

Caracterização bioquímica e composição corporal de um modelo de treinamento físico de natação em ratos

Biochemical characterization and body composition of a model of physical training by swimming in rats

Hiviny de Ataiades Raquel, Aryel Augusto Sartorelli Lyra, Camila Oliveira de Souza, Helenir Medri de Souza, Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia, Marli Cardoso Martins-Pinge

Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, Brasil.

Endereço para correspondência:

Marli Cardoso Martins-Pinge
Universidade Estadual de Londrina
Departamento de Ciências Fisiológicas
E-mail: martinspinge@uel.br

Resumo

O protocolo de treinamento físico por natação de 4 semanas em ratos ainda não havia sido caracterizado, o que poderia melhor apoiar resultados anteriores e validar o modelo. Para isso, ratos Wistar foram submetidos à natação (Gtr) por quatro semanas ou sedentarismo (Gsed). Depois do treinamento foi coletado sangue para analisar corticosterona, lactato e glicose. Gordura visceral e gonadal, músculo Sóleo, glândulas supra-renais e coração foram pesados. O índice de massa corporal também foi estimado. Nossos dados mostraram que este protocolo de natação promoveu menor ganho de peso corporal, menor valores para gordura retroperitoneal e perigonadal e maior peso do coração. Níveis de corticosterona não foram alterados após treinamento (Gsed: $5,31 \pm 0,38$ mg / dL vs. Gtr: $5,09 \pm 0,50$ mg / dL). A glicose, só mudou quando avaliada imediatamente após treinamento, estando aumentada comparada aos sedentários (Gsed: $124,14 \pm 2,56$ mg / dL vs. Gtr: $140,26 \pm 04.01$ mg / dL). Lactato diminuiu nos animais treinados em ambas as condições (0h: Gsed: $3,74 \pm 0,15$ mm vs. Gtr/0h: $3,22 \pm 0,25$ mM e 24 h: Gsed: $3,74 \pm 0,15$ mm vs. Gtr/24h: $2,96 \pm 0,13$ mM). Nós acreditamos que este protocolo de treinamento físico é válido para fornecer promoção de saúde.

Palavras-chave: Corticosterona, lactato, glicose, tecido adiposo, peso corporal, exercício.

Abstract

A protocol of physical training by swimming of 4 weeks in rats had not been yet characterized which could better support previous findings and validate the model. To this end Wistar rats were submitted to swimming training (Gtr) for four weeks or made sedentary (Gsed). After training the blood was collected for corticosterone, lactic acid and glucose analysis. Visceral and gonadal fat, soleus muscle, adrenal glands and heart were weighted. The body mass index

was also estimated. Our data showed that this protocol of swimming promoted less body weight gain, lower values for retroperitoneal and perigonadal fat and higher heart weight. Corticosterone levels were not altered after exercise training (Gsed: 5.31 ± 0.38 mg / dL vs. Gtr: 5.09 ± 0.50 mg / dL). The glucose, only changed when it was evaluated immediately after training, been increased compared to sedentary (Gsed: 124.14 ± 2.56 mg / dL vs. Gtr: 140.26 ± 04.01 mg / dL). Lactic acid decreased in trained animals in both conditions (0h: Gsed: 3.74 ± 0.15 mM vs. Gtr/0h: 3.22 ± 0.25 mM and 24 h: Gsed: 3.74 ± 0.15 mM vs. Gtr/24h: 2.96 ± 0.13 mM). We believe that this protocol of physical training is valid to provide health promotion.

Key words: Corticosterone, lactic acid, glucose, adipose tissue, body weight, exercise.

INTRODUÇÃO

A prática de exercício físico caracteriza-se por uma situação que retira o organismo de sua homeostase, e isto implica em diversas adaptações fisiológicas tanto do sistema cardiovascular⁽¹⁾, respiratório e metabólico⁽²⁾ para a manutenção energética seja durante ou após o esforço físico. O aumento do débito cardíaco, frequência cardíaca⁽³⁾, ventilação, liberação de hormônios⁽⁴⁾ e aumento da atividade simpática⁽⁵⁾ são alguns exemplos de adaptações agudas acionadas para suprir a nova demanda metabólica.

Alterações crônicas em parâmetros fisiológicos e metabólicos como pressão arterial, frequência cardíaca⁽⁶⁾, metabolismo da glicose, lactato, perda de tecido adiposo e ganho de massa muscular^(2;4) são alguns dos diversos efeitos benéficos do treinamento físico ao organismo e por isso, o treinamento aeróbio de baixa intensidade, têm-se demonstrado forte aliado no tratamento de doenças crônicas degenerativas como hipertensão arterial⁽⁷⁾, Diabetes Mellitus⁽⁸⁾, obesidade⁽⁹⁾ e insuficiência cardíaca⁽¹⁰⁾.

Muitos estudos com protocolos de exercícios físicos aeróbios para ratos têm sido desenvolvidos nas últimas décadas^(1;3). Tais investigações buscam evidenciar os diferentes mecanismos pelo qual o treinamento físico provoca alterações no organismo e como isso melhora as condições de sobrevivência e capacidade física dos animais, revertendo muitas vezes, aspectos patofisiológicos. A natação têm sido importante ferramenta metodológica para investigar alterações de composição corporal, metabolismo energético, funções cardiovasculares e respiratórias nos animais, pois, apresenta-se como uma intervenção econômica e eficiente sobre os diferentes parâmetros fisiológicos^(11;12).

Nosso laboratório tem estudado em ratos as alterações de variáveis cardiovasculares provocadas através do protocolo de treinamento físico de natação. Tem sido observado que este protocolo é capaz de promover bradicardia de repouso^(13;14), queda nas respostas pressóricas ao L-glutamato na área Rostroventrolateral do Bulbo (RVLM)⁽¹³⁾, diminuição do componente simpático e aumento do parassimpático na modulação autonômica do coração⁽¹⁵⁾ e alterações nos efeitos tônicos da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) por modulação do núcleo Paraventricular do Hipotálamo (PVN)^(15;16). Apesar disso, até o momento, esse protocolo de exercício físico de natação para ratos ainda não tinha sido caracterizado sob os aspectos bioquímicos e de composição corporal, o que, pode fortalecer e dar suporte a achados prévios e validar esse modelo de treinamento.

Portanto, considerando que o protocolo de natação usado pelo nosso grupo foi eficiente em provocar alterações em parâmetros cardiovasculares periféricos e centrais, o objetivo deste estudo foi caracterizar este modelo de treinamento físico de natação para ratos nos aspectos de composição corporal, corticosterona, lactato e níveis plasmáticos de glicose.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Todos os experimentos foram realizados em ratos Wistar adultos (n=55), com peso de aproximadamente 220 até 240 g (no início do treinamento), disponibilizados pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina, Londrina-Paraná-Brasil. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas, sendo 5 animais por caixa, em sala silenciosa, com ciclo claro-escuro de 12:12h. Água e ração foram disponíveis “*ad libitum*” durante os experimentos. Todos os protocolos experimentais foram realizados de acordo com o Guia para Cuidados e Utilização de Animais em Laboratório e os Princípios Éticos na Experimentação Animal estabelecidos pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e, além disso, foram aprovados pelo Comitê de ética em experimentação animal da Universidade Estadual de Londrina (processo número: 3524.2011.45).

Protocolo de treinamento: Natação

O protocolo de natação foi realizado do grupo treinamento (Gtr) em um tanque de vidro com 4000cm² de área de superfície e 60 cm de profundidade, com água aquecida a 31±1°C. A natação foi realizada sempre no período matutino (entre 11:00h e 13:00h). Os animais do grupo sedentários (Gsed) não foram submetidos ao treinamento físico, mas tiveram controle semanal do peso corporal através de pesagem diária. O protocolo de natação consistiu de 4 semanas de treinamento sendo realizada 5 vezes por semana e 60 minutos por dia, de acordo com estudo prévio⁽¹³⁾.

Composição Corporal

Peso corporal

O peso corporal dos animais foi avaliado desde o primeiro dia quando eles chegaram do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina até o último dia de protocolo experimental. O peso corporal sempre foi avaliado antes do treinamento físico, usando uma balança digital e os valores eram anotados em uma planilha e posteriormente os dados utilizados análise estatística de curva de crescimento e ganho de peso dos animais.

Índice de Lee e distância naso-anal

O índice de massa corporal para ratos foi estimado pelo cálculo do índice de Lee [$\sqrt[3]{\text{peso corporal} / \text{distância naso-anal} \times 1000}$]. O comprimento naso-anal foi obtido através da mensuração com fita métrica, no momento final do experimento, quando os animais foram anestesiados e submetidos em seguida a eutanásia e coleta de tecidos.

Coleta de tecidos

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg / kg, ip) para medida do comprimento naso-anal e então sacrificados por guilhotina para remoção e pesagem de tecido adiposo: visceral e gonadal; músculo Sóleo; glândula adrenal e coração.

Análises bioquímicas

Corticosterona

Vinte e quatro horas depois da última sessão de exercício os animais foram alojados em ambiente silencioso, onde eles permaneceram em repouso por 30 minutos. Então, foram eutanasiados por guilhotina para retirada de sangue e separação de plasma. As amostras de plasma foram transferidas para tubos de ensaio de vidro heparinizados e mantidos a 4° C até a centrifugação a 2000 RPM (4°C, por 15 minutos). O plasma obtido foi estocado em -20°C e usado para análises bioquímicas.

A concentração de corticosterona no plasma foi determinada por método fluorimétrico modificado por Guillemin ⁽¹⁷⁾, usando como padrão (1mg de corticosterona em 10mL de álcool etílico anidro), diclorometano, ácido sulfúrico concentrado, 0.1 M NaOH em água destilada, álcool etílico anidro e 100 mL de plasma. A fluorescência foi determinada em um leitor de microplaca Victor ®, com nível de velocidade 477, emissão de 520 e sensibilidade 11. A concentração de corticosterona foi obtida em µg/dL.

Lactato e glicose

As concentrações de lactato no plasma de animais dos Gtr e Gsed foram analisadas em repouso (24 horas depois da última sessão de exercício do Gtr) e imediatamente após a última sessão de treinamento no Gtr (0 h). A coleta de sangue nos animais em repouso (24h) foi feita por decapitação, porém, previamente, os animais estavam alimentados e em ambiente silencioso. A coleta de sangue imediatamente após a última sessão de exercício (0 h) foi feita após os 60 minutos de natação na última sessão de treinamento.

As análises de lactato foram realizadas por método enzimático, usando a técnica de Gutmann & Wahlefeld ⁽¹⁸⁾. O teste considerou consistiu de 150 µl de plasma diluído (20 µL plasma + 1.0 ml H₂O) + 300 µL de mistura reativa. As amostras permaneceram 30 minutos em banho Maria e utilizou-se 150 µL de água destilada para leitura (branco a 340nm). A equação usada para calcular a concentração de lactato no sangue (Mm) foi: [Lac] = 3.0 x Abs (diluição dosagem) x 51 (diluição da amostra) ÷ 6.22 = 24.6 x Abs.

A glicose também foi analisada pelo método enzimático, usando a técnica de Bergmeyer & Bernt ⁽¹⁹⁾.

Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada através de programa estatístico InStat (GraphPad, CA). Os resultados foram expressos como média e erro padrão (média ± SEM). As diferenças entre os grupos controle e experimentais foram avaliadas por análise de variância para comparações múltiplas (ANOVA), seguido de post hoc de Newman Keuls. O p≤0,05 indicou diferenças significativas entre os grupos.

RESULTADOS

O ganho de peso dos animais foi modificado através do treinamento físico. Os animais iniciaram o protocolo experimental com peso corporal similar: (Gsed: 264,30 ± 3,91g. vs. Gtr: 265,30 ± 2,95g) e depois da segunda semana de natação, o Gtr já apresentava valores inferiores aos animais sedentários (Gsed: 295 ± 2,20g vs. Gtr:

286,22 ± 0,99g), e isso foi se repetindo dentro das duas semanas seguintes de treinamento / sedentarismo, e no final da última semana essa variação de peso foi ainda mais evidente: (Gsed: 328,34 ± 16,02 vs. Gtr: 309,22 ± 1,11) (Figura 1).

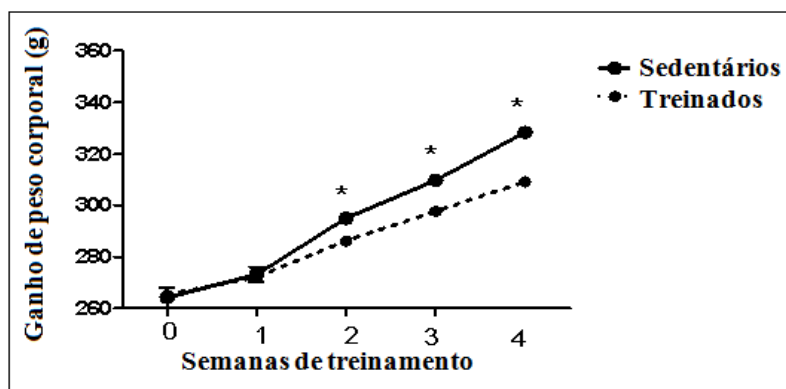


Figura 1. Ganho de peso corporal (g) durante o período de treinamento ou sedentarismo.

(*p ≤ 0,05 vs. Gsed).

As mudanças de gordura visceral seguiram as alterações de peso corporal dos animais. No final das 4 semanas de treinamento, o Gtr mostrou menores valores de gordura retroperitoneal (Gsed: 0,90 ± 0,09g vs. Gtr: 0,60 ± 0,06) e perigonadal (Gsed: 0,82 ± 0,05 vs. Gtr: 0,61 ± 0,03) comparado com o Gsed (Tabela 1).

Tabela 1. Composição corporal de ratos Wistar sedentários e treinados por natação.

Peso Relativo (g)	Grupo Sedentário	Grupo Treinado
Gordura Retroperitoneal	0,90 ± 0,09	0,60 ± 0,06*
Gordura Perigonadal	0,82 ± 0,05	0,61 ± 0,03*
Coração	0,33 ± 0,01	0,37 ± 0,01*
Glândula Adrenal	0,019 ± 0,002	0,016 ± 0,002
Músculo Sóleo	0,106 ± 0,004	0,109 ± 0,005
Peso Corporal	328,3 ± 2,16	309,2 ± 1,11*
Distância naso-anal	23,10 ± 0,31	22,55 ± 0,26
Índice de Lee	0,30 ± 0,002	0,30 ± 0,003

Valores obtidos após 4 semanas de treinamento ou sedentarismo, expressos em média ± SEM.

Peso Relativo = (peso absoluto do tecido, órgão ou músculo / peso corporal x 100).

Índice de Lee = $\sqrt[3]{\text{peso corporal} / \text{comprimento naso-anal}}$.

Diferenças Significativas: (* p ≤ 0,05 vs. Grupo Sedentário).

Foi avaliado também o peso relativo de músculo e alguns órgãos. O peso relativo do coração do Gtr foi estatisticamente maior que os animais sedentários (Gsed: $0,33 \pm 0,01$ vs. Gtr: $0,37 \pm 0,01$, $p < 0,05$). Além disso, não existiu diferença no peso relativo de glândulas adrenais: (Gsed: $0,019 \pm 0,002$ vs. Gtr: $0,016 \pm 0,002$) e músculo Sóleo (Gsed: $0,106 \pm 0,004$ vs. Gtr: $0,109 \pm 0,005$) entre animais treinados e sedentários.

Considerando as variáveis bioquímicas, não existiu diferença entre os níveis de corticosterona plasmática avaliadas em repouso, 24h após a última sessão de treinamento (Gsed: $5,31 \pm 0,38$ mg / dL vs. Gtr: $5,09 \pm 0,50$ mg / dL) (Tabela 2).

Tabela 2. Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL), lactato ($\mu\text{mol/L}$) e corticosterona ($\mu\text{g/dL}$) em ratos Wistar sedentários ou treinados por natação.

<u>Níveis</u>	<u>Grupo Sedentário</u>	<u>Grupo</u>	<u>Grupo</u>
<u>Plasmáticos</u>		<u>Treinado (24h)</u>	<u>Treinado (0h)</u>
<u>Glicose (mg/dL)</u>	$124,14 \pm 2,56$	$121,93 \pm 3,74$	$140,26 \pm 4,01^* \#$
<u>Lactato ($\mu\text{mol/L}$)</u>	$3,74 \pm 0,15$	$2,96 \pm 0,13^*$	$3,22 \pm 0,25^*$
<u>Corticosterona ($\mu\text{g/dL}$)</u>	$5,31 \pm 0,38$	$5,09 \pm 0,50$	

Valores obtidos depois de 4 semanas de treinamento ou sedentarismo, expressos em média \pm SEM.
Diferenças Significativas: (* $p \leq 0,05$ vs. Grupo Sedentário)
(# $p \leq 0,05$ vs. Grupo Treinado (24h)).

Os níveis plasmáticos de glicose e lactato foram avaliados em dois momentos distintos: em repouso (24horas após última sessão de exercício) e imediatamente após 60 minutos de natação na última sessão de treinamento, (0horas). Foi observado que logo após a natação (0horas) a glicemia dos animais treinados estava maior que dos animais sedentários (Gsed: $124,14 \pm 2,56$ mg / dL vs. Gtr: $140,26 \pm 04,01$ mg / dL). Entretanto, em repouso (24horas depois da natação), os níveis de glicose dos animais treinados e sedentários não estavam diferentes (Gsed: $124,14 \pm 2,56$ mg / dL vs. Gtr: $121,93 \pm 3,74$ mg / dL). Apesar disso, quando comparados os valores dos níveis de glicose do Gtr/0h com o Gtr/24h foi observado menores valores de glicose sanguínea para o Gtr/24h (Gtr/24h: $121,93 \pm 3,74$ mg / dL vs. Gtr/0h: $140,26 \pm 01,04$ mg / dL) (Tabela 2).

Os níveis plasmáticos de lactato também foram avaliados em dois estágios, como a glicose. Os animais do Gtr/0h tiveram menores valores de lactato quando comparados aos sedentários (Gsed: $3,74 \pm 0,15$ mM vs. Gtr/0h: $3,22 \pm 0,25$ mM), entretanto, quando comparados com animais dos Gtr/24h esses valores não foram estatisticamente diferentes (Gtr/24h: $2,96 \pm 0,13$ vs. Gtr/0h: $3,22 \pm 0,25$ mM) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi caracterizar alguns parâmetros sanguíneos bioquímicos importantes e modificáveis pelo treinamento físico, tal como, a glicose, lactato e corticosterona. Simultaneamente, objetivou-se avaliar a composição corporal de animais sedentários ou submetidos a um protocolo de natação já utilizado em outros estudos pelo mesmo grupo para avaliar variáveis cardiovasculares. Os dados obtidos aqui evidenciaram que tal protocolo de natação promoveu nos animais submetidos ao treinamento menor ganho de peso, menores valores de gordura retroperitoneal e perigonadal e maior peso do coração, sem alterar o peso de glândulas adrenais e músculo Sóleo quando comparado aos animais sedentários. Além disso, foi observado que os níveis de corticosterona não estavam alterados depois do treinamento físico e que a glicose nos animais treinados, somente estava alterada quando avaliada imediatamente depois do treinamento físico comparada aos sedentários. Já o lactato, apresentou-se diminuído nos animais treinados em ambas as condições: (0 e 24 horas). Sendo assim, acreditamos que o protocolo de natação utilizado neste estudo foi validado como eficiente por caracterizar-se dentro da modalidade de treinamento aeróbio para ratos e promover alterações positivas a saúde dos animais.

Os aspectos de composição corporal de ratos treinados por natação ou sedentários, têm sido estudados por outros pesquisadores ⁽²⁰⁾. Ratos que nadaram diariamente pesaram menos que os animais controle sedentários e tiveram menor tecido adiposo. Os autores avaliaram 1, 2, 4, 6 ou 8 semanas de natação diária (1 h) e observaram que as diferenças de pesos e composição corporal entre animais treinados comparados aos sedentários cresce conforme o treinamento progredia. Embora nosso estudo não tenha avaliado os efeitos do treinamento durante longos períodos, também observamos efeitos benéficos na composição corporal dos animais com o protocolo de natação mais curto de 4 semanas, evidenciando assim, que um treinamento de natação com duração breve também é eficiente.

Nossos dados confirmaram o efeito positivo do treinamento aeróbio ao sistema cardiovascular, pois, o peso do coração dos animais treinados no nosso estudo estava aumentado, corroborando com dados prévios da literatura ⁽¹¹⁾. A hipertrofia cardíaca já está bem definida como uma característica do treinamento de natação em resposta a vários estímulos tal como aumento do volume sistólico e débito cardíaco. Este fenômeno é conhecido como hipertrofia cardíaca excêntrica, pois, está associada com uma melhor performance cardíaca durante o exercício. Por outro lado, os indivíduos que fazem treinamento de força, fazem exercício anaeróbico isométrico estático, e demonstram aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo, com um padrão de geometria concêntrica causada pela sobrecarga da pressão arterial durante o exercício.

Os efeitos do exercício físico de natação nas concentrações plasmáticas de corticosterona e lactato também têm sido descrito na literatura científica por outros. Em estudo de Cox e colaboradores ⁽¹²⁾, durante realização de teste de natação de 20 minutos, ratos não treinados demonstraram aumentos nos níveis de lactato e corticosterona comparados com animais treinados previamente. Os autores justificaram tais achados sob os efeitos potentes que o exercício físico promove nas respostas simpatoadrenais, ou seja, o animal treinado estaria mais adaptado para a situação que o animal que nunca foi submetido àquela situação.

Dados apontam ⁽²⁾ que os níveis de corticosterona podem estar aumentados durante os momentos iniciais da natação, o que parece desencadear fatores estressantes para os animais devido à mudança de ambiente a qual foram expostos. No entanto, a adaptação a esta situação ocorre conforme a progressão da intensidade do exercício,

minimizando o efeito estressor e justificando os aumentos dos valores iniciais de corticosterona nos animais submetidos à natação. Em nosso estudo, como não foram observadas diferenças nos níveis plasmáticos de corticosterona entre os grupos em repouso, assumimos que as diferenças que temos observado na função cardiovascular em outros estudos não estão relacionadas com o estresse do exercício, mas sim, com seus efeitos benéficos à fisiologia cardíaca.

Nossos dados também demonstraram que as glândulas adrenais não estavam aumentadas em ratos treinados, o que confirma que o protocolo de treinamento de natação não promoveu estresse crônico em repouso nos animais, embora, acreditamos que devido ao aumento da atividade simpática durante o exercício, para dar suporte à demanda energética existe uma maior solitação de atividade adrenal e liberação de catecolaminas.

Somado a isso, já está bem esclarecido que durante o exercício, existe alta estimulação de secreção de hormônios glicocorticóides devido ao lançamento de grande quantidade de ACTH pela hipófise anterior. No exercício, o cortisol estimula a produção de glicose pelo fígado através da ativação da gliconeogênese e diminui a sua utilização, aumentando a liberação de glucagon pelas ilhotas pancreáticas. Considerando isso, é possível explicarmos o porquê dos níveis plasmáticos de glicose estar aumentados logo após a última sessão de natação (0 horas). Embora, não tenha sido avaliado, não podemos descartar a possibilidade dos níveis de corticosterona estar alterados nessa mesma condição como forma de tentativa de restauração do equilíbrio energético durante o exercício físico.

CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos dados sugerem a validação do protocolo de natação para ratos de 4 semanas, pois, o mesmo mostrou-se eficiente em alterar importantes variáveis de composição corporal, metabolismo energético e fisiologia cardiovascular em um período de duração relativamente curto. Sendo assim, tal protocolo se apresenta como uma ferramenta não farmacológica positiva para promoção da saúde e investigações a cerca de aspectos fisiopatológicos que envolvem a prática de exercício físico para uma melhor compreensão e tratamento de doenças crônicas degenerativas, como obesidade e hipertensão.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro às autoras Hiviny de Ataides Raquel e Marli Cardoso Martins Pinge.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brum PC, Forjaz CLM, Tinucci T, Negrão, CE. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. *Rev Paul Educ Fís*, 18: 21-31, 2004.
2. Afonso M, De Souza CN, Zagatto, AM, Luciano E. Respostas metabólicas agudas ao exercício físico moderado em ratos Wistar, *Motriz*, 9(2): 83-88, 2003.

3. Negrão CE, Moreira ED, Brum PC, Denadai MLDR, Krieger EM. Vagal and sympathetic controls of the heart rate during exercise in sedentary and trained rats. *Braz J Med Biol Res*, 25: 1045-1052, 1992.
4. Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B, Kelley D, Moyna N, Pescatello L. The acute versus chronic response to exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 33: 438-445, 2001.
05. Mitchell J, Victor G. Neural control of the cardiovascular system: insights from muscle sympathetic nerve recordings in humans. *Med Sci Sports Exerc*, 28: 60-69, 1996.
6. Higa KT, Mori E, Viana FF, Morris M, Michelini LC. Baroreflex control of heart rate by oxytocin in the solitary-vagal complex. *Am J Physiol Regul, Comp, Integr Physiol*, 282(2): 537-545, 2002.
7. Véras-Silva AS, Mattos KC, GAVA NS, Brum PC, Negrão CE, Krieger EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol: Heart and Circ Physiol*, 273(42): 2627-2631, 1997.
8. Rodrigues B, Jorge L, Mostarda, CT, Rosa KT, Medeiros A, Malfitano C, De Souza ALJ, Viegas KA, Lacchini S, Curi R, Brum PC, De Angelis K, Irigoyen MC. Aerobic exercise training delays cardiac dysfunction and improves autonomic control of circulation in diabetic rats undergoing myocardial infarction. *J Card Fail*, 18(9): 734-744, 2012.
9. Trombetta IC, Batalha LT, Rondon MUPB, Laterza MC, Kuniyoshi FHS, Barretto ACP, Halpern A, Villares SMF, Negrão CE. Weight loss improves muscle metaboreflex control in obesity. *Am J Physiol, Heart Circ Physiol*, 285: 974-982, 2003.
10. Brum PC, Bacurau AV, Medeiros A, Ferreira JC, Vanzelli AS, Negrão CE. Aerobic exercise training in heart failure: impact on sympathetic hyperactivity and cardiac and skeletal muscle function. *Braz J Med Biol Res*, 44(9): 827-835, 2011.
11. Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrão CE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Braz J Med Biol Res*, 37(12): 1909-1917, 2004.
12. Cox RH, Hubbard JW, Lawler, JE, Sanders BJ, Mitchell VP. Cardiovascular and sympathoadrenal responses to stress in swim-trained rats. *J Appl Physiol*, 58(4): 1207-1214, 1985.
13. Martins-Pinge MC, Becker LK, Garcia MRL, Zoccal DB, Neto RV, Basso LS, Souza HC, Lopes OU. Attenuated pressor responses to amino acids in the rostral ventrolateral medulla after swimming training in conscious rats. *Auton Neurosc: Bas and Clin*, 122: 21-28, 2005.
14. Mehanna A, Vitorino DC, Panis C, Blanco EE, Pinge Filho P, Martins-Pinge MC. Cardiovascular and pulmonary effects of NOS inhibition in endotoxemic conscious rats subjected to swimming training. *Life Sci*, 81(16): 1301-1308, 2007.

15. De Abreu SB, Lenhard A, Mehanna A, De Souza HC, Correa FM, Hasser EM, Martins-Pinge MC. Role of paraventricular nucleus in exercise training-induced autonomic modulation in conscious rats. *Auton Neurosc: Bas and Clin*, 148(1-2): 28-35, 2009.
16. Mastelari RB, De Souza HC, Lenhard A, De Aguiar Corrêa FM, Martins-Pinge MC. Nitric oxide inhibition in paraventricular nucleus on cardiovascular and autonomic modulation after exercise training in unanesthetized rats. *Brain Res*, 1375: 68-76, 2011.
17. Guillemin R, Clayton GW, Lipscomb HS, Smith JD. Fluorometric measurement of rat plasma and adrenal corticosterone concentration a note on technical details. *J Lab Clin Med*, 53(5): 830-832, 1959.
18. Gutmann I, Wahlefeld WL. Determination with lactate dehydrogenase and NAD. *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press: New York: 1464-1472, 1974.
19. Bergmeyer HU, Bernt E. Determination of glucose with glucoseoxidase and peroxidase. *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press: New York, p.1205-1215, 1974.
20. Wilterdink EJ, Ballor DL, Keeseey RE. Changes in body composition and daily energy expenditure induced in rats during eight weeks of daily swim training. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 17(3): 139-143, 1993.