

# PARTICIPAÇÃO DA TESTOSTERONA E DA ANGIOTENSINA II SOBRE O EQUILÍBRIO TÉRMICO DURANTE O CICLO CIRCADIANO.

ROLE OF TESTOSTERONE AND ANGIOTENSIN II ON HEAT BALANCE DURING A CIRCADIAN CYCLE.

THAINÁ A. F. MENDONÇA<sup>1</sup>

FLÁVIO AUGUSTO S. DOS SANTOS<sup>1</sup>, MARIA EDUARDA DA S. MACHADO<sup>1</sup>, VIRGINIA M. PEREIRA<sup>2</sup>, LAURA H. R. LEITE<sup>3</sup>.

DOI:

## RESUMO

A testosterona e a angiotensina II (Ang II) interferem no equilíbrio térmico diário que abrange a temperatura corporal interna (Tc), a qual é dependente da produção metabólica de calor via atividade locomotora. O estudo objetivou avaliar o papel da testosterona e da Ang II sobre a regulação da Tc e da atividade locomotora durante o ciclo circadiano. Ratos Wistar foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: animais controle, animais castrados, animais tratados com losartana e animais tratados com losartana e castrados. Os animais castrados foram submetidos à cirurgia para remoção bilateral dos testículos. Após três semanas de recuperação, iniciou-se tratamento oral com losartana potássica (bloqueador de receptor AT1 para Ang II; 50 mg.kg<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>) durante 3 a 5 semanas. Ao final do tratamento, sensor intraperitoneal foi implantado para registro da Tc e da atividade locomotora durante 24 horas. A ritmicidade das variáveis registradas foi analisada e, então, adotada para análise cosinor e caracterização do mesor, da amplitude e da acrofase. Os animais castrados apresentaram baixa amplitude de variação da Tc e da atividade locomotora no decorrer do ciclo claro-escuro, sugerindo supressão do ritmo regulatório. Ademais, o tratamento com losartana inverteu a flutuação circadiana da atividade locomotora, cuja acrofase se estabeleceu na fase clara do ciclo circadiano. Esse efeito da losartana não foi modificado após a castração. Os dados também indicaram que a variação da Tc não cursou em paralelo com as variações da atividade locomotora ao longo de 24 horas após a supressão da testosterona e/ou bloqueio angiotensinérgico. Conclui-se que a testosterona e a Ang II interferem no equilíbrio térmico durante o ciclo circadiano, principalmente via modulação da atividade locomotora.

**Palavras-Chave:** Termorregulação. Losartana. Sistema Reprodutor Masculino. Sistema Renina-Angiotensina. Atividade Locomotora.

<sup>1</sup> Bolsista BIC/UFJF.

<sup>2</sup> Professora colaboradora da Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Veterinária.

<sup>3</sup> Professora orientadora do Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia. Rua José Lourenço Kelper, s/n – Campus Universitário, Cep: 36036-900 -Juiz de Fora - MG, Fone: (32) 2102-3211. E-mail: laurahrl@gmail.com

## ABSTRACT

Testosterone and angiotensin II (Ang II) interfere with the daily thermal balance that includes core body temperature (Tc), which is dependent on metabolic heat production via locomotor activity. The study aimed to evaluate the role of testosterone and Ang II on the regulation of Tc and locomotor activity during the circadian cycle. Wistar rats were randomly divided into four groups: control animals, castrated animals, losartan-treated animals, and losartan-treated and castrated animals. The castrated animals underwent surgery for bilateral removal of the testes. After three weeks of recovery, oral treatment with losartan potassium (AT1 receptor blocker for angiotensin II; 50 mg.kg<sup>-1</sup>.day<sup>-1</sup>) was conducted for 3 to 5 weeks. At the end of treatment, an intraperitoneal sensor was implanted to register Tc and locomotor activity during 24 hours. The rhythmicity of the recorded variables was analyzed and then adopted for cosinor analysis and characterization of mesor, amplitude and acrophase. The castrated animals showed a low range of variation in Tc and in locomotor activity during the light-dark cycle, suggesting suppression of the regulatory rhythm. Furthermore, treatment with losartan reversed the circadian fluctuation of locomotor activity, whose acrophase was established in the light phase of the circadian cycle. This effect of losartan was not modified by castration. The data also indicated that the variation in Tc did not run in parallel with the variations in locomotor activity over 24 hours after testosterone suppression and/or angiotensinergic blockade. In conclusion, testosterone and Ang II interfere with thermal balance during the circadian cycle, mainly via modulation of locomotor activity.

**Keywords:** Thermoregulation. Losartan. Male Reproductive System. Renin-Angiotensin System. Locomotor Activity.

## 1 INTRODUÇÃO

A temperatura corporal interna (Tc) é mantida dentro de uma faixa estreita de variação, sendo dependente da produção metabólica de calor (SCHLADER & VARGAS, 2019). A Tc varia de acordo com um ciclo diário, ou ritmo circadiano, atingindo valores mais altos durante sua fase de maior atividade termogênica, associada à maior atividade locomotora, e valores mais baixos durante sua fase de inatividade (SCHLADER & VARGAS, 2019).

O ritmo circadiano é o relógio interno de 24 horas dentro do cérebro que regula os ciclos de alerta e sonolência, respondendo às mudanças de luz no ambiente (ACIKGOZ et al., 2021). O núcleo supraquiasmático (SCN) do hipotálamo anterior é reconhecido como o principal marcapasso circadiano em mamíferos, sendo responsável por controlar ritmos comportamentais e fisiológicos, dentre eles a Tc, a atividade locomotora e também a secreção de hormônios (ROSENWASSER & TUREK, 2015).

Além de ser regulada por alças de retroalimentação do eixo hipotálamo-hipófise, a secreção circadiana de testosterona está sob controle do SCN, cujas alterações nos níveis circulantes, por sua vez, também influenciam por retroalimentação a função desse sítio cerebral (KRIEGSFELD & SILVER, 2006). A testosterona induz efeitos bem documentados nas respostas circadianas, provavelmente através de efeitos diretos nos receptores androgênicos localizados no SCN (MODEL et al., 2015). De fato, após a gonadectomia, roedores apresentam desestabilização do início da atividade locomotora, duração prolongada da atividade diária e diminuição da atividade geral, sendo todos esses efeitos restaurados pela reposição de testosterona (KARATSOREOS et al., 2007; KRIEGSFELD & SILVER, 2006).

A angiotensina II (Ang II), efector primário do sistema renina-angiotensina com papel crucial no controle da pressão arterial e da homeostase hidroeletrolítica, também interage com o componente central da regulação do ritmo circadiano (HERICHOVA et al., 2013, 2014). Ademais, além do sistema renina-angiotensina sistêmico do qual deriva Ang II circulante, já é bem descrito o sistema renina-angiotensina tecidual que sintetiza o peptídeo localmente em vários tecidos, inclusive no SCN (FARAG et al., 2017). Nesse local, a Ang II parece atuar via receptor AT1 na regulação tônica da atividade neuronal (BROWN et al., 2008). Por sua vez, a Ang II central também tem ação sobre múltiplas funções no cérebro, com destaque para seu efeito sobre o equilíbrio térmico caracterizado por hipotermia e redução de produção de calor (LEITE et al., 2013).

Embora tanto a testosterona quanto a Ang II modulem a Tc e a atividade locomotora, e adicionalmente influenciem a função do SCN, ainda é incerto se atuam no ajuste da cadência dessas variáveis sabidamente reguladas por ritmo circadiano. Destaca-se que testosterona e a Ang II parecem interagir no equilíbrio térmico, como evidenciado pela redução da expressão de receptores AT1 e pela atenuação do efeito de redução da Tc pela Ang II após a castração (KANG et al., 2012; OJEDA et al., 2010).

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da castração e do tratamento com losartana potássica (bloqueador do receptor AT1 para angiotensina II) sobre a Tc e a atividade locomotora durante o ritmo circadiano em ratos.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Animais

Ratos Wistar machos adultos pesando ~270-300 g foram usados em todos os experimentos. Os animais foram alojados em ambiente com temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  sob ciclo de 12 h de luz: 12 h de escuro, com água e comida (ração padrão para ratos, NUVILAB, São Paulo, SP, Brasil) fornecidos *ad libitum*. Eles foram alojados coletivamente (4 ratos por gaiola) antes da cirurgia e individualmente após a cirurgia. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: animais controle (n=7), animais castrados (n=7), animais tratados com losartana (n=6) e animais tratados com losartana e castrados (n=5).

Todos os procedimentos foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEUA) e foram executados de acordo com o regulamento da Comissão.

### 2.2 Orquidectomia bilateral

Os ratos dos grupos castrados foram submetidos à orquidectomia bilateral. A cirurgia foi realizada sob anestesia profunda com mistura de cetamina (90 mg/kg de peso corporal i.p.) e xilazina (10 mg/kg de peso corporal i.p.). Uma única incisão no lado ventral do escroto foi feita, os testículos foram expostos e removidos bilateralmente. Os animais foram monitorados diariamente e nenhum procedimento experimental foi realizado durante um período de três semanas (TSUKAMOTO et al., 2018).

Após todos os procedimentos cirúrgicos, os ratos receberam duas doses profiláticas intramusculares de antibióticos (pentabiótico veterinário  $24.000 \text{ UI}\cdot\text{kg}^{-1}$  peso corporal) e três injeções subcutâneas de medicação analgésica (flunixinina meglumina,  $1,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  peso corporal).

### 2.3 Tratamento com losartana

Após o período de três semanas de recuperação da orquidectomia, os ratos dos grupos tratados com losartana potássica receberam  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$  de losartana (Merck, RJ, Brasil) na água de beber por um período de 3 a 5 semanas.

Os ratos não tratados receberam água da torneira normal. Essa forma de tratamento oral crônico foi previamente descrita por MOURA et al. (2016) e foi escolhida para elucidar o impacto do tratamento a longo prazo, o que mimetiza o uso clínico mais comum da droga (TERRA, 2003).

## **2.4 Implante do sensor de temperatura**

Após o tratamento com losartana, e também anestesiados com mistura de cetamina e xilazina, todos os animais receberam implante de sensor de temperatura G2 E-Mitter (Mini-Mitter, Sun River, OR, EUA) na cavidade peritoneal. Uma pequena incisão foi feita na linha alba do músculo abdominal, a cavidade peritoneal foi exposta e o transmissor foi inserido e a pele suturada. O sensor foi utilizado para medir a Tc por telemetria. Todos os animais se recuperaram por pelo menos 4 dias antes de serem submetidos ao protocolo experimental (LEITE et al., 2006).

## **2.5 Protocolo experimental**

No dia do experimento, os animais foram colocados em gaiolas individuais situadas sobre um receptor de sinal de telemetria (ER-4000 Energizer/Receiver, Mini-Mitter Company, Sun River, OR, EUA). Os dados foram transmitidos para computador com o software VitalView (VitalView® Data Acquisition System Software v. 4.0, Mini-Mitter Company, Sun River, OR, EUA) e armazenados. Por 24 h, os animais foram mantidos nessas condições para avaliação da Tc e da atividade locomotora espontânea. Cada animal foi alojado individualmente dentro de gaiola padrão situada em sala isolada com as mesmas condições do alojamento referência. Para evitar a influência do manuseio pelo experimentador, apenas os dados gerados 12 h após o início da gravação foram analisados. A Tc (°C) e a atividade locomotora (unidades arbitrárias/min ou u.a./min) foram registradas continuamente a cada minuto durante período de 24 horas.

## **2.6 Cálculos**

As médias horárias foram calculadas para estabelecer a oscilação da Tc e da atividade locomotora (MACHADO et al., 2015).

Dentro de cada fotoperíodo de 12 h, a ritmicidade das variáveis registradas foi analisada e, então adotada para análise cosinor (REFINETTI et al., 2007), a partir da qual caracterizou-se os parâmetros do ritmo biológico para cada tratamento. Esses parâmetros são:

- Mesor (°C): média ajustada em torno do qual o ritmo oscila;
- Amplitude (°C): diferença entre o pico e o mesor;
- Acrofase circadiana (h:min): momento em que ocorre o pico do ritmo.

## 2.7 Análise estatística

Os dados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão. As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas utilizando análise de variância *two-way* (ANOVA), seguido do teste de Newman-Keuls. As correlações foram avaliadas usando o coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

## 3 RESULTADOS

O registro simultâneo dos ritmos circadianos da T<sub>c</sub> e da atividade locomotora estão mostradas na Fig. 1. Nos animais controles, a hipotermia associada ao declínio da atividade locomotora, assim como a hipertemia associada aos picos de atividade locomotora, foram observados durante os períodos claro e escuro, respectivamente, o que é característico do ciclo claro-escuro para roedores (Fig. 1A). Os parâmetros da análise cosinor referentes aos animais controles estão demonstrados nas figuras 2A e 2C e na tabela 1.

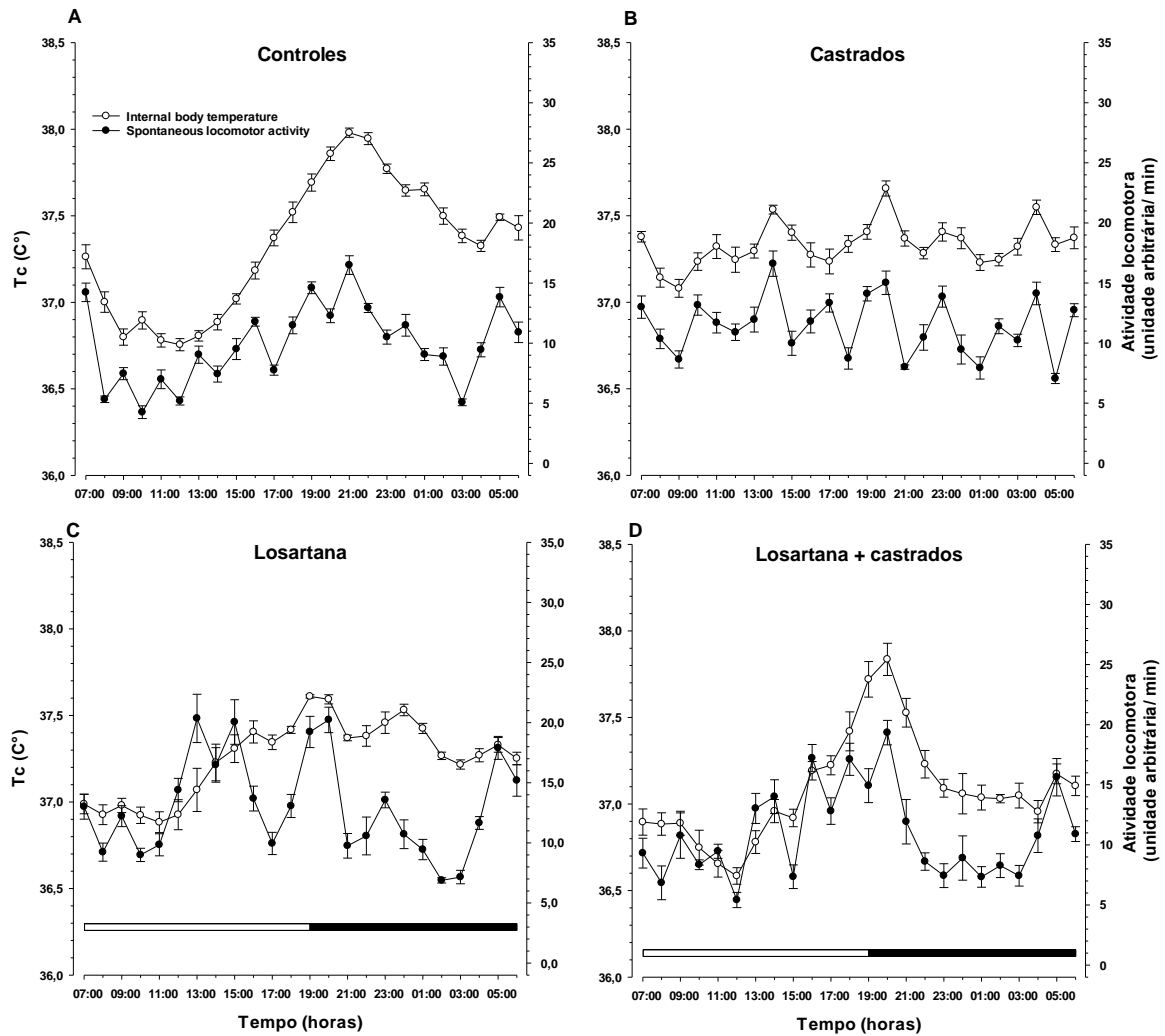


Figura 1. Variação da temperatura corporal interna (Tc) e da atividade locomotora durante o ciclo circadiano em ratos controles (A, n=7), castrado (B, n=7), tratados com losartana (C, n=6) e tratados com losartana e castrados (D, n=5). Dados expressos como média ± erro padrão da média.

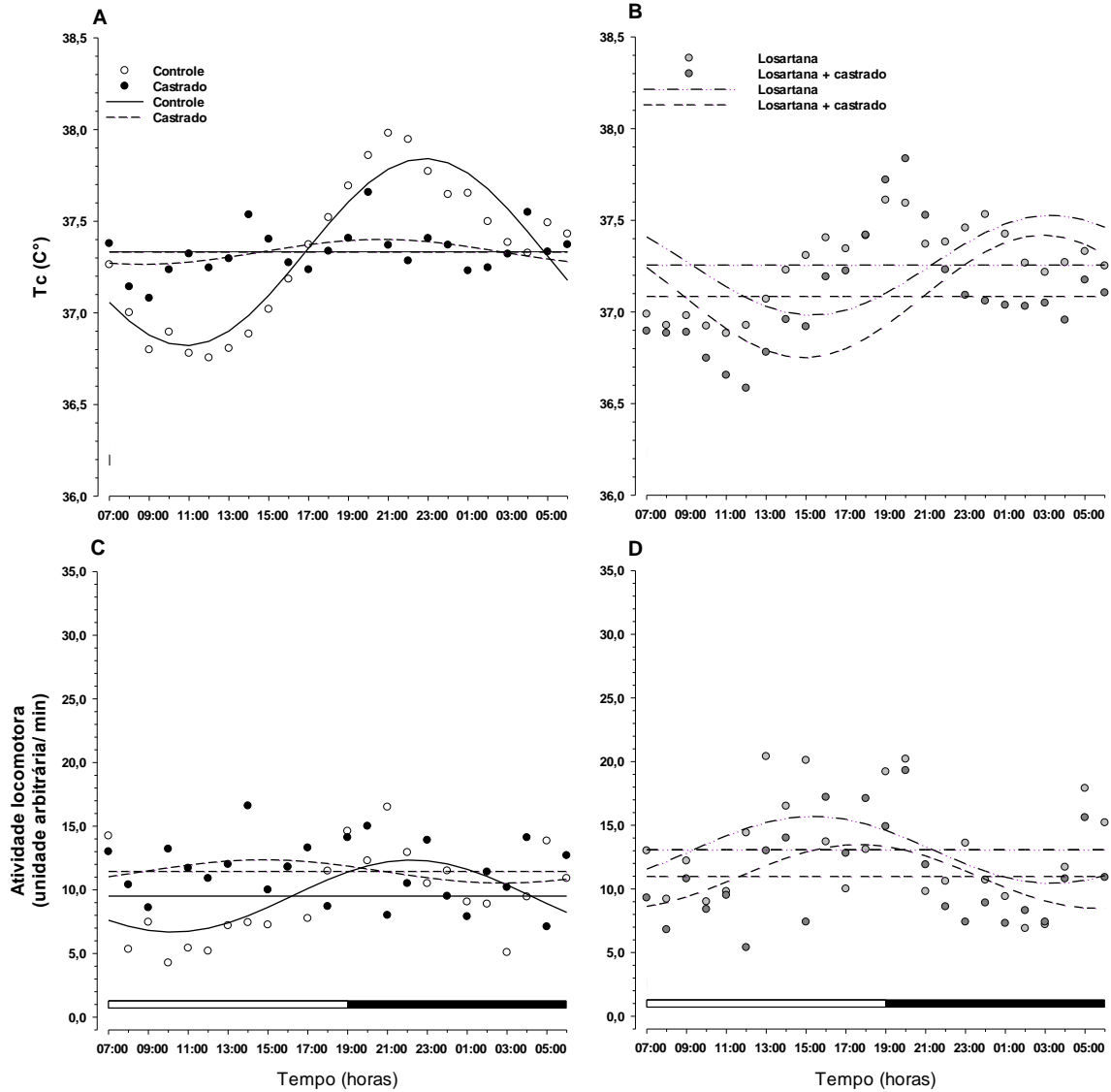


Figura 2. Curva cosinor da temperatura corporal interna ( $T_c$ , A e B) e da atividade locomotora (C e D) durante o ciclo circadiano em ratos. As médias dos valores absolutos da  $T_c$  e da atividade locomotoras estão representadas pelos círculos. As retas contínuas representam a média do mesor.



Tabela 1: Análise cosinor do ritmo circadiano de temperatura corporal interna (Tc) e de atividade locomotora.

	Tc		Atividade locomotora	
	Amplitude (C°)	Acrofase (h:min)	Amplitude (u.a/min)	Acrofase (h:min)
<b>Controle</b>	0,54±0,02	22:52±00:12	3,13±0,22	22:25±00:17
<b>Castrado</b>	0,19±0,01 <sup>+</sup>	19:30±00:45	2,20±0,15 <sup>+</sup>	15:53±00:47
<b>Losartana</b>	0,38±0,02 <sup>+</sup>	04:31±00:38	3,49±0,35	16:15±00:31
<b>Losartana + castrado</b>	0,35±0,03 <sup>+</sup> #	04:47±00:15	2,71±0,13 <sup>+#*</sup>	17:33±00:31

h:min = horas/minuto

u.a/min = unidades arbitrárias/ minuto.

+ p < 0,05 comparado com grupo controle; # p < 0,05 comparado com grupo castrado; \* p < 0,05 comparado com grupo losartana.

Após a castração dos animais, as flutuações da Tc e da atividade locomotora mostraram-se desprovidas do ritmo circadiano, mantendo-se relativamente estáveis ao longo de 24 hrs (Fig. 1B). Esse efeito da supressão de testosterona é melhor evidenciado através da curva cosinor, a qual indica variação discreta da Tc entre os períodos claro e escuro (Figs. 2A e 2C). Apesar do mesor relativo à Tc não ter sido afetado ( $37,33 \pm 0,03$  °C castrado vs  $37,33 \pm 0,03$  °C controle, p > 0,05), a amplitude diminuiu e a acrofase foi antecipada ainda dentro do período escuro após a castração (Tabela 1). Quanto à atividade locomotora, a supressão de testosterona elevou o mesor ( $11,45 \pm 0,41$  u.a./min castrado vs  $9,51 \pm 0,29$  u.a./min °C controle, p < 0,05), enquanto diminuiu a amplitude e alterou acrofase do período noturno para o período diurno (Tabela 1).

O ritmo de variação circadiana da Tc manteve-se após o bloqueio dos receptores AT1 com losartana (Figs. 1C e 2B). No entanto, a flutuação circadiana da atividade locomotora mostrou-se invertida, ou seja, maior durante a fase inativa (ciclo claro) e menor durante a fase ativa (ciclo escuro) para roedores (Figs. 1C e 2D). Em comparação com os animais controles, o mesor da Tc foi semelhante ( $37,26 \pm 0,02$  °C losartana vs  $37,33 \pm 0,03$  °C controle, p > 0,05), no entanto, o mesor de atividade locomotora elevou-se após o bloqueio dos receptores AT1 ( $13,08 \pm 0,41$  u.a./min losartana vs  $9,51 \pm 0,29$  u.a./min °C controle, p < 0,05) (Figs. 2B e 2D). Por sua vez, a amplitude da Tc diminuiu, enquanto a amplitude de atividade locomotora permaneceu inalterada após bloqueio dos receptores AT1

(Tabela 1). Tanto para a Tc quanto para a atividade locomotora, a acrofase variou significativamente em relação ao grupo controle, estabelecendo-se nas fases escura e clara, respectivamente.

O perfil de variação da Tc dos animais tratados com losartana e castrados acompanhou o padrão do ciclo claro-escuro para a espécie (Figs. 1D e 2B). No entanto, a flutuação circadiana da atividade locomotora também se mostrou invertida nesses animais (Figs. 1D e 2D). O mesor da Tc reduziu em relação aos demais grupos de animais ( $37,09 \pm 0,05$  °C losartana + castrado vs  $37,26 \pm 0,02$  °C losartana vs  $37,33 \pm 0,03$  °C castrado vs  $37,33 \pm 0,03$  °C controle,  $p < 0,05$ ) (Fig. 2B), enquanto o mesor de atividade locomotora aumentou em relação aos grupos controle e losartana ( $10,98 \pm 0,47$  u.a./min losartana + castrado vs  $13,08 \pm 0,41$  u.a./min losartana vs  $9,51 \pm 0,29$  u.a./min controle,  $p < 0,05$ ) e permaneceu igual em comparação com os animais castrados ( $10,98 \pm 0,47$  u.a./min losartana + castrado vs  $11,45 \pm 0,41$  u.a./min castrado,  $p > 0,05$ ), (Fig. 2B). A tabela 1 esclarece que a amplitude da Tc diminuiu e aumentou em comparação aos animais controles e castrados, respectivamente, porém, foi semelhante aos animais tratados somente com losartana. Já a amplitude da atividade locomotora reduziu em relação aos animais controles e tratados com losartana, enquanto aumentou em relação aos animais castrados (Tabela 1). O tratamento com losartana associado a castração estabeleceu as acrofases da Tc e da atividade locomotora nas fases escura e clara, respectivamente (Tabela 1).

A figura 3 ilustra a interação entre a Tc e a atividade locomotora para cada grupo de animais. A correlação entre dados foi positiva e significativa somente nos animais controle.

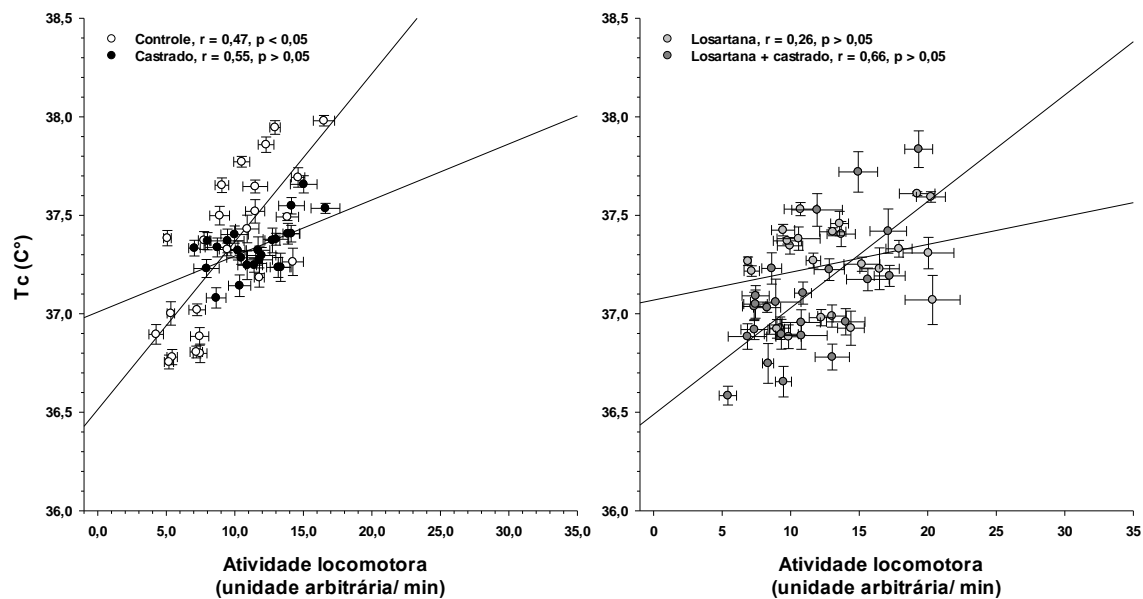


Figura 3. Correlação entre temperatura corporal interna ( $T_c$ ) e atividade locomotora.

## 4 DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo demonstram que a supressão de testosterona através da castração extingue a regulação circadiana da  $T_c$  e da atividade locomotora. Por sua vez, o tratamento com losartana promove inversão da regulação circadiana somente da atividade locomotora, o que resulta em alternância da acrofase para o fotoperíodo claro. Essa resposta não é modificada pela castração. Portanto, tanto a testosterona quanto a angiotensina II parecem atuar no equilíbrio térmico durante o ciclo circadiano, principalmente via modulação da atividade locomotora.

Dentre os vários efeitos da testosterona, inclui-se a capacidade de afetar a  $T_c$  e a atividade locomotora, modificando suas amplitudes e fases durante o ciclo circadiano (KARATSOREOS et al., 2007). No presente estudo, a castração diminuiu a amplitude da  $T_c$ , assim como da atividade locomotora, no decorrer de 24 horas. O efeito global foi de variação discreta dos parâmetros, com tendência a estabilidade, indicando um possível efeito de anulação da influência do marcapasso circadiano na ausência de testosterona.

Evidências também apontam que a orquiectomia provoca redução acentuada do padrão de atividade espontânea, concentrado-a no período diurno (KARATSOREOS et al., 2007). Este indício corrobora a antecipação da acrofase da atividade locomotora para o período diurno verificada neste estudo. Por serem animais de hábito noturno, os roedores apresentam fase ativa noturna e fase inativa diurna, o que reflete em maior e menor Tc, respectivamente (BENSTAALI et al., 2001). Apesar do mesor elevado para a atividade locomotora, a Tc não sofreu repercussão concomitante, como sugerido pela ausência de correlação entre as variáveis. Essa evidência também indica possível descompasso na regulação circadiana proveniente do SCN em situação de supressão de testosterona.

A Ang II exerce papel termorregulador atuando via receptor AT1. Ela desencadeia resposta hipotérmica caracterizada por redução da produção metabólica do mesmo (LEITE et al., 2013). Nesse contexto, os resultados deste estudo apontam que o bloqueio dos receptores AT1 reduz a amplitude de variação da Tc durante o ciclo circadiano, porém sem alteração do mesor. Além disso, as flutuações da Tc foram desconexas daquelas da atividade locomotora, como sugerido pelo perfil invertido de variação durante 24 horas e ausência de correlação entre as variáveis, indicando possível desequilíbrio na cadência circadiana também em situação de bloqueio angiotensinérgico.

O aumento do mesor após tratamento com losartana, assim como a alternância da acrofase da atividade locomotora para o ciclo claro, podem estar relacionados com os efeitos do bloqueio AT1 sobre a cronometragem circadiana no que diz respeito a produção metabólica de calor. De fato, é descrito que a Ang II atuando via receptor AT1 despolariza as células e aumenta a descarga neuronal de neurônios GABAérgicos no SCN (BROWN et al., 2008). Portanto, o bloqueio desses receptores poderia resultar em ações neurofisiológicas no SCN relacionadas com a atividade locomotora e indução da produção de calor (LEITE et al., 2006, 2007). Outros estudos são fundamentais para se determinar os mecanismos exatos subjacentes a este efeito da Ang II sobre o ciclo circadiano e o processamento de informações dentro do SCN.

No presente estudo, a castração não modificou o perfil de flutuação da Tc e da atividade locomotora após tratamento com losartana, apesar das evidências de relação de efeito entre os sistemas renina-angiotensina e o reprodutor

masculino (OJEDA et al., 2010; SONG, 2006). De fato, as variações relativas ao mesor e à amplitude da Tc e da atividade locomotora acompanharam o efeito de um dos hormônios separadamente cuja ação se sobrepôs à do outro.

Considerando algumas limitações, o modelo experimental com ratos Wistar reproduz com fidedignidade as respostas termorregulatórias em humanos (WANNER et al., 2015). Portanto, os resultados do presente contribuem para o melhor entendimento dos mecanismos de controle do equilíbrio térmico durante o ciclo circadiano, além de expandir o conhecimento acerca dos efeitos termorregulatórios do tratamento farmacológico com losartana, a qual é amplamente prescrita, principalmente para pacientes hipertensos.

## 5 CONCLUSÃO

A testosterona e a Ang II modificam a regulação circadiana da Tc e da atividade locomotora, fato que os caracteriza como hormônios com atuação importante no controle central rítmico das variáveis do equilíbrio térmico.

## AGRADECIMENTOS

O apoio financeiro proveniente da Universidade Federal de Juiz de Fora e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) é reconhecido.

# REFERÊNCIAS

ACIKGOZ, E.; KARAHUSEYINOGLU, S.; AYLA, S.; OKTEM, G. The Rhythmicity of Life: A Review of the Circadian Clocks. **Crit Rev Oncog**, v. 26, n. 4, p. 37-53, 2021.

BENSTAALI, C.; MAILLOUX, A.; BOGDAN, A.; AUZEBY, A. *et al.* Circadian rhythms of body temperature and motor activity in rodents their relationships with the light-dark cycle. **Life Sci**, v. 68, n. 24, p. 2645-2656, Mai 4 2001.

BROWN, T. M.; MCLACHLAN, E.; PIGGINS, H. D. Angiotensin II regulates the activity of mouse suprachiasmatic nuclei neurons. **Neuroscience**, v. 154, n. 2, p. 839-847, Jun 2008.

FARAG, E.; SESSLER, D. I.; EBRAHIM, Z.; KURZ, A. *et al.* The renin angiotensin system and the brain: New developments. **J Clin Neurosci**, v. 46, p. 1-8, Dez 2017.

HERICHOVA, I.; SOLTESOVA, D.; SZANTOOVA, K.; MRAVEC, B. *et al.* Effect of angiotensin II on rhythmic per2 expression in the suprachiasmatic nucleus and heart and daily rhythm of activity in Wistar rats. **Regul Pept**, v. 186, p. 49-56, Set 2013.

HERICHOVA, I.; ZSOLDOSOVA, K.; VESELA, A.; ZEMAN, M. Effect of angiotensin II infusion on rhythmic clock gene expression and local renin-angiotensin system in the aorta of Wistar rats. **Endocr Regul**, v. 48, n. 3, p. 144-151, Jul 2014.

KANG, N. N.; FU, L.; XU, J.; HAN, Y. *et al.* Testosterone improves cardiac function and alters angiotensin II receptors in isoproterenol-induced heart failure. **Arch Cardiovasc Dis**, v. 105, n. 2, p. 68-76, Fev 2012.

KARATSOREOS, I. N.; WANG, A.; SASANIAN, J.; SILVER, R. A role for androgens in regulating circadian behavior and the suprachiasmatic nucleus. **Endocrinology**, v. 148, n. 11, p. 5487-5495, Nov 2007.

KRIEGSFELD, L. J.; SILVER, R. The regulation of neuroendocrine function: Timing is everything. **Horm Behav**, v. 49, n. 5, p. 557-574, Mai 2006.

LEITE, L. H.; LACERDA, A. C.; BALTHAZAR, C. H.; MARUBAYASHI, U. *et al.* Central AT(1) receptor blockade increases metabolic cost during exercise reducing mechanical efficiency and running performance in rats. **Neuropeptides**, v. 41, n. 3, p. 189-194, Jun 2007.

LEITE, L. H.; LACERDA, A. C.; MARUBAYASHI, U.; COIMBRA, C. C. Central angiotensin AT1-receptor blockade affects thermoregulation and running performance in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 3, p. R603-607, Set 2006.

LEITE, L. H.; SANTIAGO, H. P.; DE ALMEIDA, R. S.; COIMBRA, C. C. Implications of angiotensin II in central nervous system on exercise performance. **Curr Protein Pept Sci**, v. 14, n. 8, p. 711-720, Dez 2013.

MACHADO, F. S.; RODOVALHO, G. V.; COIMBRA, C. C. The time of day differently influences fatigue and locomotor activity: is body temperature a key factor? **Physiol Behav**, v. 140, p. 8-14, Mar 1 2015.

MODEL, Z.; BUTLER, M. P.; LESAUTER, J.; SILVER, R. Suprachiasmatic nucleus as the site of androgen action on circadian rhythms. **Horm Behav**, v. 73, p. 1-7, Jul 2015.

MOURA, A. G.; PIRES, W.; LEITE, L. H.; DA CUNHA, D. N. *et al.* Power spectrum analysis of cardiovascular variability during passive heating in conscious rats. **J Therm Biol**, v. 62, n. Pt A, p. 20-29, Dez 2016.

OJEDA, N. B.; ROYALS, T. P.; BLACK, J. T.; DASINGER, J. H. *et al.* Enhanced sensitivity to acute angiotensin II is testosterone dependent in adult male growth-restricted offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 298, n. 5, p. R1421-1427, Mai 2010.

REFINETTI, R.; LISSEN, G. C.; HALBERG, F. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. **Biol Rhythm Res**, v. 38, n. 4, p. 275-325, 2007.

ROSENWASSER, A. M.; TUREK, F. W. Neurobiology of Circadian Rhythm Regulation. **Sleep Med Clin**, v. 10, n. 4, p. 403-412, Dez 2015.

SCHLADER, Z. J.; VARGAS, N. T. Regulation of Body Temperature by Autonomic and Behavioral Thermoeffectors. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 47, n. 2, p. 116-126, Abr 2019.

SONG, J.; KOST, C. K., JR.; MARTIN, D. S. Androgens augment renal vascular responses to ANG II in New Zealand genetically hypertensive rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 290, n. 6, p. R1608-1615, Jun 2006.

TERRA, S. G. Cardiology patient page. Angiotensin receptor blockers. **Circulation**, v. 107, n. 24, p. e215-216, Jun 2003.

TSUKAMOTO, A.; NIINO, N.; SAKAMOTO, M.; OHTANI, R. *et al.* The validity of anesthetic protocols for the surgical procedure of castration in rats. **Exp Anim**, v. 67, n. 3, p. 329-336, Jul 2018.

WANNER, S. P.; PRIMOLA-GOMES, T. N.; PIRES, W.; GUIMARAES, J. B. *et al.* Thermoregulatory responses in exercising rats: methodological aspects and relevance to human physiology. **Temperature (Austin)**, v. 2, n. 4, p. 457-475, Out-Dez 2015.