



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE AS
RESPOSTAS CARDIOVASCULARES E AUTONÔMICAS INDUZIDAS
PELA ESTIMULAÇÃO DO PROCESSO NEUROINFLAMATÓRIO EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS: ENFOQUE NO
NÚCLEO PARAVENTRICULAR HIPOTALÂMICO**

MATHEUS LOBO PEREZ DIAS

GOIÂNIA-GO

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS INSTITUTO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Matheus Lobo Perez Dias

3. Título do trabalho

Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre as respostas cardiovasculares e autonômicas induzidas pela estimulação do processo neuroinflamatório em ratos espontaneamente hipertensos: Enfoque no núcleo paraventricular hipotalâmico

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Rodrigues Pedrino** Professor do Magistério Superior, em 17/10/2023, às 13:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#)



Documento assinado eletronicamente por **Matheus Lobo Perez Dias** Discente, em 17/10/2023, às 16:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#)

MATHEUS LOBO PEREZ DIAS

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE AS
RESPOSTAS CARDIOVASCULARES E AUTONÔMICAS INDUZIDAS
PELA ESTIMULAÇÃO DO PROCESSO NEUROINFLAMATÓRIO EM
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS: ENFOQUE NO
NÚCLEO PARAVENTRICULAR HIPOTALÂMICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências Fisiológicas**.

Área de Concentração: Ciências Fisiológicas
Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rodrigues Pedrino
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Xavier Custódio

GOIÂNIA-GO

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Dias, Matheus Lobo Perez

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE AS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES E AUTONÔMICAS INDUZIDAS PELA ESTIMULAÇÃO DO PROCESSO NEUROINFLAMATÓRIO EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS: ENFOQUE NO NÚCLEO PARAVENTRICULAR HIPOTALÂMICO [manuscrito] / Matheus Lobo Perez Dias. - 2023.

LIX, 59 f.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rodrigues Pedrino; co-orientador Dr. Carlos Henrique Xavier Custódio.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Goiânia, 2023.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Atividade Nervosa Simpática. 2. Fator de Necrose Tumoral Alfa. 3. Hipertensão arterial. 4. Imunomodulação. 5. Neuroinflamação. I. Pedrino, Gustavo Rodrigues, orient. II. Título.

CDU 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 22 da sessão de Defesa de Dissertação do Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, que confere a **Matheus Lobo Perez Dias** o título de Mestre em Ciências Fisiológicas, na área de concentração em Ciências Fisiológicas.

Aos vinte e seis dias do mês de julho de 2023, a partir das 14:00 horas, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre as respostas cardiovasculares e autonômicas induzidas pela estimulação do processo neuroinflamatório em ratos espontaneamente hipertensos: Enfoque no núcleo paraventricular hipotalâmico”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor Gustavo Rodrigues Pedrino (ICB - UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor Doutor Daniel Alves Rosa (ICB - UFG), membro titular externo; Professora Doutora Aline Priscila Pansani (ICB - UFG), membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca sugerem de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Gustavo Rodrigues Pedrino, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos vinte e seis dias do mês de julho de 2023.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Aline Priscila Pansani, Professora do Magistério Superior**, em 26/07/2023, às 17:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Alves Rosa, Professor do Magistério Superior**, em 26/07/2023, às 17:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Rodrigues Pedrino, Professor do Magistério Superior**, em 26/07/2023, às 17:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3915806** e o código CRC **46C8F5B3**.

*“Não é o crítico que importa, não aquele que aponta como o homem forte tropeça ou onde o fazedor de proezas poderia ter feito melhor. O crédito pertence ao **homem que está realmente na arena**, cujo rosto está marcado de poeira, suor e sangue; que se esforça valentemente; que erra, que falha repetidamente, pois não há esforço sem erro e falha; mas que de fato se esforça para realizar as ações; que conhece grandes entusiasmos, as grandes devoções; que se dedica a uma causa digna; que, no melhor dos casos, no final, conhece o triunfo da grande conquista, e que, no pior dos casos, se falhar, ao menos falhará ousando grandemente, para que seu lugar jamais seja junto daqueles que têm almas frias e tímidas, que desconhecem tanto a vitória quanto a derrota.*

*O mundo é moldado por aqueles que se levantam, que enfrentam os desafios de frente e que trabalham incansavelmente para fazer a diferença. Sejamos esses **homens na arena**, prontos para enfrentar o mundo com coragem, determinação e a crença de que nossos esforços, por menores que sejam, podem contribuir para um futuro melhor”*

Theodore Roosevelt Jr.

The Man in the Arena - Citizenship in a Republic. Discurso proferido na Universidade de Sorbonne, Paris, França, 1910. (Adaptado).

Dedicatória

*Dedico a **Deus**. Em momentos de desafios e incertezas, encontrei no Senhor a coragem para seguir adiante. Nos momentos de dúvida, foste minha luz, e nas dificuldades, minha fortaleza.*

*Ao meu amado avô **José Cid Perez**. Seu legado de força aliada à virtude é uma inspiração constante em minha jornada. O senhor demonstrou que ser verdadeiramente corajoso é ter um caráter íntegro e nobre. A valorização da família tradicional, dos valores e dos bons costumes foram ensinamentos preciosos que guardo no coração com gratidão. Sua influência me mantém firme no caminho da retidão. Seu exemplo de vida continua vivo em minha memória. Agradeço por ter tido a honra de tê-lo como avô e por todas as lições valiosas que aprendi. Esta dedicatória é um tributo ao homem extraordinário que o senhor foi e sempre será em meu coração.*

Agradecimentos

***A Deus**, meu coração transborda de gratidão ao olhar para trás e contemplar a jornada que percorri. Em cada passo incerto, encontrei sua mão amorosa me guiando e sustentando. Nas horas mais sombrias, senti Sua presença iluminando meu caminho e renovando minhas forças. Que minha vida seja um testemunho vivo de Sua bondade e misericórdia. Que eu possa espalhar Sua graça a todos ao meu redor, como forma de expressar minha eterna gratidão. Obrigado, meu Deus, por sua presença constante e por ser meu refúgio seguro. Sou verdadeiramente abençoado por ter o Senhor como meu guia e protetor.*

***À minha mãe**, Jacirema do Socorro Fonseca Perez. Suas palavras de encorajamento, seu amor incondicional e sua confiança em mim foram as âncoras que me sustentaram ao longo dos desafios da vida. Agradeço por estar sempre ao meu lado, por acreditar em mim e por me ensinar a perseverar diante das adversidades. A senhora é meu exemplo de dedicação, amor e coragem. Seu amor materno é um presente precioso que me fortalece e me inspira todos os dias. Sou grato por cada momento compartilhado, por cada abraço reconfortante e por cada conselho sábio que a senhora me ofereceu. Quero expressar todo meu amor e apreço pela senhora. Que nossa relação continue a se fortalecer, que possamos compartilhar muitos momentos especiais juntos e que eu possa retribuir um pouco do amor e apoio que a senhora sempre me forneceu.*

***À minha avó**, Edna Maria Fonseca Perez. Agradeço do fundo da minha alma por todos os sábios conselhos que a senhora compartilhou comigo, por suas histórias que se repetiam alegremente em nossos jantares. Suas palavras de sabedoria e experiência foram um guia valioso em minha jornada, sinto uma profunda gratidão por ter tido o privilégio de ouvi-las. Embora a senhora tenha partido durante esse período tão difícil da pandemia, seu amor e presença continuam vivos em nossas memórias e corações. Seu amor e apoio foram uma força motriz em minhas conquistas e desafios, e sinto sua falta todos os dias. Sua presença deixou uma marca indelével em nossas vidas, e sua memória será eternamente honrada.*

***Ao meu orientador**, Prof. Dr. Gustavo Rodrigues Pedrino. Minha profunda gratidão pela oportunidade de fazer parte do Centro de Pesquisa em Neurociências e Fisiologia Cardiovascular (CPNFC) sob sua orientação. Sua generosidade ao me receber e compartilhar seu conhecimento tem sido inestimável para o meu*

crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço por prover uma infraestrutura de pesquisa excepcional e por dedicar seu tempo e esforço para me orientar ao longo deste percurso. Suas orientações valiosas, ensinamentos e direcionamentos têm sido fundamentais para o meu desenvolvimento como pesquisador. Além disso, sou grato por termos cultivado uma relação de respeito e colaboração mútua. Agradeço também pelas correções e feedbacks construtivos que me permitiram aprimorar meu trabalho. Seu comprometimento com a excelência acadêmica e sua paixão pela pesquisa são verdadeiramente inspiradores. Sou grato por ter o senhor como meu orientador, guia e modelo a seguir. Mais uma vez, expresso minha sincera gratidão por tudo que o senhor tem feito por mim. Sou privilegiado por ter a oportunidade de aprender com o senhor e por fazer parte da sua equipe de pesquisa. Espero continuar aprendendo e contribuindo para o avanço do conhecimento sob sua orientação.

Aos meus irmãos, *Letícia Lobo Perez Dias, Gabriel Lobo Perez Dias e Sofia Lobo Perez Dias. Meus amados irmãos mais novos, trouxeram companheirismo e alegria à minha vida, e sou verdadeiramente grato por isso. Embora às vezes eu possa ser exigente em minhas correções e orientações, saibam que é apenas porque os amo muito e desejo o melhor para cada um de vocês. Quero que trilhem um caminho de sucesso e felicidade, sempre buscando a excelência em tudo o que fazem. Agradeço por me ensinarem a ter paciência e por compartilharem momentos especiais ao meu lado.*

À minha sobrinha, *Maitê Perez Arantes. Minha princesinha e fonte constante de alegria e encanto em minha vida. Sua presença radiante e sua personalidade saltitante iluminam meus dias. Agradeço por me ensinar o verdadeiro significado da alegria e por ser uma fonte constante de inspiração. Seu espírito vibrante e sua pureza de coração tocam profundamente a minha alma. Que a vida continue a ser generosa com você, minha querida sobrinha. Saiba que sempre estarei aqui para apoiá-la e amá-la.*

Ao meu querido amigo, *Leonardo Pereira Terra. Agradeço por todas as longas e reflexivas conversas que tivemos. Suas habilidades de escuta e disposição para explorar ideias fascinantes, como a realidade simulada, universos paralelos e até mesmo os mistérios dos polvos, têm sido um verdadeiro presente. Sua paciência em me ouvir e sua mente aberta para considerar perspectivas diferentes são qualidades que valorizo profundamente em nossa amizade. É reconfortante ter alguém com quem*

posso compartilhar minhas teorias e pensamentos mais peculiares, sabendo que serei ouvido e respeitado. Além disso, sua presença constante em minha vida é um lembrete de como você é um homem de valor, sempre disposto a oferecer apoio, orientação e um ombro amigo quando necessário. Sua sinceridade, honestidade e lealdade são características admiráveis que fazem de você um amigo excepcional.

À parceira de laboratório, Andréa Moreira dos Santos. *Agradeço pelo companheirismo sincero ao longo de nossa jornada no laboratório. Sua disposição em colaborar, sua dedicação incansável e sua capacidade de enfrentar os obstáculos com determinação têm sido verdadeiros motivadores para mim. A troca de conhecimentos, ideias e experiências tem contribuído significativamente para o crescimento profissional de ambos. Sou grato por poder contar com sua competência, habilidades e entusiasmo em nosso trabalho.*

Aos estimados professores, Prof. Dr. André Henrique Freiria Oliveira e Prof. Dr. Daniel Alves Rosa. *Pelos valiosos ensinamentos ao longo desta jornada acadêmica. Além do conhecimento científico que compartilharam generosamente, sou imensamente grato pela enorme vontade dos senhores de ajudar e contribuir para o meu desenvolvimento. Suas portas sempre estiveram abertas para sanar dúvidas, discutir ideias e oferecer suporte.*

Aos colegas do departamento de ciências fisiológicas, em especial à Lara Marques Naves, Aline Andrade Mourão, Stéfanne Madalena Marques e Isis Gabrielli Barbieri de Oliveira. *Como minhas veteranas, as senhoritas foram fundamentais em minha trajetória. Agradeço por compartilharem seus conhecimentos e experiências comigo. Ao longo do tempo, as senhoritas me ensinaram técnicas e procedimentos indispensáveis para a realização deste trabalho, proporcionando um aprendizado valioso e enriquecedor.*

Aos alunos de iniciação científica, Felipe Almeida Loiola, Maria Eduarda Martins Monteiro, Nathally Mithie Ivamoto Ferreira e Kemilly Paulina De Souza. *É uma verdadeira honra poder contribuir para o conhecimento e desenvolvimento acadêmico de vocês enquanto graduandos. Desejo que esta experiência enriquecedora os impulsione a alcançar ainda mais sucesso em suas jornadas acadêmicas e profissionais. Muito obrigado pela dedicação e pelo trabalho árduo em prol da ciência.*

*Gostaria de expressar minha profunda gratidão à **Universidade Federal de Goiás** e ao **Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - UFG** pelo apoio e oportunidades proporcionados ao longo desta jornada acadêmica. Sou imensamente grato pela estrutura de excelência, recursos e ambiente propício à pesquisa. Também gostaria de estender meus agradecimentos aos órgãos de fomento **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** e **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)** pelo suporte financeiro e oportunidades de desenvolvimento acadêmico proporcionadas por meio de bolsas e auxílios. Sem esse apoio fundamental, seria impossível realizar este trabalho. Sou verdadeiramente grato por essa rede de instituições que valorizam e incentivam a pesquisa científica. Seu compromisso com a excelência acadêmica e o desenvolvimento científico é inspirador e motivador. Muito obrigado por tornarem possível a realização deste estudo e por seu contínuo apoio à comunidade acadêmica. Que essa parceria prospere e continue gerando avanços significativos na ciência e na formação de novos pesquisadores.*

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XI
LISTA DE FIGURAS	XIV
LISTA DE TABELAS	XVI
RESUMO.....	XVII
ABSTRACT	XIX
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo Geral	13
2.2. Objetivos Específicos	13
3. METODOLOGIA	14
3.1. Modelo Experimental.....	14
3.2. Adaptação ao treinamento físico em esteira rolante	14
3.3. Classificação da aptidão física e velocidade aeróbica máxima	15
3.4. Pletismografia de cauda.....	16
3.5. Treinamento físico em esteira rolante	17
3.6. Procedimentos cirúrgicos gerais	18
3.7. Nanoinjeções intranucleares	19
3.8. Aquisição e registro da atividade nervosa simpática esplâncnica.....	20
3.9. Extração, acondicionamento e processamento do tecido cerebral	21
3.10. Coloração por vermelho neutro.....	22
3.11. Análise estatística	22
3.12. Delineamento experimental.....	23
4. RESULTADOS	24
4.1. Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre valores basais de PAP e FC em animais hipertensos não anestesiados	24
4.2. Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre a VAM e massa corporal em animais hipertensos não anestesiados	26

4.3. Efeitos cardiovasculares e autonômicos induzidos pela administração de TNF- α no PVN em animais hipertensos treinados e sedentários anestesiados.....	28
4.4. Análise histológica nanoinjeções intranucleares PVN.....	32
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÃO.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%ANS	Varição da atividade nervosa simpática
∫ANSE	Integral da atividade nervosa simpática esplâncnica
ACC	American College of Cardiology
AHA	American Heart Association
ANG II	Angiotensina II
ANSE	Atividade nervosa simpática esplâncnica
ANSr	Atividade nervosa simpática retificada
AP-1	Proteína ativadora-1
AT1	Receptores de angiotensina tipo 1
BPM	Batimentos por minuto
CAI	Citocinas anti-inflamatórias
COX-2	Ciclooxigenase-2
CPI	Citocinas pró-inflamatórias
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
Cyt-C	Citocromo C
DC	Debito cardíaco
DCNT	Doença crônica não transmissível
DCV	Doenças cardiovasculares
DOCA	Acetato de desoxicorticosterona
ECA2	Enzima conversora da angiotensina 2
ECG	Eletrocardiograma
EM	Eminência mediana
EPM	Erro padrão da média
ERK1/2	Quinase regulada por sinalização extracelular
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FADD	Domínio de morte associado ao CD95 FAS
FC	Frequência cardíaca
HA	Hipertensão arterial
i.v.	Intravenoso
IL-13	Interleucina 13
IL-18	Interleucina 18
IL-1β	Interleucina 1- β

IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IML	Coluna intermédio-lateral
iNOS	Óxido nítrico-sintase induzida
JNK	C-Jun N-terminal quinase
kDa	Kilodaltons
MEKK1	MAP/ERK quinase quinase 1
mg	Miligrama
MKK7	MAP quinase quinase 7
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
NF-κB	Fator nuclear kappa β
NK	Células natural Killers
nL	Nanolitro
nmol	Nanomol
NO	Óxido nítrico
NOX	NADPH oxidase
NTS	Núcleo do trato solitário
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAP	Pressão arterial pulsátil
PAS	Pressão arterial sistólica
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PC	Pletismografia de cauda
PE	Polietileno
pmol	Picomol
PP	Pressão de pulso
PTX	Pentoxifilina
PVN	Núcleo paraventricular hipotalâmico
RPT	Resistência periférica total
RVLM	Região rostroventrolateral do bulbo

SAG	Síndrome da adaptação geral
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SFO	Órgão subfornical
SHR	Ratos Espontaneamente Hipertensos
SNA	Atividade nervosa simpática
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso parassimpático
SNS	Sistema nervoso simpático
SUS	Sistema Único de Saúde
TACE	Enzima conversora de TNF- α
TF	Treinamento físico
TFA	Treinamento físico aeróbico
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TNFR1	Receptor de TNF- α do tipo 1
TNFR2	Receptor de TNF- α do tipo 2
TRADD	Domínio de morte associado ao receptor TNFR1
TRAF2	Fator 2 associado ao TNFR
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
u.a	Unidade arbitrária
UFG	Universidade Federal de Goiás
VAM	Velocidade aeróbica máxima
μm	Micrômetro
3V	Terceiro ventrículo
5-LOX	5-Lipoxigenase

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Pioneiros. (A) Nicolas Léonard Sadi Carnot (1796-1832), (B) Claude Bernard (1813-1878) e (C) Walter Bradford Cannon (1871-1945). Adaptada de Wikimedia Commons (Domínio Público).....**5**
- Figura 2.** Pesquisador pioneiro no estudo das respostas fisiológicas ao estresse. Dr. Hans Hugo Bruno Selye (1907-1982). Retirada do acervo Government of Canada - Library and Archives (Domínio Público).**6**
- Figura 3.** Representação da equação utilizada para quantificar a velocidade aeróbica máxima (VAM, m/min) nos grupos de SHR-TFA.....**16**
- Figura 4.** Representação cronológica do período despendido para adaptação e protocolo de treinamento físico aeróbico (TFA), dos grupos de SHR-TFA, até a realização dos experimentos anestesiados para registro de parâmetros cardiovasculares e autonômicos.**18**
- Figura 5.** Delineamento experimental indicando a ordem dos eventos em função do tempo em que os experimentos anestesiados se sucederam com os grupos SHR-TFA e SHR-SED.**23**
- Figura 6.** Efeitos cardiovasculares obtidos por intermédio da pletismografia de cauda realizada do período basal (semana 0) até a 8ª semana em SHR-TFA (círculo aberto) e SHR-SED (círculo fechado) não anestesiados. (A) Pressão arterial sistólica (PAS; mmHg), (B) frequência cardíaca (FC; bpm). Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). * Diferente da semana 0 (basal); # Diferente do grupo SHR-SED; $p < 0,05$**25**
- Figura 7.** Efeitos do treinamento físico aeróbico regular, em intensidade moderada, sobre o condicionamento aeróbico de SHR-TFA avaliados no período basal (semana 0), 4ª e 8ª semana. Velocidade aeróbica máxima (VAM; m/min). Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). * Diferente da semana 0; # Diferente da semana 4; $p < 0,05$**27**
- Figura 8.** Traçado representativo das alterações na pressão arterial pulsátil (PAP; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm) e atividade nervosa simpática esplâncnica (ANSE; u.a) do grupo de SHR-SED. I. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de veículo (PBS; 50 nL), II. linha tracejada indica o momento

da nanoinjeção intranuclear de TNF- α (0,6 pmol em 50 nL) no PVN e III. linha tracejada indica o momento da administração de Hexametônio (30 mg · kg⁻¹, i.v).29

Figura 9. Traçado representativo das alterações na pressão arterial pulsátil (PAP; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm) e atividade nervosa simpática esplâncnica (ANSE; u.a) do grupo de SHR-TFA. I. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de veículo (PBS; 50 nL), II. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de TNF- α (0,6 pmol em 50 nL) no PVN e III. linha tracejada indica o momento da administração de Hexametônio (30 mg · kg⁻¹, i.v).29

Figura 10. Efeitos cardiovasculares e autonômicos induzidos pelas nanoinjeções intranucleares de TNF- α no PVN de SHR-TFA e SHR-SED anestesiados. (A) Variação da pressão arterial média (Δ PAM; mmHg), (B) frequência cardíaca (Δ FC; bpm) e (C) integral da atividade nervosa simpática esplâncnica (Δ ANSE; %). A linha tracejada representa as nanoinjeções intranucleares de veículo no grupo SHR-TFA (círculo aberto) e grupo SHR-SED (círculo fechado). A linha contínua representa as nanoinjeções intranucleares de TNF- α no PVN. Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). * Diferente do tempo -20 min; # Diferente do grupo SHR-SED. $p < 0,05$31

Figura 11. Fotomicrografia representativa da secção coronal (40 μ m), realizada na região hipotalâmica, evidenciando o sítio típico unilateral da nanoinjeção realizada no núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN). A seta indica a marcação com o corante azul de Evans 4%. Escala: 500 μ m.32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Coordenadas utilizadas para o empreendimento das nanoinjeções intranucleares.....	20
Tabela 2. Fórmulas utilizadas para o cálculo da integral da atividade nervosa simpática retificada ($\int ANSr$) e variação da $\int ANS$ ($\% \int ANS$).....	21
Tabela 3. Valores basais da frequência cardíaca (FC; bpm) e pressão arterial sistólica (PAS; mmHg) dos grupos de SHR-TFA e SHR-SED não anestesiados. Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M).	24
Tabela 4. Média \pm EPM das alterações concernentes a velocidade aeróbica máxima (VAM) do grupo de animais SHR-TFA, durante o período basal (semana 0), 4 ^a e 8 ^a semana. Expressas em (m/min).....	26
Tabela 5. Média \pm EPM das alterações da massa corporal nos grupos SHR-TFA e SHR-SED, expressas em gramas (g).....	27
Tabela 6. Valores basais da pressão arterial média (PAM; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm) e integral da atividade nervosa simpática esplâncnica ($\int ANSE$; u.a.) nos grupos de animais SHR-TFA e SHR-SED. Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M).	28

RESUMO

O sistema nervoso autônomo (SNA) compreende o sistema nervoso simpático (SNS) e o sistema nervoso parassimpático (SNP), os quais estão associados à regulação da função cardiovascular. A neuroinflamação, assim como o aumento do tônus simpático, é relatada como pedra angular na gênese da hipertensão arterial (HA), que, por sua vez, protagoniza como principal fator de risco modificável para a problemática associada ao desenvolvimento, manutenção e agravamento das doenças cardiovasculares (DCV). O fluxo simpático é modulado por diferentes núcleos localizados no sistema nervoso central (SNC), como o núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN) e a região rostroventrolateral do bulbo (RVLM). Afecções circunscritas a essas regiões são frequentemente implicadas no desequilíbrio do balanço autonômico, sendo essa uma das razões da patogênese da HA. Embora os neurônios presentes nessas regiões centrais de controle cardiovascular e autonômico contribuam para a modulação do fluxo simpático, os fatores que cooperam para a elevação da atividade neuronal ainda estão sob investigação. Nas últimas décadas, diversas evidências experimentais têm relacionado as citocinas cerebrais ao desequilíbrio autonômico observado em diferentes modelos de hipertensão arterial (HA). O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) é um constituinte das citocinas pró-inflamatórias (CPI) e atua como neuromodulador, desempenhando um papel fundamental na regulação simpática da pressão arterial (PA). Estudos sugerem que o aumento da expressão das CPIs ativa múltiplas vias de sinalização e influencia agudamente a descarga neuronal, promovendo mudanças adaptativas que, por sua vez, modulam a excitabilidade neuronal por meio da transcrição gênica. Por outro lado, o treinamento físico aeróbico (TFA) é reconhecido como ferramenta preventiva e terapêutica adjuvante ao manejo da HA. Estudos sugerem que, por intermédio de diversas adaptações sistêmicas integrativas, o TFA pode induzir alterações autonômicas e hemodinâmicas favoráveis ao controle neural da PA. À luz dessas considerações, o presente estudo avaliou a contribuição do processo neuroinflamatório nas respostas cardiovasculares e autonômicas induzidas pelo TNF- α no PVN de animais hipertensos submetidos a um protocolo regular de TFA, em intensidade moderada. Para tanto, SHR (250 - 350g) foram organizados em dois grupos: I. SHR-TFA (8 semanas de treinamento aeróbico, n=13); II. SHR-SED (8 semanas de supervisão em atividade física típica da espécie, n=10). A pressão arterial

sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) foram monitoradas ao longo de todo o período de tratamento por intermédio da pletismografia de cauda (PC). Ao final das 8 semanas, os animais foram anestesiados com uretano ($400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ do peso corporal; i.v.) associada a α -cloralose ($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, do peso corporal; i.v.), e instrumentalizados cirurgicamente para realização de nanoinjeções intranucleares unilaterais (50 nL) no PVN, registro da pressão arterial média (PAM), FC e atividade nervosa simpática esplâncnica (ANSE). Durante os registros não anestesiados, identificamos que o TFA promoveu bradicardia em repouso observada a partir da 3 semana (SHR-TFA: $488,9 \pm 13,1$ para $450,2 \pm 11,6$ bpm; $p < 0,05$). Na fração do estudo em que os registros foram realizados em SHR anestesiados, identificamos que as nanoinjeções intranucleares de veículo (solução de salina tamponada com fosfato; PBS 0,01 M) no PVN, não promoveram alterações nos valores basais da PAM (SHR-SED: $\Delta -2,1 \pm 1,3$; SHR-TFA: $\Delta -0,7 \pm 1,4$ mmHg; 10 min após veículo, em relação ao basal), FC (SHR-SED: $\Delta 0,039 \pm 1,6$; SHR-TFA: $\Delta -1,0 \pm 1,8$ bpm; 10 min após veículo, em relação ao basal), e \dot{V} ANSE (SHR-SED: $\Delta +9,7 \pm 2,0$; SHR-TFA: $\Delta +4,3 \pm 1,7\%$; 10 min após veículo, em relação ao basal), do mesmo modo que não foram observadas diferenças entre os grupos. Em contrapartida, as nanoinjeções intranucleares de TNF- α no PVN do grupo de animais hipertensos que permaneceram em atividade física típica da espécie induziram um aumento da PAM (SHR-SED: $\Delta +11,4 \pm 3,9$ mmHg; $p < 0,05$; 50 min após TNF- α , em relação ao basal), FC (SHR-SED: $\Delta +18,8 \pm 4,5$ bpm; $p < 0,05$; 60 min após TNF- α , em relação ao basal) e \dot{V} ANSE (SHR-SED: $\Delta +21,8 \pm 4,7 \%$; $p < 0,05$; 20 min após TNF- α , em relação ao basal). Nos SHRs submetidos ao TFA, identificamos que as nanoinjeções de TNF- α no PVN não promoveram respostas pressoras (SHR-TFA: $\Delta -4,6 \pm 2,4$ vs. SHR-SED: $\Delta +6,8 \pm 4,2$ mmHg; $p < 0,05$; 40 min após TNF- α), tampouco, a simpatoexcitação (SHR-SED: $\Delta +30,6 \pm 4,7$ vs. SHR-TFA: $\Delta +14,3 \pm 4,9 \%$; $p < 0,05$; 30 min após TNF- α) observada no grupo sedentário. Além disso, houve diferença significativa quando os grupos de treinamento são abordados comparativamente aos grupos de animais sedentários. Em conjunto, esses resultados demonstram que o TFA regular, em intensidade moderada, foi eficaz na promoção da bradicardia em repouso, além de atenuar o aumento da ANSE e resposta pressora induzidas pela ativação aguda do processo neuroinflamatório no PVN de SHR.

Palavras-Chave: Atividade nervosa simpática; Fator de Necrose Tumoral Alfa; Hipertensão arterial; Imunomodulação; Neuroinflamação; Regulação autonômica.

ABSTRACT

The autonomic nervous system (ANS) comprises the sympathetic nervous system (SNS) and the parasympathetic nervous system (PSNS), which are associated with the regulation of the cardiovascular function. Neuroinflammation and the increase of the sympathetic tone are reported as angular stone in the genesis of the arterial hypertension (AH), which is the main factor for modifiable risk for the problem associated with development, maintenance and aggravation in the cardiovascular diseases (CVD). The sympathetic flow is modulated by different elemental nucleus located in the central nervous system (CNS), such as the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) and the rostral ventrolateral medulla (RVLM). Conditions circumscribed to these regions are frequently implicated to the autonomic imbalance, driving force in pathogenesis of the AH. Although the neurons in these cardiovascular and autonomic central control regions contribute to the modulation of the sympathetic flow, the factors that cooperate to the increase of the neuron activity are still under investigation. In the last decades, many experimental evidence related the brain cytokines to the autonomic imbalance observed in different models of AH. The tumor necrosis factor alpha (TNF- α) is a constituent of the pro-inflammatory cytokines (PICs) that acts as neuromodulator and perform a fundamental role in the sympathetic regulation of the blood pressure (BP). Studies suggest that the increase of the PICs expression activates many signaling ways and acutely influence the neural discharge, promoting adaptative changes that modulate the neuronal excitability through genic transcription. On the other hand, the aerobic physical training (APT) is recognized as a preventive and adjuvant therapeutic too in AH management. In light of these considerations, the present study evaluated the contribution of the neuroinflammatory process to the cardiovascular and autonomic responses induced by TNF- α in the PVN of hypertensive animals undergoing a regular moderate-intensity APT protocol. To this end, SHR (250 - 350g) were divided into two groups: I. SHR-APT (8 weeks of aerobic training, n=13); II. SHR-SED (8 weeks of supervision in species-typical physical activity, n=10). The systolic blood pressure (SBP) and the heart rate (HR) was monitored throughout the whole treatment period with the tail plethysmography (TP). At the end of the 8 weeks, the animals were anesthetized with urethane (400 mg·kg⁻¹ body weight; i.v.) associated with α -chloralose (40 mg·kg⁻¹ body weight; i.v.) and surgically instrumented for unilateral intranuclear nanoinjections (50nL) in the PVN, recording of mean arterial

pressure (MAP), HR and splanchnic sympathetic nerve activity (SSNA). During the non-anesthetized records, we identified that the APT promoted resting bradycardia observed from the 3rd week of training (SHR-APT: from $488,9 \pm 13,1$ to $450,2 \pm 11,6$ bpm; $p < 0,05$). In the fraction of the study where the recordings were performed in anesthetized SHR, we identified that the vehicle nanoinjections (phosphate-buffered saline; PBS, 0.01 M) in the PVN didn't promote the change in the basal values of the MAP (SHR-SED: $\Delta -2,1 \pm 1,3$; SHR-APT: $\Delta -0,7 \pm 1,4$ mmHg; 10 min after vehicle, from baseline), HR (SHR-SED: $\Delta 0,039 \pm 1,6$; SHR-APT: $\Delta -1,0 \pm 1,8$ bpm; 10 min after vehicle, from baseline) and \int SSNA (SHR-SED: $\Delta +9,7 \pm 2,0$; SHR-APT: $\Delta +4,3 \pm 1,7\%$; 10 min after vehicle, from baseline), in the same way that it wasn't observed differences between the groups. In the other hand, intranuclear nanoinjections of TNF- α in the PVN of hypertensive animals that remained in species-typical physical activity induced an increase in MAP (SHR-SED: $\Delta +11,4 \pm 3,9$ mmHg; $p < 0,05$; 50 min after TNF- α , from baseline), HR (SHR-SED: $\Delta +18,8 \pm 4,5$ bpm; $p < 0,05$; 60 min after TNF- α , from baseline) and \int SSNA (SHR-SED: $\Delta +21,8 \pm 4,7 \%$; $p < 0,05$, 20 min after TNF- α , from baseline). In SHR submitted to APT, we found that nanoinjections of TNF- α into the PVN did not elicit pressor responses (SHR-TFA: $\Delta -4,6 \pm 2,4$ vs. SHR-SED: $\Delta +6,8 \pm 4,2$ mmHg; $p < 0,05$; 40 min after TNF- α), nor did they result in sympathetic excitation (SHR-SED: $\Delta +30,6 \pm 4,7$ vs. SHR-TFA: $\Delta +14,3 \pm 4,9 \%$; $p < 0,05$; 30 min after TNF- α), as observed in the sedentary group. Additionally, there was a significant difference in these parameters when comparing the training groups to the sedentary groups of animals. Taken together, our findings demonstrate that regularly performed moderate-intensity APT effectively promotes resting bradycardia while also mitigating the increase in SSNA and pressor response induced by acute activation of the neuroinflammatory process in the PVN of SHR.

Keywords: Sympathetic nervous activity; Tumor Necrosis Factor Alpha; Arterial hypertension; Immunomodulation; Neuroinflammation; Autonomic regulation.

1. INTRODUÇÃO

Em circunstâncias nas quais as vicissitudes que acometem a sociedade contemporânea são abordadas por entidades com interesses voltados para a saúde e bem-estar populacional, os males que afetam o sistema cardiovascular destacam-se por possuírem indicadores alarmantes de incidência e mortalidade. Internacionalmente, a World Health Organization, (2021) estima que 32% do número total de óbitos ao redor do globo foram atribuídos às doenças cardiovasculares (DCV), de tal modo que as afecções cardiovasculares, representaram 17,9 milhões de intercorrências que evoluíram para o óbito no ano de 2019 (World Health Organization, 2021). De maneira análoga, o Brasil, quinto maior país do mundo com 8.510.345,540 km² (IBGE, 2021), e dimensões continentais, dispõe de um cenário pouco favorável. Em território brasileiro, as DCV ranqueiam os índices de taxa de mortalidade e hospitalizações, configurando a principal causa de morte no país em 2019, correspondendo a 27% do total de óbitos, segundo a base de dados do Sistema Único de Saúde (SUS) (Barroso et al., 2021; Malta et al., 2017; Oliveira et al., 2022).

A hipertensão arterial (HA), doença crônica não transmissível (DCNT), protagoniza como principal fator de risco modificável para a problemática associada ao desenvolvimento e agravamento das DCV, as quais foram responsáveis por onerosos R\$9.378.278,00 em custos com procedimentos clínicos para o sistema público de saúde no Brasil em 2019 (Carey et al., 2018; Forouzanfar et al., 2017; Oliveira et al., 2022). Além disso, foram registrados gastos de R\$10.524.044,00 em procedimentos cirúrgicos decorrentes de DCV, totalizando assim um montante de R\$19.902.322,00 (Barroso et al., 2021; Oliveira et al., 2022).

A pressão arterial (PA) é determinada pelo produto do débito cardíaco (DC) e da resistência periférica total (RPT). O DC, por sua vez, corresponde ao volume de sangue bombeado pelo coração por minuto e é obtido pelo produto entre o volume sistólico (VS), que corresponde a quantidade de sangue ejetada pelo ventrículo esquerdo a cada contração (sístole) do músculo cardíaco, e a frequência cardíaca (FC) (Gordan et al., 2015). O aumento crônico da PA é um dos principais critérios diagnósticos para HA, o qual é amplamente reconhecido pela comunidade científica (Abboud & Singh, 2017; Coote & Chauhan, 2016). No entanto, a HA é um distúrbio multifatorial do sistema cardiovascular, resultante da interação complexa entre fatores genéticos, epigenéticos, comportamentais e ambientais, assim como inconformidades

em sistemas e órgãos, destacam-se, nomeadamente o sistema nervoso central (SNC), glândulas adrenais e rins (Abboud & Singh, 2017; Carey et al., 2018; Grassi et al., 2015). Indivíduos que apresentam valores de PA iguais ou superiores a 140 mmHg de pressão arterial sistólica (PAS) e 90 mmHg de pressão arterial diastólica (PAD) são considerados como hipertensos, enquanto aqueles com PAS entre 130 e 139 mmHg e PAD entre 85 e 89 mmHg são classificados pré-hipertensos (Barroso et al., 2021; Unger et al., 2020; Vasan et al., 2001). Contudo, a identificação dos fatores responsáveis pelo aumento crônico da PA em humanos continua sendo um desafio árduo, precisamente pelo número elevado de variáveis e mecanismos regulatórios com potencial para apresentar-se em desequilíbrio conjuntamente (Harrison et al., 2011; Marvar et al., 2011).

O princípio de Krogh, nomeado em homenagem ao fisiologista dinamarquês August Krogh, enfatiza a existência de um modelo animal adequado para estudo de diversas problemáticas associadas à fisiologia, o qual pode ser mais conveniente para a realização da investigação experimental (Krogh, 1929). No que se refere à hipertensão essencial em humanos, a linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) desenvolvida e padronizada por Okamoto & Aoki, (1963) ocupa o posto como pedra angular em investigações de inúmeras equipes no âmbito da pesquisa, que direcionam seus esforços ao estudo e ao aperfeiçoamento do entendimento da patogênese própria à HA, tal como a contribuição do SNC para o aumento persistente dos valores pressóricos denotados nesse modelo experimental de hipertensão neurogênica a partir da 6ª semana de vida (Andresen et al., 1980; Okamoto & Aoki, 1963).

É bem estabelecido que a elevação da atividade do sistema nervoso autônomo (SNA), destaca-se como um mecanismo crítico implícito no desenvolvimento do quadro hipertensivo em SHR (Judy et al., 1976; Levick et al., 2010), com ênfase no fluxo do seu componente simpático, regulado hegemonicamente por núcleos neurais elementares e circuitos neurais, *exempli gratia*, o núcleo do trato solitário (NTS), a região rostroventrolateral do bulbo (RVLM) e o núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN) (Dampney et al., 2005; Deng et al., 2019; Guyenet, 2006; Patel, 2000; Young & Davisson, 2015). Nesse contexto, a desproporção autonômica, em que se verifica o aumento do tônus simpático em proporção ao refreamento da atividade parassimpática, assim como diferenças na ativação simpática entre órgãos, seguem no escopo das diligências que buscam obstinadamente averiguar as concatenações

genuínas relativas ao incremento da atividade nervosa simpática (ANS) e o pronunciamento da HA (Coote & Chauhan, 2016; Grassi et al., 2015; Guyenet, 2006).

A hipertensão neurogênica pode ser definida como um aumento persistente da PA, em que a ANS desempenha um papel substancial ou mesmo preponderante como força motriz de seu incremento (Grassi et al., 2015; Harrison et al., 2011; Marvar et al., 2011; Z. Shi et al., 2014), no entanto, os mecanismos que cooperam para a regulação positiva desse fenômeno ainda são mal compreendidos ou encontram-se sob a obscuridade do desconhecimento. Estudos sugerem relações objetivas entre fatores que estão relacionados de forma intermediária à gênese da amplificação do drive autonômico simpático, tais como a ativação da micróglia associada à produção de citocinas pró-inflamatórias (CPI) na região do PVN (Kettenmann et al., 2011; P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010), e a expressão da molécula gasosa de óxido nítrico (NO) (Garthwaite et al., 1988; Patel, 2000), dado que a inibição crônica de sua síntese, bem como a superexpressão induzida, reverbera sob a HA via simpatoexcitação devido ao aumento do estresse oxidativo (Garthwaite, 2019; Kimura et al., 2005; Y.-F. Li & Patel, 2003; McBryde et al., 2018).

À face do até aqui exposto, é apropriado que exploremos com afinco horizontes coesos aos mecanismos centrais que incidem sobre a etiologia da HA. O entendimento de que o encéfalo desempenha atribuição elementar homeostática na regulação da função cardiovascular é bem estabelecido (Fajemiroye et al., 2018; Hilton, 1982; Kabat, 1935; Yardley & Hilton, 1986). Assim sendo, ao adentrarmos metaforicamente as águas oceânicas que compõem o SNC, em um breve período seríamos confrontados pelo arquipélago hipotalâmico, composto por um conjunto de ilhotas que correspondem aos diferentes núcleos essenciais que integram essa região (Saper & Lowell, 2014). Contextualmente, destaca-se o PVN (Blair et al., 1996; Qin et al., 2018). O hipotálamo é reputado como um importante elo de integração entre o sistema nervoso e o sistema endócrino, essa região cumpre incumbência notável ao que se refere à regulação da homeostase energética, equilíbrio de fluidos e eletrólitos, termorregulação, comportamento reprodutivo, ciclos circadianos e respostas a agentes estressores externos (Saper & Lowell, 2014; Toni et al., 2004). Além disso, está associado à regulação das funções cardiovasculares e amplamente reconhecido como mediador central no controle do fluxo autonômico (Abboud & Singh, 2017; Coote & Chauhan, 2016; Gordan et al., 2015; Judy et al., 1976).

Situado no diencéfalo ventral adjacente ao terceiro ventrículo (3V), ordenado bilateralmente com arranjo heterogêneo, o microcosmos PVN materializa-se em neurônios magnocelulares que possuem projeções axonais ao lobo posterior hipofisário, local em que secretam vasopressina e ocitocina, compondo o sistema hipotálamo-neuro-hipofisário associado à regulação de fluidos e liberação do leite materno, respectivamente; e neurônios parvocelulares cujas extensões axonais projetam-se à eminência mediana (EM), constituindo as primícias dos eixos endócrinos hipotálamo-hipófise-tiroide e hipotálamo-hipófise-adrenal, por intermédio da liberação do hormônio liberador de tireotrofina (TRH), e hormônio liberador de corticotrofina (CRH), na vasculatura portal hipofisária (Kalsbeek & Buijs, 2021; Kondo et al., 2021; Qin et al., 2018). O prisma microcósmico incorre sob a perspectiva de que, além de seu papel neuroendócrino, o acervo neuronal autonômico parvocelular do PVN dispõe de neurônios pré-motores simpáticos como constituintes, que projetam-se diretamente ou indiretamente, por intermédio do RVLM, a neurônios pré-ganglionares simpáticos situados na coluna intermédio-lateral da medula espinal (IML), instituindo o PVN como núcleo integrativo e sustentáculo hipotalâmico no que concerne à dinâmica de fluidos corporais e homeostase cardiovascular (Blair et al., 1996; Chen & Toney, 2001; Swanson & Sawchenko, 1980).

O termo “homeostase” é amplamente difundido nas ciências biomédicas e fisiológicas. Sua gênese remonta à compreensão de que a ciência é construída por uma série de eventos sistemáticos que sustentam a edificação do conhecimento. Tal como as esplêndidas asas das aves conferem-lhes o voo e lhes condenam a liberdade, o método científico, fundamentado pela razão e, sobretudo, na experimentação, no qual as hipóteses são submetidas ao crivo da prova, compõe a edificação do conhecimento falível, suscetível a revisões e replicação. Isso capacita o homem, desde tempos imemoriais inquisitivos condenados aos porquês, alçar voos ambicionando a obtenção da maestria, aprimoramento de tecnologias e realização de novas descobertas, destinadas às gerações que se sucederão, desafiando a própria natureza frente à finitude humana perante a infinitude do cosmos.

Para que entendamos as origens do termo homeostase, convido-os a revisitar os fundamentos que alicerçam o segundo princípio da termodinâmica, elucidados pelo eminente físico francês Nicolas Léonard Sadi Carnot (Figura 1A), que versa sobre o ciclo termodinâmico teórico ideal, proposto em sua obra intitulada: “*Reflections on the motive power of heat and on machines fitted to develop that power*” (Carnot et al.,

1890). De maneira concisa, Carnot et al. (1890) exploram a eficiência de uma máquina térmica teórica em relação à conversão de calor em trabalho, almejando alcançar o máximo rendimento de motores termodinâmicos. Por meio de uma sequência de transformações gasosas, uma máquina térmica de rendimento total é equacionada, criando-se assim um ciclo de rendimento ótimo, em que ocorre a contínua conversão de calor em trabalho, condicionada pela realização de ciclos entre fontes quentes e frias (Feidt, 2017). Sinteticamente, a cada ciclo, uma quantidade específica de calor é extraída da fonte quente, considerada energia útil e parcialmente convertida em trabalho, enquanto o restante é dissipado para a fonte fria, sendo denominada energia dissipada (Udriste et al., 2021). Este conceito introduz o ciclo termodinâmico teórico de Carnot, constituindo o cerne da origem da definição de equilíbrio termodinâmico (Carnot et al., 1890).

Através da aplicação perspicaz da essência do equilíbrio termodinâmico no contexto das ciências médicas e fisiológicas, o renomado fisiologista francês Claude Bernard (Figura 1B), descreveu o conceito de “*milieu intérieur*”, ou seja, fixidez do meio interno como condição essencial para a vida (Bernard, 1865; Bernard C, 1878; Gross, 1998). Para então, o termo “homeostase” ser proposto por Walter Bradford Cannon (Figura 1C) (Cannon, 1939; “The Wisdom of the Body,” 1934), um conceito que ecoa até os dias atuais, enfatizando a manutenção das condições estáticas ou constantes do meio interno como um elemento fundamental para a preservação da vida.

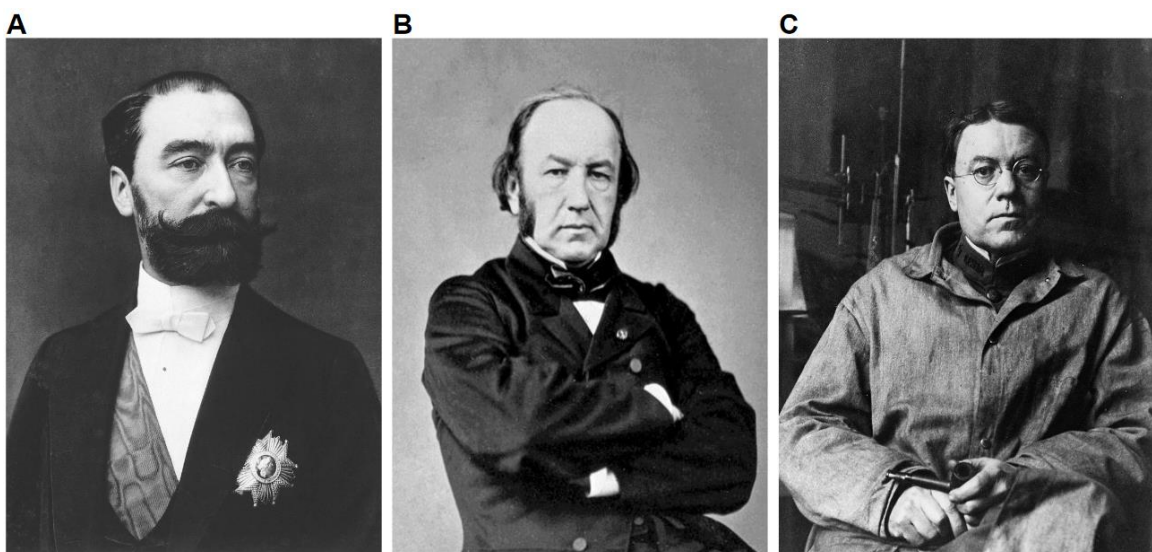


Figura 1. Pioneiros. (A) Nicolas Léonard Sadi Carnot (1796-1832), (B) Claude Bernard (1813-1878) e (C) Walter Bradford Cannon (1871-1945). Adaptada de Wikimedia Commons (Domínio Público).

O renomado endocrinologista Dr. Hans Hugo Bruno Selye (Figura 2) foi o primeiro pesquisador a cunhar o termo “estresse” no contexto da biologia, caracterizando-o como uma resposta não específica do corpo a qualquer demanda, seja ela causada por, ou resultando, em condições favoráveis ou não favoráveis (Selye, 1946). Em seu ensaio sobre a síndrome da adaptação geral (SAG), Selye, (1946) descreveu a fase de alarme ou alerta, que representa a oscilação do meio interno de um organismo e a prontidão do mesmo para responder efetivamente ao agente estressor (Selye, 1946). O estágio de alerta contempla uma resposta vertiginosa, essencialmente deliberada pelo SNA, em particular seu ramo simpático, atuando sobre a estimulação de órgãos-alvo através de neurotransmissores a nível central, além da liberação de adrenalina e noradrenalina por intermédio da estimulação das glândulas adrenais (Selye, 1950).

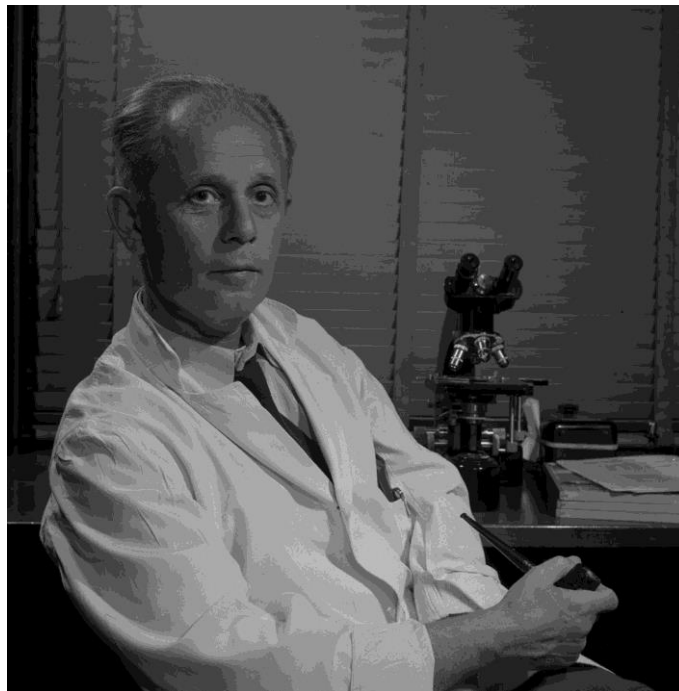


Figura 2. Pesquisador pioneiro no estudo das respostas fisiológicas ao estresse. Dr. Hans Hugo Bruno Selye (1907-1982). Retirada do acervo *Government of Canada - Library and Archives* (Domínio Público).

Nessa perspectiva, é bem convencional no campo da neurofisiologia o potencial deletério engajado pela neuroinflamação, mesmo figurando em níveis baixos, sobre os mecanismos cerebrais que orquestram à gênese da HA (Abboud et al., 2012; Harrison et al., 2011; Marvar et al., 2011; Wu et al., 2012). Embora a inflamação no SNC seja uma resposta imune inata, estudos sugerem que, tão intensamente quanto as CPI circulantes, o aumento da expressão de citocinas em núcleos cerebrais, modula positivamente a ativação do fluxo simpático, corroborando

o desenvolvimento e agravamento do processo hipertensivo, oportunizando um cenário favorável a lesão de órgãos alvo, tais como o coração, rins e vasculatura (Harrison et al., 2011; Mourão et al., 2021; Shabab et al., 2017; P. Shi, Raizada, et al., 2010). Ademais, estudos identificaram que inconformidades inatas relativas ao contexto autonômico-imune estão associadas à gênese da hipertensão neurogênica (Harrison et al., 2011; Levick et al., 2010; Waki et al., 2008).

O sistema imunológico *sui generis* ao encéfalo humano é composto por células de origem mesodérmica que transladam para o tecido nervoso durante os estágios exordiais do desenvolvimento, recebendo a alcunha de micróglia e preservando-se na região (Cronk & Kipnis, 2013; Kettenmann et al., 2011). A imunomodulação microglial classifica-se fundamentalmente quanto à sua morfologia e função, decompondo-se atualmente em três categorias possíveis: M0, M1 e M2. A classificação M0 é retratada como a micróglia em estado de “repouso”, relativa ao monitoramento de possíveis agentes patógenos e mudanças de circunstâncias no cenário associado a concentração extracelular de neuroquímicos (Kettenmann et al., 2011; Kreutzberg, 1996).

Na conformidade dos elementos constituintes do sistema imunológico, a modulação imunológica a nível cerebral é mediada por citocinas, as quais, por sua vez, promovem sinalizações autócrinas, parácrinas e endócrinas. Assim, a classificação M1 é congruente ao provisionamento de CPI, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1- β (IL-1 β), que estão associadas à resposta imunológica aguda, bem como quimiocinas e espécies reativas de oxigênio (EROs) (Abboud & Singh, 2017; Agarwal et al., 2011; P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010; P. Shi, Raizada, et al., 2010). Por outro viés, a classificação M2 é caracterizada pela promoção da reparação tecidual, eliminação de resíduos e manutenção da homeostase encefálica em geral. Este subtipo de micróglia também é associado à presença de citocinas anti-inflamatórias (CAI), como a interleucina 4 (IL-4) e a interleucina 13 (IL-13) (Kettenmann et al., 2011). É importante ressaltar que a ativação da micróglia e a subsequente liberação de CPI, com destaque para o TNF- α , são eventos precoces relacionados ao processo neuroinflamatório. Evidências experimentais indicam que a ativação da micróglia no PVN está diretamente associada aos níveis elevados de CPI em fenótipos hipertensos (Shabab et al., 2017; P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010; Z. Shi et al., 2014).

Em virtude do protagonismo das CPI no incremento da inflamação do tecido nervoso e no tônus simpático, ambos versados como coeficientes para o aumento da incidência e manutenção da HA, é fundamental que pormenorizemos o já aludido TNF- α . Descritas como um grupo de proteínas de baixo peso molecular, as citocinas desempenham um papel crucial na comunicação intercelular e estão intimamente associadas ao processo inflamatório (Becher et al., 2017; J.-M. Zhang & An, 2007). O TNF- α , isolado por Aggarwal et al. (1984 e 1985), integra a superfamília do fator de necrose tumoral (TNF), com todos os constituintes desta referida superfamília destacando-se por desempenharem ações eminentemente pró-inflamatórias (Aggarwal et al., 1984, 1985; Idriss & Naismith, 2000; MacEwan, 2002). Sintetizado e secretado por macrófagos ativados, linfócitos T, monócitos e células natural Killers (NK), o TNF é inicialmente expresso como uma proteína transmembrana de 26 kilodaltons (kDa), passível de clivagem proteolítica em sua forma extracelular solúvel (17 kDa), por intermédio da enzima conversora de TNF- α (TACE) (Aggarwal et al., 2012; MacEwan, 2002). Em condições fisiológicas, essa citocina multifuncional desencadeia uma série de eventos celulares e efeitos biológicos, incluindo a modulação das respostas imunes inatas e adaptativas, regulação da apoptose de células tumorais e indução da diferenciação e ativação de células imunes, a regulação da angiogênese, o estímulo à produção de outras citocinas e moléculas de adesão celular, bem como a promoção da homeostase de tecidos normais (Kallioliás & Ivashkiv, 2016).

No que diz respeito ao SNC, é fundamental ressaltar que o TNF- α é predominantemente sintetizado por astrócitos e células da micróglia. Após sua liberação, liga-se a dois diferentes receptores proteicos de TNF- α : o receptor de membrana de 55 kDa, conhecido como TNFR1, e o receptor de membrana de 75 kDa, denominado TNFR2. Ambos pertencem à superfamília de receptores de TNF, que engloba, além dos já mencionados, outros receptores, tais como FAS, CD40, CD27 e RANK (Aggarwal et al., 2012; Idriss & Naismith, 2000; MacEwan, 2002). Indubitavelmente, a alegoria em evidência intrínseca ao TNF- α está relacionada à regulação das células imunológicas. No entanto, a ligação deste com a série de receptores distribuídos em diferentes áreas, incluindo o tronco encefálico, córtex, cerebelo, tálamo e gânglios da base, exerce influência sobre múltiplas vias de sinalização (Kallioliás & Ivashkiv, 2016; MacEwan, 2002).

Através de um contexto ligante-receptor, é relevante enfatizar a ativação do Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B), o qual desempenha um papel crucial no controle da expressão de diversos fatores associados à resposta inflamatória. Entre esses fatores, destacam-se as citocinas IL-6, interleucina 8 (IL-8), interleucina 18 (IL-18), quimiocinas, óxido nítrico-sintase induzida (iNOS), ciclooxigenase-2 (COX-2) e 5-lipoxigenase (5-LOX). Adicionalmente, há o recrutamento das proteínas domínio de morte associado ao receptor TNFR1 (TRADD) e domínio de morte associado ao CD95 FAS (FADD), o que ativa sequencialmente a caspase-8 e caspase-3, resultando no processo apoptótico. Também é observada a ativação mitocondrial e a liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e citocromo C (Cyt-C), que ativam sequencialmente a caspase-9 e caspase-3, levando à apoptose. Além disso, o TNF- α induz sua própria expressão ao ativar o NF- κ B (Hsu et al., 1995; Idriss & Naismith, 2000; Morgan & Liu, 2010; Natoli et al., 1997).

Em condições fisiológicas, o TNF- α é expresso em baixas concentrações na circulação; no entanto, sua síntese e secreção aumentam em cenários associados à inflamação (Aggarwal et al., 2012). No que se refere ao cérebro, o incremento nos níveis dessa CPI é consistentemente observado em resposta a condições do SNC, tais como choques mecânicos, isquemias e distúrbios neurodegenerativos, como a doença de Alzheimer e a esclerose múltipla (A. Frankola et al., 2011; Aggarwal et al., 2012; Clay Goodman et al., 1990; Liu et al., 1994). Nos últimos anos, evidências experimentais têm fortalecido a hipótese de que o aumento do fluxo simpático associado à HA recebe influência e pode ser modulado pelo aumento da expressão de TNF- α . Curiosamente, diversos modelos experimentais de hipertensão, tais como ratos sensíveis ao sódio padronizado por Dahl, hipertensão induzida por sal-DOCA, hipertensão induzida por angiotensina II (ANG II) e hipertensão nos modelos deficientes de NO, compartilham níveis elevados de TNF- α (Elmarakby et al., 2008; B. Huang et al., 2016; Shahid et al., 2010; J. Zhang et al., 2014).

Autores demonstraram que, assim como os mecanismos intrínsecos relativos ao incremento das CPI, a administração central de TNF- α induz desarranjos autonômicos e hemodinâmicos agudos (Bardgett et al., 2014; Mourão et al., 2021). Em experimentos recentes, constatou-se que nanoinjeções intranucleares de TNF- α são capazes de aumentar significativamente a expressão gênica de mediadores excitatórios no PVN de ratos anestesiados, em conjunto com um aumento da ANS (Wei et al., 2021). Há também correlações diretas entre as sinalizações mediadas pelo

TNF- α e danos endoteliais à vasculatura, juntamente com um aumento significativo do estresse oxidativo (Ma et al., 2016; Wu et al., 2012).

O estresse oxidativo deriva-se do desequilíbrio entre a formação de EROs e estratégias fisiológicas de anteparo antioxidante, geralmente por intermédio da sobrecarga (Becker, 2004; de Champlain et al., 2004; Nishihara, Hirooka, Kishi, et al., 2012; Nishihara, Hirooka, Matsukawa, et al., 2012). O complexo enzimático NADPH oxidase (NOX) é composto por múltiplas subunidades, servindo-se de duas subunidades de membrana, p22phox e Nox2, bem como quatro subunidades citoplasmáticas, p40phox, p47phox, p67phox e Rac1 (Ogboo et al., 2022; Shatwell & Segal, 1996). Essa enzima multimolecular está extensivamente associada à produção de EROs (Bedard & Krause, 2007). Estudos indicam que o aumento do estresse oxidativo devido à ativação da NOX impulsiona o aumento da ANS em SHR (de Champlain et al., 2004; Grassi et al., 2015; Kishi et al., 2004; Nishihara, Hirooka, Matsukawa, et al., 2012; Wu et al., 2012).

Embora existam evidências correlacionando fatores correspondentes à gênese da HA com agentes pró-oxidativos, a definição pontual de como esses mecanismos estão relacionados mantém-se sob investigação. Estudos sugerem que a ativação da NOX mediada por citocinas, como o já mencionado TNF- α , desempenha um papel considerável em disfunções cardiovasculares (Griendling et al., 2000; Kang et al., 2009; Y.-F. Li & Patel, 2003). Em um estudo realizado por Guggilam et al. (2007), foi demonstrado que o incremento de TNF- α no PVN contribui para o aumento na expressão das subunidades Nox1, Nox2 e Nox4 da NOX. A subunidade Nox1 foi predominante em neurônios magnocelulares, enquanto houve um acréscimo nas subunidades Nox2 e Nox4 em ambas as regiões, parvocelular e magnocelular, o que contribuiu para um aumento na produção de EROs no núcleo hipotalâmico (Guggilam et al., 2007). Ademais, os autores observaram que a administração de Pentoxifilina (PTX), que é resumidamente um inibidor da síntese de CPI, reduziu a expressão das subunidades da NOX no PVN (Guggilam et al., 2007). Achados como esse sugerem que intervenções anti-inflamatórias e antioxidantes podem implicar a redução das subunidades de NOX na região do PVN, bem como contribuir para a diminuição do estresse oxidativo e atenuação consecutiva da simpatoexcitação induzida por coeficientes pró-inflamatórios.

Assim como ocorre no núcleo hipotalâmico, o aumento das EROs na região do RVLM implica repercussões desfavoráveis ao sistema cardiovascular, principalmente

devido à gradação tônica simpática (Nishihara, Hirooka, Kishi, et al., 2012; Wu et al., 2012). Os Receptores AT1 são proteínas componentes da membrana celular e fazem parte do grupo de receptores acoplados à proteína G. Ao se ligarem quimicamente à ANG II, podem fomentar uma série de eventos celulares. Por intermédio desses receptores, o aumento dos níveis de ANG II em regiões cerebrais pode contribuir para disfunções autonômicas intimamente relacionadas à hiperatividade simpática, bem como viabilizar a vasoconstrição periférica mediada por coeficientes pró-inflamatórios e oxidativos (Wang et al., 2017; H. Xia et al., 2009).

Autores identificaram que o incremento na produção de superóxido pode estar associado a interação entre a ANG II circulante e receptores AT1 localizados na região circumventricular, mais especificamente no órgão subfornical (SFO). Assim como ocorre com as EROs, a formação de superóxido no PVN e RVLM induz o aumento do fluxo autonômico simpático em SHR (Kishi et al., 2004; Peterson et al., 2006). Curiosamente, em experimentos realizados por Sriramula et al. (2011), a superexpressão induzida da enzima conversora da angiotensina 2 (ECA2), foi eficaz na redução da expressão de CPI no PVN em modelos de hipertensão mediados pela ANG II, acompanhada pela redução substancial de valores pressóricos (Sriramula et al., 2011). À face do até aqui exposto, faz-se permissivo inferir associações objetivas no que diz respeito ao incremento das CPI, neuroinflamação e estresse oxidativo a nível do SNC, robustecendo implicações autonômicas e cardiovasculares que convergem direta ou indiretamente nos mecanismos cerebrais partícipes na HA. Essa é uma área auspiciosa e prolífica no campo da neurofisiologia, embora ainda demande tempo e perseverança, para determinar implicações clínicas, especialmente os aspectos terapêuticos.

As benesses germinadas por intermédio do treinamento físico (TF), são amplamente difundidas na contemporaneidade, seja por seu potencial preventivo ou terapêutico (Barroso et al., 2021; Hong et al., 2022; Lopes et al., 2016; Raquel et al., 2022; Silva et al., 2019; Unger et al., 2020; W.-J. Xia et al., 2021). Renomado como ferramenta de intervenção terapêutica não farmacológica suplementar às vicissitudes que entremeiam a HA, o TF distingue-se pela irrefutabilidade de sua eficácia na mitigação de fatores de risco cardiovascular (C.-Y. Huang et al., 2012; Lin et al., 2020; Unger et al., 2020). O TFA, quando realizado em intensidade moderada, tem sido veementemente recomendado como terapêutica para redução dos valores da PA, em conformidade com as diretrizes para prevenção, detecção, avaliação e tratamento da

HA. Essas diretrizes são deferidas por organizações como o *American College of Cardiology* (ACC), *American Heart Association* (AHA) e a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), que por seu turno, equivalem evidências científicas em diretrizes, para fornecer orientações técnicas para a prática clínica no que diz respeito à saúde do sistema cardiovascular (Whelton et al., 2018).

Sob uma perspectiva neurofisiológica de vanguarda, evidências anteriores já delinearam o êxito do TFA no contexto da HA, associando-o à redução de componentes pró-inflamatórios, inibição da produção de superóxido e atenuação do estresse oxidativo no PVN em SHR (Agarwal et al., 2011, 2012; Jia et al., 2014; Masson et al., 2014). Entretanto, até o presente momento, os efeitos específicos do TFA sobre as respostas cardiovasculares e autonômicas desencadeadas pela ativação do processo neuroinflamatório no PVN ainda não haviam sido minuciosamente determinados. Considerando essa área ainda não explorada, a presente investigação se propôs a elucidar os impactos do TFA regular, em intensidade moderada, na modulação de parâmetros cardiovasculares e autonômicos, mediados pela administração intranuclear de TNF- α no PVN de ratos SHR.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar as respostas cardiovasculares e autonômicas induzidas pela administração intranuclear de TNF- α no PVN de SHR submetidos a um protocolo regular de TFA em intensidade moderada.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar as respostas da PAS e FC de SHR não anestesiados, antes, durante e após o protocolo de TFA de intensidade moderada em esteira rolante;

Estabelecer as respostas da PAM, FC e atividade nervosa simpática esplâncnica (ANSE) induzidas pela administração de TNF- α no PVN de SHR anestesiados, após o protocolo de TFA de intensidade moderada em esteira rolante.

3. METODOLOGIA

3.1. Modelo Experimental

Os experimentos foram realizados em machos da linhagem SHR com idades entre 8 e 12 semanas e peso variando de 250g a 350g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG). Os animais foram divididos em dois grupos: o grupo Treinados (SHR-TFA) e o grupo Sedentários (SHR-SED). Esses animais foram mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas e do Departamento de Farmacologia (DCIF/DFar), localizado no Instituto de Ciências Biológicas II da UFG. As condições do biotério seguem um ciclo de luz-escurecimento de 12/12 horas (das 07:00h às 19:00h) e a temperatura ambiente é mantida constante entre 22°C e 24°C, com um sistema de ventilação e exaustão. Os animais foram alocados em estantes ventiladas, dentro de caixas apropriadas (41x34x16cm) com grades de metal, em grupos de cinco animais por caixa. Os animais tiveram acesso irrestrito à água e ração, cumprindo todas as normas de manejo e cuidado animal. Os procedimentos experimentais foram desenvolvidos de acordo com as diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFG (Protocolo número **030/22**).

3.2. Adaptação ao treinamento físico em esteira rolante

Previamente ao início do protocolo de TFA em esteira rolante ou inatividade física bem como, divisão dos animais em seus respectivos grupos, todos os SHR foram submetidos a adaptação ao treinamento em esteira rolante (Figura 4). Nas duas semanas que antecederam o início do protocolo de treinamento aeróbico propriamente dito, os animais foram expostos à atividade física de baixa intensidade e curta duração, com velocidades entre 5 e 10 m/min, durante 10 minutos, 5 dias por semana (Ceroni et al., 2009; Lopes et al., 2016; Masson et al., 2014). Em um primeiro momento, após os primeiros 5 dias, que corresponderam a primeira semana, animais que não demonstraram aptidão ao treinamento proposto foram designados para os grupos de animais que permaneceram em atividade física típica da espécie, ou seja, o grupo SHR-SED. Além de introduzir a corrida em esteira para os animais, o período de adaptação ao treinamento em esteira rolante permitiu a randomização e divisão aleatória dos animais entre os grupos experimentais. Dessa forma, ratos predominantemente ativos foram distribuídos equitativamente entre os grupos SHR-TFA e SHR-SED, garantindo uma alocação balanceada.

3.3. Classificação da aptidão física e velocidade aeróbica máxima

Com o objetivo de mensurar as capacidades físicas dos animais em relação ao treinamento em esteira rolante, foram realizados incrementos progressivos de carga, com ênfase na relação entre a resistência manifestada pelos animais em função do tempo (Figura 3). Os testes incrementais foram conduzidos em três momentos decisivos: imediatamente após a seleção e encaminhamento dos animais para os grupos de treinamento, ou seja, antes do início do protocolo, com o propósito de avaliar as capacidades iniciais dos animais. O segundo momento ocorreu 4 semanas após a exposição dos animais ao TFA, com o objetivo de identificar possíveis ganhos de condicionamento e proporcionar aos animais um aumento progressivo da carga, focando na carga de treino adequada para gerar sobrecarga. O terceiro momento foi após 8 semanas consecutivas de treinamento.

O teste progressivo de carga consistiu em estágios com 3 minutos de duração, com carga inicial estabelecida em $5 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, e foi adaptado para a esteira motorizada digital para ratos (Bonther, Brasil). Ao final do 3º minuto de cada estágio, os animais receberam um incremento de carga de $5 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ à velocidade total da esteira rolante. O incremento foi aplicado progressivamente até a exaustão do animal, que foi determinada com base em fatores observacionais. Isso ocorreu quando o animal interrompeu a corrida por mais de 10 segundos em um dos estágios de 3 minutos ou demonstrou sinais de desgaste físico, aproximando-se do ponto final da área de treinamento após não conseguir passar pela metade anterior do percurso no mesmo estágio (Ceroni et al., 2009; Lopes et al., 2016).

A VAM de cada animal foi obtida por intermédio do teste progressivo de incremento de carga. A velocidade de treinamento determinada para cada período do protocolo correspondeu a 50% e 60% da VAM média obtida pelos grupos de animais submetidos ao protocolo de TFA. Ao determinar a VAM média, os grupos de treinamento foram subdivididos, permitindo que apenas animais com desempenho semelhante em relação às capacidades aeróbicas executassem o treinamento em esteira em conjunto. Dessa forma, limitamos a possibilidade de sobrecarga devido ao treinamento com velocidades acima dos valores suportáveis. A VAM é expressa pela seguinte equação:

$$\text{Velocidade aeróbica máxima (VAM)} = \frac{\text{Tempo de duração total do teste} \times \text{Carga incrementada (m/min)}}{\text{Tempo de duração de cada estágio}}$$

Figura 3. Representação da equação utilizada para quantificar a velocidade aeróbica máxima (VAM, m/min) nos grupos de SHR-TFA.

3.4. Pletismografia de cauda

A pletismografia de cauda (PC) foi utilizada como método não invasivo para monitorar a PAS e FC dos animais de ambos os grupos (Hellström, 1975; Kubota et al., 2006). Com a intenção de facilitar a adesão ao protocolo por parte dos animais, bem como reduzir a interferência do estresse de contenção e manipulação nos parâmetros monitorados, nas 2 semanas que antecederam o início dos registros, os animais foram submetidos à aclimatação. Ademais, a PC foi realizada ao longo das 8 semanas em que os grupos de treinamento e inatividade física foram submetidos aos seus respectivos protocolos de tratamento.

Inicialmente, os animais hipertensos foram colocados em uma caixa de madeira para aquecimento, com o objetivo de facilitar a dilatação da artéria caudal. Posteriormente, foram colocados em um suporte de madeira, permitindo que apenas a cauda do animal ficasse exposta, a fim de evitar movimentos bruscos que pudessem afetar negativamente o registro da pressão arterial pulsátil (PAP). Em seguida, um cilindro de metal revestido por látex com uma extremidade para entrada de ar (manguito) foi posicionado na porção proximal da cauda.

Ainda na porção proximal da cauda, um transdutor de pulso MP100 (ADInstruments, Brasil) possibilitou a captação dos sinais mecânicos correspondentes à pulsação da artéria. Ao inflar o manguito, os sinais da pressão de pulso (PP) foram suprimidos, permitindo a definição da PAS como o primeiro pulso após a desinflação (com uma velocidade de $10 \text{ mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$, após 3 segundos de obstrução completa) do manguito. Este manguito possui uma conexão comum com a pêra de insuflação, um transdutor de pressão arterial MLT 0380/D (ADInstruments, Austrália) e uma torre de mercúrio. Para obter a FC, calculamos a média dos intervalos de 10 segundos entre os ciclos de obstrução e desobstrução do fluxo sanguíneo na artéria caudal.

Os sinais mecânicos gerados foram identificados pelos seus respectivos transdutores, conectados a um amplificador de sinais ETH-200 (CB Sciences, E.U.A.), juntamente com um conversor analógico/digital PowerLab 400 (ADInstruments,

Austrália), que foram conectados diretamente a um computador. O LabChart 7.0 (ADInstruments, Austrália), foi o software adotado para obtenção e análise dos registros. A PAS e FC diárias de cada animal foram consideradas como a média aritmética de pelo menos 3 desses registros de variáveis ao longo de cada semana, do início ao fim do acompanhamento realizado durante o período de realização dos protocolos de tratamento com os grupos de SHR-TFA e SHR-SED.

3.5. Treinamento físico em esteira rolante

Fundamental para alcançar os objetivos propostos neste estudo, o tratamento crônico através do protocolo de TFA em esteira rolante foi adaptado de acordo com (Masson et al., 2014). Após definido os grupos de SHR-TFA, na sequência do início do monitoramento e registro da PAS e FC pelo método não invasivo de PC, os animais hipertensos foram então submetidos ao treinamento aeróbico em esteira rolante, realizado sistematicamente nas 3 primeiras horas do período escuro, com a intenção de preservar o ciclo claro/escuro fisiológico dos animais.

A princípio, os grupos de treinamento foram estimulados durante o período de aquecimento, programado para 5 minutos com velocidade de treinamento instituída em 25% da VAM, com incremento de carga incorrendo de minuto a minuto até contemplar a velocidade final. Em relação ao tempo de treinamento na primeira semana do protocolo, foram estabelecidos ajustes graduais variando entre 30 e 60 minutos. Ao final da etapa de treinamento, os animais encerravam as sessões com 5 minutos de recuperação ativa, ajustados pela redução minuto a minuto da carga, até a parada da esteira rolante. Durante 2 semanas, a velocidade de treinamento foi estabelecida em 50% da máxima e, posteriormente (nas duas semanas seguintes), aumentou para 60%. Após 4 semanas, os animais foram submetidos a um novo teste progressivo de carga para avaliar o condicionamento físico e determinar uma nova VAM para os grupos de treinamento. Em seguida, uma nova velocidade de treinamento foi estipulada em 50% da VAM identificada durante o teste.

A intervenção continuou ininterruptamente por mais 4 semanas, totalizando um período de 8 semanas durante o qual os animais foram submetidos ao treinamento aeróbico em esteira rolante cinco vezes por semana, com uma duração total de 60 minutos e uma intensidade estabelecida entre 50% e 60% da VAM preestabelecida durante os testes incrementais de carga (Masson et al., 2014). Durante todo o período do protocolo de treinamento, os animais que não foram incluídos no treinamento

aeróbico (grupo SHR-SED) permaneceram na sala onde a esteira rolante motorizada estava instalada. Isso foi feito com o propósito de expor esses animais aos mesmos estímulos vibracionais e ruídos provenientes do motor da esteira, com a intenção de reduzir, ao menos parcialmente, a influência e a disparidade de fatores estressores sobre os parâmetros registrados em ambos os grupos, SHR-TFA e SHR-SED.

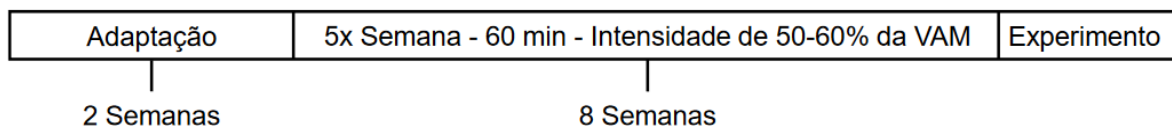


Figura 4. Representação cronológica do período despendido para adaptação e protocolo de treinamento físico aeróbico (TFA), dos grupos de SHR-TFA, até a realização dos experimentos anestesiados para registro de parâmetros cardiovasculares e autonômicos.

3.6. Procedimentos cirúrgicos gerais

Após a conclusão de 8 semanas de TFA, ambos os grupos de animais (SHR-TFA e SHR-SED) foram submetidos à indução anestésica com Isoflurano (2%, Isoforine, Cristália, Brasil) em O₂ a 100% e, em seguida, foram cirurgicamente instrumentados para a implantação de cateteres de polietileno (PE) PE-10 combinado com PE-50 na artéria e veia femoral direita. A cateterização dos vasos foi realizada com o propósito de possibilitar a administração de drogas (cateter venoso), tal como permitir o registro da PA (cateter arterial). A introdução dos cateteres foi realizada através da incisão cirúrgica na região inguinal direita, em direção ao feixe vásculo-venoso. A região menos calibrosa dos cateteres (PE-10) foi introduzida na luz da veia e artéria femoral. Os sinais mecânicos produzidos a partir da PAP da cânula arterial, foram captados por um transdutor de pressão arterial MLT0699 (ADInstruments, Austrália), conectado ao amplificador de sinais ETH-200 (CB Sciences, EUA).

Na sequência, a anestesia foi mantida pela infusão de uretano (400 mg · kg⁻¹, i.v, Sigma-Aldrich, EUA), associado à α -cloralose (40 mg · kg⁻¹, i.v, Sigma-Aldrich, EUA). Os animais foram traqueostomizados com a intenção de reduzir o esforço respiratório. Além disso, eletrodos foram inseridos nos membros anteriores para o registro dos sinais analógicos do eletrocardiograma. Esses sinais foram amplificados em 1.000 vezes e filtrados entre 100 e 1.000 Hz (ECG100C; ADInstruments, Austrália). A temperatura corporal dos animais foi mantida entre 36°C e 37°C por meio de uma mesa térmica (TP700, Stryker, EUA). A amplificação dos sinais obtidos foi realizada por um bioamplificador para PowerLab de acoplamento AC, 60 Hz e filtro passa-baixa para ECG de 150 Hz. Ambos os amplificadores estavam conectados a

um conversor analógico/digital PowerLab 400 (ADInstruments, Austrália), ligados a um computador. O software LabChart 7.0 (ADInstruments, Austrália), foi utilizado para aquisição dos registros dos sinais da PAP e ECG em tempo real na forma de gráficos. Simultaneamente, obtivemos a FC a partir do intervalo R-R do ECG e PAM a partir da PAP.

Após o posicionamento dos acessos e eletrodos primários, os animais foram acoplados em decúbito ventral a um aparelho estereotáxico (David Kopf Inst., EUA) e, em seguida, foram fixados. Foi realizada uma craniectomia para criar um ambiente adequado para a realização das nanoinjeções intranucleares. Em seguida, uma incisão retroperitoneal foi realizada para permitir a identificação do nervo esplâncnico torácico, que, após ser isolado das demais estruturas, foi cuidadosamente posicionado sobre um par de eletrodos bipolar com constituição em prata, apropriadamente acoplado a um micromanipulador, o qual, por sua vez, foi conectado ao computador para permitir a aquisição e registro da ANSE através do software LabChart 7.0 (ADInstruments, Austrália).

3.7. Nanoinjeções intranucleares

Por meio da cirurgia estereotáxica, utilizamos um sistema padronizado de coordenadas tridimensionais com subsídio intelectual obtido através do Atlas de Paxinos & Watson (Paxinos, G. & Watson, 1998), para realização das nanoinjeções unilaterais empreendidas a nível do PVN. Subsequentemente ao aparelhamento dos animais no estereotáxico (David Kopf Inst., EUA), incisões cirúrgicas foram realizadas na região da cabeça, com o objetivo de remover os tecidos moles que cobriam os ossos frontal, parietais e occipital. Com a assistência de um microscópio, identificamos o bregma (ponto de referência anatômico onde se encontram as suturas sagital e coronal) e o utilizamos como referência para posicionar a micropipeta feita de capilares de vidro (Standard glass capillaries, World Precision Instruments, Canadá) e registrar suas coordenadas. Posteriormente, utilizamos uma broca cirúrgica (Beltech Ind. e Com. Ltda, Brasil) para extrair os ossos frontal e parietais, criando um ambiente adequado para realizar as nanoinjeções intranucleares no PVN. Após a craniectomia, o seio sagital e as coordenadas do bregma foram utilizados como referências anatômicas para identificar as coordenadas do núcleo alvo.

Dotado das coordenadas compatíveis com o PVN, os grupos de SHR-TFA e SHR-SED foram submetidos a nanoinjeções unilaterais de TNF- α (0,6 pmol em 50 nL;

em solução de salina tamponada com fosfato; PBS 0,01 M), as quais foram realizadas 10 minutos após as nanoinjeções do veículo (PBS, pH 7,35). A efetuação das nanoinjeções intranucleares foi realizada por meio de um sistema de pressão manual acoplado às micropipetas de vidro. O controle do volume injetado foi realizado com base na observação do deslocamento meniscal da solução na micropipeta, através do microscópio cirúrgico, com o auxílio de uma lente ocular com retículo calibrado. Ao final do experimento, foram injetados 50 nL do corante azul de Evans (4%; Sigma-Aldrich, EUA) no mesmo local onde as nanoinjeções intranucleares foram realizadas, para fins de confirmação histológica.

Tabela 1. Coordenadas utilizadas para o empreendimento das nanoinjeções intranucleares.

Coordenadas	PVN
Ântero-posterior	(0,9 mm) Caudal ao bregma
Latero-medial	(0,6 mm) Lateral ao bregma
Dorso-ventral	(8,1 mm) Ventral ao seio venoso sagital
Linha Interauricular	(3,5 mm) Abaixo da linha Interauricular

Notas: Coordenadas utilizadas para mapear as regiões cujo as nanoinjeções intranucleares foram empreendidas deram-se pela padronização prévia do protocolo por intermédio do Atlas Paxinos & Watson, (1998). As coordenadas foram medidas em relação ao Bregma e expressas em milímetros nos planos descritos na tabela. Linha Interauricular (LIA) é uma referência anatômica definida como uma linha imaginária que liga os dois pontos mais altos dos pavilhões auriculares. Ela é usada como uma referência para orientação espacial em estudos neuroanatômicos e neurofisiológicos. No caso específico do núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN) em ratos SHR, a LIA pode ser usada como uma referência para determinar a localização da estrutura em relação a outras estruturas cerebrais.

3.8. Aquisição e registro da atividade nervosa simpática esplâncnica

Após realizar a incisão retroperitoneal nos animais hipertensos já fixados no estereotáxico, o nervo esplâncnico foi identificado com a assistência de um microscópio cirúrgico para obter e registrar a ANSE. O nervo foi meticulosamente dissecado e isolado das demais estruturas, sendo posicionado sobre um par de eletrodos bipolares com composição em prata, interligados a um micromanipulador e conectados ao computador para adquirir e registrar os sinais da ANSE. Durante todo

o período do experimento, o nervo esplâncnico permaneceu suspenso sobre o eletrodo de prata. Além disso, óleo mineral (Nujol – Schering-Plough, Brasil, $\pm 37,5^{\circ}\text{C}$) foi aplicado ao campo cirúrgico com o intuito de evitar o ressecamento do tecido e reduzir a captação de ruídos e interferências externas.

Os sinais foram amplificados em 20.000 vezes, filtrados entre 30 e 1.000 Hz (P511 AC amplifier; Grass Technologies, EUA) e digitalizados a uma frequência de 2.000 amostras por segundo por meio do conversor analógico/digital (PowerLab System; ADInstruments, Austrália). Para quantificar o ruído proveniente da captação do sinal adquirido, após quantificar a ANSE por meio da integração do valor absoluto em intervalos de 1 segundo, os animais receberam o bloqueador ganglionar Hexametônio via cateter venoso ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, i.v, Sigma-Aldrich, EUA). A média da integral da ANS retificada ($\int \text{ANS}_r$) em cada intervalo analisado, foi calculada pela média da integral do ruído final ($\int \text{ruído}$), subtraída da média da integral do sinal inicialmente adquirido ($\int \text{ANS}_{\text{inicial}}$; Tabela 2). As variações da integral da atividade nervosa simpática ($\% \int \text{ANS}$) foram calculadas como a razão percentual em relação ao valor basal (Tabela 2). As fórmulas aplicadas estão apresentadas na tabela a seguir:

Tabela 2. Fórmulas utilizadas para o cálculo da integral da atividade nervosa simpática retificada ($\int \text{ANS}_r$) e variação da $\int \text{ANS}$ ($\% \int \text{ANS}$).

$\int \text{ANS}$	FÓRMULAS
$\int \text{ANS}$ retificada (ANS_r)	$\int \text{ANS}_r = \int \text{ANS}_{\text{inicial}} - \int \text{Ruído}$
Variação $\int \text{ANS}$ ($\% \int \text{ANS}$)	$\% \int \text{ANS} = \left[\frac{\int \text{ANS}_r - \int \text{ANS}_{\text{basalretificada}}}{\int \text{ANS}_{\text{basalretificada}}} \right] \times 100$

3.9. Extração, acondicionamento e processamento do tecido cerebral

Imediatamente após a conclusão dos experimentos, os animais dos grupos SHR-TFA e SHR-SED foram submetidos à perfusão com soro fisiológico (NaCl 0,9%, 200 mL, LabSynth, Brasil), seguida de formaldeído (10%, 200 mL, LabSynth, Brasil). Um cateter de PE, acoplado a uma bomba de perfusão, foi inserido no ventrículo esquerdo para permitir a perfusão transcardíaca. Em seguida, os encéfalos foram removidos e fixados em solução de formaldeído a 10%. Posteriormente, foram

acondicionados em solução de sacarose 30% por 48 horas. Após a conclusão do período de fixação e acondicionamento, os cérebros foram seccionados em cortes coronais de 40 micrômetros (μm) com o auxílio de um criostato (CM1860UV, Leica, Alemanha).

3.10. Coloração por vermelho neutro

Com propósito em determinar os sítios das nanoinjeções intranucleares, após o processamento dos cortes histológicos na extensão hipotalâmica, a coloração com vermelho neutro foi utilizada para realçar a marcação do PVN com o corante Azul de Evans (4%; Sigma-Aldrich, EUA). Na sequência da preparação das lâminas, os cortes foram imersos em vermelho neutro ($\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClN}_4$, 1%, 5 minutos de imersão, Neon, Brasil). Em seguida, foram imersos em água destilada e desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, 70%, 95%, 100%, 3 minutos de imersão cada; Neon, Brasil). Os cortes foram ainda imersos em xilol (C_8H_{10} , 2 vezes de 5 minutos de imersão; Neon, Brasil), para atenuação do álcool presente e clarificação. Para selar as lâminas, foram aplicadas lamínulas com auxílio de DPX (DPX Mountant for histology; Sigma-Aldrich, EUA), e, ao final do procedimento, as lâminas foram deixadas em temperatura ambiente para secagem.

O microscópio óptico (Leica DM500, Leica Microsystems, Alemanha), acoplado ao sistema digital de aquisição de imagens (Leica Application Suite, V.3.10, Leica Microsystems, Alemanha), foi utilizado para a realização das fotomicrografias. Foram selecionados e analisados estritamente os experimentos em que as nanoinjeções foram restritas ao PVN.

3.11. Análise estatística

Os dados obtidos foram apresentados na forma de média \pm erro padrão da média (EPM). As análises e a construção dos gráficos foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism (v.9.0; GraphPad Software, Inc., EUA). Com o intuito de realizar a análise estatística dos resultados de PAS e FC obtidos através do protocolo de pletismografia de cauda, bem como para avaliar as diferenças entre os testes da VAM, empregou-se os testes ANOVA de duas vias, seguidos do pós-teste LSD Fisher's ou teste t de Student. Por sua vez, os valores basais de PAM, FC e $\int\text{ANS}$ foram submetidos ao teste t de Student. As variações da PAM, FC e $\int\text{ANS}$ foram analisadas através da análise de variância de duas vias (ANOVA de duas vias;

Fatores: grupo/tempo), seguida pelo pós-teste LSD Fisher's. Em todas as análises, considerou-se uma diferença significativa para valores de $p < 0,05$.

3.12. Delineamento experimental

Representação sequencial e processual dos eventos empreendidos em ambos os grupos (Figura 5).

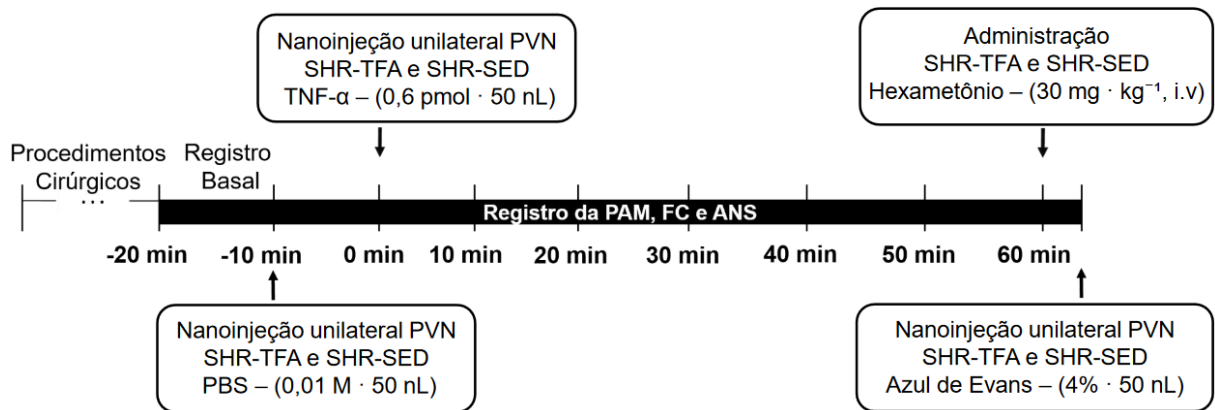


Figura 5. Delineamento experimental indicando a ordem dos eventos em função do tempo em que os experimentos anestesiados se sucederam com os grupos SHR-TFA e SHR-SED.

4. RESULTADOS

4.1. Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre valores basais de PAP e FC em animais hipertensos não anestesiados

O TFA regular, em intensidade moderada, não demonstrou eficácia suficiente para promover moderações significativas nos valores da PAS nos grupos de animais treinados (TFA: $221,27 \pm 6,18$ para $237,12 \pm 5,69$ mmHg; $p < 0,05$; Figura 6A), tampouco quando abordados comparativamente aos grupos de animais sedentários (TFA: $237,12 \pm 5,69$ vs. SED: $242,96 \pm 5,79$ mmHg; Figura 6A). Contudo, o TFA resultou em uma redução progressiva da FC em relação aos valores basais nos grupos de animais treinados (TFA: $488,94 \pm 13,17$ para $448,15 \pm 13,11$ bpm; $p < 0,05$; Tabela 3; Figura 6B). Especificamente, na sétima semana de treinamento, observou-se uma redução significativa desse parâmetro em comparação com os valores avaliados nos grupos de animais que permaneceram em atividade física típica da espécie (TFA: $435,66 \pm 12,56$ vs. SED: $478,21 \pm 15,64$ bpm; $p < 0,05$; Figura 6B).

Tabela 3. Valores basais da frequência cardíaca (FC; bpm) e pressão arterial sistólica (PAS; mmHg) dos grupos de SHR-TFA e SHR-SED não anestesiados. Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M).

Grupos	N	PAS (mmHg)	FC (bpm)
SHR-TFA	13	$221,2 \pm 6,1$	$488,9 \pm 13,1$
SHR-SED	10	$218,03 \pm 5,4$	$486,3 \pm 10,9$

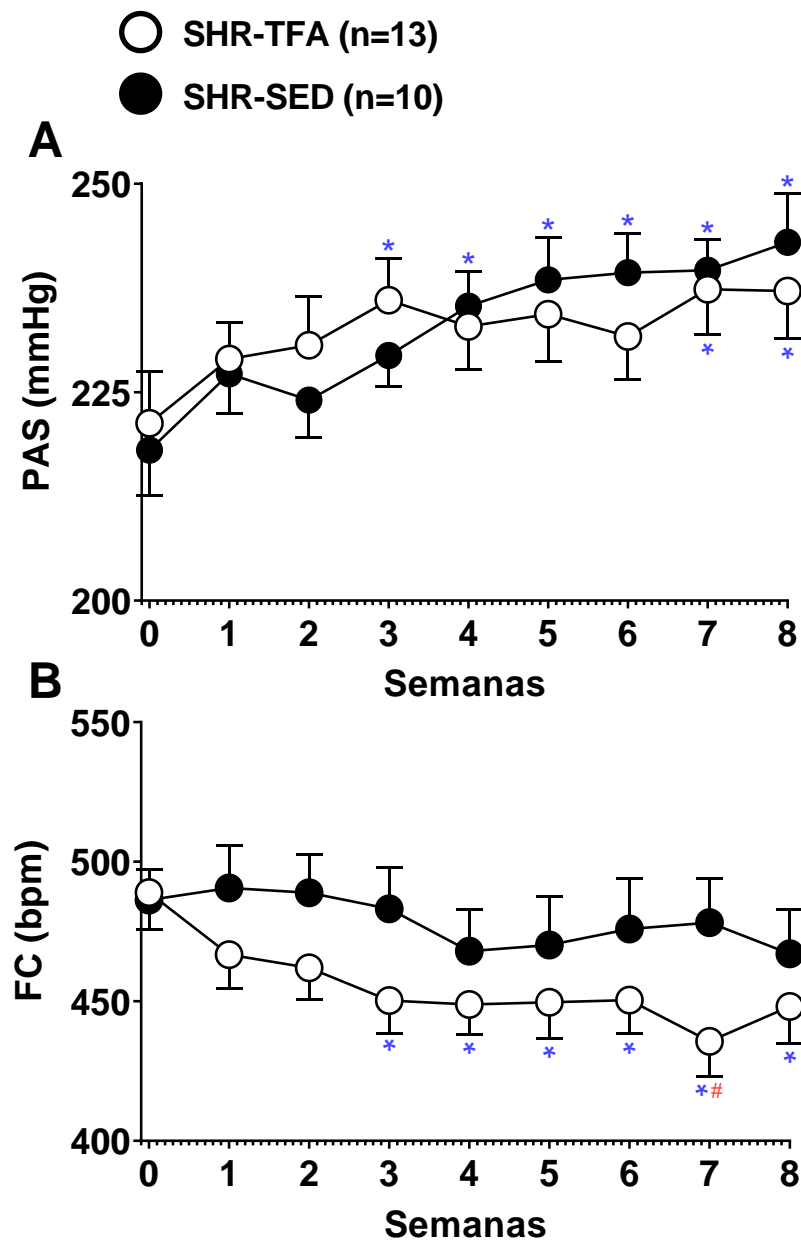


Figura 6. Efeitos cardiovasculares obtidos por intermédio da pletismografia de cauda realizada do período basal (semana 0) até a 8ª semana em SHR-TFA (círculo aberto) e SHR-SED (círculo fechado) não anestesiados. (A) Pressão arterial sistólica (PAS; mmHg), (B) frequência cardíaca (FC; bpm). Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). * Diferente da semana 0 (basal); # Diferente do grupo SHR-SED; $p < 0,05$.

4.2. Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre a VAM e massa corporal em animais hipertensos não anestesiados

Conforme mencionado anteriormente, utilizamos a VAM como métrica para avaliar a efetividade do TFA proposto para os grupos de animais hipertensos treinados. A (Tabela 4) apresenta os valores basais da VAM no início do treinamento, na 4ª semana e ao término da última semana do protocolo. Observamos um aumento gradual no desempenho da VAM em relação aos valores obtidos pelos grupos de SHR-TFA durante a avaliação inicial das capacidades aeróbicas na semana basal (SHR-TFA: $21,9 \pm 0,7$ vs. $34,2 \pm 1,1$ vs. $44,2 \pm 1,4$ m/min; $p < 0,05$; Tabela 4; Figura 7).

Tabela 4. Média \pm EPM das alterações concernentes a velocidade aeróbica máxima (VAM) do grupo de animais SHR-TFA, durante o período basal (semana 0), 4ª e 8ª semana. Expressas em (m/min).

Semanas	N	VAM (m/min)
Semana 0	13	$21,9 \pm 0,7$
Semana 4	13	$34,2 \pm 1,1^*$
Semana 8	13	$44,2 \pm 1,4^{* \#}$

Notas: * Diferente da semana 0; # Diferente da semana 4; $p < 0,05$.

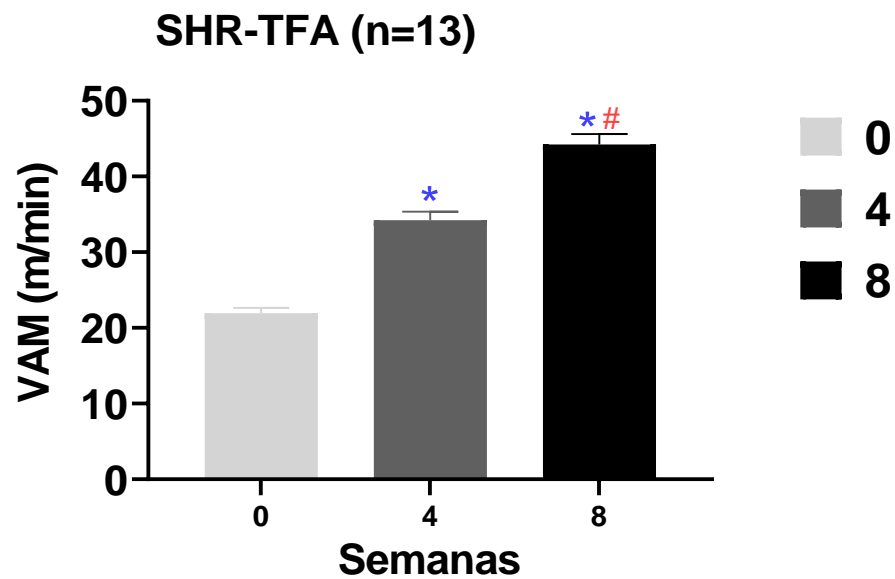


Figura 7. Efeitos do treinamento físico aeróbico regular, em intensidade moderada, sobre o condicionamento aeróbico de SHR-TFA avaliados no período basal (semana 0), 4ª e 8ª semana. Velocidade aeróbica máxima (VAM; m/min). Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). * Diferente da semana 0; # Diferente da semana 4; $p < 0,05$.

Consoante ao delineado na Tabela 5, não foram identificadas disparidades na variabilidade da massa corporal entre os grupos de SHR-TFA e SHR-SED.

Tabela 5. Média \pm EPM das alterações da massa corporal nos grupos SHR-TFA e SHR-SED, expressas em gramas (g).

Grupos	N	Massa Corporal (g)	
		Semana Basal	Semana 8
SHR-TFA	13	303,2 \pm 6,3	339,7 \pm 6,7*
SHR-SED	10	313,8 \pm 7,6	339,2 \pm 15,3

Notas: * Diferente do Basal; $p < 0,05$.

4.3. Efeitos cardiovasculares e autonômicos induzidos pela administração de TNF- α no PVN em animais hipertensos treinados e sedentários anestesiados

Os valores basais da PAM (TFA: $137,5 \pm 4,3$ vs. SED: $131,1 \pm 4,0$ mmHg; Tabela 6), FC (TFA: $352,5 \pm 7,9$ vs. SED: $333,9 \pm 7,2$ bpm; Tabela 6) e \int ANSE (TFA: $8,0 \pm 0,5$ u.a vs. SED: $8,4 \pm 0,4$ u.a; Tabela 6) foram semelhantes entre os grupos de SHR-TFA e SHR-SED anestesiados.

Tabela 6. Valores basais da pressão arterial média (PAM; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm) e integral da atividade nervosa simpática esplâncnica (\int ANSE; u.a.) nos grupos de animais SHR-TFA e SHR-SED. Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M).

Grupos	N	PAM (mmHg)	FC (bpm)	\int ANSE (u.a)
SHR-TFA	13	$137,5 \pm 4,3$	$352,5 \pm 7,9$	$8,0 \pm 0,5$
SHR-SED	10	$131,1 \pm 4,0$	$333,9 \pm 7,2$	$8,4 \pm 0,4$

Os traçados gráficos ilustrativos a seguir, apresentados nas Figuras 8 e 9, delineiam de forma esquemática as alterações cardiovasculares e autonômicas decorrentes das nanoinjeções intranucleares de TNF- α na região do PVN nos grupos de SHR (SED; Figura 8) e (TFA; Figura 9).

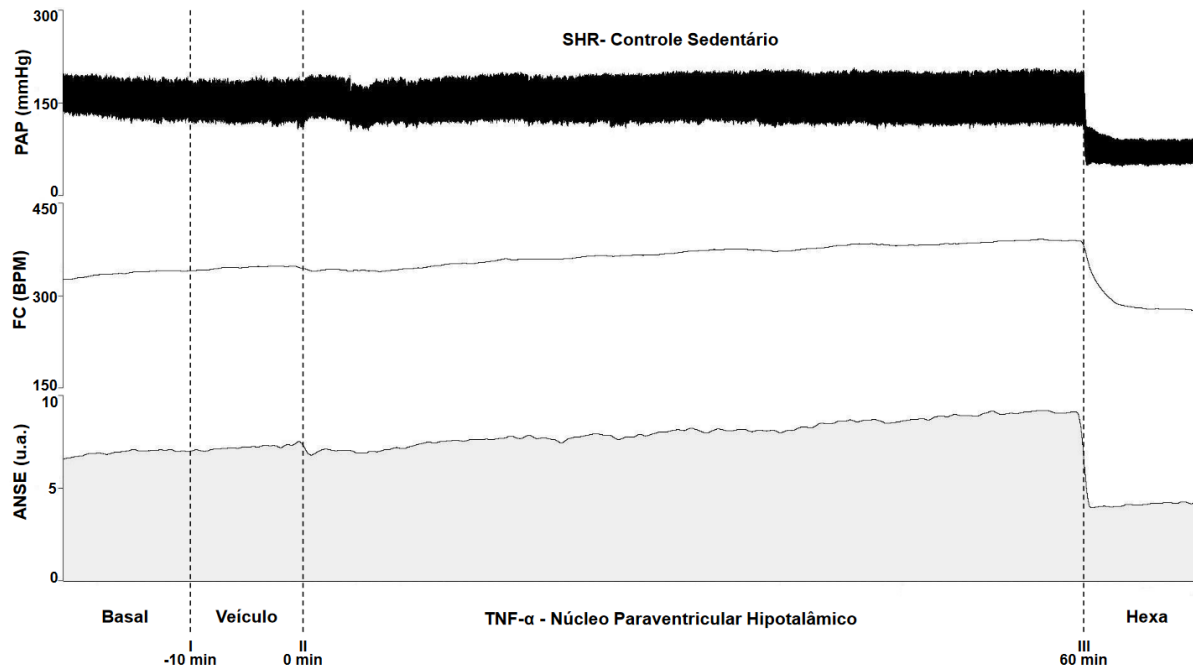


Figura 8. Traçado representativo das alterações na pressão arterial pulsátil (PAP; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm) e atividade nervosa simpática esplâncnica (ANSE; u.a) do grupo de SHR-SED. I. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de veículo (PBS; 50 nL), II. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de TNF- α (0,6 pmol em 50 nL) no PVN e III. linha tracejada indica o momento da administração de Hexametônio (30 mg \cdot kg $^{-1}$, i.v).

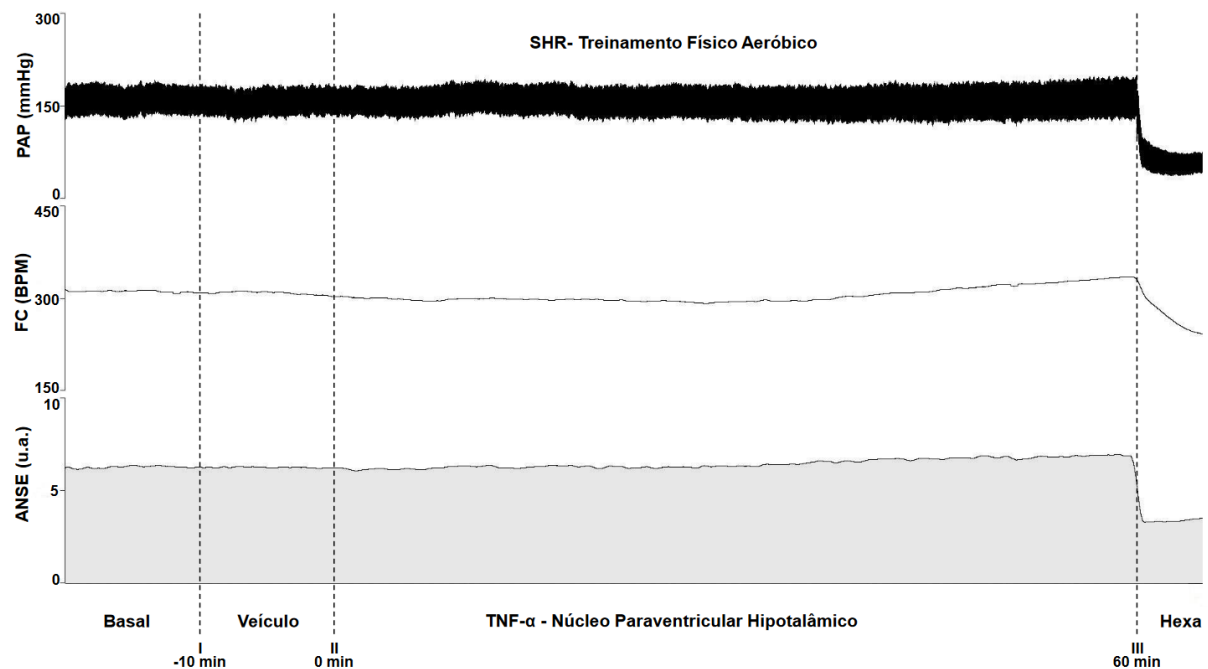


Figura 9. Traçado representativo das alterações na pressão arterial pulsátil (PAP; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm) e atividade nervosa simpática esplâncnica (ANSE; u.a) do grupo de SHR-TFA. I. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de veículo (PBS; 50 nL), II. linha tracejada indica o momento da nanoinjeção intranuclear de TNF- α (0,6 pmol em 50 nL) no PVN e III. linha tracejada indica o momento da administração de Hexametônio (30 mg \cdot kg $^{-1}$, i.v).

Após as nanoinjeções intranucleares de veículo no PVN, não foram observadas diferenças significativas nos valores basais da PAM (SHR-SED: $\Delta -2,1 \pm 1,3$; SHR-TFA: $\Delta -0,7 \pm 1,4$ mmHg; 10 min após veículo, em relação ao basal; Figura 10A), FC (SHR-SED: $\Delta 0,039 \pm 1,6$; SHR-TFA: $\Delta -1,0 \pm 1,8$ bpm; 10 min após veículo, em relação ao basal; Figura 10B), e \dot{V} ANSE (SHR-SED: $\Delta +9,7 \pm 2,0$; SHR-TFA: $\Delta +4,3 \pm 1,7\%$; 10 min após veículo, em relação ao basal; Figura 10C). Do mesmo modo, não foram observadas diferenças entre os grupos.

Pode-se denotar um aumento tardio da PAM nos animais que permaneceram em atividade física típica da espécie em decorrência as nanoinjeções de TNF- α no PVN (SHR-SED: $\Delta +11,4 \pm 3,9$ mmHg; $p < 0,05$; 50 min após TNF- α , em relação ao basal; Figura 10A). Por outro lado, não houve aumento significativo deste parâmetro em relação aos valores basais inerentes ao grupo de animais submetidos ao treinamento regular em esteira rolante. Além disso, ao ser comparado com o grupo sedentário, um notável diferencial foi constatado nos grupos de treinamento (SHR-TFA: $\Delta -4,6 \pm 2,4$ vs. SHR-SED: $\Delta +6,8 \pm 4,2$ mmHg; $p < 0,05$; 40 min após TNF- α , comparado ao grupo sedentário; Figura 10A), de modo que a diferença se mantém até o final do registro aos 60 minutos após as nanoinjeções de TNF- α .

Em ambos os grupos, as nanoinjeções de TNF- α no PVN promoveram aumento da FC ao final do experimento (SHR-SED: $\Delta +18,8 \pm 4,5$; SHR-TFA: $\Delta +16,8 \pm 6,4$ bpm; $p < 0,05$; 60 min após TNF- α , em relação ao basal; Figura 10B). Entretanto, não foram expressas desigualdades significativas quanto a FC entre os grupos de animais SHR treinados e sedentários.

Durante a primeira terça parte da hora subsequente ao registro pós-nanoinjeções de TNF- α no PVN, observamos um aumento progressivo da \dot{V} ANSE relativa ao grupo de animais sedentários (SHR-SED: $\Delta +21,8 \pm 4,7$ %; $p < 0,05$; 20 min após TNF- α , em relação ao basal; Figura 10C), tal como nos grupos fisicamente ativos a partir da segunda metade da aquisição do registro pós-nanoinjeções (SHR-TFA: $\Delta +14,3 \pm 4,9$ %; $p < 0,05$; 30 min após TNF- α , em relação ao basal; Figura 10C). Entretanto, nesta mesma fração de hora (30 minutos), um contraste foi identificado entre os grupos SHR-TFA e SHR-SED através das técnicas estatísticas empregadas, com um padrão ascendente mais acentuado no grupo SHR-SED (SHR-SED: $\Delta +30,6 \pm 4,7$ vs. SHR-TFA: $\Delta +14,3 \pm 4,9$ %; $p < 0,05$; 30 min após TNF- α , comparado ao grupo treinado; Figura 10C). Ademais, a diferença entre os grupos mantém-se até o final do experimento, aos 60 minutos (SHR-SED: $\Delta +47,1 \pm 3,6$ vs. SHR-TFA: $\Delta +20,6 \pm 4,9$

%; $p < 0,05$; 60 min após TNF- α , comparado ao grupo treinado; Figura 10C), momento em que a discrepância entre os grupos se torna ainda maior em termos percentuais.

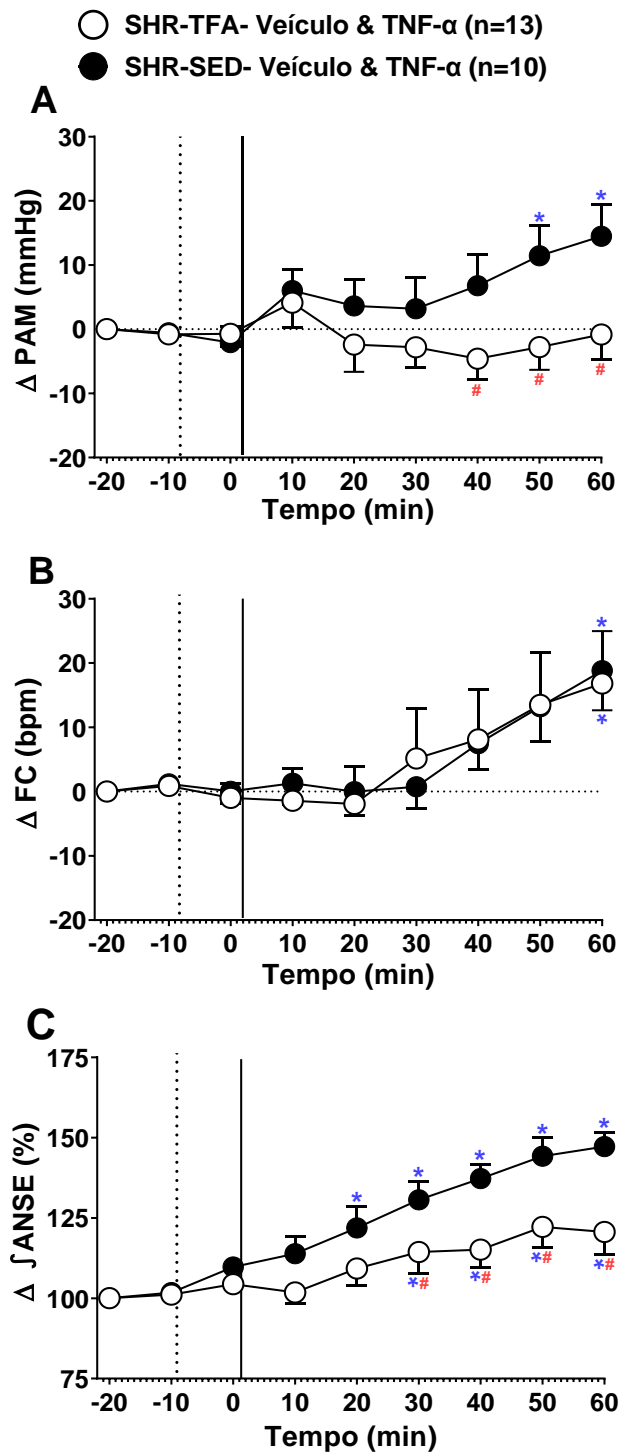


Figura 10. Efeitos cardiovasculares e autonômicos induzidos pelas nanoinjeções intranucleares de TNF- α no PVN de SHR-TFA e SHR-SED anestesiados. (A) Variação da pressão arterial média (Δ PAM; mmHg), (B) frequência cardíaca (Δ FC; bpm) e (C) integral da atividade nervosa simpática esplâncnica ($\Delta \int$ ANSE; %). A linha tracejada representa as nanoinjeções intranucleares de veículo no grupo SHR-TFA (círculo aberto) e grupo SHR-SED (círculo fechado). A linha contínua representa as nanoinjeções intranucleares de TNF- α no PVN. Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). * Diferente do tempo -20 min; # Diferente do grupo SHR-SED. $p < 0,05$.

4.4. Análise histológica nanoinjeções intranucleares PVN

Mediante a fotomicrografia representativa (Figura 11) do plano coronal do hipotálamo, foi possível identificar com precisão o local das nanoinjeções no PVN, claramente evidenciado pela propagação do corante Azul de Evans (4%; Sigma-Aldrich, MO, EUA). Tal fato atesta a exatidão das nanoinjeções intranucleares conduzidas no PVN. Cabe ressaltar que apenas os experimentos nos quais as nanoinjeções foram restritas ao PVN foram selecionados e minuciosamente analisados neste estudo.

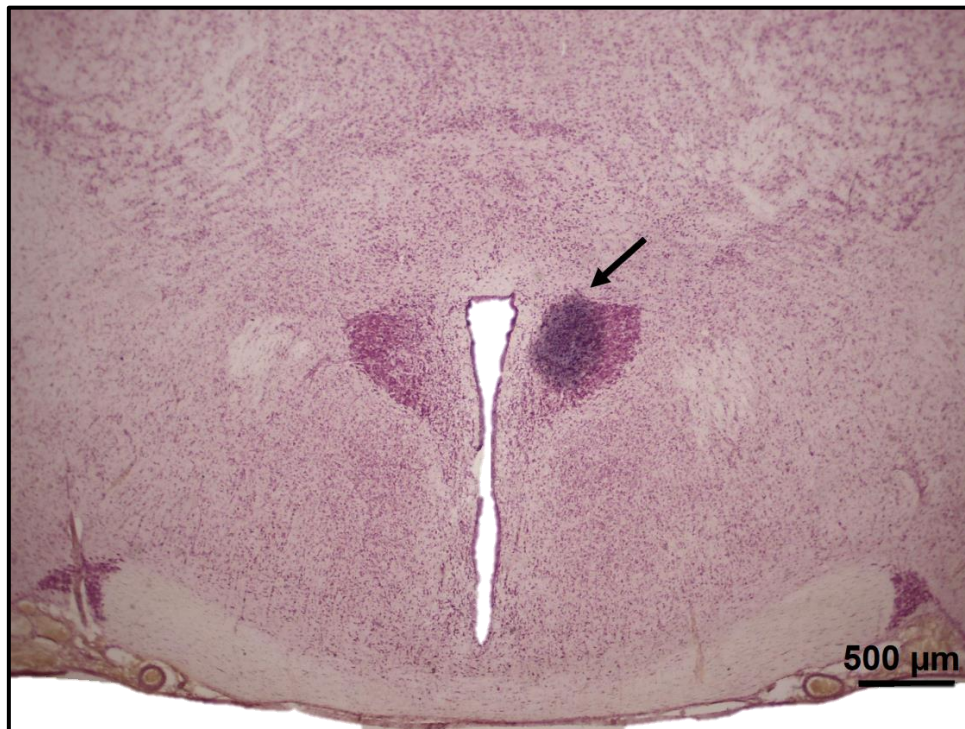


Figura 11. Fotomicrografia representativa da secção coronal (40μm), realizada na região hipotalâmica, evidenciando o sítio típico unilateral da nanoinjeção realizada no núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN). A seta indica a marcação com o corante azul de Evans 4%. Escala: 500μm.

5. DISCUSSÃO

O achado central desta investigação reside na comprovação da efetividade do TFA regular, em intensidade moderada, na redução da simpatoexcitação e resposta pressora resultantes das nanoinjeções intranucleares unilaterais de TNF- α no PVN em animais hipertensos sob anestesia. Adicionalmente, este estudo revelou: I. O TFA realizado ao longo de 8 semanas resultou na redução da FC basal e não alterou os valores da PAS nos grupos de animais SHR-TFA em comparação com os SHR-SED; II. As nanoinjeções intranucleares de TNF- α no PVN provocaram aumentos na PAM, FC e ANSE nos grupos de SHR-SED.

Há muito se reconhece que o TFA é favorável e promove efeitos benéficos na prevenção e controle da HA (Chandler & Dicarlo, 1998; Kramer et al., 2001, 2002), dentre os quais destacam-se a redução da PA e moderações ao fluxo autonômico simpático (Agarwal et al., 2011; Barbosa Neto et al., 2013; Ceroni et al., 2009). Na atualidade, o TFA distingue-se por ser a principal categoria de treinamento com repercussões oportunas no manejo de afecções do sistema cardiovascular (Barroso et al., 2021; Unger et al., 2020; Whelton et al., 2018). Em nossos achados, os grupos de animais fisicamente ativos ostentam valores de FC em repouso excepcionalmente mais baixos ao final do protocolo de TFA. Além disso, a discrepância entre os grupos, mensurada em batimentos por minuto (BPM), já reivindicava sua significância a contar das primeiras semanas de treinamento, corroborando os dados obtidos por estudos pioneiros que atestaram a efetividade do TF em SHR na promoção da bradicardia em repouso (Gava et al., 1995; Negrão et al., 1993).

Os dados obtidos na presente investigação demonstram pontualmente que apenas 3 semanas de TFA, em intensidade moderada, foram suficientes para promover bradicardia em repouso em animais hipertensos não anestesiados, o que representa um forte indício do sucesso da categoria de treinamento adotada. Investigações de Masson et al. (2014) sugerem que a normalização do controle barorreflexo precede a bradicardia em repouso como uma adaptação incipiente do sistema cardiovascular aos estímulos induzidos pelo TFA (Masson et al., 2014). Ademais, os achados desta investigação reproduzem parcialmente as repercussões cardiovasculares obtidas em SHR por intermédio de um protocolo pragmático de TFA adaptado e executado em investigações anteriores por nosso grupo de pesquisa (Lopes et al., 2016).

Evidências experimentais identificadas por Masson et al. (2016) sugerem que o TFA crônico, compondo-se de intensidade moderada, favorece a função cardíaca, sobretudo, ao melhorar consideravelmente o controle barorreflexo (Masson et al., 2016). Além disso, promove a redução do impulso simpático direcionado à vasculatura em modelos de hipertensão neurogênica (Ferreira-Junior et al., 2019; J.-Y. Li et al., 2019). Embora os SHR-TFA tenham apresentado valores de FC significativamente menores ao longo do treinamento, em comparação aos valores basais, bem como quando comparados aos SHR-SED, o protocolo de treinamento adotado neste estudo não promoveu alterações nos valores basais da PAS durante os registros não invasivos realizados através da PC em SHR não anestesiados. No entanto, Agarwal et al. (2011) detectaram moderações significativas referentes aos valores da PAS em SHR após 8 semanas de corrida em esteira com intensidade moderada. A redução da pressão sistólica foi mantida por mais 8 semanas até o final do tratamento, que, por sua vez, contemplou um total de 16 semanas (Agarwal et al., 2011). Ainda neste estudo, os autores enfatizam a significância da intervenção crônica no manejo da HA, no que concerne aos benefícios fisiológicos pretendidos (Agarwal et al., 2011).

Adicionalmente, em análise realizada por Schlüter et al. (2010), os autores suscitam que, os efeitos associados à redução da PAS em referência a protocolos de TF foram mais frequentemente expressos em SHR que iniciaram os treinamentos entre 4 e 6 semanas de idade, ou seja, ratos mais jovens e pré-hipertensos, e, portanto, menos expressos em animais mais velhos com hipertensão já estabelecida (Schlüter et al., 2010). Dados disponíveis na literatura relatam que a categoria e intensidade do TF são aspectos determinantes que confrontam diretamente a significância dos efeitos fisiológicos associados ao sistema cardiovascular (Kemi et al., 2005). Entretanto, tópicos relacionados à resposta pressora em fenótipos hipertensos frente às implicações motivadas por protocolos pragmáticos de TF permanecem inconstantes. À vista disso, inferências diretas ou indiretas em diferentes significâncias e categorias de treinamento requerem maiores investigações.

Identificamos que, tão logo na 4.^o semana de corrida em esteira, o TFA em intensidade moderada, proporcionou aos grupos de animais hipertensos uma progressão em suas respectivas cargas (m/min), com evolução do desempenho evidenciada paulatinamente semana a semana, indicando uma melhora na aptidão aeróbica. De fato, os grupos de animais submetidos aos treinos semanais, seguramente mais do que dobraram a VAM em função do tempo de treinamento. Há

fortes indícios e anuência no entendimento de que as benesses conferidas ao sistema cardiovascular pelo TFA estão correlacionadas ao tempo, intensidade e gênero da atividade (Kemi et al., 2005; Petriz et al., 2015). Portanto, a prescrição adequada da modalidade de exercícios, bem como a intensidade compreendida, são variáveis fundamentais para uma intervenção eficaz.

Na fração do estudo em que os registros foram realizados em animais hipertensos anestesiados, embora existam distinções significativas no aumento da ANSE pronunciada em ambos os grupos de SHR incluídos no esquadramento da análise experimental, os achados concernentes às repercussões cardiovasculares e autonômicas por ação do TNF- α ministrado diretamente no PVN, dialogam com evidências experimentais recentes de Bardgett et al. (2014) e Mourão et al. (2021), que por sua vez, versam sobre o potencial dessa CPI no que diz respeito a agudização de respostas referidas a ANS e PAM (Bardgett et al., 2014; Mourão et al., 2021). Ao longo dos anos, autores endossaram a relação causa-efeito que incide sobre a intensificação da expressão de CPI em regiões cerebrais como força motriz de cunho neurogênico para a prevalência de DCV (P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010; P. Shi, Raizada, et al., 2010; Z. Shi et al., 2014; Waki et al., 2008). Em adicional, há indícios de que a exposição mediada pelo tratamento com TNF- α exógeno, pode implicar substancialmente no incremento de sua síntese endógena, de modo dose-dependente (Niitsu et al., 1988). Os autores Z.-H. Zhang et al. (2003) identificaram que mesmo a administração periférica de TNF- α está associada à ativação de neurônios no PVN e RVLM, mediada pela condução da CPI pelo sangue, operando a nível hipotalâmico e deliberando respostas determinantes para o aumento da PA, FC e ANS (Z.-H. Zhang et al., 2003).

Curiosamente, mesmo ante a administração circunscrita de TNF- α no PVN de animais hipertensos anestesiados, a resposta da PAM foi abolida nos grupos de animais submetidos ao treinamento em esteira. Agarwal et al. (2011) demonstraram que um protocolo crônico de TFA, em intensidade moderada, não apenas reduz a expressão de CPI no PVN e RVLM de SHR, mas também promove moderações no estresse oxidativo, contribuindo para o restabelecimento de disfunções autonômicas e, assim, atenuando a simpatoexcitação (Agarwal et al., 2011). Essas evidências corroboram as descobertas atuais do estudo, que se referem à ausência de resposta da PAM em SHR-TFA durante os registros sob anestesia. Além disso, destacam a disparidade no aumento da ANSE observada entre os grupos SHR-TFA e SHR-SED,

uma vez que, inegavelmente, a curva de ascensão inerente aos animais hipertensos treinados é consideravelmente mais suave em comparação com a ascensão contínua dos grupos sedentários.

De fato, o incremento dos coeficientes pró-oxidativos e pró-inflamatórios exercem influência sobre a atividade neuronal, oportunizando disfunções autonômicas como resultado do aumento do estresse oxidativo, o que contribui para o aumento da PA e ANS (Levick et al., 2010; Mehta & Griending, 2007; Nagae et al., 2009; P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010; Zimmerman et al., 2004). O aumento da atividade da micróglia, bem como a neuroinflamação em regiões de controle autonômico são mediadores intimamente associados à patogênese da HA (Sharma et al., 2019; P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010). As EROs derivadas da ativação da NOX atuam como segundos mensageiros vigorosos, a nível intercelular e intracelular, em vias de sinalização congêneres ao aumento de valores pressóricos em fenótipos hipertensos (Bedard & Krause, 2007; Mehta & Griending, 2007; Murdoch et al., 2011; Touyz et al., 2020). Dentre as vias de sinalização ativadas pelo aumento do estresse oxidativo, destaca-se a quinase regulada por sinalização extracelular (ERK1/2) (Wei et al., 2009; Yu et al., 2016), afamada por implementar o aumento da translocação do NF- κ B e regular positivamente a expressão de TNF- α , assim como outras CPI no PVN (Cardinale et al., 2012). A resultante desse conjunto de fatores manifesta-se através de um aumento substancial da ANS, assim como do aumento dos valores pressóricos (Cardinale et al., 2012; Murdoch et al., 2011; Wei et al., 2009). Os mecanismos pelos quais a sinalização ERK1/2 impulsiona a ANS não são totalmente esclarecidos. No entanto, a regulação positiva da expressão gênica de mediadores inflamatórios no PVN, por intermédio da via de sinalização ERK1/2, certamente coopera para a hiperatividade simpática sustentada em contextos crônicos, como na HA (Wei et al., 2008; Yu et al., 2016).

Na atualidade, é bem estabelecido que o TFA, quando realizado regularmente em associação com terapias farmacológicas anti-hipertensivas disponíveis, ou mesmo como uma modalidade terapêutica não farmacológica alternativa, exerce influência altamente benéfica sobre diversas das vias relacionadas à etiologia da HA (Barroso et al., 2021; Whelton et al., 2018). Na última década, diversos autores têm discutido evidências experimentais que solidificam a hipótese de que, ao menos parcialmente, o TFA está associado a benesses ao sistema cardiovascular através de ações sobre mecanismos íntimos ao SNC (Ferreira-Junior et al., 2019; Jia et al., 2014; J.-Y. Li et

al., 2019; Raquel et al., 2022; Silva et al., 2019). Este indício implica que os mecanismos centrais podem desempenhar papéis fundamentais nas transições críticas que delineiam as respostas cardiovasculares manifestadas por fenótipos hipertensos quando incorporados em protocolos pragmáticos de TF.

Em conjunto com o aumento da expressão de CPI, a ativação da micróglia no PVN é amplamente associada ao aumento dos valores pressóricos na hipertensão neurogênica (P. Shi, Diez-Freire, et al., 2010). Estudos demonstraram que as células da micróglia ativas apresentam um corpo celular maior, com ramificações bem definidas, mais curtas, além de disporem de um aspecto mais espesso e robusto (Eskes et al., 2003; Kettenmann et al., 2011; Lynch, 2009; Stence et al., 2001). Admiravelmente, em experimentos recentes, Wen Jie. Xia et al. (2021) constataram que apenas 4 semanas de TFA, em intensidade moderada, foram suficientes para promover moderações no contingente da micróglia ativada no PVN de SHR, além de ser surpreendentemente capaz de oportunizar alterações na morfologia das células. Após as sessões de treinamento, as células da micróglia apresentaram morfologia ramificada, com corpos celulares apequenados e processos longos e finos, opondo-se ao aspecto morfológico apresentado por células dessa região identificada em SHR fisicamente inativos (W.-J. Xia et al., 2021).

Paralelamente, Kishi et al. (2012) identificaram moderações aos valores pressóricos em SHR submetidos ao TFA em esteira rolante ao longo de 6 semanas. Os autores constataram que a redução da PA ocorreu em decorrência à inibição do fluxo simpático, via redução do estresse oxidativo no RVLM, além de uma melhora significativa na sensibilidade barorreflexa induzida pelo treinamento regular realizado pelos animais hipertensos (Kishi et al., 2012). Em conjunto, esses dados corroboram os achados do presente trabalho e indicam que o TFA regular, em intensidade moderada, pode exercer influência a nível central sobre o reequilíbrio das CPI, redução da ativação da micróglia e do estresse oxidativo, contribuindo para a inibição da simpatoexcitação em regiões centrais de integração e controle autonômico, além de reduzir a PA persistente explicitada em modelos experimentais hipertensos utilizados.

Sincronicamente à pauta relativa à modulação autonômico-imune, observa-se modificações estruturais e funcionais nos vasos sanguíneos em SHR, tais como o aumento do trofismo de artérias e arteríolas periféricas, que guarnecem o incremento axiomático persistente da PA nesses animais (Abboud & Singh, 2017; Folkow et al.,

1972; Mulvany et al., 1978). Em análises morfométricas recentes, Lemos et al. (2018) identificaram que as arteríolas esplênicas de SHR possuem paredes mais espessas se comparadas às arteríolas da mesma região em amostras de animais normotensos (Lemos et al., 2018). Achados experimentais de Amaral et al. (2000) demonstraram que o TFA, em intensidade moderada, foi eficaz em oportunizar a redução da relação parede-lúmen alterada em arteríolas de animais hipertensos, aumentando o diâmetro interno e externo sem alterar a espessura do vaso, além de normalizar a resistência vascular (Amaral et al., 2000). Esses resultados sugerem que a modulação das respostas hemodinâmicas e alterações morfométricas identificadas na microcirculação periférica são adaptações diretas do protocolo de treinamento que, por sua vez, contribuíram para o efeito redutor da PA em SHR treinados.

Para mais além, o estudo de Amaral et al. (2000) enfatiza que os dados obtidos não excluem a possibilidade do envolvimento de mecanismos adicionais na moderação dos valores pressóricos induzida pelo treinamento, com ênfase sobre a modulação negativa do fluxo simpático (Amaral et al., 2000). Achados recentes de Lemos et al. (2018) apontam correlações casuísticas no que diz respeito à hiperatividade simpática e à espessura de arteríolas periféricas em SHR (Lemos et al., 2018). Ademais, em consonância com os resultados alcançados por Amaral et al. (2000), após submetidos a um protocolo sistematizado de TFA ao longo de 9 semanas, os SHR apresentaram normalização no diâmetro irregular das arteríolas, identificada após processamento histológico, sendo estes ajustes deferidos à vasculatura e concomitantes à redução da ANS (Lemos et al., 2018). O coeficiente de correlação entre o efeito simpático e a espessura da parede das arteríolas indicou que a regressão da hipertrofia observada nos pequenos vasos correspondentes aos grupos de animais hipertensos treinados reflete a modulação autonômica em resposta ao TFA (Lemos et al., 2018). O que reforça a eficácia desse protocolo de treinamento ao que se refere à redução da PA.

De forma análoga, evidências experimentais distinguiram alterações morfológicas microanatômicas significativas a nível da microvasculatura cerebral em SHR, incluindo hipertrofia de arteríolas e o estreitamento luminal vascular (Baumbach et al., 1988; Gesztelyi et al., 1993; Sabbatini et al., 2001). Por outro lado, Jordão et al. (2021) constataram que a intervenção não farmacológica mediada pelo TFA é excepcionalmente eficaz na reversão dos efeitos deletérios circunscritos à vasculatura da região cerebral (Jordão et al., 2021). Em SHR, o aumento da resistência local

mediado pela diminuição do diâmetro do lúmen, bem como o aumento da espessura da parede das arteríolas cerebrais, contribui para a manutenção de valores pressóricos elevados, contudo, em seus achados, Jordão et al. (2021) identificaram que moderações aos valores da PA em animais submetidos ao treino aeróbico correlaciona-se positivamente com a redução da relação parede-lúmen, como resposta adaptativa ao TFA aplicada às artérias cerebrais (Jordão et al., 2021). Além disso, o treinamento possibilita a angiogênese capilar em áreas pré-autonômicas, contribuindo para a melhora da perfusão cerebral em conjunto com a redução da resistência arteriolar local, assessorando a diminuição da pressão parcial (Jordão et al., 2021).

Essas descobertas, juntamente com nossos achados atuais, que demonstram a eficácia do TFA regular, em intensidade moderada, na atenuação da resposta pressora mediante a ativação aguda do processo neuroinflamatório mediado pela administração de TNF- α no PVN de SHR, indicam a existência de uma série de correspondências entre os fatores que podem influenciar a atenuação dos valores pressóricos induzida pelo TFA em animais hipertensos. É lícito propor que, ao menos parcialmente, a redução da resposta pressora e simpatoexcitatória pode estar associada à modulação da atividade neuronal em referência às moderações nos mecanismos centrais de controle da PA. No entanto, mais investigações são necessárias para verificar precisamente os mecanismos responsáveis pelo contraste identificado nas respostas determinadas entre SHR-TFA e SHR-SED.

6. CONCLUSÃO

Ainda que a presente investigação não tenha examinado especificamente os mecanismos subjacentes às adaptações neuronais induzidas pelo protocolo de TFA em SHR, os dados obtidos demonstraram, pela primeira vez, a eficácia do referido protocolo de treinamento físico regular, em intensidade moderada, na atenuação da simpatoexcitação e resposta pressora induzida pelo TNF- α administrado diretamente no PVN. Além disso, o treinamento demonstrou melhorar significativamente a capacidade física aeróbica e reduzir a FC em repouso de ratos hipertensos. Nossos achados reforçam a preeminente importância do TFA como estratégia não farmacológica adjuvante ao controle da HA, exercendo influência notável, em particular, sobre regiões centrais de controle cardiovascular e autonômico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. Frankola, K., H. Greig, N., Luo, W., & Tweedie, D. (2011). Targeting TNF-Alpha to Elucidate and Ameliorate Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 10(3), 391–403. <https://doi.org/10.2174/187152711794653751>
- Abboud, F. M., Harwani, S. C., & Chapleau, M. W. (2012). Autonomic neural regulation of the immune system: implications for hypertension and cardiovascular disease. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 59(4), 755–762. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.186833>
- Abboud, F. M., & Singh, M. V. (2017). Autonomic regulation of the immune system in cardiovascular diseases. *Advances in Physiology Education*, 41(4), 578–593. <https://doi.org/10.1152/advan.00061.2017>
- Agarwal, D., Dange, R. B., Vila, J., Otamendi, A. J., & Francis, J. (2012). Detraining Differentially Preserved Beneficial Effects of Exercise on Hypertension: Effects on Blood Pressure, Cardiac Function, Brain Inflammatory Cytokines and Oxidative Stress. *PLoS ONE*, 7(12), e52569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052569>
- Agarwal, D., Welsch, M. A., Keller, J. N., & Francis, J. (2011). Chronic exercise modulates RAS components and improves balance between pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of SHR. *Basic Research in Cardiology*, 106(6), 1069–1085. <https://doi.org/10.1007/s00395-011-0231-7>
- Aggarwal, B. B., Gupta, S. C., & Kim, J. H. (2012). Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood*, 119(3), 651–665. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-325225>
- Aggarwal, B. B., Henzel, W. J., Moffat, B., Kohr, W. J., & Harkins, R. N. (1985). Primary structure of human lymphotoxin derived from 1788 lymphoblastoid cell line. *Journal of Biological Chemistry*, 260(4), 2334–2344. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)89559-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)89559-X)
- Aggarwal, B. B., Moffat, B., & Harkins, R. N. (1984). Human lymphotoxin. Production by a lymphoblastoid cell line, purification, and initial characterization. *Journal of Biological Chemistry*, 259(1), 686–691. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)43716-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)43716-1)

- Amaral, S. L., Zorn, T. M. T., & Michelini, L. C. (2000). Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, *18*(11), 1563–1572. <https://doi.org/10.1097/00004872-200018110-00006>
- Andresen, M. C., Kuraoka, S., & Brown, A. M. (1980). Baroreceptor function and changes in strain sensitivity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circulation Research*, *47*(6), 821–828. <https://doi.org/10.1161/01.RES.47.6.821>
- Barbosa Neto, O., Abate, D. T. R. S., Marocolo Júnior, M., Mota, G. R., Orsatti, F. L., Rossi e Silva, R. C., Reis, M. A., & da Silva, V. J. D. (2013). Exercise training improves cardiovascular autonomic activity and attenuates renal damage in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Sports Science & Medicine*, *12*(1), 52–59. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24149725>
- Bardgett, M. E., Holbein, W. W., Herrera-Rosales, M., & Toney, G. M. (2014). Ang II–Salt Hypertension Depends on Neuronal Activity in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus but Not on Local Actions of Tumor Necrosis Factor- α . *Hypertension*, *63*(3), 527–534. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02429>
- Barroso, W. K. S., Rodrigues, C. I. S., Bortolotto, L. A., Mota-Gomes, M. A., Brandão, A. A., Feitosa, A. D. de M., Machado, C. A., Poli-de-Figueiredo, C. E., Amodeo, C., Mion, D., Barbosa, E. C. D., Nobre, F., Guimarães, I. C. B., Vilela-Martin, J. F., Yugar-Toledo, J. C., Magalhães, M. E. C., Neves, M. F. T., Jardim, P. C. B. V., Miranda, R. D., ... Nadruz, W. (2021). Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, *116*(3), 516–658. <https://doi.org/10.36660/abc.20201238>
- Baumbach, G. L., Walmsley, J. G., & Hart, M. N. (1988). Composition and Mechanics of Cerebral Arterioles in Hypertensive Rats. In *American Journal of Pathology* (Vol. 133, Issue 3).
- Becher, B., Spath, S., & Goverman, J. (2017). Cytokine networks in neuroinflammation. *Nature Reviews Immunology*, *17*(1), 49–59. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.123>
- Becker, L. (2004). New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovascular Research*, *61*(3), 461–470. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.10.025>

- Bedard, K., & Krause, K.-H. (2007). The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology. *Physiological Reviews*, *87*(1), 245–313. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2005>
- Bernard, C. (1865). *An Introduction to the Study of Experimental Medicine* (1927th ed.). Macmillan & Co Ltd.
- Bernard C. (1878). Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux vegetaux. In *Bailliere JB*. Bailliere JB.
- Blair, M. L., Piekut, D., Want, A., & Olschowka, J. A. (1996). Role of the hypothalamic paraventricular nucleus in cardiovascular regulation. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *23*(2), 161–165. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1996.tb02590.x>
- Cannon, W. B. (1939). The wisdom of the body, 2nd ed. In *The wisdom of the body, 2nd ed.* Norton & Co.
- Cardinale, J. P., Sriramula, S., Mariappan, N., Agarwal, D., & Francis, J. (2012). Angiotensin II–Induced Hypertension Is Modulated by Nuclear Factor- κ B in the Paraventricular Nucleus. *Hypertension*, *59*(1), 113–121. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.182154>
- Carey, R. M., Muntner, P., Bosworth, H. B., & Whelton, P. K. (2018). Prevention and Control of Hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, *72*(11), 1278–1293. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.07.008>
- Carnot, S., Thurston, R. H., Carnot, R. H., & Kelvin Baron, W. T. (1890). *Reflections on the motive power of heat and on machines fitted to develop that power*. J. Wiley. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/57177>
- Ceroni, A., Chaar, L. J., Bombein, R. L., & Michelini, L. C. (2009). Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Experimental Physiology*, *94*(6), 630–640. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.046128>
- Chandler, M. P., & Dicarlo, S. E. (1998). Acute exercise and gender alter cardiac autonomic tonus differently in hypertensive and normotensive rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *274*(2), R510–R516. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.274.2.R510>

- Chen, Q. H., & Toney, G. M. (2001). AT(1)-receptor blockade in the hypothalamic PVN reduces central hyperosmolality-induced renal sympathoexcitation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281(6), R1844–R1853. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.6.R1844>
- Clay Goodman, J., Robertson, C. S., Grossman, R. G., & Narayan, R. K. (1990). Elevation of tumor necrosis factor in head injury. *Journal of Neuroimmunology*, 30(2–3), 213–217. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(90\)90105-V](https://doi.org/10.1016/0165-5728(90)90105-V)
- Coote, J. H., & Chauhan, R. A. (2016). The sympathetic innervation of the heart: Important new insights. *Autonomic Neuroscience*, 199, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2016.08.014>
- Cronk, J. C., & Kipnis, J. (2013). Microglia – the brain’s busy bees. *F1000Prime Reports*, 5. <https://doi.org/10.12703/P5-53>
- Dampney, R. A. L., Horiuchi, J., Killinger, S., Sheriff, M. J., Tan, P. S. P., & McDowall, L. M. (2005). Long-term regulation of arterial blood pressure by hypothalamic nuclei: some critical questions. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 32(5–6), 419–425. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2005.04205.x>
- de Champlain, J., Wu, R., Girouard, H., Karas, M., EL Midaoui, A., Laplante, M., & Wu, L. (2004). Oxidative Stress in Hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension*, 26(7–8), 593–601. <https://doi.org/10.1081/CEH-200031904>
- Deng, Y., Tan, X., Li, M.-L., Wang, W.-Z., & Wang, Y.-K. (2019). Angiotensin-Converting Enzyme 2 in the Rostral Ventrolateral Medulla Regulates Cholinergic Signaling and Cardiovascular and Sympathetic Responses in Hypertensive Rats. *Neuroscience Bulletin*, 35(1), 67–78. <https://doi.org/10.1007/s12264-018-0298-3>
- Elmarakby, A. A., Quigley, J. E., Imig, J. D., Pollock, J. S., & Pollock, D. M. (2008). TNF- α inhibition reduces renal injury in DOCA-salt hypertensive rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(1), R76–R83. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00466.2007>
- Eskes, C., Juillerat-Jeanneret, L., Leuba, G., Honegger, P., & Monnet-Tschudi, F. (2003). Involvement of microglia-neuron interactions in the tumor necrosis factor-alpha release, microglial activation, and neurodegeneration induced by trimethyltin. *Journal of Neuroscience Research*, 71(4), 583–590. <https://doi.org/10.1002/jnr.10508>

- Fajemiroye, J. O., Cunha, L. C. da, Saavedra-Rodríguez, R., Rodrigues, K. L., Naves, L. M., Mourão, A. A., Silva, E. F. da, Williams, N. E. E., Martins, J. L. R., Sousa, R. B., Rebelo, A. C. S., Reis, A. A. da S., Santos, R. da S., Ferreira-Neto, M. L., & Pedrino, G. R. (2018). Aging-Induced Biological Changes and Cardiovascular Diseases. *BioMed Research International*, 2018, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2018/7156435>
- Feidt, M. (2017). The History and Perspectives of Efficiency at Maximum Power of the Carnot Engine. *Entropy*, 19(7), 369. <https://doi.org/10.3390/e19070369>
- 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 GABAA receptor function within the PVN and reduces sympathetic modulation in hypertension. *Physiological Reports*, 7(13), e14107. <https://doi.org/10.14814/phy2.14107>
- Folkow, B., Hallbäck, M., Lundgren, Y., Sivertsson, R., & Weiss, L. (1972). The Importance of Adaptive Changes in Vascular Design for the Establishment and Maintenance of Primary Hypertension, as Studied in Man and in Spontaneously Hypertensive Rat. In *Spontaneous Hypertension* (pp. 103–114). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-65441-1_23
- Forouzanfar, M. H., Liu, P., Roth, G. A., Ng, M., Biryukov, S., Marczak, L., Alexander, L., Estep, K., Hassen Abate, K., Akinyemiju, T. F., Ali, R., Alvis-Guzman, N., Azzopardi, P., Banerjee, A., Bärnighausen, T., Basu, A., Bekele, T., Bennett, D. A., Biadgilign, S., ... Murray, C. J. L. (2017). Global Burden of Hypertension and Systolic Blood Pressure of at Least 110 to 115 mm Hg, 1990-2015. *JAMA*, 317(2), 165. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.19043>
- Garthwaite, J. (2019). NO as a multimodal transmitter in the brain: discovery and current status. *British Journal of Pharmacology*, 176(2), 197–211. <https://doi.org/10.1111/bph.14532>
- Garthwaite, J., Charles, S. L., & Chess-Williams, R. (1988). Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature*, 336(6197), 385–388. <https://doi.org/10.1038/336385a0>
- Gava, N. S., Vêras-Silva, A. S., Negrão, C. E., & Krieger, E. M. (1995). Low-Intensity Exercise Training Attenuates Cardiac β -Adrenergic Tone During Exercise in

- Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension*, 26(6), 1129–1133. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.26.6.1129>
- Gesztelyi, G., Finnegan, W., DeMaro, J. A., Wang, J.-Y., Chen, J.-L., & Fenstermacher, J. (1993). Parenchymal microvascular systems and cerebral atrophy in spontaneously hypertensive rats. *Brain Research*, 611(2), 249–257. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90510-T](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90510-T)
- Gordan, R., Gwathmey, J. K., & Xie, L.-H. (2015). Autonomic and endocrine control of cardiovascular function. *World Journal of Cardiology*, 7(4), 204. <https://doi.org/10.4330/wjc.v7.i4.204>
- Grassi, G., Mark, A., & Esler, M. (2015). The Sympathetic Nervous System Alterations in Human Hypertension. *Circulation Research*, 116(6), 976–990. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303604>
- Griendling, K. K., Sorescu, D., & Ushio-Fukai, M. (2000). NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research*, 86(5), 494–501. <https://doi.org/10.1161/01.res.86.5.494>
- Gross, C. G. (1998). Claude Bernard and the Constancy of the Internal Environment. *The Neuroscientist*, 4(5), 380–385. <https://doi.org/10.1177/107385849800400520>
- Guggilam, A., Haque, M., Kerut, E. K., McIlwain, E., Lucchesi, P., Seghal, I., & Francis, J. (2007). TNF- α blockade decreases oxidative stress in the paraventricular nucleus and attenuates sympathoexcitation in heart failure rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 293(1), H599–H609. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00286.2007>
- Guyenet, P. G. (2006). The sympathetic control of blood pressure. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(5), 335–346. <https://doi.org/10.1038/nrn1902>
- Harrison, D. G., Guzik, T. J., Lob, H. E., Madhur, M. S., Marvar, P. J., Thabet, S. R., Vinh, A., & Weyand, C. M. (2011). Inflammation, Immunity, and Hypertension. *Hypertension*, 57(2), 132–140. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.163576>
- Hellström, B. (1975). Heat Vasodilatation of the Rat Tail. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 53(2), 202–206. <https://doi.org/10.1139/y75-029>

Hilton, S. M. (1982). The Defence-Arousal System and its Relevance for Circulatory and Respiratory Control. *Journal of Experimental Biology*, *100*(1), 159–174. <https://doi.org/10.1242/jeb.100.1.159>

Hong, Y., Yang, A.-L., Wong, J. K. S., Masodsai, K., Lee, S.-D., & Lin, Y.-Y. (2022). Exercise intervention prevents early aged hypertension-caused cardiac dysfunction through inhibition of cardiac fibrosis. *Aging*, *14*(10), 4390–4401. <https://doi.org/10.18632/aging.204077>

Hsu, H., Xiong, J., & Goeddel, D. V. (1995). The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF- κ B activation. *Cell*, *81*(4), 495–504. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90070-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90070-5)

Huang, B., Cheng, Y., Usa, K., Liu, Y., Baker, M. A., Mattson, D. L., He, Y., Wang, N., & Liang, M. (2016). Renal Tumor Necrosis Factor α Contributes to Hypertension in Dahl Salt-Sensitive Rats. *Scientific Reports*, *6*(1), 21960. <https://doi.org/10.1038/srep21960>

Huang, C.-Y., Yang, A.-L., Lin, Y.-M., Wu, F.-N., Lin, J. A., Chan, Y.-S., Tsai, F.-J., Tsai, C.-H., Kuo, C.-H., & Lee, S.-D. (2012). Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *112*(5), 883–891. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00605.2011>

IBGE. (2021). *Área territorial - Brasil, Grandes Regiões, Unidades da Federação e Municípios*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/estrutura-territorial/15761-areas-dos-municipios.html?t=acesso-ao-produto&c=1>

Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy Research and Technique*, *50*(3), 184–195. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000801\)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000801)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H)

Jia, L.-L., Kang, Y.-M., Wang, F.-X., Li, H.-B., Zhang, Y., Yu, X.-J., Qi, J., Suo, Y.-P., Tian, Z.-J., Zhu, Z., Zhu, G.-Q., & Qin, D.-N. (2014). Exercise Training Attenuates Hypertension and Cardiac Hypertrophy by Modulating Neurotransmitters and Cytokines in Hypothalamic Paraventricular Nucleus. *PLoS ONE*, *9*(1), e85481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085481>

- Jordão, M. T., Ceroni, A., & Michelini, L. C. (2021). Perfusion of Brain Preautonomic Areas in Hypertension: Compensatory Absence of Capillary Rarefaction and Protective Effects of Exercise Training. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.773415>
- Judy, W. V., Watanabe, A. M., Henry, D. P., Besch, H. R., Murphy, W. R., & Hockel, G. M. (1976). Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation Research*, 38(6), 21–29. <https://doi.org/10.1161/01.RES.38.6.21>
- Kabat, H. (1935). Electrical stimulation of points in the forebrain and midbrain. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 34(5), 931. <https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1935.02250230003001>
- Kalliolias, G. D., & Ivashkiv, L. B. (2016). TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.169>
- Kalsbeek, A., & Buijs, R. M. (2021). *Organization of the neuroendocrine and autonomic hypothalamic paraventricular nucleus* (pp. 45–63). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00004-5>
- Kang, Y.-M., He, R.-L., Yang, L.-M., Qin, D.-N., Guggilam, A., Elks, C., Yan, N., Guo, Z., & Francis, J. (2009). Brain tumour necrosis factor- modulates neurotransmitters in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure. *Cardiovascular Research*, 83(4), 737–746. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp160>
- Kemi, O. J., Haram, P. M., Loennechen, J. P., Osnes, J.-B., Skomedal, T., Wisløff, U., & Ellingsen, Ø. (2005). Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular Research*, 67(1), 161–172. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.03.010>
- Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M., & Verkhratsky, A. (2011). Physiology of microglia. *Physiological Reviews*, 91(2), 461–553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010>
- Kimura, Y., Hirooka, Y., Sagara, Y., Ito, K., Kishi, T., Shimokawa, H., Takeshita, A., & Sunagawa, K. (2005). Overexpression of Inducible Nitric Oxide Synthase in Rostral Ventrolateral Medulla Causes Hypertension and Sympathoexcitation via an Increase

in Oxidative Stress. *Circulation Research*, 96(2), 252–260.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000152965.75127.9d>

Kishi, T., Hirooka, Y., Katsuki, M., Ogawa, K., Shinohara, K., Isegawa, K., & Sunagawa, K. (2012). Exercise Training Causes Sympathoinhibition Through Antioxidant Effect in the Rostral Ventrolateral Medulla of Hypertensive Rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 34(4), 278–283.
<https://doi.org/10.3109/10641963.2012.681084>

Kishi, T., Hirooka, Y., Kimura, Y., Ito, K., Shimokawa, H., & Takeshita, A. (2004). Increased Reactive Oxygen Species in Rostral Ventrolateral Medulla Contribute to Neural Mechanisms of Hypertension in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats. *Circulation*, 109(19), 2357–2362.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000128695.49900.12>

Kondo, Y., Ozawa, A., Kohno, D., Saito, K., Buyandalai, B., Yamada, S., Horiguchi, K., Nakajima, Y., Shibusawa, N., Harada, A., Yokoo, H., Akiyama, H., Sasaki, T., Kitamura, T., & Yamada, M. (2021). The Hypothalamic Paraventricular Nucleus Is the Center of the Hypothalamic–Pituitary–Thyroid Axis for Regulating Thyroid Hormone Levels. *Thyroid*. <https://doi.org/10.1089/thy.2021.0444>

Kramer, J. M., Beatty, J. A., Little, H. R., Plowey, E. D., & Waldrop, T. G. (2001). Chronic exercise alters caudal hypothalamic regulation of the cardiovascular system in hypertensive rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280(2), R389–R397.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.280.2.R389>

Kramer, J. M., Beatty, J. A., Plowey, E. D., & Waldrop, T. G. (2002). Exercise And Hypertension: A Model For Central Neural Plasiicty. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 29(1–2), 122–126. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03610.x>

Kreutzberg, G. W. (1996). Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends in Neurosciences*, 19(8), 312–318. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(96\)10049-7](https://doi.org/10.1016/0166-2236(96)10049-7)

Krogh, A. (1929). The Progress of Physiology. *Science*, 70(1809), 200–204.
<https://doi.org/10.1126/science.70.1809.200>

- Kubota, Y., Umegaki, K., Kagota, S., Tanaka, N., Nakamura, K., Kunitomo, M., & Shinozuka, K. (2006). Evaluation of Blood Pressure Measured by Tail-Cuff Methods (without Heating) in Spontaneously Hypertensive Rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(8), 1756–1758. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.1756>
- Lemos, M. de P., Mota, G. R. da, Marocolo, M., Sordi, C. C. de, Chrigrer, R. S., & Barbosa Neto, O. (2018). Exercise Training Attenuates Sympathetic Activity and Improves Morphometry of Splenic Arterioles in Spontaneously Hipertensive Rats. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 110(3), 263–269. <https://doi.org/10.5935/abc.20180053>
- Levick, S. P., Murray, D. B., Janicki, J. S., & Brower, G. L. (2010). Sympathetic Nervous System Modulation of Inflammation and Remodeling in the Hypertensive Heart. *Hypertension*, 55(2), 270–276. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.142042>
- Li, J.-Y., Chen, C.-W., Liu, T.-H., Kuo, T. B., & Yang, C. C. (2019). Exercise Prevents Hypertension and Disrupts the Correlation Between Vascular Sympathetic Activity and Age-Related Increase in Blood Pressure in SHR. *American Journal of Hypertension*, 32(11), 1091–1100. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpz115>
- Li, Y.-F., & Patel, K. P. (2003). Paraventricular nucleus of the hypothalamus and elevated sympathetic activity in heart failure: the altered inhibitory mechanisms. *Acta Physiologica Scandinavica*, 177(1), 17–26. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01043.x>
- Lin, H., Sardana, M., Zhang, Y., Liu, C., Trinquart, L., Benjamin, E. J., Manders, E. S., Fusco, K., Kornej, J., Hammond, M. M., Spartano, N. L., Pathiravasan, C. H., Kheterpal, V., Nowak, C., Borrelli, B., Murabito, J. M., & McManus, D. D. (2020). Association of Habitual Physical Activity with Cardiovascular Disease Risk. *Circulation Research*, 127(10), 1253–1260. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317578>
- Liu, T., Clark, R. K., McDonnell, P. C., Young, P. R., White, R. F., Barone, F. C., & Feuerstein, G. Z. (1994). Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke*, 25(7), 1481–1488. <https://doi.org/10.1161/01.STR.25.7.1481>
- Lopes, P. R., Moreira, M. C. S., Marques, S. M., Pinto, I. S. J., Macedo, L. M., Silva, C. C., Freiria-Oliveira, A. H., Rebelo, A. C. S., Reis, A. A. S., Rosa, D. A., Ferreira-Neto, M. L., Castro, C. H., & Pedrino, G. R. (2016). Association of exercise training

and angiotensin-converting enzyme 2 activator improves baroreflex sensitivity of spontaneously hypertensive rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 49(9). <https://doi.org/10.1590/1414-431x20165349>

Lynch, M. A. (2009). The Multifaceted Profile of Activated Microglia. *Molecular Neurobiology*, 40(2), 139–156. <https://doi.org/10.1007/s12035-009-8077-9>

Ma, S., Zhu, X.-Y., Eirin, A., Woollard, J. R., Jordan, K. L., Tang, H., Lerman, A., & Lerman, L. O. (2016). Perirenal Fat Promotes Renal Arterial Endothelial Dysfunction in Obese Swine through Tumor Necrosis Factor- α . *Journal of Urology*, 195(4 Part 1), 1152–1159. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.08.105>

MacEwan, D. J. (2002). TNF receptor subtype signalling: Differences and cellular consequences. *Cellular Signalling*, 14(6), 477–492. [https://doi.org/10.1016/S0898-6568\(01\)00262-5](https://doi.org/10.1016/S0898-6568(01)00262-5)

Malta, D. C., França, E., Abreu, D. M. X., Perillo, R. D., Salmen, M. C., Teixeira, R. A., Passos, V., Souza, M. de F. M., Mooney, M., & Naghavi, M. (2017). Mortality due to noncommunicable diseases in Brazil, 1990 to 2015, according to estimates from the Global Burden of Disease study. *Sao Paulo Medical Journal*, 135(3), 213–221. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2016.0330050117>

Marvar, P. J., Lob, H., Vinh, A., Zarreen, F., & Harrison, D. G. (2011). The central nervous system and inflammation in hypertension. *Current Opinion in Pharmacology*, 11(2), 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.12.001>

Masson, G. S., Borges, J. P., da Silva, P. P. S., da Nóbrega, A. C. L., Tibiriçá, E., & Lessa, M. A. (2016). Effect of continuous and interval aerobic exercise training on baroreflex sensitivity in heart failure. *Autonomic Neuroscience : Basic & Clinical*, 197, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2016.03.003>

Masson, G. S., Costa, T. S. R., Yshii, L., Fernandes, D. C., Soares, P. P. S., Laurindo, F. R., Scavone, C., & Michelini, L. C. (2014). Time-Dependent Effects of Training on Cardiovascular Control in Spontaneously Hypertensive Rats: Role for Brain Oxidative Stress and Inflammation and Baroreflex Sensitivity. *PLoS ONE*, 9(5), e94927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094927>

McBryde, F. D., Liu, B. H., Roloff, E. V., Kasparov, S., & Paton, J. F. R. (2018). Hypothalamic paraventricular nucleus neuronal nitric oxide synthase activity is a major

determinant of renal sympathetic discharge in conscious Wistar rats. *Experimental Physiology*, 103(3), 419–428. <https://doi.org/10.1113/EP086744>

Mehta, P. K., & Griendling, K. K. (2007). Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 292(1), C82–C97. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00287.2006>

Morgan, M. J., & Liu, Z. (2010). Reactive oxygen species in TNF α -induced signaling and cell death. *Molecules and Cells*, 30(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10059-010-0105-0>

Mourão, A. A., Shimoura, C. G., Andrade, M. A., Truong, T. T., Pedrino, G. R., & Toney, G. M. (2021). Local ionotropic glutamate receptors are required to trigger and sustain ramping of sympathetic nerve activity by hypothalamic paraventricular nucleus TNF α . *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 321(3), H580–H591. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00322.2021>

Mulvany, M. J., Hansen, O. K., & Aalkjaer, C. (1978). Direct evidence that the greater contractility of resistance vessels in spontaneously hypertensive rats is associated with a narrowed lumen, a thickened media, and an increased number of smooth muscle cell layers. *Circulation Research*, 43(6), 854–864. <https://doi.org/10.1161/01.RES.43.6.854>

Murdoch, C. E., Alom-Ruiz, S. P., Wang, M., Zhang, M., Walker, S., Yu, B., Brewer, A., & Shah, A. M. (2011). Role of endothelial Nox2 NADPH oxidase in angiotensin II-induced hypertension and vasomotor dysfunction. *Basic Research in Cardiology*, 106(4), 527–538. <https://doi.org/10.1007/s00395-011-0179-7>

Nagae, A., Fujita, M., Kawarazaki, H., Matsui, H., Ando, K., & Fujita, T. (2009). Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension. *Circulation*, 119(7), 978–986. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.824730>

Natoli, G., Costanzo, A., Moretti, F., Fulco, M., Balsano, C., & Levrero, M. (1997). Tumor Necrosis Factor (TNF) Receptor 1 Signaling Downstream of TNF Receptor-associated Factor 2. *Journal of Biological Chemistry*, 272(42), 26079–26082. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.42.26079>

- Negrão, C. E., Irigoyen, M. C., Moreira, E. D., Brum, P. C., Freire, P. M., & Krieger, E. M. (1993). Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 265(2), R365–R370. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1993.265.2.R365>
- Niitsu, Y., Watanabe, N., Neda, H., Yamauchi, N., Maeda, M., Sone, H., & Kuriyama, H. (1988). Induction of synthesis of tumor necrosis factor in human and murine cell lines by exogenous recombinant human tumor necrosis factor. *Cancer Research*, 48(19), 5407–5410. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3416298>
- Nishihara, M., Hirooka, Y., Kishi, T., & Sunagawa, K. (2012). Different role of oxidative stress in paraventricular nucleus and rostral ventrolateral medulla in cardiovascular regulation in awake spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 30(9), 1758–1765. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32835613d7>
- Nishihara, M., Hirooka, Y., Matsukawa, R., Kishi, T., & Sunagawa, K. (2012). Oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla modulates excitatory and inhibitory inputs in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 30(1), 97–106. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32834e1df4>
- Ogboo, B. C., Grabovyy, U. V., Maini, A., Scouten, S., van der Vliet, A., Mattevi, A., & Heppner, D. E. (2022). Architecture of the NADPH oxidase family of enzymes. *Redox Biology*, 52, 102298. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102298>
- Okamoto, K., & Aoki, K. (1963). Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. *Japanese Circulation Journal*, 27(3), 282–293. <https://doi.org/10.1253/jcj.27.282>
- Oliveira, G. M. M. de, Brant, L. C. C., Polanczyk, C. A., Malta, D. C., Biolo, A., Nascimento, B. R., Souza, M. de F. M. de, Lorenzo, A. R. De, Fagundes, A. A. de P., Schaan, B. D., Castilho, F. M. de, Cesena, F. H. Y., Soares, G. P., Xavier, G. F., Barreto, J. A. S., Passaglia, L. G., Pinto, M. M., Machline-Carrion, M. J., Bittencourt, M. S., ... Ribeiro, A. L. P. (2022). Estatística Cardiovascular – Brasil 2021. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 118(1), 115–373. <https://doi.org/10.36660/abc.20211012>
- Patel, K. P. (2000). Role of paraventricular nucleus in mediating sympathetic outflow in heart failure. *Heart Failure Reviews*, 5(1), 73–86. <https://doi.org/10.1023/A:1009850224802>

- Peterson, J. R., Sharma, R. V., & Davisson, R. L. (2006). Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. *Current Hypertension Reports*, *8*(3), 232–241. <https://doi.org/10.1007/s11906-006-0056-1>
- Petriz, B. A., Almeida, J. A., Gomes, C. P. C., Ernesto, C., Pereira, R. W., & Franco, O. L. (2015). Exercise performed around MLSS decreases systolic blood pressure and increases aerobic fitness in hypertensive rats. *BMC Physiology*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/s12899-015-0015-7>
- Qin, C., Li, J., & Tang, K. (2018). The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus: Development, Function, and Human Diseases. *Endocrinology*, *159*(9), 3458–3472. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00453>
- Raquel, H. A., Manica, L. A., Ceroni, A., & Michelini, L. C. (2022). Exercise training improves cardiovascular control in sinoaortic denervated SHR by reducing the elevated angiotensin II and augmenting angiotensin-(1–7) availability within autonomic and neuroendocrine PVN nuclei. *Peptides*, *153*, 170798. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170798>
- Sabbatini, M., Strocchi, P., Vitaioli, L., & Amenta, F. (2001). Microanatomical changes of intracerebral arteries in spontaneously hypertensive rats: a model of cerebrovascular disease of the elderly. *Mechanisms of Ageing and Development*, *122*(12), 1257–1268. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(01\)00234-2](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(01)00234-2)
- Saper, C. B., & Lowell, B. B. (2014). The hypothalamus. *Current Biology*, *24*(23), R1111–R1116. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.023>
- Schlüter, K.-D., Schreckenber, R., & da Costa Rebelo, R. M. (2010). Interaction between exercise and hypertension in spontaneously hypertensive rats: a meta-analysis of experimental studies. *Hypertension Research*, *33*(11), 1155–1161. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.155>
- Selye, H. (1946). The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *6*(2), 117–230. <https://doi.org/10.1210/jcem-6-2-117>
- Selye, H. (1950). Stress and the General Adaptation Syndrome. *BMJ*, *1*(4667), 1383–1392. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.4667.1383>

- Shabab, T., Khanabdali, R., Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., & Mohan, G. (2017). Neuroinflammation pathways: a general review. *The International Journal of Neuroscience*, 127(7), 624–633. <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854>
- Shahid, M., Francis, J., Matrougui, K., & Majid, D. S. A. (2010). Involvement of tumor necrosis factor- α in natriuretic response to systemic infusion of nitric oxide synthase inhibitor in anesthetized mice. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 299(1), F217–F224. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00611.2009>
- Sharma, R. K., Yang, T., Oliveira, A. C., Lobaton, G. O., Aquino, V., Kim, S., Richards, E. M., Pepine, C. J., Sumners, C., & Raizada, M. K. (2019). Microglial Cells Impact Gut Microbiota and Gut Pathology in Angiotensin II-Induced Hypertension. *Circulation Research*, 124(5), 727–736. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313882>
- Shatwell, K. P., & Segal, A. W. (1996). NADPH oxidase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 28(11), 1191–1195. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(96\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(96)00084-2)
- Shi, P., Diez-Freire, C., Jun, J. Y., Qi, Y., Katovich, M. J., Li, Q., Sriramula, S., Francis, J., Sumners, C., & Raizada, M. K. (2010). Brain Microglial Cytokines in Neurogenic Hypertension. *Hypertension*, 56(2), 297–303. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150409>
- Shi, P., Raizada, M. K., & Sumners, C. (2010). Brain cytokines as neuromodulators in cardiovascular control. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 37(2), e52–e57. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2009.05234.x>
- Shi, Z., Jiang, S., Wang, G., Xu, A., & Guo, L. (2014). Pro-inflammatory cytokines in paraventricular nucleus mediate the cardiac sympathetic afferent reflex in hypertension. *Autonomic Neuroscience*, 186(C), 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2014.10.001>
- Silva, L. R. B., Gentil, P. R. V., Beltrame, T., Basso Filho, M. A., Alves, F. M., Silva, M. S., Pedrino, G. R., Ramirez-Campillo, R., Coswig, V., & Rebelo, A. C. S. (2019). Exponential model for analysis of heart rate responses and autonomic cardiac modulation during different intensities of physical exercise. *Royal Society Open Science*, 6(10), 190639. <https://doi.org/10.1098/rsos.190639>

- Sriramula, S., Cardinale, J. P., Lazartigues, E., & Francis, J. (2011). ACE2 overexpression in the paraventricular nucleus attenuates angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovascular Research*, 92(3), 401–408. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr242>
- Stence, N., Waite, M., & Dailey, M. E. (2001). Dynamics of microglial activation: A confocal time-lapse analysis in hippocampal slices. *Glia*, 33(3), 256–266. [https://doi.org/10.1002/1098-1136\(200103\)33:3<256::AID-GLIA1024>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1098-1136(200103)33:3<256::AID-GLIA1024>3.0.CO;2-J)
- Swanson, L. W., & Sawchenko, P. E. (1980). Paraventricular Nucleus: A Site for the Integration of Neuroendocrine and Autonomic Mechanisms. *Neuroendocrinology*, 31(6), 410–417. <https://doi.org/10.1159/000123111>
- The Wisdom of the Body. (1934). *Nature*, 133(3351), 82–82. <https://doi.org/10.1038/133082a0>
- Toni, R., Malaguti, A., Benfenati, F., & Martini, L. (2004). The human hypothalamus: a morpho-functional perspective. *Journal of Endocrinological Investigation*, 27(6 Suppl), 73–94.
- Touyz, R. M., Rios, F. J., Alves-Lopes, R., Neves, K. B., Camargo, L. L., & Montezano, A. C. (2020). Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*, 36(5), 659–670. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.02.081>
- Udriste, C., Golubyatnikov, V., & Tevy, I. (2021). Economic Cycles of Carnot Type. *Entropy*, 23(10), 1344. <https://doi.org/10.3390/e23101344>
- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N. A., Poulter, N. R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G. S., Tomaszewski, M., Wainford, R. D., Williams, B., & Schutte, A. E. (2020). 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension*, 75(6), 1334–1357. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>
- Vasan, R. S., Larson, M. G., Leip, E. P., Evans, J. C., O'Donnell, C. J., Kannel, W. B., & Levy, D. (2001). Impact of High-Normal Blood Pressure on the Risk of Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine*, 345(18), 1291–1297. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa003417>
- Waki, H., Gouraud, S. S., Maeda, M., & Paton, J. F. R. (2008). Specific inflammatory condition in nucleus tractus solitarius of the SHR: Novel insight for neurogenic

hypertension? *Autonomic Neuroscience*, 142(1–2), 25–31.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2008.07.003>

Wang, K., Xu, Y., Yang, W., & Zhang, Y. (2017). Insufficient hypothalamic angiotensin-converting enzyme 2 is associated with hypertension in SHR rats. *Oncotarget*, 8(12), 20244–20251. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15666>

Wei, S.-G., Yu, Y., & Felder, R. B. (2021). TNF- α -induced sympathetic excitation requires EGFR and ERK1/2 signaling in cardiovascular regulatory regions of the forebrain. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 320(2), H772–H786. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00606.2020>

Wei, S.-G., Yu, Y., Zhang, Z.-H., & Felder, R. B. (2009). Angiotensin II upregulates hypothalamic AT1 receptor expression in rats via the mitogen-activated protein kinase pathway. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 296(5), H1425-33. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00942.2008>

Wei, S.-G., Yu, Y., Zhang, Z.-H., Weiss, R. M., & Felder, R. B. (2008). Mitogen-Activated Protein Kinases Mediate Upregulation of Hypothalamic Angiotensin II Type 1 Receptors in Heart Failure Rats. *Hypertension*, 52(4), 679–686. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.113639>

Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Casey, D. E., Collins, K. J., Dennison Himmelfarb, C., DePalma, S. M., Gidding, S., Jamerson, K. A., Jones, D. W., MacLaughlin, E. J., Muntner, P., Ovbiagele, B., Smith, S. C., Spencer, C. C., Stafford, R. S., Taler, S. J., Thomas, R. J., Williams, K. A., ... Wright, J. T. (2018). 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension*, 71(6), 1269–1324. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000066>

World Health Organization. (2021, June 11). *Cardiovascular diseases (CVDs)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))

Wu, K. L., Chan, S. H., & Chan, J. Y. (2012). Neuroinflammation and oxidative stress in rostral ventrolateral medulla contribute to neurogenic hypertension induced by systemic inflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 212. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-212>

- Xia, H., Feng, Y., Obr, T. D., Hickman, P. J., & Lazartigues, E. (2009). Angiotensin II Type 1 Receptor-Mediated Reduction of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Activity in the Brain Impairs Baroreflex Function in Hypertensive Mice. *Hypertension*, *53*(2), 210–216. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.123844>
- Xia, W.-J., Xu, M.-L., Yu, X.-J., Du, M.-M., Li, X.-H., Yang, T., Li, L., Li, Y., Kang, K. B., Su, Q., Xu, J.-X., Shi, X.-L., Wang, X.-M., Li, H.-B., & Kang, Y.-M. (2021). Antihypertensive effects of exercise involve reshaping of gut microbiota and improvement of gut-brain axis in spontaneously hypertensive rat. *Gut Microbes*, *13*(1), 1–24. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1854642>
- Yardley, C. P., & Hilton, S. M. (1986). The hypothalamic and brainstem areas from which the cardiovascular and behavioural components of the defence reaction are elicited in the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, *15*(3), 227–244. [https://doi.org/10.1016/0165-1838\(86\)90066-4](https://doi.org/10.1016/0165-1838(86)90066-4)
- Young, C. N., & Davisson, R. L. (2015). Angiotensin-II, the Brain, and Hypertension. *Hypertension*, *66*(5), 920–926. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.03624>
- Yu, Y., Wei, S.-G., Zhang, Z.-H., Weiss, R. M., & Felder, R. B. (2016). ERK1/2 MAPK signaling in hypothalamic paraventricular nucleus contributes to sympathetic excitation in rats with heart failure after myocardial infarction. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *310*(6), H732–H739. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00703.2015>
- Zhang, J., Patel, M. B., Griffiths, R., Mao, A., Song, Y., Karlovich, N. S., Sparks, M. A., Jin, H., Wu, M., Lin, E. E., & Crowley, S. D. (2014). Tumor Necrosis Factor- α Produced in the Kidney Contributes to Angiotensin II-dependent Hypertension. *Hypertension*, *64*(6), 1275–1281. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03863>
- Zhang, J.-M., & An, J. (2007). Cytokines, Inflammation, and Pain. *International Anesthesiology Clinics*, *45*(2), 27–37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
- Zhang, Z.-H., Wei, S.-G., Francis, J., & Felder, R. B. (2003). Cardiovascular and renal sympathetic activation by blood-borne TNF- α in rat: the role of central prostaglandins. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *284*(4), R916-27. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00406.2002>

Zimmerman, M. C., Lazartigues, E., Sharma, R. V., & Davisson, R. L. (2004). Hypertension Caused by Angiotensin II Infusion Involves Increased Superoxide Production in the Central Nervous System. *Circulation Research*, 95(2), 210–216. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000135483.12297.e4>