

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E BIOFÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
Fisiologia e Farmacologia

Efeitos do treinamento físico e do sedentarismo sobre a resposta cardiovascular ao estresse emocional agudo: participação do hipotálamo dorsomedial

Aluna: Cristiane Amorim de Paula

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes

Co-orientador: Cândido Celso Coimbra

Belo Horizonte

2021

CRISTIANE AMORIM DE PAULA

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DO SEDENTARISMO
SOBRE A RESPOSTA CARDIOVASCULAR AO ESTRESSE
EMOCIONAL AGUDO: PARTICIPAÇÃO DO HIPOTÁLAMO
DORSOMEDIAL

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

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes

Coorientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra

Cristiane Amorim de Paula

Belo Horizonte

2021

043

Paula, Cristiane Amorim de.

Efeitos do treinamento físico e do sedentarismo sobre a resposta cardiovascular ao estresse emocional agudo: participação do hipotálamo dorsomedial [manuscrito] / Cristiane Amorim de Paula. - 2021.

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

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes. Coorientador: Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Fisiologia. 2. Sistema Nervoso Central. 3. Estilo de Vida Sedentário. 4. Estresse Psicológico. 5. Exercício. 6. Hipotálamo Médio. I. Fontes, Marco Antônio Peliky. II. Coimbra, Cândido Celso. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISILOGIA E FARMACOLOGIA

ATA DA DEFESA DA TESE Nº 339 DE CRISTIANE AMORIM DE PAULA

Às 13:00 horas do dia 18 do mês de junho de 2021, transmitida através de webconferência do Google Meet, realizou-se a sessão pública para a defesa da Tese de **Cristiane Amorim de Paula**. A presidência da sessão coube ao **Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes**, orientador. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: **Prof. Dr. Ruy Ribeiro Campos Júnior**, EPM/Universidade Federal de São Paulo, **Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani**, FCFAR/Universidade Estadual Paulista, **Prof. Dr. Samuel Penna Wanner**, Universidade Federal de Minas Gerais/EEFFTO, **Profa. Dra. Andrea Siqueira Halbara**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, **Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, coorientador, e **Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, orientador. Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua Tese de Doutorado, intitulada: **"Efeitos do Treinamento Físico e do Sedentarismo Sobre a Resposta Cardiovascular ao Estresse Emocional Agudo: Participação do Hipotálamo Dorsomedial"**. Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar **APROVADA** a Tese de Doutorado. O resultado final foi comunicado publicamente a candidata pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 18 de junho de 2021.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Samuel Penna Wanner**, Professor do Magistério Superior, em 21/06/2021, às 12:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ruy Ribeiro de Campos Junior**, Usuário Externo, em 21/06/2021, às 13:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andrea Siqueira Halbara**, Membro de comissão, em 21/06/2021, às 15:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Cesar Crestani**, Usuário Externo, em 21/06/2021, às 17:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Candido Celso Coimbra**, Professor do Magistério Superior, em 24/06/2021, às 16:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DEFESA DA TESE N° 339 DE CRISTIANE AMORIM DE PAULA

**"Efeitos do Treinamento Físico e do Sedentarismo Sobre a Resposta Cardiovascular
ao Estresse Emocional Agudo: Participação do Hipotálamo Dorsomedial"**

CRISTIANE AMORIM DE PAULA

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia 18 de junho de 2021, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Ruy Ribeiro Campos Júnior, EPM/Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani, FCFAR/Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Samuel Penna Wanner, Universidade Federal de Minas Gerais/EEFFTD
Profa. Dra. Andrea Siqueira Halbara, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Dr. Cândido Celso Coimbra, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais - Coorientador
Prof. Dr. Marco Antônio Pelliky Fontes, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais - Orientador

Belo Horizonte, 18 de junho de 2021.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Samuel Penna Wanner**, Professor do Magistério Superior, em 21/06/2021, às 12:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ruy Ribeiro de Campos Junior**, Usuário Externo, em 21/06/2021, às 13:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andrea Siqueira Halbara**, Membro de comissão, em 21/06/2021, às 15:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Hipertensão em parceria com o Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo ambos do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, na vigência dos auxílios concedidos pelo Conselho Nacional e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos meus pais, José Eduardo e Rosangela, pilares da minha formação.

Ao Davidson, por todo amor e companheirismo.

Às minhas irmãs, Fabiane e Letícia, pela torcida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a população brasileira por financiarem a pesquisa brasileira. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus pais, exemplos de força, persistência. Agradeço pelo apoio, incentivo e amor incondicional. Pilares da minha vida

Às minhas irmãs, por torcerem sempre me apoiarem.

Ao meu marido por sempre ter apoiado as minhas decisões. Por sempre estar ao meu lado e por acreditar em mim até nos momento que eu mesma duvidava.

Aos meus cunhados pela torcida.

Ao Prof. Marco Antônio Peliky Fontes pela confiança depositada em mim. Serei eternamente grata a oportunidade que me foi oferecida.

Ao Prof. Cândido Coimbra que me acolheu e me ensinou muito sobre treinamento físico.

Aos professores do Laboratório de Hipertensão Robson Santos, Andréa Haibara, Maria José, Thiago Verano por todo o conhecimento que me foi transmitido, pelas confraternizações e conversas.

Aos professores do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo local onde eu treinava os meus animais, mas, principalmente, pela convivência, pelas conversas. Aprendi muito com todos.

Aos meus amigos do Laboratório de Hipertensão – Daniele, Edneia, Erick, Filipe, Filipi, Gabriel, Gabriela, Igor, Mariana, Nádia, Sthefanie – e amigos do Laboratorio de Endocrinologia – Bruna, Nayara, Paola, Quezia, Thais – vocês tiveram uma importância incrível durante todos estes anos. Não tenho palavras para agradecer. Amos todos vocês.

A técnica Simone pelas inúmeras ajudas e amizade.

A todos os professores e amigos do Departamento pela amizade e apoio.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	13
RESUMO	14
ABSTRACT	16
1. Introdução.....	18
1.1. Estresse.....	18
1.2. Hipotálamo dorsomedial: conexões e função.....	19
1.3. Sedentarismo vs Treinamento físico	20
1.4. Sedentarismo, treinamento físico e estresse agudo	24
2. Justificativa.....	27
3. Objetivo Geral	28
3.1. Objetivos específicos.....	28
4. Materiais e métodos	29
4.1. Cuidados éticos	29
4.2. Animais	29
4.3. Protocolos experimentais	29
4.4. Delineamento experimental.....	30
4.4.1. Protocolo 1	31
4.4.2. Protocolo 2	32
4.4.3. Protocolo 3 e 4.....	33
4.5. Anestesia	34
4.6. Drogas experimentais.....	35
4.7. Procedimentos cirúrgicos	35
4.7.1. Estereotaxia e microinjeção.....	35
4.7.2. Canulação da artéria e veia femorais.....	37
4.7.3. Traqueostomia.....	38
4.7.4. Posicionamento dos eletrodos do eletrocardiograma	38
4.7.5. Isolamento e registro da atividade simpática do nervo renal	39
4.8. Procedimento de nanoinjeção no Hipotálamo Dorsomedial	40
4.9. Eutanásia	41
4.10. Histologia	41
4.11. Treinamento físico.....	42
4.11.1. Familiarização	43
4.11.2. Teste progressivo máximo	43
4.11.3. Protocolo do treinamento físico	43

4.12.	Variáveis.....	46
4.12.1.	Tempo de exercício (TE).....	46
4.12.2.	Trabalho (W).....	46
4.13.	Labirinto em cruz elevado.....	47
4.14.	Índice de adiposidade.....	48
4.15.	Paradigmas de estresse agudo.....	48
4.15.1.	Estresse por mudança de ambiente.....	48
4.15.2.	Estresse pelo jato de ar.....	49
4.16.	Análise estatística.....	49
5.	Resultados.....	50
5.1.	Resultados do protocolo experimental 1.....	50
5.1.1.	Características dos animais.....	50
5.1.2.	Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a reatividade cardíaca ao estresse emocional agudo.....	57
5.2.	Resultados do protocolo experimental 2.....	60
5.2.1.	Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação gabaérgica dos neurônios do HDM em animais acordados.....	60
5.3.	Resultados do protocolo experimental 3.....	Erro! Indicador não definido.
5.3.1.	Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação glutamatérgica dos neurônios do HDM em animais acordados.....	63
5.4.	Resultados do protocolo experimental 4.....	66
5.4.1.	Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação gabaérgica dos neurônios do HDM em animais anestesiados.....	66
5.5.	Resultados do protocolo experimental 5.....	Erro! Indicador não definido.
5.5.1.	Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação glutamatérgica dos neurônios do HDM em animais anestesiados.....	69
5.6.	Resultados do protocolo experimental 6.....	71
5.6.1.	Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a interação da modulação glutamatérgica e gabaérgica dos neurônios do HDM em animais anestesiados.....	71
5.7.	Resultado da análise histológica.....	75
5.7.1.	Microinjeção de BMI acordado.....	75
5.7.2.	Microinjeção de NMDA acordado.....	76
5.7.3.	Microinjeção de BMI anestesiado.....	77
5.7.4.	Microinjeção de NMDA anestesiado.....	78
5.7.5.	Microinjeção de AP-5 seguido BMI.....	79
6.	Discussão.....	80
7.	Conclusão.....	92
8.	Considerações finais.....	92
9.	Referência.....	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Desenho esquemático da ativação do hipotálamo dorsomedial diante do estresse agudo.	20
Figura 4.1 Traçado representativo do estresse agudo "cage switch stress" e o estresse pelo jato de ar	32
Figura 4.2 Traçado representativo das microinjeções no hipotálamo dorsomedial em animais acordados.....	33
Figura 4.3 Traçado representativo da microinjeção no hipotálamo dorsomedial em animais anestesiados.....	34
Figura 4.4 Esquema representativo da cirurgia de estereotaxia	37
Figura 4.5 Esquema representativo da cirurgia de canulação da artéria e veia femoral.	38
Figura 4.6 Esquema representativo da cirurgia de traqueostomia.....	38
Figura 4.7 Esquema representativo do posicionamento dos eletrodos para o registro do eletrocardiograma.	39
Figura 4.8 Esquema representativo do registro da atividade simpática renal em animais anestesiados.	40
Figura 4.9 Esquema representativo do teste de labirinto em cruz elevado.....	47
Figura 4.10 Esquema representativo do paradigma de estresse por mudança de ambiente	48
Figura 4.11 Esquema representativo do estresse de contenção e jato de ar	49
Figura 5.1: Capacidade aeróbica.	51
Figura 5.2 Massa corporal	52
Figura 5.3 Índice de adiposidade.....	53
Figura 5.4 Parâmetros cardiovasculares basais.	54
Figura 5.5 Atividade simpática do nervo renal.....	55
Figura 5.6 Teste do labirinto em cruz elevado..	56
Figura 5.7 Massa dos tecidos corrigidos pela massa corporal.....	57

Figura 5.8 Análise temporal das respostas cardiovasculares ao cage switch stress.	59
Figura 5.9 Análise temporal das respostas cardiovasculares ao estresse pelo jato de ar.60	
Figura 5.10 Análise temporal das respostas cardiovasculares a microinjeção de bicuculina nos animais acordados.	62
Figura 5.11 Variação máxima dos parâmetros cardiovasculares durante a microinjeção de BMI	63
Figura 5.12: Análise temporal das respostas cardiovasculares a microinjeção de NMDA em animais acordados.....	65
Figura 5.13 Variação máxima dos parâmetros cardiovasculares durante a microinjeção de NMDA	66
Figura 5.14: Análise temporal das respostas autonômicas e cardiovasculares. a microinjeção de bicuculina em animais anestesiados.	67
Figura 5.15 Variação máxima dos parâmetros autonômicos e cardiovasculares durante a microinjeção de BMI no HDM D de animais anestesiados.....	68
Figura 5.16 Análise temporal das respostas autonômicas e cardiovasculares. a microinjeção de NMDA em animais anestesiados.....	70
Figura 5.17 Análise temporal das respostas autonômicas e cardiovasculares. a microinjeção de AP-5 no HDM direito de animais anestesiados.	72
Figura 5.18 Análise temporal das respostas autonômicas e cardiovasculares a microinjeção de BMI após bloqueio dos receptores glutamatérgicos no HDM direito de animais anestesiados.....	73
Figura 5.21 Representação esquemática da microinjeção de bicuculina no hipotálamo dorsomedial D de ratos acordados.....	75
Figura 5.22 Representação esquemática da microinjeção de NMDA no hipotálamo dorsomedial D de ratos acordados.....	76
Figura 5.23 Representação esquemática da microinjeção de bicuculina (BMI) no hipotálamo dorsomedial D de ratos anestesiados.	77
Figura 5.24 Representação esquemática da microinjeção de NMDA no hipotálamo dorsomedial D de ratos anestesiados.	78
Figura 5.25 Representação esquemática da microinjeção de de AP-5 seguida por BMI no hipotálamo dorsomedial D de ratos anestesiados.	79
Figura 6.1 Esquema representativo das alterações neuronais do hipotálamo dorsomedial ao comportamento sedentário e ao treinamento físico	90

LISTA DE ABREVIATURAS

ANG (1-7)	Angiotensina (1-7)
ANG II	Angiotensina II
AP-5	Ácido DL-2-amino-5-fosfonopentanóico
ASNR	Atividade Simpática do Nervo Renal
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
EPM	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
GABA A	receptor para ácido gama amino butírico (subtipo A)
NMDA	N-metil-D-aspartato
HDM	Hipotálamo Dorsomedial
PAM	Pressão arterial média
PVN	Núcleo paraventricular do hipotálamo
RVLM	Bulbo ventrolateral rostral
s	Segundos
SEDEN	Sedentário
SRA	Sistema Renina Angiotensina
TE	Tempo de exercício
TREIN	Treinado
v	Velocidade da esteira
VE	Ventrículo esquerdo
V _{máx}	Velocidade máxima

RESUMO

O mundo urbano oferece dois grandes desafios à homeostase. Primeiro, o comportamento sedentário, que é considerado o principal fator de impacto na saúde global; e segundo, o estresse emocional, que é considerado atualmente um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como hipertensão, arritmias cardíacas e infarto do miocárdio. Estudos têm sugerido que o sedentarismo exacerba as respostas cardiovasculares diante de uma situação de estresse e que o exercício físico parece atenuar as respostas autonômicas e cardiovasculares ao estresse agudo. Entretanto, os mecanismos centrais envolvidos ainda permanecem desconhecidos. O hipotálamo dorsomedial (HDM) é apontado como o núcleo chave que controla as respostas autonômicas e cardiovasculares ao estresse emocional. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do comportamento sedentário e do treinamento físico na resposta autonômica e cardiovascular ao estresse emocional agudo e nas propriedades funcionais dos neurônios do hipotálamo dorsomedial. O protocolo de aprovação ética: 278/2017 (CEUA-UFMG). Foram utilizados ratos Wistar com seis semanas de idade submetidos a oito semanas de treinamento físico aeróbio com intensidade de 50 a 60% da capacidade máxima, uma hora por dia, cinco vezes por semana denominado grupo treinado (TREIN). O grupo sedentário (SEDEN) foi exposto a esteira rolante por cinco minutos a uma velocidade de 0,8 m / min, cinco vezes na semana. Os nossos resultados mostram que o comportamento sedentário alterou vários parâmetros funcionais (índice de adiposidade – SEDEN: $2,8 \pm 0,26$ vs TREIN: $2,1 \pm 0,16\%$; atividade simpática basal – SEDEN: 134 ± 5 vs TREIN: 107 ± 9 spike/min; frequência cardíaca de repouso – SEDEN: 382 ± 14 vs TREIN: 342 ± 7 bpm) e resultou em exacerbação da resposta cardiovascular ao estresse emocional agudo. A desinibição do HDM com a microinjeção do antagonista GABA_A, bicuculina, resultou em maiores alterações na frequência cardíaca (Δ FC SEDEN: 107 ± 26 vs TREIN: 38 ± 14 bpm) e atividade simpática do nervo renal (Δ ASNR SEDEN: 96 ± 16 vs TREIN: $42 \pm 10\%$) dos animais sedentários. A estimulação dos receptores NMDA do HDM em animais acordados, resultou claramente em maior resposta pressora (Δ PAM SEDEN: 13 ± 2 vs TREIN: 4 ± 2 mmHg) e taquicárdica (Δ FC SEDEN: 127 ± 23 vs TREIN: 50 ± 13 bpm) no grupo sedentário. O bloqueio dos receptores NMDA nos animais anestesiados, resultou em um aumento na ASNR nos animais treinados (ASNR SEDEN: 1 ± 7 vs TREIN: $67 \pm 21\%$). Nossos resultados confirmam e estendem achados anteriores mostrando que o sedentarismo altera parâmetros importantes para a

homeostase e potencia a resposta cardiovascular associada ao estresse. Parte deste efeito parece envolver alterações no balanço GABA-Glutamato no HDM resultando em alterações na reatividade autonômica e tônus autonômico. Desta forma, o presente estudo sugere que o sedentarismo pode ser um facilitador do desenvolvimento de doenças cardiovasculares incluindo aquelas associadas ao estresse e que alterações neuroquímicas no HDM fazem parte dos mecanismos centrais envolvidos.

Palavras-chaves: sistema nervoso central, sedentarismo, estresse emocional, treinamento físico, hipotálamo dorsomedial

ABSTRACT

The urban world has two great challenges to homeostasis. First, sedentary behavior, which is considered the main impact factor on global health; and second, emotional stress, which is considered an important risk factor for the development of cardiovascular diseases, such as hypertension, cardiac arrhythmias and myocardial infarction. Studies have suggested that sedentary lifestyle exacerbates cardiovascular responses to a stressful situation and that physical exercise seems to attenuate as autonomic and cardiovascular responses to acute stress. However, the remaining mechanisms still remain unknown. The dorsomedial hypothalamus (DMH) is pointed as the key nucleus that controls the autonomic and cardiovascular responses to emotional stress. The objective of this work was to evaluate the effects of sedentary behavior and physical training on the autonomic and cardiovascular response to acute emotional stress and on the desired properties of neurons in the dorsomedial hypothalamus. The ethical protocol: 278/2017 (CEUA-UFMG). Six-week-old Wistar rats were used during eight weeks of aerobic physical training with an intensity of 50 to 60% of the maximum capacity, one hour a day, five times a week called the trained group (TRAIN). The sedentary group (SEDEN) was exposed to a treadmill for five minutes at a speed of 0.8 m/min, five times a week. Our results show that sedentary behavior changed several standard parameters (adiposity index - SEDEN: 2.8 ± 0.26 vs TREIN: $2.1 \pm 0.16\%$; baseline sympathetic activity - SEDEN: 134 ± 5 vs TREIN: 107 ± 9 spike / min; resting heart rate - SEDEN: 382 ± 14 vs TREIN: 342 ± 7 bpm) and resulted in an exacerbation of the cardiovascular response to acute emotional stress. Disinhibition of DMH with microinjection of the GABAA antagonist bicuculline resulted in greater changes in heart rate (HR - Δ HR SEDEN: 107 ± 26 vs TREIN: 38 ± 14 bpm) and renal sympathetic nerve (ASNR - Δ ASNR SEDEN : 96 ± 16 vs TREIN: $42 \pm 10\%$) of sedentary animals. The stimulation of DMH NMDA receptors in awake animals clearly resulted in greater pressor response (Δ PAM SEDEN: 13 ± 2 vs TREIN: 4 ± 2 mmHg) and tachycardia (Δ FC SEDEN: 127 ± 23 vs TREIN: 50 ± 13 bpm) no sedentary group. Blocking NMDA receptors in anesthetized animals resulted in increase in ASNR in trained animals (ASNR SEDEN: 1 ± 7 vs TREIN: $67 \pm 21\%$). Our results confirm and extend previous findings showing that sedentary lifestyle alters important parameters for homeostasis and enhances the cardiovascular response associated with stress. Part of this effect appears to be altered in the GABA-Glutamate balance in DMH damage to alterations in autonomic reactivity and autonomic tone. Thus,

the present study highlighted that sedentary lifestyle can be a facilitator of the development of cardiovascular diseases, including those associated with stress, and that neurochemical changes in DMH are part of the mechanisms involved.

Keywords: central nervous system, sedentary lifestyle, emotional stress, physical training, dorsomedial hypothalamus

1. Introdução

1.1. Estresse

O estresse emocional é considerado como um potencial problema modificável de saúde global. Os efeitos deletérios do estresse sobre a saúde física e mental são bem documentados na literatura científica (Kivimäki, 2002, Rosengren A 2004, Go Alan AHA, 2014). O estresse apresenta uma estreita relação com o aumento da incidência de doenças cardiovasculares como a hipertensão (Esler, 2008) a doença coronariana (Rozanski, 1999) e infarto do miocárdio (Rosengren, 2004). Quanto maior o estresse, menor é a chance de sobrevivência a um evento cardíaco (Kivimaki, 2002).

Estresse emocional pode ser definido como uma percepção subjetiva de um estímulo ou ameaça real ou potencial do ambiente que desencadeia um conjunto de respostas fisiológicas buscando o restabelecimento da homeostase (Selye, 1955, Pacak and Palkovits, 2001). Goldstein em 1995 amplia este conceito de estresse considerando-o como uma condição em que as expectativas, sejam elas geneticamente programadas, estabelecidas por uma aprendizagem prévia, ou deduzida de circunstâncias não correspondem às percepções atuais ou antecipadas do ambiente interno ou externo. Essa discrepância entre o que é observado ou sentido, e o que é esperado ou programado, provoca respostas compensatórias padronizadas (Goldstein, 1995).

Neste sentido, durante uma situação de estresse emocional agudo, alterações fisiológicas são importantes para redirecionar a utilização da energia entre os vários órgãos e inibir ou estimular seletivamente vários sistemas para mobilizar reservas de energia e prepará-lo para a exposição a desafios imprevisíveis adicionais (Pacak and Palkovits, 2001). Sendo assim, observa-se uma série de respostas integradas com alterações comportamentais, autonômicas e endócrinas para que a homeostase corporal seja mantida. Estas alterações são mediadas pelo Sistema Nervoso Central (SNC) e foram evolutivamente conservadas através das espécies de mamíferos aumentando, assim, a probabilidade de sobrevivência (Dimicco, 2002). Em conjunto, denominadas reação de luta ou fuga (Cannon, 1929).

1.2. Hipotálamo dorsomedial: conexões e função

Numerosos estudos apontam a importância do hipotálamo dorsomedial (HDM) como uma região determinante no controle das respostas cardiovasculares (Stotz-Potter et al., 1996, DiMicco et al., 2002, Fontes et al., 2011), neuroendócrina (Bailey and DiMicco, 2001) e comportamental ao estresse emocional agudo (DiMicco et al., 2002; Paula, 2015) e síndrome do pânico (Johnson et al., 2008). A microinjeção do agonista GABA_A, muscimol, no HDM reduz de forma significativa a taquicardia e a resposta pressora em animais submetidos a estresse agudo (Stotz-Potter et al., 1996). Por outro lado, a ativação do HDM decorrente da microinjeção de antagonistas GABA_A, como a bicuculina metiodide (BMI), assim como de agonistas de aminoácidos excitatórios (EAA) (Wible et al., 1988, Soltis et al., 1998), resulta em aumento significativo da frequência cardíaca (FC) devido à elevação na atividade simpática do nervo cardíaco (Cao et al., 2004), aumento de atividade simpática para o nervo renal (ASNR) com consequente elevação da pressão arterial (PA) (Fontes et al., 2001) e a hipertermia (Machado et al., 2018). Estas alterações mimetizam as respostas cardiovasculares ao estresse emocional agudo. Resultados obtidos com BMI indicam que os neurônios do HDM estão sob forte influência tônica gabaérgica. O bloqueio dos receptores EAA no HDM suprime as respostas cardiovasculares provocadas pela microinjeção de BMI neste núcleo, ou seja, as alterações cardiovasculares causadas pelo bloqueio da inibição gabaérgica no HDM de animais são dependente da ativação dos receptores EAA locais (Soltis and DiMicco, 1991)

Estudos anatômicos apontam que o HDM não contém neurônios que se projetam diretamente para a medula espinhal. Este achado indica que as vias simpatoexcitatórias descendentes do HDM devem incluir uma ou mais conexões sinápticas em outros núcleos supra-medulares (Ter et al., 1988, Thompson et al., 1996). Neste sentido, Fontes e colaboradores em 2001 observaram que a resposta pressora e o aumento da atividade simpática renal provocados pela desinibição do HDM com BMI eram reduzidos após a inibição do bulbo rostral ventrolateral (RVLM) com muscimol sem alterar a resposta taquicárdica. Sendo assim, estes achados sugerem que a via que medeia o estímulo cardíaco provocado pela estimulação do HDM é independente da RVLM. Neste sentido, a Raphe Pallidus (RP) tem sido apontada com o núcleo ativado pelo HDM que controlaria

a resposta taquicárdica ao estresse emocional agudo. A taquicardia provocada pela ativação dos neurônios do HDM é marcadamente suprimida após a inibição dos neurônios da RP (Samuels et al., 2002). Dessa forma, foi proposto por Fontes e colaboradores (2011) a presença de duas vias distintas no controle das respostas cardiovasculares ao estresse emocional agudo. Uma via de integração do HDM com a RVLM, regulando a pressão arterial através do controle autonômico da atividade simpática renal e vasomotora, e uma segunda via de integração do HDM com a RP, regulando o cronotropismo através do controle autonômico da atividade do nervo cardíaco (figura 1).

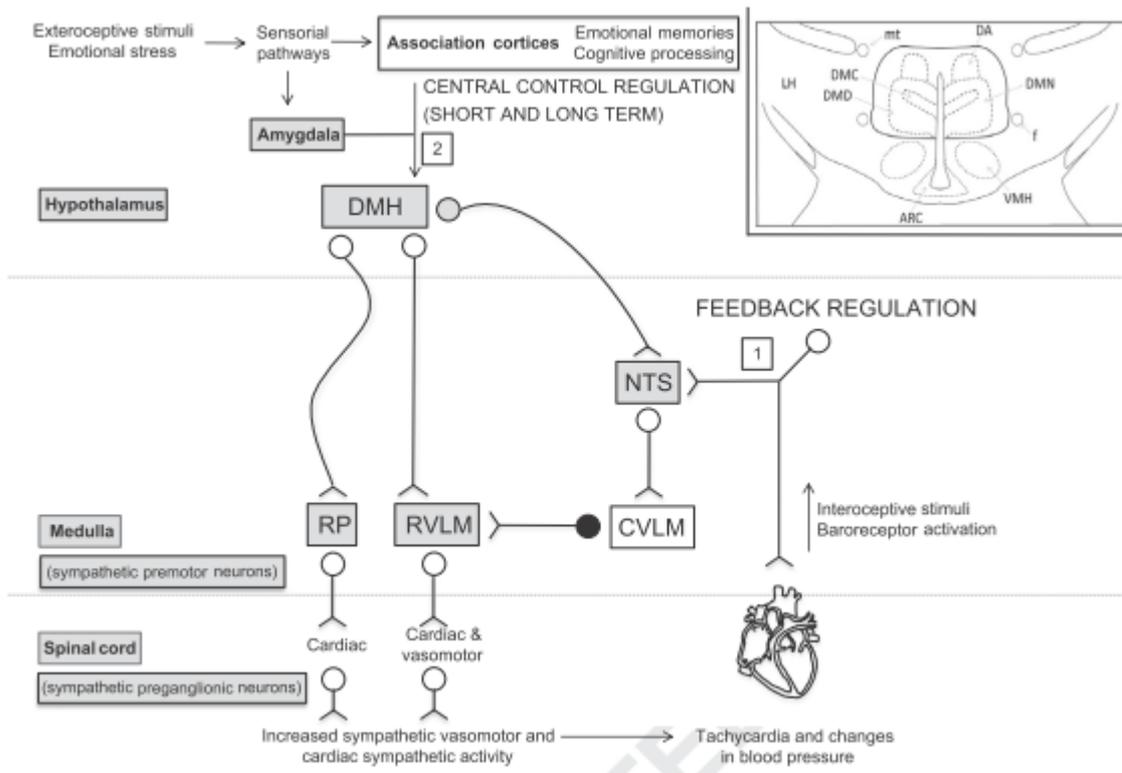


Figura 1.1 Desenho esquemático da ativação do hipotálamo dorsomedial diante do estresse agudo. Modificado de (Fontes et al., 2014)

1.3. Sedentarismo vs Treinamento físico

A Rede de Pesquisa de Comportamento Sedentário define o comportamento sedentário como qualquer comportamento de vigília caracterizado por um gasto de energia $\leq 1,5$ METs enquanto sentado, reclinado ou deitado (Sedentary Behaviour Research Network, 2012; Bull et al., 2020). O comportamento do tipo sedentário pode estar relacionado com aspectos fisiológicos, psicológicos, sociais e ambientais (Gabriel K.

K., Morrow J. R., Woolsey A. L. T., 2012). Um dos motivos que pode ser apontado para o aumento do comportamento do tipo sedentário está relacionado diretamente com os novos hábitos da sociedade moderna que proporcionam um maior acesso a ítems tecnológicos (Sattelmair J., *et al.*, 2011; Chomistek AK, *et al.*, 2013). Neste sentido, o comportamento sedentário é considerado um fenômeno relativamente novo na história da humanidade, estando intrinsecamente relacionado aos avanços tecnológicos da revolução industrial (Leitzmann M., *et al.*, 2018).

De acordo com Gabriel e colaboradores (2012), o comportamento do tipo sedentário pode ser dividido em duas categorias: não discricionário relativo as atividades de permanecer sentado durante as ocupações como: trabalho, escola ou enquanto dirige; e discricionário que inclui permanecer-se sentado enquanto se realiza atividades como: assistir à televisão, ler, jogar videogames ou uso do computador durante o horário de lazer, não relacionado diretamente à ocupação (Gabriel K.K., Morrow J. R., Woolsey A.L.T., 2012).

Este aumento no comportamento sedentário está positivamente associado ao surgimento de diversas doenças como o câncer – mais especificamente o câncer de mama, cólon e endométrio (Shen D. *et al.*, 2014; Jochem C. *et al.*, 2019), obesidade (Celis-Morales C. A., *et al.*, 2019) diabetes tipo 2 (Johnson ST., 2016) ansiedade e depressão (Okely J.A., *et al.*, 2019) maior prevalência de placas ateroscleróticas carotídeas o que pode ser a causa do surgimento de acidentes vasculares cerebrais e morte (Mury P., *et al.*, 2018) e outras doenças do sistema cardiovascular (Lavie C. J., *et al.*, 2019). Adicionalmente, estudos apontam que o sedentarismo por si só pode ser apontado como o principal fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Chomistek AK, *et al.*, 2013; Virani *et al.*, 2020). Posto que, muito tempo despendido diante da TV está associado a um alto nível de morte por doenças de cardiovasculares (Wijndaele *et al.*, 2011; Owen *et al.*, 2010).

Neste sentido, como consequência dos hábitos da sociedade moderna, autores apontam que o sedentarismo ou a inatividade física tendem a aumentar, ou seja, a humanidade afasta-se ainda mais das metas colocadas pelas sociedades de promoção da qualidade de vida e prevenção de diversas doenças por meio da prática regular de exercício físico. Estima-se que, nas últimas 5 décadas, o gasto energético diário com as tarefas do cotidiano vem diminuindo em média 100 kcal (Church T.S., *et al.*, 2011;

Ozemek C., *et al.*, 2019). Além disso, a quantificação do comportamento sedentário aponta que o tempo diário despendido neste comportamento varia de 4,9 a 11,9 horas. Apresentando como média de 8,2 h/dia, este valor ainda pode ser discriminado mostrando que 4,2 h/dia é destinado ao tempo ocupacional sentado e 2,2 h/dia é gasto em tempo diante da TV. Sendo o status ocupacional apontado como o principal fator direcional para uma vida sedentária (Buck C., *et al.*, 2019). Vasankari (2017) ainda pontua que quanto maior for o número de eventos do comportamento do tipo sedentário maior é a sua relação com o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Estima-se que o comportamento sedentário foi responsável por 9% das mortes prematuras em 2008. Adicionalmente, estima-se que a diminuição do comportamento sedentário entre 10 e 25% possa diminuir aproximadamente 1,3 milhões de mortes por ano. Sua eliminação diminuiria os índices das doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e câncer de mama e cólon em até 10% e também, seria capaz de aumentar a expectativa de vida da população mundial (Lee I-Min *et al.*, 2012A, Lee I-Min *et al.*, 2012). Idosos com idade superior a 65 anos e que apresentavam uma atividade ocupacional mais ativa durante a vida apresentaram probabilidade 32% menor de sofrer um infarto do miocárdio e derrame (Hupin D., *et al.*, 2019).

Em seu último levantamento, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que quase 30% dos adultos ou 1,4 bilhões de pessoas (Guthold *et al.*, 2018) e 81% dos adolescentes (World Health Organization, 2018, Guthold *et al.*, 2020) não alcançam a meta mínima de atividade física semanal.

A OMS recomenda aos indivíduos adultos, com idade entre 18-64 anos, que pratiquem no mínimo 150 minutos de atividade física aeróbica moderada ou 75 minutos de atividade vigorosa por semana. Estas atividades físicas podem ser realizadas de diversas formas como: caminhada, ciclismo, esportes e atividades de recreação como dança e yoga (World Health Organization, 2018). Neste mesmo documento, a OMS afirma que todo tipo de atividade física pode trazer benefícios a saúde desde que, realizadas regularmente e que apresentem volume e intensidade suficiente. Quanto às atividades para fortalecimento muscular estas devem ser realizadas dois dias ou mais por semana. Estas recomendações tem como propósito melhorar a aptidão cardiorrespiratória e muscular, saúde óssea, reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e depressão (Organisation mondiale de la santé, 2020). Adicionalmente, este órgão

reafirma que para reduzir os efeitos prejudiciais do comportamento sedentário à saúde, os adultos devem realizar mais atividade física semanal do que os níveis minimamente recomendados. Atrelado à necessidade de aumento do tempo de atividade física foi estipulada uma meta mundial de redução no número de adultos e adolescentes fisicamente inativos de 15% até 2030 (World Health Organization, 2018). Além disso, estima-se que seja necessário praticar 60-75 minutos de atividade física moderada diariamente como uma possível maneira de se eliminar o alto risco de morte associado ao tempo sentado elevado. Contudo, este tempo apenas atenua, mas não elimina, o risco associado ao tempo elevado dedicado a assistir televisão (Ekelund et al., 2016).

Assim como alguns autores reconhecem o sedentarismo como um comportamento da sociedade moderna presente, principalmente, em países desenvolvidos e em desenvolvimento (Leitzmann et al., 2018, Owen et al., 2020), as pesquisas sobre exercício físico vem crescendo de maneira significativa nas últimas quatro décadas. Recentemente as pesquisas na fisiologia do exercício buscam elucidar os mecanismos bioquímicos, celulares e moleculares agregando informações sobre a importância do exercício físico ou dos malefícios do sedentarismo na qualidade de vida, na prevenção e reabilitação (Voltarelli et al., 2020).

Neste sentido, os estudos das adaptações e implicações de ambos, o comportamento sedentário e do treinamento físico, são relativamente novos.

A atividade física é definida como qualquer movimento corporal produzido pelo músculo esquelético resultando em dispêndio de energia. Nesta linha de pensamento, o exercício físico é considerado como um subconjunto da atividade física cuja realização ocorre de maneira planejada, estruturada e repetitiva no qual o objetivo visa a manutenção ou melhoria da aptidão física (Caspersen et al., 1985.). Neste sentido, os efeitos crônicos ao exercício ou as adaptações ao treinamento físico ocorrem diante de repetições sistematizadas que produzem adaptações aos sistemas fisiológicos. Para que estas adaptações ocorram é necessário que a sessão seguinte seja realizada antes da dissipação dos efeitos da sessão anterior e que apresente intensidade superior àquelas que o indivíduo esteja habituado, ou seja, o exercício deve apresentar um estímulo desafiador à homeostase (Thompson et al., 2001).

Em contraste aos efeitos deletérios do comportamento sedentário, o treinamento físico influencia positivamente a manutenção de uma vida mais saudável. Estudos apontam que indivíduos que praticam exercício físico regularmente apresentam menor incidência de eventos coronarianos e doenças cardiovasculares (Blair, 1996, Brown, 2003) certos tipos de câncer e a dor física (Friedenreich, 2001) quando comparado à indivíduos sedentários. Além disso, a prática do exercício físico está inversamente proporcional ao surgimento da obesidade (Schawartz, 2016) e diabetes (Brown, 2004). Com relação à saúde mental, há registros similares mostrando que o exercício físico é capaz de diminuir a depressão (Scherwood, 2016), a ansiedade (Williams, 2016) e o dano cognitivo (Groot, 2016).

1.4. Sedentarismo, treinamento físico e estresse agudo

Dishman e colaboradores (2000) apontam uma relação entre estresse emocional percebido e tônus autonômico. Neste trabalho, os pesquisadores concluíram que homens e mulheres que apresentavam um menor componente vagal cardíaco apresentaram maior estresse percebido independentemente da idade, gênero, aptidão física e do estado de ansiedade. Para chegar a esta conclusão, foi realizada a aplicação dos questionários “Taylor Manifest Anxiety Scale” e do “Cohen’s Perceived Stress Scale” para a avaliação da autopercepção da ansiedade e do estresse, respectivamente. Em associação aos questionários, foi avaliada a variabilidade da frequência cardíaca dos voluntários (Dishman et al., 2000).

Indivíduos saudáveis que praticam atividade física regularmente apresentam uma reatividade cardiovascular atenuada durante o estresse (Blumenthal, 1990, 2005). Estudos em animais reforçam a hipótese de que o exercício físico é capaz de atenuar as respostas cardiovasculares ao estresse emocional agudo. O treinamento físico (corrida espontânea) é capaz de diminuir a resposta taquicárdica e pressora em resposta ao estresse por mudança de ambiente, ao estresse por imobilização (Morimoto, 2000) e ao estresse por barulho (Overton, 1991).

Estudos evidenciam que a realização de exercício físico influencia o controle autonômico levando a diminuição da frequência cardíaca e pressão arterial como consequência da diminuição do tônus simpático e aumento do tônus parassimpático de repouso (Rossi, 2009; Hsu 2015). Adicionalmente, o exercício físico é capaz de induzir neuroplasticidade em áreas do sistema nervoso central (SNC) responsáveis pelo controle cardiorrespiratório, ou seja, neurônios de regiões centrais responsáveis pelo controle cardiorrespiratório são profundamente remodelados com o exercício físico (Michelini, 2009, Nelson 2005, 2010). Dentre estas regiões cardiorrespiratórias que sofrem remodelamento consequente ao exercício físico estão incluídas o núcleo do trato solitário (NTS), bulbo rostroventrolateral (RVLM) e hipotálamo posterior (PH), áreas centrais que estão relacionadas com o controle das respostas cardiovasculares ao estresse emocional agudo (Fontes, 2001, 2011). Muller e cols (2007) mostraram que o treinamento físico reduz a reatividade simpática produzida pela estimulação do BRVL. Sendo assim, a prática regular de exercício físico poderia influenciar as respostas cardiovasculares durante o estresse emocional agudo.

Existem poucos estudos na literatura explorando os mecanismos centrais e suas alterações ao treinamento físico e ao sedentarismo sobre a resposta cardiovascular ao estresse agudo. Yuan-Chang e cols. mostraram que o exercício físico moderado de longo prazo reduz a duração da ativação neuronal provocada pelo estresse agudo no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Assim como o DMH, o PVN é um núcleo também responsável em promover a excitação do sistema nervoso autônomo durante o estresse. Por conseguinte, esta menor ativação dos neurônios no PVN pode explicar, em parte, a recuperação mais rápida da pressão arterial e da atividade simpática após uma hora de estresse por imobilização (Yuan-Chang, 2015). Estes autores sugerem que o exercício físico moderado de longo prazo causa adaptações nos centros cardiovasculares centrais o que leva não somente a uma diminuição da resposta cardiovascular ao estresse, como, também, a um aumento da restauração da homeostase após o estresse emocional agudo.

Considerando o potencial do exercício físico como tratamento terapêutico anti-estresse por alterar a plasticidade de áreas cerebrais responsáveis pelo controle das respostas autonômicas e cardiovasculares ao estresse agudo e que o HDM está envolvido no controle destas respostas, a hipótese deste trabalho é que o exercício físico regular

alteraria as respostas cardiovasculares e autonômicas ao estresse emocional agudo por modificar aspectos funcionais envolvendo a atividade dos neurônios do HDM.

2. Justificativa

O estresse emocional e/ou o sedentarismo são apontados como importantes fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares como a hipertensão, arritmias cardíacas e infarto do miocárdio. Sendo assim, torna-se extremamente relevante compreender os mecanismos centrais envolvidos na geração das respostas cardiovasculares ao estresse emocional vinculados ao comportamento sedentário.

Uma característica marcante da resposta cardiovascular ao estresse agudo é o aumento da atividade eferente autonômica simpática que resulta em taquicardia e aumento de pressão arterial. O padrão de atividade simpática durante o estresse mental envolve preferencialmente o coração. Nesse sentido, vários estudos têm mostrado que o aumento da atividade simpática durante o estresse agudo depende, dentre outras regiões, da ativação de uma população de neurônios situados no HDM.

Ao contrário dos fatores deletérios causados pelo estresse emocional, o exercício físico atua na prevenção e como parte do tratamento das doenças do sistema cardiovascular em parte por alterar a neuroplasticidade de áreas do sistema nervoso central. Mesmo embora existam evidências de que o exercício físico possa exercer um efeito atenuante sobre a resposta cardiovascular ao estresse emocional, estudos avaliando os mecanismos centrais envolvidos são muito escassos. Desta forma, a hipótese deste trabalho é que o comportamento sedentário induz alterações da atividade do HDM, que resultam numa maior sensibilidade nas respostas autonômicas e cardiovasculares ao estresse emocional.

3. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do comportamento sedentário na resposta autonômica e cardiovascular ao estresse emocional agudo e nas propriedades funcionais dos neurônios do HDM.

3.1. Objetivos específicos

- Caracterizar os efeitos do comportamento sedentário e do treinamento físico sobre a capacidade física, peso corporal, índice de adiposidade, peso dos tecidos corporais, ansiedade, tônus simpático basal e parâmetros cardiovasculares basais.
- Comparar a reatividade cardiovascular ao estresse emocional agudo em ratos treinados e sedentários.
- Avaliar a modulação gabaérgica nos neurônios do HDM sobre parâmetros autonômicos e cardiovasculares em ratos treinados e sedentários.
- Avaliar a modulação glutamatérgica nos neurônios do HDM sobre parâmetros autonômicos e cardiovasculares em ratos treinados e sedentários.
- Avaliar a interação entre os tônus glutamatérgico e gabaérgicos nos neurônios do HDM sobre parâmetros autonômicos e cardiovasculares em ratos treinados e sedentários.

4. Materiais e métodos

4.1. Cuidados éticos

Todos os protocolos experimentais foram submetidos à avaliação e aprovados pela Comissão de Ética no uso de animais (CEUA) da UFMG sob o número de protocolo 278/2017. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.2. Animais

Foram utilizados ratos *Wistar*, com seis semanas de idade e peso corporal de aproximadamente 180 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central e pelo Centro de Bioterismo – CEBIO, ambos da Universidade Federal de Minas Gerais. Os animais foram mantidos em uma sala climatizada, com ciclo claro/escuro controlado de 12 horas (luzes acesas entre 07:00 e 19:00), receberam ração padrão e água *ad libitum*. O manuseio dos animais ocorria de maneira idêntica para ambos os grupos experimentais. Ao longo das semanas de tratamento os animais foram alojados em gaiolas coletivas de polipropileno (35x50x17cm) com 4 a 5 animais por caixa. Após a cirurgia de canulação da artéria femoral os animais eram mantidos em caixas individuais (20x30x12cm) até a realização dos experimentos.

4.3. Protocolos experimentais

O estudo foi dividido em quatro protocolos experimentais. No primeiro protocolo, foi avaliada reatividade cardiovascular ao estresse emocional agudo dos animais treinados e sedentários. No segundo protocolo, foi avaliado em animais treinados e sedentários o efeito da desinibição ou da ativação neuronal do HDM sobre a resposta cardiovascular

em animais acordados. No terceiro protocolo, foi avaliada a atividade simpática do nervo renal (ASNR) dos animais sedentários e treinados após a desinibição ou a ativação neuronal do HDM em animais anestesiados. No quarto protocolo, foi avaliada a ASNR dos animais sedentários e treinados após o bloqueio específico dos receptores NMDA seguida da desinibição neuronal do HDM.

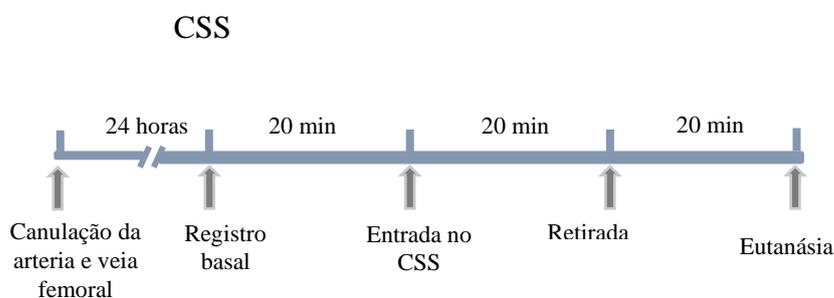
Deve ser ressaltado que foram utilizados animais distintos para a realização dos protocolos experimentais.

4.4. Delineamento experimental

Os protocolos experimentais iniciaram de 48 a 72 horas após o término do treinamento físico para que os efeitos agudos do exercício físico não influenciassem nos resultados. Nos protocolos experimentais que foram realizados em animais acordados todos os animais foram transferidos para a sala de experimentos logo após a cirurgia de canulação da artéria e veia femoral, ou seja, 24 horas antes do protocolo experimental. No dia do experimento, a cânula da artéria femoral foi conectada a um transdutor de pressão (strain-Gauge-DT-XX Viggo-spectramed). Por meio deste transdutor é possível registrar as oscilações de pressão arterial pulsátil e, a partir dela, é calculada a pressão arterial média e a frequência cardíaca. Para isso, para a realização do registro da reatividade cardiovascular ao estresse emocional agudo e as microinjeções no HDM em animais acordados foi utilizado o Biopac Systems através do software Acknowledge 3.8. quanto ao registro a ASRN, ou seja, os experimentos realizados em animais anestesiados, foi utilizado o sistema Power lab 4/20 (ADInstruments) através do software LabChart 7.3.3. Após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por pelo menos 20 minutos foram realizados os procedimentos de estresse agudo ou as microinjeções. Após os procedimentos experimentais que envolviam administração de drogas no HDM, 100 nl do corante Alcian Blue foi injetado no HDM para a marcação do sítio de injeção. Para eliminar uma possível interferência entre as drogas e alterações na reatividade cardíaca, todos os protocolos experimentais foram realizados em animais diferentes.

4.4.1. Protocolo 1

A primeira série de experimentos tinha como propósito avaliar o efeito do exercício físico e do sedentarismo na reatividade cardíaca ao estresse emocional agudo. Dessa forma, foi possível averiguar e confirmar dados já existentes na literatura científica. Estes dados prévios indicam que animais sedentários apresentam uma maior reatividade cardíaca durante o estresse. Para a realização deste protocolo foi utilizado dois modelos de estresse emocional agudo, o *cage switch stress* (CSS) e a contenção seguida pelo jato de ar. Para isso, cada animal, de ambos os grupos experimentais, foram submetidos a cirurgia de canulação da artéria e veia femoral. Após 24 horas de recuperação os animais foram expostos, inicialmente ao *cage switch stress* ou ao estresse por contenção seguido pelo jato de ar. Ao término do experimento, o animal era eutanasiado com uma sobrecarga de anestesia injetada na veia femoral. Deve-se ressaltar que dias antes da cirurgia de estereotaxia os animais foram expostos ao teste de labirinto em cruz elevado para avaliação do comportamento do tipo ansioso. Comportamento este que é diretamente influenciado pelo exercício físico.



Jato de ar

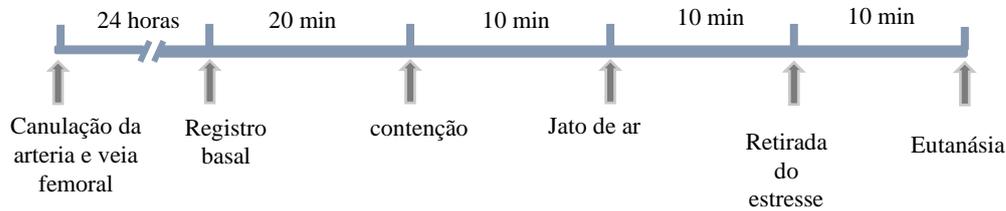


Figura 4.1 Desenho esquemático do estresse agudo "cage switch stress" e o estresse pelo jato de ar

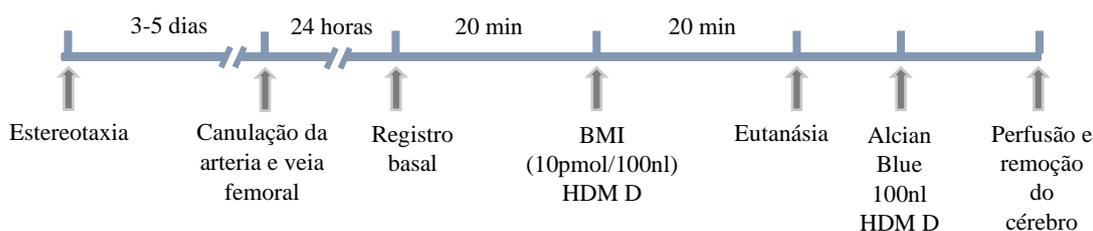
4.4.2. Protocolo 2

O segundo passo foi realizar experimentos que tinham como propósito investigar se existia diferenças no tônus gabaérgico e glutamatérgico no HDM dos animais treinados e sedentários na regulação dos parâmetros cardiovasculares e autonômicos. Para isso, os animais de ambos os grupos experimentais foram submetidos a dois procedimentos cirúrgicos; a estereotaxia para implantação da cânula guia no HDM direito e 3-5 dias posteriores foi realizada a canulação da artéria e da veia femoral. As microinjeções foram realizadas por meio de uma agulha microinjetora (30G, 1,8mm maior que a cânula guia) conectada a uma seringa Hamilton (5 µl, Reno, Nevada, USA) e conectadas entre si por um polietileno PE 10.

Para avaliar o tônus gabaérgico no HDM, foi realizada a microinjeção de bicuculina (10pmol/100nl) e a avaliação da ativação dos receptores foi realizada por meio da microinjeção de NMDA (100pmol/100nl). Foi injetado um volume total de 100 nl da droga.

Posteriormente, os animais foram eutanasiados, perfundidos e o cérebro retirado para a realização da análise histológica.

Protocolo 2



Protocolo

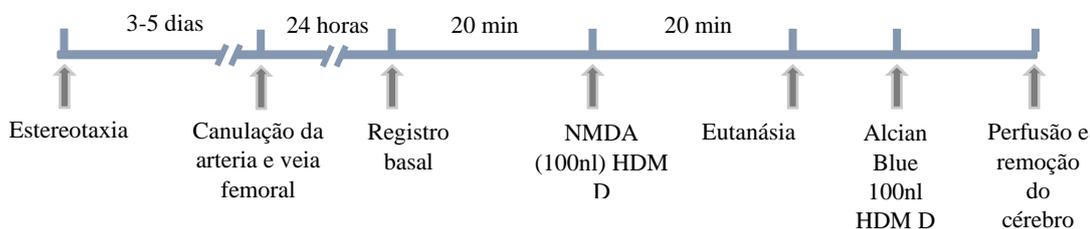


Figura 4.2 Desenho representativo das microinjeções no hipotálamo dorsomedial em animais acordados

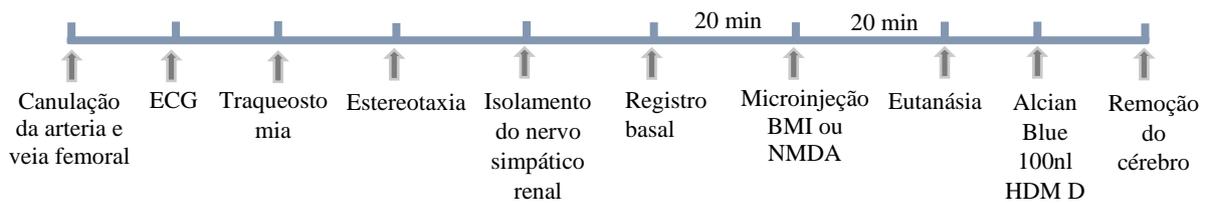
4.4.3. Protocolo 3 e 4

Posteriormente, na terceira etapa buscou-se avaliar a ASNR após microinjeções no HDM que avaliavam o tônus gabaérgico e glutamatérgico neste núcleo. Para o registro do nervo renal, todos os animais foram anestesiados com uretana e posteriormente foram realizadas as seguintes cirurgias: canulação da artéria e veia femoral, traqueostomia, ECG, estereotaxia e isolamento do nervo renal. A temperatura corporal dos animais também foi monitorada por meio de um eletrodo retal e mantida o mais próximo da temperatura fisiológica ($\pm 37,5^\circ$).

Para a realização dos protocolos 3 e 4 foram utilizadas as drogas BMI (100pmol/100nl), NMDA (100pmol/100nl), AP-5 (100pmol/100nl) e BMI (100pmol/100nl), respectivamente. No protocolo 3, com microinjeção de BMI, foi

acrescido um terceiro grupo experimental, o grupo pré tratamento que tinha como finalizada comparar os parâmetros avaliados anterior as intervenções. O protocolo 4 foi o único protocolo no qual foi microinjetado duas drogas no HDM D no mesmo animal. Após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares e da atividade simpática inicialmente foi microinjetado o AP-5 e após dez minutos foi microinjetado BMI no HDM D.

Protocolo 3



Protocolo 4

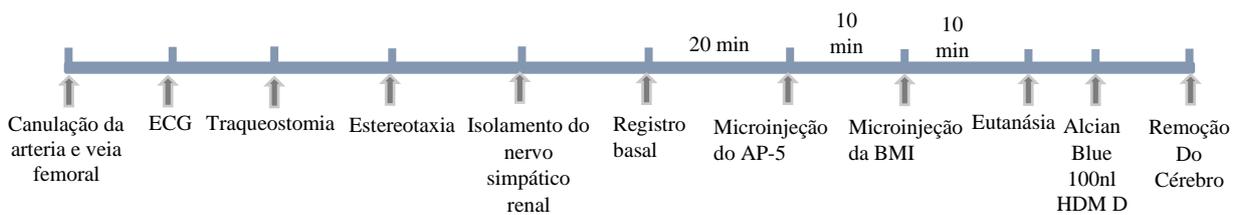


Figura 4.3 Traçado representativo da microinjeção no hipotálamo dorsomedial em animais anestesiados.

4.5. Anestesia

Para o procedimento cirúrgico para registro da ASNR, os animais foram anestesiados com uretana (1,2 a 1,4 g/Kg, Sigma-Aldrich, Dorset, UK) administrada por via intraperitoneal (i.p.). Suplementações anestésicas foram administradas em doses menores durante a cirurgia, quando necessário. Nos protocolos experimentais nos quais os animais permaneceram acordados, as cirurgias foram realizadas utilizando o anestésico com cetamina (80 mg/kg i.p.) e xilazina (10,5 mg/kg i.p.). Os animais eram pesados no dia da cirurgia para correta administração do volume do anestésico. Para a avaliação se os animais estavam anestesiados os reflexos interdigitais dos membros pélvicos e da cauda foram verificados. Após as cirurgias, os ratos receberam 0,1 mL de

antibiótico (48000 UI – Pentabiótico veterinário, via intramuscular) e 0,1 mL de analgésico na região torácica dorsal (Banamine, 1,1 mg/kg, via subcutânea).

4.6. Drogas experimentais

A droga utilizada nos protocolos para desinibição do HDM em animais anestesiados foi o antagonista GABA_A, Bicuculina Metiodide (BMI) (Sigma Chemical, St. Louis, MO). Para o protocolo experimental para registro da ASNR a concentração administrada da BMI foi de 40pmol/100nl. Já para o experimento de desinibição do HDM em animais acordados a dose foi de 10pmol/100nl. A estimulação glutamatérgica foi realizada por meio da microinjeção do agonista NMDA (0.2mM/100nl; Sigma Chemical, St. Louis, MO) para animais anestesiados e para os experimentos com os animais acordados a dose da microinjeção foi de 100pmol/100nl. Todas as drogas foram diluídas em 100nL de solução salina fisiológica estéril (NaCl – 0,9%).

4.7. Procedimentos cirúrgicos

4.7.1. Estereotaxia e microinjeção

No dia da cirurgia, os animais foram pesados. Para isso, foi utilizado uma balança de precisão (Marte, MG, Brasil). Esta pesagem dos animais foi necessária para o cálculo da quantidade de anestésico a ser corretamente administrado por via intraperitoneal e para comparação do peso corporal final entre os grupos experimentais. Os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg i.p.) e xilazina (10,5 mg/kg i.p.). Para avaliar se estavam anestesiados os reflexos palpebral, interdigital dos membros pélvicos e da cauda foram verificados no início e ao longo do procedimento cirúrgico. Suplementações foram injetadas, quando necessário, em doses menores durante a cirurgia. Após serem devidamente anestesiados, os animais eram posicionados em decúbito ventral sobre uma

plataforma. Nesta, foi realizada a tricotomia da região superior da cabeça seguida da aplicação tópica de iodopovidona tópico (10%) para antisepsia do local. Em seguida, o animal era fixado em um aparelho estereotáxico (STOELTING, IL, USA) com a cabeça fixada a 3,3mm abaixo da linha interaural. Após a assepsia uma injeção de xilocaína com vasoconstritor (solução de cloridrato de lidocaina 2% e de adrenalina 1:200000). Em seguida, foi realizada uma incisão longitudinal na pele e no tecido subcutâneo do crânio para a visualização do bregma (ponto de referência anatômica para a leitura das coordenadas). Posteriormente, foi realizada a trepanação na superfície do crânio para a fixação de dois parafusos e implantação de cânulas guias de aço inoxidável confeccionadas com agulhas hipodérmicas (15 mm de comprimento, 21 gauge) para os animais acordados ou introdução de uma micropipeta de vidro nos animais anestesiados para realização das microinjeções dos fármacos de acordo com cada protocolo experimental. As coordenadas de localização do HDM utilizadas foram: -2,9mm ântero-posterior, -8.8mm dorso-ventral e +0.5mm látero-lateral. Para isso, utilizando-se o bregma como ponto de referência e de acordo com as coordenadas estereotaxicas do Atlas de Paxinos e Watson (Paxinos and Watson, 2007). Após serem implantadas, as cânulas guias foram fixadas com acrílico odontológico auto-polimerizável (Dental Vip, São Paulo, Brasil). Para evitar a obstrução da cânula guia, um mandril feito com fio ortodôntico de aço inoxidável (Orthometric, São Paulo, Brasil) foi inserido dentro das cânulas guias e retirados no dia do experimento. Ao término do procedimento cirúrgico para a implantação da canula guia foi administrado uma dose intramuscular de 0,2 ml de pentabiótico veterinário (1:200000 UI) e Banamine (1,1 – 2,2mg/Kg). Em seguida, os animais foram colocados em caixas coletivas para a recuperação. Foi permitido aos animais um intervalo de pelo menos três dias de recuperação após a estereotaxia. Após este período mínimo, os animais foram submetidos a uma nova cirurgia para a canulação de artéria e veia femoral.

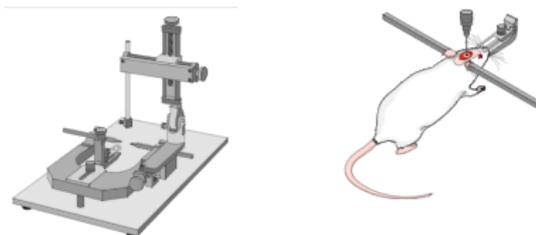


Figura 4.4 Esquema representativo da cirurgia de estereotaxia para implante de cânula guia na direção do hipotálamo dorsomedial

4.7.2. Canulação da artéria e veia femorais

A canulação da aorta abdominal foi realizada através da artéria femoral. A canulação ocorreu por meio de uma cânula de polietileno flexível confeccionadas a partir de um tubo de polietileno (PE-10) (4cm para a artéria e 2cm para veia) fixada por aquecimento a outro tubo de polietileno (PE-50) (17 cm). Os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg i.p.) e xilazina (10,5 mg/kg i.p.). Os animais foram posicionados em decúbito dorsal e a partir de uma incisão na região inguinal unilateral direita foi realizada a dissecação do feixe vículo-nervoso femoral e isolamento dos vasos femoral. A cânula foi implantada e fixada por amarradura. Sua extremidade foi exteriorizada, com o auxílio de um trocater, pelo espaço subcutâneo até a região interescapular e fixada por amarradura. Todas as incisões, realizadas durante a cirurgia foram devidamente fechadas com pequenas suturas. Após a recuperação do efeito do anestésico, este era transferido para a sala de experimento. Após 24h de recuperação, a extremidade livre da cânula arterial, localizada na região intraescapular do animal, foi conectada a um transdutor de pressão durante o experimento tendo como finalidade o registro dos parâmetros cardiovasculares (PAM e FC), no protocolo realizado com animais acordados, e registro da PA no protocolo com animais anestesiados. Com relação a cânula venosa esta foi utilizada para injeção de suplementação anestésica nos protocolos com animais anestesiados.

É importante ressaltar que todos os animais receberam cuidados pós-operatórios adequados. Os critérios adotados durante o pós-operatório para exclusão do animal do procedimento experimental incluíam perda de peso progressivo, inflamação e infecção persistente, paralisia do membro inferior no qual foi realizado a cirurgia de canulação da artéria e veia femoral, e padrões de comportamento anormais. Estes cuidados foram realizados para garantir que todos os animais estivessem em bom estado de saúde no momento da realização dos procedimentos experimentais.

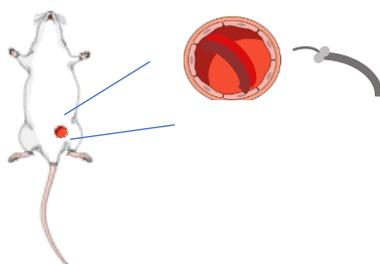


Figura 4.5 Esquema representativo da cirurgia de canulação da artéria e veia femoral

4.7.3. Traqueostomia

Foi realizada uma pequena incisão na pele na superfície ventral do pescoço do animal tendo o manúbrio esternal como ponto de referência para a incisão. A gordura juntamente com a musculatura do pescoço foram cuidadosamente divulsionadas e rebatidas para a localização e exposição da traqueia. Em seguida, foi realizada uma pequena incisão entre os anéis cartilagosos da traqueia para implantação da cânula (JELCO Plus 14G 7068 – Johnson & Johnson MEDICAL) com aproximadamente três centímetros de comprimento. Uma pequena amarradura foi realizada na traqueia abaixo da incisão de entrada da cânula para garantir a fixação da mesma. Logo em seguida, esta mesma incisão era utilizada para a implantação de um dos eletrodos do ECG. Posteriormente, a incisão era fechada com uma pequena sutura. Esta técnica foi realizada com o propósito de possibilitar a aspiração endotraqueal quando e se necessário.



Figura 4.6 Esquema representativo da cirurgia de traqueostomia

4.7.4. Posicionamento dos eletrodos do eletrocardiograma

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal para a implantação de três eletrodos necessários para o registro do eletrocardiograma (ECG). Através de uma incisão na região do processo xifóide o eletrodo negativo foi posicionado e fixado embaixo do processo xifóide. O eletrodo positivo foi fixado embaixo do manúbrio esternal através de uma incisão realizada na superfície ventral do pescoço. Com relação ao eletrodo neutro este foi colocado na pele da coxa direita. A partir dos eletrodos implantados foi possível registrar a atividade elétrica cardíaca, obter a FC e verificar a presença de possíveis ectopias.

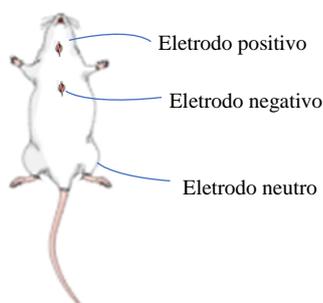


Figura 4.7 Esquema representativo do posicionamento dos eletrodos para o registro do eletrocardiograma.

4.7.5. Isolamento e registro da atividade simpática do nervo renal

A tricotomia foi realizada no flanco lateral esquerdo do animal. Logo em seguida, foi realizada uma incisão na pele na região do flanco tendo como limite cranial a última costela, caudal a pata traseira e dorsal as vértebras da região lombar. Após rebater a pele e a musculatura paravertebral, para a localização o rim, as extremidades da abertura cirúrgica foram fixadas a um campo operatório fundamental para a visualização e acesso a aorta abdominal, nervo e artérias renais. Logo em seguida, com o auxílio de uma lupa (Opto sm), o nervo foi localizado, cuidadosamente dissecado, isolado e posicionado sobre um par de eletrodos de prata acoplados a um micromanipulador e conectados ao sistema para o registro da atividade simpática do nervo renal (ASNR) captada pelo eletrodo e filtrada (60 Hz), sendo amplificada e enviada simultaneamente para um osciloscópio (Tektronix 546B) e amplificador de som. A atividade elétrica captada foi conduzida a um sistema de aquisição de dados (Power Lab 4/20 – AD Instruments) e o sinal captado foi

convertido em sinal integrado para serem avaliados a variação da ASNR (%) e o números de *bursts* captados por segundo.

Dentro do campo cirúrgico, após a localização do nervo renal, foi adicionado óleo mineral (Nujol – Schering-Plough), o qual permaneceu no campo cirúrgico durante todo o protocolo experimental, a temperatura de aproximadamente 37° com a finalidade de evitar ressecamento, isolar a captação do sinal do nervo renal de ruídos externos. É importante pontuar que os animais que apresentavam hemorragia interna eram excluídos do procedimento experimental.

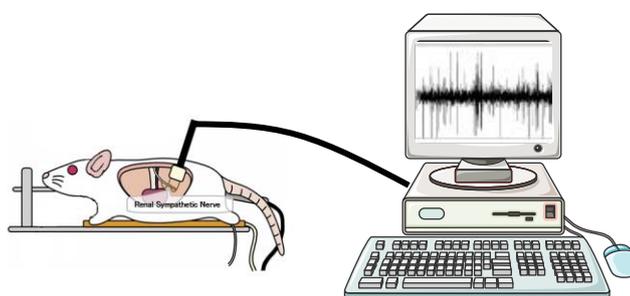


Figura 4.8 Esquema representativo do registro da atividade simpática renal em animais anestesiados com uretana.

4.8. Procedimento de nanoinjeção no Hipotálamo Dorsomedial

Após os animais terem se recuperado das cirurgias, 24 horas depois a cânula arterial era conectada a um transdutor. Após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares forma microinjetados as respectivas drogas de acordo com cada protocolo experimental. As drogas foram microinjetadas no HDM direito utilizando-se uma seringa Hamilton de 5 μ l, conectada por meio de um tubo de polietileno PE-10 a uma agulha injetora confeccionada a partir de uma agulha gengival (Unojet longa 27G 30x0,4mm) para os protocolos experimentais que utilizaram animais acordados. Para os procedimentos no qual foram realizados em animais anestesiados a microinjeção era realizada por meio de uma micropipeta de vidro. Em todos os protocolos experimentais o volume total microinjetado foi de 100 nl.

Em todos os protocolos experimentais nos quais eram realizadas as microinjeções de drogas no HDM estas foram administradas somente no HDM direito, ou seja, unilateralmente. Uma vez que, as vias descendentes originárias do HDM e que participam do controle da atividade simpática são predominantemente lateralizadas. Somado a isso, a ativação do lado direito do HDM é considerado crítico para alcançar níveis de taquicardia mais elevado durante o estresse emocional (Xavier et al., 2009).

4.9. Eutanásia

Após a realização de cada procedimento experimental, os animais foram submetidos a eutanásia sob anestesia geral. O método utilizado foi a perfusão transcardíaca e para isso os animais foram anestesiados com anestésico tribromoetanol (250 mg/Kg i.p) administrado por via intraperitoneal (i.p.). Após a confirmação da anestesia do animal, foi realizada a canulação da aorta ascendente por meio do ventrículo esquerdo do coração. Em seguida, foi realizado um furo no átrio direito com o propósito de permitir a exsanguinação.

Posteriormente, com o auxílio de uma bomba dosadora peristáltica (Gilson, Middleton, WI, EUA), os animais foram perfundidos com solução salina 0,9% (100 mL, fluxo de 10 mL/min), seguida de solução de paraformaldeído 4% (400 mL, fluxo de 10 mL/min). Os cérebros foram cuidadosamente retirados e fixados em paraformaldeído 4% por 48 h. Após este período os cérebros foram colocados em solução de sacarose (30%) por mais 48 h. Passado este tempo, os cérebros foram seccionados em cortes de 60 µm com o auxílio de um criostato (Leica miicrosystems, Srt. Heidelberg, Alemanha) para a análise histológica e subsequente confirmação do sítio de injeção.

4.10. Histologia

Ao final dos procedimentos experimentais os animais foram sacrificados com overdose de anestésico. A uretana foi o anestésico utilizado para tal procedimento e este foi injetado pela veia femoral.

O corante *Alcian Blue 2%* foi injetado (100nl) no sítio de microinjeção para a confirmação do mesmo. Os animais submetidos ao CSS, após a microinjeção de corante e anestesia, foram perfundidos com 60 ml de salina seguida de 100ml de solução de paraformaldeído 4%. Os cérebros foram cuidadosamente removidos e armazenados em formaldeído 4% durante sete dias. Após este período, os cérebros foram então transferidos para uma solução de sacarose 30% até a saturação (aproximadamente 48 – 72 horas).

Quanto aos animais submetidos ao registro da ASNR, a perfusão não foi realizada. Os cérebros destes animais foram removidos e armazenados em paraformaldeído 10% durante 10 dias e, posteriormente, foram transferidos para uma solução de sacarose 30% até a saturação (aproximadamente 48 – 72 horas). No criostato realizou-se cortes de 60 micrômetros do cérebro da região do hipotálamo para a análise histológica. Os cortes foram colocados em lâmina previamente gelatinizadas, secos ao ar livre. Em seguida, foram corados com vermelho neutro 1% pela técnica de Nissl. Os sítios de microinjeção foram determinados usando como referência o Atlas de Paxinos e Watson. Vale ressaltar que, os animais que apresentaram a microinjeção foram do hipotálamo dorsomedial foram retirados do estudo.

4.11. Treinamento físico

O treinamento físico iniciou-se quando os animais completaram oito semanas de idade, sendo submetidos inicialmente a um período de familiarização. Em sequência passaram pelo teste progressivo máximo e posteriormente ao treinamento físico aeróbico.

4.11.1. Familiarização

Todos os animais foram submetidos a familiarização na esteira rolante motorizada para animais de pequeno porte (Gaustec, Belo Horizonte, MG, Brazil). A velocidade inicial estabelecida foi de 10m/min com inclinação da esteira fixa mantida à 5° durante oito sessões consecutivas antes do teste progressivo. A velocidade das sessões da familiarização foi acrescida de 1m/min a cada sessão e a duração de cada sessão foi de 5 minutos.

4.11.2. Teste progressivo máximo

O teste progressivo máximo foi utilizado, inicialmente, para a determinação da intensidade do treinamento. Após a quarta semana de treinamento, os animais eram submetidos a um novo teste com o propósito ajustar a velocidade de treinamento. Depois das 40 sessões de treinamento, ou seja, ao final da oitava semana, um último teste progressivo máximo foi realizado com a finalidade de comparação com o teste inicial assim, foi possível determinar o desempenho aeróbico dos animais. Sendo assim, o teste progressivo máximo consiste em uma corrida inicial à 10m/min, a inclinação da esteira foi mantida em 5° e o estímulo elétrico em 0,2mA. A velocidade da esteira foi aumentada gradual e progressivamente em 1m/min a cada 3 minutos até o momento em que o rato não conseguisse mais manter o desempenho físico. Os critérios adotados para a determinação da fadiga foi a permanência do animal por 10s sobre a grade de estímulo elétrico ou quando o animal não era mais capaz de manter a cadência da corrida. Após o teste progressivo máximo os animais foram divididos aleatoriamente entre os grupos experimentais. Esta abordagem foi adotada na tentativa de equilibrar a capacidade aeróbica entre os grupos, ou seja, garantiu-se que ambos os grupos experimentais teriam, inicialmente, a mesma capacidade física aeróbica.

4.11.3. Protocolo do treinamento físico

O modelo de treinamento físico aeróbico foi realizado em esteira rolante durante oito semanas, cinco dias por semana com intensidade que variava de 50-60% relativa à capacidade máxima de cada animal. A esteira foi fixada a 5° de inclinação e a duração da sessão era de até 60 minutos. A duração da sessão e o tempo do treinamento em cada intensidade eram aumentados conforme a sessão e a semana de treinamento que o animal se encontrava. O grupo de animais sedentários também foi submetido a manipulações diárias (5 dias por semana) e colocado na esteira durante cinco minutos com a velocidade fixada a 8m/min, com inclinação a 5° da esteira (Michelini, 2009). Esta manipulação diária tinha como objetivo garantir manipulação semelhante para ambos os grupos experimentais, diferenciando-os somente no tempo e intensidade do treinamento. A tabela 1 apresenta a progressão da carga de treinamento.

Vale ressaltar que, os animais que não realizassem o protocolo do treinamento físico aeróbico completo, ou seja, não cumprissem as oito semanas totalizando 40 sessões de treinamento eram retirados do grupo experimental. Outros critérios como, perda de peso, o animal não conseguir acompanhar a evolução da carga de treinamento apresentando dificuldade na manutenção da marcha e animais que desistiam de correr eram retirados do experimento.

Tabela 1. Protocolo de treinamento físico aeróbio em esteira rolante durante 8 semanas.

<i>1° Teste de Esforço Máximo</i>							
Semanas/Dias	Duração	Aquecimento		Endurance	Endurance	Recuperação	
Semana 1	min	min	Vel (Km/h)	50% máx (min)	60% máx (min)	min	vel
1	17	5	0,4	7	-	5	0,4
2	20	5	0,4	10	-	5	0,4
3	25	5	0,4	15	-	5	0,4
4	30	5	0,4	20	-	5	0,4
5	30	5	0,4	15	5	5	0,4
Semana 2							
6	35	5	0,4	15	10	5	0,4
7	40	5	0,4	20	10	5	0,4
8	40	5	0,4	20	10	5	0,4
9	45	5	0,4	25	10	5	0,4
10	50	5	0,4	25	15	5	0,4
Semana 3							
11	40	5	0,4	20	10	5	0,4
12	45	5	0,4	20	15	5	0,4
13	50	5	0,4	25	15	5	0,4
14	55	5	0,4	25	20	5	0,4
15	60	5	0,4	20	30	5	0,4
Semana 4							
16	45	5	0,4	20	15	5	0,4
17	60	5	0,4	15	35	5	0,4
18	60	5	0,4	10	40	5	0,4
19	60	5	0,4	10	40	5	0,4
20	60	5	0,4	5	45	5	0,4
<i>2° Teste de Esforço Máximo</i>							
Semana 5							
21	30	5	0,5	15	-	10	0,5
22	45	5	0,5	30	-	10	0,5
23	50	5	0,5	35	-	10	0,5
24	55	5	0,5	40	-	10	0,5
25	60	5	0,5	45	-	10	0,5
Semana 6							
26	45	5	0,5	35	-	5	0,5
27	60	5	0,5	45	5	5	0,5
28	60	5	0,5	45	5	5	0,5
29	60	5	0,5	40	10	5	0,5
30	60	5	0,5	40	10	5	0,5
Semana 7							
31	45	5	0,5	25	10	5	0,5
32	60	5	0,5	40	10	5	0,5
33	60	5	0,5	40	10	5	0,5
34	60	5	0,5	35	15	5	0,5
35	60	5	0,5	30	20	5	0,5
Semana 8							
36	45	5	0,5	20	15	5	0,5
37	60	5	0,5	30	20	5	0,5
38	60	5	0,5	30	20	5	0,5
39	60	5	0,5	25	25	5	0,5
40	60	5	0,5	20	30	5	0,5
<i>3° Teste de Esforço Máximo</i>							

4.12. Variáveis

4.12.1. Tempo de exercício (TE)

Esta variável foi representada pelo tempo total do teste progressivo máximo (min). Esta, por sua vez, foi mensurada a partir do início do exercício até o momento da fadiga. A medida foi realizada por meio de um cronômetro com precisão de 0,01 s.

Velocidade máxima atingida durante a corrida ($V_{\text{máx}}$)

A $V_{\text{máx}}$ foi calculada a partir de uma adaptação da fórmula proposta por Kuipers et al. (1985) para o cálculo da potência máxima:

$$V_{\text{máx}} = V_1 + (V_2 \cdot \frac{t}{180})$$

Sendo:

V_1 : a velocidade da esteira atingida no último estágio completo ($\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$);

V_2 : o incremento na velocidade da esteira a cada estágio ($\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$);

t: o tempo gasto no estágio incompleto (s).

4.12.2. Trabalho (W)

O cálculo do trabalho foi baseado na seguinte fórmula (Brooks e White, 1978; Brooks *et al.*, 1984):

$$W = mc \cdot g \cdot v \cdot \text{sen}\theta \cdot \text{TE}$$

Sendo: W: Trabalho (J);

mc: massa corporal (kg);

g: aceleração da gravidade ($m \cdot s^{-2}$)

v: velocidade da esteira ($m \cdot min^{-1}$);

sen θ : inclinação da esteira

TE: tempo total de exercício (min)

4.13. Labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado é um modelo de teste comportamental para animais que visa avaliar o comportamento do tipo ansioso. Neste teste é possível avaliar o comportamento do tipo ansioso por meio da análise do comportamento exploratório do animal no labirinto. O labirinto em cruz elevado consiste em uma plataforma em forma de cruz e elevado a 50cm do chão. O labirinto é constituído de quatro braços de tamanhos iguais. Dois desses braços, opostos entre si, são fechados por paredes, denominados braços fechados, os outros braços, os braços abertos, não contém parede. Uma câmera é posicionada acima e centralmente ao labirinto para análise da movimentação do animal. As variáveis avaliadas no teste do labirinto em cruz elevado foram o número de entradas nos braços e o tempo gasto os braços aberto e fechados. Para isso, o animal era posicionado no centro do labirinto e o teste tinha uma duração de cinco minutos.



Figura 4.9 Esquema representativo do teste de labirinto em cruz elevado.

4.14. Índice de adiposidade

Após a exposição dos animais ao estresse emocional agudo os mesmos foram eutanasiados por sobrecarga anestésica. Estes animais foram toracotomizados e as gorduras corporais mesentérica, peritoneal e epididimal foram retiradas e pesadas.

O índice de adiposidade foi calculado a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de adiposidade} = \frac{(\text{soma das gorduras corporais}) \times 100}{\text{peso corporal final}}$$

4.15. Paradigmas de estresse agudo

4.15.1. Estresse por mudança de ambiente

O estresse por mudança de ambiente o *Cage switch stress* (CSS) consiste em um modelo de estresse emocional agudo e de leve intensidade. O animal foi transferido manualmente, suspenso pela cauda, de sua caixa de origem para uma caixa preta e limpa representando um novo ambiente. O CSS teve uma duração de 20 minutos. Após este período o animal foi retornado para a sua caixa de origem. Os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC) foram monitorados durante todo o estresse e até 20 minutos pós o seu término. Assim, foi possível analisar se havia diferença na reatividade cardíaca dos grupos experimentais durante e após o momento do estresse.

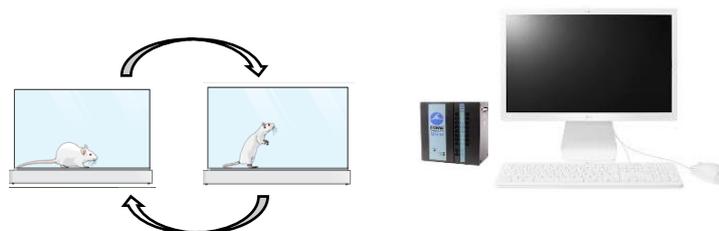


Figura 4.10 Esquema representativo do paradigma de estresse por mudança de ambiente

4.15.2. Estresse pelo jato de ar

Este modelo de estresse agudo foi dividido em dois momentos, somente a contenção (10 min) seguida pela presença do jato de ar (10 min). Os animais foram colocados em um tubo de contenção de acrílico (20,5 x 31,5mm) que impedia a movimentação do animal. Após 10 minutos de contenção, uma bomba de jato de ar (10 l/min) foi dirigida para a cabeça do animal durante 10 minutos. Após este período o jato de ar era desligado e o animal era retirado do contensor, sendo um estresse de média intensidade envolvendo elementos contenção e barulho. Ao final do estresse pelo jato de ar, os animais permaneceram em sua gaiola por mais 20 min para registro dos parâmetros cardiovasculares no período de recuperação (Xavier et al., 2009).

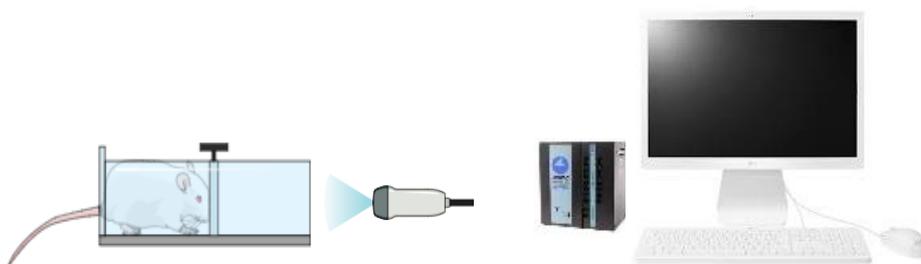


Figura 4.11 Esquema representativo do estresse de contenção e jato de ar

4.16. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. O teste de Shapiro-Wilk foi usado para verificar a normalidade dos dados. Na análise estatística dos resultados dentro de um mesmo grupo experimental foi utilizado o teste t *Student* pareado. Para comparação entre grupos, foi utilizado o teste t *Student* não-pareado, seguido pelo teste de Newman-Keuls. Para a comparação dos dados referentes à PAM, FC e atividade simpática do nervo renal ao longo do tempo entre os diferentes grupos foram usadas ANOVAs two-way de medidas repetidas, seguidas do post hoc de Bonfferonni. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

5. Resultados

5.1. Resultados do protocolo experimental 1

5.1.1. Características dos animais

No grupo de animais que foi submetido ao treinamento físico aeróbico foi respeitado o princípio da individualidade biológica. Neste sentido, a intensidade do treinamento (velocidade) foi fixada em 50-60% da capacidade máxima individual atingida no teste progressivo máximo. Com relação a duração (tempo) da sessão do treinamento, esta foi aumentada gradualmente ao longo dos dias da semana e, também, ao longo das semanas de maneira igualitária para todos os animais.

Foram utilizados alguns parâmetros para evidenciar o efeito do treinamento físico aeróbico e do sedentarismo sobre o desempenho físico dos animais após as oito semanas de treinamento ou submetidos ao comportamento sedentário. Alguns destes parâmetros físicos avaliados foram mensurados antes e depois destas oito semanas. Sendo assim, o desempenho físico foi avaliado utilizando-se quatro parâmetros de referência para comparação entre os grupos experimentais. Estes parâmetros utilizados foram: a duração total do teste progressivo máximo, a velocidade máxima atingida no teste progressivo máximo, o trabalho realizado durante o teste progressivo máximo (figura 5.1) foram os parâmetros utilizados como índices de desempenho físico dos animais. Adicionalmente, a frequência cardíaca basal foi utilizada como uma índice de melhora do desempenho físico (figura 5.2).

Conforme esperado, após as oito semanas de treinamento físico aeróbico, os animais treinados apresentaram um aumento significativo de 30,68% no tempo total do teste progressivo até a fadiga (TREIN PRÉ $38,82 \pm 1,8$ min vs TREIN PÓS $50,73 \pm 2,5$ min; $p=0,0012$). Este aumento do tempo total dos animais treinados também foi diferente dos animais sedentários ao final das oito semanas (TREIN PÓS $50,73 \pm 2,5$ min vs SEDEN PÓS $27,36 \pm 1,3$ min; $p<0,0001$). Quanto aos animais pertencentes ao grupo sedentário o tempo total final durante o teste progressivo máximo foi inferior ao obtido no teste progressivo inicial. (SEDEN-PRÉ: $36,09 \pm 2,3$ min vs SEDEN PÓS $27,36 \pm 1,3$ min; $p=0,02$) (Figura 5.1) apresentando uma queda de 24,19% no rendimento.

Comportando-se de maneira semelhante ao tempo total, a velocidade máxima atingida durante o teste progressivo máximo pelo grupo treinado alcançou valores de

velocidade superiores ao final das oito semanas de treinamento (TREIN PRÉ: $21,64 \pm 0,6$ m/min vs TREIN PÓS: $25,64 \pm 0,8$ m/min; $p=0,0012$) (figura 02). Com relação ao grupo sedentário, a velocidade máxima atingida durante o teste progressivo final foi menor quando comparado com o grupo treinado final (SEDEN PÓS: $17,82 \pm 0,4$ m/min vs TREIN PÓS: $25,64 \pm 0,8$ m/min, $p<0,0001$) e, da mesma forma, foi inferior aos valores obtidos durante o teste progressivo máximo inicial (SEDEN PRÉ: $20,73 \pm 0,8$ m/min vs SEDEN PÓS: $17,82 \pm 0,4$ m/min, $p=0,02$) (Figura 5.1).

Corroborando com os dados acima, quando se analisa o trabalho destes dois grupos experimentais, também é possível observar que o trabalho realizado após as oito semanas de treinamento aumentou em 280% no grupo treinado (TREIN PRÉ: $94,71 \pm 8,1$ J vs TREIN PÓS: $265,5 \pm 27,6$ J; $p<0,0001$). Enquanto no grupo sedentário não houve alterações neste parâmetro (SEDEN PRÉ: $84,25 \pm 6,3$ J vs SEDEN PÓS: $105,6 \pm 6,1$ J; $p=0,74$) (Figura 5.1).

Para todos estes parâmetros os valores iniciais foram similares entre os grupos experimentais.

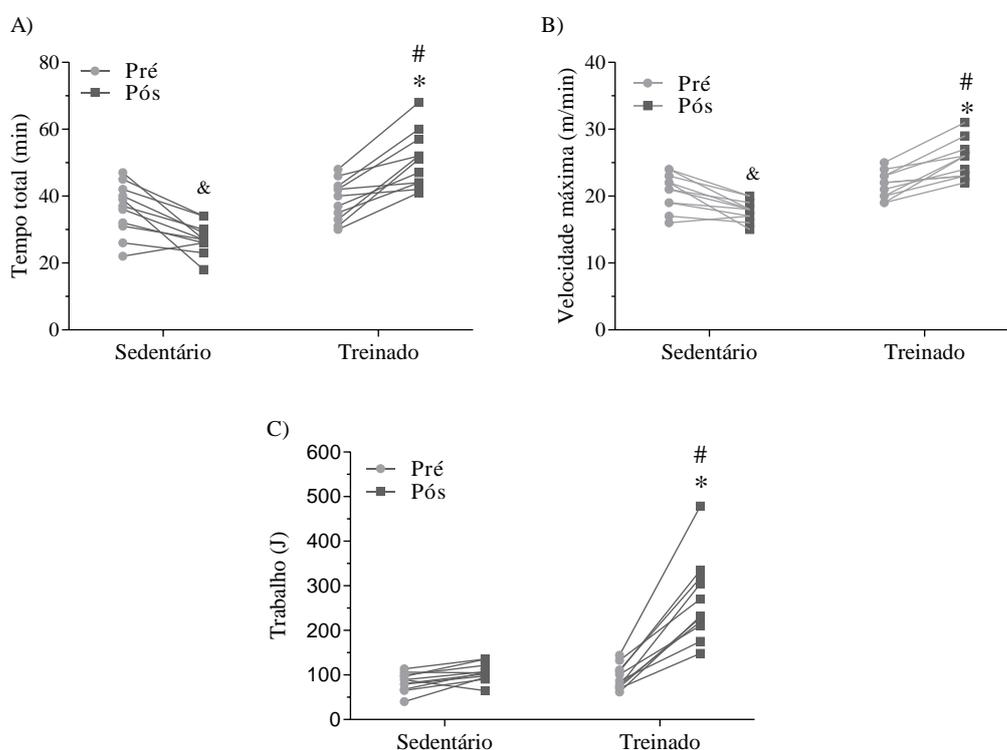


Figura 5.1: Tempo total de exercício (min) (A), velocidade máxima alcançada (m/min) (B) e trabalho (J) (C) durante o teste progressivo até a fadiga, nos momentos pré e pós o treinamento físico aeróbico de oito semanas. Sedentário (n=11) e treinado (n=11). Dados expressos como

média \pm EPM. \$ $p < 0,05$. Sedentário pré vs sedentário pós; # $p < 0,05$, Treinado pré vs treinado pós; * $p < 0,05$ Sedentário pós vs treinado pós.

A massa corporal é uma variável que pode influenciar diretamente no valor do trabalho realizado durante o teste progressivo máximo. Porém, o peso corporal final dos grupos experimentais não foi diferente depois das oito semanas (SEDEN $365,8 \pm 7,0$ g vs TREIN $359,7 \pm 12,38$ g; $p = 0,95$) (figura 5.2).

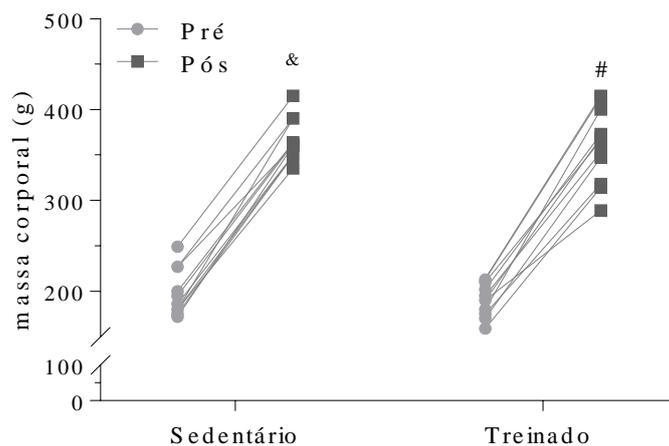


Figura 5.2 Massa corporal (g) dos animais treinados (n=11) e sedentários (n=11) pré e pós-período de treinamento. Dados expressos como média \pm EPM. & $p < 0,05$: Sedentário pré vs sedentário pós. # $p < 0,05$: Treinado pré vs treinado pós. Two Way anova

No entanto, o índice de adiposidade do grupo sedentário foi maior quando comparado aos animais do grupo treinado (SEDEN: $2,725 \pm 0,2$ % vs TREIN $2,215 \pm 0,1$ %; $p = 0,01$). A gordura epididimal não apresentou diferença entre os grupos (SEDEN $0,012 \pm 0,0013$ g vs TREIN $0,010 \pm 0,0078$ g; $p = 0,13$). A gordura peritoneal do grupo sedentário (SEDEN: $0,0090 \pm 0,0001$ g) quando comparado ao grupo treinado (TREIN $0,0061 \pm 0,0005$ g) foi maior ($p = 0,01$) assim como a gordura mesentérica (SEDEN $0,0070 \pm 0,0006$ g vs TREIN $0,0049 \pm 0,005$ g; $p = 0,02$) (figura 5.3).

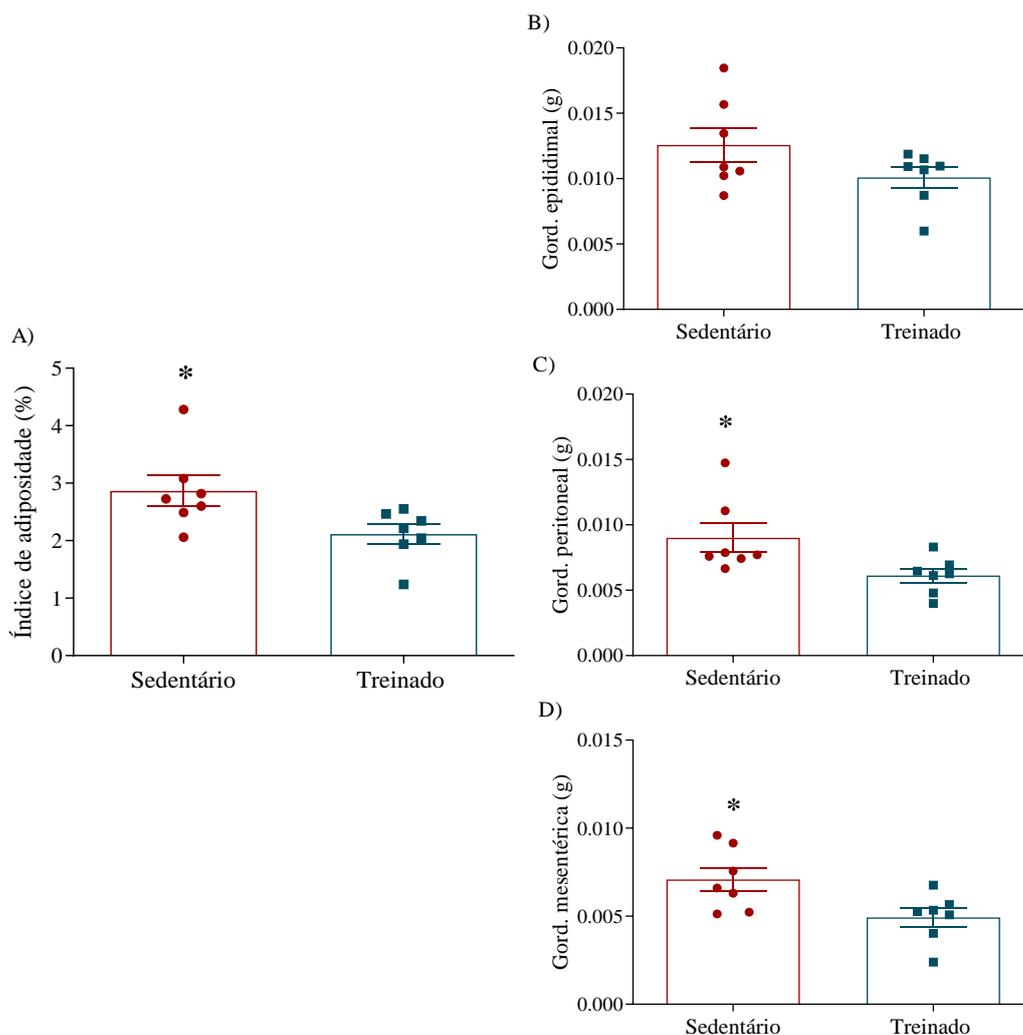


Figura 5.3 Índice de adiposidade (A), gordura epididimal (B), gordura peritoneal (C) e gordura mesentérica (C) dos animais após o período de treinamento. Sedentário (barra vermelha, n=7) e treinado (barra azul, n=7). Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0,05$ sedentário vs treinado. Teste T pareado.

Com relação, aos parâmetros cardiovasculares basais dos grupos experimentais, pode-se observar que a frequência cardíaca basal do grupo sedentário foi maior quando comparado ao grupo treinado (SEDEN 382 ± 14 bpm vs TREIN: 342 ± 6 bpm; $p=0,02$) após as oito semanas de treinamento. Quanto à pressão arterial média nós não encontramos aumento adicional no período basal (SEDEN: $115,3 \pm 0,74$ mmHg vs TREIN: $110,8 \pm 2,97$ mmHg; $p=0,16$) (figura 5.4).

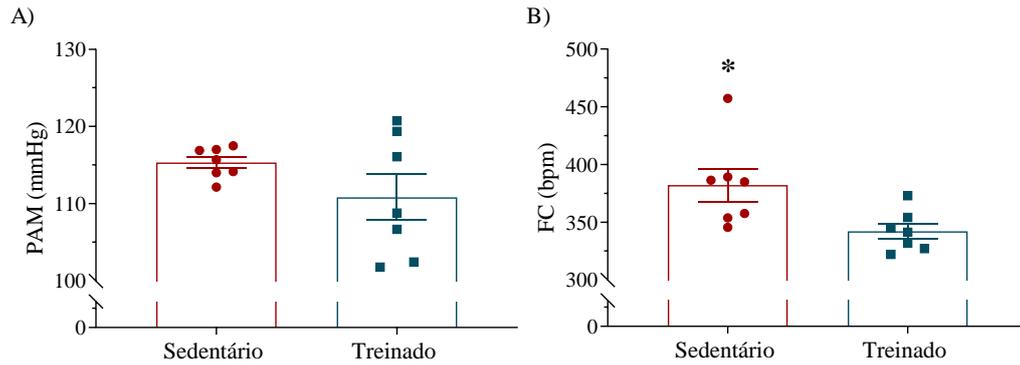


Figura 5.4 Parâmetros cardiovasculares basais. Pressão arterial média basal (PAM, mmHg) (A) e frequência cardíaca basal (FC, bpm) (B) após o período de treinamento físico aeróbico de oito semanas. Sedentário (barra vermelha, n=7) e treinado (barra azul, n=7). Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0,05$. Teste T pareado.

Adicionalmente, a avaliação da atividade simpática renal basal mostrou que os animais sedentários apresentaram uma descarga da atividade simpática renal basal superior aos animais treinados (SEDEN $133,8 \pm 5,36$ % vs, TREIN $106,7 \pm 9,12$ %, $p = 0,02$) ou seja, o número de disparos do nervo renal simpático basal entre os grupos é diferente. Com relação a seguinte questão se o sedentarismo ou o treinamento físico alterariam este parâmetro ao longo do tempo um outro grupo experimental foi utilizado. A comparação com o grupo pré-tratamento, grupo experimental com apenas 8 semanas de idade, nos aponta que o sedentarismo aumenta a ASNR basal. O grupo sedentário e pré tratamento apresentaram diferenças entres os valores basais no disparo do nervo renal simpático (SEDEN $133,8 \pm 5,36$ % vs PRE $107,2 \pm 11,62$ %, $p = 0,04$). Não houve diferença na atividade simpática basal entre os grupos treinados e pré tratamento (TREIN $106,7 \pm 9,12$ % vs PRE $107,2 \pm 11,62$ %, $p = 0,97$) (figura 5.5).

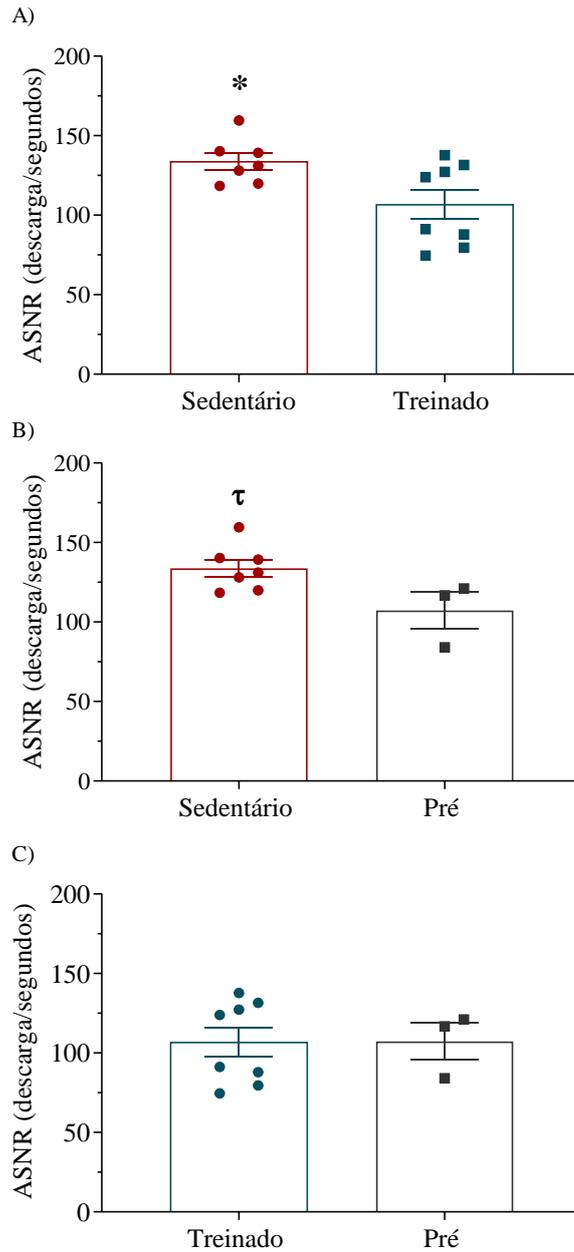


Figura 5.5 Atividade simpática do nervo renal (ASNR, %) após o período de treinamento físico aeróbico de oito semanas. Sedentário (barra vermelha, n=7), treinado (barra azul, n=8) e pré tratamento (barra cinza, n=3). Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0,05$; Sedentário vs Treinado e $t p < 0,05$ Sedentário vs Pré tratamento. Teste T.

O teste de labirinto em cruz elevado foi utilizado com o propósito de avaliar o comportamento do tipo ansioso do animal e este foi aplicado ao término das oito semanas de treinamento. Para isso, foi utilizado três parâmetros comparativos de indicadores de comportamento do tipo ansioso são eles: percentual de entrada nos braços abertos, percentual de tempo dentro dos braços abertos e o número de entradas nos braços

fechados. Os parâmetros percentual de entrada nos braços abertos (SEDEN $36,04 \pm 3,44$ vs TREIN $43,43 \pm 2,74$) e o número de entradas nos braços fechados (SEDEN $7,58 \pm 1,04$ vs TREIN $9,5 \pm 0,93$) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais ($p=0,11$ e $p= 0,19$; respectivamente). No entanto, quando se avalia o percentual do tempo dentro dos braços abertos o grupo treinado apresentou um valor superior quando comparado ao grupo sedentário (SEDEN: $16,06 \pm 3,1$ vs TREI: $27,58 \pm 4,5$, $p=0,04$) (Figura 5.6).

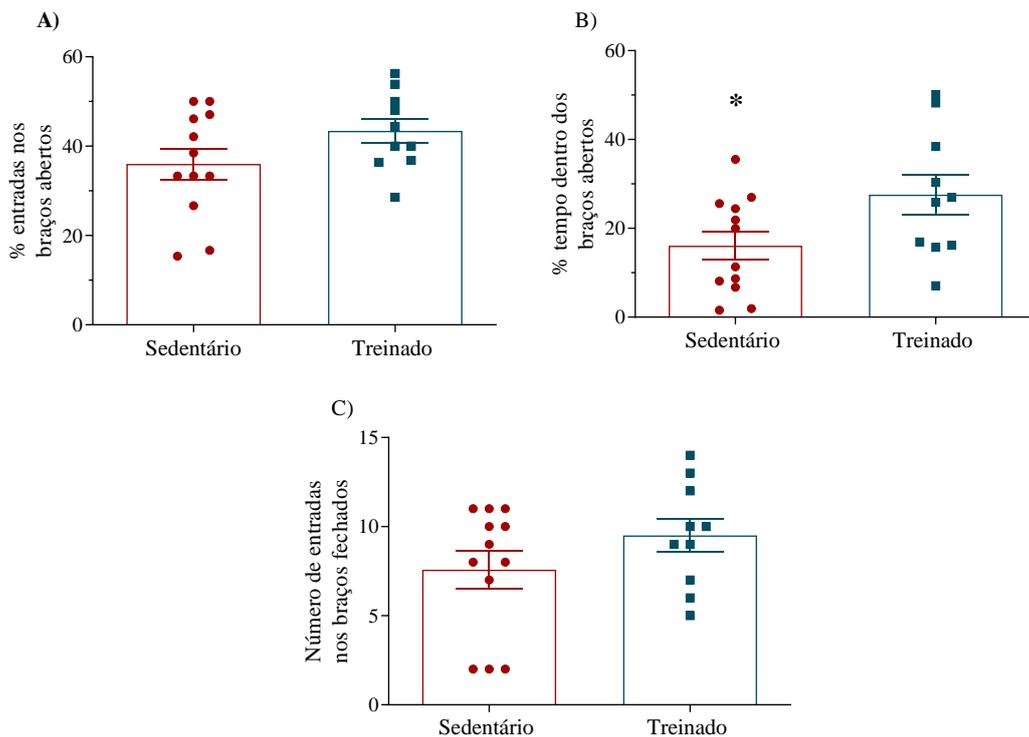


Figura 5.6 Teste do labirinto em cruz elevado. Percentual do número de entradas nos braços abertos (A), percentual do tempo dentro dos braços abertos (B) e número de entradas nos braços fechados (C). Sedentário (barra vermelha, n=12) e treinado (barra azul, n=10). Dados expressos como média \pm EPM. * $p<0,05$. Teste T não-pareado.

Os músculos gastrocnêmio e sóleo dos animais do grupo sedentário apresentaram um peso menor quando comparado ao grupo treinado (SEDEN $0,005462 \pm 8,81$ vs TREIN $0,0057 \pm 7,64$, $p=0,05$; SEDEN $0,0004598 \pm 1,058$ vs TREIN $0,0004961 \pm 1,31$, $p=0,04$; respectivamente). Com relação aos demais tecidos analisados, o comportamento sedentário ou o treinamento físico não causaram alterações nos pesos destes: coração (SEDEN $0,002787 \pm 5,85$ vs TREIN $0,00278 \pm 4,55$; $p=0,68$), VE (SEDEN $0,002148 \pm 3,84$ vs TREIN $0,002175 \pm 5,05$; $p=0,68$), rim (SEDEN $0,003955 \pm 9,89$ vs TREIN

0,004137 ± 1,13; p=0,23) e a adrenal (SEDEN 0,0001068 ± 6,85 vs TREIN 0,0001111 ± 6,43; p=0,64) (figura 5.7).

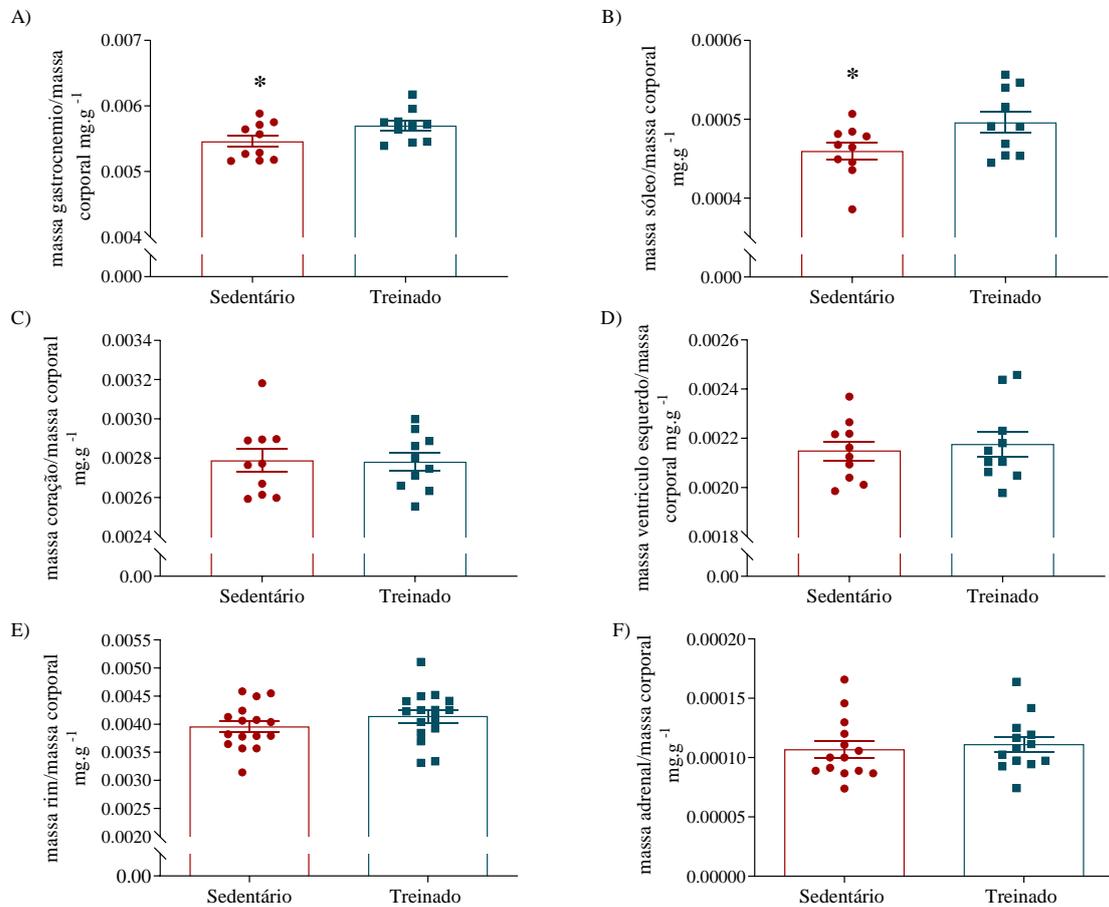


Figura 5.7 Massa dos tecidos corrigidos pela massa corporal (mg.g⁻¹). Gastrocnêmico (A), sóléo (B), coração (C), ventrículo esquerdo (D), rim (E) e adrenal (F). Sedentário (barra vermelha) e treinado (barra azul). Dados expressos como média ± EPM. *p<0,05. Teste T não-pareado.

5.1.2. Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a reatividade cardiovascular ao estresse emocional agudo

Na análise do comportamento das respostas cardiovasculares dos grupos experimentais, durante a exposição dos animais ao CSS, é possível observar que o grupo sedentário apresentou níveis mais elevados de resposta pressora e taquicárdica durante e na recuperação ao estresse agudo (figura 5.8). No momento da entrada do animal ao CSS (minuto 12) é possível observar um pico na resposta da PAM sendo este diferente entre os grupos experimentais. Esta alteração da PAM durante o estresse, quando comparado ao valor basal, mostrou-se mais elevada no grupo sedentário e esta alteração é mantida ao

longo de todo o estresse. Quando analisadas as alterações da PAM do grupo treinado, comparado ao valor basal, este apresentou alterações da PAM durante os momentos de manipulação do estresse, ou seja, no momento de entrada e retirada ao CSS. Não foi observado alterações neste parâmetro durante e após o estresse para o grupo treinado. No entanto, estas alterações da PAM durante o momento do estresse e na recuperação não são diferentes entre os grupos.

Com relação a resposta da FC ao estresse por mudança de ambiente é possível observar um aumento neste parâmetro para ambos os grupos experimentais. O grupo sedentário apresenta um pico de resposta maior que o grupo treinado e esta taquicardia foi mantida ao longo de todo o estresse. Com relação a comparação da alteração da FC durante o estresse com os valores basais dos respectivos grupos, é possível observar que o grupo sedentário apresenta um aumento da FC ao longo do estresse. O grupo treinado, diferentemente do grupo sedentário, apresenta um aumento somente nos primeiros minutos de exposição ao estresse. Na segunda metade do tempo de exposição ao estresse por mudança de ambiente, a alteração da FC do grupo treinado não é diferente dos valores basais da FC deste grupo.

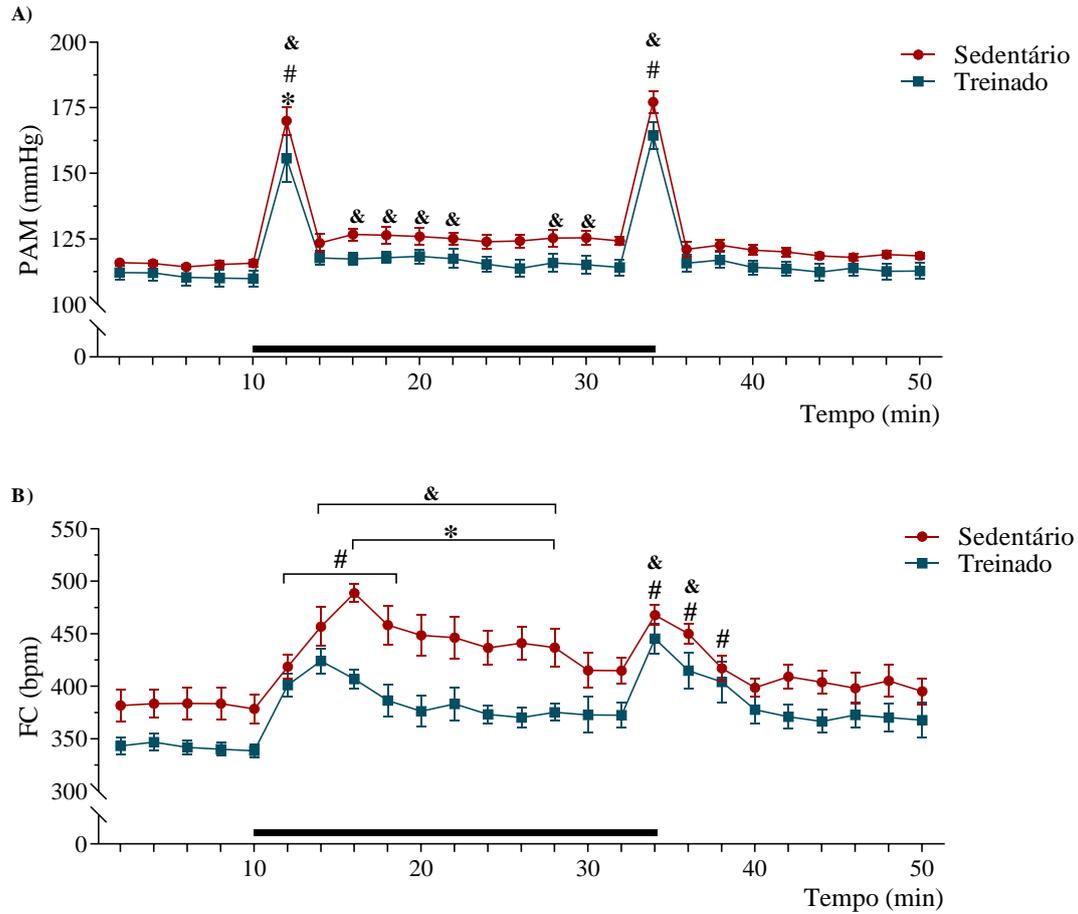


Figura 5.8 Análise temporal (em minutos) das respostas cardiovasculares pressão arterial média (PAM, mmHg) (A) e frequência cardíaca (FC, bpm) (B) obtidos no basal, durante e após a exposição dos animais ao cage switch stress. Sedentário (tracejado vermelho, n=7) e treinado (tracejado azul, n=7). * $p < 0,05$, Sedentário vs treinado; # $p < 0,05$, treinado basal vs treinado e & $p < 0,05$, sedentário basal vs sedentário. A barra preta representa o momento do estresse agudo. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

Durante e exposição dos grupos sedentário e treinado ao estresse por contenção seguido do jato de ar é possível observar um aumento sustentado da PAM em ambos os grupos. No entanto, este aumento da PAM não é diferente entre os grupos experimentais. No entanto, ao comparar as alterações de PAM durante o estresse o grupo treinado apresentou um aumento significativo quando comparado aos seus valores basais. O mesmo foi observado para o grupo sedentário.

Com relação a resposta taquicárdica entre os grupos experimentais podemos observar uma maior resposta a contenção do grupo sedentário quando comparado ao grupo treinado (figura 5.9). Durante a contenção, o grupo sedentário apresenta a sua resposta máxima de FC já no primeiro de minuto de exposição. Já o aumento da FC do

grupo treinado ocorre mais lentamente atingido o pico de resposta ao final da contenção (minuto 16).

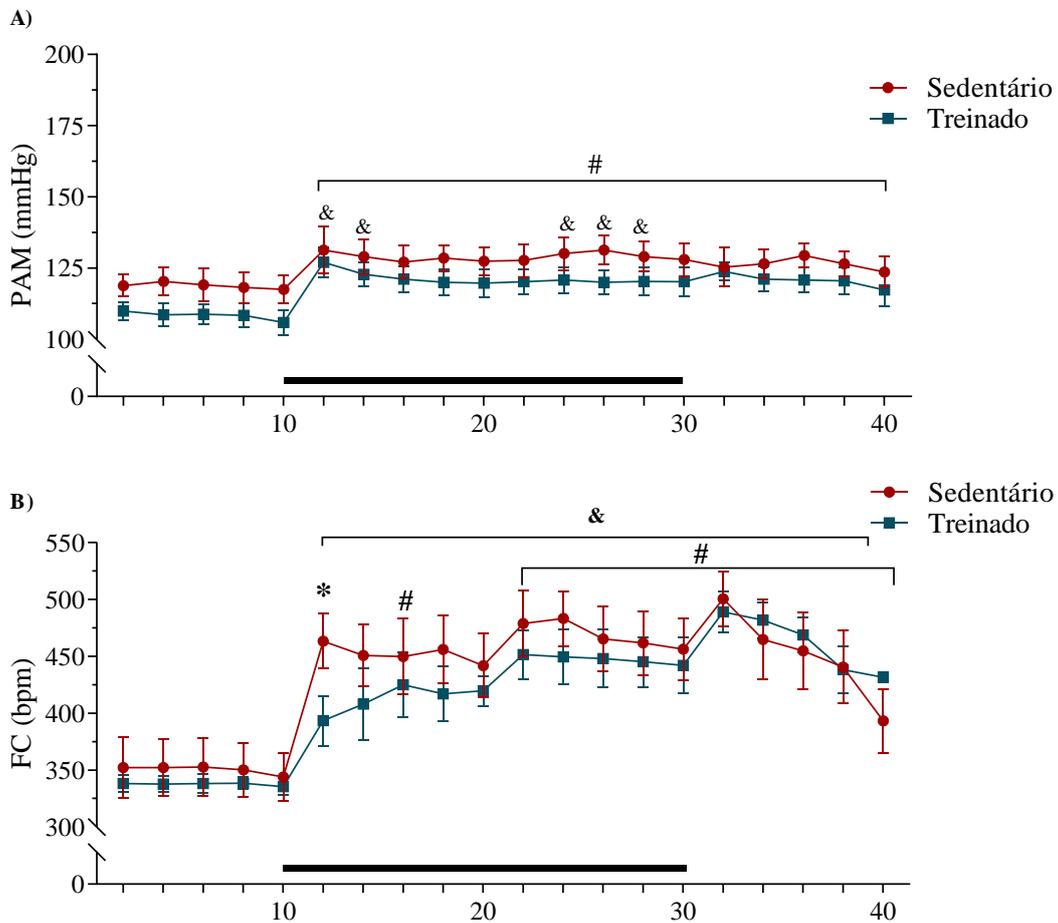


Figura 5.9 Análise temporal (em minutos) das respostas cardiovasculares pressão arterial média (PAM, mmHg) (A) e frequência cardíaca (FC, bpm) (B) obtidos no basal, durante e após a exposição dos animais ao estresse por contenção seguido pelo jato de ar. Sedentário (tracejado vermelho, n=7) e treinado (tracejado azul, n=7). * $p < 0,05$, Sedentário vs treinado; # $p < 0,05$, treinado basal vs treinado e & $p < 0,05$, sedentário basal vs sedentário. A barra preta representa o momento do estresse agudo. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

5.2. Resultados do protocolo experimental 2

5.2.1. Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação gabaérgica dos neurônios do HDM em animais acordados

A microinjeção de BMI, um antagonista dos receptores gabaérgicos, foi utilizada como ferramenta para a avaliação da modulação gabaérgica sobre os neurônios do HDM. Pode-se observar que a microinjeção de BMI no HDM foi capaz de causar um leve

aumento na PAM para ambos os grupos experimentais. Contudo, este aumento não foi diferente entre os grupos sedentário e treinado. Porém, quando comparamos as alterações da PAM após a microinjeção de BMI com os respectivos valores basais, o grupo sedentário apresentou aumentos significativos após a injeção de BMI. Quanto ao grupo treinado, apesar deste apresentar um leve aumento da PAM este não foi diferente do basal. Fazendo-se referência a FC, a microinjeção de BMI no HDM direito, também, foi capaz de causar uma taquicardia em ambos os grupos experimentais. No entanto, este aumento da FC não foi diferente entre os grupos experimentais mesmo sendo mais proeminente no grupo sedentário quando comparado ao grupo treinado (figura 5.10). Todavia, ao comparamos as alterações da FC após a microinjeção da BMI com o valor basal (ponto 5) estas alterações foram significativas no grupo sedentário. O mesmo não foi observado no grupo treinado. A figura 5.11 nos mostra que a variação da frequência cardíaca dos animais sedentários é maior quando comparado aos animais treinados após a microinjeção do BMI (SEDEN: 107 ± 26 bpm vs TREIN: 38 ± 14 bpm). Com relação a PAM, as alterações não forma diferentes entre os grupos experimentais (SEDEN: 10 ± 3 mmHg vs TREIN: 6 ± 3 mmHg, $p= 0,45$).

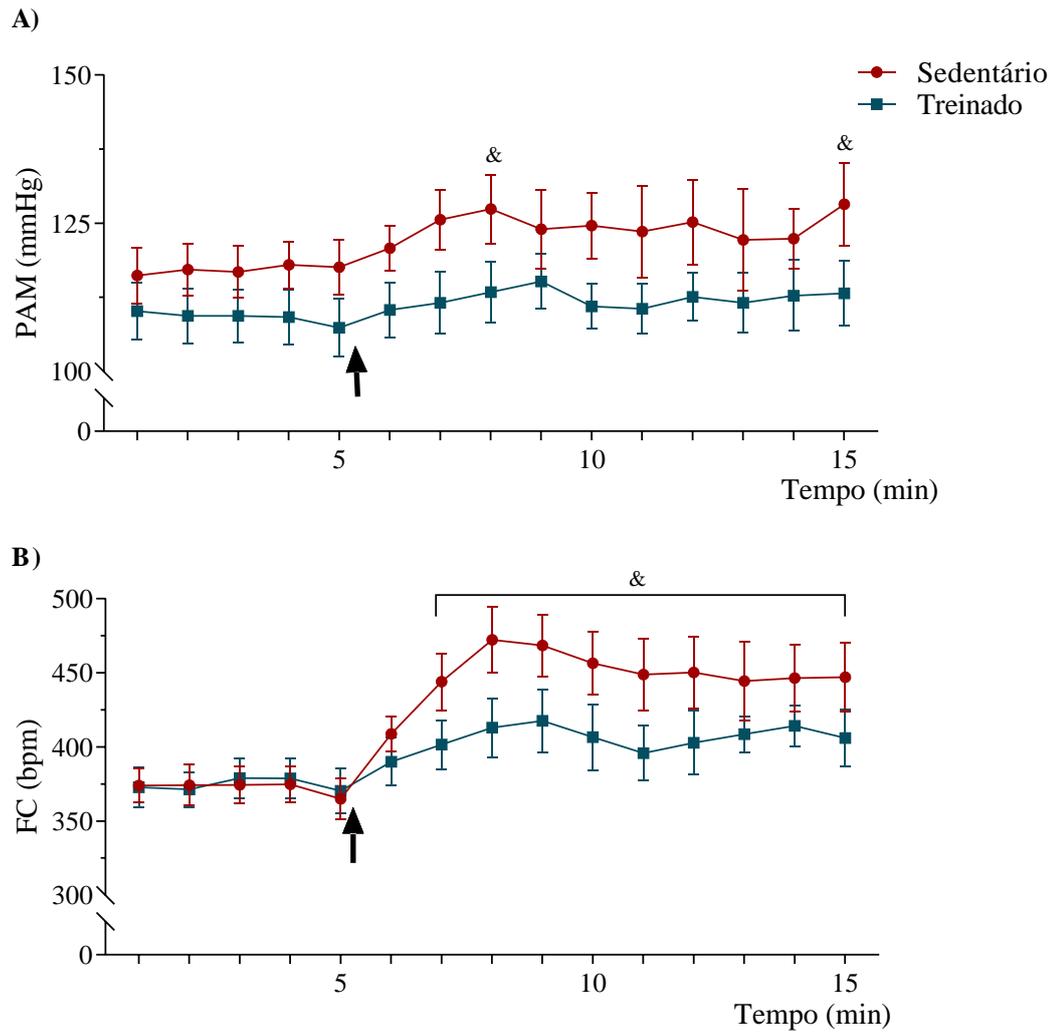


Figura 5.10 Análise temporal (em minutos) das respostas cardiovasculares pressão arterial média (PAM, mmHg) (A) e frequência cardíaca (FC, bpm) (B) obtidos no basal, durante e após a microinjeção de bicuculina (BMI – 10pmol/100nl) nos animais acordados. Sedentário (tracejado vermelho, n=5) e treinado (tracejado azul, n=5). &p<0,05, sedentário basal vs sedentário. A seta preta indica o momento da microinjeção. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

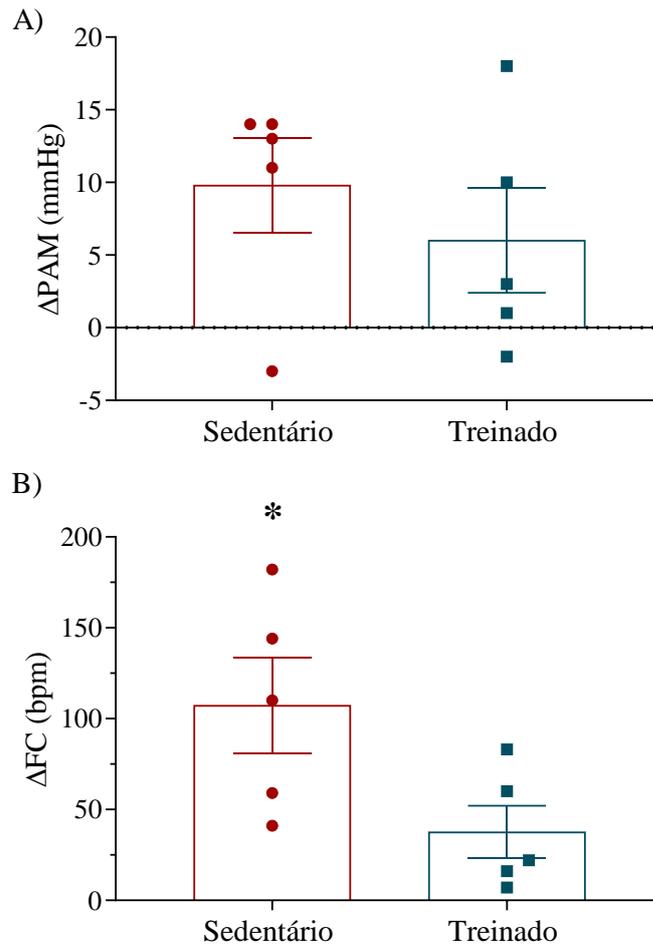


Figura 5.11 Variação máxima dos parâmetros cardiovasculares durante a microinjeção de BMI (100pmol/100nl) no HDM D de animais acordados. Delta da pressão arterial média (A) e delta da frequência cardíaca (B). Sedentário (barra vermelha, n=5) e treinado (barra azul, n=5). Dados expressos como média \pm EPM. * $p < 0,05$. Teste T não-pareado.

5.2.2. Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação glutamatérgica dos neurônios do HDM em animais acordados

A avaliação do tônus glutamatérgico sobre o HDM foi realizada por meio da microinjeção de NMDA, um agonista seletivo dos receptores NMDA. A microinjeção desta droga no HDM direito foi suficiente para causar um aumento da PAM e da FC dos animais sedentários quando comparado as médias dos próprios valores basais. No entanto, ao analisar os valores da PAM e FC após a microinjeção de NMDA no grupo treinado com os seus valores basais não é possível observar diferença. Na comparação

dos valores médios atingidos da PAM e da FC durante a estimulação do HDM observa-se que o aumento da PAM ao longo do tempo não foi diferente entre os grupos.

É possível observar que após a microinjeção de NMDA no HDM D ocorre um aumento da FC em ambos os grupos. No entanto, este aumento, não é diferente entre os grupos experimentais. Além disso, quando comparado ao basal, o aumento da FC após a microinjeção é diferente somente para o grupo sedentário, ou seja, o aumento da FC observado no grupo treinado não é diferente dos valores de FC basais para deste mesmo grupo (figura 5.12)

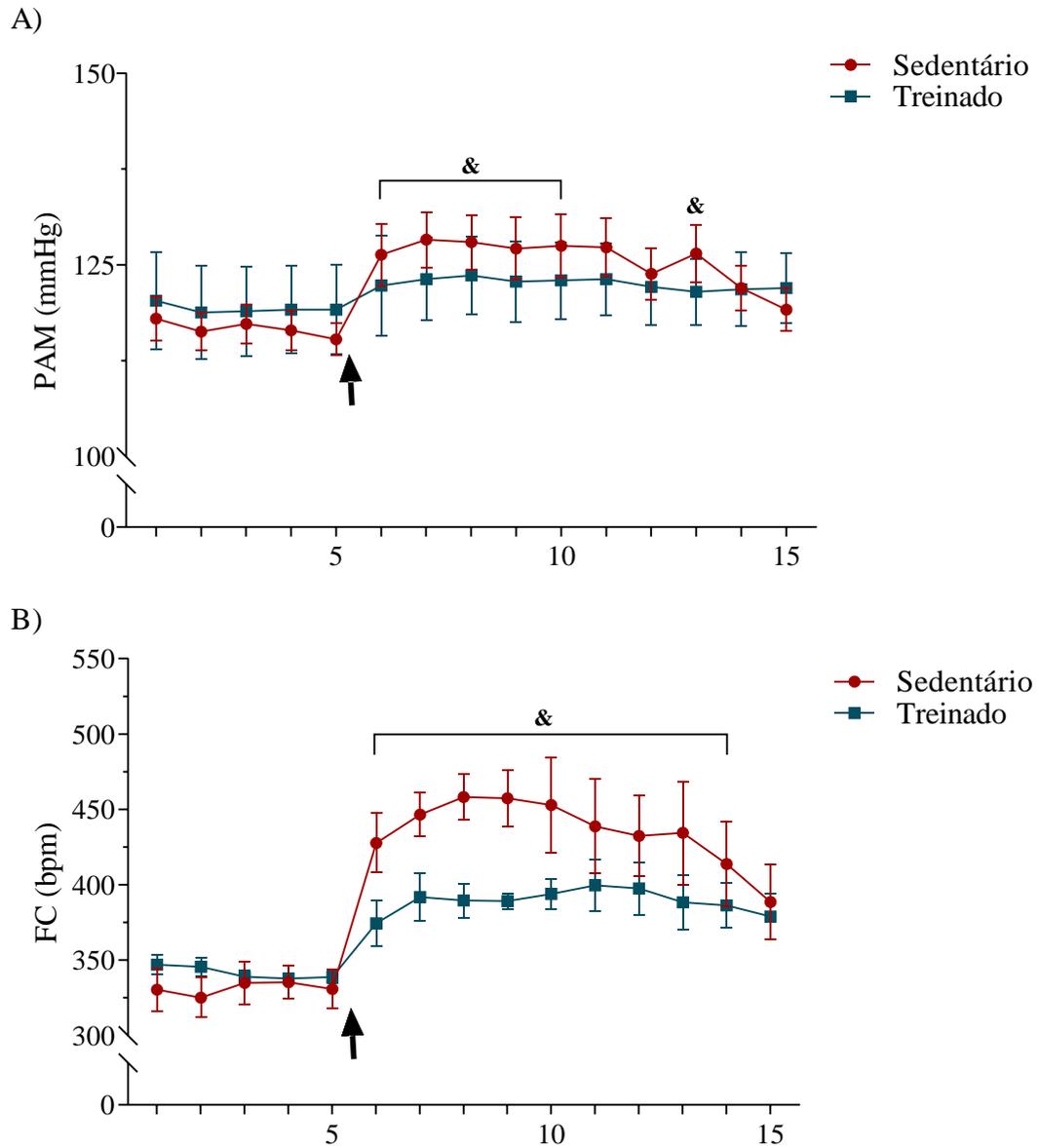


Figura 5.12: Análise temporal (em minutos) das respostas cardiovasculares pressão arterial média (PAM, mmHg) (A) e frequência cardíaca (FC, bpm) (B) obtidos no basal, durante e após a microinjeção de NMDA (100pmol/100nl) em animais acordados. Sedentário (tracejado vermelho, n=6) e treinado (tracejado azul, n=6). #p<0,05, treinado basal vs treinado e &p<0,05, sedentário basal vs sedentário. A seta preta indica o momento da microinjeção. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

Com relação a variação máxima dos parâmetros cardiovasculares observamos que a variação da PAM assim como da FC são maiores para o grupo sedentário comparado ao treinado (figura 5.13).

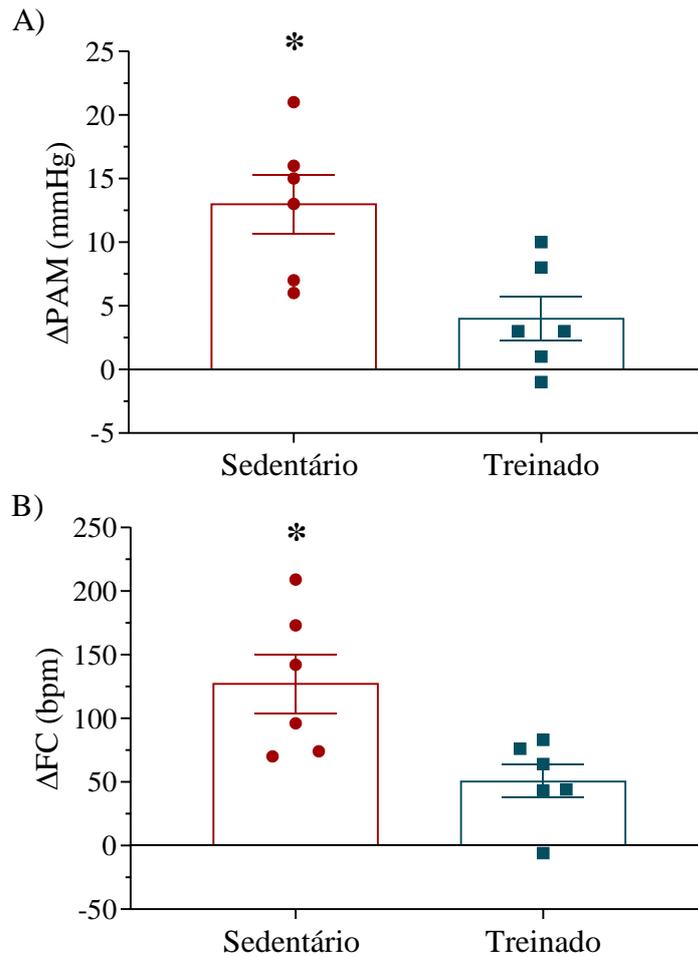


Figura 5.13 Variação máxima dos parâmetros cardiovasculares durante a microinjeção de NMDA (100pmol/100nl) no HDM D de animais acordados. Delta da pressão arterial média (A) e delta da frequência cardíaca (B). Sedentário (barra vermelha, n=6) e treinado (barra azul, n=6). Dados expressos como média ± EPM. *p<0,05. Teste T não-pareado.

5.3. Resultados do protocolo experimental 3

5.3.1. Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação gabaérgica dos neurônios do HDM em animais anestesiados

Os resultados obtidos demonstram que a microinjeção de BMI no HDM D em animais anestesiados provocou um aumento sustentado da ASNR, PAM e FC em todos os grupos experimentais (figura 5.14). Vale ressaltar que neste protocolo experimental foi acrescentado um novo grupo experimental o grupo pré tratamento. Este grupo refere-se a animais com oito semanas de idade. Assim, seria possível analisarmos o efeito que o comportamento sedentário ou um comportamento ativo poderiam ter sobre HDM.

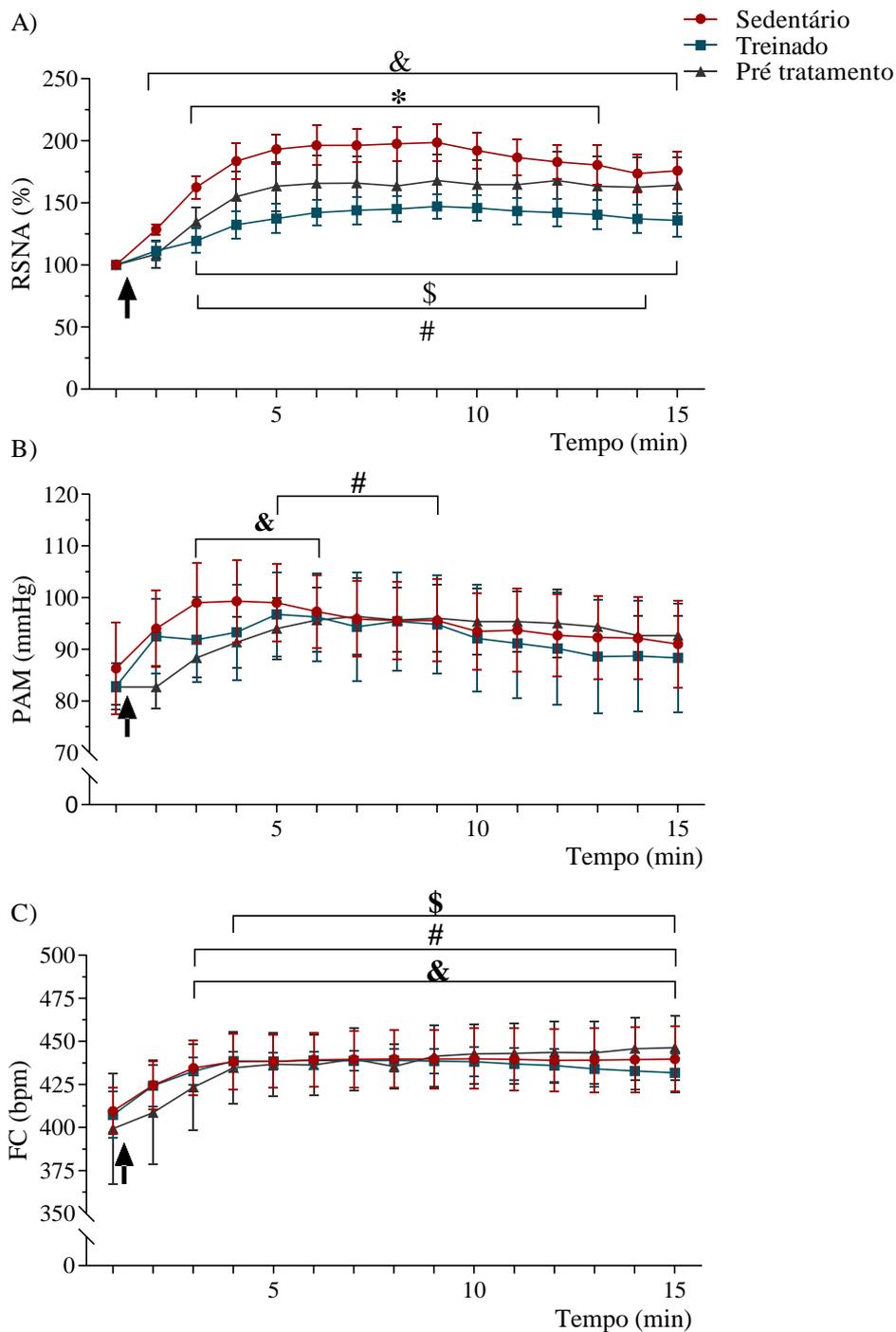


Figura 5.14: Análise temporal (em minutos) das respostas autonômicas e cardiovasculares. Atividade simpática do nervo renal (%) (A), pressão arterial média (PAM, mmHg) (B) e frequência cardíaca (FC, bpm) (C) obtidos no basal, durante e após a microinjeção de bicuculina (BMI – 40pmol/100nl) em animais anestesiados. Sedentário (tracejado vermelho, n=7), treinado (tracejado azul, n=7) e pré tratamento (tracejado cinza, n=3). *p<0,05, treinado vs sedentário; &p<0,05 sedentário vs sedentário basal; # p<0,05 treinado vs treinado basal e \$p<0,05 pré tratamento vs pré tratamento basal. A seta preta indica o momento da microinjeção da BMI. Dados expressos como média ± EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

A variação máxima da ASNR foi maior no grupo sedentário quando comparado ao grupo treinado (SEDEN: 96 ± 16 (%) vs TREIN: 42 ± 10 (%), $p=0,04$). No entanto, a variação máxima dos demais parâmetros avaliados PAM e FC não foram diferentes entre os grupos experimentais (figura 5.15).

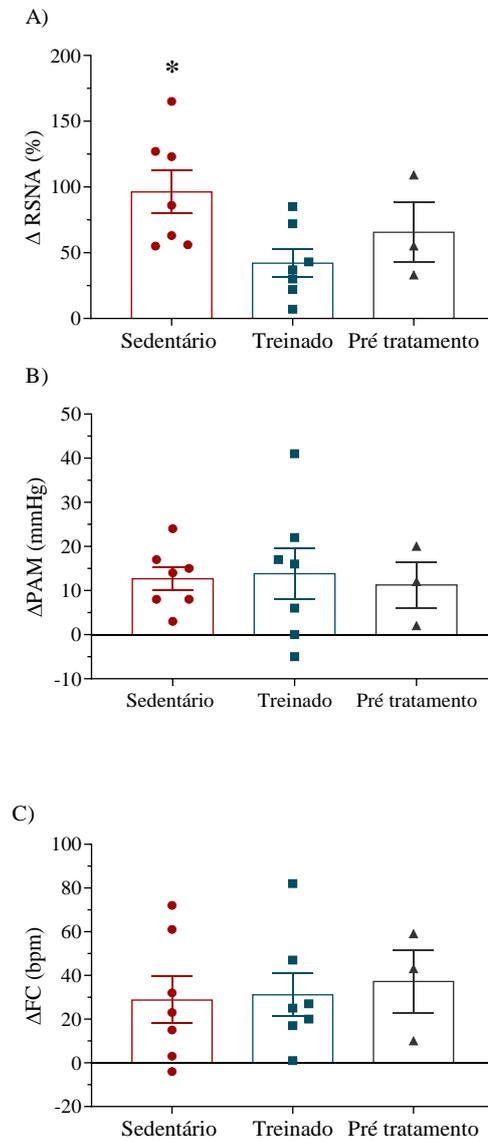


Figura 5.15 Variação máxima dos parâmetros autonômicos e cardiovasculares durante a microinjeção de BMI (40pmol/100nl) no HDM D de animais anestesiados. Atividade simpática renal (%) (A), pressão arterial média (PAM, mmHg) (B) e frequência cardíaca (FC, bpm) (C). * $p<0,05$ sedentário vs treinado; Sedentário (barra vermelha, $n=7$), treinado (barra azul, $n=7$) e pré tratamento (barra cinza, $n=3$). Dados expressos como média \pm EPM. * $p<0,05$. ANOVA one way.

5.3.2. Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a modulação glutamatérgica dos neurônios do HDM em animais anestesiados

A estimulação dos receptores NMDA, realizada por meio da microinjeção de NMDA no HDM direito em animais anestesiados, promoveu leves incrementos na ASNR, PAM e da FC para ambos os grupos experimentais. No entanto, os aumentos provocados nestes parâmetros, após a estimulação dos neurônios glutamatérgico, não foram diferentes entre os grupos experimentais. Quando avaliadas as alterações após a microinjeção de NMDA, foram encontradas diferenças no aumento da ASNR e da FC quando comparadas aos valores basais dos seus respectivos grupos (figura 5.16).

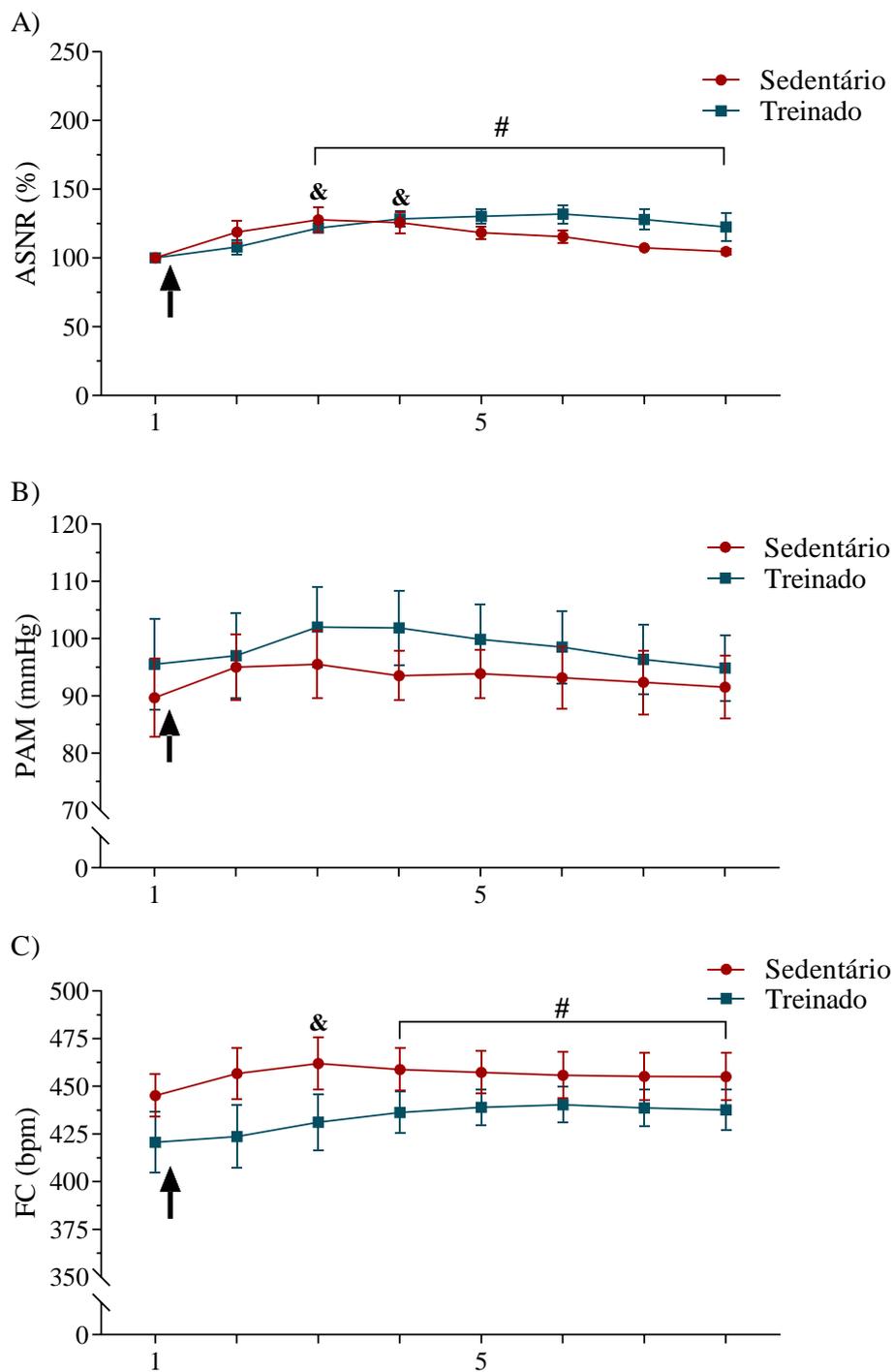


Figura 5.16 Análise temporal (em minutos) das respostas autonômicas e cardiovasculares. Atividade simpática do nervo renal (%) (A), pressão arterial média (PAM, mmHg) (B) e frequência cardíaca (FC, bpm) (C) obtidos no basal, durante e após a microinjeção de NMDA (100pmol/100nl) em animais anestesiados. Sedentário (tracejado vermelho, n=6) e treinado (tracejado azul, n=6). A seta preta indica o momento da microinjeção do NMDA. &p<0,05 sedentário vs sedentário basal; # p<0,05 treinado vs treinado basal. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

5.4. Resultados do protocolo experimental 4

5.4.1. Efeito do sedentarismo e do treinamento físico sobre a interação da modulação glutamatérgica e gabaérgica dos neurônios do HDM em animais anestesiados

Quando o efeito do bloqueio dos receptores NMDA foi avaliado, percebe-se que a microinjeção de AP-5 no HDM foi capaz de causar aumento na resposta da ASNR somente do grupo treinado. Estas alterações no grupo treinado foram diferentes do grupo sedentário (min 5 SEDEN: $92 \pm 5,339 \%$ vs TREIN $167,4 \pm 21,19 \%$, $p=0,008$) (figura 5.17). A microinjeção de AP-5 não foi capaz de causar alterações na reatividade cardíaca dos grupos experimentais.

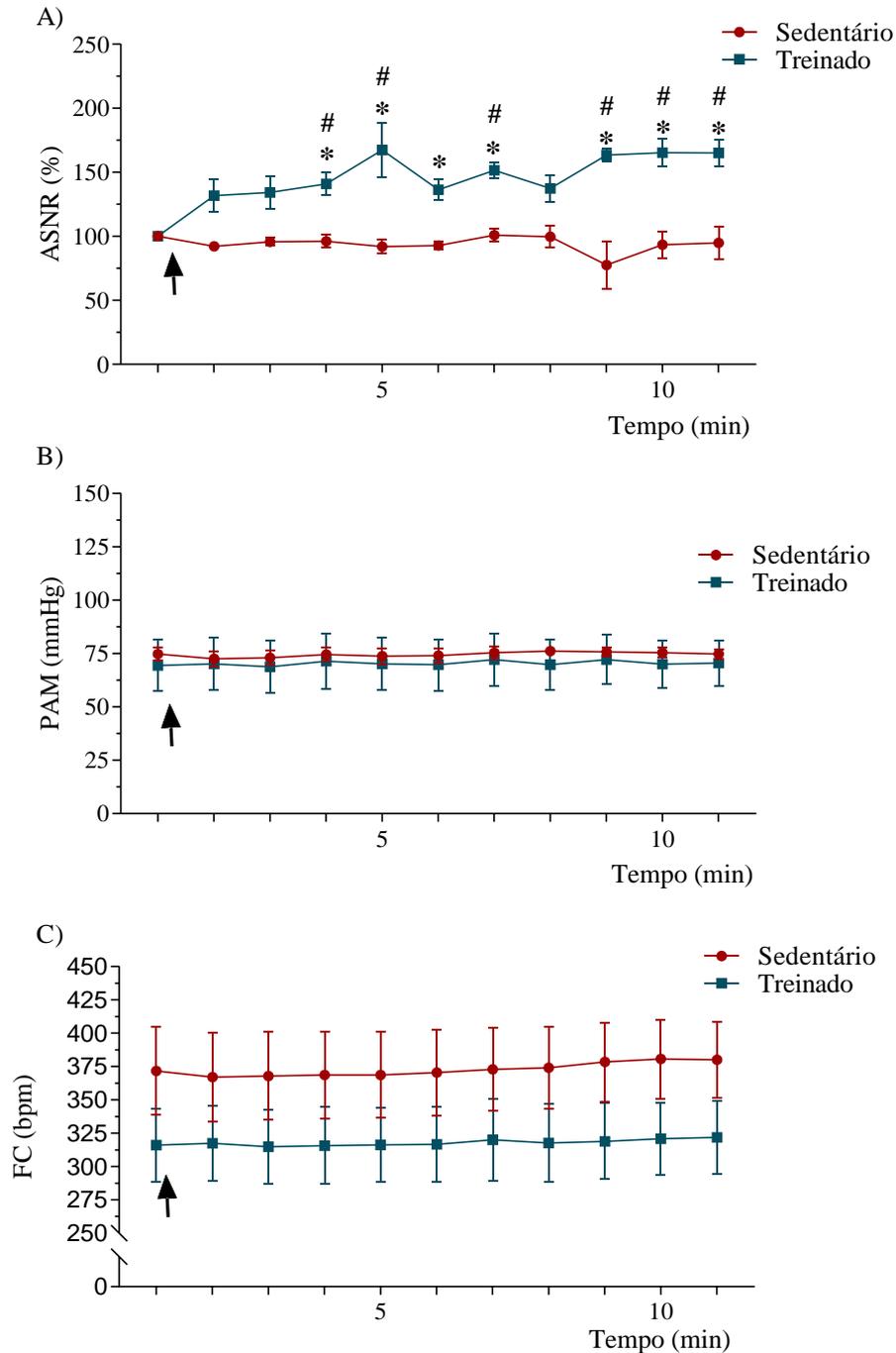


Figura 5.17 Análise temporal (em minutos) das respostas autonômicas e cardiovasculares. Atividade simpática do nervo renal (%) (A), pressão arterial média (PAM, mmHg) (B) e frequência cardíaca (FC, bpm) (C) obtidos no basal e após a microinjeção de AP-5 (100pmol/100nl) no HDM direito de animais anestesiados. Sedentário (tracejado vermelho, n=5) e treinado (tracejado azul, n=5). A seta preta indica o momento da microinjeção do AP-5. * $p < 0,05$ sedentário vs treinado; # $p < 0,05$ treinado vs treinado basal. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

A microinjeção de BMI no HDM, após o bloqueio dos receptores glutamatérgico, não foi capaz de causar alterações nas respostas autonômicas e cardiovasculares dos animais em ambos os grupos experimentais (figura 5.18).

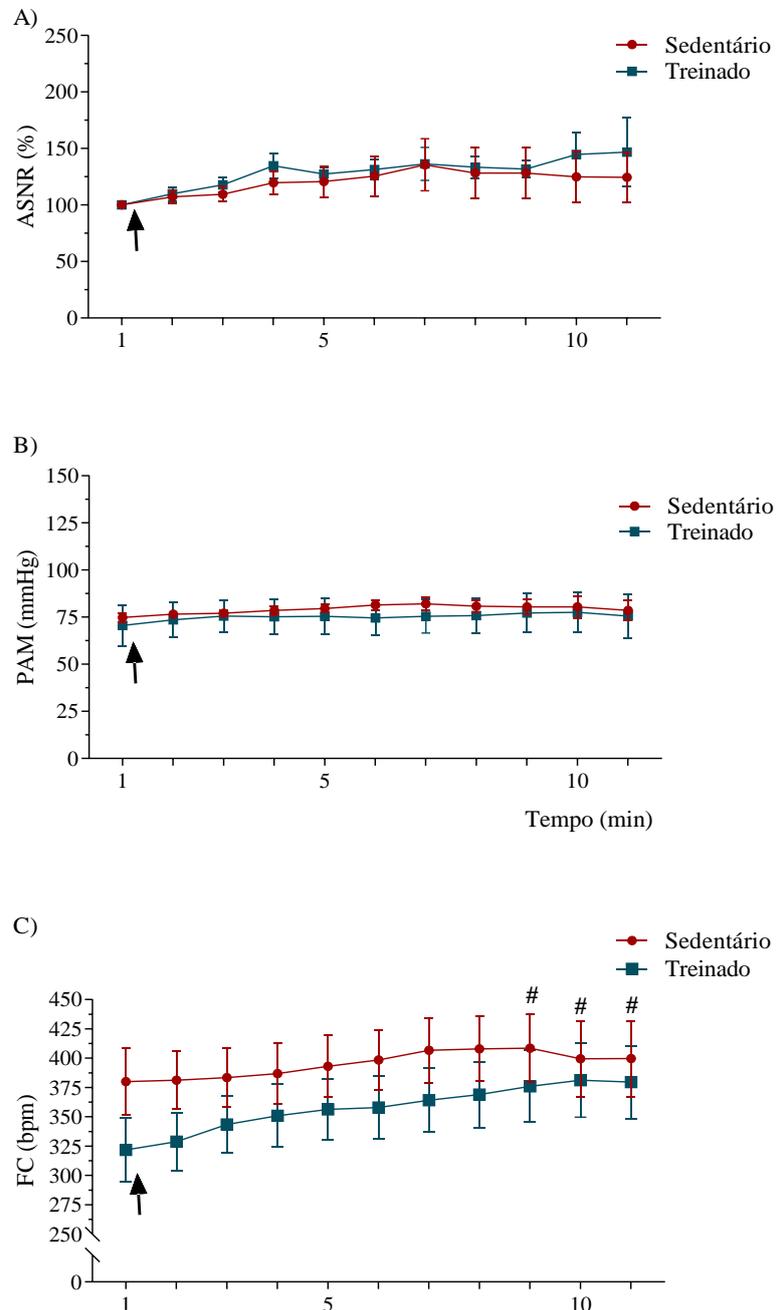


Figura 5.18 Análise temporal (em minutos) das respostas autonômicas e cardiovasculares. Atividade simpática do nervo renal (%) (A), pressão arterial média (PAM, mmHg) (B) e frequência cardíaca (FC, bpm) (C) obtidos no basal e após a microinjeção de BMI (40pmol/100nl) após bloqueio dos receptores glutamatérgicos no HDM direito de animais anestesiados. Sedentário (tracejado vermelho, n=5) e treinado (tracejado azul, n=5). A seta preta indica o

momento da microinjeção da BMI. # $p < 0,05$ treinado vs treinado basal. Dados expressos como média \pm EPM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test.

5.5. Resultado da análise histológica

A confirmação histológica da microinjeção das drogas utilizadas ocorreu por meio da análise da propagação do corante injetado ao final de cada protocolo experimental e revelou que as injeções foram limitadas ao HDM. Os animais que apresentaram a microinjeção fora do HDM não foram incluídos na análise de dados.

5.5.1. Microinjeção de BMI acordado

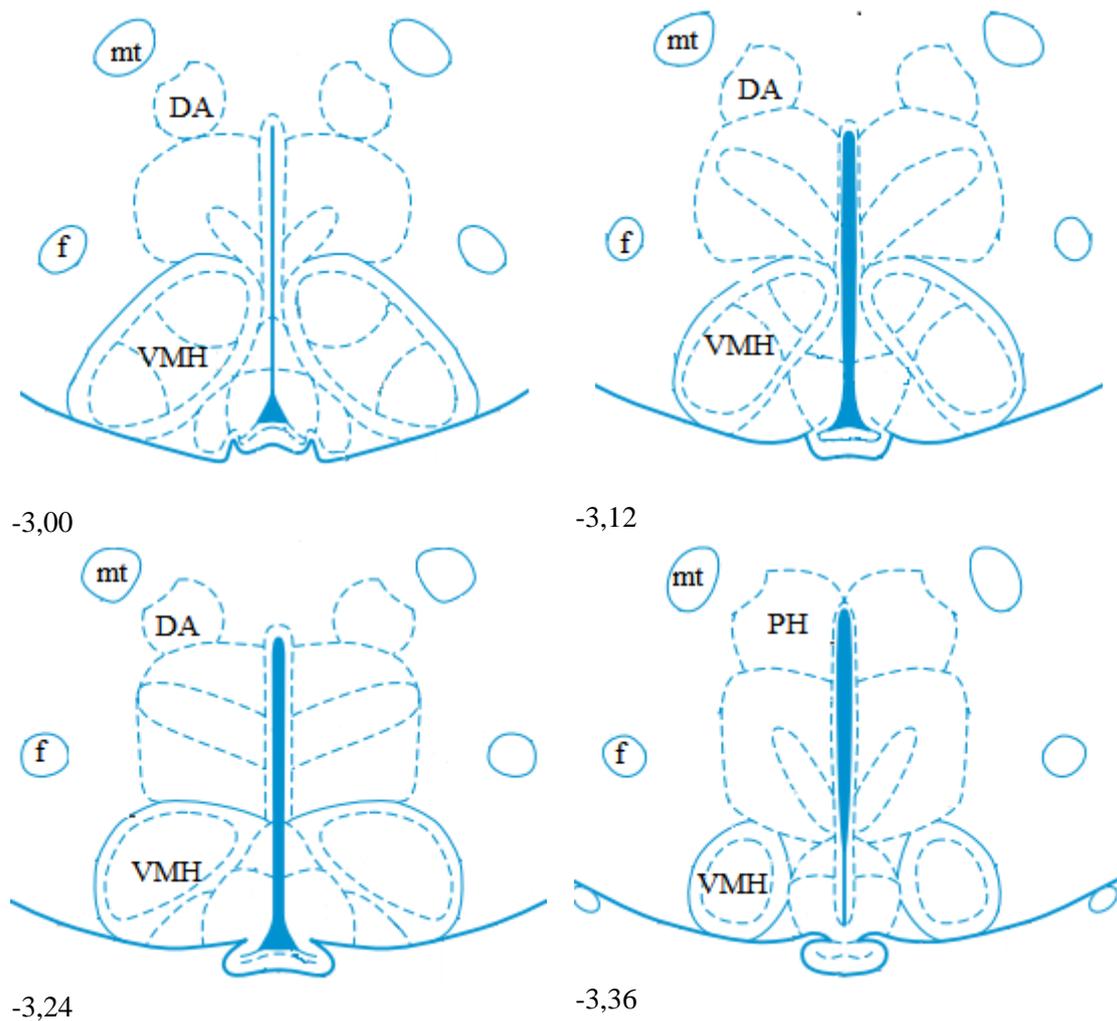


Figura 5.19 Desenhos esquemáticos do cérebro de ratos ilustrando locais aproximados da microinjeção de bicuculina (BMI) no hipotálamo dorsomedial D de ratos acordados. Triângulos vermelhos representam as microinjeções de BMI do grupo sedentário, triângulos verdes representam as microinjeções de BMI do grupo treinado. Os números indicam distância do bregma. mt, trato mamilo-talâmico; DA, área hipotalâmica dorsal; f, fornix; PH, núcleo hipotalâmico posterior; VMH, núcleo hipotalâmico ventral.

5.5.2. Microinjeção de NMDA acordado

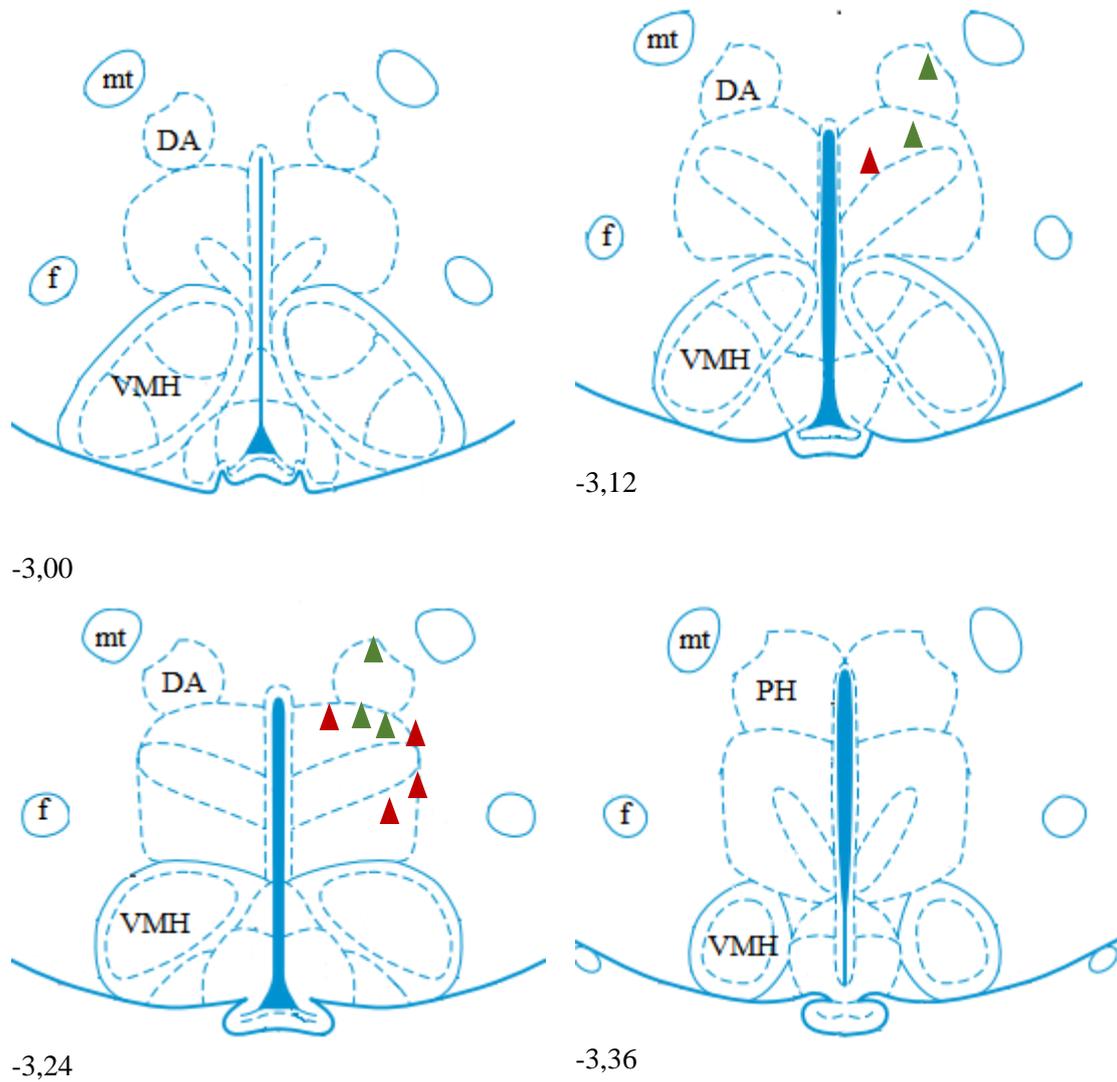


Figura 5.20 Desenhos esquemáticos do cérebro de ratos ilustrando locais aproximados da microinjeção de NMDA no hipotálamo dorsomedial D de ratos acordados. Triângulos vermelhos representam as microinjeções de BMI do grupo sedentário, triângulos verdes representam as microinjeções de BMI do grupo treinado. Os números indicam distância do bregma. mt, trato mamiló-talâmico; DA, área hipotalâmica dorsal; f, fornix; PH, núcleo hipotalâmico posterior; VMH, núcleo hipotalâmico ventral.

5.5.3. Microinjeção de BMI anestesiado

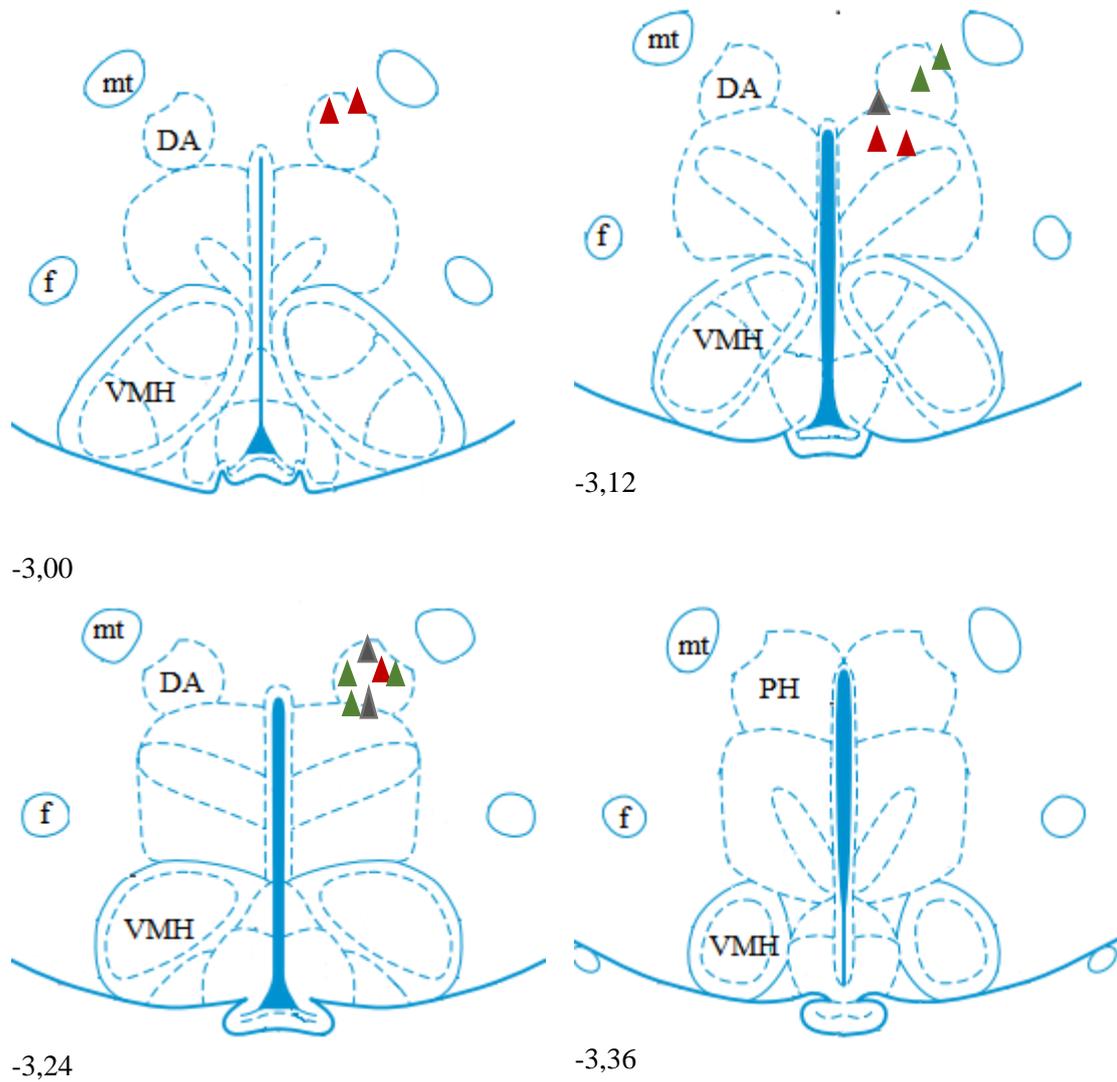


Figura 5.21 Desenhos esquemáticos do cérebro de ratos ilustrando locais aproximados da microinjeção de bicuculina (BMI) no hipotálamo dorsomedial D de ratos anestesiados. Triângulos vermelhos representam as microinjeções de BMI do grupo sedentário, triângulos verdes representam as microinjeções de BMI do grupo treinado, triângulos cinza representam as microinjeções de BMI do grupo pré tratamento. Os números indicam distância do bregma. mt, trato mamiló-talâmico; DA, área hipotalâmica dorsal; f, fornix; PH, núcleo hipotalâmico posterior; VMH, núcleo hipotalâmico ventral.

5.5.4. Microinjeção de NMDA anestesiado

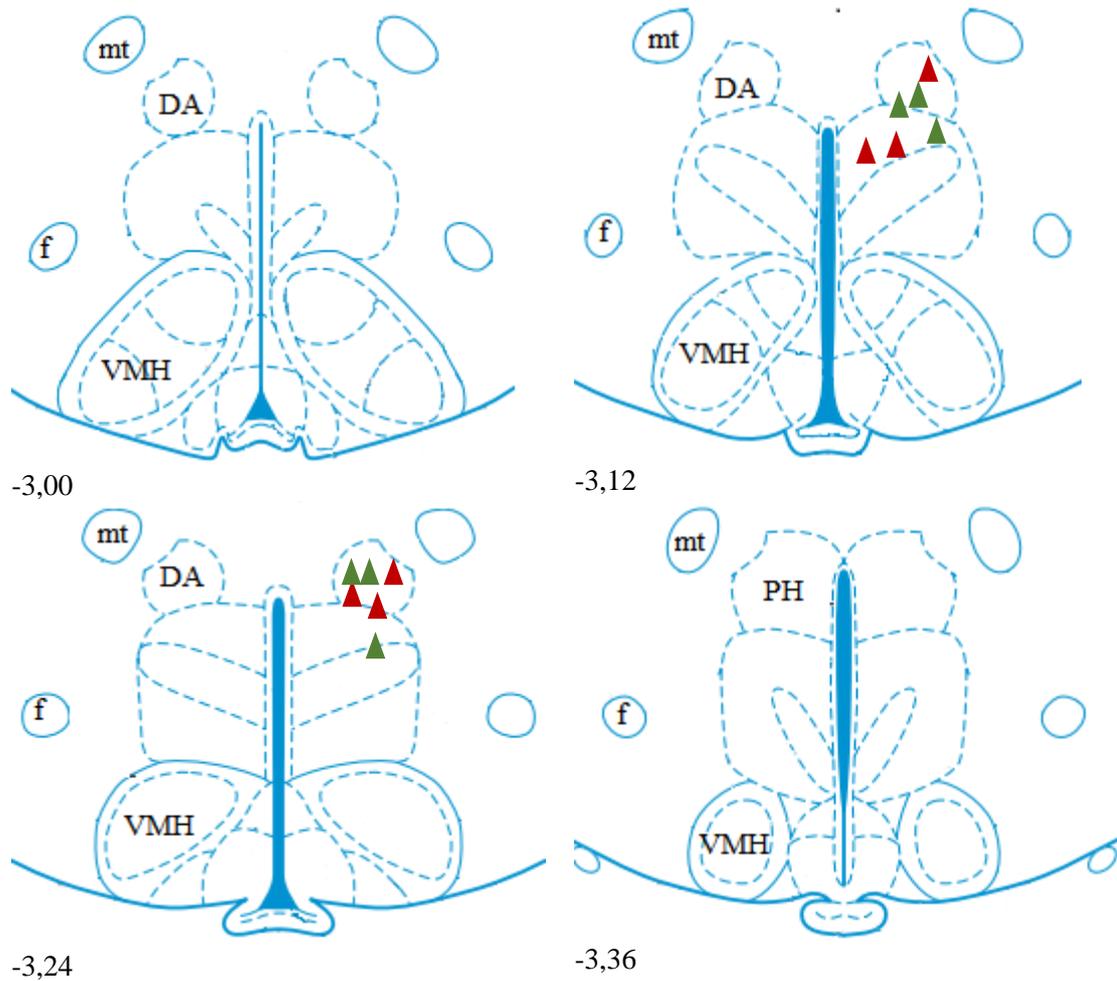


Figura 5.22 Desenhos esquemáticos do cérebro de ratos ilustrando locais aproximados da microinjeção de NMDA no hipotálamo dorsomedial D de ratos anestesiados. Triângulos vermelhos representam as microinjeções de BMI do grupo sedentário, triângulos verdes representam as microinjeções de BMI do grupo treinado. Os números indicam distância do bregma. mt, trato mamiló-talâmico; DA, área hipotalâmica dorsal; f, fornix; PH, núcleo hipotalâmico posterior; VMH, núcleo hipotalâmico ventral.

5.5.5. Microinjeção de AP-5 seguido BMI

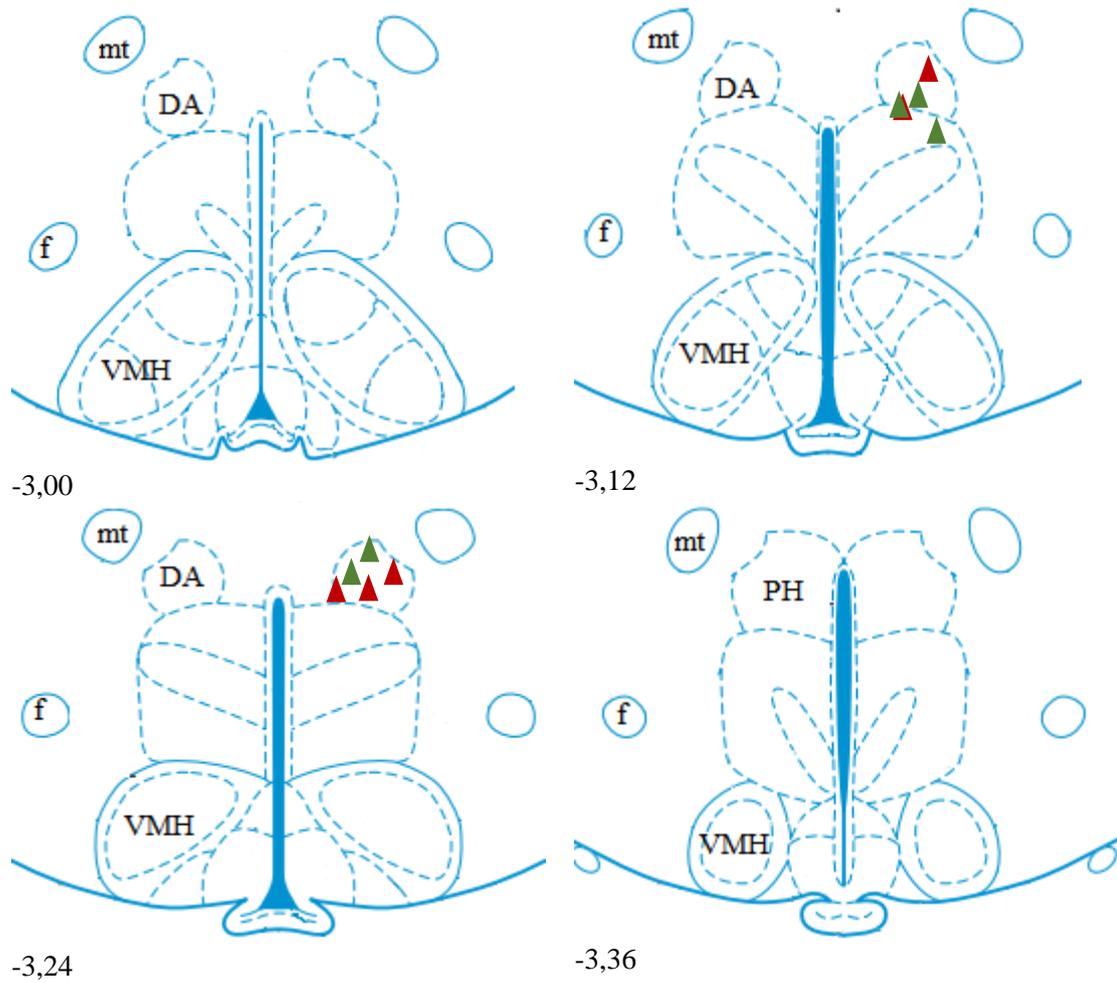


Figura 5.23 Desenhos esquemáticos do cérebro de ratos ilustrando locais aproximados da microinjeção de de AP-5 seguida por BMI no hipotálamo dorsomedial D de ratos anestesiados. Triângulos vermelhos representam as microinjeções de AP-5 e BMI do grupo sedentário, triângulos verdes representam as microinjeções de AP-5 e BMI do grupo treinado. Os números indicam distância do bregma. mt, trato mamiló-talâmico; DA, área hipotalâmica dorsal; f, fornix; PH, núcleo hipotalâmico posterior; VMH, núcleo hipotalâmico ventral.

6. Discussão

Nossos resultados reafirmam vários achados anteriores mostrando que o sedentarismo, resulta em efeitos funcionais deletérios. Associando a isso, demonstramos que o sedentarismo leva a exacerbação das respostas cardiovasculares ao estresse emocional agudo quando comparado ao grupo treinado. Adicionalmente, e mais importante, observamos que existem diferenças na modulação gabaérgica e glutamatérgica no hipotálamo dorsomedial entre ratos treinados e sedentários. Nossos dados sugerem que a reatividade cardiovascular exacerbada observada nos animais sedentários pode ser devida, pelo menos em parte, em decorrência de alterações no tônus gabaérgico do hipotálamo dorsomedial.

Os nossos dados iniciais de caracterização do treinamento físico e do comportamento sedentário mostram que o treinamento físico levou a um aumento na capacidade física aeróbica. Surpreendentemente, o comportamento sedentário ao longo das oito semanas reduziu esta capacidade física dos animais. Esta diminuição pode ser visualizada na diminuição do tempo total de exercício juntamente com a velocidade máxima atingida sem alteração no trabalho final mesmo havendo aumento do peso corporal final deste grupo experimental. Desta maneira, estes dados reforçam achados na literatura de que o comportamento sedentário por si é considerado um relevante fator de risco (Booth and Lees, 2007; Lee et al., 2012; Virani et al., 2020b; Booth et al., 2012). A indicação de exercícios físicos é uma ferramenta clínica não invasiva e relativamente barato. O não engajamento é, também, considerado como um forte preditor de risco de morte/sobrevivência tanto para indivíduos saudáveis quanto para aqueles que já apresentam doenças cardiovasculares. Neste sentido, Jonathan e colaboradores (2002) mostraram que o risco de morte para indivíduos que apresentavam capacidade física inferior a 5 MET era o dobro quando comparado a aqueles indivíduos cuja capacidade física era superior a 8 MET (Jonathan et al., 2002). Adicionado a isto, a capacidade cardiorrespiratória juntamente com a regularidade da prática de atividade física apresentam uma influência direta na saúde mental. O exercício físico aeróbico é eficaz na redução dos sintomas da ansiedade independentemente dos níveis da capacidade cardiorrespiratória do indivíduo ativo (Jonathan et al., 2002). Indivíduos com baixa capacidade física inicial apresentam uma diminuição mais acentuada nos sintomas da ansiedade (Galper et al., 2006; LeBouthillier et al., 2016). Por outro lado, deve se ressaltar

que uma baixa capacidade física é apontada como um fator de risco modificável cuja melhora pode promover um aumento na sobrevivência do indivíduo (Warburton, 2006, McGregor et al., 2019, Janssen et al., 2020).

O balanço energético é determinado pela associação entre a ingestão alimentar juntamente com o dispêndio de energia no qual apresenta uma influência direta do exercício físico. Neste sentido, o excesso de ingestão energética acompanhado de um baixo dispêndio de energia leva a um acúmulo de gordura e eventualmente a obesidade (Hall et al., 2011, Hill et al., 2012). Neste ponto de vista, é possível pontuar que o estilo de vida sedentário contribui para o desenvolvimento da obesidade ((Martins et al., 2007) o que agrava ainda mais o surgimento de outras doenças crônicas(Katzmarzyk and Janssen, 2004a, Guh et al., 2009). Os nossos resultados corroboram com esta ideia mostrando que o comportamento sedentário e o treinamento físico são capazes de afetar a composição corporal. O equilíbrio observado na massa corporal final, não indicando diferença entre os grupos, pode ser explicado em razão das diferenças do peso entre tecidos observadas entre os grupos SEDEN e TREIN. Os animais sedentários apresentaram um acúmulo de gordura corporal, ou seja, um índice de adiposidade, superior aos animais treinados, por outro lado o treinamento apresentou uma maior massa muscular dos animais. Este aumento do peso muscular, também foi relatado por outros trabalhos que investigaram as adaptações ao exercício físico (Mueller, 2007). Estudos na literatura mostram que o hipotálamo é uma região cerebral importante na integração neuronal, hormonal e metabólica no qual é responsável pelo controle do balanço energético, mais especificamente regulando a ingestão e o dispêndio de energia (Theander-Carrillo, 2006; Kami et al., 2018; King, 2020.) . interessante, dentre os núcleos hipotalâmicos responsáveis pelo controle metabólico, pode-se destacar o HDM. Mesmo antes de ser definitivamente envolvido no controle cardiovascular, o HDM já era apontado como um núcleo responsável pelo controle do metabolismo (Thompson and Swanson, 1998). Alinhado com nossas observações, um estudo recente mostrou que lesões no HDM levam a hiporexia e hipoatividade em animais experimentais (Zhang et al., 2018). Além disso a leptina, hormônio liberado pelo tecido adiposo, atua sobre os neurônios do HDM elevando a atividade simpática basal efeito precursor que pode levar a hipertensão arterial (Marsh et al., 2003, Simonds et al., 2012, Simonds et al., 2014). Os achados destes estudos anteriores, em conjunto com os nossos dados iniciais de caracterização do treinamento físico e do sedentarismo, nos quais observa-se uma

alteração na composição corporal dos animais experimentais, nos permitem especular que estas alterações na gordura corporal do grupo sedentário poderiam levar a uma modulação mediada pela leptina no HDM que resultaria em aumentos da atividade simpática basal. Experimentos adicionais são necessários para confirmar esta hipótese.

Os nossos dados mostram que o treinamento físico aeróbico foi capaz de diminuir a FC de repouso sem alterar a PAM basal dos animais treinados. Este dado confirma achados prévios da literatura no qual o treinamento em esteira é capaz de gerar adaptações na FC basal sem alterar a PAM em animais normotensos (Brum et al., 2000; Cruz et al., 2013). Referindo-se a bradicardia de repouso, diversos estudos tanto clínicos quanto experimentais evidenciam a eficácia do treinamento físico aeróbico em causar esta adaptação (Brum et al., 2000; De Angelis et al., 2004; Harthmann et al., 2007; Cruz et al., 2013). De forma geral, a bradicardia de repouso é considerada como uma adaptação fisiológica benéfica ao exercício físico. Por outro lado, uma frequência cardíaca de repouso alta está relacionada a uma diminuição da expectativa de vida, uma vez que, esta está relacionada diretamente com a mortalidade e ao aumento nas doenças cardiovasculares e câncer (Blair, 1995; Aune et al., 2017). Já está bem estabelecido na literatura os efeitos do exercício físico e dos esportes sobre a redução da frequência cardíaca de repouso (Reimers et al., 2018). Um dos mecanismos que levam a esta alteração está relacionado a mudanças no balanço autonômico, aumento do tônus parassimpático e diminuição do tônus simpático (Goldsmith et al., 2000; Carter et al., 2003; Shi et al., 1995). Estudos prévios mostram que bradicardia de repouso consequente ao treinamento físico pode ser explicada, em parte, pelo aumento na expressão de ocitocina no NTS (Martins et al., 2005) e plasticidade em neurônios pré-autonômicos oxitocinérgicos do PVN (Martins et al., 2005; Cruz et al., 2013). No entanto, pesquisadores mostraram que a bradicardia de repouso é resultante de uma remodelação no nó sinusal, mais especificamente por uma regulação negativa na proteína HCN4 (canal 4 para cátions ativados por hiperpolarização e nucleotídeo cíclico). Porém, não descartam que as alterações no tônus autonômico durante o exercício físico desencadeiem esta remodelação (D'Souza et al., 2014; D'Souza et al., 2017). Fundamentado nesta questão sobre a qual muitos divergem, Azevedo e colaboradores (2014) acreditam em um equilíbrio entre os mecanismos autonômicos e não autonômicos que regulam a bradicardia de repouso. A modalidade esportiva praticada pelo indivíduo afeta diretamente a bradicardia de repouso sendo distinto o mecanismo envolvido. Esta

diferença nos mecanismos pode estar relacionada ao tipo de treinamento e as adaptações do coração ao esporte. Porém, existe uma correlação entre os mecanismos no qual quanto maior o efeito vagal, maior será a importância da frequência cardíaca intrínseca na bradicardia de repouso (Azevedo et al., 2014). Desta forma, é possível enumerar que os mecanismos envolvidos na redução da frequência cardíaca de repouso estão relacionados a alterações no tônus autonômico com aumento do tônus parassimpático e/ou diminuição do tônus simpático; e mecanismos não autonômicos com a diminuição da frequência cardíaca intrínseca, principalmente por mudanças no nó sinusal. Ou pode ser que, a diminuição da FC de repouso possa ocorrer devido a uma combinação destes fatores.

A Associação Americana de Ansiedade e Depressão caracteriza a ansiedade como uma resposta biológica emocional normal ao estresse capaz de auxiliar na tomada de decisão na qual é apontada como uma reação normal e vantajosa para a proteção a vida. Em contrapartida, quando a ansiedade acontece de maneira persistente, excessiva e descontrolada esta pode evoluir para um transtorno de ansiedade e conseqüentemente, pode reduzir a qualidade de vida e levar a uma saúde incapacitante (ADAA, 2015) e está relacionada ao aumento das mortes súbitas e das doenças cardíacas coronarianas (De Jong et al., 2011). Nossos resultados mostram que o grupo sedentário apresentou um comportamento do tipo ansioso quando comparado ao grupo treinado. Este dado reafirma dados prévios na literatura que apontam a importância do exercício físico no tratamento da ansiedade tanto em humanos (Stubbs et al., 2017) quanto em animais (Sévoz-Couche et al., 2013). Esta alteração no comportamento do tipo ansioso pode ser explicado por promoção na modulação da amígdala que é apontada como o núcleo central chave na origem dos transtornos da ansiedade (Davis and Whalen, 2001; Kim and Gorman, 2005; Etkin and Wager, 2007). O exercício físico regular pode ser indicado como uma ferramenta clínica na terapia ansiolítica, uma vez que, este altera a reatividade da amígdala levando a uma diminuição da percepção da ansiedade. No entanto, os mecanismos deste efeito ansiolítico intermediado pelo exercício físico sobre a reatividade da deste núcleo ainda são desconhecidos (Chen et al., 2019). Um crescente corpo de evidências científicas indica que a prática regular de atividade física apresenta efeitos benéficos nos sintomas da ansiedade por induzir mudanças cerebrais. Este efeito na saúde cerebral ocorre em decorrência na alteração da neurogênese, angiogênese e sinaptogênese através da ação da irisina e dos fatores de crescimento como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o IGF-1 e hormônios (Wrann et al., 2013; Uysal et al., 2018;

Natalicchio et al., 2020; De Sousa et al., 2021). Recentemente, foi demonstrado que o aumento no comportamento ansioso em ratos sedentários está acompanhado de uma diminuição da expressão gênica hipocampal do BDNF, FNCD5, PGC-1 α , mTOR, c-fos. Em contrapartida, o grupo que praticou exercício físico apresentou uma maior expressão destes genes com conseqüente diminuição do comportamento do tipo ansioso (Belviranlı and Okudan, 2018). Cao Q. e colaboradores (2021) mostraram que o exercício físico melhora o comportamento do tipo ansioso por meio do aumento da expressão da síntese de GABA e das proteínas relacionadas ao seu transporte no córtex (Cao et al., 2021). Desta forma, pode-se inferir que os efeitos do sedentarismo atuam na contração das adaptações ao exercício físico na saúde cerebral o que acentua ainda mais os sintomas da ansiedade.

O comportamento sedentário causou a uma exacerbação das respostas cardiovasculares, com exacerbação evidente da resposta taquicárdica durante o *cage switch stress*. Com relação ao estresse pelo jato de ar observa-se que no primeiro momento do estresse existe uma diferença na resposta taquicárdica entre os grupos experimentais sendo o grupo sedentário apresentando uma resposta maior. Esta diferença nas alterações entre os estressores agudos pode ser devido a diferenças na intensidade do estressor. Este dado vai de acordo com o trabalho publicado por Mendonça e colaboradores (2021) que ao utilizar diversos modelos de estresse agudo mostram que a amplitude das respostas cardiovasculares varia conforme a intensidade do modelo estressor (Mendonça et al., 2021). Além disso, estes resultados corroboram a dados na literatura que mostram que o comportamento sedentário exacerba as respostas cardiovasculares a modelos de estresse agudo de intensidade leve a moderado e que o exercício físico não é capaz de atenuar as respostas cardiovasculares a estressores agudos de alta intensidade (Benini et al., 2020; Masini et al., 2011; Hsu et al., 2016).

Durante o primeiro momento do estresse pelo jato de ar (somente a contenção) é possível observarmos que os animais sedentários apresentaram uma taquicardia maior que os animais treinados. Além disso, o grupo sedentário apresentou um aumento abrupto na FC já atingindo o seu máximo no primeiro minuto de exposição ao estresse. Quanto ao comportamento do aumento da FC do grupo treinamento, observa-se que este aumento ocorre de maneira gradual atingindo o seu máximo nos minutos finais de exposição ao primeiro momento do estresse pelo jato de ar. Dessa forma, podemos inferir que o

sedentarismo potencia o risco de doenças cardíacas e até mesmo de morte súbita já naturalmente associados ao estresse emocional (Lathers and Schraeder, 2006). Neste sentido, podemos inferir que o treinamento físico promoveu uma proteção cardiovascular ao estresse emocional agudo.

Não foi observada diferenças na recuperação das respostas cardiovasculares a nenhum modelo de estresse agudo utilizado neste trabalho. Este achado vai de acordo com os dados apresentados por (Benini et al., 2020) no qual ao avaliar a recuperação da PAM e FC após exposição ao estresse por contenção agudo de animais treinados e sedentários não observou uma recuperação dos parâmetros cardiovasculares mais acentuados no grupo treinado. Vale ressaltar que este trabalho utilizou a mesma carga de treinamento aplicada no presente estudo. No entanto, estes achados contrastam com os resultados de Hsu e colaboradores (2016) nos quais observaram que o exercício físico aeróbico exerceu influência nos parâmetros cardiovasculares analisados acelerando o retorno da PAM e da FC ao valores basais após o estresse por imobilização (Hsu et al., 2016).

Diferentes tipos de estresse agudo, como por exemplo estresse psicoemocional e físico, induzem diferentes respostas fisiológicas (metabólicas e cardiovasculares). O bloqueio de receptores centrais envolvidos no aumento da resposta simpática ao estresse agudo leva a diminuição da resposta simpática cardíaca em modelos de estresse psicoemocional (restrição, jato de ar, shaker, isolamento e água fria rasa). Quanto aos modelos de estressores físicos (hipoglicemia, hemorragia, hipoxia, hipotermia, hipertermia) este mesmo bloqueio central levou a respostas heterogêneas simpáticas cardíacas (aumento, diminuição ou sem alterações) (Mayorov, 2011). O sistema cardiovascular, bem como outros sistemas, pode ser ativado de maneira distinta entre diferentes modelos de estresse agudo. Da mesma forma, também, a ativação de núcleos do SNC, como o PVN e conseqüentemente, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) levando a diferenças de concentração de ACTH plasmática (Pacak e Palkovits, 2001).

O mecanismo proposto para a explicação desta diferença nas respostas fisiológicas aos diferentes modelos de estresse agudo pode estar relacionado a existência de circuitos anatômicos e funcionais específicos dentro do SNC. Não somente é possível a existência de circuitos centrais diferentes para estressores distintos como, também, é possível que exista uma seletividade na ativação de receptores para diferentes tipos de estressores. Por

exemplo, Dmitry Mayorov (2011) em sua revisão de literatura aponta que os receptores AT1 de angiotensina II estejam envolvidos nas vias simpatoexcitatórias para estressores psicológicos mas não estão envolvidos no aumento da atividade simpática frente a estressores físicos (Mayorov, 2011).

A desinibição do HDM com bicuculina nos animais treinados e sedentários indica um tônus gabaérgico diferenciado neste núcleo entre os grupos experimentais. A reatividade cardíaca e da atividade simpática renal à bicuculina foi significativamente menor no grupo treinado em comparação à do grupo sedentário. Estes achados estão de acordo com evidências anteriores que mostram uma diferenciação no tônus gabaérgicos entre animais sedentários e fisicamente ativos. A análise funcional dos neurônios da RVLM mostra que a simpatoexcitação provocada pela desinibição da RVLM é exacerbada pelo comportamento sedentário (Mueller, 2007).

Com relação a ASNR do grupo pré tratamento, no qual nos indica o padrão de resposta simpática prévia as intervenções, nós identificamos que o comportamento sedentário levou a um aumento na resposta simpática durante a desinibição do HDM. De maneira oposta, o treinamento físico é capaz de atenuar esta resposta. No entanto, estas alterações na ASNR não foram diferentes estatisticamente. Da mesma maneira, a variação (Δ RSNA - %) foi menor quando comparamos o grupo treinado ao sedentário. Porém nenhum destes dois grupos experimentais apresentaram diferença significativa com o grupo pré tratamento. Mas, é possível observarmos que o grupo sedentário apresentou uma variação mais acentuada e que o treinamento físico atenuou esta resposta. O grupo pré tratamento foi criado com a finalidade de solucionar o seguinte questionamento: o sedentarismo acentua ou o treinamento físico atenua a resposta simpática? Assim, a análise deste grupo poderia esclarecer quais seriam as condições iniciais dos grupos experimentais. Mueller (2020) fala em “neuroplasticidade induzida pela inatividade física” já que, até então, ainda não tem-se conhecimento se a falta de exercícios regulares ou se a prática regular de exercício físico são capazes de promover neuroplasticidade, ou, até mesmo se cada condição é capaz de gerar diferentes alterações na plasticidade neuronal (Mueller et al., 2020). Mesmo embora o grupo pré tratamento não tenha respondido nossa pergunta, cabe ressaltar de qualquer forma que o presente estudo mostra que o comportamento sedentário piora a ASNR basal, ou seja, a manutenção de um estilo de vida sedentário apresenta um fator de risco elevado para o desenvolvimento de doenças

cardiovasculares, já que uma AS elevada está intrinsicamente relacionada ao surgimento das doenças cardiovasculares (Fisher et al., 2009; Malpas, 2010).

O GABA é sintetizado pelas descarboxilases de ácido glutâmico (GAD) localizados, principalmente, nos axônios de neurônios inibitórios (Lee et al., 2019). Li e colaboradores (2017) mostraram através de uma análise quantitativa de GAD no PVN que os neurônios gabaérgicos são expressivamente inferiores nos animais sedentários quando comparado a condição previa à intervenção da condição de sedentarismo. Por outro lado, a prática regular de exercício físico mantém o número de neurônios gabaérgica no PVN quando comparado a condição prévia ao treinamento físico. Este efeito encontrado é dependente do volume do exercício físico semanal, ou seja, quanto maior o número de sessões semanais maior a densidade de neurônios gabaérgicos encontrada no PVN. Com relação ao número de receptores GABA, o exercício físico não foi capaz de prevenir o seu declínio ao longo do envelhecimento (Li et al., 2017). Assim como o número de neurônios gabaérgicos no PVN são 2,5 vezes menores nos animais sedentários, este mesmo fenômeno é observado no hipotálamo posterior sendo os neurônios inibitórios 3 vezes maior no grupo treinado quando comparado ao sedentário. (Hsu et al., 2011).

Cao e colaboradores (2021) observaram que o exercício físico aumenta a concentração de GABA no córtex cerebral assim como, também, observou um aumento na vesícula transportadora de GABA (VGAT) (Cao et al., 2021). Recentemente, Muller e colaboradores (2020) realizaram uma análise mais meticulosa, visando explorar mais sobre esta diferença do tônus gabaérgico na RVLM entre animais sedentários e fisicamente ativos. Desta forma, a análise quantitativa da expressão das subunidades dos receptores GABA_A (GABA_A α 1 e GABA_A α 2) mostrou-se menor no grupo sedentário acompanhado de uma diminuição na expressão gênica do transportador de cloreto (KCC2). Estes achados reforçam que o estilo de vida sedentário leva a um aumento no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma vez que, em razão de alterações na modulação GABA, o sistema nervoso simpático pode responder de maneira exagerada quando é recrutado durante uma situação de estresse (Writing Group Members et al., 2006).

Contrapondo aos nossos resultados sobre a desinibição do HDM nos quais observamos uma maior resposta da ASNR e da FC dos animais sedentários, a desinibição do PVN gera uma maior variação nas respostas cardiovasculares e autonômicas dos

animais treinados. Este aumento da resposta dos animais treinados está atrelado, parcialmente, a uma maior expressão na síntese de GABA cujo aumento já é possível ser observado com duas semanas de treinamento. Esta pesquisa ainda revelou a presença de uma modulação gabaérgica deprimida nos animais sedentários no PVN, núcleo este que apresenta um importante papel no controle autonômico no fluxo simpático de repouso. (Ferreira-Junior et al., 2019; Rossi et al., 2013). Um aumento na resposta gabaérgica do PVN é observada após a desnervação renal (estratégia utilizada como ferramenta que exerce um efeito anti-hipertensivo de longo prazo na hipertensão da doença renal crônica) de camundongos com doença renal crônica. A retirada da simpatoexcitação renal exerceu um efeito anti-hipertensivo mediada por um aumento na modulação gabaérgica sobre os neurônios do PVN (Nishihara et al., 2017).

Com relação a estimulação dos receptores NMDA no HDM em animais treinados acordados não tenha causado elevações na PAM e na FC, a excitação glutamatérgica destes neurônios levou a um aumento nestes parâmetros cardiovasculares nos animais sedentários acordados. No entanto, apesar da presença de uma tendência da resposta taquicárdica ser atenuada com o treinamento físico, esta tendência não atingiu uma significância estatística ($p=0,10$). Porém, estas alterações nos aponta a existência de uma sensibilidade maior destes receptores nos animais sedentários. Os resultados descritos acima corroboram a dados prévios publicados na literatura no qual a microinjeção de glutamato em diferentes doses (1 – 3 e 10nM) na RVLM causou aumentos não significativos na PAM e FC em animais sedentários e fisicamente ativos (Mueller, 2007). Com relação a ASNR nos animais anestesiados, a dose de NMDA utilizada neste trabalho gerou uma resposta simpatoexcitatória em ambos os grupos experimentais não sendo diferente entre eles. Porém, esta alteração não foi diferente entre os grupos experimentais. Em concordância, as alterações na atividade simpática do nervo lombar após a microinjeção de glutamato (1 – 3 nM) na RVLM não gerou alterações diferentes entre os grupos de animais sedentários e treinados. Mas, a microinjeção da maior dose de glutamato (10nM) mostra que o sedentarismo exacerba a resposta simpática lombar (Mueller, 2007). Microinjeções mais concentradas de glutamato na RVLM causam um aumento na PAM, FC e AS do nervo lombar. Entretanto, estes aumentos não são diferentes entre os grupos sedentário e fisicamente ativo (Mueller and Mischel, 2012). Conforme evidenciado anteriormente a microinjeção de NMDA em diferentes doses (50, 100 e 200pmol) no PVN de animais treinados e sedentários causou alterações da ASNR,

PAM e FC que não foram diferentes entre os grupos experimentais em nenhuma das doses utilizadas. Adicionalmente, a expressão de mRNA de NR1 do PVN não foi alterada com a exposição a estes comportamentos (Kleiber et al., 2008; Patel and Zheng, 2012). A expressão gênica dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (NR1, NR2A, NR2B, NR2C e NR2D) e AMPA (GLUR1, GLUR2 e GLUR3) não são alterados na RVLM após o sedentarismo ou o exercício físico (Subramanian et al., 2014)

Nossos dados nos mostram que as condições de sedentarismo e treinamento físico levaram a diferentes respostas autonômicas e cardiovasculares diante da desinibição do HDM (figura 5.14). Associado à isto, a estimulação do HDM por meio da microinjeção do NMDA levou a uma variação da pressão arterial e da frequência cardíaca superior no animais sedentários (figura 5.13). Com isso, somente o bloqueio dos receptores NMDA não causou alterações na ASNR dos animais sedentários. Esta ausência de alteração dos parâmetros cardiovasculares, após o bloqueio dos receptores ionotrópicos do HDM, foi relatada anteriormente cuja microinjeção de 50pmol de AP-5 no HDM causou uma alteração de $+5 \pm 3$ bpm e $+1 \pm 1$ mmHg em um período de 10 minutos de análise (Soltis and DiMicco, 1991). Surpreendentemente, com relação ao grupo treinado, o bloqueio dos receptores NMDA foi capaz de elevar de maneira expressiva a ASNR destes animais. Sugerindo que os receptores NMDA do HDM dos animais treinados exercem uma possível interferência sobre este núcleo. Posteriormente, o bloqueio dos receptores gabaérgicos seguido do bloqueio dos receptores NMDA eleva a ASNR igualmente. Ou seja, a resposta excitatória exacerbada sobre o HDM ao bloqueio dos receptores GABA_A foram atenuadas após o bloqueio específicos dos receptores NMDA nos animais sedentários. Além disso, os nossos dados sugerem a existência de uma modulação glutamatérgica sobre os neurônios inibitórios do HDM. Este mecanismo, desinibição do HDM requer uma ativação de receptores NMDA locais, apresenta uma importância fundamental no controle dos neurônios simpato-excitatórios e cardiovasculares freando a manifestação acentuada da resposta pressora, taquicárdica e de ASNR diante do estresse agudo. A alteração em algum desses eixos pode alterar padrões de respostas fisiológicas e pode ser considerado com um gatilho para o surgimento de patológicas (Chen et al., 2003; Martins-Pinge et al., 2013).

Por conseguinte, estes dados sugerem que na condição de treinamento físico é observado a presença de uma modulação glutamatérgica, mediada pelo receptor NMDA,

sobre os neurônios inibitórios gabaérgicos. A presença de uma modulação excitatória sobre uma inibitória no HDM pode ser responsável por uma menor resposta simpática e cardiovasculares ao estresse agudo dos animais treinados (figura 6.1).

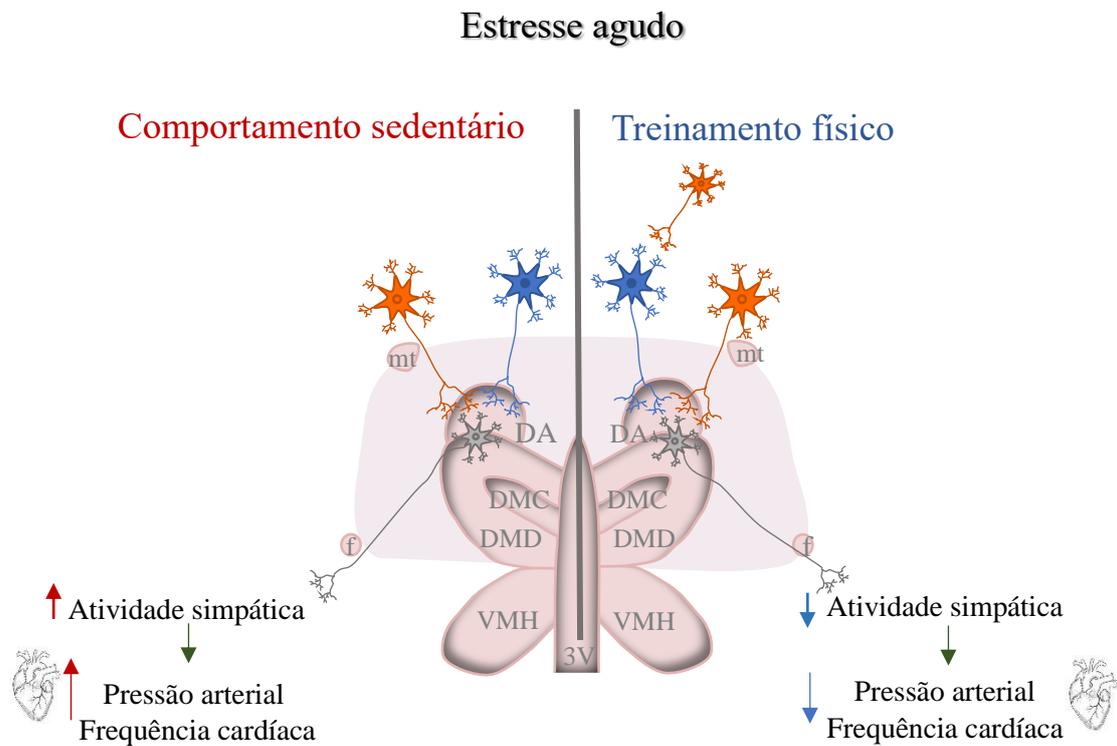


Figura 6.1 Esquema representativo das alterações neuronais do hipotálamo dorsomedial ao comportamento sedentário – esquerda, e ao treinamento físico – direita, e suas implicações durante o estresse agudo. A área sombreada representa a região do hipotálamo dorsomedial. Neurônios azuis representam os neurônios gabaérgicos. Neurônios laranja representam os neurônios glutamatérgico. Neurônios cinza representam os neurônios do hipotálamo dorsomedial. f: fórnix, mt: trato mamilar, DA: área hipotalâmica dorsal, DMC: área compacta do hipotálamo dorsomedial, DMD: área difusa do hipotálamo dorsomedial, VMH: hipotálamo ventromedial, 3V: terceiro ventrículo.

Evidências sugerem que o comportamento sedentário levaria a alterações neuroquímicas com aumento da modulação gabaérgica sobre neurônios glutamatérgico, uma vez que, o bloqueio receptores GABA_A acentua a resposta pressora ao glutamato na RVLM em animais sedentários, por outro lado, em animais fisicamente ativos esta resposta pressórica não ocorre (Mueller and Mischel, 2012).

Estas alterações na neuroplasticidade do HDM, núcleo chave no controle das respostas cardiovasculares ao estresse agudo, com o sedentarismo e o treinamento físico podem ser apontadas como alterações capazes de desenvolver ou prevenir, respectivamente, as doenças cardiovasculares (Esch et al., 2002; Dimsdale, 2008; Steptoe and Kivimäki, 2013; Steptoe and Kivimäki, 2012). Estudo recente sugere que a conexão direta do HDM com núcleos bulbares responsáveis pelo controle cardiovascular, como por exemplo a RVLN, funciona como um possível amplificador cronológico, um provável mecanismo para o surgimento das doenças cardiovasculares. Autores promoveram uma estimulação tetânica do HDM e observaram que, após a interrupção do estímulo no HDM áreas bulbares cardiovasculares continuam ativas o que poderia levar ao prolongamento da exposição do organismo a uma AS elevada por um tempo mais prolongado (Kono et al., 2020). Esta estimulação tetânica prolongada via HDM pode estar envolvida no mecanismo para a explicação da PAM e FC após a retirada dos animais do estresse. Nossos dados não apontam uma recuperação diferente dos parâmetros cardiovasculares entre os grupos experimentais após a retirada ao estresse. Este achado está em discordância a dados na literatura cujos resultados apontam que sedentarismo leva a uma recuperação retardada dos parâmetros cardiovasculares após o estresse agudo. Hsu e colaboradores demonstraram que após o estresse por contenção animais sedentários apresentavam uma recuperação da pressão arterial, FC e atividade simpática mais retardada quando comparado os animais fisicamente ativos (Hsu et al., 2016).

Tanto a desinibição quanto a estimulação do HDM nos animais anestesiados nós não observamos diferenças na PAM e FC como observado nos animais acordados. Por se tratar de uma cirurgia bastante invasiva para a realização do registro da ASNR o uso de animais sobre o efeito de anestesia foi necessário neste trabalho. Apesar desta necessidade, é possível que o uso do anestésico uretana tenha influenciado na ausência de diferenças na PAM e FC entre os animais sedentários e treinados nos experimentos anestesiados. Esta influência anestésica também foi relatada por (Mueller and Mischel, 2012).

Nossos achados sugerem que o comportamento sedentário e o treinamento físico podem influenciar a modulação gabaérgica e glutamatérgica do HDM. Este pode ser um possível mecanismo para facilitar o surgimento das doenças cardiovasculares associadas ao sedentarismo e ao estresse. O presente estudo reforça a importância da continuidade

da avaliação dos efeitos produzidos pelo treinamento físico ou o comportamento sedentário na neuroplasticidade de núcleos centrais envolvidos no controle autonômico cardiovascular. Nossos achados acrescentam novas compreensões de como o comportamento sedentário e o treinamento físico alteram a plasticidade do HDM. Além disso, reforçamos a importância de como o estilo de vida ativo pode amenizar estes efeitos.

7. Conclusão

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que as diferenças nas respostas cardiovasculares e autonômicas encontradas entre animais sedentários e treinados frente ao estresse agudo ocorrem em decorrência da alteração na interação glutamatérgica e gabaérgica sobre os neurônios do HDM. Sendo assim, a ausência desta interação no HDM dos animais sedentários pode estar relacionada a exacerbação das respostas autonômicas e cardiovasculares. Além disso, este pode ser um possível mecanismo para o surgimento das doenças cardiovasculares.

8. Considerações finais

Uma vez que, o comportamento sedentário é apontado como um dos principais fatores de risco para a incidência e o agravamento das doenças crônicas (Katzmarzyk and Janssen, 2004, Booth and Lees, 2007), o exercício físico se torna a única ferramenta terapêutica capaz de combater, se não todos, mas a maioria dos seus efeitos deletérios. Autores tem pontuado que os benefícios do exercício físico regular podem superar os efeitos dos fármacos comumente utilizados no tratamento das doenças crônicas. Já que a regularidade da prática do exercício físico combina efeitos preventivos e multissistêmicos apresentando poucos efeitos adversos e a sua prática implica em baixíssimo custo. Estes benefícios do exercício físico são denominados como a “polipílula” do exercício (Fiuza-Luces et al., 2013, Bruning and Sturek, 2015). Pesquisar e, conseqüentemente, especificar

as adaptações ao exercício físico podem ajudar no entendimento sobre a importância deste na prevenção e no tratamento das doenças crônicas físicas e mentais. Além disso, também é possível identificar novos alvos e abordagens terapêuticas. Com relação ao sedentarismo, o estudo deste novo comportamento pode levar a um entendimento da maneira como este influencia fortemente no surgimento e na evolução/agravamento das doenças crônicas.

Portanto, uma vida sedentária intensifica as respostas cardiovasculares diante de estímulos estressores. A busca por elucidar os mecanismos centrais protetores do treinamento físico podem esclarecer a importância desta ferramenta terapêutica não medicamentosa na redução do impacto dos efeitos maléficos do sedentarismo. Além disso, este estudo fortalece ainda mais a necessidade de se manter um estilo de vida mais saudável e diminuir o tempo sedentário diário.

Espero que este trabalho incentive futuros estudos mais abrangentes voltados para a compreensão dos mecanismos, não somente funcionais, mas, também, celulares, moleculares e bioquímicos dentro das redes neuronais do sistema nervoso central. Mais especificamente, estudos que busquem contribuir para o entendimento das alterações neurais decorrentes do sedentarismo e como o exercício físico regular promove a prevenção e o tratamento, não somente das doenças cardiovasculares, mas também das demais doenças sejam elas físicas ou mentais.

9. Referência

- Américo, A.L.V., Muller, C.R., Vecchiatto, B., Martucci, L.F., Fonseca-Alaniz, M.H., Evangelista, F.S., 2019. Aerobic exercise training prevents obesity and insulin resistance independent of the renin angiotensin system modulation in the subcutaneous white adipose tissue. *PLoS ONE* 14, e0215896. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215896>
- Aune, D., Sen, A., ó'Hartaigh, B., Janszky, I., Romundstad, P.R., Tonstad, S., Vatten, L.J., 2017. Resting heart rate and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality – A systematic review and dose–response meta-analysis of prospective studies. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 27, 504–517. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.04.004>
- Azevedo, L., Perlingeiro, P., Hachul, D., Gomes-Santos, I., Brum, P., Allison, T., Negrão, C., De Matos, L., 2014. Sport Modality Affects Bradycardia Level and Its Mechanisms of Control in Professional Athletes. *Int J Sports Med* 35, 954–959. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1364024>
- Bazgir, B., Fathi, R., Valojerdi, M.R., Mozdziak, P., Asgari, A., 2017. Satellite cells contribution to exercise mediated muscle hypertrophy and repair. *Cell Journal (Yakhteh)* 18, 473.
- Belviranlı, M., Okudan, N., 2018. Exercise Training Protects Against Aging-Induced Cognitive Dysfunction via Activation of the Hippocampal PGC-1 α /FNDC5/BDNF Pathway. *Neuromol Med* 20, 386–400. <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8500-3>
- Benini, R., Oliveira, L.A., Gomes-de-Souza, L., Rodrigues, B., Crestani, C.C., 2020. Habituation of the cardiovascular response to restraint stress is inhibited by exposure to other stressor stimuli and exercise training. *J Exp Biol* 223, jeb219501. <https://doi.org/10.1242/jeb.219501>
- Blair, S.N., 1995. Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men. *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 273, 1093–1098. <https://doi.org/10.1001/jama.273.14.1093>
- Booth, F.W., Lees, S.J., 2007. Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. *Physiological Genomics* 28, 146–157. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00174.2006>
- Booth, F.W., Roberts, C.K., Laye, M.J., 2012. Lack of Exercise Is a Major Cause of Chronic Diseases, in: Terjung, R. (Ed.), *Comprehensive Physiology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, p. c110025. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110025>
- Brum, P.C., Da Silva, G.J.J., Moreira, E.D., Ida, F., Negrão, C.E., Krieger, E.M., 2000. Exercise Training Increases Baroreceptor Gain Sensitivity in Normal and Hypertensive Rats. *Hypertension* 36, 1018–1022. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.36.6.1018>
- Bruning, R.S., Sturek, M., 2015. Benefits of Exercise Training on Coronary Blood Flow in Coronary Artery Disease Patients. *Progress in Cardiovascular Diseases* 57, 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2014.10.006>
- Bull, F.C., Al-Ansari, S.S., Biddle, S., Borodulin, K., Buman, M.P., Cardon, G., Carty, C., Chaput, J.-P., Chastin, S., Chou, R., Dempsey, P.C., DiPietro, L., Ekelund, U., Firth, J.,

- Friedenreich, C.M., Garcia, L., Gichu, M., Jago, R., Katzmarzyk, P.T., Lambert, E., Leitzmann, M., Milton, K., Ortega, F.B., Ranasinghe, C., Stamatakis, E., Tiedemann, A., Troiano, R.P., van der Ploeg, H.P., Wari, V., Willumsen, J.F., 2020. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med* 54, 1451–1462. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2020-102955>
- Cao, Q., Wang, Jixiang, Hao, Y., Zhao, F., Fu, R., Yu, Y., Wang, Jundong, Niu, R., Bian, S., Sun, Z., 2021. Exercise Ameliorates Fluoride-induced Anxiety- and Depression-like Behavior in Mice: Role of GABA. *Biol Trace Elem Res*. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02678-2>
- Carter, J.B., Banister, E.W., Blaber, A.P., 2003. Effect of Endurance Exercise on Autonomic Control of Heart Rate: *Sports Medicine* 33, 33–46. <https://doi.org/10.2165/00007256-200333010-00003>
- Caspersen, C.J., Powell, K.E., Christenson, G.M., n.d. Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research 6.
- Chen, Q.H., Haywood, J.R., Toney, G.M., 2003. Sympathoexcitation by PVN-Injected Bicuculline Requires Activation of Excitatory Amino Acid Receptors. *Hypertension* 42, 725–731. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000085197.20043.44>
- Chen, Y.-C., Chen, C., Martínez, R.M., Etnier, J.L., Cheng, Y., 2019. Habitual physical activity mediates the acute exercise-induced modulation of anxiety-related amygdala functional connectivity. *Sci Rep* 9, 19787. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56226-z>
- Cruz, J.C., Cavalleri, M.T., Ceroni, A., Michelini, L.C., 2013. Peripheral chemoreceptors mediate training-induced plasticity in paraventricular nucleus pre-autonomic oxytocinergic neurons: Chemoreflex, training and oxytocinergic neurons. *Experimental Physiology* 98, 386–396. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.065888>
- Davis, M., Whalen, P.J., 2001. The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry* 6, 13–34. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000812>
- De Angelis, K., Wichi, R.B., Jesus, W.R.A., Moreira, E.D., Morris, M., Krieger, E.M., Irigoyen, M.C., 2004. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *Journal of Applied Physiology* 96, 2174–2178. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00870.2003>
- De Jong, M.J., Chung, M.L., Wu, J.-R., Riegel, B., Rayens, M.K., Moser, D.K., 2011. Linkages between anxiety and outcomes in heart failure. *Heart & Lung* 40, 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2011.02.002>
- De Sousa, R.A.L., Improta-Caria, A.C., Aras-Júnior, R., de Oliveira, E.M., Soci, Ú.P.R., Cassilhas, R.C., 2021. Physical exercise effects on the brain during COVID-19 pandemic: links between mental and cardiovascular health. *Neurol Sci* 42, 1325–1334. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05082-9>
- Deminice, R., Hyatt, H., Yoshihara, T., Ozdemir, M., Nguyen, B., Levine, S., Powers, S., 2020. Human and Rodent Skeletal Muscles Express Angiotensin II Type 1 Receptors. *Cells* 9, 1688. <https://doi.org/10.3390/cells9071688>
- Dimsdale, J.E., 2008. Psychological stress and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology* 51, 1237–1246.

- Dishman, R.K., Nakamura, Y., Garcia, M.E., Thompson, R.W., Dunn, A.L., Blair, S.N., 2000. Heart rate variability, trait anxiety, and perceived stress among physically fit men and women. *International Journal of Psychophysiology* 37, 121–133. [https://doi.org/10.1016/S0167-8760\(00\)00085-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8760(00)00085-4)
- D'Souza, A., Bucchi, A., Johnsen, A.B., Logantha, S.J.R.J., Monfredi, O., Yanni, J., Prehar, S., Hart, G., Cartwright, E., Wisloff, U., Dobryznski, H., DiFrancesco, D., Morris, G.M., Boyett, M.R., 2014. Exercise training reduces resting heart rate via downregulation of the funny channel HCN4. *Nat Commun* 5, 3775. <https://doi.org/10.1038/ncomms4775>
- D'Souza, A., Pearman, C.M., Wang, Y., Nakao, S., Logantha, S.J.R.J., Cox, C., Bennett, H., Zhang, Y., Johnsen, A.B., Linscheid, N., Poulsen, P.C., Elliott, J., Coulson, J., McPhee, J., Robertson, A., da Costa Martins, P.A., Kitmitto, A., Wisløff, U., Cartwright, E.J., Monfredi, O., Lundby, A., Dobrzynski, H., Oceandy, D., Morris, G.M., Boyett, M.R., 2017. Targeting miR-423-5p Reverses Exercise Training–Induced HCN4 Channel Remodeling and Sinus Bradycardia. *Circ Res* 121, 1058–1068. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311607>
- Ekelund, U., Steene-Johannessen, J., Brown, W.J., Fagerland, M.W., Owen, N., Powell, K.E., Bauman, A., Lee, I.-M., 2016. Does physical activity attenuate, or even eliminate, the detrimental association of sitting time with mortality? A harmonised meta-analysis of data from more than 1 million men and women. *The Lancet* 388, 1302–1310. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30370-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30370-1)
- Esch, T., Stefano, G.B., Fricchione, G.L., Benson, H., 2002. Stress in cardiovascular diseases. *Medical Science Monitor* 8, RA93–RA101.
- Etkin, A., Wager, T.D., 2007. Functional Neuroimaging of Anxiety: A Meta-Analysis of Emotional Processing in PTSD, Social Anxiety Disorder, and Specific Phobia. *AJP* 164, 1476–1488. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.07030504>
- Ferreira-Junior, N.C., Ruggeri, A., Silva, S.D., Zampieri, T.T., Ceroni, A., Michelini, L.C., 2019. Exercise training increases GAD65 expression, restores the depressed GABA_A receptor function within the PVN and reduces sympathetic modulation in hypertension. *Physiol Rep* 7. <https://doi.org/10.14814/phy2.14107>
- Fisher, J.P., Young, C.N., Fadel, P.J., 2009. Central sympathetic overactivity: Maladies and mechanisms. *Autonomic Neuroscience* 148, 5–15. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2009.02.003>
- Fiuza-Luces, C., Garatachea, N., Berger, N.A., Lucia, A., 2013. Exercise is the Real Polypill. *Physiology* 28, 330–358. <https://doi.org/10.1152/physiol.00019.2013>
- Fontes, M.A.P., Xavier, C.H., Marins, F.R., Limborço-Filho, M., Vaz, G.C., Müller-Ribeiro, F.C., Nalivaiko, E., 2014. Emotional stress and sympathetic activity: contribution of dorsomedial hypothalamus to cardiac arrhythmias. *Brain research* 1554, 49–58.
- Frantz, E.D.C., Prodel, E., Braz, I.D., Giori, I.G., Bargut, T.C.L., Magliano, D.C., Nobrega, A.C.L., 2018. Modulation of the renin–angiotensin system in white adipose tissue and skeletal muscle: focus on exercise training. *Clinical Science* 132, 1487–1507. <https://doi.org/10.1042/CS20180276>

- Fry, C.S., Noehren, B., Mula, J., Ubele, M.F., Westgate, P.M., Kern, P.A., Peterson, C.A., 2014. Fibre type-specific satellite cell response to aerobic training in sedentary adults. *The Journal of physiology* 592, 2625–2635.
- Galper, D.I., Trivedi, M.H., Barlow, C.E., Dunn, A.L., Kampert, J.B., 2006. Inverse Association between Physical Inactivity and Mental Health in Men and Women. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 38, 173–178. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000180883.32116.28>
- Goldsmith, R.L., Bloomfield, D.M., Rosenwinkel, E.T., 2000. Exercise and autonomic function: Coronary Artery Disease 11, 129–135. <https://doi.org/10.1097/00019501-200003000-00007>
- Gomes-Santos, I.L., Fernandes, T., Couto, G.K., Ferreira-Filho, J.C.A., Salemi, V.M.C., Fernandes, F.B., Casarini, D.E., Brum, P.C., Rossoni, L.V., de Oliveira, E.M., Negrao, C.E., 2014. Effects of Exercise Training on Circulating and Skeletal Muscle Renin-Angiotensin System in Chronic Heart Failure Rats. *PLoS ONE* 9, e98012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098012>
- Goossens, G.H., Blaak, E.E., Arner, P., Saris, W.H.M., van Baak, M.A., 2007. Angiotensin II: a hormone that affects lipid metabolism in adipose tissue. *Int J Obes* 31, 382–384. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803388>
- Guh, D.P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C.L., Anis, A.H., 2009. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 9, 88. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-88>
- Guthold, R., Stevens, G.A., Riley, L.M., Bull, F.C., 2020. Global trends in insufficient physical activity among adolescents: a pooled analysis of 298 population-based surveys with 1·6 million participants. *The Lancet Child & Adolescent Health* 4, 23–35. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(19\)30323-2](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(19)30323-2)
- Guthold, R., Stevens, G.A., Riley, L.M., Bull, F.C., 2018. Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1·9 million participants. *The Lancet Global Health* 6, e1077–e1086. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30357-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30357-7)
- Hall, K.D., Sacks, G., Chandramohan, D., Chow, C.C., Wang, Y.C., Gortmaker, S.L., Swinburn, B.A., 2011. Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight. *The Lancet* 378, 826–837. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60812-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60812-X)
- Harthmann, A.D., De Angelis, K., Costa, L.P., Senador, D., Schaan, B.D., Krieger, E.M., Irigoyen, M.-C., 2007. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. *Autonomic Neuroscience* 133, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2006.10.004>
- Hill, J.O., Wyatt, H.R., Peters, J.C., 2012. Energy Balance and Obesity. *Circulation* 126, 126–132. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.087213>
- Hsu, Y.-C., Chen, H.-I., Kuo, Y.-M., Yu, L., Huang, T.-Y., Chen, S.-J., Chuang, J.-I., Wu, F.-S., Jen, C.J., 2011. Chronic treadmill running in normotensive rats resets the resting blood pressure to lower levels by upregulating the hypothalamic GABAergic system. *Journal of Hypertension* 29, 2339–2348. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32834c628f>

- Hsu, Y.-C., Tsai, S.-F., Yu, L., Chuang, J.-I., Wu, F.-S., Jen, C.J., Kuo, Y.-M., 2016. Long-term moderate exercise accelerates the recovery of stress-evoked cardiovascular responses. *Stress* 19, 125–132. <https://doi.org/10.3109/10253890.2015.1108305>
- Janssen, I., Clarke, A.E., Carson, V., Chaput, J.-P., Giangregorio, L.M., Kho, M.E., Poitras, V.J., Ross, R., Saunders, T.J., Ross-White, A., Chastin, S.F.M., 2020. A systematic review of compositional data analysis studies examining associations between sleep, sedentary behaviour, and physical activity with health outcomes in adults. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 45, S248–S257. <https://doi.org/10.1139/apnm-2020-0160>
- Jonathan, M., Manish, P., Victor, F., Dat, D., Sara, P., Edwin, A.J., 2002. Exercise Capacity and Mortality among Men Referred for Exercise Testing. *The New England Journal of Medicine* 9.
- Kalupahana, N.S., Moustaid-Moussa, N., 2012. The adipose tissue renin-angiotensin system and metabolic disorders: a review of molecular mechanisms. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology* 47, 379–390.
- Kami, K., Tajima, F., Senba, E., 2018. Activation of mesolimbic reward system via laterodorsal tegmental nucleus and hypothalamus in exercise-induced hypoalgesia. *Sci Rep* 8, 11540. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29915-4>
- Katzmarzyk, P.T., Janssen, I., 2004a. The Economic Costs Associated With Physical Inactivity and Obesity in Canada: An Update. *Can. J. Appl. Physiol.* 29, 90–115. <https://doi.org/10.1139/h04-008>
- Katzmarzyk, P.T., Janssen, I., 2004b. The Economic Costs Associated With Physical Inactivity and Obesity in Canada: An Update. *Can. J. Appl. Physiol.* 29, 90–115. <https://doi.org/10.1139/h04-008>
- Kim, J., Gorman, J., 2005. The psychobiology of anxiety. *Clinical Neuroscience Research* 4, 335–347. <https://doi.org/10.1016/j.cnr.2005.03.008>
- King, P.J., n.d. *The Hypothalamus and Obesity* 16.
- Kleiber, A.C., Zheng, H., Schultz, H.D., Peuler, J.D., Patel, K.P., 2008. Exercise training normalizes enhanced glutamate-mediated sympathetic activation from the PVN in heart failure. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 294, R1863–R1872. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00757.2007>
- Kono, Y., Yokota, S., Fukushi, I., Arima, Y., Onimaru, H., Okazaki, S., Takeda, K., Yazawa, I., Yoshizawa, M., Hasebe, Y., Koizumi, K., Pokorski, M., Toda, T., Sugita, K., Okada, Y., 2020. Structural and functional connectivity from the dorsomedial hypothalamus to the ventral medulla as a chronological amplifier of sympathetic outflow. *Sci Rep* 10, 13325. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70234-4>
- Lathers, C.M., Schraeder, P.L., 2006. Stress and sudden death. *Epilepsy & Behavior* 9, 236–242.
- LeBouthillier, D.M., Fetzner, M.G., Asmundson, G.J.G., 2016. Lower cardiorespiratory fitness is associated with greater reduction in PTSD symptoms and anxiety sensitivity following aerobic exercise. *Mental Health and Physical Activity* 10, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.mhpa.2015.11.001>

- Lee, I.-M., Shiroma, E.J., Lobelo, F., Puska, P., Blair, S.N., Katzmarzyk, P.T., 2012. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *The Lancet* 380, 219–229. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61031-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61031-9)
- Lee, S.-E., Lee, Y., Lee, G.H., 2019. The regulation of glutamic acid decarboxylases in GABA neurotransmission in the brain. *Arch. Pharm. Res.* 42, 1031–1039. <https://doi.org/10.1007/s12272-019-01196-z>
- Leitzmann, M.F., Jochem, C., Schmid, D. (Eds.), 2018. *Sedentary Behaviour Epidemiology*, Springer Series on Epidemiology and Public Health. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61552-3>
- Li, Y., Zhao, Z., Cai, J., Gu, B., Lv, Y., Zhao, L., 2017. The Frequency-Dependent Aerobic Exercise Effects of Hypothalamic GABAergic Expression and Cardiovascular Functions in Aged Rats. *Front. Aging Neurosci.* 9, 212. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00212>
- Malpas, S.C., 2010. Sympathetic Nervous System Overactivity and Its Role in the Development of Cardiovascular Disease. *Physiological Reviews* 90, 513–557. <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2009>
- Marsh, A.J., Fontes, M.A.P., Killinger, S., Pawlak, D.B., Polson, J.W., Dampney, R.A.L., 2003. Cardiovascular Responses Evoked by Leptin Acting on Neurons in the Ventromedial and Dorsomedial Hypothalamus. *Hypertension* 42, 488–493. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000090097.22678.0A>
- Martins, A.S., Crescenzi, A., Stern, J.E., Bordin, S., Michelini, L.C., 2005. Hypertension and Exercise Training Differentially Affect Oxytocin and Oxytocin Receptor Expression in the Brain. *Hypertension* 46, 1004–1009. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000175812.03322.59>
- Martins, C., Morgan, L.M., Bloom, S.R., Robertson, M.D., 2007. Effects of exercise on gut peptides, energy intake and appetite. *Journal of Endocrinology* 193, 251–258. <https://doi.org/10.1677/JOE-06-0030>
- Martins-Pinge, M.C., Mueller, P.J., Foley, C.M., Heesch, C.M., Hasser, E.M., 2013. Regulation of arterial pressure by the paraventricular nucleus in conscious rats: interactions among glutamate, GABA, and nitric oxide. *Front. Physio.* 3. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00490>
- Masini, C.V., Nyhuis, T.J., Sasse, S.K., Day, H.E.W., Campeau, S., 2011. Effects of voluntary wheel running on heart rate, body temperature, and locomotor activity in response to acute and repeated stressor exposures in rats. *Stress* 14, 324–334. <https://doi.org/10.3109/10253890.2010.548013>
- Mayorov, D.N., 2011. Brain angiotensin AT1 receptors as specific regulators of cardiovascular reactivity to acute psychoemotional stress: Brain AT1 receptors and stress. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 38, 126–135. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2010.05469.x>
- McGregor, D.E., Palarea-Albaladejo, J., Dall, P.M., del Pozo Cruz, B., Chastin, S.F., 2019. Compositional analysis of the association between mortality and 24-hour movement behaviour from NHANES. *Eur J Prev Cardiol* 204748731986778. <https://doi.org/10.1177/2047487319867783>

- Mendonça, M.M., Costa, A.N., Moraes, G.C.A., Martins, G.M., Almeida, A.F., Rincon, G.C.N., Siqueira, J.P.R., Padilha, D.M., Moya, M.I., Ferreira-Neto, M.L., Gomes, R.M., Pedrino, G.R., Fontes, M.A.P., Colombari, E., Crestani, C.C., Fajemiroye, J.O., Xavier, C.H., 2021. Centrally acting antihypertensives change the psychogenic cardiovascular reactivity. *Fundam Clin Pharmacol* fcp.12648. <https://doi.org/10.1111/fcp.12648>
- Mueller, P.J., 2007. Exercise training attenuates increases in lumbar sympathetic nerve activity produced by stimulation of the rostral ventrolateral medulla. *Journal of Applied Physiology* 102, 803–813. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00498.2006>
- Mueller, P.J., Fyk-Kolodziej, B.E., Azar, T.A., Llewellyn-Smith, I.J., 2020. Subregional differences in GABA_A receptor subunit expression in the rostral ventrolateral medulla of sedentary versus physically active rats. *J Comp Neurol* 528, 1053–1075. <https://doi.org/10.1002/cne.24798>
- Mueller, P.J., Mischel, N.A., 2012. Selective enhancement of glutamate-mediated pressor responses after GABAA receptor blockade in the RVLM of sedentary versus spontaneous wheel running rats. *Front. Physio.* 3. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00447>
- Natalicchio, A., Marrano, N., Biondi, G., Dipaola, L., Spagnuolo, R., Cignarelli, A., Perrini, S., Laviola, L., Giorgino, F., 2020. Irisin increases the expression of anorexigenic and neurotrophic genes in mouse brain. *Diabetes Metab Res Rev* 36. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3238>
- Nishihara, M., Takesue, K., Hirooka, Y., 2017. Renal denervation enhances GABA-ergic input into the PVN leading to blood pressure lowering in chronic kidney disease. *Autonomic Neuroscience* 204, 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2016.09.018>
- Organisation mondiale de la santé, 2020. WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour. s.n., S.I.
- Owen, N., Healy, G.N., Dempsey, P.C., Salmon, J., Timperio, A., Clark, B.K., Goode, A.D., Koorts, H., Ridgers, N.D., Hadgraft, N.T., Lambert, G., Eakin, E.G., Kingwell, B.A., Dunstan, D.W., 2020. Sedentary Behavior and Public Health: Integrating the Evidence and Identifying Potential Solutions. *Annu. Rev. Public Health* 41, 265–287. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040119-094201>
- Patel, K.P., Zheng, H., 2012. Central neural control of sympathetic nerve activity in heart failure following exercise training. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 302, H527–H537. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00676.2011>
- Powers, S.K., Morton, A.B., Hyatt, H., Hinkley, M.J., 2018. The Renin-Angiotensin System and Skeletal Muscle. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 46, 205–214. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000158>
- Reimers, A., Knapp, G., Reimers, C.-D., 2018. Effects of Exercise on the Resting Heart Rate: A Systematic Review and Meta-Analysis of Interventional Studies. *JCM* 7, 503. <https://doi.org/10.3390/jcm7120503>
- Rossi, N.F., Chen, H., Maliszewska-Scislo, M., 2013. Paraventricular nucleus control of blood pressure in two-kidney, one-clip rats: effects of exercise training and resting blood pressure. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 305, R1390–R1400. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00546.2012>

- Santos, R.A.S., Sampaio, W.O., Alzamora, A.C., Motta-Santos, D., Alenina, N., Bader, M., Campagnole-Santos, M.J., 2018. The ACE2/Angiotensin-(1–7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1–7). *Physiological Reviews* 98, 505–553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2016>
- Sévoz-Couche, C., Brouillard, C., Camus, F., Laude, D., De Boer, S.F., Becker, C., Benoliel, J.-J., 2013. Involvement of the dorsomedial hypothalamus and the nucleus tractus solitarius in chronic cardiovascular changes associated with anxiety in rats: Central circuit involved in anxiety-induced dysautonomia. *The Journal of Physiology* 591, 1871–1887. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.247791>
- Shi, X., Stevens, G., Foresman, B.H., Stern, S.A., Raven, P.B., 1995. Autonomic nervous system control of the heart: endurance exercise training. *Medicine and science in sports and exercise* 27, 1406–1413.
- Simonds, S.E., Cowley, M.A., Enriori, P.J., 2012. Leptin increasing sympathetic nerve outflow in obesity: A cure for obesity or a potential contributor to metabolic syndrome? *Adipocyte* 1, 177–181. <https://doi.org/10.4161/adip.20690>
- Simonds, S.E., Pryor, J.T., Ravussin, E., Greenway, F.L., Dileone, R., Allen, A.M., Bassi, J., Elmquist, J.K., Keogh, J.M., Henning, E., Myers, M.G., Licinio, J., Brown, R.D., Enriori, P.J., O’Rahilly, S., Sternson, S.M., Grove, K.L., Spanswick, D.C., Farooqi, I.S., Cowley, M.A., 2014. Leptin Mediates the Increase in Blood Pressure Associated with Obesity. *Cell* 159, 1404–1416. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.058>
- Slamkova, M., Zorad, S., Krskova, K., 2016. Alternative renin-angiotensin system pathways in adipose tissue and their role in the pathogenesis of obesity. *Endocrine Regulations* 50, 229–240. <https://doi.org/10.1515/enr-2016-0025>
- Snijders, T., Nederveen, J.P., McKay, B.R., Joanisse, S., Verdijk, L.B., van Loon, L.J., Parise, G., 2015. Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Frontiers in physiology* 6, 283.
- Soltis, R.P., DiMicco, J.A., 1991. GABAA and excitatory amino acid receptors in dorsomedial hypothalamus and heart rate in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 260, R13–R20. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1991.260.1.R13>
- Stephoe, A., Kivimäki, M., 2013. Stress and Cardiovascular Disease: An Update on Current Knowledge. *Annu. Rev. Public Health* 34, 337–354. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031912-114452>
- Stephoe, A., Kivimäki, M., 2012. Stress and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology* 9, 360–370.
- Stubbs, B., Vancampfort, D., Rosenbaum, S., Firth, J., Cosco, T., Veronese, N., Salum, G.A., Schuch, F.B., 2017. An examination of the anxiolytic effects of exercise for people with anxiety and stress-related disorders: A meta-analysis. *Psychiatry Research* 249, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.12.020>
- Subramanian, M., Holt, A.G., Mueller, P.J., 2014. Physical activity correlates with glutamate receptor gene expression in spinally-projecting RVLM neurons: A laser capture microdissection study. *Brain Research* 1585, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.06.021>

- Than, A., Leow, M.K.-S., Chen, P., 2013. Control of Adipogenesis by the Autocrine Interplays between Angiotensin 1–7/Mas Receptor and Angiotensin II/AT1 Receptor Signaling Pathways. *Journal of Biological Chemistry* 288, 15520–15531. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.459792>
- Theander-Carrillo, C., 2006. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *Journal of Clinical Investigation* 116, 1983–1993. <https://doi.org/10.1172/JCI25811>
- Thompson, P.D., Crouse, S.F., Goodpaster, B., Kelley, D., Moyna, N., Pescatello, L., 2001. The acute versus the chronic response to exercise: *Medicine and Science in Sports and Exercise* 33, S438–S445. <https://doi.org/10.1097/00005768-200106001-00012>
- Thompson, R., Swanson, L., 1998. Organization of inputs to the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a reexamination with Fluorogold and PHAL in the rat. *Brain research reviews* 27, 89–118.
- Uysal, N., Yuksel, O., Kizildag, S., Yuce, Z., Gumus, H., Karakilic, A., Guvendi, G., Koc, B., Kandis, S., Ates, M., 2018. Regular aerobic exercise correlates with reduced anxiety and increased levels of irisin in brain and white adipose tissue. *Neuroscience Letters* 676, 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.04.023>
- Virani, S.S., Alonso, A., Benjamin, E.J., Bittencourt, M.S., Callaway, C.W., Carson, A.P., Chamberlain, A.M., Chang, A.R., Cheng, S., Dellings, F.N., Djousse, L., Elkind, M.S.V., Ferguson, J.F., Fornage, M., Khan, S.S., Kissela, B.M., Knutson, K.L., Kwan, T.W., Lackland, D.T., Lewis, T.T., Lichtman, J.H., Longenecker, C.T., Loop, M.S., Lutsey, P.L., Martin, S.S., Matsushita, K., Moran, A.E., Mussolino, M.E., Perak, A.M., Rosamond, W.D., Roth, G.A., Sampson, U.K.A., Satou, G.M., Schroeder, E.B., Shah, S.H., Shay, C.M., Spartano, N.L., Stokes, A., Tirschwell, D.L., VanWagner, L.B., Tsao, C.W., On behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee, 2020a. Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 141. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000757>
- Voltarelli, V.A., Fernandes, L.G., Brum, P.C., 2020. Cellular and molecular exercise physiology: talking about past, present and future. *Rev Bras Educ Fís Esporte* 34, 533–542. <https://doi.org/10.11606/issn.1981-4690.v34i3p533-542>
- Warburton, D.E.R., 2006. Health benefits of physical activity: the evidence. *Canadian Medical Association Journal* 174, 801–809. <https://doi.org/10.1503/cmaj.051351>
- World Health Organization, 2018. More active people for a healthier world: global action plan on physical activity 2018-2030.
- Wrann, C.D., White, J.P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., Lin, J.D., Greenberg, M.E., Spiegelman, B.M., 2013. Exercise Induces Hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 Pathway. *Cell Metabolism* 18, 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008>
- Writing Group Members, Thom, T., Haase, N., Rosamond, W., Howard, V.J., Rumsfeld, J., Manolio, T., Zheng, Z.-J., Flegal, K., O'Donnell, C., Kittner, S., Lloyd-Jones, D., Goff, D.C., Hong, Y., Members of the Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee, Adams, R., Friday, G., Furie, K., Gorelick, P., Kissela, B., Marler, J., Meigs, J., Roger, V., Sidney, S., Sorlie, P., Steinberger, J., Wasserthiel-Smoller, S., Wilson, M., Wolf, P., 2006. Heart Disease and Stroke Statistics—2006 Update: A Report

From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics
Subcommittee. *Circulation* 113.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.171600>

Xavier, C.H., Nalivaiko, E., Beig, M.I., Menezes, G.B., Cara, D.C., Campagnole-Santos, M.J.,
Fontes, M.A.P., 2009. Functional asymmetry in the descending cardiovascular pathways
from dorsomedial hypothalamic nucleus. *Neuroscience* 164, 1360–1368.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.09.018>

Yvan-Charvet, L., Quignard-Boulangé, A., 2011. Role of adipose tissue renin–angiotensin system
in metabolic and inflammatory diseases associated with obesity. *Kidney International* 79,
162–168. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.391>

Zhang, N., Yang, L., Guo, L., Bi, S., 2018. Activation of Dorsomedial Hypothalamic Neurons
Promotes Physical Activity and Decreases Food Intake and Body Weight in Zucker Fatty
Rats. *Front. Mol. Neurosci.* 11, 179. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00179>