

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Biológicas

Departamento de Fisiologia e Biofísica

Daisy Motta Santos

DEFICIÊNCIA DO EIXO ECA2/ANG-1-7/MAS ALTERA
RESPOSTAS CARDÍACAS E MUSCULARES PROMOVIDAS
PELO EXERCÍCIO VOLUNTÁRIO EM CAMUNDONGOS

Belo Horizonte

2013

Daisy Motta Santos

DEFICIÊNCIA DO EIXO ECA2/ANG-1-7/MAS ALTERA
RESPOSTAS CARDÍACAS E MUSCULARES PROMOVIDAS
PELO EXERCÍCIO VOLUNTÁRIO EM CAMUNDONGOS

Tese apresentada ao Programa de Pós
graduação em Fisiologia e Farmacologia
do Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Minas Gerais,
como requisito parcial à obtenção do
título de Doutor em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. Michael Bader

Belo Horizonte

2013

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular do Max Delbruck Center for Molecular Medicine, em Berlin-Buch / Alemanha, por meio do CAPES PROBIAL 306/08 (Programa de Cooperação Internacional Brasil-Alemanha). Teve ainda, colaboração do Laboratório de Hipertensão do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG). Revisão: Cláudia Rezende.

Dedico esta tese
aos meus pais, CLEIDER MOTTA e ELIZETE FONSECA MOTTA,
ao meu marido, ROBSON AUGUSTO SOUZA DOS SANTOS,
ao meu filho PEDRO MOTTA SANTOS.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Cleider e Elizete por estarem sempre presentes. Aos meus irmãos Denise, Debora e Silvio Romero. Ao Robson, pelo apoio em todos os momentos e pelo amor incondicional, pelo grande exemplo como pesquisador, poeta, músico, marido e pai.

Ao Prof. Michael Bader, à Dr^a Natasha Alenina, a Marilene Oliveira, Valentina Mosienko, Iris Apostel, Thorsten Riepenhausen, Andreia Mueller, Mihail Todiras, Ralph Phelm, Lisa Leukel, Fatimunnisa Qadri, Valéria Nunes, Marko Poglitch, Sabine Grueger, Silke Muehlstedt, Tanja Schalow, Ashish Ranjan, Franziska Rudolph, Janine Fröhlich, Prof. Gotthardt. A todos do Laboratório de Hipertensão, do Laboratório de Biofísica, do Laboratório de Fisiologia Renal. A Marcinha, Daniele Passos, Danielle Bernardes, Gisele, Neiva, Luciana, Michele, Marcos Melo, Pedro Almeida, Cynthia, Dênis, Felipe, Bárbara, Gustavo e Taiane. A Prof^a. Aparecida Vieira, Prof^a. Maria José, Prof^a. Cidinha, Prof. Jorge Luiz Pesquero, Prof^a. Sílvia Guatimosim, Prof^a. Virginia Lemos, Prof. Almir Sousa Martins, Prof. Anderson Ferreira, Prof^a. Edilamar Menezes, Prof^a. Maria Cláudia Irigoyen, Prof^a. Carmen Campbell, Prof. Herbert Simões, Prof^a. Mércia Lima, Prof. Antônio Natali, Prof. Kelerson Pinto, Prof^a Alamanda Kfoury.

RESUMO

O treinamento físico induz inúmeras adaptações fisiológicas no sistema cardiovascular e musculoesquelético, algumas delas relacionadas a mudanças na expressão gênica. Essas alterações incluem componentes do Sistema Renina-Angiotensina (SRA), especialmente o eixo ECA2/Ang-(1-7)/MAS, uma vez que a ativação dele promove efeitos similares aos do treinamento físico. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do treinamento de corrida voluntária em animais nocautes para a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2-KO) e para o receptor da angiotensina-(1-7) (MAS-KO). Para isso, foram utilizados camundongos C57Bl6 machos (8 a 12 semanas de idade) WT, ECA2-KO e MAS-KO, divididos em grupos de treinamento de corrida voluntária ou de controle sedentário (N = 4-8 por grupo). O treinamento aeróbio teve duração de seis semanas, sendo mensurado o volume de exercício por meio do número de rotações diárias. As respostas de expressão gênica de fatores relacionados a adaptações fisiológicas e patológicas e de componentes do SRA no ventrículo esquerdo, no músculo esquelético e no tecido adiposo inguinal foram verificadas por PCR em tempo real (qPCR). A pressão arterial foi mensurada antes e durante todo o período do treinamento físico por meio de telemetria. Os níveis de angiotensinas plasmáticas foram obtidos por meio de espectrometria de massa. Os resultados apontam que o nocaute do gene da ECA2 afeta o desempenho físico. Em animais WT e MAS-KO, o treinamento aeróbio promoveu hipertrofia cardíaca, porém, em MAS-KO, induziu a expressão de genes relacionados a condições patológicas (ANP e BNP) e aumentou AngII/AngI no plasma. O exercício aeróbio crônico promoveu aumento no músculo esquelético da expressão de FNDC5, precursor da irisina, apenas em WT. Em contrapartida, animais com nocaute do gene do receptor da angiotensina-(1-7) reduziram a expressão de FNDC5 no músculo esquelético (gastrocnêmio e sóleo) sem alteração para UCP1 no tecido adiposo inguinal, resposta oposta à verificada em animais WT. Verificou-se uma pressão arterial basal elevada nos animais MAS-KO, sendo seu aumento estimulado pelo treinamento físico, enquanto os WT apresentaram uma redução de pressão arterial após quatro semanas de corrida voluntária. Conclui-se que a deleção do eixo ECA2/Ang-(1-7)/MAS altera respostas cardíacas e musculares promovidas pelo treinamento de corrida voluntário.

Palavras-chave: corrida voluntária, expressão gênica, Ang-(1-7), MAS, ECA2.

ABSTRACT

Physical training induces numerous physiological adaptations in the cardiovascular and skeletal muscle system related to changes in gene expression. These changes include modulation of the renin angiotensin system (RAS) components, especially the ACE2/Ang-(1-7)/MAS axis since its activation promotes similar effects to those of physical training. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of running wheel training in knockout mice for angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2-KO) and angiotensin-(1-7) receptor (MAS-KO). For this we used C57Bl6 male mice (8-12 weeks old) WT, ACE2-KO and MAS- KO divided into voluntary exercise group or sedentary control (N = 4-8 per group). The aerobic training lasted 6 weeks and the amount of exercise was measured by the number of rotations per day. The gene expression responses of factors related to physiological and pathological adaptations and RAS components in the left ventricle, skeletal muscle and adipose tissue were evaluated by real-time PCR (qPCR). Blood pressure was measured before and during the period of physical training using radio-telemetry. The plasma levels of angiotensin peptides were determined by mass spectrometry. The results showed that knockout of ACE2 gene decreases physical performance. In WT and MAS-KO mice aerobic training promotes cardiac hypertrophy but in MAS-KO it induced the expression of genes related to pathological conditions (ANP and BNP) and high plasmatic AngII / AngI ratio. The chronic aerobic exercise promoted an increase in skeletal muscle expression of FNDC5, irisin precursor, only in WT. In contrast, angiotensin-(1-7) receptor deficiency mice showed reduced FNDC5 expression in skeletal muscle (gastrocnemius and soleus) and no differences in inguinal adipose tissue UCP1 expression, opposite responses to that observed in WT mice. The MAS- KO group had elevated baseline blood pressure and paradoxal increase induced by physical training, while WT showed as expected, a reduction of blood pressure after 4 weeks of voluntary running. It was concluded that ACE2/Ang-(1-7)/MAS axis blocking alters cardiac and muscle skeletal changes promoted by the voluntary running.

Keywords: running wheel, gene expression, angiotensin-(1-7), MAS, ACE2.

043 Santos, Daisy Motta.
Deficiência do eixo ECA2/ANG-1-7/MAS altera respostas cardíacas e musculares promovidas pelo exercício voluntário em camundongos [manuscrito] / Daisy Motta Santos. – 2013.

127 f.: il. ; 29,5 cm.

Orientador: Michael Bader.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Corrida – Teses. 2. Treinamento físico – Teses. 3. Expressão gênica. 4. Angiotensina – Teses. 5. Receptor MAS. 6. Fisiologia – Teses. I. Bader, Michael. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Remodelamento cardíaco fisiológico e patológico. VE: ventrículo esquerdo; Adaptado de Week & McMullen, 2011.	16
Figura 2. Sequência do angiotensinogênio e das angiotensinas I (1-10), angiotensina-(1-7), angiotensina II (1-8), angiotensina III (2-8), angiotensina IV (3-8).	21
Figura 3. Versão simplificada do eixo ECA2-Ang-(1-7)-Mas. Adaptado de Marian, 2013.	23
Figura 4. Esquema do programa de PCR utilizado para genotipagem. * temperatura de anelamento dos primers sendo 56°C para os primers do MAS e 60°C para os primers da ECA2.	33
Figura 5. Visualização do produto amplificado, feito por eletroforese em gel de agarose a 2% e coloração com brometo de etídeo. Técnica utilizada para genotipagem dos camundongos ECA2-KO (esquerda) e MAS-KO (direita); M: marker Φ X174 DNA/BsuRI (HaeIII) (1 ug).	34
Figura 6. Roda de exercício voluntário utilizada no estudo.....	35
Figura 7. Corte transversal dos músculos gastrocnêmio e sóleo.....	37
Figura 8. Exemplo de curva padrão com diluição seriada (esquerda) e de curva de dissociação (direita).	43
Figura 9. Resposta de componentes da MEC (%), utilizando-se coloração por sirius red nos músculos gastrocnêmio e sóleo nos grupos WT sed e exe, MAS-KO sed e exe.....	53
Figura 10. Área de secção transversa nos músculos gastrocnêmio (esquerda) e sóleo (direita) nos grupos WT sed e exe, MAS-KO sed e exe.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Número de rotações diárias durante o período de seis semanas de corrida voluntária nos grupos WT (n=5), ECA2-KO (n=5) e MAS-KO (n=5). ** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$, ECA2-KO vs. WT. $\neq p \leq 0,01$; $\neq p \leq 0,05$, ECA2-KO vs. MAS-KO..... 45
- Gráfico 2. Média de rotações diárias nos últimos três dias de corrida voluntária no ciclo escuro (esquerda) e no ciclo claro (direita). * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.
..... 46
- Gráfico 3. Peso do ventrículo esquerdo e do coração total corrigido pelo peso corporal nos grupos WT, ECA2-KO e MAS-KO sedentários e submetidos ao treinamento de seis semanas de exercício voluntário. ** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$ 47
- Gráfico 4. Peso do tecido adiposo epididimal e marrom corrigido pelo peso corporal retirado após sacrifício dos animais e % de gordura corporal obtido através de ressonância magnética (n= 6 e 7 WT sed e exe; n=7 e o MAS-KO sed e exe). * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ 50
- Gráfico 5. Peso dos músculos gastrocnêmio e sóleo corrigido pelo peso corporal retirado após sacrifício dos animais e % de massa muscular obtido através de ressonância magnética. WT sed (n=6) e exe (n=7); MAS-KO sed (n=7) e exe (n=8). * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$ 51
- Gráfico 6. Resposta de componentes da matriz extracelular (MEC) nos músculos gastrocnêmio + sóleo (a) e apenas no músculo sóleo (b). n=4 por grupo. * $p \leq 0,05$.52
- Gráfico 7. Diâmetro dos músculos gastrocnêmio e sóleo nos grupos WT e MAS-KO. sed: sedentários, exe: treinamento de corrida voluntária por seis semanas. N=6 por grupo.* $p \leq 0,05$ 54
- Gráfico 8. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes CEBP β e CITED4. * $p \leq 0,05$ 58
- Gráfico 9. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes ANP, BNP e MHC α . * $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$ 59

Gráfico 10. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes colágeno I, colágeno III e fibronectina. * $p \leq 0,05$	59
Gráfico 11. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes TGF β e VEGF. 60	
Gráfico 12. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes FoxO1 e FoxO3.	60
Gráfico 13. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes PGC1 α e FNDC5. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$	61
Gráfico 14. Níveis de expressão no músculo sóleo dos genes PGC1 α e FNDC5. * $p \leq 0,05$	62
Gráfico 15. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes fibronectina, colágeno III e VEGF.	62
Gráfico 16. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes FoxO1 e FoxO3.	63
Gráfico 17. Níveis de expressão no tecido adiposo inguinal dos genes UCP1 e FoxO1. * $p \leq 0,05$	63
Gráfico 18. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes MAS, AT1 e AT2. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$	64
Gráfico 19. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes ECA, ECA2 e a razão ECA/ECA2. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$	65
Gráfico 20. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes MAS, AT1 e AT2. $p \leq 0,05$	66
Gráfico 21. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes ECA, ECA2 e a razão ECA/ECA2. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$	67
Gráfico 22. Níveis de expressão no músculo sóleo dos genes ECA, ECA2 e MAS. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$	68

- Gráfico 23. Níveis de expressão no tecido adiposo inguinal dos genes ECA e MAS. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ 69
- Gráfico 24. Valores basais de pressões arteriais sistólica, diastólica no grupo WT (n=7) e MAS-KO (n=8). Valores expressos em média, mínimo e máximo. * $p \leq 0,05$. 70
- Gráfico 25. Respostas de pressão arterial sistólica (PAS) na semana 1 e na semana 4 durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média..... 71
- Gráfico 26. Respostas de pressão arterial diastólica (PAD) na semana 1 e na semana 4 durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média..... 72
- Gráfico 27. Respostas de pressão arterial média (PAM) na semana 1 e na semana 4 durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média..... 73
- Gráfico 28. Respostas de frequência cardíaca (FC) após quatro semanas de treinamento de corrida voluntária durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média. 74
- Gráfico 29. Valores em delta (semana 4 vs. pré-exercício) para pressões arteriais sistólica, diastólica e média e frequência cardíaca nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário..... 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição do <i>mix</i> utilizado para a genotipagem dos animais nocautes....	33
Tabela 2. Descrição do <i>mix</i> utilizado para o RT-PCR.....	41
Tabela 3. Descrição do <i>mix</i> utilizado para o q-PCR.....	42
Tabela 4. Composição corporal: peso corporal (g), % de gordura e massa magra nos grupos WT sedentário e treinado (WT sed, WT exe) e MAS-KO sedentário e treinado (MAS-KO sed, MAS-KO exe).....	49
Tabela 5. Níveis plasmáticos de angiotensinas nos grupos WT sedentário e treinado (WT sed, WT exe) e MAS-KO sedentário e treinado (MAS-KO sed, MAS-KO exe).	56
Tabela 6. Valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, pressão arterial média, frequência cardíaca, atividade locomotora e frequência respiratória após quatro semanas de treinamento.....	76
Tabela 7. Efeitos da deleção do receptor MAS, do treinamento aeróbio e da combinação da deleção do MAS e do treinamento aeróbio.....	127
Tabela 8. Parâmetros de função cardíaca.	128
Tabela 9. Primers utilizados para genotipagem.....	129
Tabela 10. Primers utilizados para PCR em tempo real (qPCR).	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A779	Antagonista do receptor MAS
AG	Angiotensinogênio
Ang I	Angiotensina I
Ang II	Angiotensina II
Ang-(1-10)	Angiotensina I
Ang-(1-7)	Angiotensina-(1-7)
Ang-(1-8)	Angiotensina II
Ang-(2-8)	Angiotensina III
Ang-(3-8)	Angiotensina IV
ANP	Peptídeo natriurético atrial
AT1	Receptor de angiotensina II do tipo 1
AT2	Receptor de angiotensina II do tipo 2
BNP	Peptídeo natriurético cerebral
CD	Cardiomiopatia dilatada
CEBP β	<i>CCAAT/enhancer-binding protein beta</i>
CITED4	<i>Cbp/p300-interacting transactivator with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 4</i>

D	Valores médios durante o dia
D/D	Polimorfismo da enzima conversora deleção deleção
DAC	Doenças arteriocoronarianas
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECA/ECA2	Razão entre a enzima conversora de angiotensina e a enzima conversora de angiotensina 2
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
ECA2-KO	Camundongos C57Bl6 com deleção do gene da enzima conversora de angiotensina 2
ECA2Rh	Enzima conversora de angiotensina 2 recombinante humana
Exe	Animais submetidos ao treinamento de corrida voluntária
FC	Frequência cardíaca
FNDC5	<i>Fibronectin Type III Domain Containing 5</i>
FoxO1	<i>Forkhead Box O1</i>
FoxO3	<i>Forkhead Box O3</i>
HA	Hipertensão arterial
HbA _{1c}	Hemoglobina glicada
HE	Hematoxilina - Eosina

HPE	Hipotensão pós-exercício
I/D	Polimorfismo (inserção deleção) da enzima conversora
I/I	Polimorfismo (inserção inserção) da enzima conversora
IC	Insuficiência cardíaca induzida
MAS	Receptor da angiotensina-(1-7)
MAS-KO	Camundongos C57Bl6 com deleção do receptor MAS
N	Valores médios durante a noite
N + D	Valores médios durante a noite e o dia
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PGC1 α	Coativador-1 “alfa” do receptor ativado por proliferador do peroxissoma, PPAR- γ co-ativador-1 α
PSR	Picrosirius Red
qPCR	PCR quantitativo em tempo real
SARS	Síndrome respiratória aguda grave
Sed	Animais não submetidos ao treinamento voluntário
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
SRA	Sistema Renina-Angiotensina

TGFβ	Fator Transformador de Crescimento do tipo beta
UCP1	<i>Uncoupling protein 1</i>
VD	Ventrículo direito
VE	Ventrículo esquerdo
VEGF	Fator de Crescimento Vascular
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
WT	Wild type

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
Revisão de Literatura.....	12
1.1. O papel protetor do exercício físico	12
1.1.2. Adaptações cardíacas e musculares promovidas pelo treinamento.....	15
1.2. Modelos de exercício físico em roedores	18
1.3. Sistema Renina-Angiotensina e exercício físico.....	20
1.3.1. O Sistema Renina-Angiotensina.....	20
1.3.2. Efeitos da deficiência da ECA2 e do receptor MAS	24
1.3.3. Treinamento físico e o eixo ECA2/ANG-(1-7)/MAS	26
2. JUSTIFICATIVA	29
3. OBJETIVOS	31
3.1. Geral	31
3.2. Objetivos Específicos	31
4. MATERIAL & MÉTODOS	32
4.1. Animais.....	32
4.1.2. Genotipagem	32
4.2. Protocolo de treinamento aeróbio	34
4.3. Variáveis analisadas após treinamento	36
4.4. Análise das estruturas do coração.....	36
4.5. Morfometria.....	36
4.6. Telemetria.....	38
4.6.1. Anestesia e cirurgia	38
4.6.2. Canulação da artéria carótida externa.....	38
4.6.3. Aquisição e análise dos dados	39
4.7. Expressão gênica	40
4.7.1. Extração de RNA total	40
4.7.2. Reação da transcriptase reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)	41

4.7.3. PCR quantitativo em tempo real (qPCR).....	42
4.8. Níveis de angiotensinas plasmáticas	44
4.9. Análise estatística	44
5. RESULTADOS	45
5.1. Desempenho físico em seis semanas de exercício voluntário.....	45
5.2. A deleção da ECA2 prejudica o desempenho físico	45
5.3. O exercício voluntário não promoveu hipertrofia cardíaca no grupo ECA2-KO	47
5.4. Alterações na composição corporal após treinamento de corrida voluntário	48
5.5. O exercício voluntário induziu aumento de componentes da matriz extracelular no músculo esquelético em camundongos WT	51
5.6. Níveis plasmáticos de angiotensinas após seis semanas de exercício voluntário	56
5.7. Alterações da expressão gênica após seis semanas de exercício voluntário	57
5.7.1. Genes relacionados a adaptações cardíacas e musculares, fisiológicas e patológicas	57
5.7.2. Genes relacionados ao Sistema Renina-Angiotensina	64
5.8. Deficiência do receptor MAS prejudica respostas de pressão arterial....	69
5.8.1. Valores basais de pressão arterial.....	69
5.8.2. Valores de pressão arterial durante o treinamento voluntário	70
5.8.3. Valores de pressão arterial após treinamento voluntário	75
6. DISCUSSÃO	78
7. CONCLUSÃO.....	93
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXOS	127

1. INTRODUÇÃO

Revisão de Literatura

1.1. O papel protetor do exercício físico

O exercício físico tem sido largamente recomendado como a principal estratégia não farmacológica para o tratamento e a prevenção de diversas doenças (Garber et al., 2011; Haskell et al., 2007; Nelson et al., 2007; Stewart, 2002). Um dos primeiros estudos que identificaram a atividade física regular como cardioprotetora foi publicado em 1953 (Morris et al., 1953). Realizado com trabalhadores do “Routemasters” (ônibus de dois andares muito comum em Londres), a pesquisa comparou o número de morte por doença coronariana em motoristas, que passavam a maior parte do dia sentados, e cobradores, que precisavam subir e descer as escadas diversas vezes ao dia. A investigação comprovou que a mortalidade por doenças cardíacas era maior em indivíduos que tinham baixos níveis de atividade física. Nos resultados, os autores afirmam que os corações dos sedentários se comparavam aos corações de trabalhadores fisicamente ativos, porém 10 a 15 anos mais velhos.

Estudos comprovam que o aumento da capacidade aeróbia reduz o risco de morte por doença cardiovascular (Blumenthal et al., 2005; Dunn et al., 1999; Duscha et al., 2005; Jehn and Schmidt-Trucksäss, 2010; Joyner and Green, 2009). O tipo de exercício, a intensidade e a duração dele são particularmente importantes, sendo que o exercício aeróbio é responsável por promover melhora do condicionamento cardiovascular e aumento do consumo de oxigênio (Tanasescu et al., 2002). A caminhada e a corrida, por serem atividades que promovem movimentos realizados pelo homem diariamente, são os exercícios aeróbios mais estudados. Outros tipos

de exercícios também são capazes de promover melhora do condicionamento aeróbio, como ciclismo e natação, porém é necessário uso de equipamento específico, muitas vezes, de difícil acesso à população.

A inatividade física, assim como o tabagismo, o colesterol e a pressão arterial elevados, o sobrepeso e a obesidade, é um importante fator de risco para doenças cardiovasculares e sua prevalência tem aumentado tanto em crianças como em adultos e idosos (Go et al., 2013; Hallal et al., 2003; Sun et al., 2013). Estima-se que um em cada cinco adultos seja sedentário, sendo a inatividade física mais prevalente em países ricos e urbanizados e também em mulheres e idosos (Dumith et al., 2011).

Dentre os benefícios do exercício físico, destacamos a melhora da função e da força musculares e o aumento do consumo máximo de oxigênio (Downing and Balady, 2011; Garber et al., 2011; Kaltsatou et al., 2013). A maior habilidade em transportar e utilizar o oxigênio auxilia na manutenção de atividades diárias e melhora a qualidade de vida (Jehn and Schmidt-Trucksäss, 2010). Isso é particularmente importante em pacientes com doença cardiovascular em que a capacidade de exercício apresenta-se tipicamente reduzida quando comparada à de indivíduos saudáveis (Chung and Schulze, 2011; Myers, 2003; Piepoli, 2013).

Em indivíduos hipertensos, o exercício é capaz de reduzir a pressão arterial tanto de forma aguda, por meio do fenômeno denominado hipotensão pós-exercício, a HPE (Forjaz et al., 1998; MacDonald, 2002; MacDonald et al., 2002; Quinn, 2000), quanto de forma crônica (Beck et al., 2013; Dimeo et al., 2012). A HPE é caracterizada pela redução da pressão arterial no período pós-exercício para valores abaixo dos níveis de repouso pré-exercício. Esse efeito anti-hipertensivo do

exercício tem sido investigado principalmente em humanos e relaciona-se aos níveis de condicionamento e pressão arterial do indivíduo, o que pode afetar a função endotelial e a liberação de substâncias vasodilatadoras no período pós-exercício (Lee et al., 2009; Motta et al., 2010; Pontes et al., 2008). O efeito do treinamento aeróbio na pressão arterial relaciona-se diretamente com a melhora da função endotelial e o balanço simpátovagal (Thijssen et al., 2012).

O exercício físico, quando adequadamente prescrito, também promove efeitos anti-inflamatórios, o que explica a imunidade suprimida mais suscetível a infecções verificada em atletas de elite devido ao excesso de treinamento (Walsh et al., 2011). Tais efeitos são mediados em parte pela redução da gordura corporal, o que acarreta alteração na liberação de adipocinas (Auerbach et al., 2013). Dessa forma, o exercício físico também atua prevenindo e tratando desordens metabólicas, como obesidade e diabetes (Zinman et al., 2003), condições que afetam o sistema imune (Gleeson et al., 2011).

Um estilo de vida sedentário promove acúmulo de gordura visceral, o que é acompanhado por um estado inflamatório sistêmico, associado ao desenvolvimento de resistência à insulina e de aterosclerose (Petersen and Pedersen, 2006). O exercício regular não é apenas considerado medida profilática, mas também uma terapia efetiva para tratamento de diversas doenças (Tsatsoulis and Fountoulakis, 2006).

Recentes revisão sistemática e meta-análise avaliando os efeitos do exercício físico sobre o controle glicêmico associaram treinamento físico regular (12 semanas) a redução de HbA_{1c} em pacientes com diabetes tipo 2 (Umpierre et al., 2011). Quanto maior a quantidade de atividade física realizada, menor o risco de

mortalidade (Sluik et al., 2012). Dessa forma, tanto cardiopatas quanto indivíduos com diabetes tipo 2 devem ser encorajados a se exercitarem regularmente (1997; Cléroux et al., 1999; Colberg et al., 2010; Pescatello et al., 2004; Sigal et al., 2006).

1.1.2. Adaptações cardíacas e musculares promovidas pelo treinamento

A transição do estado de repouso para o exercício físico demanda ajustes no sistema cardiovascular, especialmente no miocárdio e no músculo esquelético. Tais mudanças incluem principalmente: aumento da frequência cardíaca de repouso, da contratilidade cardíaca, da frequência respiratória; vasodilatação; e aumento do fluxo sanguíneo para os músculos ativos (Dela et al., 2003).

O aumento da capacidade de transporte coronariano ocorre por meio de adaptações na microcirculação coronariana, com o aumento do diâmetro e/ ou densidade arteriolar e mudanças na reatividade vasomotora (Laughlin et al., 2012). O exercício também é capaz de aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico, promovendo vasodilatação endotélio dependente (Goto et al., 2007; Halliwill et al., 2000; Maiorana et al., 2003). A hiperemia induzida pelo exercício físico se refere ao aumento do fluxo sanguíneo, que ocorre agudamente durante a atividade muscular, sendo responsável por grande parte das adaptações promovidas (Saltin, 2007).

Uma importante adaptação crônica do exercício, a hipertrofia cardíaca, tem sido bastante investigada, uma vez que pode ocorrer de forma fisiológica (Ellison et al., 2012; Savu et al., 2012; Weiner and Baggish, 2012) ou patológica (Burchfield et al., 2013; Xie et al., 2013). O remodelamento patológico pode estar relacionado à cardiomiopatia dilatada, insuficiência cardíaca e hipertensão, provocando aumento

da espessura da parede, com ou sem dilatação, associado à redução do tamanho da câmara do ventrículo esquerdo (Weeks and McMullen, 2011). O “coração de atleta” ocorre devido a um remodelamento cardíaco caracterizado pelo aumento tanto da massa muscular quanto do tamanho do cardiomiócito (Bernardo et al., 2010; Sedehi and Ashley, 2010).

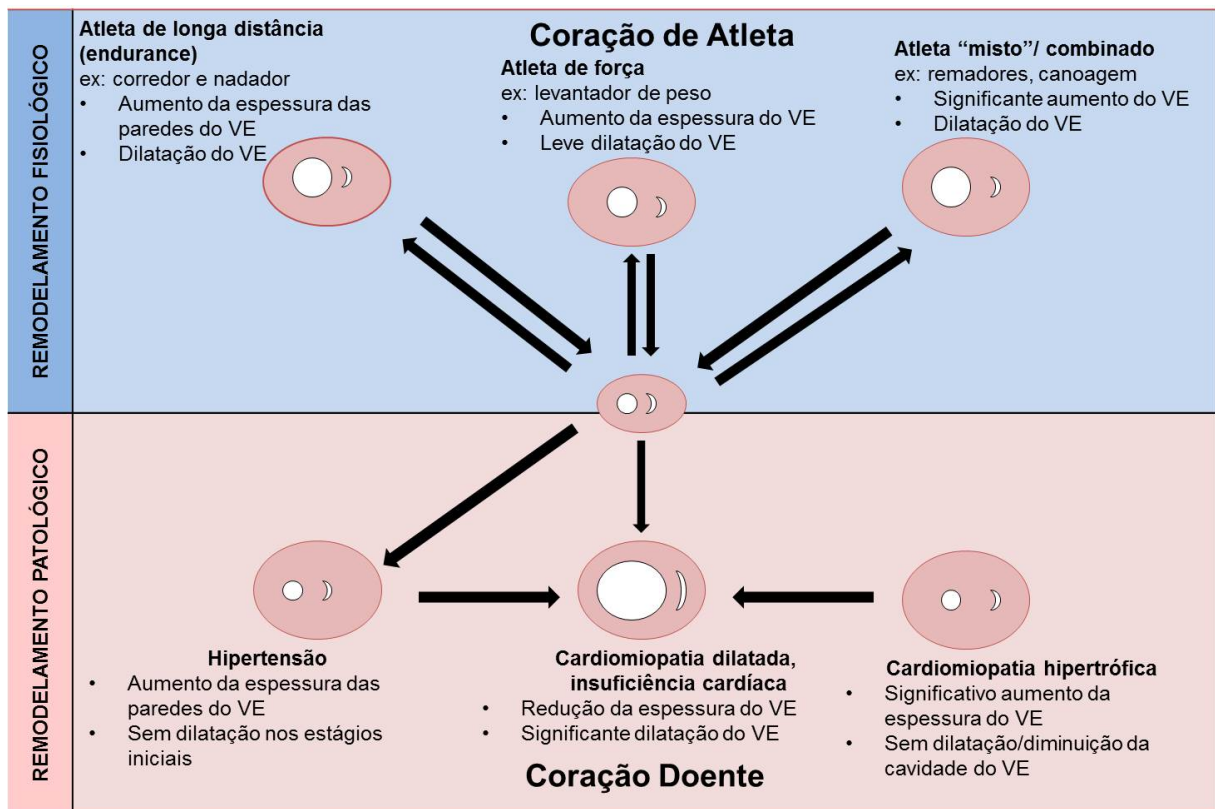


Figura 1. Remodelamento cardíaco fisiológico e patológico. VE: ventrículo esquerdo; Adaptado de Week & McMullen, 2011.

Recentemente, foi comprovado que o exercício não somente aumenta o tamanho como também o número de células cardíacas (Boström et al., 2010). Esse efeito é mediado pela redução do fator de transcrição CEBP β (do inglês, *CCAAT/enhancer-binding protein beta*) e pelo aumento de CITED4 (do inglês, *Cbp/p300-interacting transactivator with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain 4*). O exercício físico em camundongos foi capaz de induzir hipertrofia celular através da redução CEBP β e promover proliferação de cardiomiócitos via aumento do CITED4. Além

disso, a redução genética de CEBP β “in vivo” resultou em um fenótipo de “coração de atleta”.

A hipertrofia ocorre não somente no coração, também nos músculos esqueléticos envolvidos durante o exercício, melhorando a capacidade respiratória do músculo por meio do aumento de componentes da cadeia respiratória mitocondrial, síntese de ATP, enzimas glicolíticas e oxidativas (Holloszy, 1967; Holloszy et al., 1970).

O músculo esquelético possui grande capacidade de responder ao treinamento físico, sendo o PGC1 α (do inglês, *peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1*) o principal mediador dessas ações (Holloszy, 2008; Lira et al., 2010; Ventura-Clapier et al., 2008). O PGC1 α está expresso em tecidos que possuem alta capacidade oxidativa, como tecido adiposo marrom, rim, coração, músculo esquelético e cérebro (Puigserver, 2005). Diversos estímulos podem levar a um aumento na expressão do PGC1 α , como exposição ao frio, diminuição nos níveis de ATP no músculo esquelético e jejum (Handschin and Spiegelman, 2006). Recentemente, foi demonstrado que o aumento da expressão de PGC1 α estimula o aumento da expressão de FNDC5 (do inglês, *Fibronectin Type III Domain-Containing Protein*), uma proteína de membrana que, quando clivada, libera um hormônio denominado de irisina (Boström et al., 2012). A irisina age no tecido adiposo branco, estimulando a expressão de UCP1 (do inglês, *uncoupling protein 1*), induzindo tecido adiposo marrom e aumentando o gasto calórico sem alterações na atividade locomotora e no consumo energético.

1.2. Modelos de exercício físico em roedores

Os primeiros estudos que avaliaram o efeito do exercício em animais iniciaram-se na década de 1960, com cachorros e roedores (Burt and Jackson, 1965; Glick, 1966; Kratzing, 1965; Latz et al., 1966; Smulyan et al., 1965). Atualmente, os principais modelos utilizados para se verificar os efeitos agudos e crônicos do exercício físico em roedores são natação, esteira e exercício voluntário em roda de corrida (corrida voluntária) (Wang et al., 2010).

A maior vantagem do treinamento na piscina é a possibilidade de treinar vários animais ao mesmo tempo, porém o meio aquático pode provocar estresse, incluindo hipóxia decorrente de mergulhos, manobra de valsava e aumento da pressão arterial, dependendo da temperatura da água (Kioukia-Fougia et al., 2002). Na natação, pode ser necessário afixar um peso na cauda do animal e/ou utilizar bolhas de ar para estimulá-los a nadar.

A esteira, apesar de produzir numerosas respostas adaptativas em diversos órgãos (Jeon et al., 2012; Kemi et al., 2007; Lau et al., 2011), pode induzir respostas de estresse, que incluem hipertrofia adrenal e aumento nos níveis de corticosterona (Helmreich et al., 2005; Moraska et al., 2000). O exercício físico na esteira pode, ainda, exacerbar, enquanto o exercício voluntário atenua resposta inflamatória em modelo de colite (Cook et al., 2013). Em camundongos *mdx* (do inglês, *X-chromosome-linked muscular dystrophy*), principal modelo utilizado para estudos de distrofia muscular, o exercício físico na esteira é utilizado para aumentar a necrose nas miofibrilas (Weller et al., 1990). O exercício voluntário nesse modelo tem

demonstrado ser capaz de atenuar a perda de força muscular (Baltgalvis et al., 2012; Call et al., 2010; Frinchi et al., 2013).

Dentre os modelos descritos acima, a corrida voluntária caracteriza-se como o menos estressante para os animais, sendo capaz, inclusive, de produzir efeito antidepressivo e ansiolítico em camundongos (Duman et al., 2008). Apesar de também apresentar limitações, como impossibilidade de delimitação da intensidade entre os grupos, a corrida voluntária tem sido descrita como um bom modelo, uma vez que promove adaptações musculares e cardíacas (Allen et al., 2001), previne e reverte a severidade de cardiomiopatia hipertrófica (Konhilas et al., 2006), protege contra as consequências do infarto (Calvert et al., 2011) e previne a disfunção endotelial (Laufs et al., 2005) .

1.3. Sistema Renina-Angiotensina e exercício físico

1.3.1. O Sistema Renina-Angiotensina

O Sistema Renina-Angiotensina (SRA) é um dos principais sistemas relacionados ao controle cardiovascular e, por isso, um alvo para o tratamento de doenças cardiovasculares (Bader et al., 2012; Santos et al., 2000). Vários tecidos, incluindo o miocárdio, as veias e artérias sanguíneas, contêm componentes do SRA (Bader, 2010). Por meio de atividades autócrinas e parácrinas, a produção local de peptídeos do SRA desempenha importante função na homeostase cardiovascular, assim como em condições patológicas (Urata et al., 1995).

A renina, enzima que foi descrita há mais de 100 anos (Marks and Maxwell, 1979), é produzida no rim, sendo capaz de metabolizar somente um substrato, o angiotensinogênio, liberando a angiotensina I (Ang I). A Ang I, então, é convertida no octapeptídeo angiotensina II (Ang II) pela enzima conversora de angiotensina (ECA), presente primariamente nas células endoteliais. Dois receptores acoplados à proteína G, com sete domínios transmembrânicos, mediam as ações da angiotensina II: o receptor de angiotensina do tipo 1 (AT1) e o receptor de angiotensina do tipo 2 (AT2) (Inagami et al., 1994) A maior parte dos efeitos cardiovasculares promovidos pela Ang II, tais como vasoconstrição e aumento da pressão arterial, retenção de sódio, ativação do sistema nervoso simpático e síntese de aldosterona, ocorre via receptor AT1 (Ganguly and Davis, 1994; Griendling et al., 1996; Sadoshima and Izumo, 1993).

A enzima conversora de angiotensina (ECA) é um dipeptidil carboxipeptidase, que converte angiotensina I (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-

Leu) no potente vasoconstritor angiotensina II (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe) (Figura 2). A descoberta de que havia duas formas de angiotensinas, um decapeptídeo biologicamente inativo e um octapeptídeo altamente ativo, além da enzima ECA, que transformava um peptídeo no outro (Skeggs et al., 1954a), contribuiu muito para avanços de estudos nessa área. A estrutura dos dois peptídeos foi determinada, e a angiotensina II, sintetizada (Bumpus et al., 1957; Skeggs et al., 1954b). Mais tarde, inibidores da ECA foram desenvolvidos e confirmaram, até então, que o SRA causava aumento da pressão arterial em grande parte dos indivíduos que apresentavam hipertensão arterial (Skeggs, 1993).

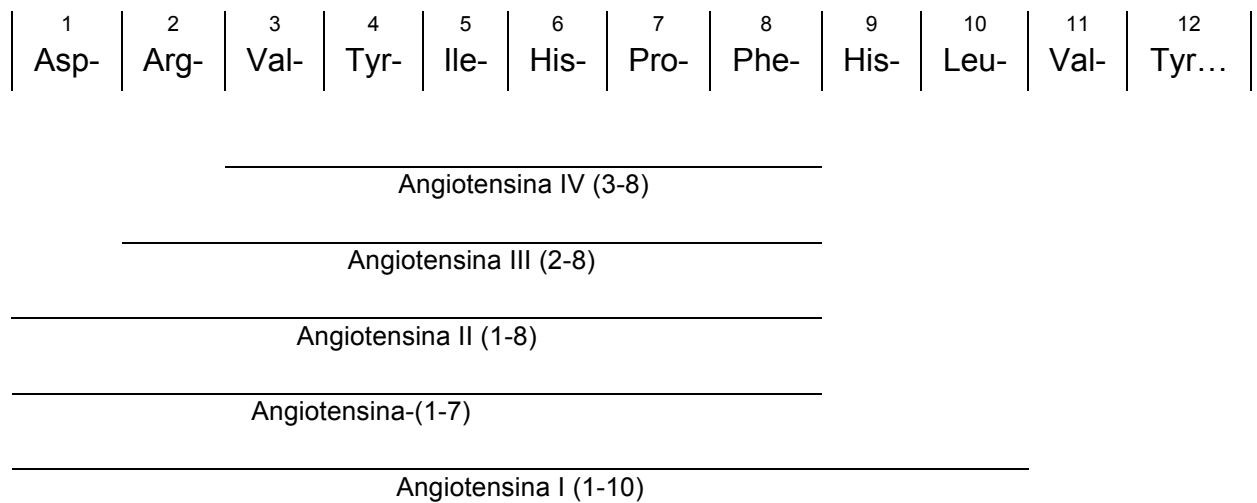


Figura 2. Sequência do angiotensinogênio e das angiotensinas I (1-10), angiotensina-(1-7), angiotensina II (1-8), angiotensina III (2-8), angiotensina IV (3-8).

Recentemente, novos componentes do sistema foram descritos, como a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), enzima homóloga à ECA, capaz de liberar a fenilalanina C terminal da Ang II, gerando a angiotensina-(1-7), Ang-(1-7). A Ang-(1-7) age via receptor MAS, antagonizando várias ações mediadas pelo receptor AT1, exercendo, assim, efeitos benéficos, como geração de óxido nítrico e

vasodilatação. Dessa forma, o eixo contrarregulatório ECA2-Ang-(1-7)-MAS está envolvido nas ações clássicas do SRA em órgãos-alvo (Figura 3).

A ECA2 foi descrita em 2000 por Tipnis e colaboradores, sendo considerada homóloga à enzima conversora de angiotensina humana (ECA) (Tipnis et al., 2000). Um mês depois, outro grupo, também do Reino Unido, publicou, descrevendo a “nova” enzima como uma enzima homóloga à ECA, capaz de converter angiotensina I em angiotensina-(1-9), e a denominou ECA2 (Donoghue et al., 2000). Ambos os estudos destacaram o potencial do novo componente do SRA no sistema cardiovascular. Em 2003, Zisman e colaboradores identificaram a formação de angiotensina-(1-7) no miocárdio humano, sendo essa diminuída quando suprimida a formação de angiotensina II. Evidenciou-se, assim, que a maior geração de angiotensina-(1-7) dependia da disponibilidade de substrato para a angiotensina II (Zisman et al., 2003).

A formação de angiotensina-(1-7) via Ang I independente da ECA foi descrita em 1988 por Santos e colaboradores (Santos et al., 1988) sendo neste mesmo ano, publicado um estudo mostrando ação biológica deste peptídeo “in vivo” (Schiaivone et al., 1988). No ano seguinte foi verificada a presença (Chappell et al., 1989) e algumas ações da Ang-(1-7) em cérebro de rato (Campagnole-Santos et al., 1989). Entretanto, somente após 15 anos da sua identificação, com a descoberta do receptor *MAS* (Santos et al., 2003), que as ações fisiológicas e biológicas desse peptídeo se tornaram mais evidentes. Possíveis mecanismos envolvidos nos benefícios da Ang-(1-7) sob o sistema cardiovascular envolvem: amplificação das ações da bradicina (Almeida et al., 2000; Gorelik et al., 1998), diminuição das ações da Ang II (Nadu et al., 2008) e estimulação da produção de óxido nítrico em cardiomiócito (Dias-Peixoto et al., 2008) e endotélio (Sampaio et al., 2007)

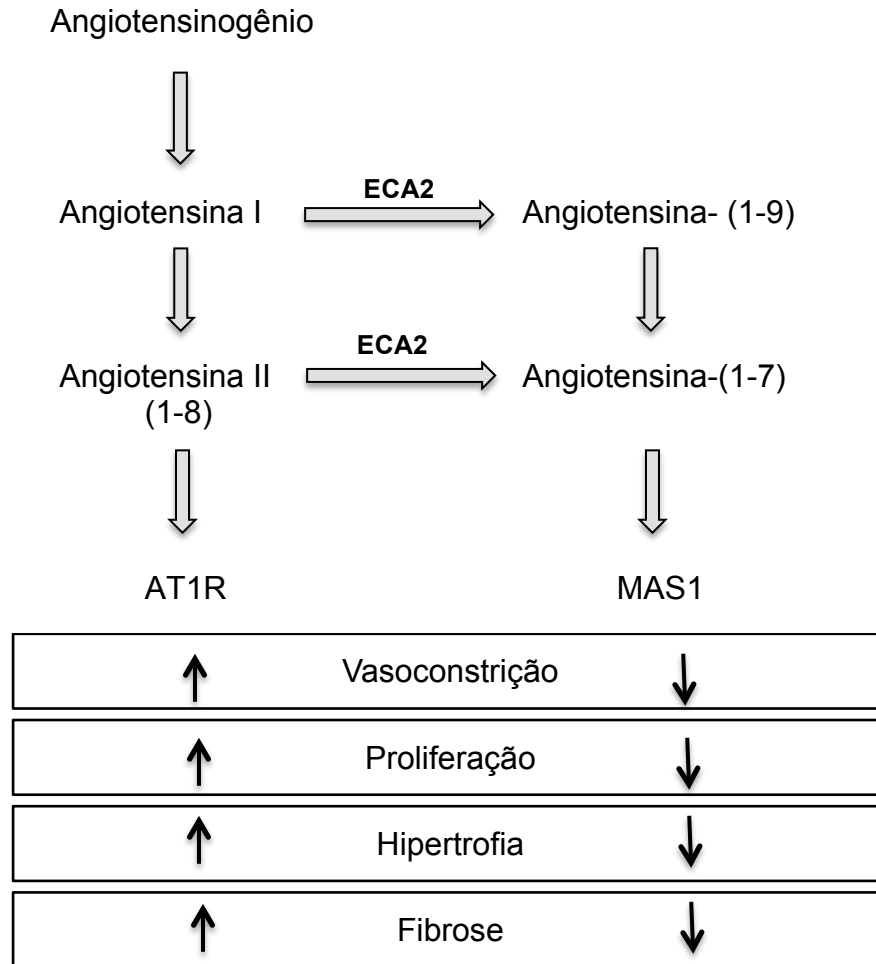


Figura 3. Versão simplificada do eixo ECA2-Ang-(1-7)-Mas. Adaptado de Marian, 2013.

A ECA2 é predominantemente expressa no coração, endotélio, rim e nos testículos e, em baixos níveis, em vários outros tecidos, particularmente cólon e pulmão (Gallagher et al., 2008). Já o receptor MAS foi primeiramente identificado no cérebro (Young et al., 1988), sendo também altamente expresso em testículos, rim, endotélio (Alenina et al., 2008), útero (Vaz-Silva et al., 2012), e cardiomiócitos (Dias-Peixoto et al., 2008).

1.3.2. Efeitos da deficiência da ECA2 e do receptor MAS

A tecnologia dos transgenes proporciona compreender *in vivo* o papel de sistemas peptídicos. Com relação ao SRA, existem vários modelos. O rato transgênico com gene do angiotensinogênio (AG) humano foi produzido por Kimura et al (1992). Esse rato desenvolve HA e disfunções comumente observadas em humanos hipertensos, como hipertrofia cardíaca e fibrose renal. A expressão do transgene nesse animal apresentava-se elevada especialmente no cérebro (Kimura et al., 1992). Davisson et al. (1999) verificaram que a superexpressão de AG no rim acarreta HA. Esse resultado confirmou a importância da geração de angiotensina local no tecido para regulação cardiovascular (Davisson et al., 1999). Em contraste, camundongo que expressa AG somente no coração apresenta níveis de pressão arterial normal, porém manifesta hipertrofia cardíaca. Esses dados indicam que a formação de Ang II induz danos cardíacos independentemente de elevação da pressão arterial (Mazzolai et al., 1998). Outros exemplos de animais transgênicos envolvem o rato transgênico, que superexpressa a ECA especialmente no coração e que não demonstrou alterações morfológicas no miocárdio, e o camundongo nocaute de ECA, que apresenta redução da pressão arterial (Bader, 2002).

A primeira descrição de camundongo ECA2-KO sugere que a ECA2 é essencial na regulação da função cardíaca “in vivo” (Crackower et al., 2002). O fenótipo dominante no camundongo com deficiência para a ECA2 é a falha na contratilidade cardíaca, acarretando disfunção ventricular esquerda. A deleção da ECA2 também demonstrou ser capaz de induzir severa injúria glomerular (Oudit et al., 2006), acelerar injúria renal diabética (Wong et al., 2007), hipertrofia cardíaca

patológica dependente de angiotensina II (Zhong et al., 2010), promover disfunção endotelial (Lovren et al., 2008), aumentar a fibrose em modelos de injúria no fígado (Osterreicher et al., 2009) e acelerar remodelamento ventricular esquerdo patológico em resposta a infarto do miocárdio (Kassiri et al., 2009). Adicionalmente aos efeitos no sistema cardiovascular, a ECA2 também atua como receptor do coronavírus causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave (Sars) (Li et al., 2003). A deficiência de ECA2 afeta a absorção de aminoácidos, sendo um importante regulador da imunidade, da ecologia microbiana do intestino e da suscetibilidade a colite (Hashimoto et al., 2012).

A perda da expressão do receptor MAS acarreta algumas alterações semelhantes à perda da ECA2, como disfunções cardíacas e endoteliais. Em 2000, Walther e colaboradores identificaram em camundongos nocautes para o MAS uma significativa redução da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (Walther et al., 2000). Foi detectado também um aumento do tônus simpático, sugerindo que o MAS seria um importante regulador da frequência cardíaca e da variabilidade da pressão arterial. A relação do receptor MAS com a função cardíaca foi confirmada em estudo que avaliou o efeito da isquemia/reperfusão de corações de camundongos WT, MAS-KO e WT tratados com A779, antagonista do receptor MAS (Castro et al., 2006). A deleção (MAS-KO) ou o bloqueio do receptor MAS (A779) atenua alterações fisiológicas comumente observadas em WT. O camundongo com deficiência do receptor MAS apresenta ainda disfunção endotelial (Rabelo et al., 2008; Xu et al., 2008), redução do fluxo sanguíneo regional (rim, pulmão, glândula adrenal, mesentérica, baço e tecido adiposo marrom) (Botelho-Santos et al., 2012) e aumento de triglicerídeos intramusculares (Santos et al., 2008).

1.3.3. Treinamento físico e o eixo ECA2/ANG-(1-7)/MAS

O tratamento farmacológico realizado por meio do bloqueio do SRA com inibidores de ECA ou do receptor de angiotensina II do tipo 1 (AT1) é reconhecidamente eficaz em reduzir pressão arterial (Bader, 2010). O tratamento não farmacológico feito por meio da prática regular de exercício físico, também (Fletcher et al., 1996; Nelson et al., 2007; Vina et al., 2012). Dessa forma, inicialmente, foram desenvolvidos estudos a fim de se verificar o efeito do bloqueio do SRA sobre a *performance* física. Posteriormente, estudos constataram que o exercício físico era capaz de reduzir os níveis de angiotensina II, o importante vasoconstritor do sistema (Liu et al., 2000; Negrão and Middlekauff, 2008). Além de diminuir a ativação do SRA clássico, o exercício pode ser capaz de ativar o eixo protetor do sistema ECA2/ANG-1-7/MAS (Fernandes et al., 2011; Filho et al., 2008; Pereira et al., 2009).

O polimorfismo do gene da enzima conversora de angiotensina (ECA) determina a variação plasmática da ECA, sendo os maiores valores para genótipos D/D, os menores para I/I e os intermediários para I/D (Rigat et al., 1990). Hernández et al. (2003) estudaram o impacto do polimorfismo do gene da ECA nas alterações da função e da morfologia cardíacas, a partir de método ecocardiográfico, em uma amostra de 61 atletas de resistência, com idades entre 25 e 40 anos e treinamento similar entre eles (Hernández et al., 2003). Indivíduos com genótipo D/D apresentam aumento da atividade da ECA, enquanto indivíduos I/I, diminuição. Os resultados demonstraram que atletas com genótipo D/D apresentaram maior índice de massa ventricular esquerda quando comparados aos índices dos atletas com genótipo I/D.

Ambos superaram os atletas com genótipo I/I. Dessa forma, surgiu a hipótese de que o SRA estaria relacionado à *performance*.

Foi avaliado em ratos Wistar machos o efeito da inibição da ECA no desempenho em corrida na esteira a partir da administração de perindopril por 10-12 semanas (Bahi et al., 2004). Os resultados demonstraram que a inibição não foi associada a uma melhor capacidade oxidativa nos músculos esqueléticos e tempo máximo de teste.

Coirault et al. (1999), em estudo com coelhos, verificou que uma terapia preventiva com perindopril tem efeito benéfico sobre a *performance* intrínseca do músculo esquelético durante sobrecarga cardíaca moderada (Coirault et al., 1999). Esses efeitos parecem ser evidenciados em condições patológicas, como em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Em SHR, foram avaliados os efeitos do perindopril no treinamento físico, a capacidade física, assim como o tipo de fibra muscular esquelética e a capilaridade. A capacidade de exercício aumentou significativamente no grupo tratado treinado, quando esse foi comparado com o grupo tratado sedentário. Da mesma forma, houve um aumento da densidade capilar, quando comparada apenas com o grupo treinado sem a administração do perindopril. Sugere-se que o perindopril promove alterações adaptativas do músculo esquelético, em resposta ao exercício físico, com aumentos na densidade capilar e no percentual de fibras tipo I em SHR (Minami et al., 2007).

Outros estudos relacionam efeitos do exercício sobre o SRA. Pereira et al. (2009) avaliaram o efeito do treinamento físico em camundongo transgênico com insuficiência cardíaca induzida (IC) por hiperatividade simpática, por meio da deleção dos receptores alfa2a/alfa2c adrenérgicos (Pereira et al., 2009). O

treinamento físico por oito semanas diminuiu níveis de Ang II e a atividade da ECA no miocárdio do transgênico com IC, que apresentava aumento desses dois componentes do SRA. Esses dados fornecem evidências de que o SRA cardíaco reduzido explica, em parte, os efeitos benéficos do treinamento sobre a função cardíaca em um modelo genético de IC.

2. JUSTIFICATIVA

Estudos epidemiológicos apontam que a incidência de problemas cardíacos em indivíduos fisicamente ativos é reduzida pela metade quando comparada à dos indivíduos sedentários (Prasad and Das, 2009). Considerada um dos principais fatores de risco para doenças arteriocoronarianas (DAC), a hipertensão arterial (HA) pode desencadear hipertrofia ventricular esquerda (HVE) por meio do remodelamento do miocárdio (Ferrara et al., 2004; Rizzoni et al., 1996). Esse fenômeno pode ser caracterizado por um conjunto de variações moleculares, celulares e intersticiais, o qual pode produzir alterações no tamanho, na massa, na geometria e/ou função do coração e do músculo esquelético (Mancia et al., 2002; McPherron et al., 2013).

O exercício físico também provoca um remodelamento fisiológico no miocárdio por meio da melhora do metabolismo celular, da estrutura ventricular esquerda e do fluxo sanguíneo coronariano (Fenning et al., 2003; Trivedi and Epstein, 2011). Além disso, o exercício físico pode alterar a expressão de proteínas reguladoras de cálcio (Collins et al., 2005; Goodman et al., 2005). Os mecanismos responsáveis por todas essas adaptações ainda não foram totalmente esclarecidos e podem envolver o Sistema Renina-Angiotensina (SRA).

A ECA2 libera Ang-(1-7), que promove diversos efeitos cardíacos e vasculares, incluindo vasodilatação, liberação de óxido nítrico e melhora da função endotelial. Tais efeitos são mediados pelo receptor da Ang-(1-7), o receptor MAS. Efeitos similares à ativação desse eixo são observados após um período de treinamento físico. Sendo assim, com o objetivo de contribuir para o melhor entendimento do papel do eixo ECA2/ANG-(1-7)/MAS nas adaptações benéficas

promovidas pelo exercício físico, neste trabalho foram avaliados os efeitos do treinamento voluntário em animais nocautes para ECA2 e para o receptor MAS. A verificação do efeito do exercício físico crônico nesses animais possibilitará melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nas adaptações cardíacas, musculares e metabólicas, em resposta ao treinamento e à relação entre exercício físico, ECA2, MAS e SRA.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar o efeito do treinamento aeróbio voluntário nas adaptações cardíacas, musculo esqueléticas e do tecido adiposo em camundongos com deleção genética de componentes do eixo ECA2/Ang-(1-7)/MAS (ECA2 e MAS-KO).

3.2. Objetivos Específicos

Avaliar os efeitos do treinamento voluntário em roda de correr em camundongos C57BL6, WT, ECA2-KO e MAS-KO sobre:

- variáveis de aptidão física;
- coração (hipertrofia cardíaca);
- composição corporal (gordura e massa muscular);
- músculo esquelético, por histologia;
- níveis de expressão de genes relacionados a adaptações cardíacas, musculares e metabólicas;
- pressão arterial e frequência cardíaca, por telemetria.

4. MATERIAL & MÉTODOS

4.1. Animais

A amostra utilizada no estudo foi composta por 62 camundongos machos C57BL6, sendo 20 controles WT, 18 ECA2-KO e 23 MAS-KO. Foram selecionados animais com 8 a 12 semanas de idade e peso entre 26 g e 30 g. Os animais receberam água e ração *ad libitum* e foram mantidos em ciclo claro por 12 horas, sendo a temperatura mantida entre 22° C e 25° C e umidade relativa do ar entre 60% e 65%.

4.1.2. Genotipagem

Para genotipagem dos animais nocautes, um pedaço da cauda, de aproximadamente 0,5 cm, foi retirado e incubado a 55° C em 80 µL de tampão Tris-HCl 100 mM pH 8,5, contendo NaCl 200 mM, SDS 0,2% e 8 µL de proteinase K (10 µg/mL), por aproximadamente 12 horas. A seguir, as amostras foram incubadas a 95° C, durante 10 minutos, a elas, foram adicionados 700 µL de TE (Tris-HCl 10 mM pH 7,4 contendo EDTA 1 mM pH 8,0) e 5 µL de RNase (4 mg/mL). Foram novamente incubadas por 10 minutos a 37° C. Foi preparado MasterMix (Tabela 1) e feito a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Figura 4) seguido de corrida em gel de agarose 2% (Figura 5).

Tabela 1. Descrição do *mix* utilizado para a genotipagem dos animais nocautes.

	Concentração	Reagente Amostra	Volume (uL)
MIX genotipagem MAS-KO		H ₂ O	37,00
	10uM	primer 1	1,00
	10uM	primer 2	1,00
	5mM	dNTPs	2,00
	50mM	MgCl ₂	1,80
			48ul
		DNA genômico	2ul
			Total: 50 ul

	Concentração	Reagente Amostra	Volume (uL)
MIX genotipagem ECA2-KO		H ₂ O	36,00
	10uM	primer 1	1,00
	10uM	primer 2	1,00
	10uM	primer 3	1,00
	5mM	dNTPs	2,00
	50mM	MgCl ₂	1,80
			48ul
		DNA genômico	2ul
			Total: 50 ul

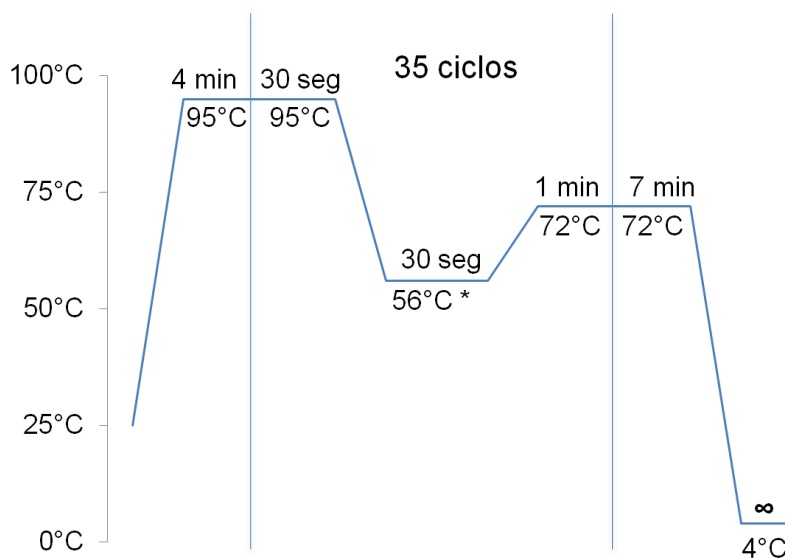


Figura 4. Esquema do programa de PCR utilizado para genotipagem. * temperatura de anelamento dos primers sendo 56°C para os primers do MAS e 60°C para os primers da ECA2.

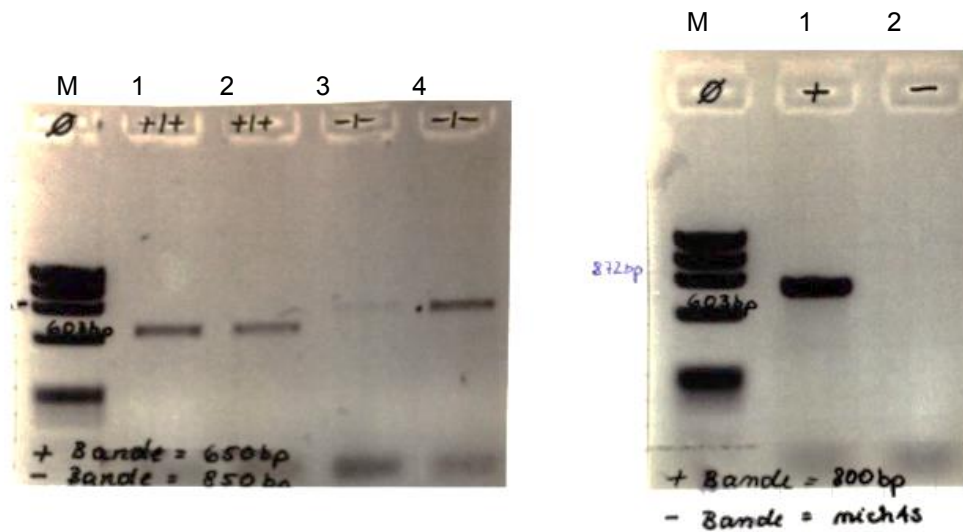


Figura 5. Visualização do produto amplificado, feito por eletroforese em gel de agarose a 2% e coloração com brometo de etídeo. Técnica utilizada para genotipagem dos camundongos ECA2-KO (esquerda) e MAS-KO (direita); M: marker Φ X174 DNA/BsuRI (HaeIII) (1 ug).

Todos os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Max Delbruck Center for Molecular Medicine (MDC) G 0001/10.

4.2. Protocolo de treinamento aeróbio

Os animais do grupo treinamento foram submetidos ao exercício voluntário por seis semanas (42 dias). A roda de atividade voluntária (11,5 cm de diâmetro) foi colocada dentro da gaiola de cada animal (Figura 6) e foi realizado um período de adaptação de uma semana, seguido de treinamento de seis semanas. Em todos os grupos, foi mantido um animal por gaiola.

Em cada roda de atividade voluntária, foi acoplado um computador, que permitiu medir o número de rotação que o animal realizou com intervalos de 1 minuto. Posteriormente, foi calculado o número de rotações por dia.



Figura 6. Roda de exercício voluntário utilizada no estudo.

4.3. Variáveis analisadas após treinamento

Após o treinamento, os animais de todos os grupos foram submetidos, acordados, à análise de sua composição corporal, através de ressonância magnética nuclear (modelo LF90II; Bruker Optics, Inc., Billerica MA, USA), e anestesiados com isoflurano (1.0% to 1.5% isoflurano com 0.5 L/min 100% O₂) para a realização de ecocardiografia. Foi retirada a roda utilizada no exercício voluntário 48 horas antes do exame, a fim de se evitar interferência de efeitos agudos do exercício em parâmetros da função cardíaca.

4.4. Análise das estruturas do coração

Após seis semanas de treinamento físico, os animais foram sacrificados. O sangue foi coletado por meio de punção cardíaca, após anestesia (ketamina 100mg/ml e rompum 2% 100:10, dose 0,10ml/10g de animal). O coração foi rapidamente removido, lavado com solução salina (NaCl 0,9%) e teve as estruturas cardíacas separadas em átrio, ventrículo direito (VD) e ventrículo esquerdo (VE) + septo. O efeito do treinamento voluntário na hipertrofia cardíaca foi avaliado por meio da razão massa cardíaca/peso corporal.

4.5. Morfometria

Os músculos gastrocnêmio e sóleo foram dissecados (membro direito para análise de expressão gênica e membro esquerdo para análise morfológica). Os

músculos esqueléticos foram fixados em paraformaldeído e embebidos em parafina. As seções de 5 mm foram desparafinizadas, reidratadas e coradas pelo Hematoxilina – Eosina (HE) ou 0,1% Picrosius Red (PSR) saturado em ácido pícrico.

Análise histomorfológica e diâmetro dos miócitos foram determinados em tecidos fixados em formalina 5%. Seções do músculo esquelético foram fotografadas com objetivas de 10x, utilizando-se câmera AVT-Horn Sony e microscópio Zeiss-Axioplan 2. Foram avaliados 25 campos de visão microscópica (gastrocnêmio e sóleo). Matriz extracelular (MEC) foi analisada a partir de seções transversais dos músculos gastrocnêmio e sóleo (Figura 7). Análise e quantificação do teor MEC foram realizadas com o programa “Imagem J” (Wayne Rasband, NIH, EUA). Os dados estão apresentados como % de MEC do tecido muscular, gastrocnêmio e gastrocnêmio + sóleo. Os investigadores que realizaram a análise não estavam cientes dos grupos experimentais.

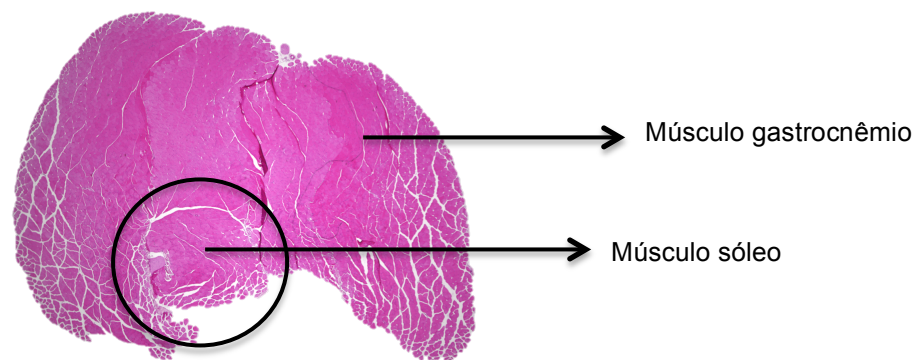


Figura 7. Corte transversal dos músculos gastrocnêmio e sóleo.

4.6. Telemetria

4.6.1. Anestesia e cirurgia

Os camundongos foram pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal, única de uma mistura de ketamina (100 mg/ kg) e xilazina (10 mg/ kg). O nível de anestesia foi continuamente monitorado pela inspeção da taxa de respiração e via sensibilidade na cauda. Para um período de anestesia profunda, foi também utilizado isoflurano (Univentor 400 Unidade Anestesia, AgnTho, Lidingö, Suécia).

Quando não identificados reflexos de dor, foram raspados os pelos nas áreas frontal, da nuca e inguinal, e os camundongos foram transferidos para uma mesa cirúrgica de temperatura controlada (TKM-0903, FMI GmbH, Seeheim, Alemanha), sendo fixados em decúbito dorsal, com um termômetro retal ligado a um controlador de resposta térmica, para que fosse mantida a temperatura corporal em 37° C. Após a fixação dos incisivos maxilares sobre o bloco, usando um elástico de plástico, a pele foi preparada com 70% de etanol e betadine.

4.6.2. Canulação da artéria carótida externa

Inicialmente foi feita uma incisão de 10 mm de comprimento na região cervical ventral, à esquerda da linha média. Os tecidos foram cuidadosamente separados e a artéria carótida esquerda foi, então, isolada por meio de dissecação com pinça romba da musculatura paratraqueal. Os ramos internos e externos da carótida foram localizados e isolados. O ponto mais distal da artéria carótida externa

foi ligado com sutura (6/0 de seda) e, depois de suturado, foi tensionado em direção à parte superior da cabeça. Uma segunda sutura (6/0 seda) foi colocada proximamente da bifurcação, e o fluxo de sangue foi ocluído, retraindo essa sutura em direção à cauda. Um terceiro fio de sutura (6/0 seda) foi colocado entre as suturas proximal e distal, com auxílio de uma braçadeira pequena, usada para impedir o sangramento quando da introdução do cateter.

Uma pequena incisão com tesoura íris, logo abaixo da ligadura distal, foi feita, e a ponta do cateter foi inserida no lúmen arterial, usando-se uma pinça de punção de vasos (S & T 00608-11). A pinça foi retirada, e o cateter, posicionado na artéria carótida comum. O cateter foi fixado com vários nós de três pontos, acima citado. O corpo do transmissor foi tratado com pomada antibiótica (Polyspectran Salbe, Alcon Pharma GmbH, Freiburg, Alemanha) e depois encapsulado por via subcutânea ao longo do flanco direito ventral. A ferida foi, então, subsequentemente fechada com sutura de pontos interrompidos com fio de seda. Para a recuperação, os animais eram colocados em gaiola aquecida. Após recuperação da anestesia, os camundongos foram alojados individualmente em gaiolas para 10 dias de recuperação pós-operatória, com alimentos e água oferecidos *ad libitum*. Após a recuperação, durante quatro dias, foi feito monitoramento basal de parâmetros cardiovasculares.

4.6.3. Aquisição e análise dos dados

Os dados do probe PA-C10 foram transmitidos via sinais de frequência de rádio para uma placa receptora colocada abaixo da gaiola e foram coletados

utilizando-se o *software* Dataquest ART System, versão 4.3.(DSI), que nos permitiu detectar, coletar e analisar informações de todos os grupos avaliados simultaneamente. Os dados foram salvos a cada 5 minutos, por três dias, continuamente (dia e noite), em uma taxa de amostragem de 1.000 Hz. Pressões arteriais sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM), frequência cardíaca (FC), atividade locomotora e frequência respiratória foram obtidas utilizando-se o *software* Dataquest 4.3.

Os dados foram analisados divididos em período de aquisição de valores basais e período de treinamento. O *período de aquisição de valores basais* ocorreu após 10 dias da recuperação da cirurgia. Nesse período, foram analisados os dados referentes à média de três dias consecutivos, antes que as rodas de corrida voluntária fossem colocadas na gaiola. Após a colocação das rodas em cada gaiola, foi realizado o *período de treinamento*. Durante o *período de treinamento*, que ocorreu após o período de aquisição de valores basais, foram avaliados os dados obtidos hora/hora, pelo período de 24 horas em cada semana de treinamento.

4.7. Expressão gênica

4.7.1. Extração de RNA total

Após o sacrifício dos animais, estruturas do coração (átrios, ventrículos direito e esquerdo), tecido muscular esquelético (gastrocnêmio e sóleo) e tecido adiposo (epididimal, inguinal e marrom) foram retirados para análise de expressão gênica. Essas amostras foram coletadas em gelo seco e imediatamente estocadas a -80° C, para prevenir a degradação do RNA. A extração do RNA total foi realizada

com Trizol (Invitrogen), e a purificação, para se evitar contaminação de DNA genômico, utilizando-se DNaseI, por meio da coluna RNeasy (RNeasy Mini Kit, QIAGEN). A quantificação do RNA foi realizada através de espectrofotômetro (NanoDrop® ND-1000), e a razão 260/280 foi superior a 1,8.

4.7.2. Reação da transcriptase reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)

Para o RT-PCR, o MIX1 foi aquecido por 10 minutos a 65° C e adicionado ao MIX2 (Tabela 2). O programa utilizado no termociclador foi o seguinte:

- 25° C por 10 minutos;
- 37° C por 40 minutos;
- 80° C por 10 minutos;
- 4° C (tempo infinito).

Tabela 2. Descrição do mix utilizado para o RT-PCR.

	Concentração	Reagente / Amostra	Volume
MIX RT 1	2 ug	RNA	x
	10 pmol	RH primers	1 ul
	10 mM	dNTPs	1 ul
		RnaseOUT (RNasin)	0,5ul
	-	H ₂ O	10 – x (RNA)
		Total: 12,5 ul	
MIX RT 2	5X	Buffer First Strand	4 ul
	0,1 M	DTT	2 ul
		RnaseOUT (RNasin)	0,5 ul
		MMLV	1 ul
		Total: 7,5 ul	

As amostras de cDNA foram, então, armazenadas a -20° C até a realização do qPCR.

4.7.3. PCR quantitativo em tempo real (qPCR)

O cDNA foi diluído 50x (concentração final de 40 ng), e foram utilizados 9 ul por reação.

Tabela 3. Descrição do *mix* utilizado para o q-PCR.

	Concentração	Reagente / Amostra	Volume
MIX qPCR	2x	GoTaq®	10 ul
	100 nM	Primer Foward	0,2 ul
	100 nM	Primer Reverse	0,2 ul
		cDNA (40 ng)	9 ul
	-	H ₂ O	0,6 ul
			Total: 20 ul

Para o qPCR, foi utilizado o GoTaq® qPCR Master Mix (Promega, Madison, Wisconsin, USA), a máquina AB7900 (Applied Biosystems, Foster City, Ca, USA) e os *primers* em anexo, na Tabela 10. Foram realizadas curvas padrão com diluição seriada (Figura 8) para análise da eficiência de todos os *primers*, sendo considerados *primers* com eficiência de no mínimo 90%. Curvas de dissociações (“Melting Curve”) também foram realizadas para verificação de especificidade e pureza do fragmento amplificado (Figura 8).

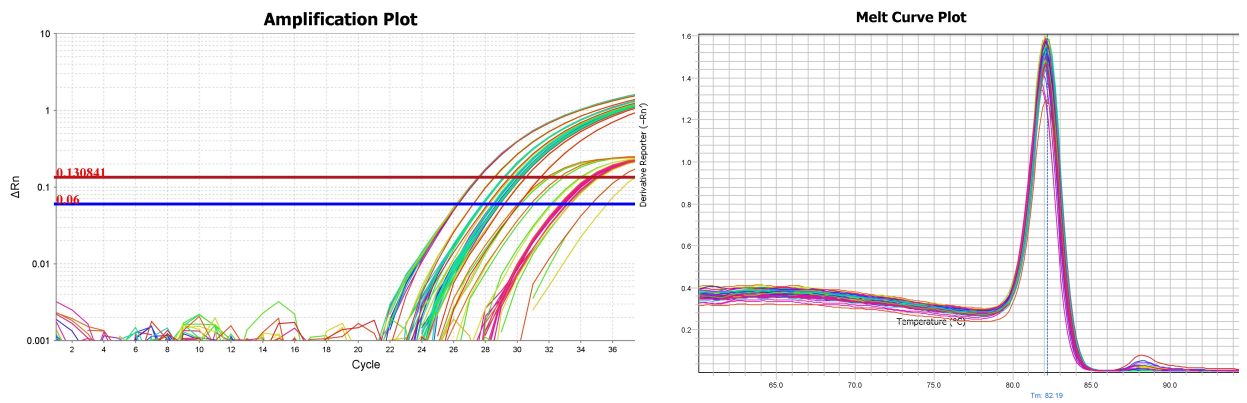


Figura 8. Exemplo de curva padrão com diluição seriada (esquerda) e de curva de dissociação (direita).

4.8. Níveis de angiotensinas plasmáticas

Após anestesia, conforme descrito acima, o sangue dos animais foi coletado por meio de punção cardíaca e armazenado em tubos *ependorf*, contendo 50 μ l de coquetel de inibidores para proteases (Attoquant®), e centrifugado a 7.000 rpm por 8 minutos. O plasma foi, então, imediatamente armazenado em gelo seco e, posteriormente, a -80°C . A determinação da concentração plasmática de angiotensinas foi realizada por meio de espectrometria de massa, por meio do RAS fingerprint TM. O “RAS fingerprint” permite a quantificação de dez angiotensinas simultaneamente em uma amostra de 1 ml de plasma. Dessa forma, foi feito um *pool* de três animais e coletados quatro *pools* por grupo.

4.9. Análise estatística

Estatística descritiva com procedimentos de média e desvio padrão foi empregada. Test t Student não foi pareado, Two Tail foi empregado para comparação entre o grupo sedentário e o grupo treinado. ANOVA Two Way, para medidas repetidas, comparando-se as variáveis obtidas pré e pós-treinamento, foi aplicada. Para análise do desempenho, foi utilizado ANOVA One Way, comparando-se os três grupos treinados (WT, ECA2-KO e MAS-KO). Em caso de diferença entre os grupos, foi utilizado o Post Hoc de Tukey. O nível de significância adotado para todos os experimentos foi de $p \leq 0,05$ (Prism 5.0).

5. RESULTADOS

5.1. Desempenho físico em seis semanas de exercício voluntário

Os animais WT e MAS-KO apresentaram desempenho semelhante quando submetidos a seis semanas (42 dias) de exercício voluntário. Foi analisado o número de rotações por dia pelo período de 42 dias (Gráfico 1).

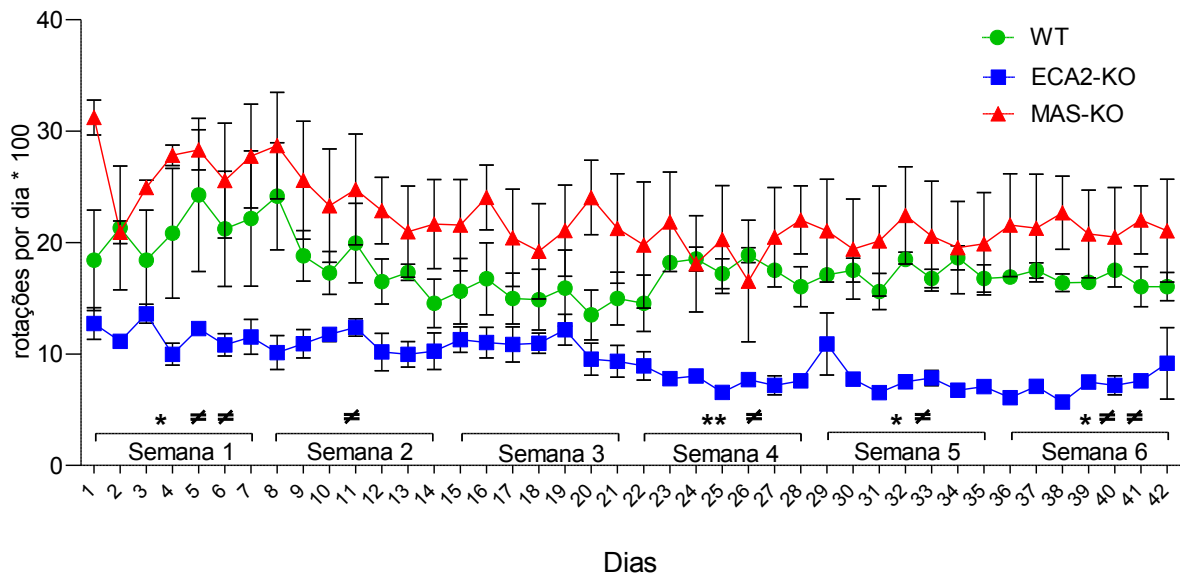


Gráfico 1. Número de rotações diárias durante o período de seis semanas de corrida voluntária nos grupos WT (n=5), ECA2-KO (n=5) e MAS-KO (n=5). **p≤0,01, *p≤0,05, ECA2-KO vs. WT. #p≤0,01; #p≤0,05, ECA2-KO vs. MAS-KO

5.2. A deleção da ECA2 prejudica o desempenho físico

O grupo ECA2-KO apresentou desempenho inferior na roda de exercício voluntário quando comparado aos grupos WT e MAS-KO. A redução do desempenho físico foi verificada durante todo o período de treinamento de seis semanas (Gráfico 1). Foi feita a média de rotações por semana, e o grupo ECA2-KO apresentou desempenho inferior nas semanas 1, 2, 4, 5 e 6, quando comparado ao

grupo MAS-KO, e nas semanas 1, 4, 5 e 6, se comparado ao grupo WT. Esse desempenho foi aproximadamente 30% menor em relação aos grupos WT e MAS-KO.

Primariamente mais ativos durante o ciclo escuro, roedores quando submetidos ao exercício voluntário, preferencialmente, exercitam-se durante a noite. Quando analisado o número de rotações no ciclo claro e no ciclo escuro, observa-se que todos os grupos avaliados realizaram espontaneamente o exercício durante o ciclo escuro (Gráfico 2 esquerda), porém apenas os grupos ECA2-KO e MAS-KO realizaram exercício voluntário também durante o ciclo claro (Gráfico 2 direita). O volume do exercício, no entanto, foi bem menor no ciclo claro em todos os grupos.

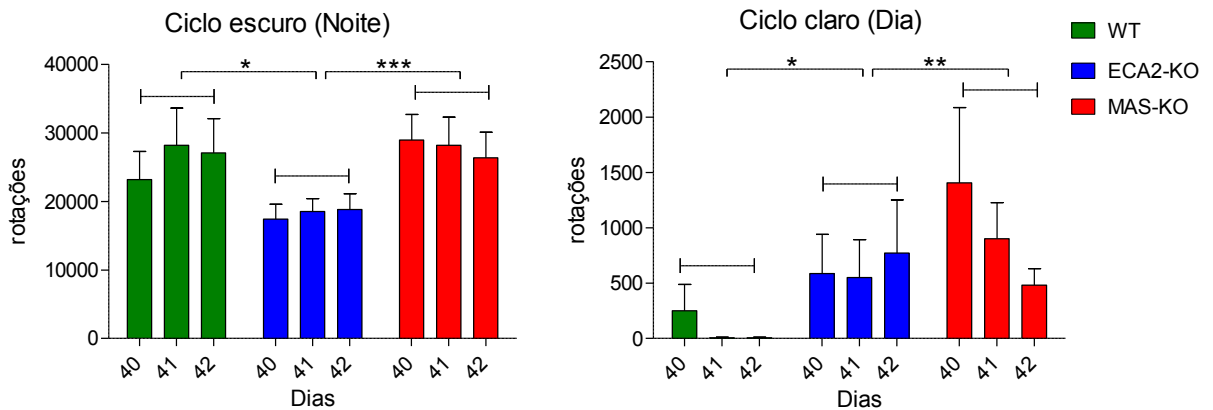


Gráfico 2. Média de rotações diárias nos últimos três dias de corrida voluntária no ciclo escuro (esquerda) e no ciclo claro (direita). * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

5.3. O exercício voluntário não promoveu hipertrofia cardíaca no grupo ECA2-KO

A massa total do coração, assim como o peso do ventrículo esquerdo, foi mensurada após sacrifício dos animais, para se verificar o efeito do exercício sobre a hipertrofia cardíaca.

Não ocorreu diferença significativa entre os grupos na massa total do coração. O peso do ventrículo esquerdo nos grupos WT exe (n=8) e MAS-KO exe (n=8) foi significativamente maior quando comparado ao encontrado nos grupos WT sed (n=7) e MAS-KO sed (n=7) (Gráfico 3). Não foram verificadas diferenças entre ECA2-KO exe (n=5) vs. ECA2-KO sed (n=6) para ventrículo esquerdo e coração.

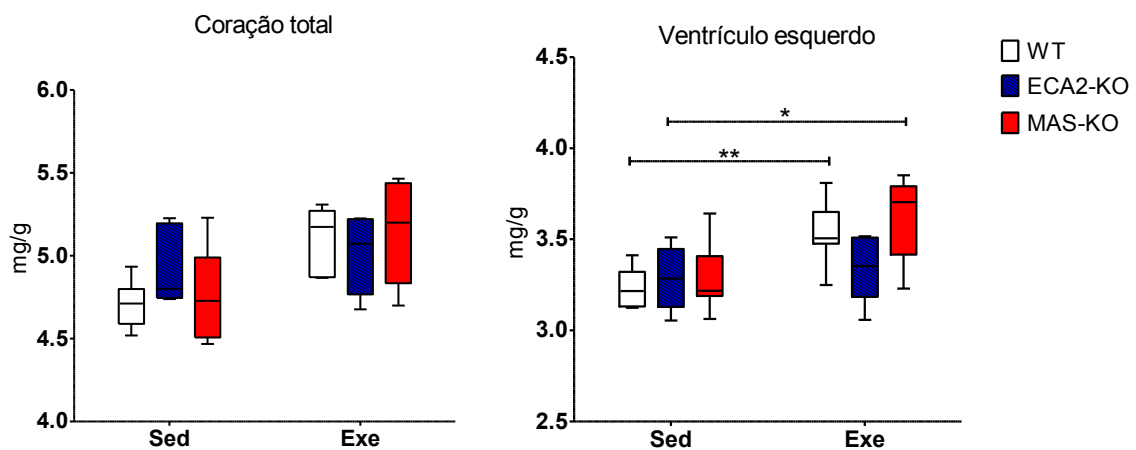


Gráfico 3. Peso do ventrículo esquerdo e do coração total corrigido pelo peso corporal nos grupos WT, ECA2-KO e MAS-KO sedentários e submetidos ao treinamento de seis semanas de exercício voluntário. ** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$.

Devido ao fato de o grupo ECA2-KO ter desempenho reduzido e não apresentar hipertrofia fisiológica, decidimos excluir esse grupo das análises posteriores, diante de seu complexo fenótipo.

5.4. Alterações na composição corporal após treinamento de corrida voluntário

O peso corporal foi mensurado antes e após seis semanas de treinamento aeróbio, não sendo verificada diferença estatística intragrupos (pré e pós-exercício voluntário) e entre grupos (Sedentários vs. Treinados; MAS-KO vs. WT). A composição corporal (% de gordura e músculo) foi analisada ao final de seis semanas de treinamento, através de ressonância magnética.

Não foi verificada diferença entre o peso corporal dos grupos submetidos ou não ao treinamento (Sedentários vs. Treinados). Como esperado, o grupo WT exe apresentou menor % de gordura e maior % de massa magra quando comparado ao grupo WT sed ($p \leq 0,05$) (Tabela 4). O mesmo não foi observado no grupo MAS-KO. Além disso, o percentual de gordura do grupo sedentário MAS-KO foi significativamente menor ($p \leq 0,05$) quando comparado ao grupo WT sedentário. O percentual de massa magra do grupo MAS-KO sed apresentou-se significativamente maior ($p \leq 0,05$) quando comparado ao WT sed. (Tabela 4).

Tabela 4. Composição corporal: peso corporal (g), % de gordura e massa magra nos grupos WT sedentário e treinado (WT sed, WT exe) e MAS-KO sedentário e treinado (MAS-KO sed, MAS-KO exe).

	<i>Peso corporal (g)</i>	<i>% de gordura</i>	<i>% massa magra</i>
WT sed	26,75 ± 2,52	18,26 ± 2,06	72,65 ± 2,16#
WT exe	25,98 ± 1,13	14,81 ± 1,12*	76,55 ± 1,64
MAS-KO sed	26,10 ± 3,22	15,15 ± 1,45*	75,93 ± 1,56*
MAS-KO exe	27,69 ± 2,81	13,68 ± 1,41	77,05 ± 1,16

* comparado ao WT sed, # comparado ao WT exe. $p \leq 0,05$.

Foi avaliado o peso dos músculos gastrocnêmio e sóleo e do tecido adiposo epididimal e marrom após o sacrifício dos animais. O tecido adiposo epididimal e marrom apresentou-se reduzido no grupo WT exe quando comparado ao WT sed, confirmando-se, assim, os dados obtidos na composição corporal. O grupo MAS-KO sed apresentou menores tecido adiposo (epididimal e marrom) e % de gordura se comparado ao WT sed (Gráfico 4). Não foram observadas diferenças entre os grupos MAS-KO sed e MAS-KO exe para o tecido adiposo epididimal e marrom.

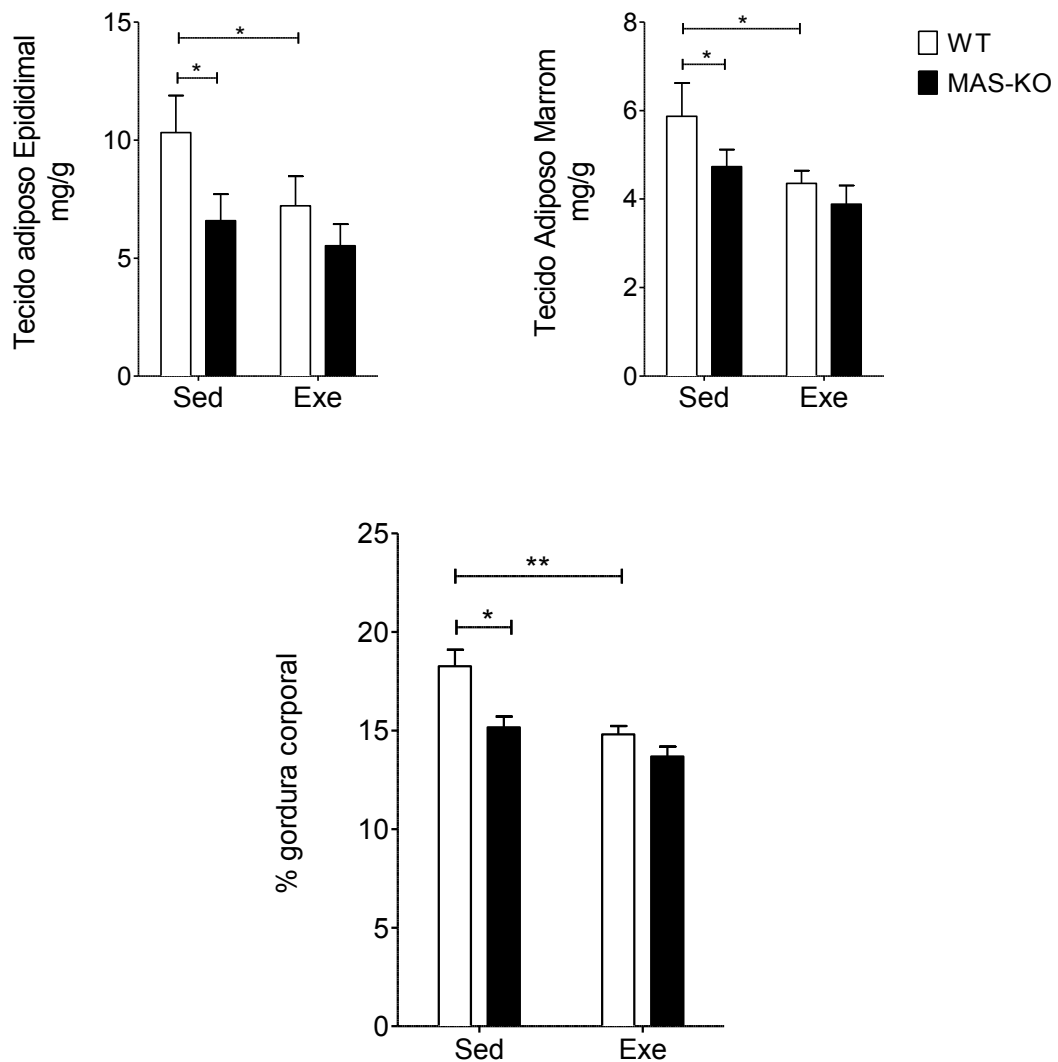


Gráfico 4. Peso do tecido adiposo epididimal e marrom corrigido pelo peso corporal retirado após sacrifício dos animais e % de gordura corporal obtido através de ressonância magnética (n= 6 e 7 WT sed e exe; n=7 e o MAS-KO sed e exe). * p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01.

Não foram observadas diferenças significativas, entre os grupos avaliados, para o peso do músculo gastrocnêmio. O peso do músculo sóleo aumentou no grupo WT exe se comparado ao WT sed e se apresentou maior no grupo MAS-KO sed quando comparado ao grupo WT sed (Gráfico 5 e Figura 9). Na análise histológica, ambos os grupos treinados WT e MAS-KO apresentaram aumento no diâmetro do músculo apenas no sóleo (Gráfico 7 e Figura 10).

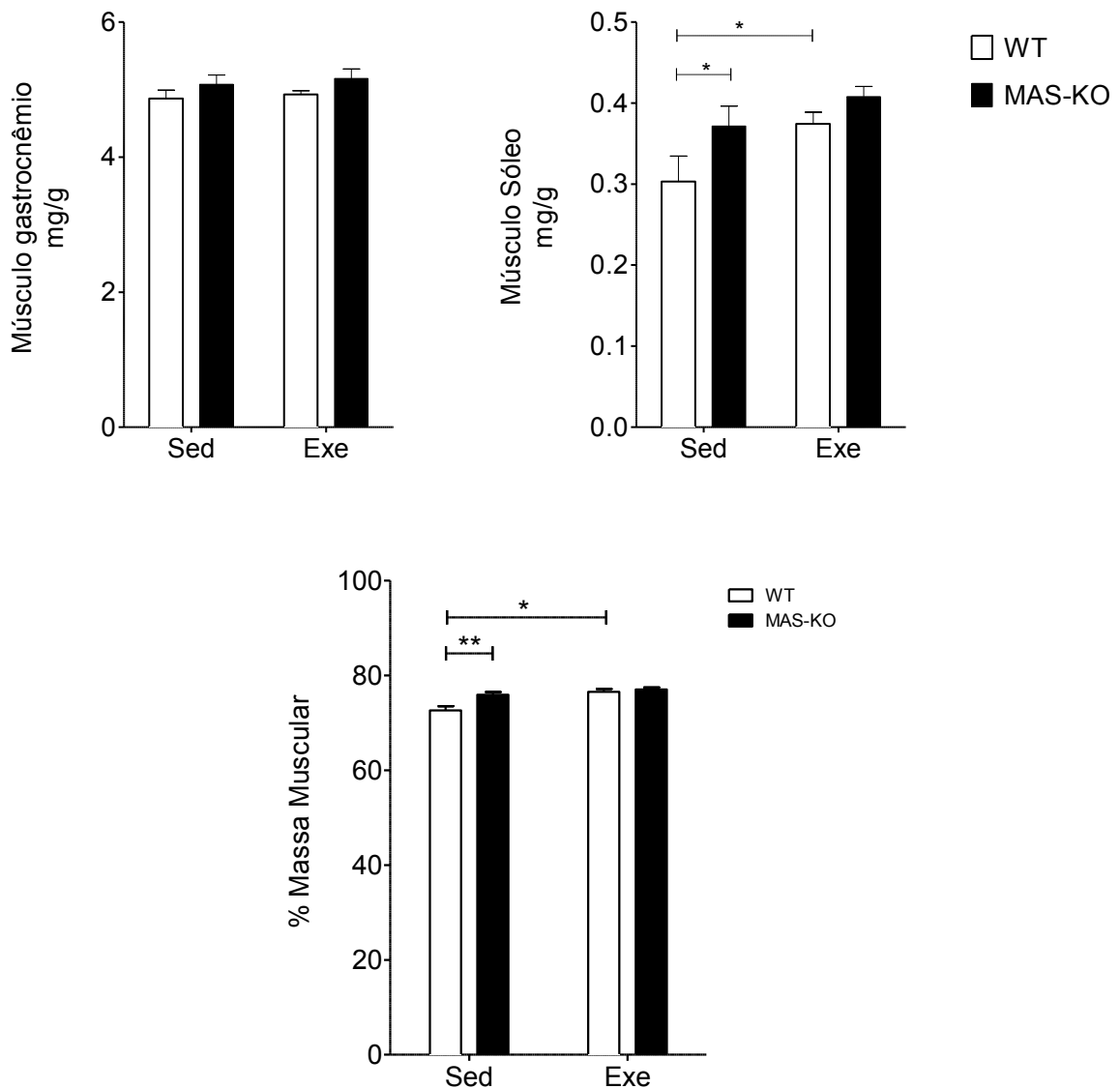


Gráfico 5. Peso dos músculos gastrocnêmio e sóleo corrigido pelo peso corporal retirado após sacrifício dos animais e % de massa muscular obtido através de ressonância magnética. WT sed (n=6) e exe (n=7); MAS-KO sed (n=7) e exe (n=8). * p<0,05; ** p< 0,01.

5.5. O exercício voluntário induziu aumento de componentes da matriz extracelular no músculo esquelético em camundongos WT

Foi avaliado o efeito do exercício sob componentes da matriz extracelular (MEC) nos músculos gastrocnêmio e sóleo. A quantificação do % de componentes da MEC sugere que o treinamento de seis semanas induziu aumento desses

componentes no grupo WT, especialmente no músculo sóleo (Gráfico 6b). Foi observado, ainda, que o grupo MAS-KO sed, quando comparado ao grupo WT sed, já apresenta aumento no % de componentes da MEC tanto na análise dos músculos gastrocnêmio + sóleo (Gráfico 6a) quanto na análise do músculo sóleo (Gráfico 6b).

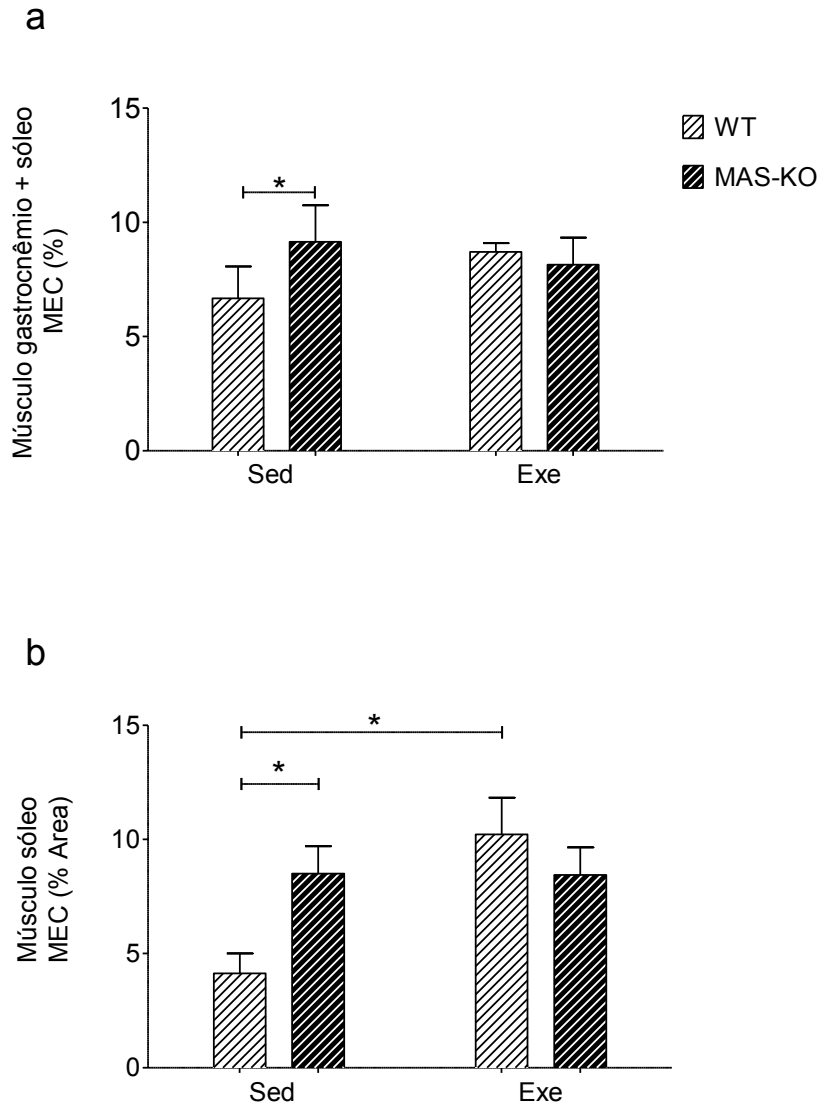


Gráfico 6. Resposta de componentes da matriz extracelular (MEC) nos músculos gastrocnêmio + sóleo (a) e apenas no músculo sóleo (b). n=4 por grupo. * $p \leq 0,05$.

As imagens dos cortes histológicos dos músculos gastrocnêmio e sóleo nos grupos WT sed, WT exe, MAS-KO sed e MAS-KO exe podem ser visualizadas na Figura 9 (ampliação 2x).

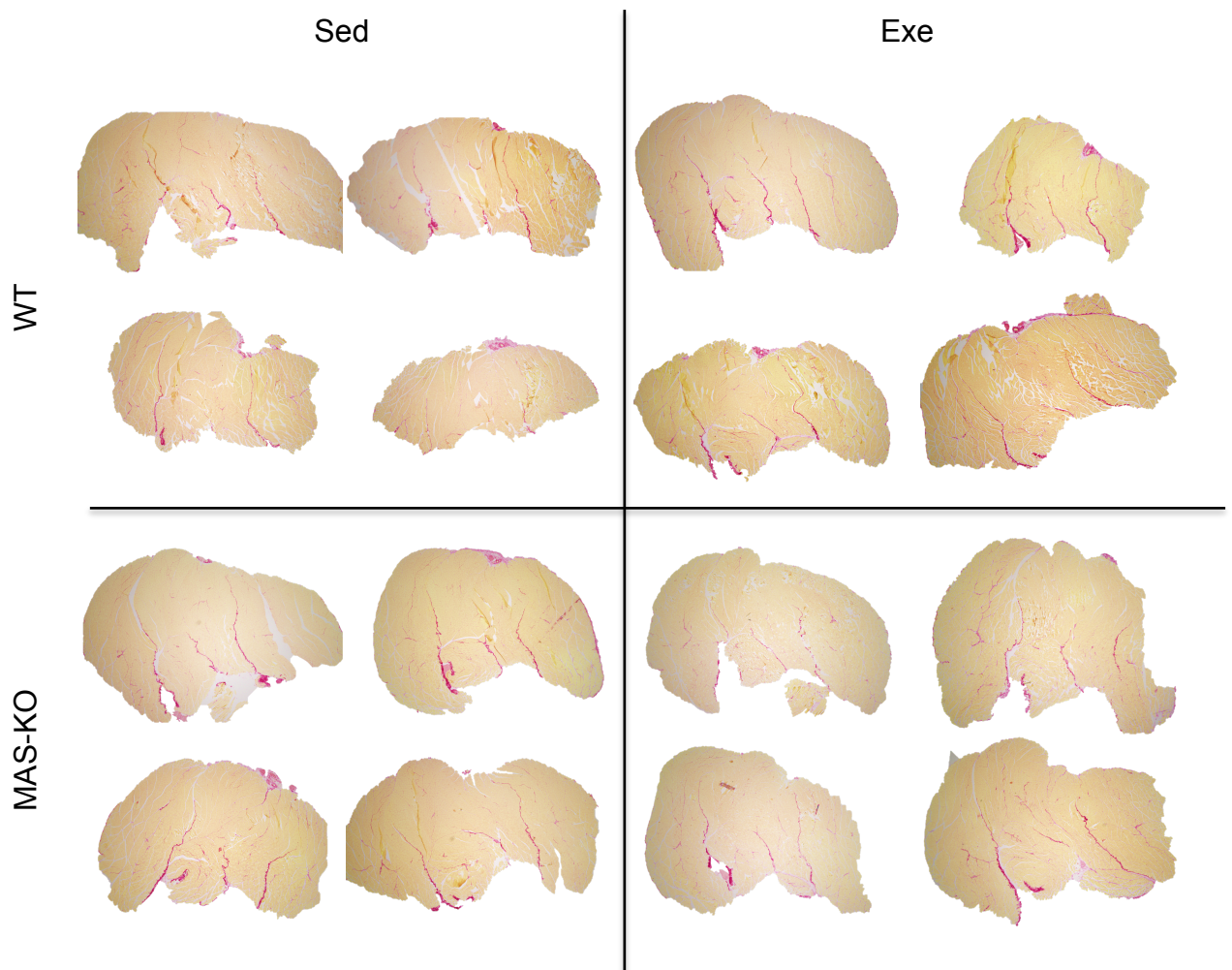


Figura 9. Resposta de componentes da MEC (%), utilizando-se coloração por sirius red nos músculos gastrocnêmio e sóleo nos grupos WT sed e exe, MAS-KO sed e exe.

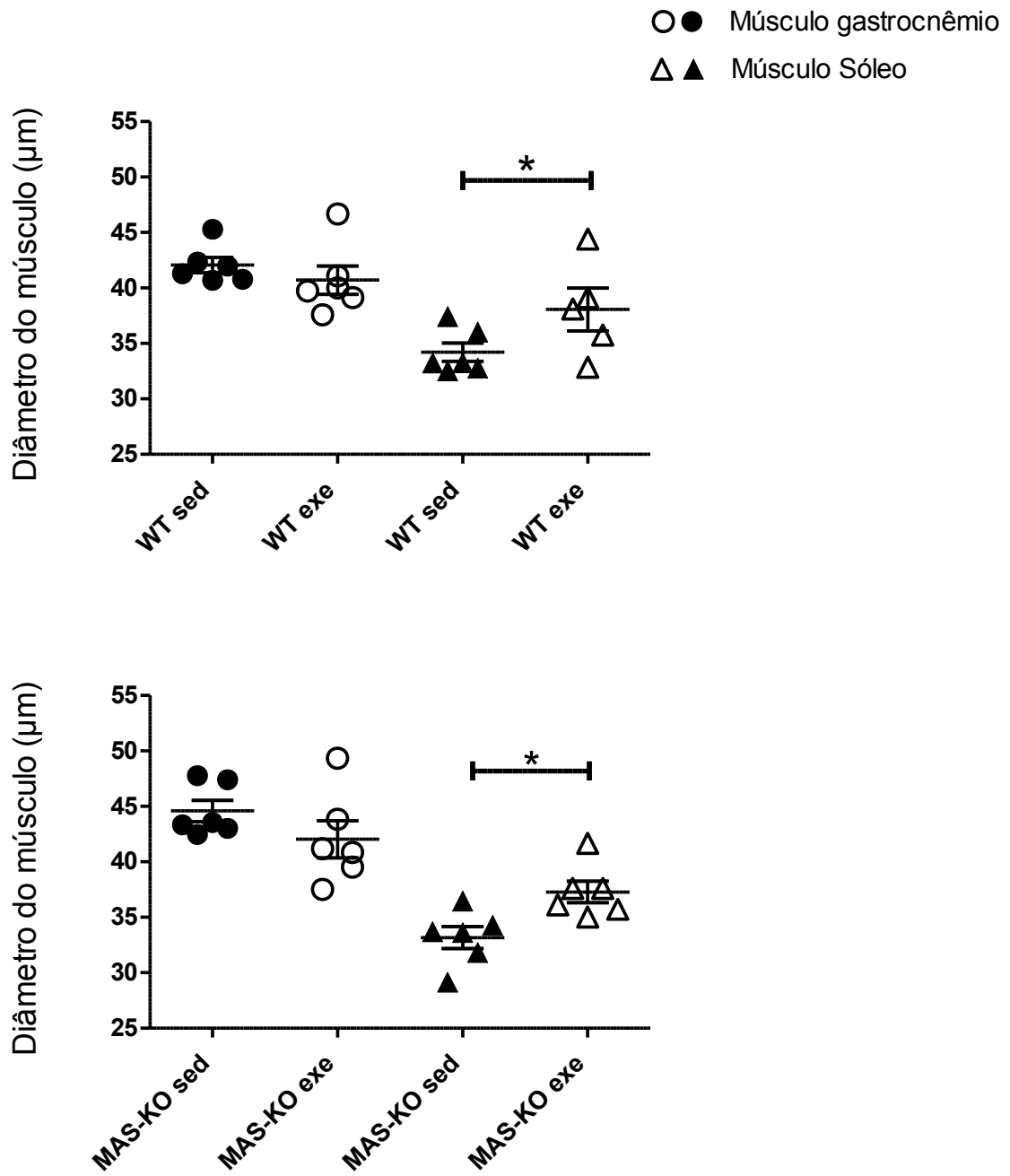


Gráfico 7. Diâmetro dos músculos gastrocnêmio e sóleo nos grupos WT e MAS-KO. sed: sedentários, exe: treinamento de corrida voluntária por seis semanas. N=6 por grupo.* $p \leq 0,05$.

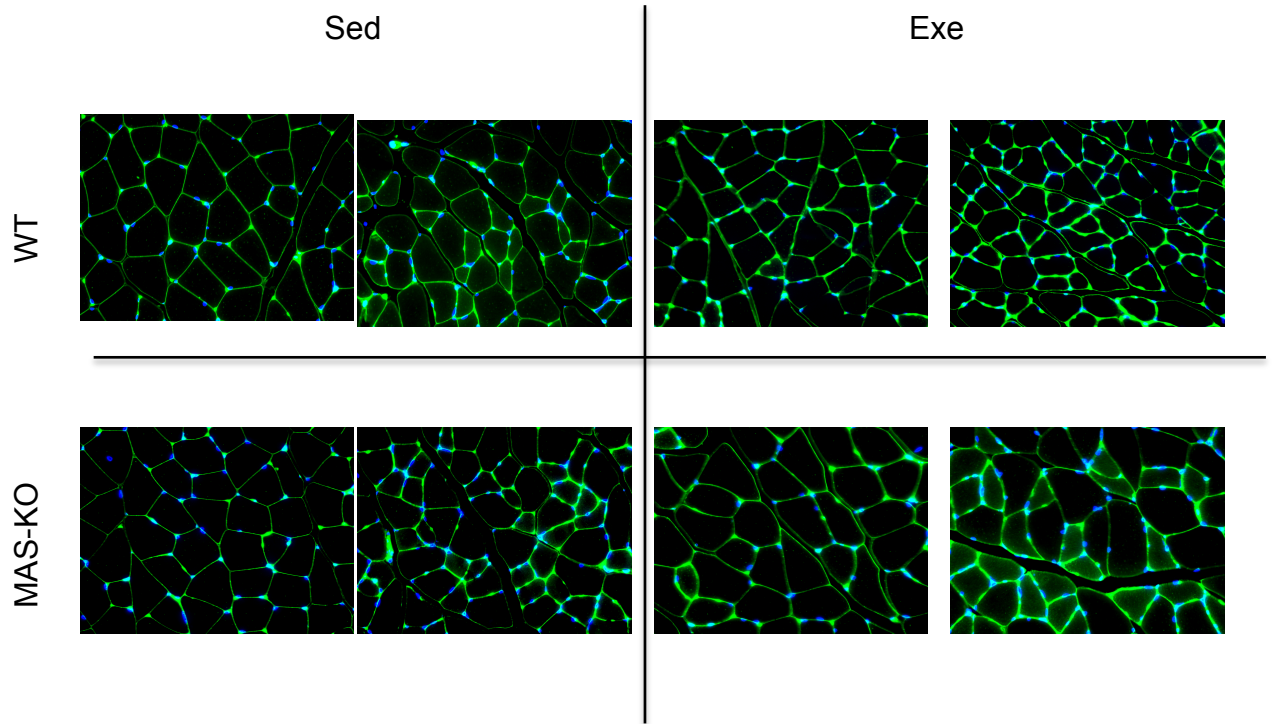


Figura 10. Área de secção transversa nos músculos gastrocnêmio (esquerda) e sóleo (direita) nos grupos WT sed e exe, MAS-KO sed e exe.

5.6. Níveis plasmáticos de angiotensinas após seis semanas de exercício voluntário

Foram determinadas os níveis de concentração plasmáticos de angiotensina 1-8, 3-8, 1-10, 2-7, 1-7, 3-7, 1-5, 1-9, 2-8 e 2-10 (Tabela 5).

Foi observado um aumento nos níveis de Ang 1-8 (ang II) e Ang 1-10 (ang I) no grupo MAS-KO exe, se comparado ao MAS-KO sed.

No grupo WT exe, verificou-se elevada concentração de Ang-(1-10) (405,77 pg/ml), se comparado aos níveis do grupo WT sed (269,19 pg/ml).

Tabela 5. Níveis plasmáticos de angiotensinas nos grupos WT sedentário e treinado (WT sed, WT exe) e MAS-KO sedentário e treinado (MAS-KO sed, MAS-KO exe).

Angiotensina [pg/ml]	WT		MAS-KO	
	sed	exe	sed	exe
1-8	38.90	48.33	41.86	111.56
3-8	≤	4.17	≤	4.58
1-10	269.19	405.77	331.57	544.73
2-7	≤	≤	≤	≤
1-7	≤	≤	≤	≤
3-7	≤	≤	≤	≤
1-5	4.00	4.00	6.00	6.00
1-9	≤	≤	≤	≤
2-8	17.91	24.43	20.82	42.66
2-10	≤	45.88	≤	≤

A razão AngII/AngI se mostrou menor no grupo WT exe, se comparado a seu respectivo grupo sedentário (0,119 vs. 0,144 pg/ml). Entretanto, no grupo MAS-

KO, essa razão apresentou-se mais elevada no grupo treinado, se comparado ao sedentário (0,204 vs. 0,126 pg/ml).

5.7. Alterações da expressão gênica após seis semanas de exercício voluntário

5.7.1. Genes relacionados a adaptações cardíacas e musculares, fisiológicas e patológicas

Foi avaliada a expressão de genes relacionados a adaptações cardíacas e musculares, fisiológicas e patológicas (CEBP β , CITED4, ANP, BNP, colágeno I e III, fibronectina, TGF β , VEGF, FoxO1 e FoxO3, MHC α , PGC1 α , FNDC5). Inicialmente, descreveremos os genes avaliados no ventrículo esquerdo.

Os níveis de expressão de CEBP β se mostraram reduzidos apenas no grupo WT exe, quando comparado ao seu grupo sedentário (Gráfico 8). CITED4 aumentou no grupo MAS-KO exe, quando comparado ao MAS-KO sed ($p \leq 0,05$).

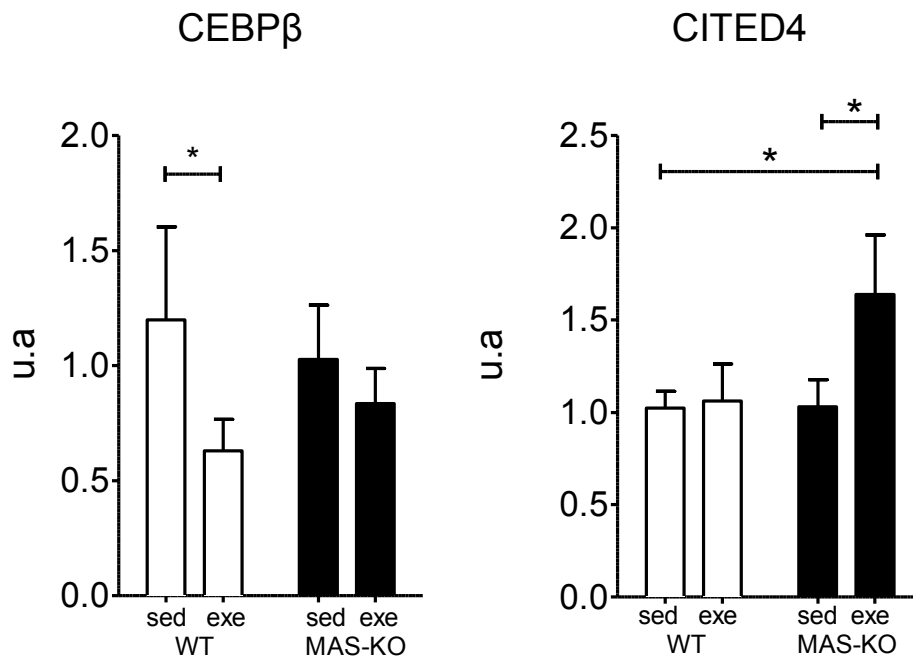


Gráfico 8. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes CEBPβ e CITED4. * $p \leq 0,05$.

Foi verificada maior expressão de ANP no ventrículo esquerdo no grupo MAS-KO sed, quando comparado ao WT sed ($p=0,05$), e BNP no grupo MAS-KO exe, quando comparado ao WT exe ($p=0,0007$) (Gráfico 9). Foi constatado aumento na expressão de MHC α ($p=0,06$) apenas no grupo WT exe (Gráfico 9).

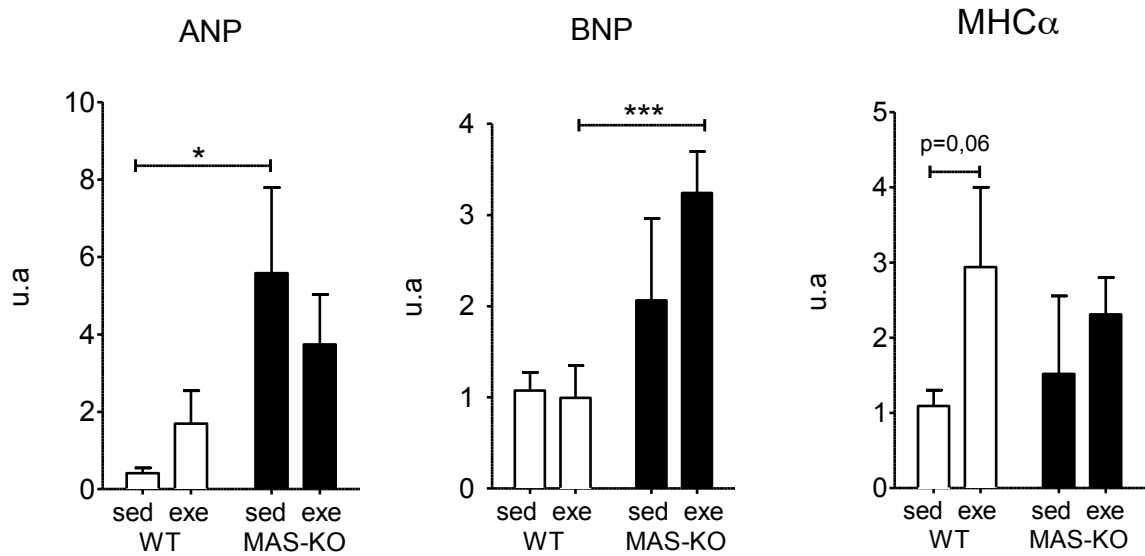


Gráfico 9. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes ANP, BNP e MHCα. * $p \leq 0,05$, *** $p \leq 0,001$.

Fibronectina apresentou-se reduzida apenas no grupo MAS-KO exe comparado ao MAS-KO sed ($p=0,05$) (Gráfico 10). Não foi observada mudança na expressão de colágenos I e III no ventrículo esquerdo dos grupos avaliados.

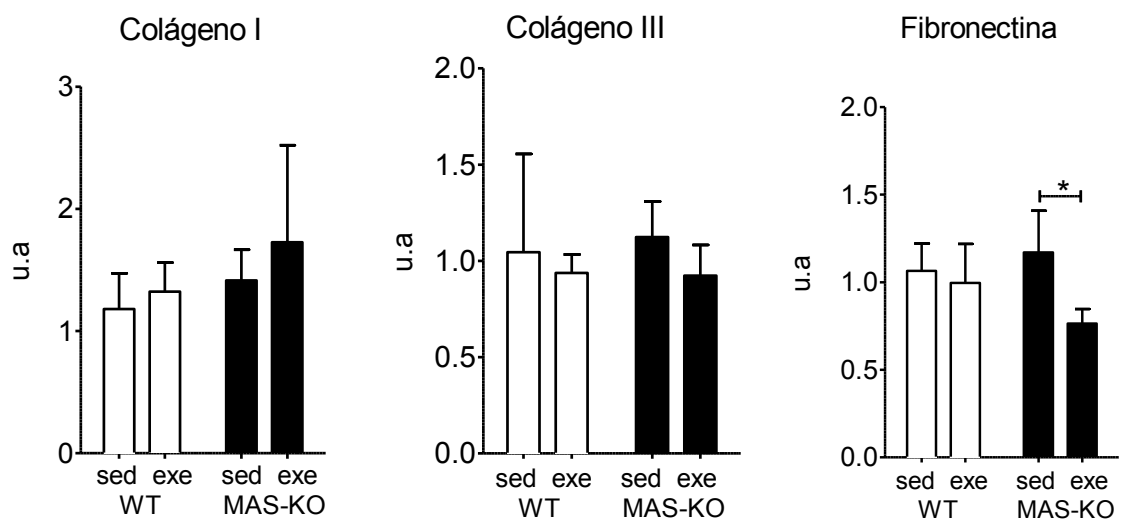


Gráfico 10. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes colágeno I, colágeno III e fibronectina. * $p \leq 0,05$.

Não foram verificadas diferenças significativas na expressão gênica no ventrículo esquerdo de TGF β e VEGF (Gráfico 11) e FoxO1 e FoxO3 (Gráfico 12) nos grupos estudados.

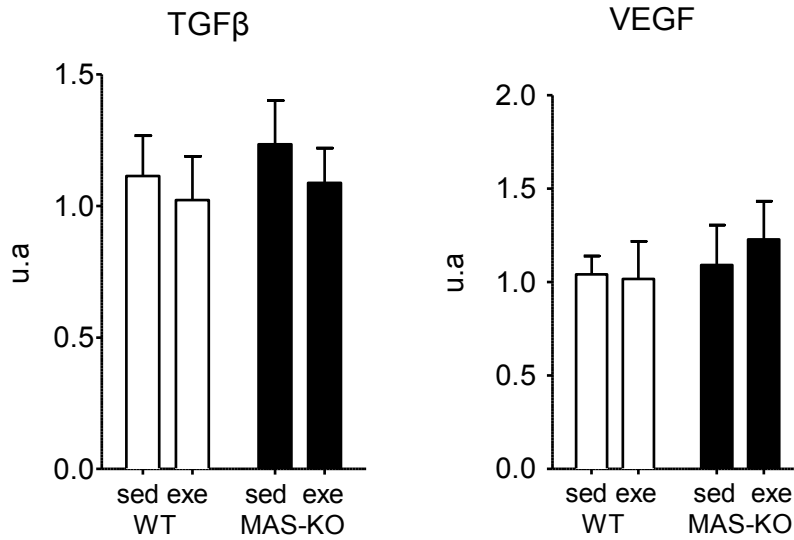


Gráfico 11. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes TGF β e VEGF.

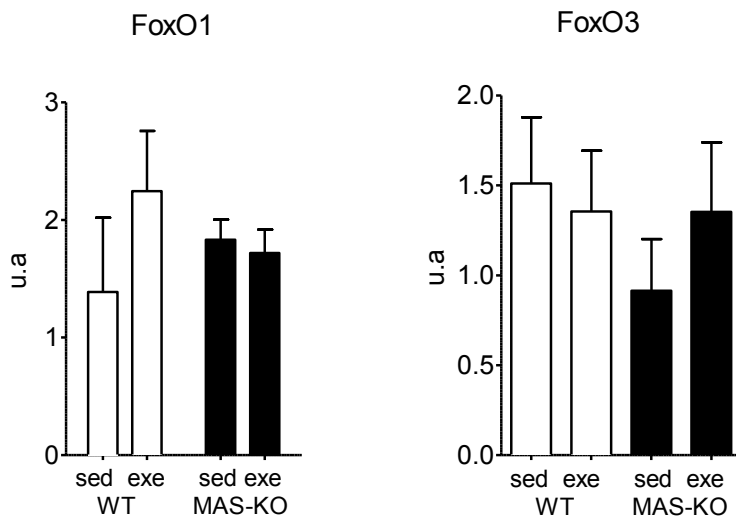


Gráfico 12. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes FoxO1 e FoxO3.

Descreveremos a seguir a expressão de genes no músculo esquelético e no tecido adiposo, que se relacionam a adaptações fisiológicas e patológicas.

A expressão de PGC1 α no gastrocnêmio foi significativamente menor no grupo MAS-KO exe, quando comparado ao MAS-KO sed (Gráfico 13). O mesmo foi observado para o gene FNDC5 (não significativo). A expressão de FNDC5 apresentou-se significativamente maior no grupo WT exe, quando comparado ao WT sed e também quando comparado ao MAS-KO exe ($p \leq 0,01$) (Gráfico 13).

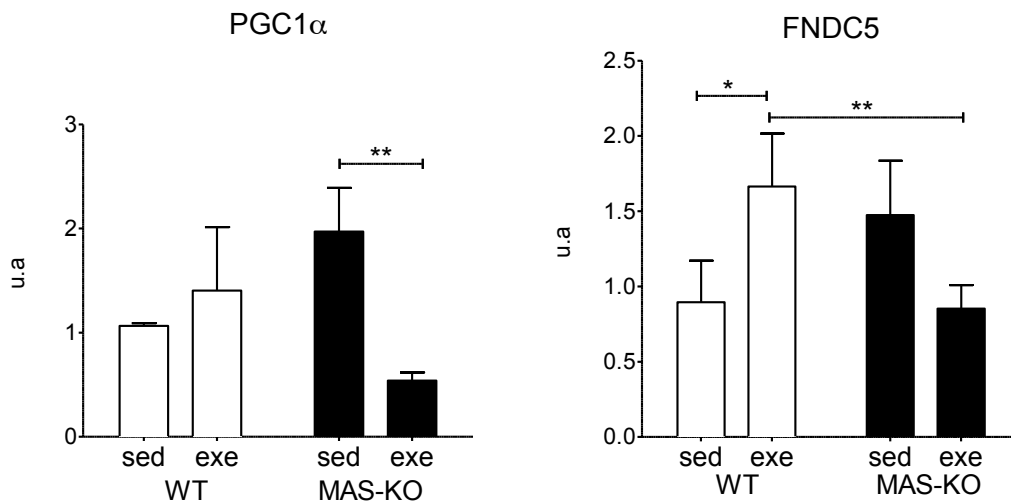


Gráfico 13. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes PGC1 α e FNDC5. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

No músculo sóleo, a expressão de PGC1 α apresentou-se reduzida no grupo MAS-KO (sed e exe), comparando-se ela à do WT sed e à do WT exe (Gráfico 14). Os níveis de expressão gênica de FNDC5 no grupo WT exe aumentaram significativamente quando comparados aos do grupo MAS-KO exe.

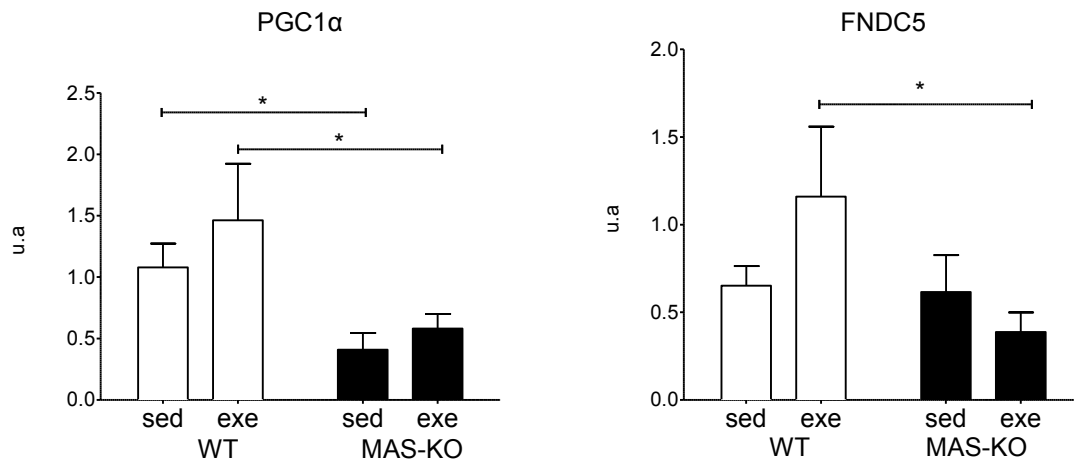


Gráfico 14. Níveis de expressão no músculo sóleo dos genes PGC1α e FNDC5. * $p \leq 0,05$.

Nenhuma alteração na expressão de fibronectina, colágeno III e VEGF foi verificada no músculo gastrocnêmio dos grupos estudados (Gráfico 15). O mesmo ocorreu para os genes FoxO1 e FoxO3 (Gráfico 16).

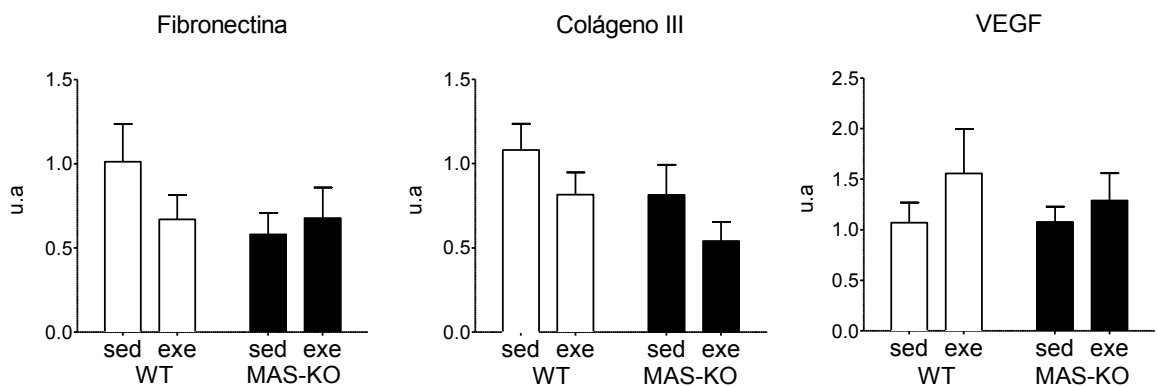


Gráfico 15. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes fibronectina, colágeno III e VEGF.

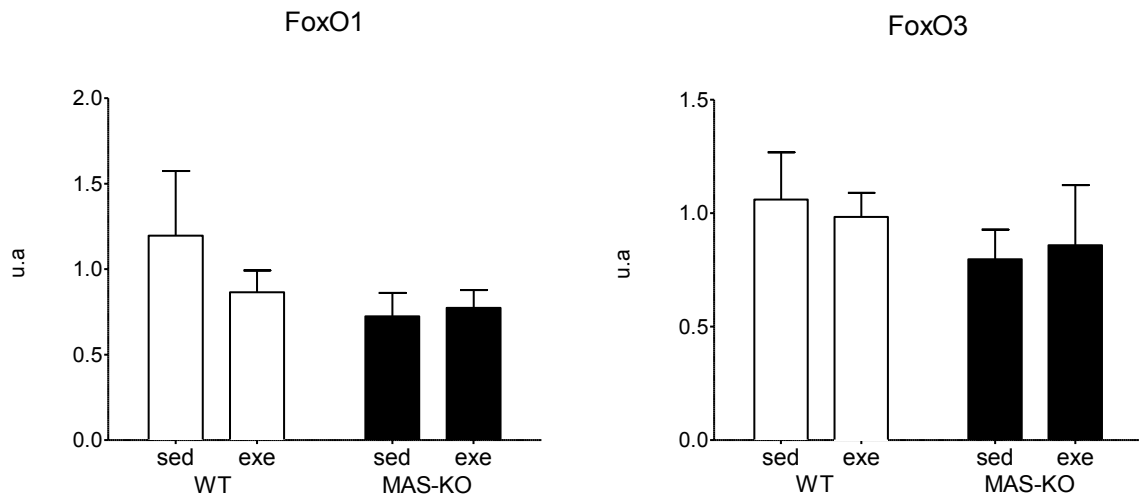


Gráfico 16. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes FoxO1 e FoxO3.

A expressão de UCP1 no tecido adiposo inguinal apresentou-se mais elevada no grupo WT exe, quando comparada à do grupo WT sed ($p=0,05$), e reduzida no grupo WT sed, se comparada à do MAS-KO sed ($p=0,08$) (Gráfico 17). No mesmo tecido, a expressão do FoxO1 se elevou no grupo MAS-KO exe e se reduziu no grupo WT exe ($p\leq 0,05$) (Gráfico 17).

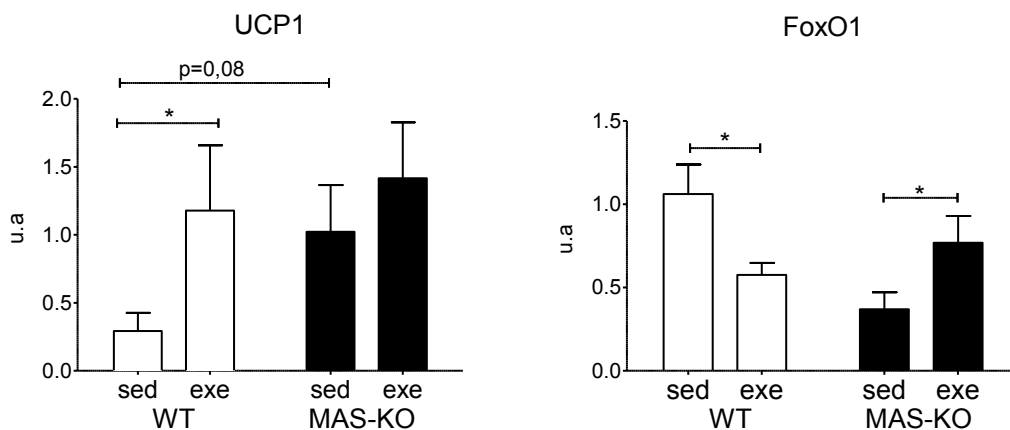


Gráfico 17. Níveis de expressão no tecido adiposo inguinal dos genes UCP1 e FoxO1. $*p\leq 0,05$.

5.7.2. Genes relacionados ao Sistema Renina-Angiotensina

Foram avaliadas a expressão de alguns genes relacionados ao SRA (receptores MAS, AT1 e AT2 e enzimas ECA e ECA2) em diversos tecidos: ventrículo esquerdo, músculo esquelético (gastrocnêmio e sóleo), tecido adiposo (epididimal).

A expressão do receptor MAS no ventrículo esquerdo dos animais WT exe apresentou-se ligeiramente elevada ($p=0,06$), quando comparada à do grupo WT sed (Gráfico 18). Não foi detectada expressão do receptor MAS no ventrículo esquerdo dos animais MAS-KO, conforme esperado.

Aumento na expressão do receptor AT1 no ventrículo esquerdo no grupo MAS-KO exe foi verificado quando esse é comparado ao grupo MAS-KO sed ($p \leq 0,001$), sem diferenças significativas para a expressão do receptor AT2 nos grupos estudados (Gráfico 18).

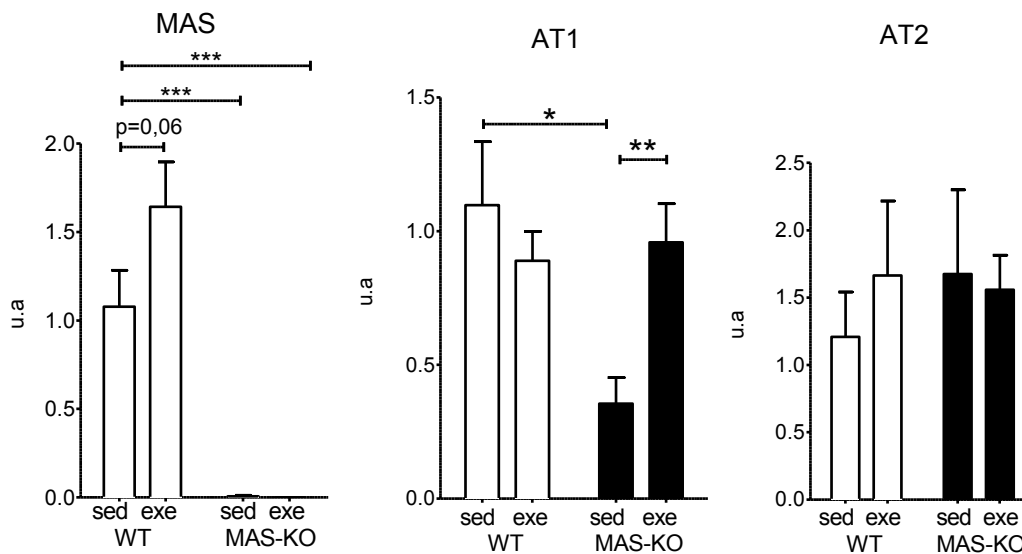


Gráfico 18. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes MAS, AT1 e AT2. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Não foi verificada diferença significativa entre os grupos para a expressão de ECA, porém uma menor expressão de ECA2 no ventrículo esquerdo foi observada no grupo MAS-KO sed. Quando avaliada a razão ECA/ECA2, constatou-se maior expressão dela no grupo MAS-KO sed, quando este é comparado ao grupo WT sed ($p=0,08$). O exercício físico promoveu redução da razão ECA/ECA2 em MAS-KO (Gráfico 19).

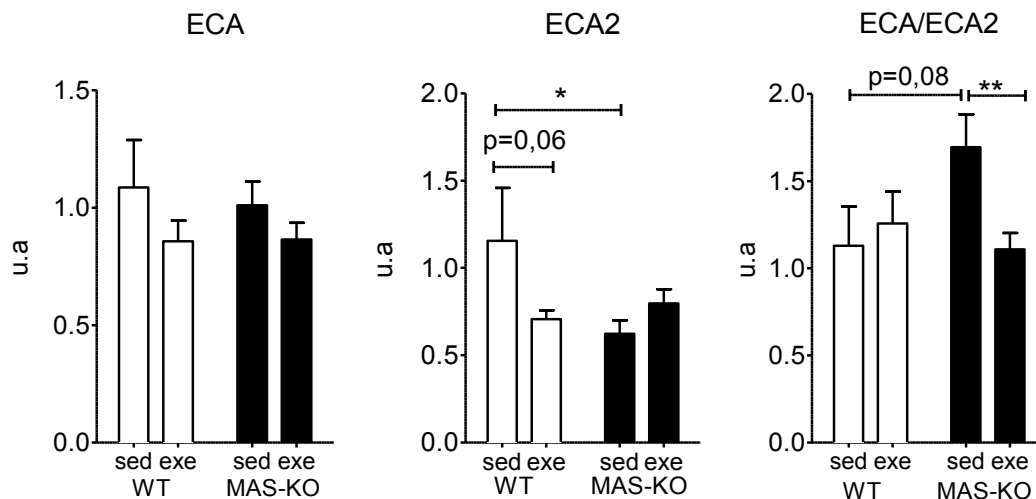


Gráfico 19. Níveis de expressão no ventrículo esquerdo dos genes ECA, ECA2 e a razão ECA/ECA2. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$.

Para os genes AT1 e AT2 no músculo gastrocnêmio, não foi observada nenhuma diferença entre os grupos. A expressão do receptor MAS não foi detectada no músculo gastrocnêmio dos animais MAS-KO (sed e exe) (Gráfico 20) e não se alterou em resposta ao treinamento.

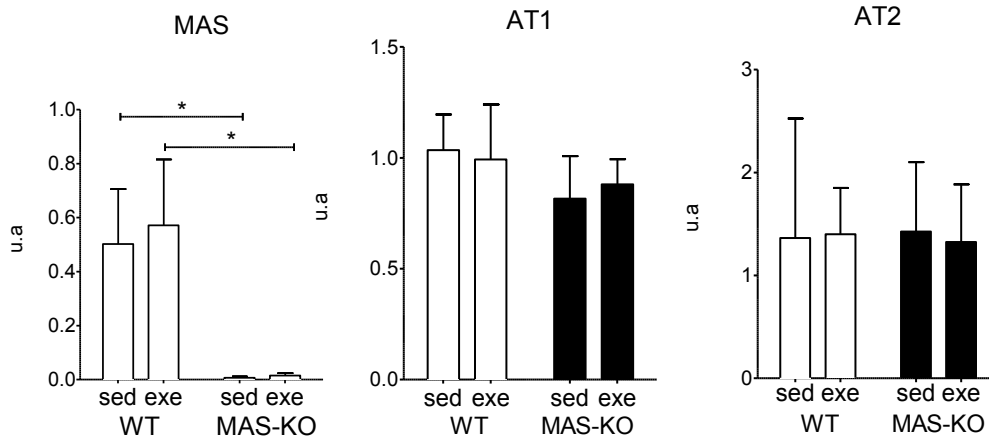


Gráfico 20. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes MAS, AT1 e AT2. $p \leq 0,05$.

A expressão de ECA no músculo gastrocnêmio apresentou-se significativamente aumentada nos grupos treinados (WT e MAS-KO), quando comparada à de seus respectivos grupos sedentários (Gráfico 21). O grupo WT exe apresentou menor expressão da ECA, quando comparado ao grupo MAS-KO exe ($p \leq 0,001$). Já a expressão de ECA2 nesse mesmo tecido apresentou redução no grupo MAS-KO exe, quando comparada à do MAS-KO sed. Devido ao aumento da ECA e à concomitante redução da ECA2, a razão ECA/ECA2 no grupo MAS-KO exe apresentou-se elevada, se comparada à de seu controle sedentário MAS-KO sed (Gráfico 21).

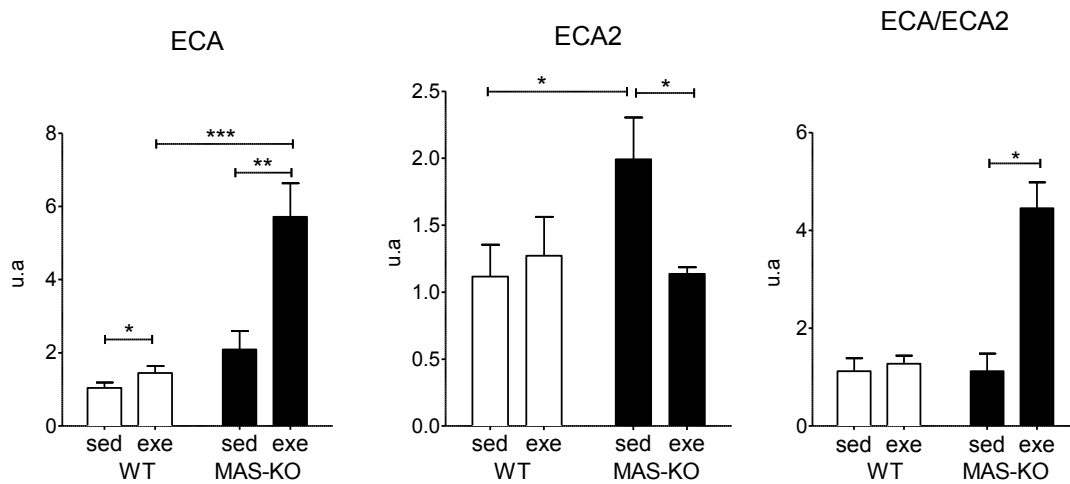


Gráfico 21. Níveis de expressão no músculo gastrocnêmio dos genes ECA, ECA2 e a razão ECA/ECA2. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

No músculo sóleo, verificou-se maior expressão da ECA2 no grupo WT (exe e sed), se comparado ao MAS-KO (exe e sed) (Gráfico 22). Nenhuma diferença entre os grupos (exe v.s. sed) ocorreu para a expressão do receptor MAS no sóleo. Nos animais MAS-KO, não foi observada, conforme esperado, expressão do receptor MAS no tecido muscular sóleo.

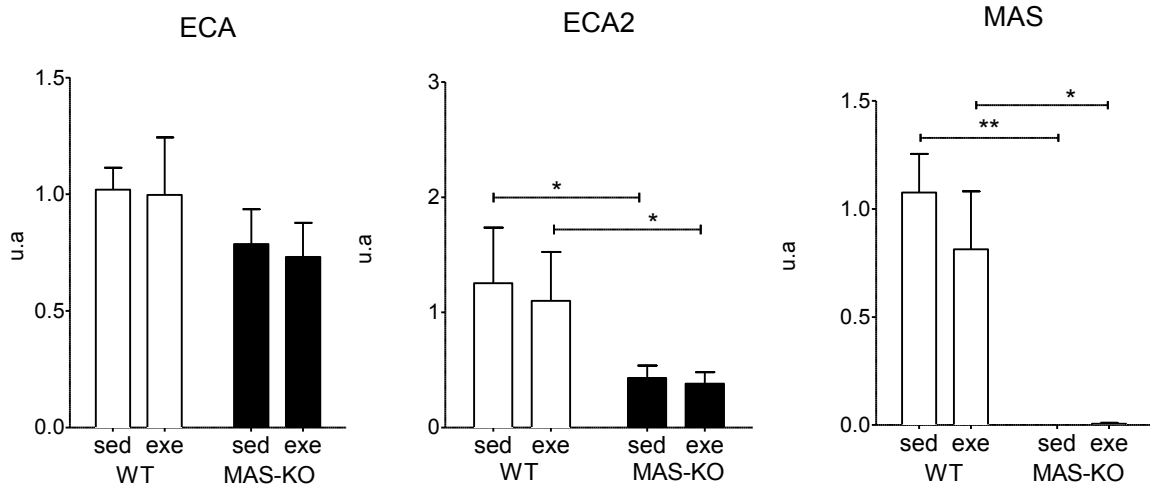


Gráfico 22. Níveis de expressão no músculo sóleo dos genes ECA, ECA2 e MAS. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$.

No tecido adiposo inguinal, foram analisadas a expressão da ECA e do receptor MAS. A expressão da ECA se mostrou mais elevada no grupo WT, tanto para o grupo sed quanto para o grupo exe, se comparados ao MAS-KO (Gráfico 23). A expressão do MAS apresentou-se reduzida no tecido adiposo inguinal do grupo WT exe, se comparada à do WT sed ($p \leq 0,05$). Não foi observada, conforme esperado, expressão do receptor MAS, nesse tecido, nos animais MAS-KO (sed e exe).

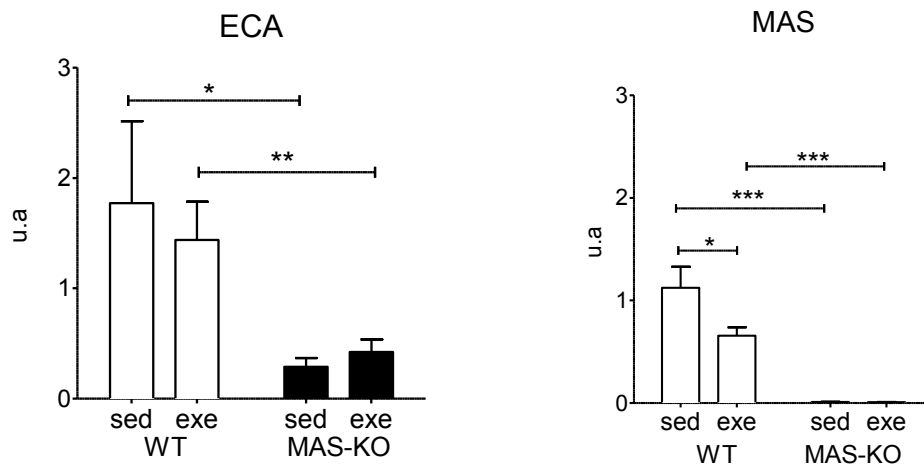


Gráfico 23. Níveis de expressão no tecido adiposo inguinal dos genes ECA e MAS. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

5.8. Deficiência do receptor MAS prejudica respostas de pressão arterial

5.8.1. Valores basais de pressão arterial

Ao todo, 23 animais foram utilizados para a verificação de respostas hemodinâmicas por telemetria. Desses animais, foram excluídos das análises: o grupo ECA2 (grupo sedentário $n=3$; grupo exercício voluntário $n=5$) devido ao fato de eles apresentarem *performance* inferior e não terem desenvolvido hipertrofia cardíaca (já comentado anteriormente, no item 5.3). Após a semana de aquisição dos dados basais, também foi necessário excluir os grupos WT sed ($n=3$) e MAS-KO sed ($n=3$), pois não foi possível recuperar os dados dos animais do grupo WT sed.

As pressões arteriais sistólica, diastólica e média foram avaliadas pelo período de três dias consecutivos, antes do início do treinamento (período para aquisição de valores basais). O grupo MAS-KO apresentou elevadas pressões arteriais sistólica e média, quando comparado ao grupo WT (PAS: $117,3 \pm 7$ vs.

110,2 ± 6,18mmHg; PAM: 105,5 ± 6,55 vs. 98,48 ± 7,65 mmHg para MAS-KO e WT, respectivamente). Não houve diferenças entre os valores de pressão arterial diastólica (95,11 ± 5,53 vs. 95,72 ± 4,67 mmHg para WT e MAS-KO) (Gráfico 24).

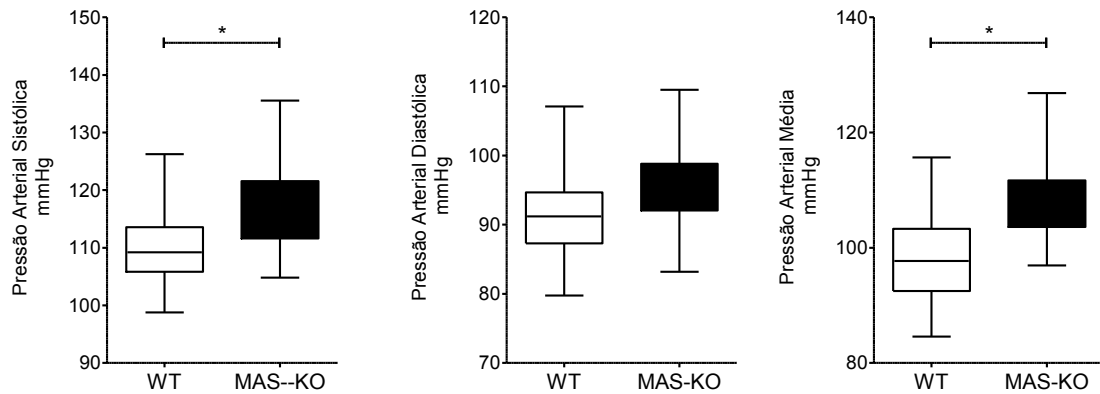


Gráfico 24. Valores basais de pressões arteriais sistólica, diastólica no grupo WT (n=7) e MAS-KO (n=8). Valores expressos em média, mínimo e máximo. * p≤0,05.

5.8.2. Valores de pressão arterial durante o treinamento voluntário

Os valores de pressão arterial (sistólica, diastólica e média) também foram analisados hora/hora no período de 24 horas na semana 1 e na semana 4 de treinamento.

Os valores obtidos de pressão arterial sistólica na semana 1 (análise de 24 horas) se mostraram mais significativamente elevados para o grupo MAS-KO (média da noite: 135,2 ± 5,72 mmHg; e média do dia: 119,6 ± 6,72 mmHg), se comparados aos do grupo WT (média da noite: 122,0 ± 6,69 mmHg; e média do dia: 104,7 ± 10,56 mmHg) (p< 0,05). O mesmo ocorreu na semana 4 (MAS-KO média da noite: 138,9 ± 3,22 mmHg; e média do dia: 123,7 ± 4,86 mmHg; WT média da noite: 117,6 ± 6,89 mmHg; e média do dia: 98,04 ± 9,5 mmHg) (p< 0,01). (Gráfico 25).

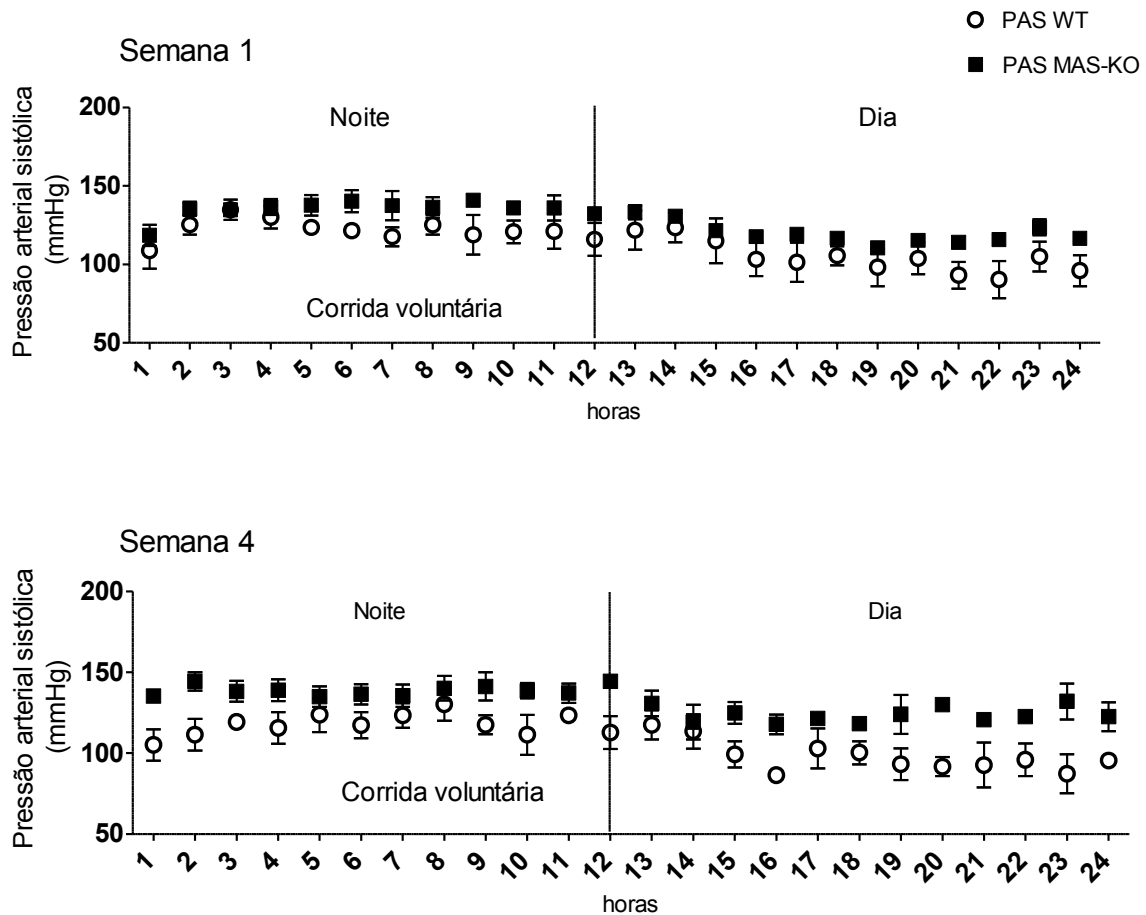


Gráfico 25. Respostas de pressão arterial sistólica (PAS) na semana 1 e na semana 4 durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média.

Para a pressão arterial diastólica, também foi observado aumento significativo maior no grupo MAS-KO, se comparado ao WT, semana 1 (período da noite: $111,9 \pm 4,66$ vs. $104,8 \pm 4,04$ mmHg; período do dia: $100,8 \pm 4,39$ vs. $93,16 \pm 6,99$ mmHg), semana 4 (período da noite: $125,5 \pm 3,24$ vs. $97,94 \pm 6,26$ mmHg; período do dia: $116,6 \pm 4,03$ vs. $88,67 \pm 7,05$ mmHg) (Gráfico 26).

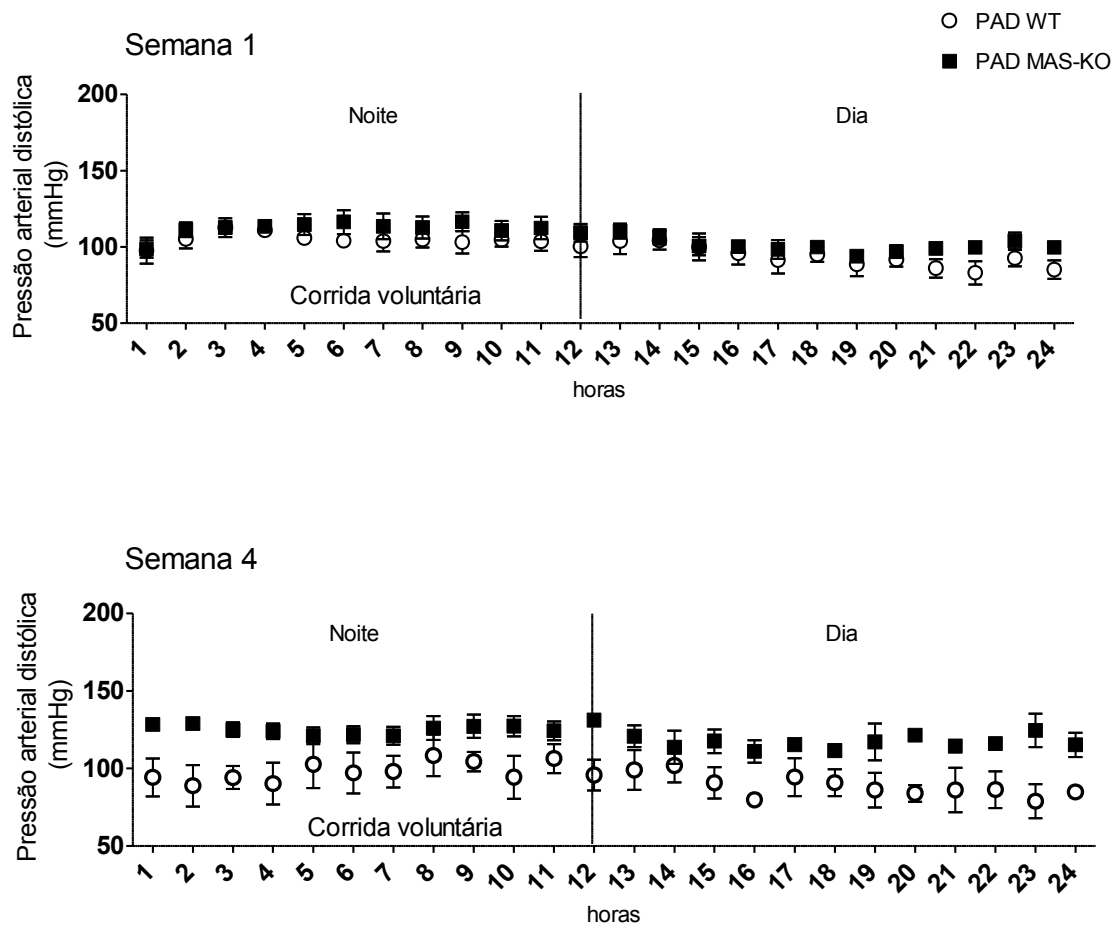


Gráfico 26. Respostas de pressão arterial diastólica (PAD) na semana 1 e na semana 4 durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média.

Por meio do gráfico 27, observamos, assim, como na PAS e na PAD, valores significativamente mais elevados para a PAM, nos grupos MAS-KO vs WT, tanto durante a semana 1 (noite: $121,7 \pm 5,02$ vs. $111,7 \pm 4,76$ mmHg; dia: $109,1 \pm 5,71$ vs. $98,37 \pm 7,83$ mmHg) ($p < 0,01$) quanto para a semana 4 (noite: $131,0 \pm 2,85$ vs. $106,1 \pm 5,75$ mmHg; dia: $119,5 \pm 4,2$ vs. $92,43 \pm 8,0$ mmHg) ($p < 0,001$).

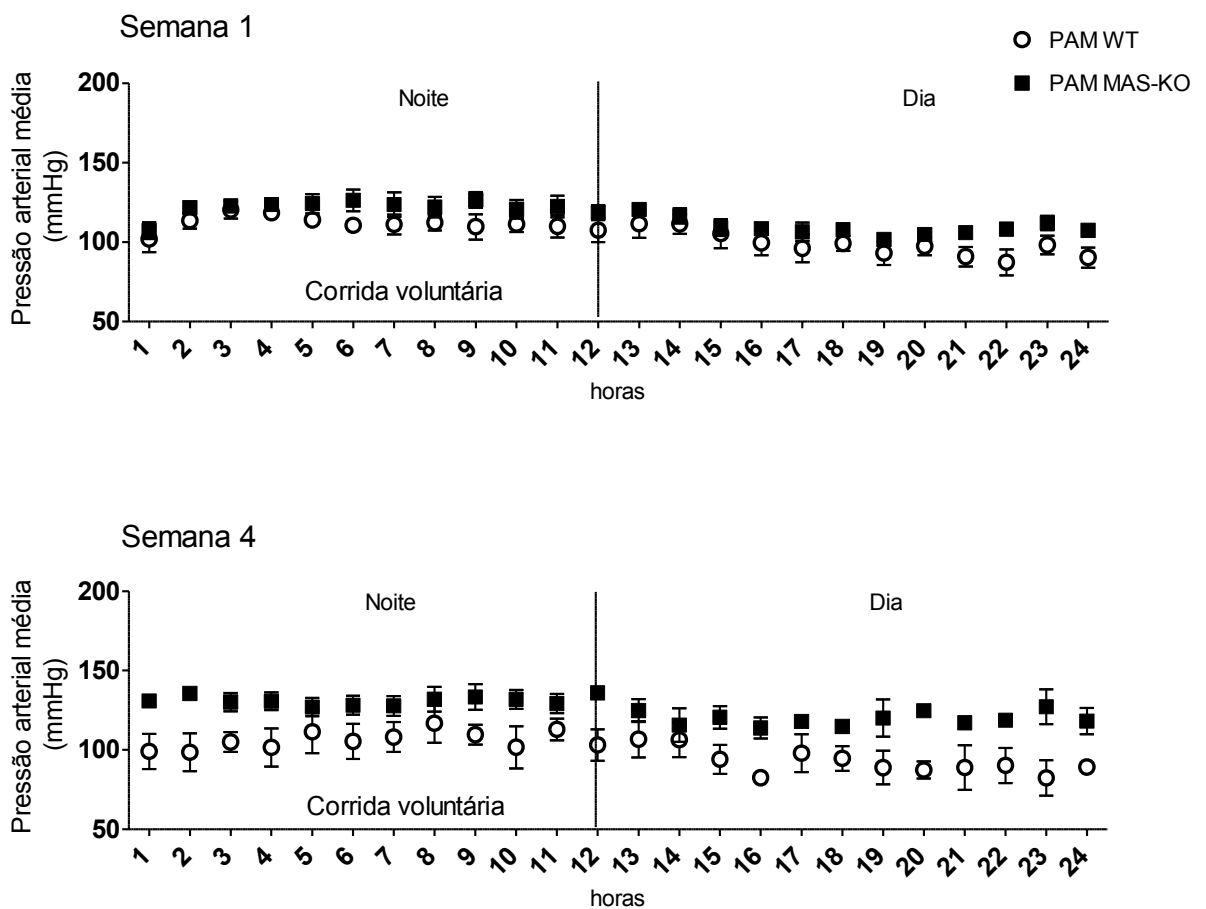


Gráfico 27. Respostas de pressão arterial média (PAM) na semana 1 e na semana 4 durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntária. Valores expressos em média e erro padrão da média.

Maior elevação da frequência cardíaca foi verificada no grupo MAS-KO quando comparado ao grupo WT, somente na semana 1 (noite: $580,4 \pm 29,50$ vs.

497,2 ± 16,09 bpm; dia: 528,6 ± 20,15 vs. 470,8 ± 18,27 bpm) ($p < 0,05$), sem diferenças na semana 4 (noite: 477,6 ± 24,76 vs. 479,5 ± 9,49 bpm; dia 418,7 ± 14,72 vs. 455,9 ± 18,02 bpm) (Gráfico 28).

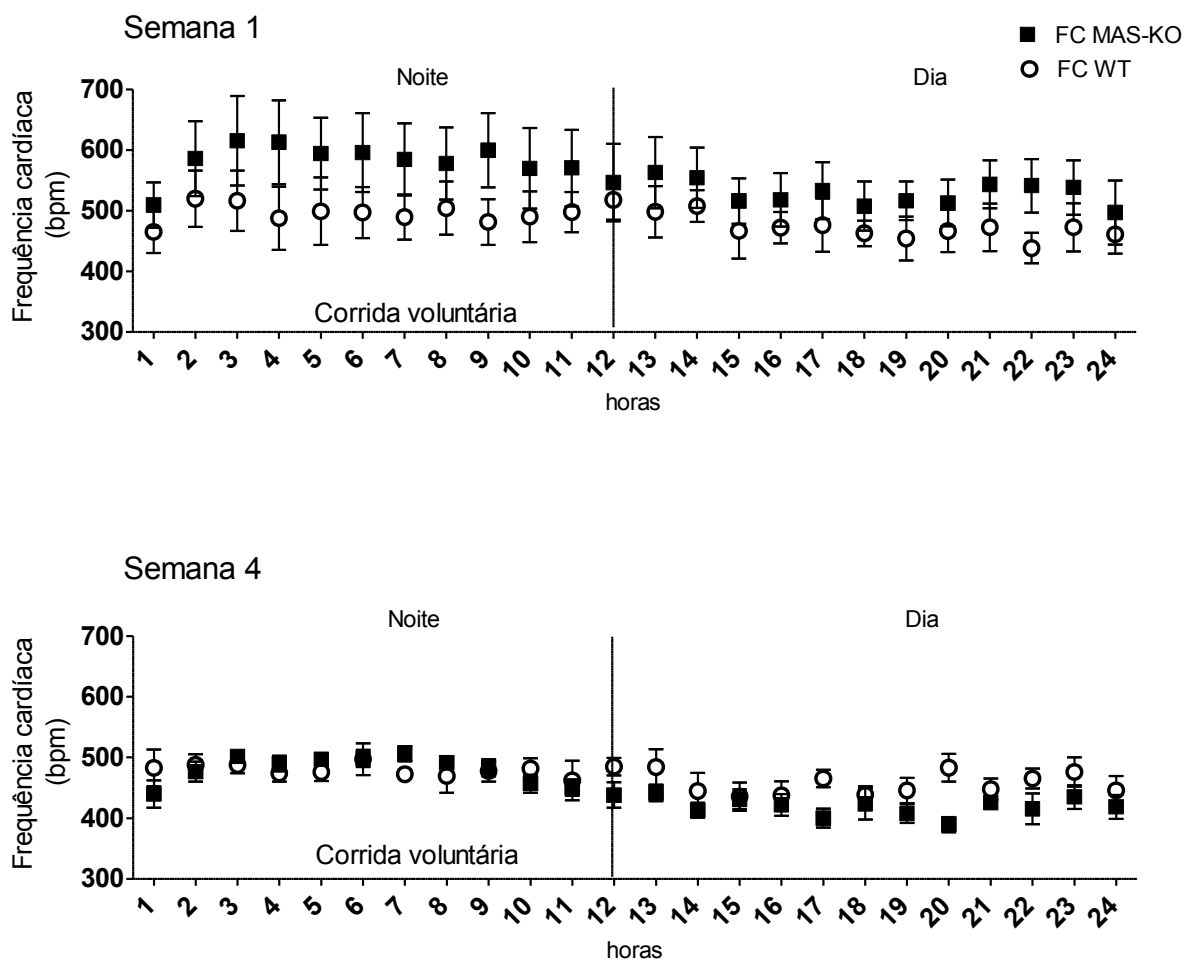


Gráfico 28. Respostas de frequência cardíaca (FC) após quatro semanas de treinamento de corrida voluntária durante 24 horas nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário. Valores expressos em média e erro padrão da média.

5.8.3. Valores de pressão arterial após treinamento voluntário

Valores de pressão arterial (sistólica, diastólica e média), frequência cardíaca, atividade locomotora e frequência respiratória foram analisados após quatro semanas de treinamento voluntário (Tabela 6). Os animais treinaram pelo período de seis semanas, porém o sinal obtido pela telemetria não se manteve após a 5ª semana. As análises foram divididas por períodos: Noite (N), ou seja, durante a corrida voluntária, Dia (D) e soma dos dois períodos, Noite + Dia (N+D).

O grupo MAS-KO apresentou valores mais elevados para PAS, PAD e PAM em todos os períodos avaliados (Tabela 6). A frequência cardíaca apresentou-se mais elevada para MAS-KO no período D e D + N. Não foram observadas diferenças na atividade locomotora, e a frequência respiratória do grupo MAS-KO foi menor em todos os períodos avaliados.

Tabela 6. Valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, pressão arterial média, frequência cardíaca, atividade locomotora e frequência respiratória após quatro semanas de treinamento.

APOS 4 SEMANAS			
		WT exe	MAS-KO exe
PAS (mmHg)	N****	117,6 ± 1,99	138,9 ± 0,93
	D****	98,04 ± 2,75	123,7 ± 1,40
	N + D****	107,9 ± 2,42	132,5 ± 1,86
PAD (mmHg)	N****	97,94 ± 1,80	125,5 ± 0,93
	D****	88,67 ± 2,04	116,6 ± 1,16
	N + D****	93,23 ± 1,53	122,2 ± 1,35
PAM (mmHg)	N****	106,1 ± 1,66	131,0 ± 0,82
	D****	92,43 ± 2,31	119,5 ± 1,21
	N + D****	99,27 ± 1,83	126,4 ± 1,53
FC (bpm)	N	479,5 ± 2,74	477,6 ± 7,14
	D***	455,9 ± 5,20	418,7 ± 4,25
	N + D*	469,3 ± 3,67	449,2 ± 6,97
Atividade Locomotora	N	50,27 ± 5,98	61,38 ± 7,76
	D	4,45 ± 1,33	2,22 ± 0,26
	N + D	29,59 ± 5,46	32,27 ± 6,73
Frequência respiratória	N*	159,0 ± 3,91	147,9 ± 3,69
	D****	163,8 ± 2,45	147,4 ± 1,09
	N + D****	161,8 ± 2,17	147,7 ± 1,73

N: período da noite, D: período do dia, N + D= período da noite e do dia. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica, PAM: pressão arterial média, FC: frequência cardíaca. * p≤0,05; ** p≤0,01; ***p≤0,001; ****p≤0,0001 comparando WT (n=4) vs MAS-KO (n=5).

Foram avaliados além dos valores absolutos de pressão arterial, os valores em variação. Esses valores foram obtidos através da redução do valor na semana 4 pelo valor da semana 1. Dessa forma, foi possível verificar se o exercício voluntário foi capaz de reduzir a pressão arterial. Conforme se observa no gráfico 29, o exercício físico foi capaz de reduzir a pressão arterial apenas no grupo WT (PAS: $-6,9 \pm 9,8$ mmHg; PAD: $-3,45 \pm 11,7$ mmHg, PAM: $-6,07 \pm 10,77$ mmHg). No grupo MAS-KO (PAS: $+13,69 \pm 7,24$ mmHg; PAD: $+21,07 \pm 10,16$ mmHg, PAM: $+16,45 \pm 8,41$ mmHg), ela aumentou. Entretanto, ambos os grupos apresentaram redução da frequência cardíaca ($-50,41 \pm 27,01$ vs $48,12 \pm 21,84$ bpm para WT e MAS-KO).

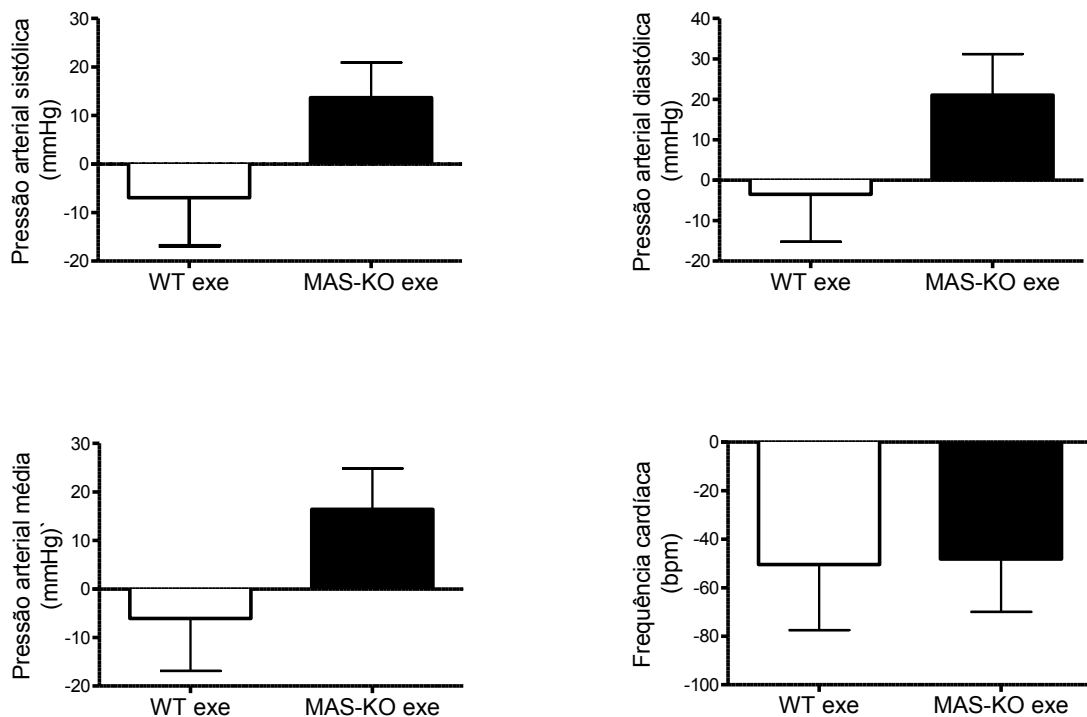


Gráfico 29. Valores em delta (semana 4 vs. pré-exercício) para pressões arteriais sistólica, diastólica e média e frequência cardíaca nos grupos WT (n=4) e MAS-KO (n=5), submetidos ao treinamento de corrida voluntário.

6. DISCUSSÃO

Os principais achados deste estudo foram que a deleção do receptor MAS foi capaz de afetar a resposta fisiológica no coração (CEBP β), no músculo (FNDC5) e no tecido adiposo (UCP1), além de induzir a expressão de genes que são expressos em condições patológicas (ANP e BNP). Essa deleção altera também a expressão de genes do SRA, uma vez que os camundongos MAS-KO, quando submetidos ao treinamento, apresentaram aumento de AT1 no coração, ECA no gastrocnêmio e menor expressão de ECA2 no sóleo. O MAS está, ainda, relacionado a respostas hemodinâmicas, uma vez que os camundongos nocautes para esse receptor apresentaram um aumento da pressão arterial quando treinados por quatro semanas de corrida voluntária.

A deficiência do eixo ECA2/ANG-1-7/MAS altera respostas cardíacas e musculares promovidas pelo exercício voluntário. Animais com deleção gênica da ECA2 possuem desempenho físico reduzido e não apresentam hipertrofia cardíaca fisiológica, observada nos outros grupos treinados, WT e MAS-KO. A diminuição do desempenho em roda de corrida voluntária já foi observada em roedores pós-infarto (Schäfer et al., 2006). Em modelo de camundongos com cardiomiopatia dilatada, essa diminuição associa-se com o desenvolvimento de insuficiência cardíaca severa (Sugihara et al., 2013). Dessa forma, o menor desempenho dos animais ECA2-KO pode estar associado a disfunções cardíacas já constatadas nesses animais (Crackower et al., 2002).

Não existem relatos, na literatura, de estudos que avaliaram o efeito da deleção da expressão de ECA2 no desempenho físico. Porém, recente trabalho avaliou o desempenho de camundongos ECA2-KO submetidos a teste máximo em esteira após tratamento com bleomicina (Rey-Parra et al., 2012). A bleomicina é um modelo utilizado em camundongos para síndrome do desconforto respiratório agudo. A deleção do gene da ECA2 agrava a injúria pulmonar induzida por bleomicina. O teste máximo em esteira nos animais WT e ECA2-KO tratados com bleomicina mostrou que ambos os grupos apresentaram redução na capacidade de exercício, porém o grupo ECA2-KO apresentou uma redução ainda maior quando comparado ao WT. Esse resultado indica que a deleção do gene da ECA2 agrava a injúria pulmonar nesse modelo. Por outro lado, o tratamento com ECA2Rh (enzima conversora de angiotensina 2 recombinante humana) restabelece a *performance*. Não foi avaliado, neste estudo, o desempenho físico do ECA2-KO sem tratamento com a bleomicina.

O exercício físico voluntário já foi comprovado ser capaz de induzir neurogênese (van Praag et al., 1999), sendo esse efeito regulado em parte pela serotonina (Klempin et al., 2013). O menor desempenho físico no grupo ECA2-KO constatado em nosso estudo não era esperado e pode estar relacionado também com a deficiência de serotonina já verificada nesses camundongos (Alenina et al., dados não publicados). Não foi observada neurogênese hipocampal induzida pelo exercício voluntário nesses animais (Alenina et al., dados não publicados). Tais evidências indicam que a deficiência de ECA2 prejudica efeitos fisiológicos promovidos pelo exercício físico, por mecanismos que podem não estar diretamente relacionados ao Sistema Renina-Angiotensina.

O grupo ECA2-KO também não apresentou hipertrofia cardíaca, fato esse que pode ter sido consequência do menor volume de treinamento físico, sendo considerado fator limitante para a análise mais detalhada dos dados. Não podemos afirmar que não ocorreu hipertrofia cardíaca fisiológica por causa da baixa intensidade do exercício ou se foi devido a uma ausência de resposta fisiológica. Sendo assim, optamos por retirar esse grupo das análises posteriores na escrita da tese, apesar de que todos os experimentos foram realizados nos seis grupos (WTsed, WTexe, ECA2-KOsed, ECA2-KOexe, MAS-KOsed, MAS-KO exe).

A hipertrofia cardíaca pode ocorrer de formas distintas, sendo fisiológica, quando resultado de treinamento físico (Allen et al., 2001), e patológica, se associada à disfunção contrátil e à insuficiência cardíaca (van Berlo et al., 2013). No presente estudo, foi verificado o aumento da massa ventricular cardíaca em ambos os grupos treinados, WT e MAS-KO (Gráfico 3), porém alguns fatores devem ser avaliados antes de se afirmar que a hipertrofia ocorrida em ambos os grupos foi fisiológica.

Diversos fatores regulam a hipertrofia cardíaca, sendo o CEBP β e o CITED4 alguns dos responsáveis pelo remodelamento fisiológico promovido pelo treinamento (Ellison et al., 2012; Trivedi and Epstein, 2011). Estudo recente indica que tais genes são indispensáveis para promover a proliferação de cardiomiócitos (Boström et al., 2010). O treinamento causaria uma redução na expressão de CEBP β , induzindo a hipertrofia e a hiperplasia de células cardíacas via aumento de CITED4. A redução genética de CEBP β “*in vivo*” resulta em fenótipo de coração exercitado, e o silenciamento desse gene induz ao aumento de MHC α , Tnl and TnT (Troponina I e Troponina T) (Boström et al., 2010).

Com base no exposto acima, para avaliar os efeitos fisiológicos do treinamento, utilizamos como marcadores de adaptações cardíacas a expressão gênica de CEBP β e CITED4 no ventrículo esquerdo. Como esperado, foi observada redução do CEBP β do grupo WT treinado, se comparado ao grupo WT sedentário. Em contraste, não ocorreu nenhuma alteração na expressão desse gene no grupo MAS-KO. O grupo WT treinado também apresentou aumento na expressão de MHC α nesse mesmo tecido, se comparado ao WT sedentário. O aumento na expressão de MHC α é esperado após treinamento (Iemitsu et al., 2001; Rocha et al., 2012). Por outro lado, essa alteração não foi verificada no grupo MAS-KO (Gráfico 8). Já, para o CITED4, apenas o grupo MAS-KO ex apresentou aumento, quando comparado ao grupo MAS-KO sed. Os efeitos fisiológicos do CITED4 ainda são pouco conhecidos, porém sabe-se que está relacionado também ao desenvolvimento de câncer de mama (Fox et al., 2004), sendo pouco avaliado seu papel sobre o sistema cardiovascular.

A deleção do receptor MAS demonstrou afetar também a expressão de genes relacionados a adaptações patológicas cardíacas em resposta a estímulo fisiológico. No presente estudo, os animais MAS-KO, quando treinados, apresentaram no VE maior expressão de BNP, quando comparados ao grupo WT treinado. Além disso, os animais MAS-KO sedentários apresentam aumento de ANP no VE em relação ao WT sed. O aumento nos níveis de expressão gênica de peptídeos natriuréticos (tanto ANP quanto BNP) é marcador de aumento do tamanho de cardiomiócitos submetidos a estímulo hipertrófico patológico (Rosenkranz et al., 2003). O ANP e o BNP são considerados importantes marcadores de estresse cardíaco (Maisel, 2001). Em geral, a expressão de RNAm de ANP e BNP aumenta em corações “doentes” em que a *performance* ventricular está deprimida ou em

casos de insuficiência cardíaca, com ou sem hipertrofia (Dorn et al., 2003). O treinamento físico já foi demonstrado ser capaz de promover efeitos favoráveis em peptídeos natriuréticos (Smart and Steele, 2010). Dessa forma, o receptor MAS parece desempenhar papel determinante na regulação desses peptídeos em resposta a estímulo fisiológico.

Esses resultados corroboram os dados de Guimarães et al. (2012), que sugerem que a deficiência do receptor MAS prejudica alterações fisiológicas promovidas pelo treinamento físico aeróbio de natação. A deleção do MAS em camundongos FVBN altera o equilíbrio do Sistema Renina-Angiotensina, ativando o eixo constritor (Ang II/AT1) e aumentando a deposição de proteínas da matriz extracelular no coração após seis semanas de treinamento (Guimarães et al., 2012). Apesar de, em nosso estudo, os camundongos MAS-KO serem de outra linhagem (C57Bl6), eles também apresentaram resposta inadequada ao treinamento, com aumento na razão AngII/AngI plasmática, enquanto que o WT apresentou redução. Não foram detectadas alterações nos níveis de angiotensina-(1-7) no presente estudo. As dosagens de angiotensinas plasmáticas apresentaram algumas limitações devido à necessidade de se fazer um “pool” de amostras de plasma de três animais, para se obter o volume necessário. Outros fatores que podem ter interferido nesses resultados seriam a sensibilidade do ensaio, o limite de detecção e a recuperação dos peptídeos.

A redução da ativação do eixo constritor do SRA tem sido apontada como importante efeito do exercício físico crônico (Endlich et al., 2013; Petriz et al., 2013; Rush and Aultman, 2008). A angiotensina II, atualmente, é o principal peptídeo do sistema capaz de promover efeitos danosos ao sistema cardiovascular via receptor AT1 (Sadoshima and Izumo, 1993; Schieffer et al., 1994; Sutton and Sharpe, 2000).

A inibição da ação da AngII, por meio de inibidores de ECA ou bloqueadores de AT1, tem demonstrado ser efetiva na melhora da capacidade física de pacientes cardiopatas (Guazzi et al., 1999; Hamroff et al., 1999; Riegger et al., 1999; Terziotti et al., 2001).

Alguns fatores que poderiam mediar o remodelamento patológico são a deposição de colágeno (Kim et al., 2000; Thomas et al., 1998; Whittaker et al., 1991) e o aumento da expressão de TGF β (Bujak and Frangogiannis, 2007). Em nosso estudo, não foram verificadas diferenças entre os grupos na expressão, no VE, de colágeno I, colágeno III, TGF β . Já a expressão de fibronectina no grupo MAS-KO exibe apresentou-se redução, em relação ao MAS-KO sed ($p \leq 0,05$). A expressão de marcadores de fibrose em ratos que realizaram treinamento intenso de corrida por 16 semanas, com indução de hipertrofia ventricular esquerda, sugere que o bloqueio do receptor AT1 previne a indução de fibrose pelo exercício (Gay-Jordi et al., 2013). O exercício, dependendo de sua intensidade e de seu volume, é capaz de aumentar a expressão de genes de proteínas da matriz extracelular, porém nosso modelo não foi capaz de induzir esse efeito, exceto em animais MAS-KO, em que foi verificado efeito oposto. O papel da fibronectina na hipertrofia cardíaca ainda não é compreendido. Evidências recentes, porém, apontam que a deleção genética de fibronectina não afeta a hipertrofia cardíaca produzida pelo exercício voluntário, sendo dispensável para o crescimento fisiológico do coração (Konstandin et al., 2013). O fato de a fibronectina contribuir para a hipertrofia cardíaca patológica, não sendo afetada pela fisiológica, pode explicar a redução da expressão gênica dessa proteína apenas nos animais MAS-KO, considerando-os como condição patológica. No entanto, a determinação da expressão proteica ou imuno-histoquímica é necessária para confirmar essa observação, uma vez que estudos prévios

demonstraram, por meio de imuno-histoquímica, que animais MAS-KO possuem aumento de colágenos I e III e de fibronectina no VE (Santos et al., 2006) e VD (Gava et al., 2012).

O efeito do exercício combinado com o uso de esteroides anabólicos (EA) sobre o SRA e os marcadores de hipertrofia patológica como colágeno III já foram avaliados em ratos (Rocha et al., 2007). Os resultados apontaram que o treinamento com dez semanas de natação, associado ao uso de EA, exacerba a hipertrofia cardíaca, e esse efeito é mediado pelo SRA, com aumento da expressão gênica do receptor AT1. Nesse estudo, não foram verificadas diferenças na expressão gênica de colágenos III e I em resposta ao treinamento aeróbio crônico sem uso de EA. Tais resultados, apesar de terem sido obtidos em diferentes modelos de exercício, estão de acordo com os resultados de nosso estudo, que não verificou alteração na expressão desse marcador em nenhum dos grupos avaliados.

No coração, o PGC1 α exerce papel cardioprotetor, e estudos sugerem que a sua diminuição contribui significativamente para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca (Arany et al., 2006). No tecido adiposo, está associada com resistência a insulina (Hammarstedt et al., 2003). No músculo esquelético, relaciona-se a angiogênese (Chinsomboon et al., 2009) e tem sido apontado como o mais importante regulador de biogênese mitocondrial, melhorando a capacidade oxidativa muscular (Lagouge et al., 2006; Wu et al., 2002). No presente estudo, foi avaliada a expressão de PGC1 α no músculo esquelético, porém não observamos aumentos significativos nos músculos gastrocnêmio e sóleo dos animais WT treinados. Essa resposta pode ter sido influenciada pelo tempo de sacrifício dos animais, uma vez que a roda de corrida voluntária foi retirada 48 horas antes dos exames de ecocardiografia e ressonância magnética, para avaliação da composição corporal. O

sacrifício dos animais ocorreu 24 horas após essas avaliações, ou seja, 72 horas após a última sessão do exercício. Uma única sessão de exercício é capaz de aumentar as expressões gênica e proteica de PGC1 α , sendo o pico em torno de 12 a 16 horas (Baar et al., 2002). A determinação do tempo de sacrifício dos animais se justifica devido ao fato de o objetivo do nosso estudo ter sido avaliar os efeitos crônicos, e não agudos, do exercício aeróbio. Ainda assim, efeito contraditório foi verificado com a redução na expressão gênica no músculo gastrocnêmio de PGC1 α no grupo MAS-KO, que foi submetido ao treinamento, resposta oposta à esperada. E mais: os animais MAS-KO, tanto sedentários quanto treinados, apresentam redução na expressão desse gene no músculo sóleo.

Assim como foi observado com a expressão do gene PGC1 α , as expressões de FNDC5 nos músculos gastrocnêmio e sóleo dos animais MAS-KO treinados apresentaram-se reduzidas. O PGC1 α induz a liberação de FNDC5, precursor da irisina, que seria responsável pelos principais efeitos benéficos do exercício físico sobre o metabolismo (Enerbäck, 2013; Luo and Zhang, 2013; Pekkala et al., 2013). A principal ação da irisina é a estimulação da produção de tecido adiposo marrom a partir de tecido adiposo branco, provocada pelo exercício físico (Kelly, 2012). Após clivagem do FNDC5, a irisina é liberada na circulação sanguínea, aumentando a termogênese (Boström et al., 2012). A expressão do PGC1 α nem sempre acompanha a de FNDC5, o que indica que outros fatores podem regular a expressão de FNDC5 (Pekkala et al., 2013). Isso explicaria, em parte, o aumento de FNDC5 sem aumento do PGC1 α no músculo gastrocnêmio do grupo WT em no presente estudo. Além disso, o FNDC5 no músculo esquelético relaciona-se à capacidade aeróbia em pacientes com insuficiência cardíaca (Lecker et al., 2012). Dessa forma, a resposta oposta de animais MAS-KO em reduzir os níveis de expressão de

FNDC5, enquanto os WT aumentam, sugerem que esse receptor desempenha importante papel na regulação de tal resposta induzida por estímulo fisiológico.

Dentre as principais adaptações metabólicas induzidas pelo exercício, estão a melhora da composição corporal, por meio da redução do percentual de gordura e do aumento da massa muscular, e o desenvolvimento de gordura marrom (“browning”), o que eleva a taxa metabólica basal via aumento da expressão de UCP1 (Boström et al., 2012). No tecido adiposo inguinal, analisamos a resposta de expressão de UCP1, uma vez que essa proteína é ativada com treinamento físico, assim como outras proteínas homólogas, a UCP2 e a UCP3, que estão expressas em múltiplos tecidos, incluindo o músculo esquelético (Ledesma et al., 2002; Margareto et al., 2001). Optamos por avaliar o tecido adiposo inguinal por ser ele um tecido misto, contendo tanto tecido adiposo branco quanto marrom (Enerbäck, 2013; Fromme and Klingenspor, 2011). Conforme esperado, o treinamento físico induziu um aumento na expressão de UCP1 no tecido adiposo inguinal em WT. Em contraste, o grupo MAS-KO não apresentou aumento na expressão de UCP1 em resposta ao treinamento físico. Por outro lado, esses animais já apresentam um aumento nos níveis de expressão gênica dessa proteína no estado basal (Gráfico 16). A maior expressão de UCP1 no grupo MAS-KO pode estar relacionada ao aumento da ativação simpática (Walther et al., 2000), já observada nesses animais.

No presente estudo, em relação às respostas de expressão do receptor MAS, ocorreram aumento no VE em resposta ao treinamento ($p=0,06$), nenhuma alteração nos músculos gastrocnêmio e sóleo e redução no tecido adiposo inguinal nos animais WT. O aumento na expressão do MAS no VE pós-treinamento já foi verificado em outros modelos de exercício (Fernandes et al., 2011; Filho et al., 2008). Não foram verificadas alterações significativas na expressão gênica de AT2

em nenhum dos tecidos avaliados. Já o receptor AT1 no coração apresentou baixa expressão no MAS-KO sed, quando este é comparado ao WT sed. O treinamento de corrida voluntária aumentou a expressão desse receptor no VE no grupo MAS-KO, sem alteração para o grupo WT. Foram observadas, ainda, um aumento ($p=0,08$) da razão ECA/ECA2 e menor expressão de ECA2 ($p=0.05$) no VE do MAS-KO sed, em relação ao WT sed.

Os componentes do SRA estão presentes em diversos tecidos, incluindo o músculo esquelético (Jones and Woods, 2003; Mitin et al., 2001) e o tecido adiposo (Cassis et al., 2008; Engeli et al., 2000; Iwai and Horiuchi, 2009), e estão mais expressos em obesos, se comparados a magros (Boscaro et al., 2012; Grant et al., 2013), podendo, inclusive, serem ativados por dieta hiperlipídica (de Pinho et al., 2013). Foi observado aumento na expressão de ECA no músculo gastrocnêmio em ambos os grupos treinados (MAS-KO e WT) no presente estudo, porém o aumento nos animais MAS-KO foi cerca de quatro vezes maior que o registrado nos animais WT. Nesse músculo, também foi observada redução na expressão de ECA2 treinado em MAS-KO, reforçando-se, assim, o aumento da razão ECA/ECA2 nesses animais. A expressão de ECA2 no músculo sóleo apresentou-se reduzida no grupo MAS-KO, se comparado ao WT, não sendo afetada pelo treinamento. A expressão e a atividade da ECA e da ECA2 já foram identificadas em músculos sóleos de ratos (Fernandes et al., 2010), podendo elas serem afetadas pelo tipo de músculo. Em nosso estudo, verificamos maior expressão gênica de ECA no músculo gastrocnêmio, em relação ao músculo sóleo, sendo que a deleção do MAS acentua seu aumento em resposta do treinamento aeróbio.

Os componentes da matriz extracelular (MEC), como as metaloproteinases (MMP), mediam diversas respostas adaptativas no músculo esquelético como

hipertrofia (Dahiya et al., 2011) e angiogênese (Haas et al., 2000). A ativação dos componentes da MEC já foi verificada após exercícios agudo (Rullman et al., 2007) e crônico (Carmeli et al., 2005; Rullman et al., 2009), tanto no músculo esquelético quando em tecido conjuntivo (Koskinen et al., 2004). Entretanto, os animais MAS-KO não apresentaram aumento nos componentes da MEC no músculo esquelético pós-treinamento, resposta verificada nos animais WT. Sendo assim, a modulação de componentes da MEC ativada pelo treinamento físico parece ser afetada pela deleção do receptor MAS.

Em nosso estudo, foram escolhidos para análise os músculos gastrocnêmio e sóleo por apresentarem diferenças em capacidades oxidativas devido à composição de fibras de contração lenta (sóleo) e fibras de contração rápida (gastrocnêmio) (Philippi and Sillau, 1994). O efeito do treinamento de corrida voluntário já foi avaliado em seis diferentes tipos de músculo de ratos (Legerlotz et al., 2008). O treinamento de 45 dias foi capaz de promover hipertrofia no músculo sóleo, porém não no gastrocnêmio. No presente estudo, verificamos uma maior hipertrofia no músculo sóleo nos grupos treinados, corroborando os resultados verificados por Legerlotz, 2008.

O fator de transcrição FoxO1 (do inglês, *Forkhead Box Protein 1*) está associado à hipertrofia mediada via componente de MEC, MMP9 (metaloproteinase-9) (Dahiya et al., 2011). Os FoxOs regulam diversas ações metabólicas, sendo a fosforilação do FoxO1 pela AKT capaz de diminuir a produção hepática de glicose (Nakae et al., 2001). O FoxO1 também relaciona-se ao tipo de fibra muscular (Kitamura et al., 2007) e à adipogênese (Farmer, 2003), e FoxO3 regula o tamanho de cardiomiócito via AKT (Skurk et al., 2005). Além disso, algumas ações da angiotensina-(1-7) ocorrem via FoxO1 (Verano-Braga et al., 2012). Entretanto, no

presente estudo, não foi verificada alteração na expressão de FoxO1 e 3 no VE e no músculo esquelético. Apenas no tecido adiposo inguinal constatou-se que o treinamento físico induz à redução na expressão de FoxO1 em WT e ao aumento dele no MAS-KO. A ativação de AMPK pode promover a degradação de FoxO1 na célula beta (Barthel et al., 2002). Esse efeito, apesar de verificado no pâncreas, poderia estar relacionado à menor expressão de FoxO1 no tecido adiposo inguinal em WT treinados no presente estudo. Nesse sentido, o exercício físico promove a ativação da AMPK no músculo esquelético e no tecido adiposo, sendo a única forma conhecida de ativação dessa quinase em condições fisiológicas (Narkar et al., 2008; Richter and Ruderman, 2009). Sendo assim, seria importante, em estudos futuros, a verificação dos níveis proteicos no músculo esquelético e no coração de AMPK e AKT após o treinamento físico aeróbio em animais MAS-KO.

A utilização da radiotelemetria é uma ferramenta que possibilita a avaliação “*in vivo*” de parâmetros hemodinâmicos (Plehm et al., 2006), sendo bem tolerada por longos períodos (Butz and Davisson, 2001). Os animais MAS-KO apresentaram maior pressão arterial sistólica e média em repouso, se comparados ao WT. Durante o exercício, ocorre aumento da pressão arterial (Harri, 1979; Heiss et al., 1976), sendo que essa resposta, quando exacerbada, relaciona-se ao maior risco de doença cardiovascular (Everson et al., 1996; Farah et al., 2009; Kokkinos et al., 2002; Wilson et al., 1990). Resposta pressora exacerbada durante o exercício foi verificada nos animais MAS-KO, o que está em acordo com o comprometimento cardiovascular já descrito nesses camundongos (Santos et al., 2003; Xu et al., 2008). O maior aumento da PA durante o exercício relaciona-se à função endotelial prejudicada (Stewart et al., 2004; Thanassoulis et al., 2012), associa-se com aterosclerose (Jae et al., 2006) e pode ser considerado fator de risco para

hipertensão futura (Miyai et al., 2002; Palatini, 1998; Singh et al., 1999). Deve ser ressaltado que disfunção endotelial importante está presente em camundongos com deficiência genética do MAS (Rabelo et al., 2008).

A intensidade do exercício físico foi similar entre os grupos MAS-KO e WT, porém, além de a deleção do MAS promover maior aumento da pressão durante o exercício, ela inibiu o efeito anti-hipertensivo do treinamento aeróbio. Entretanto, não foram verificadas diferenças entre MAS-KO e WT em respostas de lactato e glicemia sanguíneos durante e após sessão aguda de exercício aeróbio na esteira (dados não mostrados).

O treinamento de corrida voluntária foi capaz de reduzir a frequência cardíaca em ambos os grupos, o que caracteriza importante adaptação hemodinâmica, possivelmente relacionada à menor ativação do SNS e à redução intrínseca da frequência cardíaca em consequência de alterações celulares (Boyett et al., 2013). O treinamento voluntário durante 40 dias já foi demonstrado ser capaz de reduzir frequência cardíaca e a pressão arterial sistólica, diastólica e média de camundongos C57BL/6J, estando relacionado ao aumento da ativação vagal (Adlam et al., 2011).

Os animais MAS-KO treinados por quatro semanas, apresentaram elevadas PAS e PAD em todos os períodos avaliados (dia, noite e noite + dia). Apesar de não ter sido possível avaliar essa resposta no grupo-controle MAS-KO sedentário, podemos comparar os valores de pressão arterial pré e pós-treinamento. Foi observado que o exercício voluntário reduziu a pressão arterial em WT enquanto aumentou nos animais com deleção do receptor MAS. Esse efeito patológico induzido pelo treinamento de corrida voluntária nunca foi antes descrito. Considerando-se que a angiotensina-(1-7) ativa a liberação de óxido nítrico no

endotélio via AKT (Sampaio et al., 2007) e que o exercício físico é um estímulo para a liberação de óxido nítrico também via AKT (Barbosa et al., 2013; Dimmeler and Zeiher, 2003; Higashi and Yoshizumi, 2004; Pellegrin et al., 2011), é provável que a deleção do receptor MAS afete a sinalização de AKT e/ou a liberação de óxido nítrico. Além disso, é importante destacar que o óxido nítrico é importante regulador da pressão arterial (Rees et al., 1996; Rees et al., 1989; Seto et al., 2006; Vanecková et al., 2005).

O exercício físico é, ainda, capaz de reduzir a resposta de vasoconstrição da angiotensina II em veias femorais de ratos (Chies et al., 2013) e aumentar a resposta vasodilatadora da angiotensina-(1-7) (Silva et al., 2011). Esses efeitos também poderiam estar associados ao aumento de pressão arterial em MAS-KO, especialmente devido à ausência do receptor de angiotensina-(1-7).

As adaptações promovidas pelo exercício físico envolvem alterações graduais na expressão de proteínas e atividades enzimáticas. Tais alterações refletem ativação ou repressão de vias de sinalização que regulam transcrição, translação e respostas de expressão gênica induzidas pelo exercício (Egan and Zierath, 2013). No presente estudo, avaliamos a expressão de genes relacionados a adaptações fisiológicas e patológicas, especialmente no coração e no músculo esquelético. Avaliamos, também, a função cardíaca por meio de ecocardiografia, entretanto esses dados não puderam ser incluídos devido à indução anestésica inadequada (dados em Anexo). Dessa forma, faz-se necessário reavaliar esses parâmetros, incluindo, se possível, ainda, a análise histológica do coração e a avaliação das funções autonômica e endotelial. A expressão de proteínas do músculo esquelético e do ventrículo esquerdo também seria importante para se

confirmar alguns dados de expressão gênica e verificar possíveis vias de sinalização ativadas pelo treinamento físico e afetadas pela deleção do receptor MAS.

O exercício físico é reconhecidamente um meio não farmacológico para prevenção e tratamento da hipertensão arterial (Chobanian et al., 2003; Fagard and Cornelissen, 2007; Thompson et al., 2003). A deleção do receptor da angiotensina-(1-7) promoveu dramática alteração nas respostas hemodinâmicas ao exercício, promovendo aumento paradoxal de pressão arterial.

7. CONCLUSÃO

No presente estudo, observamos que o treinamento de corrida voluntária promoveu em animais WT melhora da composição corporal, por meio do aumento de massa muscular e redução do percentual de gordura; induziu hipertrofia ventricular esquerda e redução, nesse tecido, de CEBP β . No músculo esquelético, foi capaz de aumentar o percentual de matriz extracelular, não alterando a expressão de PGC1 α , porém aumentando a de FNDC5, tanto no gastrocnêmio quanto no sóleo, e de UCP1 no tecido adiposo inguinal. Após quatro semanas, foi observada uma redução da pressão arterial e da frequência cardíaca nos animais WT.

A deficiência do eixo ECA2/ANG(-1-7)/MAS acarretou importantes alterações da resposta ao treinamento físico. Hipertrofia ventricular esquerda foi verificada nos animais com deficiência do receptor MAS, entretanto esse remodelamento cardíaco foi acompanhado por aumento na expressão de genes expressos em condições patológicas, como ANP e BNP. No músculo esquelético, a deleção do receptor MAS afetou negativamente a expressão gênica de FNDC5, não alterando a expressão de UCP1 no tecido adiposo inguinal após o treinamento físico. Nos animais MAS-KO, foi observada pressão arterial elevada em condições basais e exacerbado incremento durante sessão de exercício. Apesar de apresentarem redução da frequência cardíaca após quatro semanas de treinamento, esse grupo aumentou paradoxalmente os níveis de pressão arterial, resposta contrária à observada em animais WT. Esse efeito prejudicial do exercício físico nunca foi antes descrito e indica uma associação entre o receptor da angiotensina(-1-7) e os efeitos cardioprotetores induzidos pelo exercício crônico, sugerindo o receptor MAS como importante mediador dessas respostas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1997, American College of Sports Medicine and American Diabetes Association joint position statement. Diabetes mellitus and exercise.: Med Sci Sports Exerc, v. 29, p. i-vi.
- Adlam, D., J. P. De Bono, E. J. Danson, M. H. Zhang, B. Casadei, D. J. Paterson, and K. M. Channon, 2011, Telemetric analysis of haemodynamic regulation during voluntary exercise training in mouse models: Exp Physiol, v. 96, p. 1118-28.
- Alenina, N., P. Xu, B. Rentzsch, E. L. Patkin, and M. Bader, 2008, Genetically altered animal models for Mas and angiotensin-(1-7): Exp Physiol, v. 93, p. 528-37.
- Allen, D. L., B. C. Harrison, A. Maass, M. L. Bell, W. C. Byrnes, and L. A. Leinwand, 2001, Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse: J Appl Physiol, v. 90, p. 1900-8.
- Almeida, A. P., B. C. Frábregas, M. M. Madureira, R. J. Santos, M. J. Campagnole-Santos, and R. A. Santos, 2000, Angiotensin-(1-7) potentiates the coronary vasodilatory effect of bradykinin in the isolated rat heart: Braz J Med Biol Res, v. 33, p. 709-13.
- Arany, Z., M. Novikov, S. Chin, Y. Ma, A. Rosenzweig, and B. M. Spiegelman, 2006, Transverse aortic constriction leads to accelerated heart failure in mice lacking PPAR-gamma coactivator 1alpha: Proc Natl Acad Sci U S A, v. 103, p. 10086-91.
- Auerbach, P., P. Nordby, L. Q. Bendtsen, J. L. Mehlsen, S. K. Basnet, H. Vestergaard, T. Ploug, and B. M. Stallknecht, 2013, Differential effects of endurance training and weight loss on plasma adiponectin multimers and adipose tissue macrophages in younger, moderately overweight men: Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.

- Baar, K., A. R. Wende, T. E. Jones, M. Marison, L. A. Nolte, M. Chen, D. P. Kelly, and J. O. Holloszy, 2002, Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1: *FASEB J*, v. 16, p. 1879-86.
- Bader, M., 2002, Role of the local renin-angiotensin system in cardiac damage: a minireview focussing on transgenic animal models.: *J Mol Cell Cardiol*, v. 34, p. 1455-62.
- Bader, M., 2010, Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: Targets for pharmacological therapy.: *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, v. 50, p. 439-65.
- Bader, M., R. A. Santos, T. Unger, and U. M. Steckelings, 2012, New therapeutic pathways in the RAS: *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, v. 13, p. 505-8.
- Bahi, L., N. Koulmann, H. Sanchez, I. Momken, V. Veksler, A. Bigard, and R. Ventura-Clapier, 2004, Does ACE inhibition enhance endurance performance and muscle energy metabolism in rats?: *J Appl Physiol*, v. 96, p. 59-64.
- Baltgalvis, K. A., J. A. Call, G. D. Cochrane, R. C. Laker, Z. Yan, and D. A. Lowe, 2012, Exercise training improves plantar flexor muscle function in mdx mice: *Med Sci Sports Exerc*, v. 44, p. 1671-9.
- Barbosa, V. A., T. F. Luciano, S. O. Marques, M. F. Vitto, D. R. Souza, L. A. Silva, J. P. Santos, J. C. Moreira, F. Dal-Pizzol, F. S. Lira, R. A. Pinho, and C. T. De Souza, 2013, Acute exercise induce endothelial nitric oxide synthase phosphorylation via Akt and AMP-activated protein kinase in aorta of rats: Role of reactive oxygen species: *Int J Cardiol*, v. 167, p. 2983-8.
- Barthel, A., D. Schmoll, K. D. Krüger, R. A. Roth, and H. G. Joost, 2002, Regulation of the forkhead transcription factor FKHR (FOXO1a) by glucose starvation and AICAR, an activator of AMP-activated protein kinase: *Endocrinology*, v. 143, p. 3183-6.

- Beck, D. T., J. S. Martin, D. P. Casey, and R. W. Braith, 2013, Exercise training reduces peripheral arterial stiffness and myocardial oxygen demand in young prehypertensive subjects: *Am J Hypertens*, v. 26, p. 1093-102.
- Bernardo, B. C., K. L. Weeks, L. Pretorius, and J. R. McMullen, 2010, Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies: *Pharmacol Ther*, v. 128, p. 191-227.
- Blumenthal, J. A., A. Sherwood, M. A. Babyak, L. L. Watkins, R. Waugh, A. Georgiades, S. L. Bacon, J. Hayano, R. E. Coleman, and A. Hinderliter, 2005, Effects of exercise and stress management training on markers of cardiovascular risk in patients with ischemic heart disease: a randomized controlled trial: *JAMA*, v. 293, p. 1626-34.
- Boscaro, M., G. Giacchetti, and V. Ronconi, 2012, Visceral adipose tissue: emerging role of gluco- and mineralocorticoid hormones in the setting of cardiometabolic alterations: *Ann N Y Acad Sci*, v. 1264, p. 87-102.
- Boström, P., N. Mann, J. Wu, P. A. Quintero, E. R. Plovie, D. Panáková, R. K. Gupta, C. Xiao, C. A. MacRae, A. Rosenzweig, and B. M. Spiegelman, 2010, C/EBP β controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling: *Cell*, v. 143, p. 1072-83.
- Boström, P., J. Wu, M. P. Jedrychowski, A. Korde, L. Ye, J. C. Lo, K. A. Rasbach, E. A. Boström, J. H. Choi, J. Z. Long, S. Kajimura, M. C. Zingaretti, B. F. Vind, H. Tu, S. Cinti, K. Højlund, S. P. Gygi, and B. M. Spiegelman, 2012, A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis: *Nature*, v. 481, p. 463-8.
- Botelho-Santos, G. A., M. Bader, N. Alenina, and R. A. Santos, 2012, Altered regional blood flow distribution in Mas-deficient mice: *Ther Adv Cardiovasc Dis*, v. 6, p. 201-11.

- Boyett, M. R., A. D'Souza, H. Zhang, G. M. Morris, H. Dobrzynski, and O. Monfredi, 2013, Viewpoint: Is the resting bradycardia in athletes the result of remodeling of the sinoatrial node rather than high vagal tone?: *J Appl Physiol*, v. 114, p. 1351-5.
- Bujak, M., and N. G. Frangogiannis, 2007, The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling: *Cardiovasc Res*, v. 74, p. 184-95.
- Bumpus, F. M., H. Schwarz, and I. H. Page, 1957, Synthesis and pharmacology of the octapeptide angiotonin: *Science*, v. 125, p. 886-7.
- Burchfield, J. S., M. Xie, and J. A. Hill, 2013, Pathological ventricular remodeling: mechanisms: part 1 of 2: *Circulation*, v. 128, p. 388-400.
- Burt, J. J., and R. Jackson, 1965, The effects of physical exercise on the coronary collateral circulation of dogs: *J Sports Med Phys Fitness*, v. 5, p. 203-6.
- Butz, G. M., and R. L. Davisson, 2001, Long-term telemetric measurement of cardiovascular parameters in awake mice: a physiological genomics tool: *Physiol Genomics*, v. 5, p. 89-97.
- Call, J. A., J. N. McKeehen, S. A. Novotny, and D. A. Lowe, 2010, Progressive resistance voluntary wheel running in the mdx mouse: *Muscle Nerve*, v. 42, p. 871-80.
- Calvert, J. W., M. E. Condit, J. P. Aragón, C. K. Nicholson, B. F. Moody, R. L. Hood, A. L. Sindler, S. Gundewar, D. R. Seals, L. A. Barouch, and D. J. Lefer, 2011, Exercise protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via stimulation of $\beta(3)$ -adrenergic receptors and increased nitric oxide signaling: role of nitrite and nitrosothiols: *Circ Res*, v. 108, p. 1448-58.
- Campagnole-Santos, M. J., D. I. Diz, R. A. Santos, M. C. Khosla, K. B. Brosnihan, and C. M. Ferrario, 1989, Cardiovascular effects of angiotensin-(1-7) injected into the dorsal medulla of rats: *Am J Physiol*, v. 257, p. H324-9.

- Carmeli, E., M. Moas, S. Lennon, and S. K. Powers, 2005, High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres: *Exp Physiol*, v. 90, p. 613-9.
- Cassis, L. A., S. B. Police, F. Yiannikouris, and S. E. Thatcher, 2008, Local adipose tissue renin-angiotensin system: *Curr Hypertens Rep*, v. 10, p. 93-8.
- Castro, C. H., R. A. Santos, A. J. Ferreira, M. Bader, N. Alenina, and A. P. Almeida, 2006, Effects of genetic deletion of angiotensin-(1-7) receptor Mas on cardiac function during ischemia/reperfusion in the isolated perfused mouse heart: *Life Sci*, v. 80, p. 264-8.
- Chappell, M. C., K. B. Brosnihan, D. I. Diz, and C. M. Ferrario, 1989, Identification of angiotensin-(1-7) in rat brain. Evidence for differential processing of angiotensin peptides: *J Biol Chem*, v. 264, p. 16518-23.
- Chies, A. B., P. e. S. Rossignoli, R. e. F. Baptista, R. W. de Lábio, and S. L. Payão, 2013, Exercise reduces angiotensin II responses in rat femoral veins: *Peptides*, v. 44, p. 47-54.
- Chinsomboon, J., J. Ruas, R. K. Gupta, R. Thom, J. Shoag, G. C. Rowe, N. Sawada, S. Raghuram, and Z. Arany, 2009, The transcriptional coactivator PGC-1alpha mediates exercise-induced angiogenesis in skeletal muscle: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 106, p. 21401-6.
- Chobanian, A., G. Bakris, H. Black, W. Cushman, L. Green, J. J. Izzo, D. Jones, B. Materson, S. Oparil, J. J. Wright, and E. Roccella, 2003, Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure.: *Hypertension*, v. 42, p. 1206-52.
- Chung, C. J., and P. C. Schulze, 2011, Exercise as a nonpharmacologic intervention in patients with heart failure: *Phys Sportsmed*, v. 39, p. 37-43.
- Cléroux, J., R. Feldman, and R. Petrella, 1999, Lifestyle modifications to prevent and control hypertension. 4. Recommendations on physical exercise training.

Canadian Hypertension Society, Canadian Coalition for High Blood Pressure Prevention and Control, Laboratory Centre for Disease Control at Health Canada, Heart and Stroke Foundation of Canada.: CMAJ, v. 160, p. S21-8.

Coirault, C., O. Langeron, F. Lambert, F. Blanc, G. Lerebours, N. Claude, B. Riou, D. Chemla, and Y. Lecarpentier, 1999, Impaired skeletal muscle performance in the early stage of cardiac pressure overload in rabbits: beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibition.: J Pharmacol Exp Ther, v. 291, p. 70-5.

Colberg, S. R., R. J. Sigal, B. Fernhall, J. G. Regensteiner, B. J. Blissmer, R. R. Rubin, L. Chasan-Taber, A. L. Albright, B. Braun, A. C. o. S. Medicine, and A. D. Association, 2010, Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement.: Diabetes Care, v. 33, p. e147-67.

Collins, H., A. Loka, and S. Dicarlo, 2005, Daily exercise-induced cardioprotection is associated with changes in calcium regulatory proteins in hypertensive rats.: Am J Physiol Heart Circ Physiol, v. 288, p. H532-40.

Cook, M. D., S. A. Martin, C. Williams, K. Whitlock, M. A. Wallig, B. D. Pence, and J. A. Woods, 2013, Forced treadmill exercise training exacerbates inflammation and causes mortality while voluntary wheel training is protective in a mouse model of colitis: Brain Behav Immun.

Crackower, M. A., R. Sarao, G. Y. Oudit, C. Yagil, I. Kozieradzki, S. E. Scanga, A. J. Oliveira-dos-Santos, J. da Costa, L. Zhang, Y. Pei, J. Scholey, C. M. Ferrario, A. S. Manoukian, M. C. Chappell, P. H. Backx, Y. Yagil, and J. M. Penninger, 2002, Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function: Nature, v. 417, p. 822-8.

Dahiya, S., S. Bhatnagar, S. M. Hindi, C. Jiang, P. K. Paul, S. Kuang, and A. Kumar, 2011, Elevated levels of active matrix metalloproteinase-9 cause hypertrophy

in skeletal muscle of normal and dystrophin-deficient mdx mice: *Hum Mol Genet*, v. 20, p. 4345-59.

Davisson, R., Y. Ding, D. Stec, J. Catterall, and C. Sigmund, 1999, Novel mechanism of hypertension revealed by cell-specific targeting of human angiotensinogen in transgenic mice.: *Physiol Genomics*, v. 1, p. 3-9.

de Pinho, L., J. M. Andrade, A. Paraíso, A. B. Filho, J. D. Feltenberger, A. L. Guimarães, A. M. de Paula, A. P. Caldeira, A. C. de Carvalho Botelho, M. J. Campagnole-Santos, and S. H. Sousa Santos, 2013, Diet composition modulate expression of sirtuins and Renin-Angiotensin system components in adipose tissue: *Obesity* (Silver Spring).

Dela, F., T. Mohr, C. M. Jensen, H. L. Haahr, N. H. Secher, F. Biering-Sørensen, and M. Kjaer, 2003, Cardiovascular control during exercise: insights from spinal cord-injured humans: *Circulation*, v. 107, p. 2127-33.

Dias-Peixoto, M. F., R. A. Santos, E. R. Gomes, M. N. Alves, P. W. Almeida, L. Greco, M. Rosa, B. Fauler, M. Bader, N. Alenina, and S. Guatimosim, 2008, Molecular mechanisms involved in the angiotensin-(1-7)/Mas signaling pathway in cardiomyocytes: *Hypertension*, v. 52, p. 542-8.

Dimeo, F., N. Pagonas, F. Seibert, R. Arndt, W. Zidek, and T. H. Westhoff, 2012, Aerobic exercise reduces blood pressure in resistant hypertension: *Hypertension*, v. 60, p. 653-8.

Dimmeler, S., and A. M. Zeiher, 2003, Exercise and cardiovascular health: get active to "AKTivate" your endothelial nitric oxide synthase: *Circulation*, v. 107, p. 3118-20.

Donoghue, M., F. Hsieh, E. Baronas, K. Godbout, M. Gosselin, N. Stagliano, M. Donovan, B. Woolf, K. Robison, R. Jeyaseelan, R. E. Breitbart, and S. Acton, 2000, A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9: *Circ Res*, v. 87, p. E1-9.

- Dorn, G. W., J. Robbins, and P. H. Sugden, 2003, Phenotyping hypertrophy: eschew obfuscation: *Circ Res*, v. 92, p. 1171-5.
- Downing, J., and G. J. Balady, 2011, The role of exercise training in heart failure: *J Am Coll Cardiol*, v. 58, p. 561-9.
- Duman, C. H., L. Schlesinger, D. S. Russell, and R. S. Duman, 2008, Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice: *Brain Res*, v. 1199, p. 148-58.
- Dumith, S. C., P. C. Hallal, R. S. Reis, and H. W. Kohl, 2011, Worldwide prevalence of physical inactivity and its association with human development index in 76 countries: *Prev Med*, v. 53, p. 24-8.
- Dunn, A. L., B. H. Marcus, J. B. Kampert, M. E. Garcia, H. W. Kohl, and S. N. Blair, 1999, Comparison of lifestyle and structured interventions to increase physical activity and cardiorespiratory fitness: a randomized trial: *JAMA*, v. 281, p. 327-34.
- Duscha, B. D., C. A. Slentz, J. L. Johnson, J. A. Houmard, D. R. Bensimhon, K. J. Knetzger, and W. E. Kraus, 2005, Effects of exercise training amount and intensity on peak oxygen consumption in middle-age men and women at risk for cardiovascular disease: *Chest*, v. 128, p. 2788-93.
- Egan, B., and J. R. Zierath, 2013, Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation: *Cell Metab*, v. 17, p. 162-84.
- Ellison, G. M., C. D. Waring, C. Vicinanza, and D. Torella, 2012, Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms: *Heart*, v. 98, p. 5-10.
- Endlich, P. W., E. R. Claudio, W. L. da Silva Gonçalves, S. A. Gouvêa, M. R. Moysés, and G. R. de Abreu, 2013, Swimming training prevents fat deposition and decreases angiotensin II-induced coronary vasoconstriction in ovariectomized rats: *Peptides*, v. 47, p. 29-35.

- Enerbäck, S., 2013, Adipose tissue metabolism in 2012: Adipose tissue plasticity and new therapeutic targets: *Nat Rev Endocrinol*, v. 9, p. 69-70.
- Engeli, S., R. Negrel, and A. M. Sharma, 2000, Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system: *Hypertension*, v. 35, p. 1270-7.
- Everson, S. A., G. A. Kaplan, D. E. Goldberg, and J. T. Salonen, 1996, Anticipatory blood pressure response to exercise predicts future high blood pressure in middle-aged men: *Hypertension*, v. 27, p. 1059-64.
- Fagard, R., and V. Cornelissen, 2007, Effect of exercise on blood pressure control in hypertensive patients.: *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, v. 14, p. 12-7.
- Farah, R., R. Shurtz-Swirski, and M. Nicola, 2009, High blood pressure response to stress ergometry could predict future hypertension: *Eur J Intern Med*, v. 20, p. 366-8.
- Farmer, S. R., 2003, The forkhead transcription factor Foxo1: a possible link between obesity and insulin resistance: *Mol Cell*, v. 11, p. 6-8.
- Fenning, A., G. Harrison, D. Dwyer, R. Rose'Meyer, and L. Brown, 2003, Cardiac adaptation to endurance exercise in rats.: *Mol Cell Biochem*, v. 251, p. 51-9.
- Fernandes, T., N. Y. Hashimoto, F. C. Magalhães, F. B. Fernandes, D. E. Casarini, A. K. Carmona, J. E. Krieger, M. I. Phillips, and E. M. Oliveira, 2011, Aerobic exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves regulatory MicroRNAs, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin ii, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7): *Hypertension*, v. 58, p. 182-9.
- Fernandes, T., N. Y. Hashimoto, and E. M. Oliveira, 2010, Characterization of angiotensin-converting enzymes 1 and 2 in the soleus and plantaris muscles of rats: *Braz J Med Biol Res*, v. 43, p. 837-42.

- Ferrara, L., O. Vaccaro, O. Cardoni, M. Mancini, and A. Zanchetti, 2004, Arterial hypertension increases left ventricular mass: role of tight blood pressure control.: *J Hum Hypertens*, v. 18, p. 637-42.
- Filho, A. G., A. J. Ferreira, S. H. Santos, S. R. Neves, E. R. Silva Camargos, L. K. Becker, H. A. Belchior, M. F. Dias-Peixoto, S. V. Pinheiro, and R. A. Santos, 2008, Selective increase of angiotensin(1-7) and its receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats subjected to physical training: *Exp Physiol*, v. 93, p. 589-98.
- Fletcher, G. F., G. Balady, S. N. Blair, J. Blumenthal, C. Caspersen, B. Chaitman, S. Epstein, E. S. Sivarajan Froelicher, V. F. Froelicher, I. L. Pina, and M. L. Pollock, 1996, Statement on exercise: benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans. A statement for health professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association: *Circulation*, v. 94, p. 857-62.
- Forjaz, C., D. Santaella, L. Rezende, A. Barretto, and C. Negrão, 1998, [Effect of exercise duration on the magnitude and duration of post-exercise hypotension]: *Arq Bras Cardiol*, v. 70, p. 99-104.
- Fox, S. B., J. Bragança, H. Turley, L. Campo, C. Han, K. C. Gatter, S. Bhattacharya, and A. L. Harris, 2004, CITED4 inhibits hypoxia-activated transcription in cancer cells, and its cytoplasmic location in breast cancer is associated with elevated expression of tumor cell hypoxia-inducible factor 1alpha: *Cancer Res*, v. 64, p. 6075-81.
- Frinchi, M., F. Macaluso, A. Licciardi, V. Perciavalle, M. Coco, N. Belluardo, G. Morici, and G. Mudò, 2013, Recovery of Damaged Skeletal Muscle in mdx Mice through Low-intensity Endurance Exercise: *Int J Sports Med*.
- Fromme, T., and M. Klingenspor, 2011, Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 300, p. R1-8.

- Gallagher, P. E., C. M. Ferrario, and E. A. Tallant, 2008, Regulation of ACE2 in cardiac myocytes and fibroblasts: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 295, p. H2373-9.
- Ganguly, A., and J. S. Davis, 1994, Role of calcium and other mediators in aldosterone secretion from the adrenal glomerulosa cells: *Pharmacol Rev*, v. 46, p. 417-47.
- Garber, C. E., B. Blissmer, M. R. Deschenes, B. A. Franklin, M. J. Lamonte, I. M. Lee, D. C. Nieman, D. P. Swain, and A. C. o. S. Medicine, 2011, American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise: *Med Sci Sports Exerc*, v. 43, p. 1334-59.
- Gava, E., C. H. de Castro, A. J. Ferreira, H. Colleta, M. B. Melo, N. Alenina, M. Bader, L. A. Oliveira, R. A. Santos, and G. T. Kitten, 2012, Angiotensin-(1-7) receptor Mas is an essential modulator of extracellular matrix protein expression in the heart: *Regul Pept*, v. 175, p. 30-42.
- Gay-Jordi, G., E. Guash, B. Benito, J. Brugada, S. Nattel, L. Mont, and A. Serrano-Mollar, 2013, Losartan prevents heart fibrosis induced by long-term intensive exercise in an animal model: *PLoS One*, v. 8, p. e55427.
- Gleeson, M., N. C. Bishop, D. J. Stensel, M. R. Lindley, S. S. Mastana, and M. A. Nimmo, 2011, The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease: *Nat Rev Immunol*, v. 11, p. 607-15.
- Glick, J. L., 1966, Effects of exercise on oxidative activities in rat liver mitochondria: *Am J Physiol*, v. 210, p. 1215-21.
- Go, A. S., D. Mozaffarian, V. L. Roger, E. J. Benjamin, J. D. Berry, W. B. Borden, D. M. Bravata, S. Dai, E. S. Ford, C. S. Fox, S. Franco, H. J. Fullerton, C. Gillespie, S. M. Hailpern, J. A. Heit, V. J. Howard, M. D. Huffman, B. M.

Kissela, S. J. Kittner, D. T. Lackland, J. H. Lichtman, L. D. Lisabeth, D. Magid, G. M. Marcus, A. Marelli, D. B. Matchar, D. K. McGuire, E. R. Mohler, C. S. Moy, M. E. Mussolino, G. Nichol, N. P. Paynter, P. J. Schreiner, P. D. Sorlie, J. Stein, T. N. Turan, S. S. Virani, N. D. Wong, D. Woo, M. B. Turner, and A. H. A. S. C. a. S. S. Subcommittee, 2013, Executive summary: heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association: *Circulation*, v. 127, p. 143-52.

Goodman, J., P. Liu, and H. Green, 2005, Left ventricular adaptations following short-term endurance training.: *J Appl Physiol*, v. 98, p. 454-60.

Gorelik, G., L. A. Carbini, and A. G. Scicli, 1998, Angiotensin 1-7 induces bradykinin-mediated relaxation in porcine coronary artery: *J Pharmacol Exp Ther*, v. 286, p. 403-10.

Goto, C., K. Nishioka, T. Umemura, D. Jitsuiki, A. Sakaguchi, M. Kawamura, K. Chayama, M. Yoshizumi, and Y. Higashi, 2007, Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans.: *Am J Hypertens*, v. 20, p. 825-30.

Grant, R. W., B. M. Vester Boler, T. K. Ridge, T. K. Graves, and K. S. Swanson, 2013, Subcutaneous and gonadal adipose tissue transcriptome differences in lean and obese female dogs: *Anim Genet*.

Griendling, K. K., B. Lassègue, and R. W. Alexander, 1996, Angiotensin receptors and their therapeutic implications: *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, v. 36, p. 281-306.

Guazzi, M., P. Palermo, G. Pontone, F. Susini, and P. Agostoni, 1999, Synergistic efficacy of enalapril and losartan on exercise performance and oxygen consumption at peak exercise in congestive heart failure: *Am J Cardiol*, v. 84, p. 1038-43.

Guimarães, G. G., S. H. Santos, M. L. Oliveira, E. P. Pimenta-Velloso, D. F. Motta, A. S. Martins, N. Alenina, M. Bader, R. A. Santos, and M. J. Campagnole-

- Santos, 2012, Exercise induces renin-angiotensin system unbalance and high collagen expression in the heart of Mas-deficient mice: *Peptides*, v. 38, p. 54-61.
- Haas, T. L., M. Milkiewicz, S. J. Davis, A. L. Zhou, S. Egginton, M. D. Brown, J. A. Madri, and O. Hudlicka, 2000, Matrix metalloproteinase activity is required for activity-induced angiogenesis in rat skeletal muscle: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 279, p. H1540-7.
- Hallal, P. C., C. G. Victora, J. C. Wells, and R. C. Lima, 2003, Physical inactivity: prevalence and associated variables in Brazilian adults: *Med Sci Sports Exerc*, v. 35, p. 1894-900.
- Halliwill, J., C. Minson, and M. Joyner, 2000, Effect of systemic nitric oxide synthase inhibition on postexercise hypotension in humans.: *J Appl Physiol*, v. 89, p. 1830-6.
- Hammarstedt, A., P. A. Jansson, C. Wesslau, X. Yang, and U. Smith, 2003, Reduced expression of PGC-1 and insulin-signaling molecules in adipose tissue is associated with insulin resistance: *Biochem Biophys Res Commun*, v. 301, p. 578-82.
- Hamroff, G., S. D. Katz, D. Mancini, I. Blaufarb, R. Bijou, R. Patel, G. Jondeau, M. T. Olivari, S. Thomas, and T. H. Le Jemtel, 1999, Addition of angiotensin II receptor blockade to maximal angiotensin-converting enzyme inhibition improves exercise capacity in patients with severe congestive heart failure: *Circulation*, v. 99, p. 990-2.
- Handschin, C., and B. M. Spiegelman, 2006, Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism: *Endocr Rev*, v. 27, p. 728-35.
- Harri, M. N., 1979, Physical training under the influence of beta-blockade in rats. II. Effects on vascular reactivity: *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, v. 42, p. 151-7.

- Hashimoto, T., T. Perlot, A. Rehman, J. Trichereau, H. Ishiguro, M. Paolino, V. Sigl, T. Hanada, R. Hanada, S. Lipinski, B. Wild, S. M. Camargo, D. Singer, A. Richter, K. Kuba, A. Fukamizu, S. Schreiber, H. Clevers, F. Verrey, P. Rosenstiel, and J. M. Penninger, 2012, ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation: *Nature*, v. 487, p. 477-81.
- Haskell, W., I. Lee, R. Pate, K. Powell, S. Blair, B. Franklin, C. Macera, G. Heath, P. Thompson, and A. Bauman, 2007, Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association.: *Circulation*, v. 116, p. 1081-93.
- Heiss, H. W., J. Barmeyer, K. Wink, G. Hell, F. J. Cerny, J. Keul, and H. Reindell, 1976, Studies on the regulation of myocardial blood flow in man. I.: Training effects on blood flow and metabolism of the healthy heart at rest and during standardized heavy exercise: *Basic Res Cardiol*, v. 71, p. 658-75.
- Helmreich, D. L., D. B. Parfitt, X. Y. Lu, H. Akil, and S. J. Watson, 2005, Relation between the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during repeated stress: *Neuroendocrinology*, v. 81, p. 183-92.
- Hernández, D., A. de la Rosa, A. Barragán, Y. Barrios, E. Salido, A. Torres, B. Martín, I. Laynez, A. Duque, A. De Vera, V. Lorenzo, and A. González, 2003, The ACE/DD genotype is associated with the extent of exercise-induced left ventricular growth in endurance athletes.: *J Am Coll Cardiol*, v. 42, p. 527-32.
- Higashi, Y., and M. Yoshizumi, 2004, Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients: *Pharmacol Ther*, v. 102, p. 87-96.
- Holloszy, J. O., 1967, Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle: *J Biol Chem*, v. 242, p. 2278-82.

- Holloszy, J. O., 2008, Regulation by exercise of skeletal muscle content of mitochondria and GLUT4: *J Physiol Pharmacol*, v. 59 Suppl 7, p. 5-18.
- Holloszy, J. O., L. B. Oscai, I. J. Don, and P. A. Molé, 1970, Mitochondrial citric acid cycle and related enzymes: adaptive response to exercise: *Biochem Biophys Res Commun*, v. 40, p. 1368-73.
- Iemitsu, M., T. Miyauchi, S. Maeda, S. Sakai, T. Kobayashi, N. Fujii, H. Miyazaki, M. Matsuda, and I. Yamaguchi, 2001, Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 281, p. R2029-36.
- Inagami, T., D. F. Guo, and Y. Kitami, 1994, Molecular biology of angiotensin II receptors: an overview: *J Hypertens Suppl*, v. 12, p. S83-94.
- Iwai, M., and M. Horiuchi, 2009, Role of renin-angiotensin system in adipose tissue dysfunction: *Hypertens Res*, v. 32, p. 425-7.
- Jae, S. Y., B. Fernhall, K. S. Heffernan, M. Kang, M. K. Lee, Y. H. Choi, K. P. Hong, E. S. Ahn, and W. H. Park, 2006, Exaggerated blood pressure response to exercise is associated with carotid atherosclerosis in apparently healthy men: *J Hypertens*, v. 24, p. 881-7.
- Jehn, M. L., and A. Schmidt-Trucksäss, 2010, Association between daily activity and VO₂peak: *Med Sci Sports Exerc*, v. 42, p. 1229; author reply 1230.
- Jeon, H., G. I. Mun, and Y. C. Boo, 2012, Analysis of serum cytokine/chemokine profiles affected by aging and exercise in mice: *Cytokine*, v. 60, p. 487-92.
- Jones, A., and D. R. Woods, 2003, Skeletal muscle RAS and exercise performance: *Int J Biochem Cell Biol*, v. 35, p. 855-66.
- Joyner, M. J., and D. J. Green, 2009, Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors: *J Physiol*, v. 587, p. 5551-8.

- Kaltsatou, A. C., E. I. Kouidi, M. A. Anifanti, S. I. Douka, and A. P. Deligiannis, 2013, Functional and psychosocial effects of either a traditional dancing or a formal exercising training program in patients with chronic heart failure: a comparative randomized controlled study: *Clin Rehabil*.
- Kassiri, Z., J. Zhong, D. Guo, R. Basu, X. Wang, P. P. Liu, J. W. Scholey, J. M. Penninger, and G. Y. Oudit, 2009, Loss of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates maladaptive left ventricular remodeling in response to myocardial infarction: *Circ Heart Fail*, v. 2, p. 446-55.
- Kelly, D. P., 2012, *Medicine*. Irisin, light my fire: *Science*, v. 336, p. 42-3.
- Kemi, O., M. Høydal, P. Haram, A. Garnier, D. Fortin, R. Ventura-Clapier, and O. Ellingsen, 2007, Exercise training restores aerobic capacity and energy transfer systems in heart failure treated with losartan.: *Cardiovasc Res*, v. 76, p. 91-9.
- Kim, H. E., S. S. Dalal, E. Young, M. J. Legato, M. L. Weisfeldt, and J. D'Armiento, 2000, Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction: *J Clin Invest*, v. 106, p. 857-66.
- Kimura, S., J. Mullins, B. Bunnemann, R. Metzger, U. Hilgenfeldt, F. Zimmermann, H. Jacob, K. Fuxe, D. Ganten, and M. Kaling, 1992, High blood pressure in transgenic mice carrying the rat angiotensinogen gene.: *EMBO J*, v. 11, p. 821-7.
- Kioukia-Fougia, N., K. Antoniou, S. Bekris, C. Liapi, I. Christofidis, and Z. Papadopoulou-Daifoti, 2002, The effects of stress exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels: *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v. 26, p. 823-30.
- Kitamura, T., Y. I. Kitamura, Y. Funahashi, C. J. Shawber, D. H. Castrillon, R. Kollipara, R. A. DePinho, J. Kitajewski, and D. Accili, 2007, A Foxo/Notch pathway controls myogenic differentiation and fiber type specification: *J Clin Invest*, v. 117, p. 2477-85.

- Klempin, F., D. Beis, V. Mosienko, G. Kempermann, M. Bader, and N. Alenina, 2013, Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis: *J Neurosci*, v. 33, p. 8270-5.
- Kokkinos, P., P. Andreas, E. Coutoulakis, J. Colleran, P. Narayan, C. Dotson, W. Choucair, C. Farmer, and B. Fernhall, 2002, Determinants of exercise blood pressure response in normotensive and hypertensive women: role of cardiorespiratory fitness.: *J Cardiopulm Rehabil*, v. 22, p. 178-83.
- Konhilas, J. P., P. A. Watson, A. Maass, D. M. Boucek, T. Horn, B. L. Stauffer, S. W. Luckey, P. Rosenberg, and L. A. Leinwand, 2006, Exercise can prevent and reverse the severity of hypertrophic cardiomyopathy: *Circ Res*, v. 98, p. 540-8.
- Konstandin, M. H., M. Völkens, B. Collins, P. Quijada, M. Quintana, A. De La Torre, L. Ormachea, S. Din, N. Gude, H. Toko, and M. A. Sussman, 2013, Fibronectin contributes to pathological cardiac hypertrophy but not physiological growth: *Basic Res Cardiol*, v. 108, p. 375.
- Koskinen, S. O., K. M. Heinemeier, J. L. Olesen, H. Langberg, and M. Kjaer, 2004, Physical exercise can influence local levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in tendon-related connective tissue: *J Appl Physiol*, v. 96, p. 861-4.
- Kratzing, C. C., 1965, Influence of partial immersion and exercise on lipid metabolism in the rat: *Am J Physiol*, v. 209, p. 781-4.
- Lagouge, M., C. Argmann, Z. Gerhart-Hines, H. Meziane, C. Lerin, F. Daussin, N. Messadeq, J. Milne, P. Lambert, P. Elliott, B. Geny, M. Laakso, P. Puigserver, and J. Auwerx, 2006, Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha: *Cell*, v. 127, p. 1109-22.
- Latz, A., C. Kornetsky, G. Bain, and M. Goldman, 1966, Swimming performance of mice as affected by antidepressant drugs and baseline levels: *Psychopharmacologia*, v. 10, p. 67-88.

- Lau, Y. S., G. Patki, K. Das-Panja, W. D. Le, and S. O. Ahmad, 2011, Neuroprotective effects and mechanisms of exercise in a chronic mouse model of Parkinson's disease with moderate neurodegeneration: *Eur J Neurosci*, v. 33, p. 1264-74.
- Laufs, U., S. Wassmann, T. Czech, T. Münzel, M. Eisenhauer, M. Böhm, and G. Nickenig, 2005, Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis: *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 25, p. 809-14.
- Laughlin, M. H., D. K. Bowles, and D. J. Duncker, 2012, The coronary circulation in exercise training: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 302, p. H10-23.
- Lecker, S. H., A. Zavin, P. Cao, R. Arena, K. Allsup, K. M. Daniels, J. Joseph, P. C. Schulze, and D. E. Forman, 2012, Expression of the irisin precursor FNDC5 in skeletal muscle correlates with aerobic exercise performance in patients with heart failure: *Circ Heart Fail*, v. 5, p. 812-8.
- Ledesma, A., M. G. de Lacoba, and E. Rial, 2002, The mitochondrial uncoupling proteins: *Genome Biol*, v. 3, p. REVIEWS3015.
- Lee, S. K., C. S. Kim, H. S. Kim, E. J. Cho, H. K. Joo, J. Y. Lee, E. J. Lee, J. B. Park, and B. H. Jeon, 2009, Endothelial nitric oxide synthase activation contributes to post-exercise hypotension in spontaneously hypertensive rats: *Biochem Biophys Res Commun*, v. 382, p. 711-4.
- Legerlotz, K., B. Elliott, B. Guillemin, and H. K. Smith, 2008, Voluntary resistance running wheel activity pattern and skeletal muscle growth in rats: *Exp Physiol*, v. 93, p. 754-62.
- Li, W., M. J. Moore, N. Vasilieva, J. Sui, S. K. Wong, M. A. Berne, M. Somasundaran, J. L. Sullivan, K. Luzuriaga, T. C. Greenough, H. Choe, and M. Farzan, 2003, Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus: *Nature*, v. 426, p. 450-4.

- Lira, V. A., C. R. Benton, Z. Yan, and A. Bonen, 2010, PGC-1alpha regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity: *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 299, p. E145-61.
- Liu, J. L., S. Irvine, I. A. Reid, K. P. Patel, and I. H. Zucker, 2000, Chronic exercise reduces sympathetic nerve activity in rabbits with pacing-induced heart failure: A role for angiotensin II: *Circulation*, v. 102, p. 1854-62.
- Lovren, F., Y. Pan, A. Quan, H. Teoh, G. Wang, P. C. Shukla, K. S. Levitt, G. Y. Oudit, M. Al-Omran, D. J. Stewart, A. S. Slutsky, M. D. Peterson, P. H. Backx, J. M. Penninger, and S. Verma, 2008, Angiotensin converting enzyme-2 confers endothelial protection and attenuates atherosclerosis: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 295, p. H1377-84.
- Luo, L. J., and J. Zhang, 2013, [A novel myokine: Irisin]: *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan*, v. 44, p. 111-4.
- MacDonald, J., 2002, Potential causes, mechanisms, and implications of post exercise hypotension.: *J Hum Hypertens*, v. 16, p. 225-36.
- MacDonald, J., J. Rosenfeld, M. Tarnopolsky, C. Hogben, C. Ballantyne, and J. MacDougall, 2002, Post exercise hypotension is not mediated by the serotonergic system in borderline hypertensive individuals.: *J Hum Hypertens*, v. 16, p. 33-9.
- Maiorana, A., G. O'Driscoll, R. Taylor, and D. Green, 2003, Exercise and the nitric oxide vasodilator system.: *Sports Med*, v. 33, p. 1013-35.
- Maisel, A., 2001, B-type natriuretic peptide levels: a potential novel "white count" for congestive heart failure: *J Card Fail*, v. 7, p. 183-93.
- Mancia, G., S. Carugo, G. Grassi, A. Lanzarotti, R. Schiavina, G. Cesana, and R. Sega, 2002, Prevalence of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients without and with blood pressure control: data from the PAMELA population.

- Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni.: Hypertension, v. 39, p. 744-9.
- Margareto, J., A. Marti, and J. A. Martínez, 2001, Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPARgamma: J Nutr Biochem, v. 12, p. 130-137.
- Marks, L. S., and M. H. Maxwell, 1979, Tigerstedt and the discovery of renin. An historical note: Hypertension, v. 1, p. 384-8.
- Mazzolai, L., J. Nussberger, J. Aubert, D. Brunner, G. Gabbiani, H. Brunner, and T. Pedrazzini, 1998, Blood pressure-independent cardiac hypertrophy induced by locally activated renin-angiotensin system.: Hypertension, v. 31, p. 1324-30.
- McPherron, A. C., T. Guo, N. D. Bond, and O. Gavrilova, 2013, Increasing muscle mass to improve metabolism: Adipocyte, v. 2, p. 92-8.
- Minami, N., Y. Li, Q. Guo, T. Kawamura, N. Mori, M. Nagasaka, M. Ogawa, O. Ito, H. Kurosawa, M. Kanazawa, and M. Kohzuki, 2007, Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and exercise training on exercise capacity and skeletal muscle.: J Hypertens, v. 25, p. 1241-8.
- Mitin, N., M. B. Ramocki, S. F. Konieczny, and E. J. Taparowsky, 2001, Ras regulation of skeletal muscle differentiation and gene expression: Methods Enzymol, v. 333, p. 232-47.
- Miyai, N., M. Arita, K. Miyashita, I. Morioka, T. Shiraishi, and I. Nishio, 2002, Blood pressure response to heart rate during exercise test and risk of future hypertension: Hypertension, v. 39, p. 761-6.
- Moraska, A., T. Deak, R. L. Spencer, D. Roth, and M. Fleshner, 2000, Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats: Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v. 279, p. R1321-9.

- Morris, J. N., J. A. Heady, P. A. Raffle, C. G. Roberts, and J. W. Parks, 1953, Coronary heart-disease and physical activity of work: *Lancet*, v. 265, p. 1111-20; concl.
- Motta, D. F., L. C. Lima, G. Arsa, P. S. Russo, M. M. Sales, S. R. Moreira, P. K. Morais, W. S. Almeida, R. C. Araujo, M. R. Moraes, J. L. Pesquero, H. G. Simões, and C. S. Campbell, 2010, Effect of type 2 diabetes on plasma kallikrein activity after physical exercise and its relationship to post-exercise hypotension: *Diabetes Metab.*
- Myers, J., 2003, Cardiology patient pages. Exercise and cardiovascular health: *Circulation*, v. 107, p. e2-5.
- Nadu, A. P., A. J. Ferreira, T. L. Reudelhuber, M. Bader, and R. A. Santos, 2008, Reduced isoproterenol-induced renin-angiotensin changes and extracellular matrix deposition in hearts of TGR(A1-7)3292 rats: *J Am Soc Hypertens*, v. 2, p. 341-8.
- Nakae, J., T. Kitamura, D. L. Silver, and D. Accili, 2001, The forkhead transcription factor Foxo1 (Fkhr) confers insulin sensitivity onto glucose-6-phosphatase expression: *J Clin Invest*, v. 108, p. 1359-67.
- Narkar, V. A., M. Downes, R. T. Yu, E. Emblar, Y. X. Wang, E. Banayo, M. M. Mihaylova, M. C. Nelson, Y. Zou, H. Juguilon, H. Kang, R. J. Shaw, and R. M. Evans, 2008, AMPK and PPARdelta agonists are exercise mimetics: *Cell*, v. 134, p. 405-15.
- Negrão, C. E., and H. R. Middlekauff, 2008, Exercise training in heart failure: reduction in angiotensin II, sympathetic nerve activity, and baroreflex control: *J Appl Physiol*, v. 104, p. 577-8.
- Nelson, M., W. Rejeski, S. Blair, P. Duncan, J. Judge, A. King, C. Macera, and C. Castaneda-Sceppa, 2007, Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association.: *Med Sci Sports Exerc*, v. 39, p. 1435-45.

- Osterreicher, C. H., K. Taura, S. De Minicis, E. Seki, M. Penz-Osterreicher, Y. Kodama, J. Kluwe, M. Schuster, G. Y. Oudit, J. M. Penninger, and D. A. Brenner, 2009, Angiotensin-converting-enzyme 2 inhibits liver fibrosis in mice: *Hepatology*, v. 50, p. 929-38.
- Oudit, G. Y., A. M. Herzenberg, Z. Kassiri, D. Wong, H. Reich, R. Khokha, M. A. Crackower, P. H. Backx, J. M. Penninger, and J. W. Scholey, 2006, Loss of angiotensin-converting enzyme-2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis: *Am J Pathol*, v. 168, p. 1808-20.
- Palatini, P., 1998, Exaggerated blood pressure response to exercise: pathophysiologic mechanisms and clinical relevance: *J Sports Med Phys Fitness*, v. 38, p. 1-9.
- Pekkala, S., P. Wiklund, J. J. Hulmi, J. P. Ahtiainen, M. Horttanainen, E. Pöllänen, K. A. Mäkelä, H. Kainulainen, K. Häkkinen, K. Nyman, M. Alen, K. H. Herzig, and S. Cheng, 2013, Are Skeletal Muscle FNDC5 Gene Expression and Irisin Release Regulated by Exercise and Related to Health?: *J Physiol*.
- Pellegrin, M., C. Miguët-Alfonsi, A. Berthelot, L. Mazzolai, and P. Laurant, 2011, Long-term swimming exercise does not modulate the Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation in healthy mice: *Can J Physiol Pharmacol*, v. 89, p. 72-6.
- Pereira, M., J. Ferreira, C. J. Bueno, K. Mattos, K. Rosa, M. Irigoyen, E. Oliveira, J. Krieger, and P. Brum, 2009, Exercise training reduces cardiac angiotensin II levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice.: *Eur J Appl Physiol*, v. 105, p. 843-50.
- Pescatello, L., B. Franklin, R. Fagard, W. Farquhar, G. Kelley, and C. Ray, 2004, American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension.: *Med Sci Sports Exerc*, v. 36, p. 533-53.

- Petersen, A. M., and B. K. Pedersen, 2006, The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise: *J Physiol Pharmacol*, v. 57 Suppl 10, p. 43-51.
- Petriz, B. D., J. A. Almeida, L. Migliolo, and O. L. Franco, 2013, Pharmacological Potential of Exercise and RAS Vasoactive Peptides for Prevention of Diseases: *Curr Protein Pept Sci*.
- Philippi, M., and A. H. Sillau, 1994, Oxidative capacity distribution in skeletal muscle fibers of the rat: *J Exp Biol*, v. 189, p. 1-11.
- Piepoli, M. F., 2013, Exercise training in chronic heart failure: mechanisms and therapies: *Neth Heart J*, v. 21, p. 85-90.
- Plehm, R., M. E. Barbosa, and M. Bader, 2006, Animal models for hypertension/blood pressure recording: *Methods Mol Med*, v. 129, p. 115-26.
- Pontes, F. J., R. Bacurau, M. Moraes, F. Navarro, D. Casarini, J. Pesquero, J. Pesquero, R. Araújo, and I. Piçarro, 2008, Kallikrein kinin system activation in post-exercise hypotension in water running of hypertensive volunteers.: *Int Immunopharmacol*, v. 8, p. 261-6.
- Prasad, D., and B. Das, 2009, Physical inactivity : A cardiovascular risk factor.: *Indian J Med Sci*, v. 63, p. 33-42.
- Puigserver, P., 2005, Tissue-specific regulation of metabolic pathways through the transcriptional coactivator PGC1-alpha: *Int J Obes (Lond)*, v. 29 Suppl 1, p. S5-9.
- Quinn, T., 2000, Twenty-four hour, ambulatory blood pressure responses following acute exercise: impact of exercise intensity.: *J Hum Hypertens*, v. 14, p. 547-53.
- Rabelo, L. A., P. Xu, M. Todiras, W. O. Sampaio, J. Buttgerit, M. Bader, R. A. Santos, and N. Alenina, 2008, Ablation of angiotensin (1-7) receptor Mas in

- C57Bl/6 mice causes endothelial dysfunction: *J Am Soc Hypertens*, v. 2, p. 418-24.
- Rees, D., D. Ben-Ishay, and S. Moncada, 1996, Nitric oxide and the regulation of blood pressure in the hypertension-prone and hypertension-resistant Sabra rat: *Hypertension*, v. 28, p. 367-71.
- Rees, D. D., R. M. Palmer, and S. Moncada, 1989, Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 86, p. 3375-8.
- Rey-Parra, G. J., A. Vadivel, L. Coltan, A. Hall, F. Eaton, M. Schuster, H. Loibner, J. M. Penninger, Z. Kassiri, G. Y. Oudit, and B. Thébaud, 2012, Angiotensin converting enzyme 2 abrogates bleomycin-induced lung injury: *J Mol Med (Berl)*, v. 90, p. 637-47.
- Richter, E. A., and N. B. Ruderman, 2009, AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease: *Biochem J*, v. 418, p. 261-75.
- Riegger, G. A., H. Bouzo, P. Petr, J. Münz, R. Spacek, H. Pethig, V. von Behren, M. George, and H. Arens, 1999, Improvement in exercise tolerance and symptoms of congestive heart failure during treatment with candesartan cilexetil. Symptom, Tolerability, Response to Exercise Trial of Candesartan Cilexetil in Heart Failure (STRETCH) Investigators: *Circulation*, v. 100, p. 2224-30.
- Rigat, B., C. Hubert, F. Alhenc-Gelas, F. Cambien, P. Corvol, and F. Soubrier, 1990, An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels: *J Clin Invest*, v. 86, p. 1343-6.
- Rizzoni, D., E. Porteri, M. Castellano, G. Bettoni, M. Muiesan, P. Muiesan, S. Giulini, and E. Agabiti-Rosei, 1996, Vascular hypertrophy and remodeling in secondary hypertension.: *Hypertension*, v. 28, p. 785-90.

- Rocha, F. L., E. C. Carmo, F. R. Roque, N. Y. Hashimoto, L. V. Rossoni, C. Frimm, I. Anéas, C. E. Negrão, J. E. Krieger, and E. M. Oliveira, 2007, Anabolic steroids induce cardiac renin-angiotensin system and impair the beneficial effects of aerobic training in rats: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 293, p. H3575-83.
- Rocha, L. A., B. A. Petriz, D. H. Borges, R. J. Oliveira, R. V. de Andrade, G. B. Domont, R. W. Pereira, and O. L. Franco, 2012, High molecular mass proteomics analyses of left ventricle from rats subjected to differential swimming training: *BMC Physiol*, v. 12, p. 11.
- Rosenkranz, A. C., R. L. Woods, G. J. Dusting, and R. H. Ritchie, 2003, Antihypertrophic actions of the natriuretic peptides in adult rat cardiomyocytes: importance of cyclic GMP: *Cardiovasc Res*, v. 57, p. 515-22.
- Rullman, E., J. Norrbom, A. Strömberg, D. Wågsäter, H. Rundqvist, T. Haas, and T. Gustafsson, 2009, Endurance exercise activates matrix metalloproteinases in human skeletal muscle: *J Appl Physiol*, v. 106, p. 804-12.
- Rullman, E., H. Rundqvist, D. Wågsäter, H. Fischer, P. Eriksson, C. J. Sundberg, E. Jansson, and T. Gustafsson, 2007, A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle: *J Appl Physiol*, v. 102, p. 2346-51.
- Rush, J. W., and C. D. Aultman, 2008, Vascular biology of angiotensin and the impact of physical activity: *Appl Physiol Nutr Metab*, v. 33, p. 162-72.
- Sadoshima, J., and S. Izumo, 1993, Molecular characterization of angiotensin II--induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype: *Circ Res*, v. 73, p. 413-23.
- Saltin, B., 2007, Exercise hyperaemia: magnitude and aspects on regulation in humans.: *J Physiol*, v. 583, p. 819-23.

- Sampaio, W. O., C. Henrique de Castro, R. A. Santos, E. L. Schiffrin, and R. M. Touyz, 2007, Angiotensin-(1-7) counterregulates angiotensin II signaling in human endothelial cells: *Hypertension*, v. 50, p. 1093-8.
- Santos, R. A., K. B. Brosnihan, M. C. Chappell, J. Pesquero, C. L. Chernicky, L. J. Greene, and C. M. Ferrario, 1988, Converting enzyme activity and angiotensin metabolism in the dog brainstem: *Hypertension*, v. 11, p. 1153-7.
- Santos, R. A., M. J. Campagnole-Santos, and S. P. Andrade, 2000, Angiotensin-(1-7): an update: *Regul Pept*, v. 91, p. 45-62.
- Santos, R. A., C. H. Castro, E. Gava, S. V. Pinheiro, A. P. Almeida, R. D. Paula, J. S. Cruz, A. S. Ramos, K. T. Rosa, M. C. Irigoyen, M. Bader, N. Alenina, G. T. Kitten, and A. J. Ferreira, 2006, Impairment of in vitro and in vivo heart function in angiotensin-(1-7) receptor MAS knockout mice: *Hypertension*, v. 47, p. 996-1002.
- Santos, R. A., A. C. Simoes e Silva, C. Maric, D. M. Silva, R. P. Machado, I. de Buhr, S. Heringer-Walther, S. V. Pinheiro, M. T. Lopes, M. Bader, E. P. Mendes, V. S. Lemos, M. J. Campagnole-Santos, H. P. Schultheiss, R. Speth, and T. Walther, 2003, Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 100, p. 8258-63.
- Santos, S. H., L. R. Fernandes, E. G. Mario, A. V. Ferreira, L. C. Pôrto, J. I. Alvarez-Leite, L. M. Botion, M. Bader, N. Alenina, and R. A. Santos, 2008, Mas deficiency in FVB/N mice produces marked changes in lipid and glycemic metabolism: *Diabetes*, v. 57, p. 340-7.
- Savu, O., R. Jurcuț, S. Giușcă, T. van Mieghem, I. Gussi, B. A. Popescu, C. Ginghină, F. Rademakers, J. Deprest, and J. U. Voigt, 2012, Morphological and functional adaptation of the maternal heart during pregnancy: *Circ Cardiovasc Imaging*, v. 5, p. 289-97.
- Schiavone, M. T., R. A. Santos, K. B. Brosnihan, M. C. Khosla, and C. M. Ferrario, 1988, Release of vasopressin from the rat hypothalamo-neurohypophysial

system by angiotensin-(1-7) heptapeptide: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 85, p. 4095-8.

Schieffer, B., A. Wirger, M. Meybrunn, S. Seitz, J. Holtz, U. N. Riede, and H. Drexler, 1994, Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat: *Circulation*, v. 89, p. 2273-82.

Schäfer, S., W. Linz, and K. Hürland, 2006, Decreased wheel-running activity in hamsters post myocardial infarction: *J Transl Med*, v. 4, p. 51.

Sedehi, D., and E. A. Ashley, 2010, Defining the limits of athlete's heart: implications for screening in diverse populations: *Circulation*, v. 121, p. 1066-8.

Seto, S., S. Nagao, S. Ozeki, H. Tetsuo, M. Akahoshi, and K. Yano, 2006, Contribution of central nitric oxide to the regulation of blood pressure and sodium balance in DOCA-salt hypertension: *J Cardiovasc Pharmacol*, v. 47, p. 680-5.

Sigal, R., G. Kenny, D. Wasserman, C. Castaneda-Sceppa, and R. White, 2006, Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association.: *Diabetes Care*, v. 29, p. 1433-8.

Silva, D. M., A. Gomes-Filho, V. C. Olivon, T. M. Santos, L. K. Becker, R. A. Santos, and V. S. Lemos, 2011, Swimming training improves the vasodilator effect of angiotensin-(1-7) in the aorta of spontaneously hypertensive rat: *J Appl Physiol*, v. 111, p. 1272-7.

Singh, J. P., M. G. Larson, T. A. Manolio, C. J. O'Donnell, M. Lauer, J. C. Evans, and D. Levy, 1999, Blood pressure response during treadmill testing as a risk factor for new-onset hypertension. The Framingham heart study: *Circulation*, v. 99, p. 1831-6.

Skeggs, L. T., 1993, Discovery of the two angiotensin peptides and the angiotensin converting enzyme: *Hypertension*, v. 21, p. 259-60.

- Skeggs, L. T., W. H. Marsh, J. R. Kahn, and N. P. Shumway, 1954a, The existence of two forms of hypertensin: *J Exp Med*, v. 99, p. 275-82.
- Skeggs, L. T., W. H. Marsh, J. R. Kahn, and N. P. Shumway, 1954b, The purification of hypertensin I: *J Exp Med*, v. 100, p. 363-70.
- Skurk, C., Y. Izumiya, H. Maatz, P. Razeghi, I. Shiojima, M. Sandri, K. Sato, L. Zeng, S. Schiekofer, D. Pimentel, S. Lecker, H. Taegtmeyer, A. L. Goldberg, and K. Walsh, 2005, The FOXO3a transcription factor regulates cardiac myocyte size downstream of AKT signaling: *J Biol Chem*, v. 280, p. 20814-23.
- Sluik, D., B. Buijsse, R. Muckelbauer, R. Kaaks, B. Teucher, N. F. Johnsen, A. Tjønneland, K. Overvad, J. N. Ostergaard, P. Amiano, E. Ardanaz, B. Bendinelli, V. Pala, R. Tumino, F. Ricceri, A. Mattiello, A. M. Spijkerman, E. M. Monninkhof, A. M. May, P. W. Franks, P. M. Nilsson, P. Wennberg, O. Rolandsson, G. Fagherazzi, M. C. Boutron-Ruault, F. Clavel-Chapelon, J. M. Castaño, V. Gallo, H. Boeing, and U. Nöthlings, 2012, Physical Activity and Mortality in Individuals With Diabetes Mellitus: A Prospective Study and Meta-analysis: *Arch Intern Med*, v. 172, p. 1285-95.
- Smart, N. A., and M. Steele, 2010, Systematic review of the effect of aerobic and resistance exercise training on systemic brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal BNP expression in heart failure patients: *Int J Cardiol*, v. 140, p. 260-5.
- Smulyan, H., R. P. Cuddy, W. A. Vincent, U. Kashemsant, and R. H. Eich, 1965, Initial hemodynamic responses to mild exercise in trained dogs: *J Appl Physiol*, v. 20, p. 437-42.
- Stewart, K., 2002, Exercise training and the cardiovascular consequences of type 2 diabetes and hypertension: plausible mechanisms for improving cardiovascular health.: *JAMA*, v. 288, p. 1622-31.
- Stewart, K. J., J. Sung, H. A. Silber, J. L. Fleg, M. D. Kelemen, K. L. Turner, A. C. Bacher, D. A. Dobrosielski, J. R. DeRegis, E. P. Shapiro, and P. Ouyang,

- 2004, Exaggerated exercise blood pressure is related to impaired endothelial vasodilator function: *Am J Hypertens*, v. 17, p. 314-20.
- Sugihara, M., F. Odagiri, T. Suzuki, T. Murayama, Y. Nakazato, K. Unuma, K. Yoshida, H. Daida, T. Sakurai, S. Morimoto, and N. Kurebayashi, 2013, Usefulness of running wheel for detection of congestive heart failure in dilated cardiomyopathy mouse model: *PLoS One*, v. 8, p. e55514.
- Sun, F., I. J. Norman, and A. E. While, 2013, Physical activity in older people: a systematic review: *BMC Public Health*, v. 13, p. 449.
- Sutton, M. G., and N. Sharpe, 2000, Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy: *Circulation*, v. 101, p. 2981-8.
- Tanasescu, M., M. F. Leitzmann, E. B. Rimm, W. C. Willett, M. J. Stampfer, and F. B. Hu, 2002, Exercise type and intensity in relation to coronary heart disease in men: *JAMA*, v. 288, p. 1994-2000.
- Terziotti, P., F. Schena, G. Gulli, and A. Cevese, 2001, Post-exercise recovery of autonomic cardiovascular control: a study by spectrum and cross-spectrum analysis in humans.: *Eur J Appl Physiol*, v. 84, p. 187-94.
- Thanassoulis, G., A. Lyass, E. J. Benjamin, M. G. Larson, J. A. Vita, D. Levy, N. M. Hamburg, M. E. Widlansky, C. J. O'Donnell, G. F. Mitchell, and R. S. Vasan, 2012, Relations of exercise blood pressure response to cardiovascular risk factors and vascular function in the Framingham Heart Study: *Circulation*, v. 125, p. 2836-43.
- Thijssen, D. H., N. T. Cable, and D. J. Green, 2012, Impact of exercise training on arterial wall thickness in humans: *Clin Sci (Lond)*, v. 122, p. 311-22.
- Thomas, C. V., M. L. Coker, J. L. Zellner, J. R. Handy, A. J. Crumbley, and F. G. Spinale, 1998, Increased matrix metalloproteinase activity and selective upregulation in LV myocardium from patients with end-stage dilated cardiomyopathy: *Circulation*, v. 97, p. 1708-15.

- Thompson, P. D., D. Buchner, I. L. Pina, G. J. Balady, M. A. Williams, B. H. Marcus, K. Berra, S. N. Blair, F. Costa, B. Franklin, G. F. Fletcher, N. F. Gordon, R. R. Pate, B. L. Rodriguez, A. K. Yancey, N. K. Wenger, R. h. American Heart Association Council on Clinical Cardiology Subcommittee on Exercise, and Prevention, and P. y. A. American Heart Association Council on Nutrition, and Metabolism Subcommittee on Physical Activity, 2003, Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity): *Circulation*, v. 107, p. 3109-16.
- Tipnis, S. R., N. M. Hooper, R. Hyde, E. Karran, G. Christie, and A. J. Turner, 2000, A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase: *J Biol Chem*, v. 275, p. 33238-43.
- Trivedi, C. M., and J. A. Epstein, 2011, Heart-healthy hypertrophy: *Cell Metab*, v. 13, p. 3-4.
- Tsatsoulis, A., and S. Fountoulakis, 2006, The protective role of exercise on stress system dysregulation and comorbidities.: *Ann N Y Acad Sci*, v. 1083, p. 196-213.
- Umpierre, D., P. A. Ribeiro, C. K. Kramer, C. B. Leitão, A. T. Zucatti, M. J. Azevedo, J. L. Gross, J. P. Ribeiro, and B. D. Schaan, 2011, Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis: *JAMA*, v. 305, p. 1790-9.
- Urata, H., H. Nishimura, and D. Ganten, 1995, Mechanisms of angiotensin II formation in humans.: *Eur Heart J*, v. 16 Suppl N, p. 79-85.
- van Berlo, J. H., M. Maillet, and J. D. Molkenin, 2013, Signaling effectors underlying pathologic growth and remodeling of the heart: *J Clin Invest*, v. 123, p. 37-45.

- van Praag, H., G. Kempermann, and F. H. Gage, 1999, Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus: *Nat Neurosci*, v. 2, p. 266-70.
- Vanecková, I., H. J. Kramer, J. Novotná, L. Kazdová, M. Opocenský, M. Bader, D. Ganten, and L. Cervenka, 2005, Roles of nitric oxide and oxidative stress in the regulation of blood pressure and renal function in prehypertensive Ren-2 transgenic rats: *Kidney Blood Press Res*, v. 28, p. 117-26.
- Vaz-Silva, J., R. L. Tavares, M. C. Ferreira, K. Honorato-Sampaio, I. K. Cavallo, R. A. Santos, A. M. dos Reis, and F. M. Reis, 2012, Tissue specific localization of angiotensin-(1-7) and its receptor Mas in the uterus of ovariectomized rats: *J Mol Histol*, v. 43, p. 597-602.
- Ventura-Clapier, R., A. Garnier, and V. Veksler, 2008, Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1 α : *Cardiovasc Res*, v. 79, p. 208-17.
- Verano-Braga, T., V. Schwämmle, M. Sylvester, D. G. Passos-Silva, A. A. Peluso, G. M. Etelvino, R. A. Santos, and P. Roepstorff, 2012, Time-Resolved Quantitative Phosphoproteomics: New Insights into Angiotensin-(1-7) Signaling Networks in Human Endothelial Cells: *J Proteome Res*.
- Vina, J., F. Sanchis-Gomar, V. Martinez-Bello, and M. C. Gomez-Cabrera, 2012, Exercise acts as a drug; the pharmacological benefits of exercise: *Br J Pharmacol*, v. 167, p. 1-12.
- Walsh, N. P., M. Gleeson, R. J. Shephard, J. A. Woods, N. C. Bishop, M. Fleshner, C. Green, B. K. Pedersen, L. Hoffman-Goetz, C. J. Rogers, H. Northoff, A. Abbasi, and P. Simon, 2011, Position statement. Part one: Immune function and exercise: *Exerc Immunol Rev*, v. 17, p. 6-63.
- Walther, T., N. Wessel, N. Kang, A. Sander, C. Tschöpe, H. Malberg, M. Bader, and A. Voss, 2000, Altered heart rate and blood pressure variability in mice lacking the Mas protooncogene: *Braz J Med Biol Res*, v. 33, p. 1-9.

- Wang, Y., U. Wisloff, and O. J. Kemi, 2010, Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy: *Physiol Res*, v. 59, p. 633-44.
- Weeks, K. L., and J. R. McMullen, 2011, The athlete's heart vs. the failing heart: can signaling explain the two distinct outcomes?: *Physiology (Bethesda)*, v. 26, p. 97-105.
- Weiner, R. B., and A. L. Baggish, 2012, Exercise-induced cardiac remodeling: *Prog Cardiovasc Dis*, v. 54, p. 380-6.
- Weller, B., G. Karpati, and S. Carpenter, 1990, Dystrophin-deficient mdx muscle fibers are preferentially vulnerable to necrosis induced by experimental lengthening contractions: *J Neurol Sci*, v. 100, p. 9-13.
- Whittaker, P., D. R. Boughner, and R. A. Kloner, 1991, Role of collagen in acute myocardial infarct expansion: *Circulation*, v. 84, p. 2123-34.
- Wilson, M. F., B. H. Sung, G. A. Pincomb, and W. R. Lovallo, 1990, Exaggerated pressure response to exercise in men at risk for systemic hypertension: *Am J Cardiol*, v. 66, p. 731-6.
- Wong, D. W., G. Y. Oudit, H. Reich, Z. Kassiri, J. Zhou, Q. C. Liu, P. H. Backx, J. M. Penninger, A. M. Herzenberg, and J. W. Scholey, 2007, Loss of angiotensin-converting enzyme-2 (Ace2) accelerates diabetic kidney injury: *Am J Pathol*, v. 171, p. 438-51.
- Wu, H., S. B. Kanatous, F. A. Thurmond, T. Gallardo, E. Isotani, R. Bassel-Duby, and R. S. Williams, 2002, Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK: *Science*, v. 296, p. 349-52.
- Xie, M., J. S. Burchfield, and J. A. Hill, 2013, Pathological ventricular remodeling: therapies: part 2 of 2: *Circulation*, v. 128, p. 1021-30.
- Xu, P., A. C. Costa-Goncalves, M. Todiras, L. A. Rabelo, W. O. Sampaio, M. M. Moura, S. S. Santos, F. C. Luft, M. Bader, V. Gross, N. Alenina, and R. A.

Santos, 2008, Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in MAS gene-deleted mice: *Hypertension*, v. 51, p. 574-80.

Young, D., K. O'Neill, T. Jessell, and M. Wigler, 1988, Characterization of the rat mas oncogene and its high-level expression in the hippocampus and cerebral cortex of rat brain: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 85, p. 5339-42.

Zhong, J., R. Basu, D. Guo, F. L. Chow, S. Byrns, M. Schuster, H. Loibner, X. H. Wang, J. M. Penninger, Z. Kassiri, and G. Y. Oudit, 2010, Angiotensin-converting enzyme 2 suppresses pathological hypertrophy, myocardial fibrosis, and cardiac dysfunction: *Circulation*, v. 122, p. 717-28, 18 p following 728.

Zinman, B., N. Ruderman, B. Campagne, J. Devlin, and S. Schneider, 2003, Physical activity/exercise and diabetes mellitus.: *Diabetes Care*, v. 26 Suppl 1, p. S73-7.

Zisman, L. S., R. S. Keller, B. Weaver, Q. Lin, R. Speth, M. R. Bristow, and C. C. Canver, 2003, Increased angiotensin-(1-7)-forming activity in failing human heart ventricles: evidence for upregulation of the angiotensin-converting enzyme Homologue ACE2: *Circulation*, v. 108, p. 1707-12.

ANEXOS

Tabela 7. Efeitos da deleção do receptor MAS, do treinamento aeróbio e da combinação da deleção do MAS e do treinamento aeróbio.

	Deficiência do MAS	Exercício Físico	Deficiência do MAS + Exercício Físico
Hipertrofia cardíaca	S/A	↑	↑
Massa muscular	↑	↑	S/A
% de gordura	↓	↓	S/A
Ang II/AngI	S/A	↓	↑
Pressão Arterial	↑	↓	↑

Deficiência do MAS: efeito nos animais MAS-KO; Exercício Físico: Corrida voluntária; ↑: aumento, ↓: redução, S/A: sem alteração; Ang II/AngI: níveis plasmático de angiotensina II/angiotensina I.