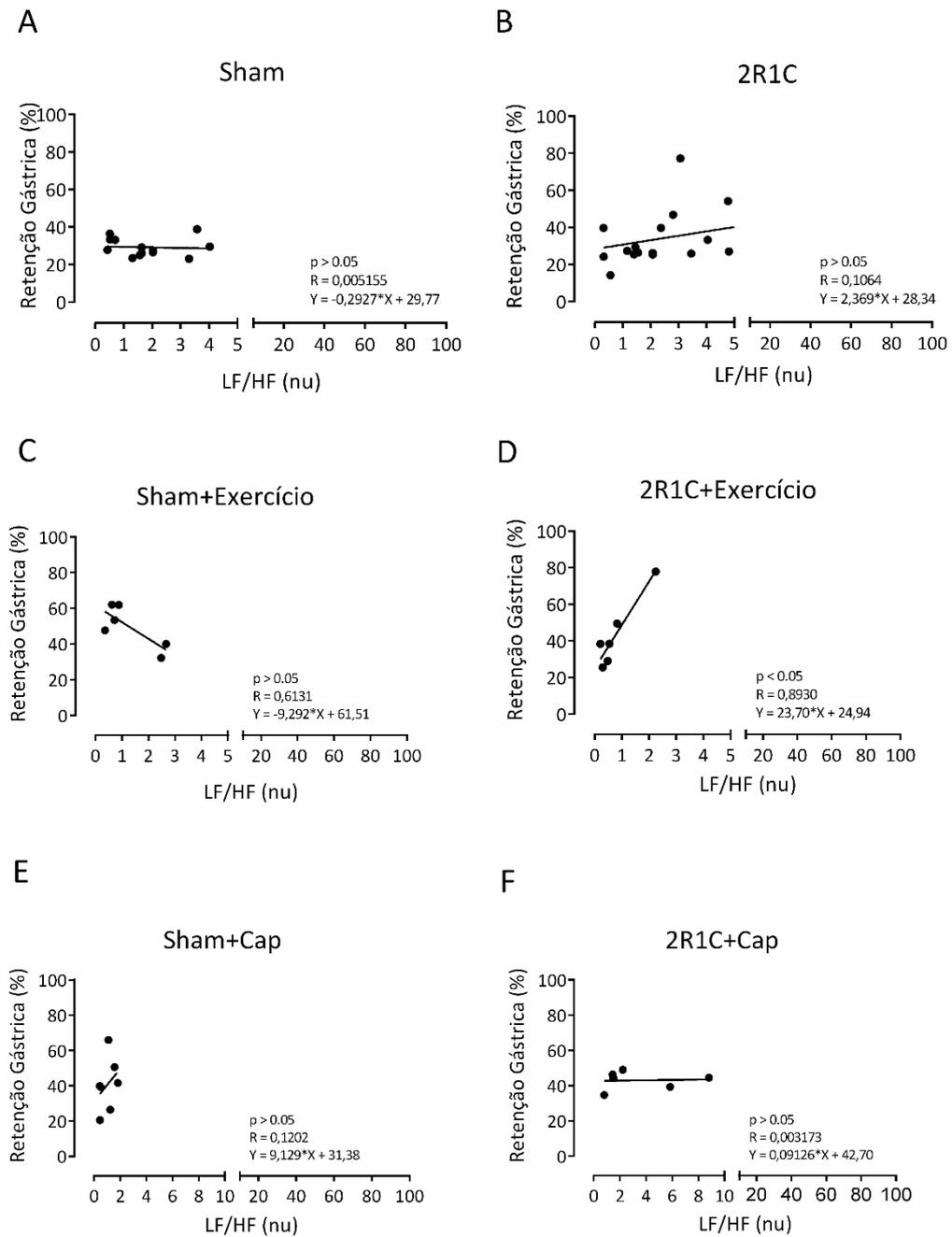
Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Captopril e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex 5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente LF e retenção gástrica em ratos 2R1C

**Figura 29:** Correlação entre o componente HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com captopril.



Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Captopril e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex 5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente HF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

**Figura 30:** Correlação entre o componente LF/HF da variabilidade da freqüência cardíaca (VFC) e retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com captopril.



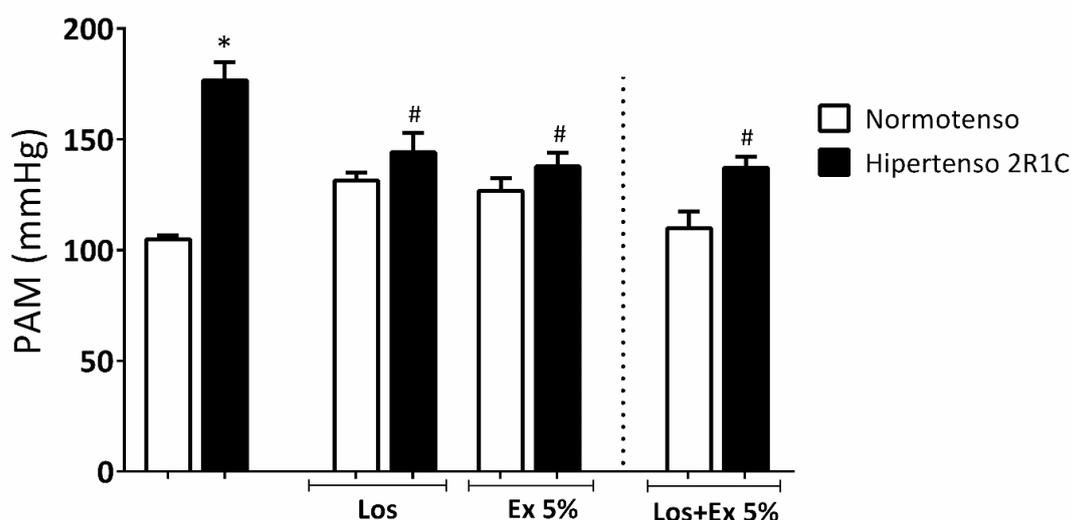
Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Captopril e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex 5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente LF/HF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

#### 4.5. RESPOSTA DA PAM, FC, VFC E RG EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR (2R1C) AO TRATAMENTO COM LOSARTANA E SUBMETIDOS OU NÃO AO EXERCÍCIO COM CARGA (5% p.c.).

4.5.1. Resposta da PAM em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) ao tratamento com Losartana e submetidos ou não ao exercício com carga (5% p.c.).

Na **figura 31**, observamos, que os ratos dos grupos H-2R1C+Exercício bem como, os ratos do grupo H-2R1C+Losartana apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da PAM quando comparados aos ratos H-2R1C (H-2R1C:  $176,7 \pm 8,2$  vs H-2R1C+Ex 5%:  $137,8 \pm 14,9$ ; H-2R1C+Los:  $144,4 \pm 8,9$  mmHg). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos ratos H-2R1C+losartana foi capaz de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da PAM comparados aos ratos do grupo somente H-2R1C (H-2R1C:  $176,7 \pm 8,2$  vs H-2R1C+Los+Ex 5%  $137,2 \pm 5,1$  mmHg). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 31:** Efeito do tratamento com Losartana ou de tratamento + Exercício 5% sobre a (PAM, mmHg), em ratos normotensos e hipertensos 2R1C.



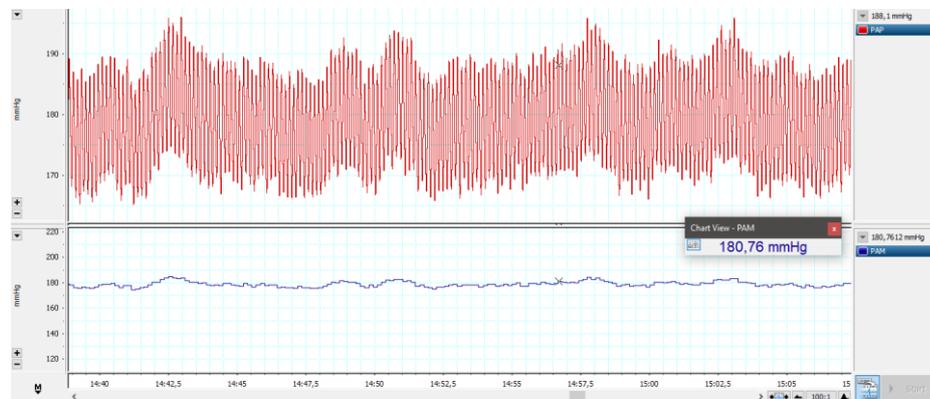
Legenda: Os níveis de pressão arterial média (PAM, mmHg) em ratos normotensos e hipertensos. Grupos Experimentais: Sham (n=10); 2R1C (n=10); Los (n=7); 2R1C+Los (n=7); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Los+Ex (n=6); 2R1C+Los+Ex (n=6). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los+Ex 5%.

**Figura 32:** Registros originais da (PAM, mmHg) do grupo Losartana e Ex 5% em ratos normotensos e hipertensos (2R1C). Todas as imagens demonstram um período de observação de 30 segundos que contêm a PAP (pressão arterial pulsátil) e a PAM (pressão arterial média).

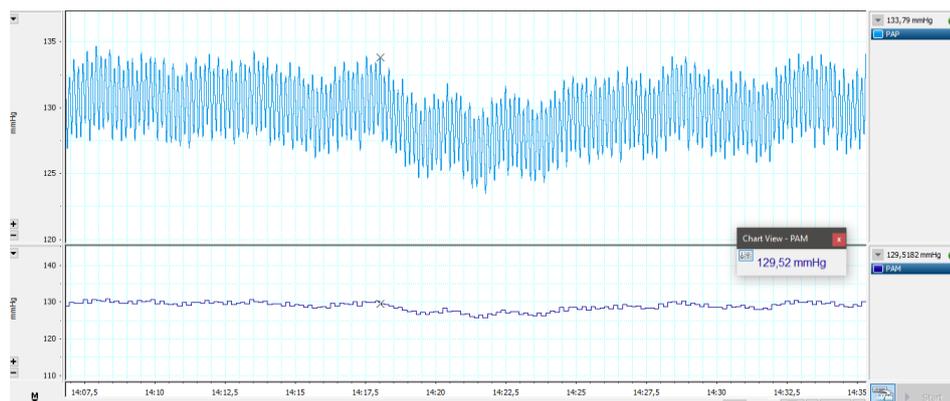
### A - Sham



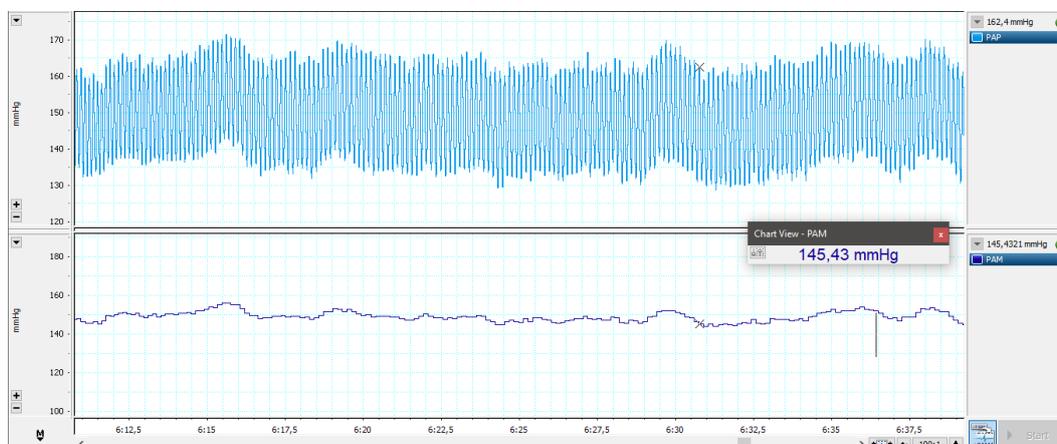
### B - 2R1C



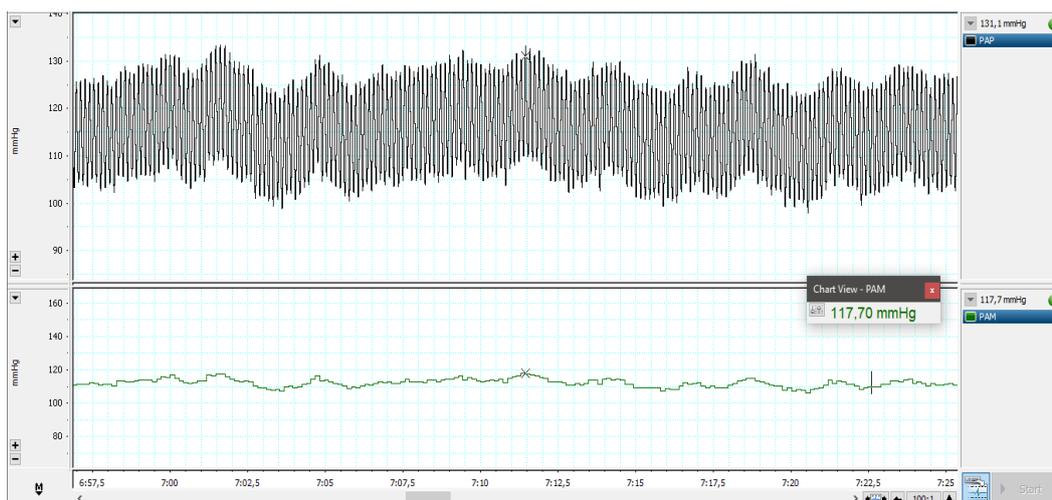
### C - Losartana



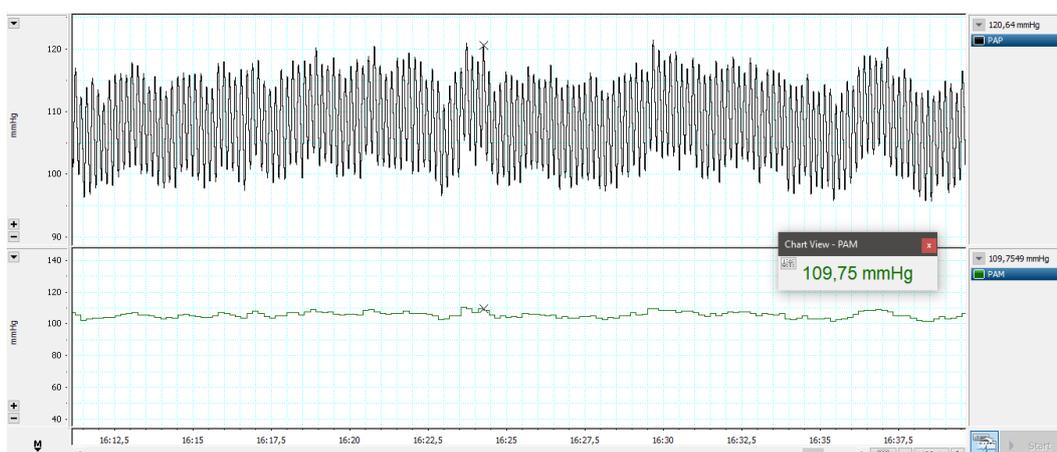
### D – 2R1C+Losartana



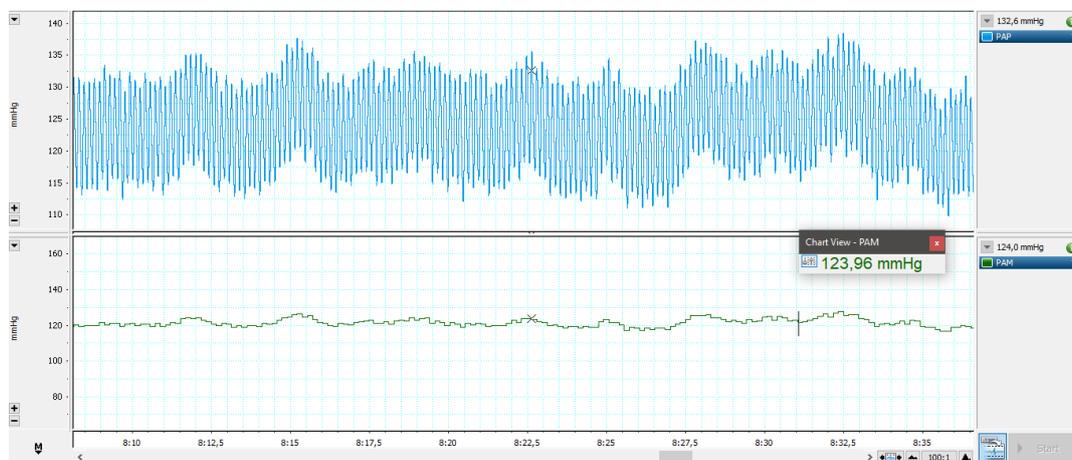
### E – Exercício 5%



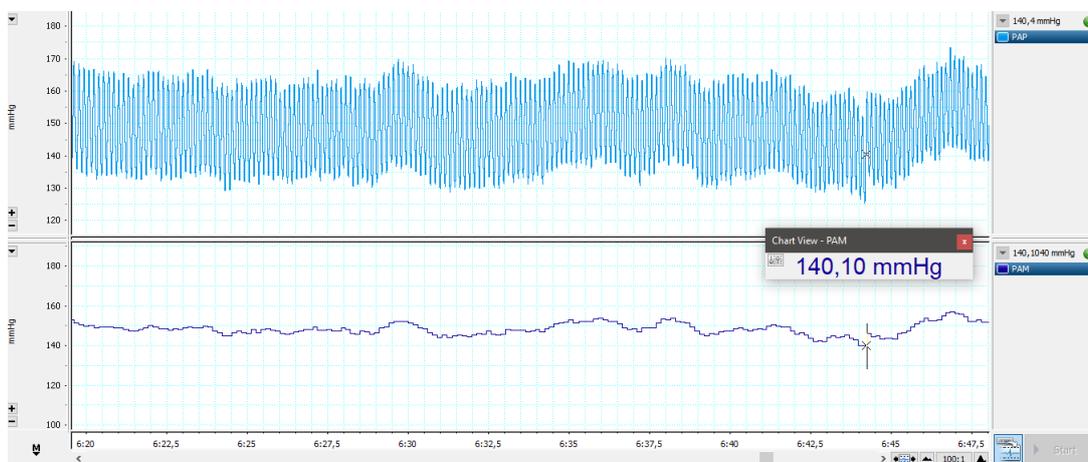
### F – H- 2R1C+Ex 5%



### G – Losartana+Ex 5%



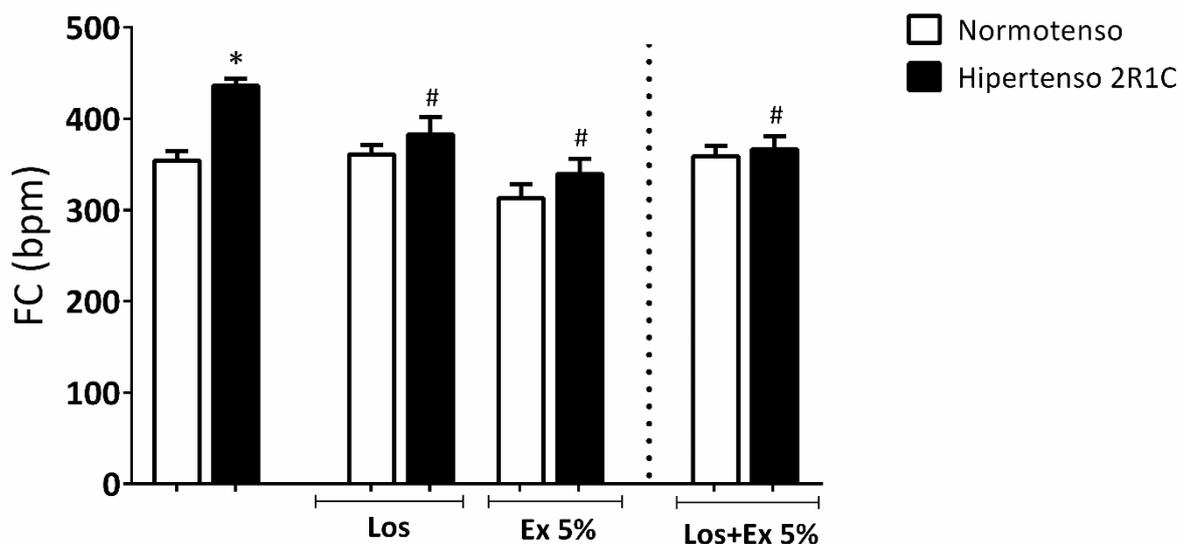
### H – 2R1C+Losartana+Ex 5%



#### 4.5.2. Resposta da FC em ratos com hipertensão renovascular (2R1C) tratados com losartana e submetidos ao Exercício com carga (5% p.c.).

Na **Figura 33**, mostramos que os ratos dos grupos H-2R1C+Exercício bem como, os ratos H-2R1C+Losartana apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da FC quando comparados aos ratos 2R1C (H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  vs. H-2R1C+Ex 5%:  $339,1 \pm 17,9$ ; H-2R1C+Los:  $382,8 \pm 18,8$  bpm). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos ratos 2R1C+Losartana foi capaz de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da FC comparados aos ratos do grupo somente 2R1C (H-2R1C:  $436 \pm 8,0$  vs 2R1C+Los+Ex 5%:  $366,4 \pm 14,24$  bpm). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 33:** Efeito do tratamento com Losartana e da sua associação ao exercício sobre os valores de Frequência cardíaca (FC, bpm), mensurado através de ECG.



Legenda: Os valores da frequência cardíaca (FC, bpm) em ratos normotensos e hipertensos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Los (n=6); H-2R1C+Los (n=6); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Los+Ex (n=7); H-2R1C+Los+Ex (n=7). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los+Ex 5%.

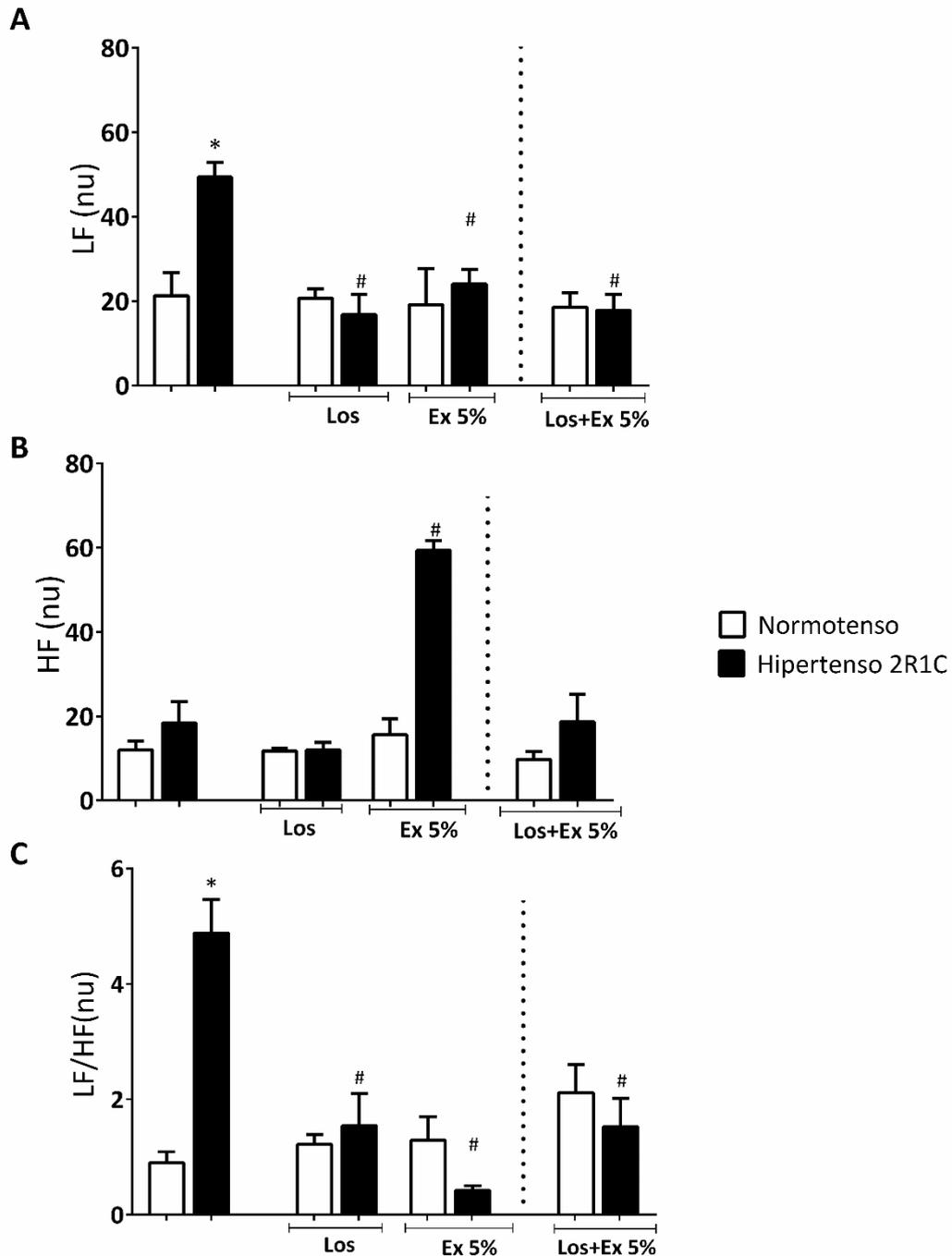
#### 4.5.3. Efeito do tratamento com losartana ou de tratamento + Ex 5% sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em ratos hipertensos 2R1C.

Na **Figura 34.A**, o tratamento realizado com losartana onde houve redução ( $p < 0,05$ ) do componente LF em animais hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Los:  $16,7 \pm 4,7$  nu). O tratamento com losartana associados ao Ex 5 % também reduziram ( $p < 0,05$ ) os índices do componente LF nos ratos hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Los+Ex5%:  $17,8 \pm 3,7$  nu). O Ex 5% realizado sozinho diminuiu o componente LF em ratos hipertensos (H-2R1C:  $49,3 \pm 3,4$  vs H-2R1C+Ex5%:  $24,1 \pm 3,5$  nu).

Na **Figura 34.B**, em relação ao componente HF, o grupo submetido somente ao Ex 5% apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em relação aos grupos hipertensos tratados com losartana (H-2R1C+Ex5%:  $59,3 \pm 2,3$  vs H-2R1C+Los:  $12,1 \pm 1,8$  nu) e, tratado e submetido ao Ex 5% (H-2R1C+Ex5%:  $59,3 \pm 2,3$  vs H-2R1C+Los+5%:  $18,7 \pm 6,5$  nu). O tratamento com losartana reduziu a relação LF/HF nos ratos hipertensos (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Los:  $2,3 \pm 0,8$  nu) e quando realizado tratamento com losartana associado ao Ex 5% também houve uma diminuição ( $p < 0,05$ ) da relação LF/HF (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Los+Ex5%:  $1,5 \pm 0,4$  nu).

Na **Figura 34.C**, os animais hipertensos submetidos somente ao Ex 5% apresentaram uma redução na relação LF/HF em relação aos animais hipertensos (H-2R1C:  $5,6 \pm 0,5$  vs H-2R1C+Ex%:  $0,4 \pm 0,1$  nu). Além disso, observamos que o tratamento com Captopril não apresentou efeito sobre os componentes LF, HF e LF/HF dos ratos normotensos submetidos ao tratamento e ao tratamento associado ao Ex 5%.

**Figura 34:** Efeito do tratamento com losartana ou de tratamento + Exercício 5% sobre a Variabilidade da Frequencia Cardíaca (VFC).

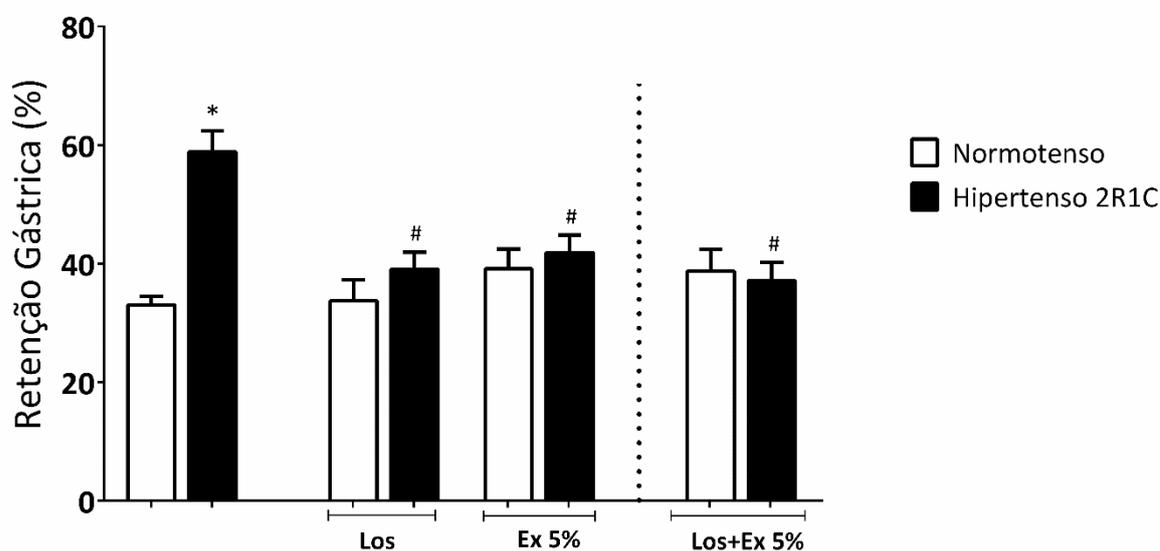


Legenda: A Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) – LF (baixa frequência); HF (alta frequência) e relação LF/HF - em ratos normotensos e hipertensos 2R1C, realizada com intervalo de 1500 batidas. Grupos Experimentais: Sham (n=10); H-2R1C (n=10); Los (n=6); H-2R1C+Los (n=6); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Los+Ex (n=6); H-2R1C+Los+Ex (n=6). Para análise estatística foram usadas média ± EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los+Ex 5%.

#### 4.5.4. Efeito do tratamento com losartana ou de tratamento + exercício 5% sobre o aumento da taxa de retenção gástrica induzida por hipertensão renovascular (2R1C) em ratos.

Na **Figura 35**, observamos ainda, que os ratos dos grupos 2R1C+Exercício bem como, os ratos tratados com 2R1C+Losartana apresentaram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) da retenção gástrica quando comparados aos ratos 2R1C (H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  vs. H-2R1C+Ex 5%:  $38,8 \pm 2,8$ ; H-2R1C+Los:  $39,09 \pm 2,84$  %). Além disso, observamos ainda que a associação do Ex 5% aos 2R1C+Losartana foram capazes de inibir significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da retenção gástrica comparados aos ratos do grupo somente 2R1C (H-2R1C:  $58,8 \pm 3,5$  vs H-2R1C+Los+Ex 5%:  $39,1 \pm 2,8$  %). Não observamos alterações entre todos os valores dos ratos normotensos.

**Figura 35:** Efeito do tratamento com Losartana ou de tratamento + Exercício 5% sobre a taxa de retenção gástrica.

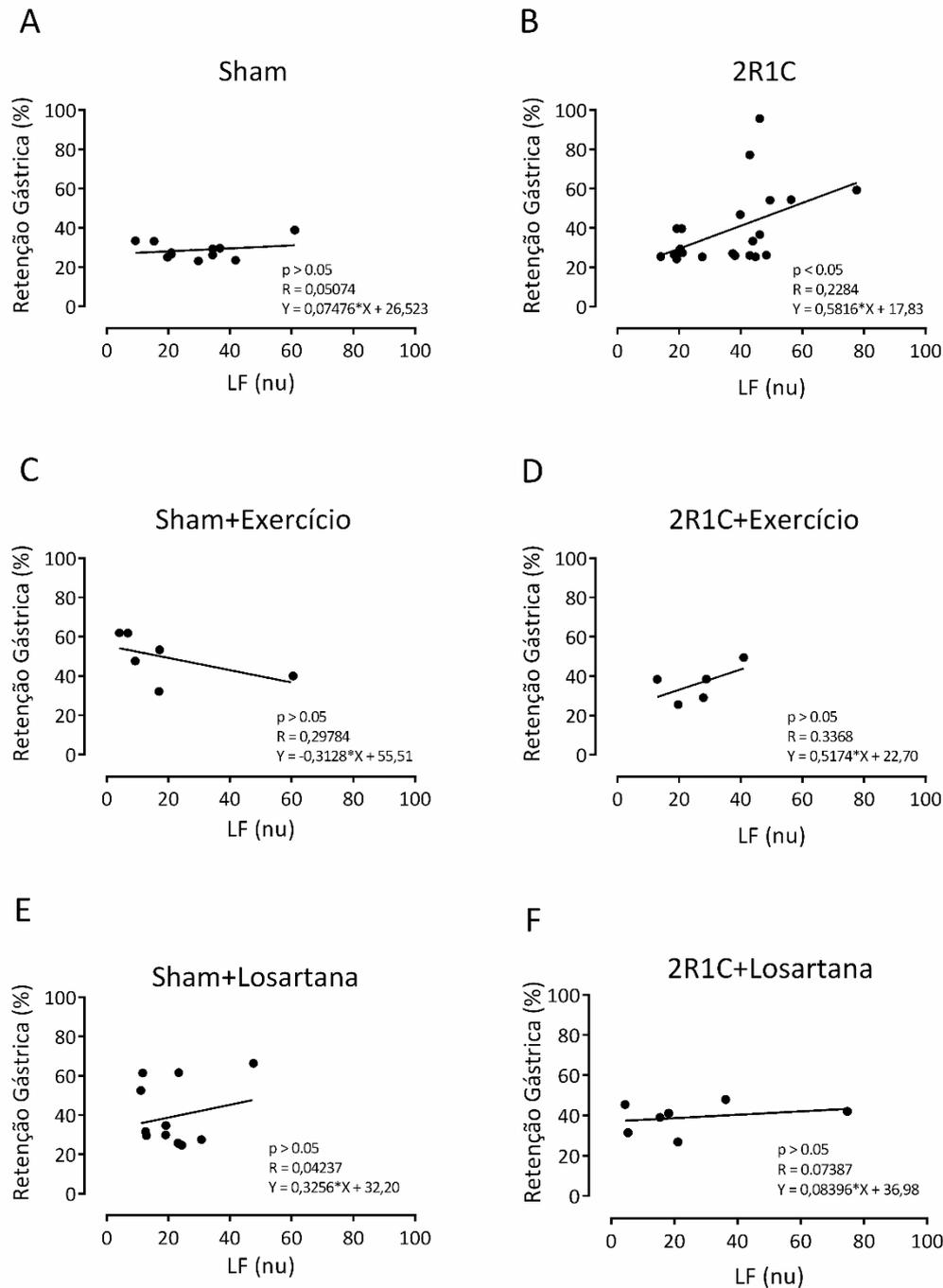


Legenda: Efeito do tratamento com Alisquireno e do Ex 5% sobre a retenção gástrica de ratos 2R1C. Grupos Experimentais: Sham (n=13); H-2R1C (n=14); Exercício (n=6); H-2R1C+Ex (n=6); Los (n=7); H-2R1C+Los (n=7); Los+Ex (n=7); H-2R1C+Los+Ex (n=7). Para análise estatística foram usadas média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância:  $p < 0,05$ : \* - Sham vs H-2R1C; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los; # - H-2R1C vs H-2R1C+Ex 5%; # - H-2R1C vs H-2R1C+Los+Ex 5%.

4.5.5. Correlação entre os componentes da VFC (LF, HF, LF/HF) e a retenção gástrica em animais hipertensos 2R1C submetidos ao Ex 5% e ao tratamento com losartana.

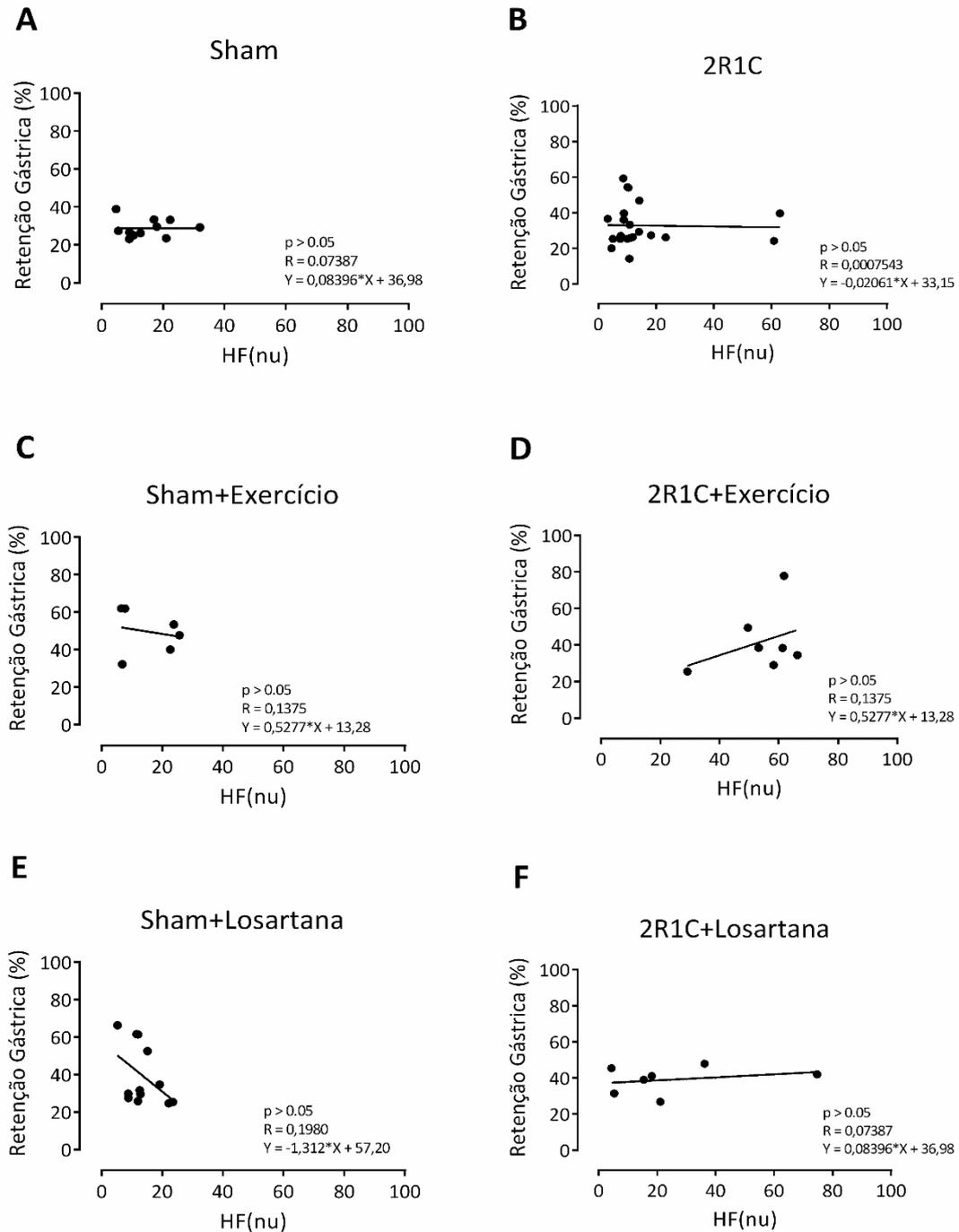
Na **figura 36.B** correlação realizada a partir de todos os dados referentes ao componente LF e a retenção gástrica dos animais 2R1C tratados com losartana, notamos que apenas o grupo H-2R1C apresentou uma correlação positiva ( $R = 0,228$ ) significativa ( $p < 0,05$ ) entre o componente LF e a recuperação fracional do marcador gástrico, ainda em relação ao componente LF, o tratamento com losartana não apresentou correlação positiva. Na **figura 37**, analisamos os dados referentes ao componente HF e a retenção gástrica notamos que os grupos apresentados não apresentam correlação positiva significativa em nenhum dos grupos estudados. Na **figura 38.D**, os dados referentes a análise realizada sobre a relação LF/HF mostram uma correlação positiva ( $R = 0,893$ ) e significativa ( $p < 0,05$ ), no grupo hipertenso submetido ao Ex 5% no entanto, não há uma correlação positiva entre os grupos tratados com losartana.

**Figura 36:** Correlação entre o componente LF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com losartana.



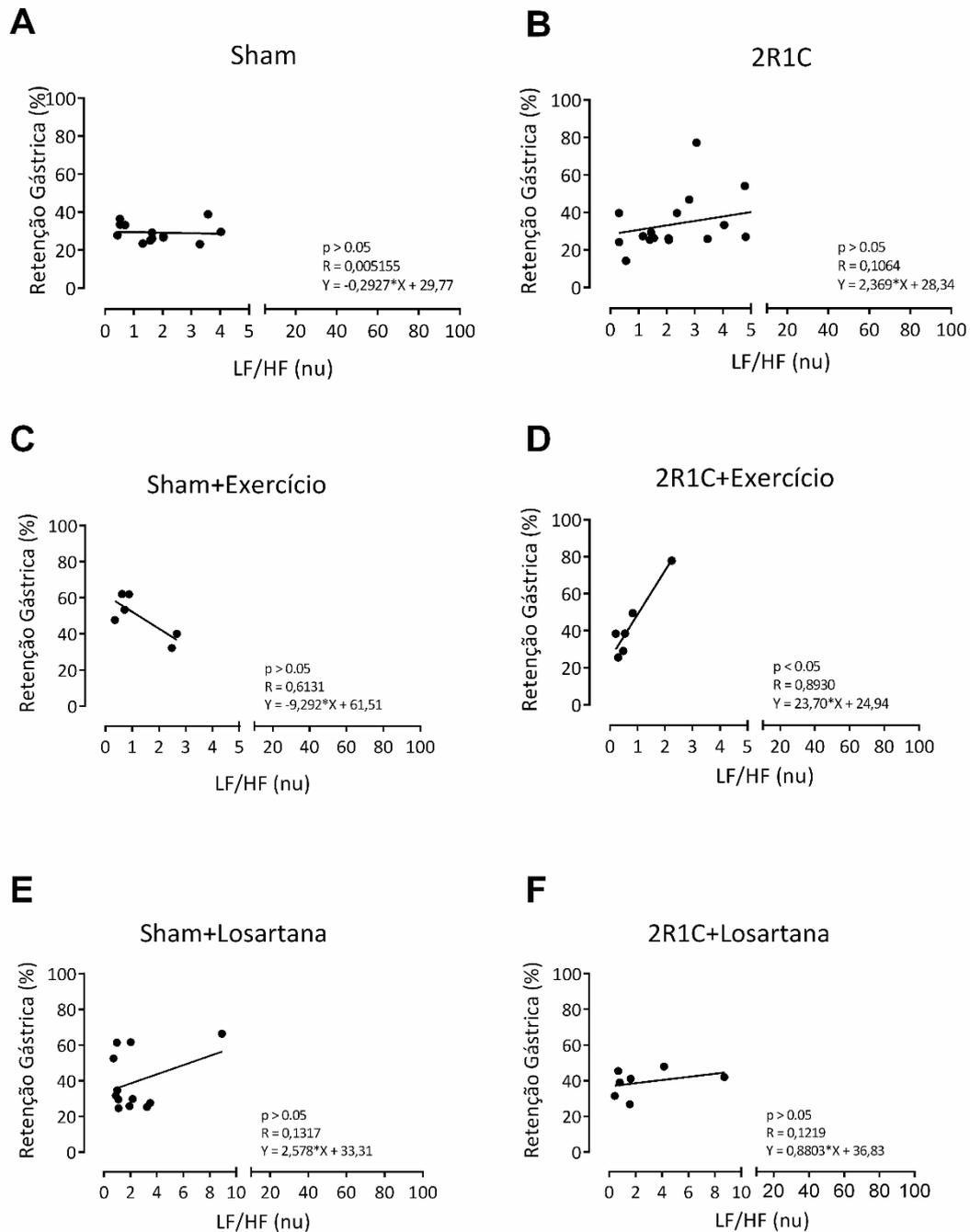
Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Losartana e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex 5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente LF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

**Figura 37:** Correlação entre o componente HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com losartana.



Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Losartana e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex 5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente HF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

**Figura 38:** Correlação entre o componente LF/HF da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a retenção gástrica (RG) de ratos H-2R1C tratados com losartana.



Legenda: Os animais foram tratados, por gavagem, por 28 dias com Losartana e submetidos a treinamento físico (Ex) com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do Ex 5%). Os ratos foram gavados com (1,5 ml) refeição teste (vermelho de fenol na solução de glicose) e eutanasiados 10 minutos mais tarde para determinar a recuperação de corante gástrico por espectrofotometria. Cada gráfico indica um grupo. Foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do componente LF/HF e retenção gástrica em ratos 2R1C.

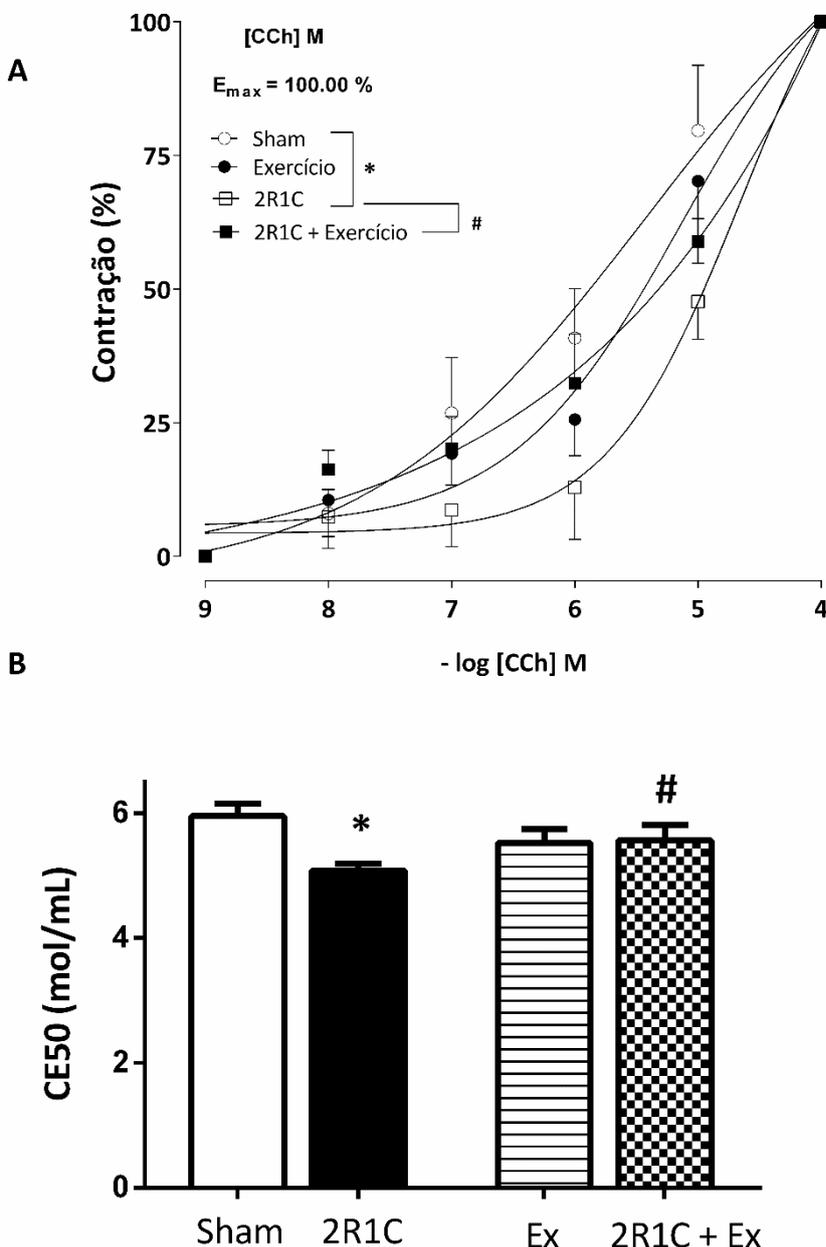
#### 4.6. Efeito do Exercício (5% p.c.) sobre a responsividade ao Carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos hipertensos 2R1C.

Na **figura 39**, podemos observar de todos os grupos submetidos ao protocolo de responsividade ao Carbacol (CCh).

Em relação ao grupo Sham, observamos que a hipertensão renovascular (2R1C) promoveu uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) na responsividade ao CCh nas concentrações de  $10^{-7}$  (Sham:  $26,820 \pm 4,625$  vs 2R1C:  $8,646 \pm 3,056$  %);  $10^{-6}$  (Sham:  $40,840 \pm 4,116$  vs 2R1C:  $12,920 \pm 4,357$  %) e  $10^{-5}$  (Sham:  $79,640 \pm 5,465$  vs 2R1C:  $47,680 \pm 3,170$  %) e que o grupo (2R1C) que foi submetido ao Exercício promoveu um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na responsividade ao CCh nas concentrações de  $10^{-8}$  (2R1C:  $7,394 \pm 2,636$  vs 2R1C+Ex:  $16,28 \pm 1,592$  %),  $10^{-7}$  (2R1C:  $8,646 \pm 3,056$  vs 2R1C+Ex:  $20,09 \pm 2,705$  %),  $10^{-6}$  (2R1C:  $12,920 \pm 4,357$  vs 2R1C+Ex:  $32,34 \pm 4,120$  %) e  $10^{-5}$  (2R1C:  $47,680 \pm 3,170$  vs 2R1C+Ex:  $58,92 \pm 1,891$  %) (**figura 39.A**).

Na **figura 39.B**, no que diz respeito a CE50, observamos que há uma menor concentração de Carbacol (CCh) para atingir metade do efeito máximo no grupo (2R1C), e que essa redução foi significativa ( $p < 0,05$ ), em relação ao grupo Sham (Sham:  $5,951 \pm 0,08960$  vs 2R1C:  $5,080 \pm 0,04789$   $\mu\text{g/ml}$ ), há também uma maior concentração de Carbacol (CCh) para atingir metade do efeito máximo no grupo 2R1C+Ex, que foi submetido ao exercício, em relação ao grupo 2R1C (2R1C:  $5,080 \pm 0,04789$  vs 2R1C+Ex:  $5,560 \pm 0,1109$   $\mu\text{g/ml}$ ).

**Figura 39.** Efeito da Hipertensão (2R1C) e do Exercício 5% sobre a responsividade ao Carbacol em tiras isoladas de fundo de estômago em ratos normotensos, hipertensos, normotensos treinados e hipertensos treinados.



Legenda: Grupos experimentais: Sham (n=5); Exercício (n=5); 2R1C (n=5) e 2R1C+Ex (n=5). **A)** Efeito da responsividade ao Carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos Sham, 2R1C, Exercício e ratos 2R1C submetidos ao Exercício-5% (2R1C+Ex). **B)** A concentração de Carbacol (CCh) que induz metade do efeito máximo (EC50). Para análise estatística foi utilizado para todos os grupos média  $\pm$  EPM, onde utilizamos Two Way (ANOVA) seguida de teste de Tukey, para análise de contratilidade entre concentrações no gráfico **A**. No gráfico **B**, para análise estatística foi utilizado para todos os grupos média  $\pm$  EPM, por análise de variância ANOVA, seguido por teste de tukey. Significância: \*p < 0,05, Sham vs 2R1C, nas concentrações ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ); # p < 0,05, 2R1C vs 2R1C+Ex ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ).

*Discussão*

---

## 5. DISCUSSÃO

No presente estudo, observamos que a hipertensão renovascular 2R1C promoveu uma dismotilidade gástrica, a qual sugerimos ser ocasionada por uma maior ativação do sistema renina-angiotensina, devido a um aumento da circulação de angiotensina II a qual pode levar a uma hiperatividade simpática. Tais alterações foram abolidas tanto pela prática de exercício físico como pela inibição do sistema renina-angiotensina. Em estudos de contratilidade (*in vitro*) observamos alterações na responsividade ao Carbacol (CCh) em tiras isoladas de fundo de estômago, onde os ratos hipertensos 2R1C apresentaram uma menor força de contração comparados aos ratos normotensos, no entanto, os ratos submetidos ao exercício físico tenderam a recuperar a força contrátil de tais tecidos.

A ANG II, principal efetor do SRA e da hipertensão 2R1C, é um hormônio octapeptídeo de ocorrência natural do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), o qual possui um potente efeito vasoconstritor (BASSO et al. 2001) no entanto, apesar de ser imensamente estudada pouco se sabe sobre os efeitos da ANG II na motilidade gástrica. Neste sentido, um estudo realizado por Hallersund et al. (2011) foi demonstrado que os componentes do SRA estão presentes na mucosa gástrica das amostras de biópsia do antro e do corpo do estômago. Em células mesenquimais da lâmina própria e células endoteliais vasculares também foram encontrados a presença de renina e angiotensinogênio, além de receptores de angiotensina AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>. Estes receptores também foram observados no epitélio gástrico (principalmente na superfície basal). Os receptores AT<sub>1</sub> também foram observados em células endócrinas presentes no antro do estômago, além da presença da enzima conversora de angiotensina (ECA) em células endoteliais vasculares (CARL-MCGRATH et al. 2009).

A presença dos vários componentes do SRA no trato gastrointestinal aumenta a possibilidade de que a modificação deste sistema localmente possa ser um potencial terapêutico para diversos tipos de patologias que afetam o TGI, como doença intestinal inflamatória, câncer gastrointestinal, distúrbios de motilidade intestinal e isquemia mesentérica (GARG et al., 2012).

No presente estudo, verificamos que a angiotensina II administrada via intraperitoneal aumentou a taxa de retenção gástrica. Além disso, este efeito de

aumento da retenção gástrica foi inibido pela administração prévia de drogas anti-hipertensivas como losartana (antagonista de receptor  $AT_1$  e  $AT_2$ ) bem como de captopril (inibidor da ECA). Esses resultados sugerem a participação do SRA na modulação das funções gástricas, incluindo o efeito na retenção gástrica de líquidos no estômago, sugerindo a ação da angiotensina II e dos seus antagonistas em seus sítios de ação. Nossos resultados corroboram com os achados de Scarbignato et al., (1983), onde foi relatado um retardo no esvaziamento gástrico em ratos e, que, quando esse efeito é antagonizado por saralasin (antagonista de receptor de ANG II) esse retardo é abolido, sugerindo ação da ANG II em seus receptores específicos no trato gastrointestinal (TGI).

A hipertensão pode ser estudada utilizando-se de diversos modelos experimentais, entre eles, têm-se os modelos genéticos, como o (SHR), hipertensão neurogênica e modelos de hipertensão renal, como o de Goldbalt, 2 rins - 1 clipe (2R1C). Neste estudo optamos por utilizar o modelo 2 rins-1 clipe, o qual se caracteriza principalmente por aumentar a atividade do sistema renina angiotensina, com consequente aumento na concentração de ANG II e uma maior ativação de receptor  $AT_1$  (NISHI et al., 2010), induzindo uma série de efeitos que afetam o sistema cardiovascular, incluindo aumento do estresse oxidativo, disfunção barorreflexa (LINCEVICIUS et al., 2012) e maior ativação do sistema nervoso simpático (NAVAR et al., 1998; LERMAN et al., 2005). Esse modelo de hipertensão é composto por 3 fases em seu desenvolvimento (Oliveira-Sales et al, 2014). Neste estudo trabalhamos com um período de 5 semanas, durante a fase 2, que dura em torno de 5 a 8 semanas após a colocação do clipe, conhecida como fase renina-dependente, onde os níveis de ANG II continuam aumentados (Oliveira-Sales et al., 2014).

Inicialmente, demonstramos que a hipertensão 2R1C apresentou, como já descrito na literatura (RODRIGUES et al., 2007; SOARES et al., 2011; MARTINS-OLIVEIRA et al., 2013) elevação da PAM e FC. Muitos mecanismos promovidos pelo desenvolvimento da hipertensão 2R1C estão envolvidos nos efeitos cardiovasculares. Estudos anteriores mostraram que a ativação do receptor  $AT_1$  medeia predominantemente o efeito de ANG II nos vasos sanguíneos renais e são, em grande parte, responsáveis pelo desenvolvimento da hipertensão (Chatziantoniou, 1993). De acordo com Johansson et al., (1999), a hiperatividade do

SRA na hipertensão renovascular é um fator que colabora para a ativação e elevação da atividade do SNS, que contribui para a progressão da hipertensão, onde a ANG II pode exercer um efeito facilitador na liberação de noradrenalina por estimulação de receptores pré-funcionais de ANG II nos nervos simpáticos periféricos (MAJEWSKI et al., 1984).

Além disso, verificamos também que os ratos hipertensos apresentaram retenção gástrica aumentada, sugerindo que este efeito pode estar relacionado com o aumento de níveis plasmáticos de renina, característicos da hipertensão 2R1C, durante o período de estudo, conseqüentemente com ação aumentada da ANG II induzindo o aumento da atividade simpática sobre a TGI. Hatanaka e colaboradores (1995) demonstraram que ratos SHR apresentaram maior taxa de retenção gástrica quando comparado com ratos normotensos, e esse efeito foi relacionado a distúrbios do sistema nervoso autônomo, incluindo aumento de atividade simpática, hipofunção parassimpática e desenvolvimento de mecanismos dopaminérgicos e, que essa repercussão está diretamente relacionada com a PA. Entretanto, as alterações na motilidade de ratos SHR também podem estar relacionadas com a hiperatividade do SRA, assim, fazendo uma correlação com os resultados encontrados no nosso estudo.

Além disso, foi demonstrado que a hipertensão 2R1C tem efeito sobre as células neuroendócrinas gástricas (KASACKA; PIOTROWSKA; LEWANDOWSKA, 2014). Essas células, presentes na mucosa, são altamente especializadas (DÖRFFEL et al., 1999) e produzem uma ampla gama de hormônios com uma distribuição regional específica (LI; FANG; HUI, 2005). Esses hormônios além de serem essenciais na regulação da motilidade intestinal, absorção e função secretora gástrica, também podem afetar o tônus vascular sistêmico (JACKSON et al., 1982) e a pressão sanguínea (GREGORY; TRACY, 1964). Isso sugere que essas células, além de apresentarem ação sobre o sistema endócrino e sistema nervoso, também tem importância na regulação gástrica e que a hipertensão 2R1C tem efeito sobre elas, podendo também ter efeito sobre a motilidade, como evidenciamos neste estudo.

Estudos relataram um aumento no nível de gastrina sérica pós-prandial em adultos hipertensos em comparação com normotensos (JIANG et al., 2013). Do mesmo modo, experimentalmente, demonstrou-se um aumento de células contendo

gastrina no estômago de ratos 2R1C (KASACKA; PIOTROWSKA; LEWANDOWSKA, 2014). O aumento de gastrina em animais hipertensos também pode ser o mecanismo contrabalançado devido a maior expressão de fatores que limitam a secreção gástrica e a função motora. Em contrapartida, vários estudos experimentais demonstraram que animais hipertensos têm aumento de imunorreatividade para a somatostatina e peptídeo relacionando ao gene calcitonina (CGRP), ambos inibidores da secreção de ácido gástrico, da motilidade e, responsáveis pelo aumento da concentração de prostaglandinas, que afetam negativamente a atividade das células parietais e o fluxo sanguíneo através da mucosa gástrica (JACKSON et al., 1982; KASACKA, 2009; KASACKA; MAJEWSKI, 2007).

Dentro desse contexto, Lüdke et al., (1989) verificaram em um estudo in vitro que tanto o músculo longitudinal quanto o músculo circular do estômago responderam a ANG II, sugerindo, desse modo, a presença de receptores apropriados em células do músculo liso gástrico, fortalecendo ainda mais a hipótese da ANG II atuar diretamente sobre parâmetros gastrointestinais, como o esvaziamento gástrico. Além disso, as ações da ANG II também foram descritas em neurônios intestinais, onde há regulação da motilidade gástrica por ativação de mecanismos locais (GANTEN et al., 1978; FURNESS; COSTA, 1982)

No presente estudo, optamos por trabalhar com exercício físico de natação durante 4 semanas com sobrecarga de 5%. O uso de diferentes intensidades de sobrecarga é comum em protocolos de natação para ratos e a grande maioria dos estudos utiliza sobrecargas entre 5 e 8% (PEREIRA et al., 1994; GALDINO et al., 2000). Entretanto, (GOBATTO et al., 2001) sugeriram que o uso de sobrecargas superiores a 6% do peso corporal poderia levar a efeitos indesejáveis relacionados à intensidade do treinamento físico, como lesões musculares e restauração incompleta dos níveis de substrato entre sessões de exercícios. Este protocolo de exercício físico encontra-se descrito na literatura associado ao modelo de hipertensão 2R1C, onde foram demonstrados que o treinamento de natação reduziu os níveis pressóricos e a frequência cardíaca dos animais (Becker et al., 2005; Rodrigues et al., 2007; Soares et al., 2011).

Nossos resultados demonstraram que o Exercício 5% não exerceu efeito adicional aos tratamentos com os anti-hipertensivos sobre os parâmetros

hemodinâmicos dos animais hipertensos. Martins-Oliveira et al., 2013 demonstraram que o alisquireno exerce efeitos anti-hipertensivos semelhantes aos encontrados com uso da losartana, provavelmente isso ocorre porque o alisquireno age no início do SRA, inibindo a renina e impedindo toda a cascata de síntese de ANG II e, conseqüentemente, reduzindo a maior ativação de receptor AT<sub>1</sub>.

Neste sentido, um estudo realizado por Azevedo et al., (2003) com ratos SHR foi demonstrado que a losartana, administrada na dose de (10mg/kg/dia), diminuiu a PA em ratos hipertensos, mas não houve efeito sobre a FC. Entretanto, no nosso estudo houve efeito sobre a FC. Essa discrepância é possível devido ao uso de diferentes modelos experimentais, visto que utilizamos o modelo 2R1C. Nesse mesmo estudo, Azevedo e colaboradores (2003) constataram que o tratamento com losartana associado ao exercício físico não causou nenhum efeito adicional quando comparado com os animais que foram tratados apenas com o anti-hipertensivo e que isso provavelmente está relacionado ao fato do fármaco reduzir a pressão arterial a níveis mais baixos, minimizando assim os efeitos do exercício físico.

Além disso, Tipton et al., (1983) relataram que há um efeito sinérgico na PA de ratos hipertensos submetidos ao exercício associado com pequenas doses de algumas classes de fármacos anti-hipertensivos (reserpina, clorotiazida e hidralizina). Quanto aos inibidores da ECA (IECA), o captopril, age inibindo o aumento da angiotensina II, através da inibição da ECA e também noradrenalina, reduzindo a atividade simpática basal no modelo de hipertensão 2R1C (ZHU et al., 2017), resultando em reduções da FC e da PAM.

Além da diminuição da PAM e FC em ratos 2R1C submetidos aos tratamentos (Bolterman et al., 2005; Gradman et al., 2005; Martins-Oliveira et al., 2013; Zhuang et al., 2012; Ramos-Filho et al., 2014), o bloqueio do SRA com os anti-hipertensivos; alisquireno, captopril e losartana, também tiveram efeito sobre a retenção gástrica. Os nossos resultados demonstraram que todos os grupos hipertensos 2R1C tratados com os anti-hipertensivos apresentaram redução nos índices de retenção gástrica, assim como os grupos que foram tratados e submetidos ao exercício 5%. Isso ocorreu, provavelmente, devido à diminuição de atividade do SRA no estômago, pois os fármacos utilizados modulam negativamente a ativação deste sistema.

Os ratos hipertensos 2R1C submetidos apenas ao exercício apresentaram diminuição de PAM, FC e retenção gástrica. Em estudos realizados protocolos experimentais de natação em animais, Fernandes et al., (2011) e Oliveira et al., (2009) demonstraram que o exercício tem efeito sobre os níveis cardíacos de angiotensinogênio, reduzindo-os. Além disso, ambos apresentaram redução nos níveis cardíacos de ANG I, como consequência da redução do substrato angiotensinogênio, conseqüentemente houve uma diminuição da ANG II, indicando uma atenuação no eixo ECA/ANG II pelo exercício físico.

Posteriormente, realizamos a análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), que é uma ferramenta indireta que decompõe sinais cardiovasculares em seus componentes de frequência e quantifica a influência de cada componente (MALLIANI et al., 1991). Observamos que o exercício físico, realizado durante 4 semanas, aumenta a potência das oscilações de alta frequência (HF), relacionado a modulação vagal (CHESS; TAM; CALARESU, 1975; KITNEY; ROMPELMAN, 1980; AKSELROD et al., 1981) e diminui as oscilações de baixa frequência (LF), relacionado, entre outros fatores, a hiperatividade do SRA (AKSELROD et al., 1981), além disso, o exercício diminuiu os índices marcadores de modulação simpática e vagal (relação LF/HF), deixando-os próximos dos valores encontrados no grupo normotenso.

A inervação parasimpática pelo nervo vago constitui uma ligação importante entre o sistema nervoso central e o trato gastrointestinal e tem uma influência significativa sobre a função secretora do estômago (QIAN; DANIELSSON; EL-SALHY, 1996). A maior participação do tônus parassimpático está relacionada ao aumento da motilidade gástrica (ENDO et al., 2002; QIAN; DANIELSSON; EL-SALHY, 1996). Nossos resultados sugerem que o treinamento físico provoca adaptações no equilíbrio autonômico cardíaco, caracterizadas por predominância do tônus parassimpático sobre o simpático. Esta afirmação é baseada em estudos que mostraram que as oscilações HF são principalmente devido à modulação autônoma parassimpática, enquanto que as oscilações LF são derivadas, pelo menos em parte, dos dois componentes do SNA, isto é, os componentes simpáticos e parassimpáticos, como descrito previamente (JAPUNDZIC et al., 1990; CERUTTI et al., 1991; DAFFONCHIO et al., 1995).

Nossos resultados de VFC são consistentes com a literatura em relação ao treinamento físico, em aumentar o parassimpático e diminuir a modulação simpática. Além do que o exercício promoveu aumento da capacidade do sistema nervoso autônomo para responder à demanda do sistema cardiovascular, aumentando a atividade parassimpática e diminuindo a atividade simpática (de ABREU et al., 2009) e melhorando o balanço autonômico (SOUZA et aç, 2007; SOUZA et al., 2009; TEZINI et al., 2008).

Na análise de correlação linear, demonstramos que a hipertensão 2R1C não possui uma correlação positiva entre a PAM e a RG, no entanto quando realizado a correlação do componente LF e da RG, mostramos que há correlação entre esses parâmetros. Esse resultado mostra que o aumento da atividade simpática contribui para distúrbios gástricos, como o aumento da retenção gástrica. Além disso, correlacionamos o componente LF/HF e RG e observamos que há uma correlação positiva no grupo de animais hipertensos submetidos ao Exercício físico 5%, demonstrando que a melhora na modulação autonômica está relacionada a redução da retenção gástrica em animais com hipertensão 2R1C.

A atividade motora predominante do fundo do estômago é a acomodação de materiais ingeridos, além disso, o comportamento contrátil das células do músculo liso intestinal determina, em última instância o trânsito dos conteúdos (TOURNADRE et al., 2000). Esse movimento contrátil se dissipa por junções intercelulares, por meio dos quais o impulso se propaga livremente, ocasionando a contração uníssona da musculatura. Os distúrbios da motilidade gástrica são atribuíveis a qualquer dano no próprio músculo liso ou disfunções dentro dos componentes neuromusculares, incluindo os nervos entéricos e células intersticiais de Cajal (ICC) (SUZUKI et al., 2011).

Para podermos estudar os possíveis mecanismos envolvidos na dismotilidade induzida por hipertensão renovascular, resolvemos avaliar a responsividade de tiras isoladas de fundo de estômago *in vitro*. Nesse sentido, observamos que os ratos 2R1C tiveram uma diminuição da responsividade ao estímulo do carbacol, comparados aos normotensos. Tal efeito foi prevenido pelo exercício físico. *In vitro*, na musculatura lisa, a angiotensina II apresenta efeito contrátil, porém pouco sustentável (LÜDKE, 1989). Por outro lado, sugerimos que a exposição contínua *in vivo* ocasionada pela hipertensão 2R1C possa desencadear um efeito oposto no

tecido gástrico, relaxando o mesmo. Especulamos ainda, que tal efeito possa estar envolvido na diminuição do esvaziamento gástrico, uma vez que a complacência gástrica está diretamente envolvida com a motilidade. Assim, o exercício é capaz de modular os efeitos da angiotensina II prevenindo a diminuição da responsividade gástrica *in vitro*.

A função normal do trato gastrointestinal depende de uma comunicação bidirecional do intestino com o SNC, controlada em parte pelo SNA. O nervo vago forma o principal substrato neural parassimpático do SNA, enquanto os aferentes espinhais formam os nervos simpáticos (TAK et al., 2009). Em homeostase, há um delicado equilíbrio entre as influências simpáticas e parassimpáticas, responsável pela liberação de hormônios, motilidade gastrointestinal e a manutenção desse sistema. Uma escassez de atividade vagal foi identificada como uma característica fisiopatológica em uma série de distúrbios relacionados ao trato gastrointestinal, entre eles distúrbios relacionados a motilidade. Há estudos preliminares que postularam que a disfunção autonômica pode contribuir para o desenvolvimento da dismotilidade (BONAZ et al., 2016).

Outros fatores podem estar envolvidos no aumento da retenção gástrica em ratos hipertensos 2R1C. Em um estudo realizado por Lincevicius et al., (2015) foi mostrado que a aldosterona contribui amplamente para a disfunção autonômica. No entanto, quando realizado bloqueio mineralocorticoide com espironolactona nos animais hipertensos houve diminuição da PA, redução da atividade simpática e expressão reduzida de renina. Além disso, a infusão intracerebroventricular de aldosterona em ratos aumenta a pressão sanguínea e atividade simpática, aparentemente aumentando o estresse oxidativo. Esses relatos contribuem para a sugestão que a aldosterona pode ter influência sobre a motilidade gástrica de ratos hipertensos 2R1C.

Outro fator que pode estar relacionado com a dismotilidade observada em ratos hipertensos 2R1C é o estresse oxidativo. De acordo com Campos et al., 2011, a ANG II, foi encontrada em altas concentrações em ratos com hipertensão 2R1C, e atuando nos receptores AT<sub>1</sub>, resultando na síntese de fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADPH), a qual é uma fonte enzimática de produção do ânion superóxido (O<sub>2</sub>), uma espécie reativa de oxigênio (ROS). Sabe-se também que a elevação do estresse oxidativo, por ação da ANG II, reduz a biodisponibilidade

de NO, aumentando a vasoconstrição, gerando um aumento da atividade simpática (OLIVEIRA-SALES et al., 2008). O estresse oxidativo também está relacionado a alterações na motilidade intestinal (CHANDRASEKHARAN et al., 2011). No entanto, no estudo realizado por Sousa et al., 2015, foi relatado que o exercício físico regular em ratos 2R1C diminuiu os níveis de ânion superóxido, indicando o efeito benéfico do exercício físico sobre esse parâmetro. No entanto mais estudos são necessários para elucidar se a aldosterona e o estresse oxidativo teriam efeitos sobre a motilidade de ratos hipertensos 2R1C e se o exercício teria algum efeito sobre esse parâmetro.

Em conclusão, os nossos resultados demonstram que o exercício físico contribui para a atenuação dos efeitos do SRA sobre a motilidade gástrica de ratos hipertensos 2R1C, com diminuição do tônus simpático e aumento do tônus parassimpático, com consequente melhora na modulação autonômica em ratos e, que os animais hipertensos apresentam diminuição da responsividade ao carbacol em fundo de estômago, sendo esse efeito prevenido pelo Exercício físico. Entretanto, mais estudos são necessários a fim de elucidar os mecanismos subjacentes envolvidos nesses efeitos.

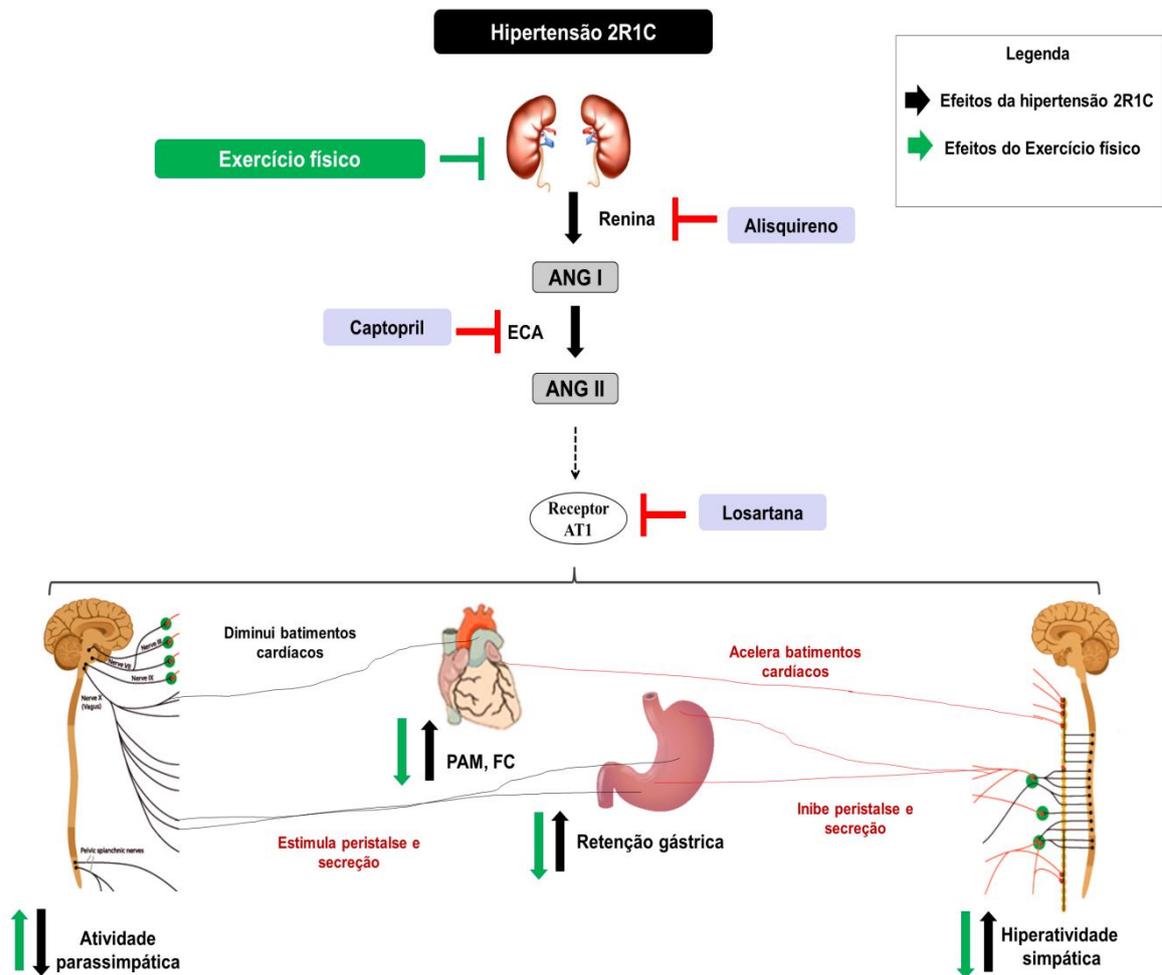
*Conclusões*

---

## 6. CONCLUSÕES

- A Hipertensão 2R1C provoca aumento da retenção gástrica em ratos;
- O bloqueio do SRA com os anti-hipertensivos: Alisquireno, Captopril e Losartana associados ou não ao Exercício 5% diminuem a retenção gástrica em ratos hipertensos 2R1C;
- O Exercício físico preveniu o aumento da retenção gástrica em ratos hipertensos 2R1C;
- Animais hipertensos (2R1C) apresentam menor força de contração em tiras de fundo gástrico em relação aos animais normotensos, no entanto, este efeito é prevenido pelo exercício físico, que aumenta a capacidade de resposta contrátil deste tecido;

**Figura 40.** Diagrama esquemático representativo dos efeitos da hipertensão 2R1C e do exercício físico sobre a retenção gástrica.



Legenda: A hipertensão 2R1C é caracterizada principalmente por uma hiperatividade do SRA que induz o aumento na concentração de Renina e conseqüentemente a elevação de níveis de ANG II circulantes. A alta concentração de ANG II leva a uma maior ativação de receptores AT<sub>1</sub>, podendo ocasionar um desbalanço autonômico com aumento exacerbado da ativação simpática. A ação da ANG II em seus receptores também está diretamente relacionada com a diminuição do esvaziamento gástrico, aumentado, portanto a retenção gástrica. Além disso, a elevação do tônus simpático está envolvida no surgimento de desordens gástricas. Dentre outros efeitos, o exercício físico moderado age atenuando o eixo ECA/ ANG II, aumentando a atividade parassimpática e, portanto, ocasionando efeitos benéficos como a prevenção do aumento da pressão arterial e a diminuição da retenção gástrica; parâmetros também modulados pelo bloqueio do SRA com os fármacos anti-hipertensivos (Alisquireno, Captopril e Losartana). Fonte. Autoria própria, 201

## REFERÊNCIAS

- AKSELROD, S. et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **science**, v. 213, n. 4504, p. 220–222, 1981.
- ALDOORI, W.H.; GIOVANNUCCI, E.L.; RIMM, E.B et al. Prospective study of physical activity and the risk of symptomatic diverticular disease in men. **Gut**. v.36, p.276-82. 1995.
- ALTURA, B. M., ALTURA, B. T. Differential effects of substrate depletion on drug induced contractions of rabbit aorta. **American Journal of Physiology**, v. 219, p. 1698 - 1705, 1970.
- AZEVEDO, L.F.; BRUM, P.C.; MATTOS, K.C et al. Effects of losartan combined with exercise training in spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.36, n.11,p. 1595-603. 2003.
- BASSO, N., TERRAGNO, N.A. History about the discovery of the renin-angiotensin system. **Hypertension**, v. 38, p. 1246–1249, 2001.
- BECKER, L.K., SANTOS, R.A.S., CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J. Cardiovascular effects of angiotensin II and angiotensin-(1-7) at the RVLM of trained normotensive rats. **Brain Research**, v. 1040, n.1-2, p. 121-128, 2005.
- BEEVERS, G.; LIP, G.Y.; O'BRIEN, E. ABC of hypertension: the pathophysiology of hypertension. **BMJ**. v. 322, n.7291, p.912-6.2001.
- BELESLIN, D.B. The effect of angiotensin on the peristaltic reflex of the isolated guinea-pig ileum. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v.32, p. 583–590, 1968.
- BOLTERMAN, R.J., MANRIQUEZ, M.C., RUIZ, M.C.O. Effects of Captopril on the Renin Angiotensin System, Oxidative Stress, and Endothelin in Normal and Hypertensive Rats. **Hypertension**. v. 46, p. 943-947, 2005.
- BONAZ, B., SINNIGER, V., PELLISSIER, S. Vagal tone: effects on sensitivity, motility, and inflammation. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 28, n. 4, p. 455–462, 2016.
- BRAITH, R., WELSCH, M., FEIGENBAUM, M., KLUSS, H., PEPINE, C. Neuroendocrine activation in heart failure is modified by endurance exercise training. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 34, p. 1170-1175, 1999.
- BROWN, D. R. et al. Sympathetic activity and blood pressure are tightly coupled at 0.4 Hz in conscious rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 267, n. 5, p. R1378–R1384, 1994.

BRUM, P.C.; DA SILVA, G.J.; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**. v.36,n.6,p.1018-22. 2000.

BURAK, K.W., LEE, S.S., BECK, P.L. Portal hypertensive gastropathy and gastric antral vascular ectasia (GAVE) syndrome. **Gut**, v.49, p. 866–872, 2001.

BURNS, A.J., LOMAX, A.E., TORIHASHI, S., et al. Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, p. 12008–12013, 1996.

CAMILLERI, M., HASLER, W., PARKMAN, H.P. Measurement of gastrointestinal motility in the GI laboratory. **Gastroenterology**. v.115, n.3, p.747-62. 1998.

CAMPOS, R.R.; OLIVEIRA-SALES, E.B.; NISHI, E.E et al. The role of oxidative stress in renovascular hypertension. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v.38, n.2, p.144-52. 2011.

CARL-MCGRATH, S., GRANTZDORFFER, I., LENDECKEL, U., EBERT, M.P., ROCKEN, C. Angiotensin II-generating enzymes, angiotensin-converting enzyme (ACE) and mast cell chymase (CMA1), in gastric inflammation may be regulated by H. pylori and associated cytokines. **Pathology**, v. 41, p. 419–427, 2009.

CARRETERO, O.A., OZA, B.N., SCICLI, A.G., SCHORK, A. Renal tissue kallikrein, plasma renin and plasma aldosterone in renal hypertension. **Acta Physiologica Latino Americana**, v. 24, 1974.

CASSELBRANT, A., EDEBO, A., HALLERSUND, P., SPAK, E., HELANDER, H.F., JONSON, C., FANDRIKS, L. Angiotensin II receptors are expressed and functional in human esophageal mucosa. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.297, p. 1019–1027, 2009.

CASSELBRANT, A., EDEBO, A., WENNERBLUM, J. Actions by angiotensin II on esophageal contractility in humans. **Gastroenterology**, v.132, p. 249–60, 2007;

CERUTTI, C. et al. Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 261, n. 4, p. H1292–H1299, 1991.

CHANDRASEKHARAN, B.; ANITHA, M.;BLATT, R.; SHAHNAVAZ, N et al. Colonic motor dysfunction in human diabetes is associated with enteric neuronal loss and increased oxidative stress. **Neurogastroenterology & Motility**. v.23, n.2, p.131-8, e26. 2011.

CHESS, G. F.; TAM, R. M.; CALARESU, F. R. Influence of cardiac neural inputs on rhythmic variations of heart period in the cat. **American Journal of Physiology–Legacy Content**, v. 228, n. 3, p. 775–780, 1975.

COLDITZ, G.A.; CANNUSCIO, C.C.; FRAZIER, A.L. Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. **Cancer Causes and Control**. v.8, p.649-67. 1997.

COWLEY, A.W, LIARD, J.F, GUYTON, A.C. Role of the baroreceptor reflex in daily control of arterial blood pressure and other variables in dogs. **Circulation Research**. v.32, p.564–576. 1973.

DAFFONCHIO, A. et al. Sympathectomy and cardiovascular spectral components in conscious normotensive rats. **Hypertension**, v. 25, n. 6, p. 1287–1293, 1995.

de ABREU, S.B., LENHARD, A., MEHANNA, A., SOUZA, H.C., CORREA, F.M., HASSER, E.M., et al. Role of paraventricular nucleus in exercise training-induced autonomic modulation in conscious rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 148, p. 28-35, 2009.

DIAZ, K.M.; SHIMBO, D. Physical Activity and the Prevention of Hypertension. **Current Hypertension Reports**. v.15, n.6, p.659–668. 2013.

DIPIETRO, L. Physical activity, body weight, and adiposity: an epidemiologic perspective. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v.23, p.275-303, 1995.

DORFFEL, Y., LATSCH, C., STUHLMULLER, B., SCHREIBER, S., SCHOLZE, S., BURMESTER, G.R. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. **Hypertension**, v. 34, p. 113–117, 1999.

Encyclopaedia Britannica. Renin-angiotensin system. Disponível em:< <https://www.britannica.com/science/renin-angiotensin-system>>; acesso em 29 de novembro de 2017.

ENDO, J. et al. Influence of mosapride citrate on gastric motility and autonomic nervous function: evaluation by spectral analyses of heart rate and blood pressure variabilities, and by electrogastrography. **Journal of gastroenterology**, v. 37, n. 11, p. 888–895, 2002.

FANDRIKS, L. The renin–angiotensin system and the gastrointestinal Mucosa. **Acta Physiologica**, v.201, p. 157–167, 2011.

FAZAN, J.R., SILVA, V.J.D., SALGADO, H.C. Modelos de hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, p. 19-29, 2001.

FERNANDES, T., HASHIMOTO, N.Y., MAGALHÃES, F.C., FERNANDES, F.B., CASARINI, D.E., CARMONA, A.K., et al. Aerobic exercise training induced left ventricular hypertrophy involves regulatory Micro RNAs, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin II, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7). **Hypertension**, v.58, p. 182-189, 2011.

FIGUEIREDO, D.; AZEVEDO, A.; PEREIRA, M.; BARROS, H. Definition of hypertension: the impact of number of visits for blood pressure measurement. **Revista Portuguesa de Cardiologia**.; v. 28, p.775-783, 2009.

FURNESS, J.B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. v.9, n.5, p.286-94. 2012.

FURNESS, J.B., COSTA, M. Identification of gastrointestinal neurotransmitters. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v.59, p. 383-460, 1982.

GALDINO, R.M.S., ALMEIDA, C.C.S., LUCIANO, E., MELLO, M.A.R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. **Nutrition Research**, v.20, p. 527-535, 2000.

GANTEN, D., FUXE, K., PHILLIPS, M.I., MA, J.F.E., GANTEN, V. The brain is renin-angiotensin system: biochemistry, localization, and possible role in drinking and blood pressure regulation. **Frontier in Neuroendocrinology**, v. 5, p. 61-99, 1978.

GAO, S., PARK, B.M., CHA, S.A., BAE, U.J., PARK, B.H. Oxidative stress increases the risk of pancreatic b cell damage in chronic renal hypertensive rats. **Physiological reports**, v.4, n.12900, p. 01-11, 2016.

GARG, M., ANGUS, P.W., BURRELL, L.M., HERATH, C., GIBSON, P.R., LUBEL, J.S. Review article: the pathophysiological roles of the renin–angiotensin system in the gastrointestinal tract. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v.35, p. 414–428, 2012.

GIL, S.M.; YAZAKI, E.; EVANS, D.F. A etiology of running-related gastrointestinal dysfunction. How far is the finishing line? **Sports Medicine**. v.26, p.365-78. 1998.

GOBATTO, C.A., MELLO, M.A., SIBUYA, C.Y., AZEVEDO J.R., SANTOS, L.A., KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology**, v. 130, p.21-27, 2001.

GOLDBLATT, H., LYNCH, J., HANZAL, R.F., SUMMERVILLE, W.W. Studies o experimental hypertension. 1. The production of persistent elevation systolic blood pressure by means of renal ischemia. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 59, p. 347-378, 1934.

GOLUBIC, R., EKELUND, U., WIJNDAELE, K., LUBEN, R., KHAW, K.T., WAREHAM, N.J., BRAGE, S. Rate of weight gain predicts change in physical activity levels: a longitudinal analysis of the EPIC-Norfolk cohort. **International Journal of Obesity**, 24, 2012.

GOMES, E. C.; SILVA, A. N.; OLIVEIRA, M. R. Oxidants, Antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reative species. **Oxidative Medicine and Celullar Longevity**, v. 37, p. 404-409, 2012.

GOODWIN, M.L., HARRIS, J.E., HERNÁNDEZ, A., et al. Blood Lactate Measurements and Analysis during Exercise: A Guide for Clinicians. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v.1, p. 558–569, 2007.

GRADMAN, A.H., SCHMIEDER, R.E., LINS, R.L., NUSSBERGER, J., CHIANG, Y., BEDIGIAN, M.P. Aliskiren, a Novel Orally Effective Renin Inhibitor, Provides Dose-Dependent Antihypertensive Efficacy and Placebo-Like Tolerability in Hypertensive Patients. **Circulation**, v. 111, p. 1012-1018, 2005.

GREGORY, R.A., TRACY, H.J. The constitution and properties of two gastrins extracted from hog antral mucosa. **Gut**, v.5, p. 103–107, 1964.

GUTH, P. H. Current concepts in gastric microcirculatory pathophysiology. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 65, n. 6, p. 677-688, 1992.

HABA, T.; SARNA, S.K. Regulation of gastroduodenal emptying of solids by gastropyloroduodenal contractions. **American Journal of Physiology**. v.264, n.2, p.G261-71. 1993.

HALLERSUND, P., ELFVIN, A., HELANDER, H.F., FANDRIKS, L. The expression of renin angiotensin system components in the human gastric mucosa **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 12, p. 54–64, 2011.

HATANAKA, S., KAWARABAYASHI, K., ISERI, M. Enhancing effect of dq-2511 on gastric emptying of spontaneously hypertensive rats. **Life Sciences**, v. 56, n. 19, p.377-382, 1995.

HAULICA, I., STANCIU, C.W., FRASIN, M., CIJERSCHI, C., BALAN, G., PANCU, D. Effects of angiotensin on the lower esophageal sphincter. **Hepatogastroenterology**, 1980.

HAYASHI, A., KOBAYASHI, A., TAKAHASHI, R., SUZUKY, F., NAKAGAWA, T. KIMOTRO, K. Effects of voluntary running exercise on blood pressure and rennin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats normotensive Wistar-Kyoto rats. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 46, n. 4, p. 165-170, 2000.

HIRASAWA, K., SATO, Y., HOSODA, Y., YAMAMOTO, T., HANAI, H. Immunohistochemical localization of angiotensin II receptor and local renin-angiotensin system in human colonic mucosa. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 50, p. 275–282, 2002.

HIRST, G.D., BECKETT, E.A., SANDERS, K.M, WARD, S.M. Regional variation in con-tribution of myenteric and intramus- cular interstitial cells of Cajal to generation of slow waves in mouse gastric antrum. **The Journal of Physiology**, v. 540, p. 1003–1012, 2002.

HORNER, K. M. et al. Acute exercise and gastric emptying: a meta-analysis and implications for appetite control. **Sports Medicine**, v. 45, n. 5, p. 659–678, 2015.  
HURLEY, B.F., GILLIN, A.R. Effects of Exercise on Hypertension: Can resistance training play a role in the prevention or treatment of hypertension? **Humana press**, v. 42, p. 25-46, 2015.

ICHIYAMA, R. M., GILBERT, A. B., WALDROP, T. G., AND IWAMOTO G. A. Changes in the exercise activation of diencephalic and brainstem cardiorespiratory areas after training. **Brain Research**, v. 947, p. 225–233, 2002.

IRAVANIAN, S.; DUDLEY, S.C. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and cardiac arrhythmias, **Heart Rhythm**. 2008.

IYER, A., CHAN, V., BROWN, L. The DOCA-Salt Hypertensive Rat as a Model of Cardiovascular Oxidative and Inflammatory Stress. **Current Cardiology Reviews**. v.6, n.4, p.291–297. 2010.

JACKSON, E.K., GERKENS, J.F., BRASH, A.R., BRANCH, R.A. Acute renal artery constriction increases renal prostaglandin I<sub>2</sub> biosynthesis and renin release in the conscious dog. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 222, p. 410–413, 1982.

JAPUNDZIC, N. et al. Spectral analysis of blood pressure and heart rate in conscious rats: effects of autonomic blockers. **Journal of the autonomic nervous system**, v. 30, n. 2, p. 91–100, 1990.

JIANG, X., WANG, W., NING, B. et al. Basal and postprandial serum levels of gastrin in normotensive and hypertensive adults. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 35, p. 74–78, 2013.

JOHANSSON, M.; ELAM, M.; RUNDQVIST, B.; EISENHOFER, G.; HERLITZ, H.; LAMBERT, G; FRIBERG, P. Increased sympathetic nerve activity in renovascular hypertension. **Circulation**. v.99, n.19, p.2537-42. 1999.

JOYNER, M.J.; CHARKOUDIAN, N.; WALLIN, B.G. The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: individualized patterns of regulation and their implications. **Hypertension**. v.56,n.1, p.10–16.2010.

KARLBERG B.E. Cough and inhibition of the renin-angiotensin system. **Journal of Hypertension**, v. 11, p. 49 –52, 1993.

KASACKA, I, MAJEWSKI, M. An immunohistochemical study of endocrine cells in the stomach of hypertensive rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.58, n.3; 469–78. 2007.

KASACKA, I. Quantitative distribution and localization of calcitonin gene-related peptide-like cells in the stomach of two kidney, one clip rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.60, n.2, p.35–9. 2009.

KASACKA, I., PIOTROWSKA, Z., LEWANDOWSKA, A. Alterations of rat stomach endocrine cells under renovascular hypertension. **Advances in Medical Sciences**, v.59, p.190–195. 2014.

KHAIRALLAH, P.A; PAGE, I.H. Effect of adrenergic agents on responses of smooth muscle to angiotensin. **American Journal of Physiology**; v.202, p.841–844. 1962.

KITNEY, R. I.; ROMPELMAN, O. The study of heart-rate variability. [s.l.] **Oxford University Press**, USA, 1980.

KOH, S.D., SANDERS, K.M., WARD, S.M. Spontaneous electrical rhythmicity in cultured interstitial cells of cajal from the murine small intestine. **The Journal of Physiology**, v. 513, p. 203–123, 1998.

LAINE, L., TAKEUCHI, K., TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008.

LARSEN, K.; MATCHKOV, V.V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. **Medicina (Kaunas)**. v.52, n.1, p.19-27. 2016.

LEIPER, J.B., NICHOLAS, C.W., ALI, A., WILLIAMS, C., MAUGHAN, R.J. The effect of intermittent high-intensity running on gastric emptying of fluids in man. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.37, n.2, p.240-247, 2005.

LERMAN, L.O., CHADE, A.R., SICA, V., NAPOLI, C. Animals models of hypertension: an overview. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 146, p. 160-173, 2005.

LINCEVICIUS, G.S.; SHIMOURA, C.G.; NISHI, E.E. Aldosterone contributes to sympathoexcitation in renovascular hypertension. **American Journal of Hypertension**. v.28,n.9, p.1083 -1090. 2015.

LINDQVIST, A. et al. Effect of posture on spontaneous and thermally stimulated cardiovascular oscillations. **Cardiovascular research**, v. 24, n. 5, p. 373–380, 1990.

LIRA, C. A. B., VANCINI, R. L., DA SILVA, A. C., NOVAILHETAS, V. L. A. Efeitos do exercício físico sobre o trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n.1, 2008.

LUDTKE, F.E., GOLENHOFEN, K., SCHUBERT, F. Angiotensin II stimulates human gastric smooth muscle in vitro. **Journal of Autonomic Pharmacology**, v. 9, p. 139–47, 1989.

LÜDTKE, F.E.; GOLENHOFEN, K.; SCHUBERT, F. Angiotensin II stimulates human gastric smooth muscle *in vitro*. **Journal of Autonomic Pharmacology**. v.9, n.2,p.139-47. 1989.

MAJEWSKI H.; HEDLER, L.; SCHURR, C.; STARKE, K. Modulation of noradrenaline release in the pithed rabbit: a role for angiotensin II. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**. v.6,n.5, p.888-96. 1984.

MALLIANI, A. et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v. 84, n. 2, p. 482–492, 1991.

MANRIQUE, C., LASTRA, G., GARDNER, M., SOWERS, J.R. The renin angiotensin aldosterone system in hypertension: roles of insulin resistance and oxidative stress. **Medical Clinics of North America**, v. 93, p. 569–582, 2009.

MARTINEZ-MALDONADO. Pathophysiology of Renovascular Hypertension. **Hypertension**, v. 17, p. 707-719, 1991.

MARTINS-OLIVEIRA, A., CASTRO, M.M., OLIVEIRA, D.M.M., RIZZI, E. Contrasting effects of aliskiren versus losartan on hypertensive vascular remodeling. **International Journal of Cardiology**, v.167, p. 1199–1205, 2013.

MARTINS-PINGE, M. C. Cardiovascular and autonomic modulation by the central nervous system after aerobic exercise training. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, p. 848–854, 2011.

MATSUSAKI, M., IKEDA, M. Influence of workload on the antihypertensive effect of exercise. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 19, n. 7, p. 471-479, 1992.

MICHAEL, A.; GARFINKLE, M.D. Salt and essential hypertension: pathophysiology and implications for treatment. **Journal of the American Society of Hypertension**, v.11, p. 385-391, 2017.

MONTEZANO, A.C.; DULAK-LIS, M.; TSIROPOULOU, S.; HARVEY, A.; BRIONES, A.M.; TOUYZ, R.M. Oxidative stress human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. **Canadian Journal of Cardiology**. v.31,p.631–41.2015.

MOON, J.Y. “Recent update of renin-angiotensin-aldosterone system in the pathogenesis of hypertension,” **Electrolytes and Blood Pressure**, v. 11, n. 2, p. 41–45. 2013.

MULAK, A.; BONAZ, B. Irritable bowel syndrome: a model of the brain-gut interactions. **Medical science monitor**, v. 10, n. 4, p. RA55–RA62, 2004.  
NAVAR, L.G. Physiology: hemodynamics, endothelial function, reninangiotensin-aldosterone system, sympathetic nervous system, **Journal of the American Society of Hypertension**, v.8, p.519–524. 2014.

NAVAR, L.G., ZOU, L., THUN, A.V., WANG, C.T., IMING, J.D., MITCHELL, K.D. Unraveling the mystery of Goldblatt hypertension. **News in Physiological Sciences**, v. 13, p. 170-176, 1998.

NISHI, E.E.; OLIVEIRA-SALES, E.B.; BERGAMASCHI, C.T.; OLIVEIRA, T.G.; BOIM, M.A.; CAMPOS, R.R. Chronic antioxidant treatment improves arterial renovascular hypertension and oxidative stress markers in the kidney in Wistar rats. **American Journal of Hypertension**.v.23, n.5, p.473-80. 2010.

NOAKES, T.D.; REHRER, N.J.; MAUGHAN, R.J. The importance of volume in regulating gastric emptying. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v.23, n.3, p.307-13. 1991.

NYADJEU, P.; NGUELEFACK-MBUYO, E.P.; ATSAMO, A.D et al. “Acute and chronic antihypertensive effects of Cinnamomum zeylanicum stem bark methanol extract in L-NAME-induced hypertensive rats.” **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n.27, 2013.

OKAMOTO, K., AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, p. 282-293, 1963.

OLIVEIRA, E.M., SASAKI, M.S., CERÊNCIO, M., BARAÚNA, V.G., KRIEGER, J.E. Local renin-angiotensin system regulates left ventricular hypertrophy induced

byswimming training independent of circulating renin: a pharmacological study. **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 10, p. 15-23, 2009.

OLIVEIRA-SALES, E.B., COLOMBARI, E., ABDALA, A.P., CAMPOS, R.R., PATON, J.F. Sympathetic overactivity occurs before hypertension in the two-kidney, one-clip model. **Experimental physiology**, v. 101, n. 1, p. 67-80, 2016.

OLIVEIRA-SALES, E.B.; DUGAICH, A.P.; CARILLO, B.A et al. Oxidative stress contributes to renovascular hypertension. **American Journal of Hypertension**. v.21, n.1, p.98-104. 2008.

OLIVEIRA-SALES, EB., TOWARD, M.A., CAMPOS R.R., PATON J.F. Revealing the role of the autonomic nervous system in the development and maintenance of Goldblatt hypertension in rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 183, p. 23-29, 2014.

ORDÖG, T.; TAKAYAMA, I.; CHEUNG, W.K.; WARD, S.M.; SANDERS, K.M. Remodeling of networks of interstitial cells of Cajal in a murine model of diabetic gastroparesis. **Diabetes**. v.49, p.1731–1739.2000.

PAGANI, M. et al. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. **Circulation research**, v. 59, n. 2, p. 178–193, 1986.

PARKMAN, E.P. Tests of Gastric Neuromuscular Function. **Gastroenterology**, v.136: p.1526–1543, 2009.

PATEL, S.; RAUF, A.; KHAN, H.; ABU-IZNEI, T. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**. v.94, p.317–325. 2017.

PEREIRA, B., COSTA ROSA, L.F., SAFI, D.A., MEDEIROS, M.H., CURI, R., BECHARA, E.J. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. **Physiology and Behavior**, v.56, p. 1095-1099, 1994.

QIAN, B.; DANIELSSON, \AAKE; EL-SALHY, M. Vagal regulation of the gastrointestinal neuroendocrine system. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 31, n. 6, p. 529–540, 1996.

RAMOS-FILHO, A.C.S. Blockade of renin–angiotensin system prevents micturition Dysfunction in renovascular hypertensive rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 738, p. 285-292, 2014.

RANI, R.; RAO, K.S. Enhanced contractility of the rat stomach during suppression of angiotensin converting enzyme by captopril in vitro. **British Journal of Pharmacology**. v.102, n.4, 827-30. 1991.

REYNELL, P.C., SPRAY, G.H. A technique for the simultaneous measurement of gastrointestinal transit and intestinal absorption in rats. **The Journal of Physiology**, v. 131, p. 452-462, 1956.

RIBEIRO, J.M., FLORÊNCIO, L.P. Bloqueio farmacológico do sistema renina-angiotensina-aldosterona: inibição da enzima de conversão e antagonismo do receptor AT1. **Revista Brasileira de Hipertensão**. vol. 7, p.297-302, 2000.

RIBEIRO, M.O., ANTUNES, E., DE-NUCCI, G., LOVISOLO, S.M., ZATZ, R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. **Hypertension**, v. 20, p. 298-303, 1992.

RIMOLDI, O. et al. Analysis of short-term oscillations of RR and arterial pressure in conscious dogs. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 258, n. 4, p. H967–H976, 1990.

RITSCHL, L.M.; FICHTER, A.M.; HÄBERLE, S et al. Ketamine-xylazine anesthesia in rats: Intraperitoneal versus intravenous administration using a microsurgical femoral vein access. **Journal of Reconstructive Microsurgery**. v.31, n.5, p.343-7. 2015.  
ROBERTSON, P.A.; RUBIN, D. Stimulation of intestinal nervous elements by angiotensin. **Archive of "British Journal of Pharmacology"**, v.19, p.5–12. 1962.

RODRIGUES, M.C., CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J., MACHADO, R.P., SILVA, M.E., ROCHA, J.L., FERREIRA, P.M., et al. Evidence for a role of AT (2) receptors at the CVLM in the cardiovascular changes induced by low-intensity physical activity in renovascular hypertensive rats. **Peptides**. v.28, 1375–1382, 2007.

RONDON, M.U.P.B., BRUM, P.C. Exercício físico como tratamento não-farmacológico da hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 10, p. 134-9, 2003.

ROSENBAUM, M.; RACE, D. Frequency-response characteristics of vascular resistance vessels. **American Journal of Physiology–Legacy Content**, v. 215, n. 6, p. 1397–1402, 1968.

RUBINI, R. et al. Power spectrum analysis of cardiovascular variability monitored by telemetry in conscious unrestrained rats. **Journal of the autonomic nervous system**, v. 45, n. 3, p. 181–190, 1993.

SCARBIGNATO, C., MANFREDI, G., STARCICH, B., BERTACICINI, G. Inhibition of gastric emptying by angiotensin in the rat and its antagonism by saralasin. **Res Commun Chem Pathol Pharmacol**, v.42, p.335-338,1983.

SECHI, L.A., VALENTIN, J.P., GRIFFIN, C.A., SCHAMBELAN, M. Autoradiographic characterization of angiotensin II receptor subtypes in rat intestine. **American Journal of Physiology**, v.265, p. 21–27, 1993.

SILVA, M.T.B. **Exercícios físicos de alta intensidade agudo e crônico inibem o esvaziamento gástrico de líquidos: papel da acidemia e de via neuro-humoral**. Tese (Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará. 2012.

SILVA, M.T.B.; MARTINS, M.C.C; LEAL, F.L.T et al. Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical exercise: effects on the estrous cycle, motor behavior and morphology of the liver and kidney. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.46, n.1. 2010.

SILVA, R.N. **A influência do exercício físico em parâmetros cardiovasculares e ingestivos de animais com hipertensão renovascular (2R1C)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Ouro Preto. Minas Gerais. 2017.

SIMREN, M. Physical activity and the gastrointestinal tract. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**. v. 14, p.1053-6. 2002.

SOARES, E. R. et al. Cardiac and renal effects induced by different exercise workloads in renovascular hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 6, p. 573–582, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VII Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 107, p. 01-83, 2016.

SOUSA, L. E. et al. Exercise training restores oxidative stress and nitric oxide synthases in the rostral ventrolateral medulla of renovascular hypertensive rats. **Free radical research**, v. 49, n. 11, p. 1335–1343, 2015.

SOUZA, H. C. D. DE et al. Nitric oxide synthesis blockade increases hypertrophy and cardiac fibrosis in rats submitted to aerobic training. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 89, n. 2, p. 99–104, 2007.

SOUZA, H. C. et al. Nitric oxide synthesis blockade reduced the baroreflex sensitivity in trained rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 150, n. 1, p. 38–44, 2009.

STANTON, A., JENSEN C., NUSSBERGER J., O'BRIEN E. Blood pressure lowering in essential hypertension with an oral renin inhibitor, aliskiren. **Hypertension**, v. 42, p. 1137–43, 2003.

STOCKER, S.D.; KINSMAN, B.J.; SVED, A.F. Recent Advances in Neurogenic Hypertension Dietary Salt, Obesity, and Inflammation. **Hypertension**. v.70, p.474-478. 2017.

SULLIVAN, S.; WONG, C.; HEIDENHEIM, P. Does running cause gastrointestinal symptoms? A survey of 93 randomly selected runners compared with controls. **New Zealand Medical Journal**. v.107, p.328-31. 1994.

SUZUKI, H. et al. Roles of oxidative stress in stomach disorders. **Journal of clinical biochemistry and nutrition**, v. 50, n. 1, p. 35–39, 2011.

SZARKA, L.A.; CAMILLERI, M. Methods for measurement of gastric motility. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**. v.296, p.G461–G475, 2009.

TAK, L.M., RIESE, H., BOCK, G.H., MANOHARAN, A., KOK, I.C., ROSMALEN, J.G.M. As good as it gets? A meta-analysis and systematic review of methodological quality of heart rate variability studies in functional somatic disorders. **Biological Psychology**, v. 82, n. 2, p. 101–110. 2009.

TEZINI, G. C. et al. The effect of ovariectomy on cardiac autonomic control in rats submitted to aerobic physical training. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 143, n. 1, p. 5–11, 2008.

THIJSSSEN, D.H.J., MAIORANA, A., GREEN, D.J. Effects of Exercise on Hypertension: Aerobic Exercise Training: Effects on Vascular Function and Structure. **Humana press**, v.42, p. 105-135, 2015.

TIPTON, C.M.; MATTHES, R.D.; MARCUS, K.D.; ROWLETT, K.A.; LEININGER, J.R. Influences of exercise intensity, age, and medication on resting systolic blood pressure of SHR populations. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**. v.55,n.4, p.1305-10. 1983.

TOURNADRE, J.P., ALLAOUCHICHE, B., MALBERT, C.H., CHASSARD, D. Metabolic acidosis and respiratory acidosis impair gastro-pyloric motility in anesthetized pigs. **Anesthesia and Analgesia**, v. 90, p. 74–79. 2000.

TRIPPODO, N.C., FROHLICH, E.D. Similarities of Genetic (Spontaneous) Hypertension. **Circulation Research**, v. 48, p. 309-319, 1981.

TSIOUFIS, C.; THOMOPOULOS, C. Combination drug treatment in hypertension. **Pharmacological Research**, v.125, p. 266-271, 2017.

TURKER, R.K; KAYAALP, S.O. Inhibitory effect of angiotensin on the intestinal motility of the cat and its relation to sympathetic nervous system. **Archives internationales de physiologie et de biochimie**, v.75, p.735–744. 1967.

VÉRAS-SILVA, A.S., MATTOS, K.C., GAVA, N.S., BRUM, P.C., NEGRÃO, C.E., KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v.273: p. 2627-2631, 1997.

WALLIN, B.G.; CHARKOUDIAN, N. Sympathetic neural control of integrated cardiovascular function: insights from measurement of human sympathetic nerve activity. **Muscle Nerve**. v.36, p.595–614. 2007.

WARD, N.C.; HODGSON, J.M.; PUDDEY, I.B.; MORI, T.A.; BEILIN, L.J.; CROFT, K.D. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. **Free Radical Biology and Medicine**. v.36, p.226–32. 2004.

WARD, S.M., BECKETT, E.E., WANG, X., et al. Interstitial cells of Cajal mediate cholinergic neurotransmission from enteric motor neurons. **The Journal of Neuroscience**, v.20, p. 1393–1403, 2000.

WEBER, M.A., SCHIFFRIN, E.L., WHITE, W.A., MANN, S., LINDBOLM, L.H., VENERSON, J.G. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 32, p. 03-15, 2014.

WIDLANSKY, M.E., GOKCE, N., KEANEY, J.F., et al. The clinical implications of endothelial dysfunction. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 42, n. 7, p. 1149–1160, 2003.

WILLET, S.G.; MILLS, J. C. Stomach organ and cell lineage differentiation: from embryogenesis to adult homeostasis. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, v. 2, n. 5, p. 546-559, 2016.

WOOD, J.M., CUMIN, F., MAIBAUM, J. Pharmacology of renin inhibitors and their application to the treatment of hypertension. **Pharmacology and Therapeutics.**; v. 61, p. 325–344, 1994.

YATABE, J.; YONEDA, M.; YATABE, M.S.; WATANABE, T.; FELDER, R.A, JOSE, P.A, SANADA, H. Angiotensin III stimulates aldosterone secretion from adrenal gland partially via angiotensin II type 2 receptor but not angiotensin II type 1 receptor. **Endocrinology**, v.152, p.1582–1588. 2011.

ZANETTINI, R. et al. Exercise training in mild hypertension: effects on blood pressure, left ventricular mass and coagulation factor VII and fibrinogen. **Cardiology**, v. 88, n. 5, p. 468–473, 1997.

ZHU, X. et al. Vaccarin administration ameliorates hypertension and cardiovascular remodeling in renovascular hypertensive rats. **Journal of cellular biochemistry**, 2017.

ZHUANG, Y., SUN, L., ZHANG, Y., LIU, G. Antihypertensive Effect of Long-Term Oral Administration of Jellyfish (*Rhopilema esculentum*) Collagen Peptides on Renovascular Hypertension. **Marine Drugs**. v.10, p.417-426, 2012.

# ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CEUA/UFPI



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550  
Telefone (86) 3215-5734 \_e-mail: ceesapi@ufpi.edu.br

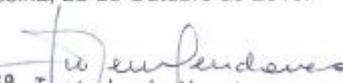


## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito do exercício físico de resistência sobre o esvaziamento gástrico de sólidos em ratos com hipertensão renovascular 2R1C", protocolo nº 044/15, sob a responsabilidade de **MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA**- que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de Pesquisa Científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data 23/10/2015.

Vigência do Projeto	Novembro/ 2015 à Fevereiro/ 2017
Espécie/Linhagem	Rato heterogênico/ Wistar
Nº de Animais	300
Peso/ Idade	180-250g/ 3 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério de Manutenção de Animais Destinados a Experimentação do Departamento de Farmacologia/UFPI.

Teresina, 23 de Outubro de 2015.

  
Prof<sup>ª</sup>. Ivete L. de Mendonça/  
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI  
Coordenadora