



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA E BIOFÍSICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FISIOLÓGIA E FARMACOLOGIA

**Alterações de componentes do sistema renina-
angiotensina em áreas cerebrais de animais hipertensos
submetidos a exercício físico**

Luiza Michelle Cangussu

Belo Horizonte – MG

2012

Luiza Michelle Cangussu

TESE DE DOUTORADO

**Alterações de componentes do sistema renina-
angiotensina em áreas cerebrais de animais hipertensos
submetidos a exercício físico**

*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 pré-requisito para
obtenção do título de doutor.*

Orientadora: Profa. Maria Jose Campagnole-Santos

**“ALTERAÇÃO DE COMPONENTES DO SISTEMA RENINA-
ANGIOTENSINA EM ÁREAS CEREBRAIS DE ANIMAIS
HIPERTENSOS SUBMETIDOS A EXERCÍCIO FÍSICO”**

LUIZA MICHELLE CANGUSSU

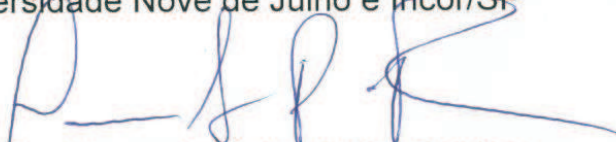
Tese de Doutorado defendida e aprovada no dia 21 de dezembro de 2012, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



Profa. Dra. Andreia C. Alzamora
Universidade Federal de Ouro Preto/MG



Profa. Dra. Kátia de Angelis
Universidade Nove de Julho e Incor/SP



Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes
Universidade Federal de Minas Gerais



Profa. Dra. Maria Aparecida Ribeiro Vieira
Universidade Federal de Minas Gerais



Profa. Dra. Maria José Campagnole dos Santos
Universidade Federal de Minas Gerais
Orientadora

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Fisiologia e Farmacologia
Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Belo Horizonte, 21 de dezembro de 2012.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, minha fortaleza, consolo e força... fonte de alegria e razão da minha vida.

À minha amada mãe, por seu amor, esforço, compreensão...

À Prof.(a) Maria Jose, obrigada pelo seu empenho, cuidado e pelo muito que você me acrescentou.

Ao Cid, noivo, amigo e companheiro.

À toda a família que esteve orgulhosa e torcendo por mim.

Aos queridos: Tael, Flávio, Ane, Mirelli, Sara, Marlene, Julieta, Gê e Poly.

À minha igreja IDAB e ABU... e meus amados irmãos que me alegraram sempre.

À Antonela e Renatinha que se tornaram mais que colegas de laboratório, verdadeiras amigas.

À Andréia Alzamora, Andréia Haibara, Almir Martins, Robson Santos e Marco Antônio por toda ajuda nesses quatro anos.

À Marilene, Jousie, Daisy, Lu e Fúlvia, pela ajuda nos experimentos e amizade.

Ao Zezé, pela colaboração fundamental nesse trabalho.

À coordenação e membros da Pós-graduação em Fisiologia e Farmacologia, em especial, Cyntia Menezes e Nilda Laurindo.

Aos colegas de laboratório que direta ou indiretamente contribuíram para esse trabalho.

Às meninas do biotério: Bônia, Mônica e Vanessa.

Aos animais de experimentação...

“Que história pode ser criada sem lágrimas, sem canto, sem livro e sem reza?”

Mia Couto

Apoio Financeiro: *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) através dos Editais: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia-INCT-Nanobiofar, e Programas de Núcleos de Excelência (Pronex).*

Lista de Figuras

Figura 1 - Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) medida através de pletismografia de cauda em ratos acordados (SHAM sedentário, 2R1C sedentários, e 2R1C treinados) na 1 ^a , 2 ^a , 3 ^a e 4 ^a semana após as cirurgias.....	28
Figura 2 - Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) mensurada através de pletismografia de cauda em ratos acordados SHAM sedentários, 2R1C sedentários e 2R1C treinados na 4 ^a semana após as cirurgias.....	29
Figura 3 - Peso corporal de ratos: SHAM, 2R1C sedentários e 2R1C treinados na 1 ^a , 2 ^a , 3 ^a e 4 ^a semana após as cirurgias.....	30
Figura 4 - Alterações no peso do ventrículo esquerdo pelo peso corporal de ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	31
Figura 5 - Pressão arterial média mensurada através de telemetria, em ratos acordados, 2R1C sedentários e 2R1C treinados na 4 ^a semana após as cirurgias.....	32
Figura 6 – Frequência cardíaca mensurada através de telemetria, em ratos acordados, 2R1C sedentários e 2R1C treinados na 4 ^a semana após as cirurgias.....	33
Figura 7 – Atividade da renina plasmática em ratos SHAM , 2R1C e 2R1C-EF.....	34
Figura 8 - Ang-(1-7) plasmática de ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	35
Figura 9 – Ang II plasmática em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	36
Figura 10 – Razão Ang-(1-7)/ Ang II plasmática em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados	36
Figura 11 – Ang-(1-7) no ventrículo esquerdo em ratos SHAM e 2R1C (sedentários e treinados).....	37
Figura 12 – Ang II no ventrículo esquerdo em ratos SHAM e 2R1C (sedentários e treinados).....	38
Figura 13 – Razão Ang-(1-7)/ Ang II no ventrículo esquerdo em ratos SHAM, 2R1C	

sedentários e treinados.....	38
Figura 14 – Expressão do mRNA da ECA, ECA2, receptores AT1 e MAS no córtex em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	39
Figura 15 – Expressão do mRNA da ECA, ECA2, receptores AT1 e MAS na VLM em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	40
Figura 16 – Expressão do mRNA do angiotensinogênio, ECA2, receptor AT1 e receptor MAS na RVLM em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	42
Figura 17 – Razão entre mRNA do receptor MAS/ AT1 no RVLM em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	42
Figura 18 – Expressão do mRNA da ECA, ECA2, receptores AT1 e MAS no hipotálamo em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	44
Figura 19 – Razão do mRNA do receptor ECA2/ECA no hipotálamo em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	45
Figura 20 – Razão do mRNA do receptor MAS/AT1 no hipotálamo em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados	45
Figura 21 – Ang-(1-7) no hipotálamo em ratos SHAM, 2R1C e 2R1C-EF.....	46
Figura 22 – Ang II no hipotálamo em ratos SHAM, 2R1C e 2R1C-EF.....	47
Figura 23 – Relação Ang-(1-7)-ir /Ang II-ir no em ratos SHAM, 2R1C sedentários e treinados.....	47
Figura 24 - Pressão arterial sistólica mensurada através de pletismografia de cauda em ratos acordados , 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados na 4 ^a semana após as cirurgias.....	48
Figura 25 – Expressão do mRNA da ECA, ECA2, receptores AT1 e MAS na RVLM em ratos 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados.....	50
Figura 26 – Razão do mRNA do receptor ECA2/ECA na RVLM em ratos 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados.....	51

Figura 27 – Razão do mRNA do receptor MAS/AT1 na RVLM em ratos 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados.....	51
Figura 28 – Expressão do mRNA da ECA, ECA2, receptores AT1 e MAS no hipotálamo em ratos 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados.....	53
Figura 29 – Razão do mRNA do receptor ECA2/ECA no hipotálamo em ratos 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados.....	54
Figura 30 – Razão do mRNA do receptor MAS/AT1 no hipotálamo em ratos 2R1C sedentários, 2R1C treinados e 2R1C/SAD treinados.....	54

Lista de Tabelas

Tabela 1: Seqüência de primers utilizados para o real-time	25
Tabela 2: Valores da pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) medida através da pletismografia de cauda.....	30

Lista de Abreviações

µg - micrograma

µL - microlitro

µm - micrômetro

2R1C – hipertensão renal do tipo dois-rins, um clip de Goldblatt

2R1C/ SAD – hipertensão renal do tipo dois-rins, um clip e desnervação sino-aórtica

Ang II – angiotensina II

Ang-(1-7) – angiotensina-(1-7)

ANOVA – análise de variância

AT₁ – receptor para angiotensina II do tipo 1

MAS – receptor para angiotensina-(1-7)

bpm – batimentos por minuto

CVLM – bulbo ventrolateral caudal

DC – débito cardíaco

dL - decilitro

ECA – enzima conversora de angiotensina

ECA 2 – enzima conversora de angiotensina 2

EF – exercício físico

EPM – erro padrão da média

FC – frequência cardíaca

i.p. - intraperitoneal

mmHg – milímetros de mercúrio

NA – núcleo ambíguo

PA – pressão arterial

PAM- pressão arterial média

PAP- pressão arterial pulsátil

RVLM – área rostroventrolateral do bulbo

SHAM – animais submetidos à cirurgia fictícia, grupo controle

SHR – rato espontaneamente hipertenso

SNC – sistema nervoso central

SNS – sistema nervoso simpático

SRA – sistema renina-angiotensina

UA – unidades arbitrárias

UI – unidades internacionais

Sumário

Lista de Figuras	VII
Lista de Tabelas	X
Lista de Abreviações	XI
Resumo	XV
Abstract	XVIII
1- Introdução	1
1.1- Justificativa do Projeto	1
1.2- Revisão Bibliográfica	4
1.2.1- Sistema Renina Angiotensina	4
1.2.2- Sistema Nervoso central (SNC) e SRA	8
1.2.3- Hipertensão e Exercício Físico	13
2- Objetivos	16
2.1- Objetivo Geral	16
2.2- Objetivos Específicos	16
3- Material e métodos	17
3.1- Animais	17
3.2- Equipamentos, Fármacos e Reagentes	17
3.3- Produção da hipertensão arterial renovascular (2R1C)	19
3.4- Produção da desnervação sino-aórtica (SAD)	19
3.5- Exercício Físico	20
3.6- Avaliação indireta da PAS através de plestismografia de cauda	20
3.7- Avaliação direta da PAM e FC através de telemetria	21
3.8- Coleta de órgãos e plasma	22
3.9- Expressão de mRNA do AOPEN, dos receptores angiotensinérgicos (AT₁ e MAS), das enzimas (ECA e ECA2) por qPCR	23
3.10- Dosagem de angiotensinas por radioimunoensaio (RIE)	25

3.11- Análise estatística.....	27
4- Resultados	28
4.1- PAS após cirurgia para produção da hipertensão 2R1C.....	28
4.2- Avaliação do peso corporal dos animais após a cirurgia (Sham ou 2R1C)..	30
4.3- Avaliação do peso do ventrículo esquerdo pelo peso corporal.....	31
4.4- Avaliação da PAM e FC em ratos 2R1C.....	32
4.5- Efeito do exercício físico sobre a atividade da renina plasmática.....	34
4.6- Efeito do exercício físico sobre os níveis plasmáticos da Ang-(1-7) e Ang II.....	35
4.7- Efeito do exercício físico sobre os níveis de Ang-(1-7) e Ang II no ventrículo esquerdo.....	37
4.8- Expressão do mRNA da ECA, ECA2, AT ₁ , MAS e angiotensinogênio no córtex, hipotálamo, VLM e RVLM.....	39
4.8.1- Expressão do mRNA da ECA,ECA2, receptor AT ₁ e MAS no córtex.....	39
4.8.2- Expressão do mRNA da ECA,ECA2, receptor AT ₁ e MAS na VLM.....	40
4.8.3- Expressão do mRNA do Aogen,ECA2, receptor AT ₁ e MAS na RVLM.....	41
4.8.4- Expressão do mRNA do ECA,ECA2, receptor AT ₁ e MAS no hipotálamo...	43
4.9- Efeito do exercício físico sobre os níveis de Ang-(1-7) e Ang II no hipotálamo...	46
4.10- Avaliação do efeito da desnervação sino-aórtica sobre a PAS e expressão do mRNA da ECA, ECA2, receptor AT ₁ e Mas na RVLM e hipotálamo.....	48
4.10.1- PAS após cirurgia 2R1C e SAD.....	48
4.10.2- Expressão do mRNA do ECA, ECA2, receptor AT ₁ e MAS na RVLM após desnervação.....	49
4.10.3- Expressão do mRNA do ECA, ECA2, receptor AT ₁ e MAS no hipotálamo após desnervação.....	52
5- Discussão.....	55
7- Referências Bibliográficas.....	65

Resumo

A hipertensão arterial (HA) é o fator de risco mais importante para as doenças cardiovasculares, que por sua vez são a principal causa de morbi-mortalidade no mundo. A HA é caracterizada por hipertonia do sistema nervoso simpático (SNS). Vários estudos mostram que o aumento da atividade do eixo angiotensina (Ang) II/ receptor AT₁ no sistema nervoso central (SNC) contribue para o aumento da atividade simpática na HA. Por outro lado, tem sido mostrado que o exercício físico (EF) reduz a pressão arterial (PA), melhora o controle barorreflexo e a função autonômica em animais hipertensos.

Atualmente sabe-se que as ações do sistema renina-angiotensina (SRA) são desempenhadas por dois eixos principais: enzima conversora de angiotensina (ECA)/ Ang II/ receptor AT₁, vasoconstritor e proliferativo e o eixo da ECA2/ Ang-(1-7)/ receptor MAS, hipotensor e anti-proliferativo. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações de componentes do SRA em áreas relacionadas com o controle da atividade simpática, área rostral ventrolateral do bulbo (RVLM) e hipotálamo, em ratos hipertensos submetidos a EF. Além disso, avaliamos um dos possíveis mecanismos envolvidos.

Ratos Sprague-Dawley, com 9-11 semanas pesando entre 170 a 230g, foram anestesiados e um clip de prata (0,20 mm) foi colocado na artéria renal para indução da hipertensão renovascular do tipo Goldblatt 2 rins-1 clip (2R1C). Outros animais foram submetidos a cirurgia fictícia (SHAM) e utilizados como grupo controle. Uma semana após a cirurgia, os animais iniciaram as sessões de exercício físico que consistia de 1 hora de natação em piscina aquecida (~30 °C) controlada por termostato. Os animais realizavam 20 sessões (5 dias/ semana). A pressão arterial sistólica (SAP) foi medida uma vez por semana pelo método de plestimografia de cauda e, a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foi avaliado por telemetria em um grupo separado de animais. Ao final do período de exercício, os animais foram decaptados e áreas cerebrais, hipotálamo, RVLM e cortex, foram rapidamente dissecados e congelados. Os níveis dos

peptídeos do SRA, Ang II e Ang-(1-7) foram dosados no plasma por radioimunoensaio (RIE) e a expressão de componentes do SRA foi determinada por qRT-PCR.

O exercício físico nos ratos 2R1C induziu redução de PAS avaliado por plestimografia (141 ± 3 mmHg, n=17 vs 163 ± 4 mmHg, n=11, nos animais 2R1C) e redução da PAM por telemetria (157 ± 3 mmHg, n= 5 vs 122 ± 6 mmHg, n=4, 2R1C). A de PA foi acompanhada por redução da FC (349 ± 5 bpm, n=5 vs 361 ± 5 bpm; n=4, 2R1C). Os valores de PAS dos ratos 2R1C-EF ainda foram significativamente superiores ao dos animais SHAM (124 ± 2 mmHg, n=12).

A atenuação da HA não modificou a hipertrofia cardíaca dos ratos 2R1C-EF avaliada pelo peso do ventrículo esquerdo (VE) corrigido pelo peso corporal. Os ratos 2R1C apresentaram hiperatividade do SRA circulante, avaliado pelo aumento da atividade da renina plasmática ($7 \pm 1,7$ ng/ml/h, n=7 vs $2,3 \pm 0,6$ ng/ml/h, n=6, SHAM), aumento dos níveis plasmáticos de Ang II (218 ± 35 pg/ml, n=7 vs 130 ± 18 pg/ml, n=6) e de Ang-(1-7) (68 ± 11 pg/ml, n=7 vs 28 ± 4 pg/ml, n=8). Além disso, apresentaram aumento dos níveis de Ang II ($2 \pm 0,2$ pg/mg de proteína, n=6 vs $1,1 \pm 0,05$ pg/mg de proteína, n=7, SHAM) e Ang-(1-7) ($2,3 \pm 0,2$ pg/mg de proteína, n=6 vs $1,1 \pm 0,3$ pg/mg de proteína, n=4, SHAM) no VE. O EF previniu completamente essas alterações no plasma e reduziu os níveis de Ang-II no VE. Os níveis de Ang-(1-7) continuam elevados no VE de ratos 2R1C-EF ($1,8 \pm 0,2$ pg/mg de proteína, n=4 vs $2,3 \pm 0,2$ pg/mg de proteína, n=6, 2R1C).

Com relação as áreas cerebrais, os animais 2R1C apresentaram aumento da expressão de angiotensinogênio ($4,5 \pm 0,7$ u.a., n=4 vs $1,0 \pm 0,1$ u.a., n=4, SHAM) e redução da ECA2 ($0,4 \pm 0,1$ u.a., n=4 vs $1,1 \pm 0,3$ u.a., n=4, SHAM), sem alteração na expressão dos receptores AT₁ e MAS na RVLM. Nos animais 2R1C submetidos a EF, houve redução da expressão de AT₁ ($0,5 \pm 0,1$ u.a., n=4) e aumento na expressão de ECA2 ($2,3 \pm 0,5$ u.a., n=4) e receptor MAS ($3,3 \pm 0,6$ u.a., n=4). No hipotálamo, os animais 2R1C apresentaram aumento da expressão de AT₁ ($2,9 \pm 0,5$ u.a., n=3 vs $1,0 \pm 0,1$ u.a., n=4, SHAM), sem alteração significativa dos outros componentes. O EF

aumentou a expressão de ECA ($2,4 \pm 0,3$ u.a., $n=5$), ECA2 ($3,7 \pm 0,4$ u.a., $n=4$) e do receptor MAS ($3,2 \pm 0,4$ u.a., $n=4$) e atenuou a expressão do receptor AT₁ ($2,1 \pm 0,1$ u.a., $n=3$) no hipotálamo. Essas alterações levaram a um aumento da razão ECA2/ECA e MAS/AT₁ nessa área. Além disso, o EF normalizou os níveis de Ang-(1-7) ($136,4 \pm 6,5$ pg/mg de protein, $n=8$ vs $97,66 \pm 6,9$ pg/mg de protein, $n=6$, nos ratos 2R1C) e Ang II ($5,7 \pm 0,4$ pg/mg de protein, $n=8$ vs $7,2 \pm 1,2$ pg/mg de protein, $n=5$, nos ratos 2R1C) no hipotálamo. Para investigar um possível mecanismo responsável por essas alterações, ratos 2R1C foram submetidos a desnervação das vias aferentes dos baroreceptores e quimiorreceptores carotídeos e dos baroreceptores aórticos (SAD). Os efeitos do EF foram parcialmente abolidos em ratos 2R1C-SAD. Ratos 2R1C-SAD-EF apresentaram níveis elevados de PA (190 ± 20 mmHg, $n= 4$) semelhantes aos ratos 2R1C sedentários (177 ± 13 mmHg, $n= 4$), sem alteração dos níveis dos componentes do SRA na RVLM e hipotálamo em relação aos ratos 2R1C.

Em síntese, nossos resultados mostram que o EF pode modular a atividade do SRA em áreas cerebrais envolvidas com o controle cardiovascular e que essas alterações podem ser gatilhadas através das vias aferentes baro/quimiorreceptoras. Estudos futuros deverão demonstrar em que proporção a mudança do SRA para o eixo ECA2/Ang-(1-7)/receptor MAS na RVLM e hipotálamo estão relacionadas com a queda da atividade simpática e da PA que se observa em animais hipertensos submetidos a exercício físico.

Abstract

High blood pressure (HBP) is the most important risk factor to the cardiovascular diseases, which in turn are the most important cause of morbi-mortality worldwide. HBP is characterized by an increase in sympathetic drive (SNA) to the periphery. Studies showed that an increase in the activity of the angiotensin (Ang) II/ AT₁ receptor axis in the brain may contribute to the increased SNA in hypertension. Otherwise, it has been shown that physical exercise (EF) reduces arterial pressure, improves baroreflex function and the autonomic function in hypertensive animals.

Currently it is well known that the renin-angiotensin system (RAS) actions are performed mainly by the balance of two axes: angiotensin converting enzyme (ACE)/ Ang II/ AT₁, the vasoconstrictor and proliferative, and the ACE2/ Ang-(1-7)/ MAS, the hypotensive and anti-proliferative. The objective of the present study was to evaluate the changes in the RAS components in areas related to the control of the sympathetic activity, the rostro-ventrolateral area of the medulla (RVLM) and hypothalamus, in hypertensive rats subjected to EF. In addition, we evaluate on of the the possible mechanisms involved in these alterations.

Sprague-Dawley rats, 9-10 weeks old, weighting 170 a 230 g, were anesthetized and a silver clip (0.20 mm) was placed around the renal artery to induce Goldblatt 2 kidneys-1clip (2K1C) renovascular hypertension. Other animals were subjected to sham surgery (SHAM) and used as control. One week after, animals started the sessions of EF, which consisted of 1 h of swimming in warm water (30°C). The animals performed 20 swimming sessions (5 days/ week). The systolic arterial pressure (SAP) was measured by tail cuff, once a week. BP (mean arterial pressure-MAP and heart rate-HR) was also evaluated by telemetry. At the end of exercise sessions, rats were killed by decapitation and the brain areas, hypothalamus, RVLM and cortex, were quickly dissected and frozen on dry ice. Ang II and Ang-(1-7) were measured in the plasma by RIA and the mRNA expression of components of RAS was determined by qRT-PCR.

2K1C rats subjected to EF presented a lower SAP (141 ± 3 mmHg, $n=17$ vs 163 ± 4 mmHg, $n=11$, in 2K1C) and lower MAP (157 ± 3 mmHg, $n=5$ vs 122 ± 6 mmHg, $n=4$, 2K1C). Attenuated hypertension was accompanied by lower baseline HR (349 ± 5 beats/min; $n=5$ vs 361 ± 5 beats/min; $n=4$, 2K1C). BP values were higher in 2K1C-EF rats than SHAM rats (124 ± 2 mmHg, $n=12$). The attenuation in BP did not affect the cardiac hypertrophy evaluated by the ratio between left ventricle weight and body weight. 2K1C presented overactivity of the circulating, as evaluated by the increase plasma renin ($7 \pm 1,7$ ng/ml/h, $n=7$ vs $2,3 \pm 0,6$ ng/ml/h, $n=6$, SHAM), increase in plasma Ang II (218 ± 35 pg/ml, $n=7$ vs 130 ± 18 pg/ml, $n=6$, SHAM) and Ang-(1-7) (68 ± 11 pg/ml, $n=7$ vs 28 ± 4 pg/ml, $n=8$, SHAM) levels. In addition, 2K1C presented increased Ang II ($2 \pm 0,2$ pg/mg de proteina, $n=6$ vs $1,1 \pm 0,05$ pg/mg de proteina, $n=7$, SHAM) and Ang-(1-7) ($2,3 \pm 0,2$ pg/mg de proteina, $n=6$ vs $1,1 \pm 0,3$ pg/mg de proteina, $n=4$, SHAM) in the left ventricle. EF completely prevented these alterations in plasma and reduced Ang-II levels in the left ventricle. Ang-(1-7) levels in the heart were kept elevated in 2K1C-EF ($1,8 \pm 0,2$ pg/mg de proteina, $n=4$ vs $2,3 \pm 0,2$ pg/mg de proteina, $n=6$, 2R1C).

Regarding the evaluation of RAS components in brain areas, 2K1C presented increased mRNA expression of angiotensinogen ($4,5 \pm 0,7$ u.a., $n=4$ vs $1,0 \pm 0,1$ u.a., $n=4$, SHAM) and decreased expression of ACE2 ($0,4 \pm 0,1$ u.a., $n=4$ vs $1,1 \pm 0,3$ u.a., $n=4$, SHAM), without change in mRNA expression AT₁ and MAS at the RVLM. 2K1C rats subjected to EF presented reduction in AT₁ expression ($0,5 \pm 0,1$ u.a., $n=4$) and increase in ACE2 ($2,3 \pm 0,5$ u.a., $n=4$) and in MAS receptor ($3,3 \pm 0,6$ u.a., $n=4$). In the hypothalamus, 2K1C rats presented increased mRNA expression of AT₁ ($2,9 \pm 0,5$ u.a., $n=3$ vs $1,0 \pm 0,1$ u.a., $n=4$, SHAM), without significant change in the other components. EF increased mRNA expression of ACE ($2,4 \pm 0,3$ u.a., $n=5$), ACE2 ($3,7 \pm 0,4$ u.a., $n=4$) and MAS receptor ($3,2 \pm 0,4$ u.a., $n=4$) and attenuated AT₁ ($2,1 \pm 0,1$ u.a., $n=3$). These changes resulted in an increase in the ratio between ACE2/ ACE and MAS/ AT₁, in the hypothalamus. In addition, EF normalized Ang-(1-7) ($136,4 \pm 6,5$ pg/mg protein, $n=8$ vs

97,66 ± 6,9 pg/mg de protein, n=6, in 2K1C) and Ang II (5,7 ± 0,4 pg/mg protein, n=8 vs 7,2 ± 1,2 pg/mg protein, n=5 in 2K1C). In order to investigate one mechanism involved in these changes 2K1C rats were subjected to denervation of the baro/ chemoreceptor (SAD). The effects of EF were partially abolished 2K1C-SAD-EF rats. 2R1C-SAD-EF rats presented elevated levels of BP (190 ± 20 mmHg, n=4) similar to 2R1C rats (177 ± 13 mmHg, n= 4), and similar mRNA expression of RAS components in the RVLM and hypothalamus in comparison 2K1C.

In summary, the results of the present study showed that physical exercise modulates the activity of components of RAS in brain areas related to cardiovascular control. Further, these effect are mediated through baro/chemorreceptor afferents. Future studies are needed to demonstrate in which proportion the changes in the RAS axis to the ACE2/ Ang-(1-7)/ MAS in the RVLM and hypothalamus are related to the fall in sympathetic drive and BP that is induced by physical exercise in hypertensive animals.