

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO CONTROLE
REFLEXO DA PRESSÃO ARTERIAL E ESTRESSE
OXIDATIVO DE RATOS ESPONTANEAMENTE
HIPERTENSOS**

MARIANE BERTAGNOLLI

**Orientação: Profa. Dra. MARIA CLÁUDIA IRIGOYEN
Co-Orientação: Profa. Dra. KATYA VIANNA RIGATTO**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Biológicas: Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas: Fisiologia.

Porto Alegre
2004

“O futuro pertence àqueles que acreditam
na beleza de seus sonhos”

Eleanor Roosevelt

“A honra não consiste em não cair nunca,
mas em levantar cada vez que se cai.”

Confúcio

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora *Profa. Maria Cláudia Irigoyen*, pela oportunidade de realizar esse trabalho e pelo exemplo de pesquisadora.

À minha co-orientadora *Profa. Katya Vianna Rigatto*, pela incansável ajuda, primeiro à distância, e depois, para nossa felicidade, em Porto Alegre. É um exemplo de perseverança e coragem.

À *amiga e colega Cristina Campos*, pelo auxílio no experimento, amizade e apoio ao longo desses anos.

Aos *amigos Paulo Schenckel e Jaqueline Barp*, pelo auxílio e ensinamentos no experimento. Aos *amigos e colegas* do laboratório de fisiologia cardiovascular, em especial *Eduardo Rossetto, Adriana Einzweiler, Alex Sander Araújo, Fabiano L. Silva, Roberta Mendes, Patrícia Bianchi e Tânia Fernandes*, pelo incentivo na realização deste trabalho.

À *Profa. Adriane Belló Klein*, pelo apoio recebido e ajuda constante na realização deste trabalho.

Às *amigas* de São Paulo, *Fernanda Zamo e Kátia DeAngelis*, pela essencial ajuda, mesmo à distância. Aos *amigos do Laboratório de Hipertensão Experimental da Unidade de Hipertensão – InCor* pela fundamental contribuição.

Ao *Fabício*, pelo amor e compreensão, mesmo nos momentos de ausência.

À *minha família*, pelo apoio e incansável incentivo, mesmo à distância. Em especial à minha *irmã Ilana*, pela companhia e compreensão neste último ano.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
RESUMO.....	XV
ABSTRACT.....	XVII
1. INTRODUÇÃO.....	02
1.1 Hipertensão.....	02
1.2 Sistemas Reguladores da Pressão Arterial.....	04
1.2.1 Controle Reflexo da Pressão Arterial e Sistema Nervoso Autônomo.....	05
1.2.1.1 Pressorreceptores.....	06
1.2.1.2 Receptores Cardiopulmonares.....	08
1.2.2 Sistema Renina-Angiotensina.....	09
1.2.3 Sistema Regulador Endotelial.....	12
1.3 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo em SHR.....	14
1.4 Exercício.....	18
2. HIPÓTESE.....	23
3. OBJETIVOS.....	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 ANIMAIS.....	27
4.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS	27
4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	28

4.3.1	Controle da Evolução da Hipertensão.....	28
4.3.2	Determinação da Intensidade do Treinamento Físico.....	28
4.3.3	Protocolo de Treinamento Físico.....	29
4.3.4	Procedimento Cirúrgico.....	30
4.3.5	Registro da Pressão Arterial.....	30
4.3.6	Coleta de Sangue.....	31
4.3.7	Preparo dos Homogeneizados dos Tecidos.....	32
4.3.8	Peso do coração e peso corporal.....	32
4.4	AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS.....	32
4.4.1	Avaliação da Sensibilidade Reflexa.....	33
4.4.1.1	Pressorreceptora.....	33
4.4.1.2	Cardiopulmonar.....	34
4.4.2	Bloqueio Seqüencial dos Sistemas Pressores.....	35
4.5	ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	36
4.5.1	Dosagem de Proteínas e da concentração de hemoglobina.....	36
4.5.2	Medida de Lipoperoxidação (LPO).....	37
4.5.2.1	Quimiluminescência Iniciada por t-BOOH (QL).....	37
4.5.3	Enzimas Antioxidantes.....	38
4.5.3.1	Superóxido Dismutase (SOD).....	38
4.5.3.2	Catalase (CAT).....	40
4.5.3.3	Glutathiona Peroxidase (GPx).....	41
4.5.4	Determinação de Nitratos Totais.....	42
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5.	RESULTADOS.....	45

5.1 CONTROLE DA EVOLUÇÃO DA HIPERTENSÃO.....	45
5.2 DETERMINAÇÃO DA INTENSIDADE DO TREINAMENTO FÍSICO.....	46
5.2.1 Limiar de Lactato.....	46
5.3 EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E A FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	47
5.3.1 Pressão Arterial Sistólica Pré-Treinamento.....	47
5.3.2 Avaliação da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca Pós-Treinamento.....	48
5.4 EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR ANALISADA PELO ÍNDICE DE SENSIBILIDADE.....	50
5.4.1 Taquicardia Reflexa.....	50
5.4.2 Bradicardia Reflexa.....	51
5.5 EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO CARDIOPULMONAR.....	52
5.5.1 Resposta Hipotensora.....	52
5.5.2 Bradicardia Reflexa.....	53
5.6 EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE OS SISTEMAS PRESSORES.....	54
5.6.1 Bloqueio Seqüencial.....	54
5.7 AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS.....	56
5.7.1 Peso corporal.....	56
5.7.2 Peso do Coração e Índice de Hipertrofia.....	56
5.8 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	58

5.8.1 Lipoperoxidação.....	58
5.8.1.1 Quimiluminescência em Eritrócitos.....	58
5.8.1.2 Quimiluminescência em Tecido Cardíaco.....	61
5.8.1.3 Quimiluminescência em Aorta.....	62
5.8.2 Atividade das Enzimas Antioxidantes.....	64
5.8.2.1 Atividade das Enzimas Antioxidantes em Eritrócitos.....	64
5.8.2.2 Atividade das Enzimas Antioxidantes no Coração.	65
5.8.2.3 Atividade das Enzimas Antioxidantes na Aorta.....	67
5.8.3 Avaliação da Concentração dos Metabólitos do Óxido Nítrico.....	68
5.8.3.1 Concentração de Nitratos Totais no Plasma.....	68
5.8.3.2 Concentração de Nitratos Totais em Tecido Cardíaco.....	69
5.8.3.3 Concentração de Nitratos Totais em Aorta.....	71
6. DISCUSSÃO.....	73
6.1 Pressão arterial e frequência cardíaca.....	73
6.2 Reflexo Pressorreceptor.....	81
6.3 Reflexo Cardiopulmonar.....	86
6.4 Bloqueio Seqüencial dos Sistemas Pressores.....	90
6.5 Estresse Oxidativo.....	93
6.6 Relação do estresse oxidativo com o controle reflexo da PA.....	103
7. SUMÁRIO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES.....	107
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Protocolo diário de exercício escalonado com duração de 1 hora, determinado a partir da velocidade no limiar de lactato (20 m/min).....	29
FIGURA 2 - Controle da evolução da hipertensão, através da medida da PAS (mm Hg) dos animais normotensos (Kyoto) e hipertensos (SHR).....	45
FIGURA 3 – Relação da concentração de lactato dos grupos HS e HT pela velocidade (m/min) durante teste de esforço máximo no período pré-treinamento.....	46
FIGURA 4 – Relação da concentração de lactato dos grupos HS e HT pela velocidade (m/min) durante teste de esforço máximo no período pós-treinamento.....	47
FIGURA 5 – Medida da pressão arterial sistólica na cauda dos animais dos grupos estudados.....	48
FIGURA 6 – Pressão arterial média durante registro de repouso nos grupos estudados.....	49
FIGURA 7 – Frequência cardíaca durante registro de repouso nos grupos estudados.....	50
FIGURA 8 – Resposta taquicárdica decorrente da injeção de nitroprussiato de sódio, nos grupos estudados.....	51
FIGURA 9 – Resposta bradicárdica decorrente da injeção de fenilefrina, nos grupos estudados.....	52
FIGURA 10 – Respostas hipotensoras decorrentes das injeções de	

serotonina.....	53
FIGURA 11 – Resposta bradicárdica produzida pela estimulação dos receptores cardiopulmonares pela serotonina.	54
FIGURA 12 – Respostas da PAM ao bloqueio sequencial nos grupos estudados.....	55
FIGURA 13 – Correlação entre a PAM e o índice de hipertrofia cardíaca.....	57
FIGURA 14 – Correlação entre índice de hipertrofia cardíaca e bradicardia reflexa induzida pela administração de serotonina.....	58
FIGURA 15 – Quimiluminescência em eritrócitos dos grupos estudados.....	59
FIGURA 16 – Correlação negativa ($r=-0,8$) entre os valores de QL em eritrócitos e a resposta bradicárdica do barorreflexo (bpm/mm Hg).....	60
FIGURA 17 – Correlação negativa ($r= -0,8$) entre os valores de QL em eritrócitos e a resposta taquicárdica do barorreflexo (bpm/mm Hg).....	60
FIGURA 18 – Correlação negativa ($r= -0,8$) entre os valores de QL em eritrócitos e a bradicardia reflexa induzida pela serotonina.....	61
FIGURA 19 – Quimiluminescência em homogeneizado cardíaco dos grupos estudados.....	62
FIGURA 20 – Quimiluminescência em homogeneizado de aorta dos grupos estudados.....	63

FIGURA 21 – Correlação negativa ($r=-0,83$) entre os valores de QL em aortas e a resposta bradicárdica do barorreflexo.....	63
FIGURA 22 – Correlação negativa ($r=-0,87$) entre os valores de QL em aortas e a resposta taquicárdica do barorreflexo.....	64
FIGURA 23 – Correlação negativa ($r=-0,83$) da atividade da SOD e PAM.....	67
FIGURA 24 – Concentração de nitratos totais em plasma nos diferentes grupos estudados.....	69
FIGURA 25 – Concentração de nitratos totais em homogeneizado de tecido cardíaco nos diferentes grupos estudados.....	70
FIGURA 26 – Correlação positiva ($r=0,81$) entre a atividade da enzima SOD e a concentração de NOx	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de PAS e PAD (mm Hg), durante registro de repouso.....	49
TABELA 2 – Peso corporal dos grupos estudados.....	56
TABELA 3 – Peso do coração e índice de hipertrofia dos grupos estudados.....	57
TABELA 4 – Atividade das enzimas antioxidantes, em eritrócitos, dos grupos estudados.....	65
TABELA 5 – Atividade das enzimas antioxidantes, em homogeneizado cardíaco, dos grupos estudados.....	66
TABELA 6 – Atividade das enzimas antioxidantes, em homogeneizado de aorta, dos grupos estudados.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

Ang II	angiotensina II
ANOVA	análise de variância
AVP	sistema arginina-vasopressina
CAT	enzima catalase
ERO	espécies reativas de oxigênio
FC	freqüência cardíaca
G6P	glicose 6-fosfato
G6PDH	glicose 6-fosfato desidrogenase
GMPc	guanosina ciclase 3'5'-monofosfato
GPx	enzima glutaciona peroxidase
GR	glutaciona redutase
GSH	glutaciona reduzida
GSSG	glutaciona oxidada
HEX	hexametônio
HS	grupo SHR sedentário
HT	grupo SHR treinado
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
IAVP	antagonista do receptor V1 da vasopressina
KCN	cianeto de potássio
LA	limiar anaeróbico
L-NAME	N ^G -nitro-L-arginina metil ester
LOOH	hidroperóxidos lipídicos
LOO ⁻	radicais lipoperóxidos

LOS	losartan
LPO	lipoperoxidação
MDA	malondialdeído
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NK	grupo normotenso Wistar-Kyoto
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase
NOx	nitratos totais
NR	nitrato redutase
$O_2^{\bullet-}$	ânion superóxido
$\bullet OH$	radical hidroxila
$OONO^-$	peroxinitrito
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial diastólica
PAM	pressão arterial média
PAS	pressão arterial sistólica
PMSF	fluoreto de fenil metil sulfonila
QL	quimiluminescência Iniciada por t-BOOH
SOD	enzima superóxido dismutase
SHR	rato espontaneamente hipertenso
SNA	sistema nervoso autônomo
SNS	sistema nervoso simpático
SRA	sistema renina-angiotensina
SER	sistema regulador endotelial
t-BOOH	hidroperóxido de tert-butil

TEM teste de esforço máximo
VO_{2max} consumo máximo de oxigênio

RESUMO

A hipertensão é uma doença multifatorial pela interação de vários mecanismos fisiopatológicos, sendo considerada um importante fator de risco para outras doenças cardiovasculares. Uma vez que o exercício tem sido recomendado com uma forma de tratamento antihipertensivo, buscou-se avaliar os efeitos do treinamento físico nos sistemas reguladores da pressão arterial (PA) e no seu controle reflexo, e sua correlação com o estresse oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Assim, este estudo foi realizado com ratos machos Wistar-Kyoto (NK) e SHR, com 15 semanas, divididos em dois grupos: SHR sedentário (HS) e SHR treinado (HT). Após o estabelecimento da hipertensão nesses animais, o protocolo de exercício foi realizado por 10 semanas com a intensidade determinada pelo limiar de lactato (20 m/min). Foram avaliadas as respostas bradicárdicas e taquicárdicas do barorreflexo, bem como a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch. O estresse oxidativo foi medido no sangue, coração e aorta dos animais em estudo. O treinamento físico diminuiu a PAM, PAS e PAD dos animais do grupo HT, quando comparado com o grupo HS, apesar de não ter igualado aos valores dos NK. No entanto, a FC não foi diferente entre os grupos hipertensos. O barorreflexo esteve atenuado no grupo HS comparado com o NK, porém, o exercício mostrou aumentar essa sensibilidade no grupo HT comparado com o HS. O exercício também melhorou a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares à serotonina. Pelo bloqueio não foi observada diferença significativa na atividade dos sistemas arginina-vasopressina, renina-angiotensina e simpático. O sistema regulador endotelial, avaliado pela

administração de L-NAME, um bloqueador da síntese do óxido nítrico, esteve significativamente aumentado no grupo HT quando comparado com o HS.

O estresse oxidativo diminuiu significativamente no grupo HT comparado com o HS. Verificou-se nesse estudo diminuição da lipoperoxidação em eritrócitos, coração e aorta induzida pelo exercício. Além disso, a atividade das enzimas antioxidantes esteve aumentada no grupo HT comparado com o HS. Foi observada forte correlação negativa entre os valores de lipoperoxidação em eritrócitos e aorta e a sensibilidade barorreflexa, bem como entre a lipoperoxidação em eritrócitos e a sensibilidade do reflexo de Bezold-Jarisch.

Estes resultados demonstram o efeito benéfico do exercício moderado em SHR, tanto no controle reflexo da PA, como no estresse oxidativo. Concluiu-se também, que o estresse oxidativo desempenha importante papel na alteração da sensibilidade barorreflexa e do reflexo cardiopulmonar na hipertensão.

ABSTRACT

Hypertension is considered an important factor of cardiovascular diseases because of its interactions between many pathological mechanisms. Since exercise has been recommended as an antihypertensive treatment, it was investigated the effects of exercise training in the systems that regulate blood pressure (BP) and reflex control of the heart, as its correlation with oxidative stress in spontaneously hypertensive rats (SHR). Thus, male Wistar-Kyoto rats (NK) and SHR, aging 15 weeks, divided in two groups: sedentary SHR (HS) and exercised SHR (HT) were used in this study. After the establishment of hypertension in these animals, the exercise protocol was accomplished in a treadmill, for 10 weeks, with the intensity determined by the lactate threshold (20 m/min). Bradycardic and tachycardic baroreflex responses and Bezold-Jarisch cardiopulmonary reflex sensitivity were assessed. Oxidative stress was measured in blood, heart and aortic tissues.

Exercise training reduced mean, systolic and diastolic BP in HT group as compared to HS, although it has not reached NK values. However, heart rate was not different between hypertensive groups. Baroreflex was attenuated in HS group as compared to NK, but exercise training has shown to enhance its sensitivity in HT group compared to HS. It was also verified that exercise enhanced cardiopulmonary receptors sensitivity to serotonergic stimulus. It was not observed significant difference in arginin-vasopresin, renin-angiotensin and sympathetic activities in sequential systems blockade. Only endothelial system, assessed by L-NAME infusion, was significantly increased in HT group as compared to NK.

Oxidative stress was significantly reduced in HT group as compared to HS. It was verified a decrease in erythrocytes, cardiac and aortic lipid peroxidation induced by exercise training. Moreover, the antioxidant enzymes activities were increased in HT group as compared to HS. It was also observed strong negative correlations between erythrocyte and aortic lipid peroxidation and baroreflex sensitivity, as well as between erythrocyte lipid peroxidation and Bezold-Jarisch sensitivity.

These results have shown the beneficial effects of moderated exercise in SHR, by enhancing the reflex control of BP and decreasing oxidative stress. It was also concluded that oxidative stress has an important role in baroreflex and cardiopulmonary receptors sensitivity in hypertension.

INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão

As doenças cardiovasculares, principalmente o infarto do miocárdio, aterosclerose, acidente vascular cerebral e doença renal crônica, representam as principais causas de morte nos países ocidentais. Dados de estudos observacionais envolvendo mais de 1 milhão de indivíduos indicam que as mortes por doenças cardiovasculares estão associadas a elevados valores de pressão arterial (PA) (Lewington et al., 2002), sendo um dos fatores de risco mais comuns de morbidade e mortalidade associados aos eventos cardiovasculares (Vasan et al., 2001).

A hipertensão é conceituada como uma síndrome caracterizada por valores pressóricos permanentemente elevados, associada a alterações metabólicas e hormonais, e a fenômenos tróficos como hipertrofia cardíaca e vascular (Chobanian et al., 2003).

Em determinados casos é possível identificar a causa da elevação crônica da PA, como na nefropatia parenquimatosa ou tumor adrenal, determinando a hipertensão arterial secundária (Chobanian et al., 2003). Na ausência de uma patologia específica, rotula-se a hipertensão como primária ou essencial, muitas vezes explicada pela interação entre fatores genéticos (Lifton et al., 2001), ambientais e outras características individuais, como obesidade (Gus et al., 1998), excessiva ingestão de sal (Moraes et al., 2000) e uso crônico de bebidas alcoólicas (Moreira et al., 1998).

A prevalência estimada, em todo o mundo, para a hipertensão arterial é de aproximadamente 1 bilhão de indivíduos, e aproximadamente 7,1 milhões de mortes por ano são atribuídas a esta doença (World Health Report, 2002) o que a torna um importante problema de saúde pública. A prevalência da hipertensão aumenta com o avanço da idade considerando-se que mais da metade das pessoas com idade entre 60-69 anos e aproximadamente 3/4 daqueles com mais de 70 anos são afetados (Burt et al., 1995). No Brasil, dados de Lessa (1998) indicaram a prevalência da hipertensão arterial em torno de 20 a 25% da população adulta.

A classificação da hipertensão considera os novos dados que indicam a sua associação com o aumento do risco de complicações cardiovasculares. A inclusão de uma nova categoria chamada pré-hipertensiva, com pressão arterial sistólica (PAS) entre 120 e 139 mm Hg e/ou 80 a 89 mm Hg de pressão arterial diastólica (PAD), busca identificar aqueles indivíduos que apenas através de mudanças no estilo de vida, possam prevenir a hipertensão (Chobanian et al., 2003). Nessa mesma classificação, determinou-se como o primeiro estágio da hipertensão, valores de PAS maiores que 140 mm Hg e PAD maiores que 80 mm Hg. O retorno da PA para valores próximos do normal é o principal mecanismo pelo qual se procura prevenir as doenças decorrentes da hipertensão, podendo ser obtido com tratamento medicamentoso ou não-medicamentoso.

Como tratamento não-medicamentoso, indicam-se mudanças no estilo de vida através do controle da alimentação (Sacks et al., 2001), com diminuição na ingestão de sal e álcool, e realização de exercício físico regular (Whelton et al., 2002).

Acredita-se que a hipertensão seja uma doença multifatorial pela interação de vários mecanismos fisiopatológicos envolvendo a regulação da PA e a disfunção do endotélio vascular. Estudos experimentais exploram estes mecanismos e buscam elucidar a interação existente entre eles no estabelecimento da hipertensão arterial.

O modelo genético de hipertensão experimental que utiliza ratos espontaneamente hipertensos (SHR) é, seguramente, o modelo que mais se assemelha à hipertensão primária no homem. Os mecanismos envolvidos nesse modelo genético de hipertensão arterial são de difícil compreensão e mostram interação nas alterações funcionais dos sistemas reguladores da PA (Okamoto & Aoki, 1963), ainda com causas desconhecidas.

1.2 Sistemas Reguladores da Pressão Arterial

A pressão sangüínea é resultado de vários fatores complexos, incluindo aqueles que controlam o calibre e a responsividade dos vasos sangüíneos, o volume dos fluídos dentro e fora do leito vascular e o débito cardíaco. Nenhum desses fatores atuam independentemente; eles interagem uns com os outros e respondem às mudanças da pressão sangüínea (Kaplan, 1998).

No bulbo estão localizados núcleos do sistema nervoso central responsáveis pela elaboração das respostas simpática e parassimpática adequadas a determinado estímulo. Estas respostas se manifestam por alterações da atividade cardíaca, do tônus dos vasos de resistência e capacitância, e pelas variações na secreção de catecolaminas pela medula

adrenal e da renina pelas células justaglomerulares das arteríolas aferentes renais (Tavares et al., 1989).

Os principais sistemas responsáveis pela regulação da PA são: sistema nervoso autônomo, através do controle reflexo; sistema renina-angiotensina, através do seu controle humoral a longo prazo e sua integração com o sistema arginina-vasopressina; e o sistema regulador endotelial, através da produção de fatores vasoativos derivados do endotélio vascular que interferem tanto na função cardíaca quanto no calibre dos vasos (Aires, 1999).

1.2.1 Controle Reflexo da Pressão Arterial e Sistema Nervoso Autônomo

As vias neurais reguladoras da PA transportam informações periféricas como nível pressórico, volemia, pH e temperatura, através de receptores específicos, e enviam estas informações a áreas do sistema nervoso central envolvidas na integração das respostas. Os principais receptores são os pressorreceptores, quimiorreceptores e receptores cardiopulmonares. Respostas específicas em diversos órgãos efetores, estimuladas por alterações do tônus simpático e vagal, contribuem para a estabilização e manutenção da pressão arterial, ampliando a capacidade do organismo de se adaptar (Franchini & Cowley, 1996).

O estímulo do sistema nervoso autônomo (SNA), através de agentes farmacológicos, como fenilefrina, nitroprussiato de sódio e serotonina; ou seu bloqueio com hexametônio, um bloqueador simpático, promovem alterações da pressão arterial, tanto em animais hipertensos como em normotensos, e constituem métodos importantes para avaliar o grau de participação dos

sistemas simpático ou parassimpático no controle da PA. Acredita-se que esta variação seja maior naqueles animais que apresentarem maior participação de um ou de outro componente do SNA no controle da PA.

1.2.1.1 Pressorreceptores

Os pressorreceptores arteriais são mecanorreceptores sensíveis às deformações vasculares e, devido à associação de sua atividade com o ciclo cardíaco e sua alta sensibilidade em detectar alterações agudas de pressão arterial, constituem o principal regulador reflexo de ajuste momento a momento da pressão arterial (Chapleau et al., 1989).

Esses pressorreceptores, também conhecidos como barorreceptores, localizam-se na adventícia, próximo à borda médio-adventicial dos grandes vasos sistêmicos, aorta e carótidas, constituindo os pressorreceptores aórticos, na crista da aorta, e pressorreceptores carotídeos, no seio carotídeo (Aires, 1999).

Os pressorreceptores arteriais fazem parte de um complexo arco reflexo constituído por fibras aferentes, centros de integração no sistema nervoso central, e o sistema de eferência. A resposta eferente é transmitida por fibras do sistema nervoso simpático atuando no coração e nos vasos, e fibras do sistema nervoso parassimpático, representadas pelo nervo vago, atuando no coração (Franchini et al., 1994). Sendo assim, a ação deste arco reflexo contribui para a regulação da PA por influenciar o débito cardíaco e a resistência periférica.

A integração do funcionamento das estruturas do arco reflexo pode ser exemplificada durante a elevação da PA, e/ou da pressão venosa central. Nestas situações, a estimulação vagal e a concomitante inibição simpática atuam diminuindo a frequência cardíaca, a resistência periférica e conseqüentemente a PA. Por outro lado, a queda da PA estimula a atividade simpática e a inibição vagal, promovendo aumento da frequência cardíaca para restabelecer os níveis pressóricos (Krieger & Michelini, 1992).

Estudos demonstraram a capacidade dos pressorreceptores de se adaptarem, deslocando o limiar de sensibilidade quando a alteração da pressão arterial é mantida por certo tempo (Krieger, 1989). A disfunção barorreflexa, verificada pela depressão da atividade aferente barorreceptora, tem sido documentada em estudos clínicos e experimentais de algumas doenças cardiovasculares, principalmente na hipertensão arterial (Chapleau et al., 1995; Irigoyen & Krieger, 1998).

A alteração da sensibilidade barorreflexa pode também ser atribuída a alterações mecanoelásticas dos vasos, assim como a fatores iônicos e parácrinos cardiovasculares (Chapleau et al., 1995). Além disso, o aumento da produção de radicais livres e a disfunção endotelial podem prejudicar o barorreflexo ao diminuir a sensibilidade de seus receptores em quadros de hipertensão e aterosclerose (Batlouni, 2001; Chapleau et al., 1995).

Em ratos SHR, observou-se a inibição dos pressorreceptores com redução de sua sensibilidade (Andresen & Yang, 1989). Um estudo realizado por Minami e colaboradores (1989) mostrou que a sensibilidade barorreflexa estava reduzida de forma significativa em SHR a partir da quarta e quinta semanas de vida, quando comparada com a dos ratos Wistar-Kyoto

normotensos. Atribui-se esta alteração à redução da capacidade do componente vagal cardíaco associada ao aumento da atividade simpática (Head, 1994). Xie e colaboradores (1990) sugerem que a disfunção barorreflexa nos animais espontaneamente hipertensos, seja mediada pela ação da angiotensina II no sistema nervoso central, envolvendo prostaglandinas e óxido nítrico.

Este estudo busca identificar se o exercício altera, em SHR, a atividade vagal e/ou simpática para o sistema cardiocirculatório, através do estudo da atividade barorreflexa e do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch.

1.2.1.2 Receptores Cardiopulmonares

O controle reflexo do sistema cardiovascular também pode ser compreendido através do estudo dos receptores cardiopulmonares. Estes receptores estão localizados nos átrios, ventrículos, coronárias, pericárdio, vasos pulmonares e parênquima pulmonar (Kappagoda et al., 1972; Aires, 1999). Além de possuírem ampla distribuição, os sinais destes receptores são transmitidos por diferentes fibras aferentes, vagais ou simpáticas, sendo a aferência vagal a mais importante. Sua via eferente pode determinar tanto uma inibição do sistema simpático para os vasos, como uma estimulação vagal para o coração (Aires, 1999).

A ativação do reflexo cardiopulmonar pode ser realizada em animais através da administração de substâncias químicas que estimulam as terminações aferentes vagais, chamadas fibras-C vagais, no coração e pulmões, promovendo diminuição da pressão arterial. Uma substância

amplamente usada é a serotonina, que estimula os receptores 5HT, e é muito utilizada pela sua especificidade em estimular apenas as fibras-C vagais, determinando hipotensão e bradicardia (Thoren, 1979) o que caracteriza o reflexo de Bezold-Jarish.

Sabemos que a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares normalmente está alterada nos quadros de hipertensão arterial, e buscamos alternativas não medicamentosas, como o exercício, para prevenir a ocorrência ou até melhorar a disfunção do controle reflexo da PA nos quadros hipertensivos já estabelecidos. A compreensão da participação vagal no controle da PA em SHR, auxilia o entendimento da interação fisiológica entre os componentes do SNA. Estudos verificaram uma atenuação do reflexo cardiopulmonar em SHR (Verberne et al., 1988; Thames & Johnson, 1985), e relacionaram este quadro com a ocorrência de hipertrofia ventricular (Uggere et al., 2000).

Dessa forma, esse estudo busca identificar se o exercício moderado modifica a hipertrofia cardíaca e o comando vagal para o coração, podendo ser usado no futuro como alternativa não medicamentosa auxiliar no controle da hipertensão arterial.

1.2.2 Sistema Renina-Angiotensina

O sistema renina-angiotensina (SRA) desempenha sua ação reguladora da pressão arterial e homeostasia hidroeletrólítica através de mecanismos hormonais que atuam, principalmente, nos rins e tecidos cardiovasculares, alterando o volume sanguíneo pela excreção de sódio e água, e a resistência

periférica, regulando a longo prazo a pressão arterial (Aires, 1999). Sua principal substância ativa é a angiotensina II (Ang II), responsável pela maioria de seus efeitos fisiológicos.

O primeiro componente envolvido no funcionamento do SRA sistêmico é a renina, uma enzima proteolítica sintetizada nas células justaglomerulares das arteríolas aferentes renais. Sua liberação é estimulada pela hipoperfusão renal, aumento da atividade simpática e a diminuição da concentração de cloreto de sódio no filtrado glomerular, detectado pelas células da mácula densa. Esta enzima atua sobre um substrato específico produzido, principalmente no fígado, o angiotensinogênio. Este substrato é clivado pela renina, gerando o decapeptídeo angiotensina I (Ang I), que posteriormente é convertido em um octapeptídeo, Ang II, pela ação da enzima conversora da angiotensina (ECA) presente nas membranas das células endoteliais da circulação pulmonar (Aires, 1999).

A Ang II produz vasoconstrição arteriolar por sua ação sobre seus receptores AT1, aumentando a resistência vascular sistêmica e a pressão sangüínea arterial (Averill & Diz, 2000). A Ang II também promove retenção renal de sódio e água, expandindo o volume plasmático. Este efeito é mediado pela sua ação direta sobre os túbulos renais, estimulando a reabsorção de sódio, e por sua ação no córtex adrenal estimulando a secreção de aldosterona.

Este mecanismo renal de regulação dos volumes de líquidos corporais e eletrólitos, estimulado pela ação da Ang II, depende de fatores que determinam a distribuição desses líquidos no meio interno, mantidos normalmente em estreitos limites dependentes das variações diárias da ingesta de sódio e água.

Os osmorreceptores detectam pequenas mudanças na concentração de sódio extracelular, promovendo a liberação de vasopressina (AVP) ou hormônio anti-diurético. A principal ação da vasopressina é a retenção de água pelos rins, porém, também é um potente constritor do músculo liso vascular. Seus receptores V1 são os mediadores da ação vasoconstritora da vasopressina e são encontrados nos vasos sanguíneos (Ganong, 1998).

A Ang II, além de elevar a PA e estimular a secreção de aldosterona e vasopressina, também possui efeitos mitogênicos e promotores de crescimento em cardiomiócitos e outros tecidos (Varagic & Frohlich, 2002). Estudos prévios evidenciaram a existência de componentes do SRA em diversos tecidos periféricos de animais SHR, principalmente coração e vasos, evidenciando a existência de SRA locais (Griendling et al., 1993). É possível que em ratos SHR, esse sistema esteja anormalmente estimulado.

Em certas condições fisiopatológicas, como na hipertensão, foi reportado aumento dos níveis de renina em cardiomiócitos de animais SHR, indicando produção local desta enzima (Barlucchi et al., 2001). Estudos indicam que o principal efeito do SRA local é a promoção da hipertrofia e hiperplasia de células cardíacas e vasculares, mediado pela ativação de receptores AT1 da Ang II (Varagic & Frohlich, 2002). Esses estudos provocam questionamentos sobre formas alternativas de controle da evolução da hiperplasia cardíaca e vascular. Nesse sentido, o exercício aparece como opção não medicamentosa que pode contribuir de forma importante para o prognóstico mais favorável nos quadros hipertensivos. Será que é possível minimizar os efeitos negativos da hipertensão, através de métodos saudáveis e que também sejam benéficos para o resto dos sistemas orgânicos?

Além disso, o aumento da atividade da Ang II nos ratos SHR também está relacionado com o aumento do estresse oxidativo sistêmico, por promover o aumento da produção de radicais livres (ânion superóxido) no organismo (Dijhorst-Oci et al., 1999; Romero & Rechelhoff, 1999). Este efeito ocorre pela ativação da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, estimulada pela ligação da Ang II ao seu receptor AT1 (Jaimes et al., 1998). O aumento do estresse oxidativo no sistema cardiovascular de ratos SHR, possivelmente promove prejuízo no seu funcionamento, predispondo estes animais à insuficiência cardíaca (Cai & Harrison, 2000).

A ação do SRA, assim como da vasopressina, na homeostase do sistema cardiovascular pode ser avaliada através da utilização de drogas que antagonizam os efeitos desses hormônios nos seus receptores. No caso do SRA, a administração do losartan, um antagonista do receptor AT1 da Ang II, promove redução da PA em níveis dependentes da participação desse sistema no processo hipertensivo. A mesma resposta pode ser verificada ao administrar um inibidor do receptor V1 da vasopressina. Sendo assim, a administração destes agentes farmacológicos poderá indicar a atividade destes sistemas em SHR e o quanto o exercício pode influenciar essa atividade.

1.2.3 Sistema Regulador Endotelial

As artérias são estruturas complexas constituídas por células endoteliais, células musculares lisas e fibroblastos, apresentando interações autócrinas e parácrinas que permitem sua adaptação a variações hemodinâmicas (Gimbrone et al., 1997).

O endotélio é uma camada única de células disposta entre a musculatura lisa e o sangue, e são estimuladas por sinais hemodinâmicos e humorais, desencadeando respostas biológicas que podem afetar a estrutura do vaso (Tullis et al., 1998).

Em 1980, Furchgott e Zawadzki descobriram que o endotélio liberava um fator capaz de relaxar a musculatura lisa vascular (Furchgott & Zawadzki, 1980). Mais tarde, Palmer et al. (1987) identificou este fator, o óxido nítrico (NO). Sua biossíntese é feita pela óxido nítrico sintase (NOS), uma enzima dimérica que contém um grupamento heme e requer as flavinas FAD e FMN, bem como o cofator tetrahydro-biopterina para catalisar a oxidação da L-arginina (Huang et al., 1995). A enzima NOS endotelial é uma enzima constitutiva ativada pelo aumento da concentração intracelular de íons cálcio, induzido pela acetilcolina, catecolaminas, estímulos físicos como a força de cisalhamento ou *shear stress* (Palmer et al., 1988).

Além disso, o NO é uma molécula gasosa e reativa que funciona em altas concentrações como defesa a patógenos e células tumorais, e em baixas concentrações como um sinal em diversos processos fisiológicos. O NO desempenha um importante papel na regulação do tônus vascular e da hemostasia. O relaxamento da musculatura lisa vascular pelo NO envolve a estimulação da enzima guanilil ciclase, com o aumento da produção de 3'5'-monofosfato, GMP cíclico (Fleming & Busse, 1999), o que estimula a quinase dependente de GMP cíclico, promovendo relaxamento da musculatura lisa vascular. Esta quinase pode ativar canais de K⁺ induzindo hiperpolarização, ou estimular a saída de Ca²⁺ do citoplasma da célula, levando à vasodilatação (Rapoport & Murad, 1983).

O endotélio controla o tônus da musculatura lisa vascular pela produção de mediadores que podem produzir vasodilatação ou vasoconstrição. Os principais fatores relaxantes derivados do endotélio são o NO, fator hiperpolarizante derivado do endotélio e a prostaciclina (Palmer et al., 1987). Entre os fatores contráteis, os principais são a prostaglandina H₂, a tromboxana A₂, a Ang II, a endotelina-1 e algumas espécies reativas de oxigênio (ERO) (Rubanyi, 1993).

Em condições fisiológicas existe um equilíbrio preciso entre a liberação de fatores relaxantes, e o efeito dos agentes contráteis. No entanto, em algumas condições patológicas, como na hipertensão arterial, esse equilíbrio é alterado, com atenuação dos efeitos vasodilatadores em consequência da disfunção endotelial.

A importância do NO na homeostase cardiovascular pode ser observada pelo bloqueio agudo da síntese de NO por L-Nitro-arginina-metil-ester (L-NAME), quando se obtém uma acentuada resposta hipertensora (Moncada et al., 1989; Lahera et al., 1991). Sendo assim, espera-se que na hipertensão, onde se verifica disfunção endotelial e uma provável diminuição da produção de NO, a resposta pressora ao L-NAME seja menos acentuada, já que o NO estaria participando menos da regulação da PA.

1.3 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo em SHR

Os radicais livres participam em inúmeros processos fisiológicos nos quais se incluem a transdução de sinais nas células em geral e, no sistema cardiovascular, a regulação do tônus vascular e a agregação plaquetária (Sen,

1995; Horenstein et al., 2000). No entanto, os radicais livres também estão envolvidos na fisiopatologia de diversas doenças, especialmente as degenerativas (Sen, 1995).

O radical livre é uma molécula ou um átomo portador de elétrons desemparelhados em uma de suas órbitas, o que lhe confere instabilidade e reatividade química. Os radicais livres adquirem estabilidade química ao interagirem com substâncias não-radicaais, ao cederem o elétron desemparelhado a uma molécula estável, convertendo-a em radical oxidado (Yu, 1994; Clarkson & Thompson, 2000). A redução univalente do oxigênio dá origem a intermediários altamente reativos, as espécies reativas de oxigênio. Dentre estas, os mais citados na literatura são o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($^{\bullet}OH$). Existem várias fontes celulares capazes de produzir ERO, sendo os mecanismos associados às enzimas xantina oxidase e NADPH oxidase (Ji & Leichtweiss, 1997; Ji, 1999; Leeuwenburgh & Heinecke, 2001) os mais referidos.

Existem substâncias antioxidantes não enzimáticas, endógenas e exógenas que participam na atenuação dos efeitos induzidos pela produção adicional de ERO, tais como a glutathiona (GSH), as vitaminas C e E, o ácido lipóico, entre outras (Pryor, 2000; Dhalla et al., 2000). Por outro lado, as células de diferentes tecidos possuem atividade antioxidante enzimática que participam de forma decisiva nos mecanismos de proteção contra a produção excessiva de ERO, tais como: superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx). Cada uma destas enzimas tem capacidade de catalisar reações que conduzem a produção de espécies menos reativas ou à neutralização das ERO (Powers et al., 1999; Clarkson & Thompson, 2000).

A SOD promove a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio. Esta enzima é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos, onde existem duas isoformas desta enzima. A Cu/Zn-SOD é encontrada principalmente no citosol, e a Mn-SOD existe em quantidades mais elevadas na matriz mitocondrial, apesar de agirem com eficiências similares (Powers et al., 1999; Lefer & Granger, 2000).

A CAT tem como principal função catalisar a decomposição do H_2O_2 em água e O_2 , e existe em concentrações mais elevadas nos peroxissomas, sendo mais abundante nos tecidos predominantemente oxidativos (Powers et al., 1999).

A GPx catalisa a redução de H_2O_2 em água através da conversão da glutathiona reduzida (GSH) à glutathiona oxidada (GSSG). Esta enzima está localizada no citosol e nas mitocôndrias (Ferrari et al., 1985). Embora se verifique uma sobreposição de funções entre a CAT e a GPx, as duas enzimas diferem na sua afinidade pelo H_2O_2 como substrato, sendo que a GPx dos mamíferos tem uma afinidade muito maior do que a CAT. Sendo assim, em concentrações baixas de H_2O_2 a GPx possui papel mais ativo na sua remoção celular (Powers et al., 1999).

O desequilíbrio entre os mecanismos de produção e neutralização das ERO é denominado estresse oxidativo. Este fenômeno resulta da incapacidade dos sistemas antioxidantes em combater a produção adicional de ERO (Sies & Mehlhorn, 1986). Estas ERO possuem meia vida muito curta, algumas são extremamente instáveis, mas muito reativas, o que permite sua interação com macromoléculas lipídicas, protéicas ou DNA (Halliwell & Gutteridge, 1999; Imlay, 2003).

A interação das ERO com os lipídeos é chamada peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO). As membranas das células de mamíferos contêm grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, que podem sofrer reações peroxidativas em cadeia, com subsequente quebra de membranas celulares e lipossomais (Meerson et al., 1982). O radical hidroxil e o ânion superóxido reagem com lipídeos insaturados de biomembranas, resultando na geração de radicais lipoperóxidos (LOO^{\bullet}), hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e produtos de fragmentação como o malondialdeído (MDA) (Buege & Aust, 1978). O produto dessa degradação pode ser facilmente medido para quantificar o grau de LPO presente em tecidos.

Estudos em nosso laboratório vem demonstrando os efeitos benéficos do exercício tanto no estresse oxidativo (De Angelis et al., 1997) quanto na melhora da resistência à insulina em ratos hipertensos tratados com L-NAME (Rigatto, et al., 1999). Ito e colaboradores (1992) verificaram aumento do dano oxidativo em animais SHR sedentários, o que provavelmente está associado às alterações na atividade das enzimas antioxidantes em diversos tecidos (De Craemer et al., 2001; Pogan et al., 2001).

O aumento de produção de ERO, associado à atenuação dos sistemas de defesa antioxidante, contribuem para a disfunção endotelial em pacientes (Dijhorst-Oei et al., 1999; Romero & Reckelhoff, 1999) e em ratos hipertensos (Ülker et al., 2003). Isso porque, o aumento da inativação do NO causado pelo excesso de produção de ERO, mais do que pela diminuição da produção de NO, pode ter um papel importante na piora da vasodilatação dependente do endotélio. O aumento da Ang II, que pode estar presente na hipertensão, está associado ao aumento do estresse oxidativo por ativar a NADPH oxidase e a

produção de ânion superóxido (Jaimes et al., 1998). Além disso, outros mecanismos vasoconstritores, incluindo bloqueio da NOS e dos receptores para tromboxanos, podem também induzir o estresse oxidativo na hipertensão (Wilcox, 2002).

Sabemos que o exercício físico regular está associado com alterações benéficas na PA, metabolismo lipídico e de carboidratos, fatores neurohumorais, peso corporal e *shear stress* (Arakawa, 1993; Paffenbarger et al., 1993).

Neste estudo, procuramos verificar a influência do exercício moderado nas defesas antioxidantes em SHR, por acreditar que a intensidade do exercício pode ser um fator determinante no sucesso de seu uso como auxiliar no tratamento e/ou controle da hipertensão arterial.

1.4 Exercício

Apesar do mecanismo da melhora da função endotelial durante o exercício não estar totalmente esclarecido, sabe-se que o exercício aeróbico regular aumenta a biodisponibilidade de NO. O exercício induz a angiogênese, estimula a expressão gênica da enzima NOS endotelial e ainda diminui a inativação do NO por aumentar os sistemas antioxidantes (Higashi et al., 1999; Kohmo et al., 2002; Kuru et al., 2002).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o exercício físico aeróbico diário reduz a morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (Castelli, 1984; Paffenbarger et al., 1993). A inatividade física, ou sedentarismo, é um fator de risco para as doenças cardiovasculares, pois sujeitos com baixa

capacidade física têm um risco relativo de 1,52 de desenvolver hipertensão, quando comparados com sujeitos com alta capacidade física (Blair et al., 1984).

Estudos mostram que o exercício físico regular, desde que adequado, pode promover a redução dos níveis pressóricos (Arakawa, 1993; Ikeda et al., 1994; Tanaka et al., 1997). Tem sido relatado que as adaptações cardiorespiratórias decorrentes do exercício físico aeróbico nos indivíduos hipertensos, necessitam de um período maior de treinamento que nos indivíduos normotensos, e que somente após um período prolongado de treinamento, de 12 a 30 semanas, há redução efetiva da pressão arterial nesses pacientes (Moreno et al., 1995). O exercício físico praticado de forma regular e moderada, como caminhada, ciclismo ou natação pode, em indivíduos com hipertensão essencial moderada, diminuir 6 a 10 mm Hg da PAS e 4 a 8 mm Hg da PAD (Arakawa, 1993; Fagard, 2001).

Estudos com SHR demonstraram que o exercício físico de baixa intensidade e por um período maior do que 10 semanas atenuou de forma significativa a PA destes animais, sendo que, não foi verificada a mesma resposta com o treinamento de alta intensidade (Tipton et al., 1983; Vêras-Silva et al., 1997). Esses resultados indicam que existem diferentes respostas fisiológicas envolvidas nos vários protocolos de exercício utilizados para estudar a atividade física na hipertensão.

Um dos mecanismos envolvidos na atenuação da pressão arterial pelo exercício, em ratos SHR, é a possível melhora da sensibilidade barorreflexa, com diminuição da atividade do componente simpático e aumento do componente vagal cardíaco (Silva et al., 1997). Esta resposta pode estar

relacionada com outros mecanismos como o aumento da complacência arterial (Kingwell et al., 1997), e melhora da função endotelial (Yen et al., 1995; Chen et al., 1999).

A melhora da capacidade antioxidante promovida pelo exercício físico pode ser outro importante mecanismo atuante na redução da PA. O acentuado aumento do consumo de oxigênio que ocorre nos músculos esqueléticos durante o exercício está associado com um aumento na geração de ERO (Davies et al., 1982). Estes achados sugerem que o exercício de alta intensidade pode aumentar o estresse oxidativo e provavelmente não ser o mais indicado nem para tratar a hipertensão, nem para pacientes normotensos.

No entanto, o treinamento físico de intensidade moderada gera um mecanismo adaptativo, estimulando os sistemas de defesa antioxidante, principalmente enzimático. Com isso, melhora a função endotelial por impedir a inativação do NO pelas ERO. O constante *shear stress* durante o exercício estimula a expressão gênica de algumas enzimas antioxidantes, como a SOD e suas isoformas, nas células endoteliais (Inoue et al., 1996; Hollander et al., 1999). Alguns estudos demonstraram alterações adaptativas em resposta ao exercício na expressão gênica da GPx e da CAT em vários tecidos, tais como: músculo esquelético (Ji e tal., 1992), miocárdio (Somani & Rybak, 1996) e eritrócitos (Somani et al., 1995).

Estes dados reforçam a idéia de que o exercício crônico pode apresentar efeito protetor contra o estresse oxidativo, provavelmente pela melhora da defesa antioxidante enzimática e não-enzimática. Esta modificação do estado antioxidante, contribuindo para o aumento da biodisponibilidade de NO, pode resultar no efeito antihipertensivo do treinamento físico.

Apesar dos avanços da pesquisa nessa área, percebe-se que os resultados sobre o efeito do exercício nos sistemas reguladores da PA, ainda são controversos. Avaliar os efeitos do exercício e as conseqüentes modificações hemodinâmicas e bioquímicas causadas por ele no tratamento da hipertensão, assume um papel decisivo na escolha do protocolo de exercício mais adequado. Acreditamos que exercícios moderados representem a melhor opção tanto para melhorar a qualidade de vida de indivíduos saudáveis, quanto para diminuir a mortalidade decorrente das doenças cardiovasculares em hipertensos.

HIPÓTESE



2. HIPÓTESE

H_0 : O treinamento físico não interfere no estresse oxidativo e na atividade dos sistemas reguladores da pressão arterial em animais espontaneamente hipertensos.

H_1 : O treinamento físico interfere no estresse oxidativo e na atividade dos sistemas reguladores da pressão arterial em animais espontaneamente hipertensos.

OBJETIVOS



3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do treinamento físico nos sistemas reguladores da pressão arterial e estresse oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos.

Específicos:

Avaliar nos grupos normotenso (controle) e hipertensos sedentários e treinados:

- A sensibilidade reflexa comandada pelos pressorreceptores e receptores cardiopulmonares.
- A atividade de diferentes sistemas reguladores da pressão arterial, tais como: arginina-vasopressina, renina-angiotensina, sistema nervoso simpático e regulador endotelial.
- O estresse oxidativo em eritrócitos, coração e aorta, através da quantificação da atividade das enzimas antioxidantes e da lipoperoxidação.
- A relação entre a sensibilidade reflexa dos pressorreceptores e receptores cardiopulmonares com o estresse oxidativo.
- A produção de óxido nítrico em plasma, coração e aorta, através da medida da concentração de seus metabólitos.

MATERIAIS & MÉTODOS



4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ANIMAIS

Foram utilizados 33 ratos machos espontaneamente hipertensos (SHR) e 10 Wistar-Kyoto (NK), provenientes do biotério da Universidade de São Paulo e da Fundação Universitária de Cardiologia do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, respectivamente, com idade inicial de 9 semanas, pesando 150-200g. Os animais foram mantidos em caixas individuais com ração e água *ad libitum*, em ambiente com temperatura controlada (20°C–25°C) e com ciclo claro escuro de 12 horas (das 6:00 às 18:00).

Todos os procedimentos experimentais adotados nos animais obedeceram às normas estabelecidas pela Comissão de Pesquisa e ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e da Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS (Goldin & Raymundo, 1997).

4.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram estabelecidos três grupos experimentais, sendo eles:

Grupo Controle Wistar-Kyoto (NK): animais normotensos sedentários (n=10).

Grupo Hipertenso Sedentário (HS): animais SHR sedentários (n=12).

Grupo Hipertenso Treinado (HT): animais SHR submetidos ao treinamento físico (n=11).

4.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1. Controle da Evolução da Hipertensão

A evolução da hipertensão foi acompanhada através do registro da pressão arterial sistólica (PAS) por pletismografia caudal com o rato acordado, 3 vezes por semana, utilizando o sistema da KENT SCIENTIFIC (RTBP1001 Rat Tail Blood Pressure System for rats and mice, Litchfield, USA). Os animais foram avaliados a partir da 9ª semana de vida até o estabelecimento do platô hipertensivo quando, então, deu-se início ao período de adaptação ao exercício em esteira ergométrica.

4.3.2. Determinação da Intensidade do Treinamento Físico

A adaptação ao exercício em esteira ergométrica iniciou na 14ª semana de vida dos animais SHR. Na 15ª semana, foi realizada a determinação da intensidade do treinamento físico pela análise da cinética do lactato durante teste de esforço máximo (TEM) em 5 animais SHR dos grupos HS e HT. Este teste foi elaborado baseado no protocolo de Pilis et al. (1993).

O TEM constou no incremento da velocidade de 5 m/min a cada 3 minutos, até o animal chegar a exaustão. A concentração de lactato sanguínea foi medida durante o repouso e a cada incremento da velocidade, utilizando o lactímetro Accutrend Lactate (Roche) e fitas para lactímetro BM-Lactate (Roche), para gerar uma curva da cinética do lactato durante o TEM. Assim, a intensidade do treinamento físico foi estabelecida como a média da velocidade

no limiar de lactato, identificado pelo ponto de quebra da curva. A determinação do limiar de lactato foi novamente avaliada após cinco semanas de treinamento para reajustar sua intensidade.

4.3.3. Protocolo de Treinamento Físico

Os animais foram submetidos a um protocolo de exercício físico 5 dias por semana, durante 10 semanas, em esteira ergométrica com divisórias de acrílico adaptada para ratos e camundongos (Imbramed TK-01). A duração da sessão, bem como a velocidade utilizada, aumentaram gradativamente até que se atingisse o tempo de 1 hora e a velocidade prescrita baseada na determinação do limiar de lactato.

O protocolo diário de exercício, adaptado a partir de Gava e colaboradores (1995), seguiu um padrão escalonado (Figura 1), iniciando e terminando com um breve período de aquecimento (5 min, 3 m/min) e incremento da velocidade até atingir a velocidade do limiar de lactato, permanecendo neste nível por 10 minutos.

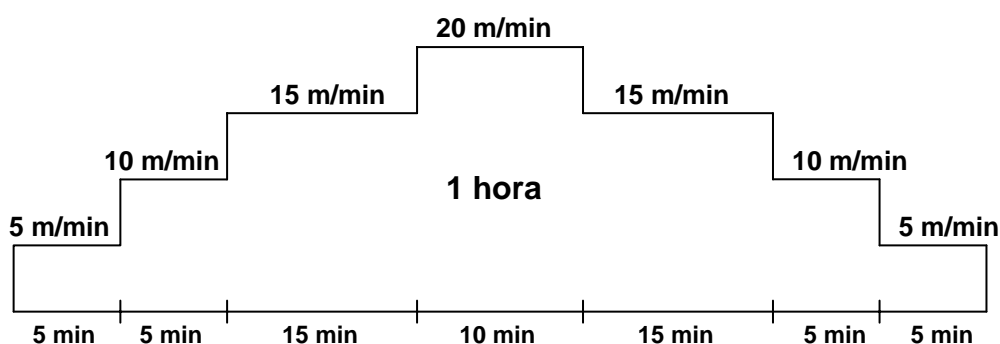


Figura 1: Protocolo diário de exercício escalonado com duração de 1 hora, determinado a partir da velocidade no limiar de lactato (20 m/min).

4.3.4. Procedimento Cirúrgico

O procedimento de canulação e o cuidado pós-operatório seguiram a descrição feita por Waynforth e Flecknell (1992).

Após o último dia de treinamento físico, os animais foram anestesiados com quetamina (90 mg/kg) e cloridrato de xilazina (20 mg/kg) para implantação dos cateteres confeccionados em tubos tygon PE-50 (diâmetro interno de 0,05 mm) com aproximadamente 15 cm, conectados a tubos de polietileno PE-10 (diâmetro interno de 0,01 mm), com aproximadamente 4 cm (Clay Adams, USA). As cânulas foram preenchidas com soro fisiológico 0,9% e heparina sódica (Liquemine-Roche, 5000U), na proporção de 0,5 mL para 0,02 mL, respectivamente. Através de uma incisão na região inguinal esquerda, as extremidades das cânulas foram introduzidas na artéria e veia femoral, para obtenção dos registros de pressão arterial e frequência cardíaca e administração das drogas, respectivamente. As cânulas foram fixadas com fio de algodão, passadas subcutaneamente, e exteriorizadas no dorso da região cervical, onde foram fixadas à pele com fio de algodão. Após esses procedimentos, os animais foram colocados em gaiolas individuais, aquecidos e recebiam água e alimentos *ad libitum*.

4.3.5. Registro da Pressão Arterial

Vinte e quatro horas após a canulação, estando o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de aproximadamente 20 cm (PE-50), o que permitiu livre movimentação do animal pela caixa durante o

experimento. Os registros foram obtidos a partir da conexão da extensão a um transdutor eletromagnético de pressão (P23Db, Gould-Statham, Oxnard, CA, USA) acoplado a um pré-amplificador de sinais (Hewlet-Packard 8805C). Os sinais de PA e FC foram gravados durante 30 minutos em um microcomputador equipado com sistema de aquisição de dados (AT/MCA CODAS-DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA) que permitiu a análise dos pulsos da pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para a mensuração dos valores de PAS, PAD, PAM e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA.

4.3.6. Coleta de Sangue

Vinte e quatro horas após a realização das medidas hemodinâmicas, procedeu-se a coleta de 3 mL de sangue através da cânula arterial. O sangue foi coletado em tubos contendo heparina sódica (Liquemine-Roche, 5000U), e rapidamente centrifugado a 4°C por 20 minutos a 3000 rpm (Sorvall RC-5B, Du Pont Instruments, Connecticut, EUA). O plasma foi separado e congelado em freezer a -80°C para posteriores análises bioquímicas. Os eritrócitos foram lavados três vezes com soro fisiológico (NaCl 0,9%), centrifugados e aliquotados. Uma parte foi ressuspensa em soro para medida de lipoperoxidação, e às demais foram adicionadas solução de ácido acético 1 mM e sulfato de magnésio 4 mM. Logo após, as amostras foram congeladas em freezer a -80°C para posteriores dosagens da atividade das enzimas antioxidantes.

4.3.7 Preparo dos Homogeneizados de Tecidos

Imediatamente após a coleta do sangue, os animais foram pesados e mortos por deslocamento cervical, e seus tecidos (coração e aorta) rapidamente extraídos. O coração foi pesado e homogeneizado durante 40 segundos em Ultra-Turrax, na presença de KCl 1,15% (5 mL por grama de tecido) e de fluoreto de fenil metil sulfonila (PMSF), um inibidor de proteases, na concentração de 100 mM em isopropanol (10 μ L por mL de KCl adicionado). As aortas foram homogeneizadas através de sua maceração com nitrogênio líquido. Após, foi adicionado ao macerado 400 μ L de KCl e 15 μ L de PMSF, quando então, as amostras foram sonicadas por 40 segundos em equipamento Sonicator-Ultrasonics Processor (Heat Systems Inc., New York, EUA). Em seguida, tanto os homogeneizados de coração como os de aorta foram centrifugados por 15 minutos a 3000 rpm em centrífuga refrigerada a -4°C (Sorvall RC 5B – Rotor SM 24) e o sobrenadante foi retirado e congelado em freezer a -80°C para as posteriores dosagens.

4.3.8 Peso do coração e peso corporal

A relação entre o peso do coração/peso corporal (índice de hipertrofia), foi expressa em mg de coração/g de peso corporal. Essa relação é aceita pela literatura como uma medida adequada de hipertrofia cardíaca no rato (Kawagushi et al., 1997).

4.4. AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS

4.4.1. Avaliação da Sensibilidade Reflexa

4.4.1.1. Pressorreceptora

As drogas vasoativas fenilefrina e nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) foram utilizadas na avaliação da sensibilidade reflexa dos barorreceptores.

A fenilefrina, um potente estimulador α_1 , com ação vasoconstritora predominante nas arteríolas periféricas, foi usada para provocar o aumento da PA, com conseqüente bradicardia reflexa induzida pelos pressorreceptores.

O nitroprussiato de sódio foi usado para provocar queda da PA com conseqüente taquicardia reflexa comandada pelos pressorreceptores. Seu efeito ocorre por sua ação vasodilatadora nas arteríolas e veias por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese de 3',5'-guanosina monofosfato (GMP) cíclico na musculatura lisa de vasos e outros tecidos.

Após a estabilização da PA e FC e registro dos valores cardiovasculares basais por 30 minutos, a sensibilidade pressorreceptora foi testada através da injeção em bolus de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (0,05; 0,2; 0,8; 3,2; e 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de forma randomizada. As drogas foram administradas respeitando um intervalo mínimo entre injeções para que a pressão arterial e freqüência cardíaca retornassem aos valores basais de repouso. Os picos, máximos e mínimos, da pressão arterial média foram registrados após cada dose de fenilefrina ou nitroprussiato e comparados aos valores de pressão arterial média do período controle. Para cada dose de droga injetada, a variação máxima ou mínima da freqüência cardíaca foi comparada com os valores de

freqüência cardíaca do período controle, imediatamente antes da injeção das drogas, para posterior quantificação das respostas.

Os índices médios de bradicardia e taquicardia reflexa foram estabelecidos através do cálculo da razão entre as variações da freqüência cardíaca a da pressão arterial média ($\Delta\downarrow FC/\Delta\uparrow PAM$, para aumentos de pressão arterial e $\Delta\uparrow FC/\Delta\downarrow PAM$, para quedas de pressão arterial), sendo que a variação de pressão arterial foi o estímulo e a variação da freqüência cardíaca foi a resposta reflexa decorrente deste estímulo.

4.4.1.2. Cardiopulmonar

Assim que os valores de pressão arterial e freqüência cardíaca mais uma vez retornaram aos seus valores basais, foi dado início às injeções endovenosas (4; 8; 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de serotonina.

A serotonina estimula receptores cardiopulmonares do tipo 5HT₃ que possuem aferências vagais mielinizadas quimiossensíveis, desencadeando o reflexo de Bezold-Jarisch. O reflexo de Bezold-Jarisch envolve uma diminuição do tônus simpático para os vasos de resistência e, uma ativação das aferências vagais sobre o marcapasso cardíaco. Como resultado, ocorre queda simultânea da pressão arterial e freqüência cardíaca. Para cada injeção da droga, as variações de pressão e freqüência foram registradas por um período de dez segundos antes e quinze segundos após a injeção da droga. Esses valores foram comparados com os valores basais imediatamente antes das injeções, para posterior quantificação das respostas. As doses subseqüentes

só foram administradas após os parâmetros cardiovasculares terem retornado aos níveis basais de repouso.

As respostas hipotensoras decorrentes da diminuição do tônus simpático nos vasos de resistência, e bradicárdicas, provocadas pela ativação da eferência vagal sobre o coração, que caracterizam o reflexo cardiopulmonar Bezold-Jarisch, foram consideradas para quantificar a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar.

4.4.2. Bloqueio Seqüencial dos Sistemas Pressores

Para o bloqueio do sistema arginina-vasopressina (AVP), o inibidor foi o antagonista específico de receptor V1 da vasopressina (iAVP, Manning compound, 10 µg/Kg, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) e foi avaliada a resposta da PAM (Gavras et al., 1982).

Para o bloqueio do sistema renina-angiotensina (SRA) foi utilizado o antagonista específico de receptor AT1, Losartan (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) na dose de 10 mg/Kg, em bolus, administrado em volume não superior a 0,2 mL. Esta dose foi utilizada em estudos prévios de Farah et al. (2000) e confere bloqueio substancial do SRA.

O bloqueio do sistema nervoso simpático (SNS) foi realizado com a administração de hidrocloreto hexametônio (20 mg/Kg, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), uma droga que bloqueia a resposta do gânglio simpático à acetilcolina ou a outros estimulantes ganglionares, determinado uma acentuada queda da PA (Santajuliana et al., 1996).

O bloqueio do sistema regulador endotelial (SRE) foi realizado com a administração de N^G-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, 30 mg/Kg, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), uma droga que bloqueia a síntese de óxido nítrico, promovendo o aumento acentuado da PA (Lahera et al., 1991).

A PAM foi registrada após cada bloqueio dos sistemas pressores: AVP, SRA, SNS e SRE. As respostas depressoras e pressora ao bloqueio foram consideradas sendo a diferença entre a PAM imediatamente antes do bloqueio e a PAM do período registrado após a administração da droga. As drogas foram preparadas minutos antes do experimento e injetadas em bolus na veia femural, respeitando o volume máximo de 0,15 mL por droga. Foi respeitado um intervalo de 25 minutos entre as drogas administradas.

4.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.5.1. Dosagem de Proteínas e da concentração de hemoglobina

As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry e colaboradores, que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/ml (Lowry et al., 1951). Para a realização das dosagens foram utilizados os seguintes reagentes: reativo de Folin Ciocalteu diluído em água destilada na proporção de 1:3. Reativo C, composto por 50 mL do reativo A, 0,5 mL do reativo B1 e 0,5 mL do reativo B2, cujos reativos A, B1 e B2 são, respectivamente:

- NaHCO₃ (bicarbonato de sódio) 2% em NaOH (hidróxido de sódio) 0,1N.

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de cobre) 1%.
- $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (tartarato de sódio e potássio) 2%.

Em tubos de ensaio, foram colocados 780 μL de água, 20 μL de amostra e para a curva de calibração, em T1 50 μL , T2 100 μL e em T3 150 μL de albumina bovina. Após foi adicionado 2 mL do reativo C e esperou-se dez minutos para acrescentar 200 μL de Reativo de Folin. Aguardou-se trinta minutos para fazer a leitura no espectrofotômetro, com o comprimento de onda de 625 nm. A concentração de proteínas foi expressa em mg/mL .

A medida da concentração de hemoglobina foi realizada de acordo com o método da cianometahemoglobina. Esse método baseia-se na oxidação do ferro da hemoglobina pelo ferricianeto de potássio em pH fracamente alcalino (7,7-8,0). Formou-se metahemoglobina, convertida em cianometahemoglobina ao reagir com cianeto de potássio. Para a realização da medida, foram pipetados 5 mL de solução de Drabkin (KCN 9 mM e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0,9mM) e 20 μL de glóbulos vermelhos previamente preparados. A leitura foi feita em espectrofotômetro Cary com comprimento de onda de 546 nm. A concentração de hemoglobina foi expressa em mg de hemoglobina.

4.5.2. Medida de Lipoperoxidação (LPO)

4.5.2.1. Quimiluminescência Iniciada por t-BOOH (QL)

O método consiste em adicionar um hidroperóxido orgânico de origem sintética (o hidroperóxido de tert-butil – t-BOOH) à solução contendo os glóbulos vermelhos ou homogeneizado de tecido, avaliando-se a capacidade

de resposta produzida pela amostra. A base para esse teste reside no fato de os hidroperóxidos serem espécies químicas bastante instáveis, reagindo com lipídios da amostra, por um mecanismo radicalar, e gerando produtos emissores de luz quantificável.

A quimiluminescência foi medida, no mesmo dia em que foi realizada a coleta de sangue, em um contador beta (LKB Rack Beta Liquid Scintillation Spectrometer-1215; LKB Produkter AB, Bromma, Sweden) com o circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio. O meio de reação no qual foi realizado o ensaio consistiu em 4 mL de uma solução tampão de fosfatos (20 mM), contendo KCl 140 mM (pH 7,4), ao qual foi adicionado 10 μ L de eritrócitos diluídos em soro fisiológico. No caso da medida em tecido cardíaco, utilizou-se 3,5 mL da solução tampão e adicionou-se 500 μ L de homogeneizado de coração, e na medida em aorta, 3,8 mL de solução tampão com 200 μ L do seu homogeneizado. Foram realizadas três leituras, consideradas como a emissão basal de luz pelo homogeneizado. O hidroperóxido de tert-butil foi usado na concentração de 400 mM, dos quais foram adicionados 30 μ L no meio de reação. Foi medida a emissão máxima de luz e desta, descontada a emissão basal do homogeneizado para fins de cálculo. Os resultados foram expressos em contagens por segundo (cps) por miligrama de hemoglobina, para a medida em eritrócitos, e miligrama de proteína para a medida em tecido cardíaco e aorta (Gonzales Flecha et al, 1991).

4.5.3. Enzimas Antioxidantes

4.5.3.1 Superóxido Dismutase (SOD)

A superóxido dismutase catalisa a reação de dois ânions superóxido, com a conseqüente formação de peróxido de hidrogênio, que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a catalase e a glutationala peroxidase. A velocidade da reação catalisada pela SOD é 10^4 vezes maior que a velocidade de dismutação espontânea em pH fisiológico (Southorn & Powis, 1988).

A técnica utilizada neste trabalho para determinação da SOD está baseada na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. O superóxido é gerado pela auto-oxidação do pirogalol quando em meio básico. A SOD presente na amostra em estudo compete pelo radical superóxido com o sistema de detecção.

A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado (Marklund, 1985).

Para tanto, primeiramente foi efetuada uma curva padrão usando as concentrações de 0; 0,25; 0,5 e 1 unidade de SOD, através da qual foi obtida a equação da reta para realização dos cálculos. Foram adicionados à cubeta a solução tampão (Tris-base 50mM e EDTA 1mM, em pH 8,2), 4 μ l de solução de catalase (30 μ M), volumes adequados das soluções de SOD e 8 μ L de pirogalol 24 mM (em ácido clorídrico a 10 mM), obtendo-se as concentrações desejadas. No meio de reação, foram utilizados 15 μ l da amostra de glóbulos vermelhos previamente preparada, tampão Tris-base, 8 μ l de pirogalol (24mM) e 4 μ l de

catalase (30 μ M). O aparelho foi zerado e as leituras realizadas. A variação na absorvância foi acompanhada a 420 nm durante 2 minutos e os resultados expressos em U/mg de proteína.

4.5.3.1. Catalase (CAT)

A taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio é diretamente proporcional à atividade da CAT, e obedece a uma cinética de pseudo primeira ordem com relação a este. Desta forma, o consumo de H₂O₂ pode ser utilizado como uma medida de atividade da enzima CAT.

O ensaio consiste em medir a diminuição da absorvância no comprimento de onda de 240 nm, onde há a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio, utilizando-se cubetas de quartzo devido à alta energia do comprimento de onda no qual foram realizadas as medidas.

Para a realização das medidas foi usada uma solução tampão constituída de fosfatos de sódio a 50 mM em pH 7,4 e peróxido de hidrogênio 0,3M. Foram adicionados 955 μ l deste tampão e 30 μ l de amostra (solução de glóbulos vermelhos previamente preparada) na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir, foram adicionados 15 μ l de peróxido de hidrogênio e foi monitorada a diminuição da absorvância durante dois minutos no comprimento de onda selecionado. Para a medida em tecido cardíaco e aorta, utilizou-se 10 μ L de amostra e 35 μ L de peróxido de hidrogênio em 955 μ L de tampão fosfato. Os resultados foram expressos em pmoles por mg de proteína (Boveris & Chance, 1973).

4.5.3.2. Glutathione Peroxidase (GPx)

A amostra foi preparada adicionando-se uma mistura de cianetos (cianeto de potássio KCN 9 mM e ferrocianeto de potássio $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,9 mM) para inibir a atividade pseudo-peroxidase da hemoglobina, a fim de que esta não interferisse no ensaio. Para medir a concentração de hemoglobina, misturou-se 100 μ L da solução de glóbulos vermelhos com 1 mL da solução de Drabkin e fez a leitura a um comprimento de onda de 546 nm.

Depois de conhecida a concentração de hemoglobina, tomou-se, para cada 0,6 mg/ml de hemoglobina, 100 μ l de solução transformante que transforma toda a hemoglobina em cianometahemoglobina, inibindo a atividade peroxidativa da hemoglobina.

SOLUÇÃO DE DRABKIN:

- 8,5% da solução de KCN (9mM)
- 66% da solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ (0,9mM)
- q.s.p. 10 ml de água destilada

SOLUÇÃO TRANSFORMANTE:

- 50% de KCN (9mM)
- 50% de $K_3[Fe(CN)_6]$ (0,9mM)

Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathione reduzida (GSH) para formar glutathione oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido, a atividade da enzima pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx.

Para tanto, na cubeta do espectrofotômetro, foram adicionados 330 μ L de tampão de fosfatos 143 mM e EDTA 1 mM (pH 7,5), 500 μ L de NADPH

(0,24 mM), 10 μ L de azida sódica (1 mM) para inibir a atividade da catalase, 50 μ L de GSH (5 mM) e 10 μ L de glutathione redutase (GR) 0,25 U/mL. Foi registrada a absorbância por um período de aproximadamente um minuto a 340 nm, para obtenção da linha de base. Após esse momento, foram adicionados 50 μ L de hidropéroxido de tert-butil (0,5 mM), e a diminuição da absorbância, devido ao consumo de NADPH, foi monitorada por aproximadamente 5 minutos. A atividade da GPx foi medida em um espectrofotômetro de marca Varian, modelo Cary. Os resultados foram expressos em nmoles/min/mg de proteína (Flohé & Gunzler, 1984).

4.5.4. Determinação de Nitratos Totais

Os níveis de nitratos totais no plasma e tecido foram medidos pela reação das amostras com o reagente de Griess. Para isto, foram utilizados os seguintes reagentes: Reativo de Griess (1g de sulfanilamina, 0,1g de naftiletilediamina, 2,3 mL de ácido ortofosfórico 85%, 97,7 mL de água); Tris 1 M, pH 7,5; NADPH 0,02 mM; Glicose 6-fosfato (G6P) 5 mM; Glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) 10 U/mL e Nitrato Redutase (NR) 1,0 U/mL. No meio da reação foram adicionados 50 μ L de amostra, 10 μ L de NADPH, 7 μ L de Tris, 23 μ L de uma mistura de G6P/G6PDH e 10 μ L de NR. A mistura foi incubada à temperatura ambiente, sob agitação, por 30 min. Após, foi adicionado 100 μ L do reagente de Griess, o qual foi incubado, novamente, à temperatura ambiente sob agitação, por mais 10 min e a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 540 nm.

Os resultados foram avaliados comparando-se com uma curva padrão feita utilizando-se nitrato de sódio 1 mM e expressos em mmol/L (Granger et al., 1999).

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos dados, foi utilizado o software GraphPad InStat, versão 3.0 para Windows 95 (GraphPad Software, San Diego, California, EUA). Os gráficos mostrados nas figuras foram gerados pelo software MS Excel 2000.

Para as análises estatísticas dos resultados, as médias e erros padrões das médias foram calculados. Diferentes testes foram utilizados para comparação das médias dos grupos e para estabelecer correlações.

Os resultados da avaliação da sensibilidade reflexa e das análises bioquímicas de estresse oxidativo foram comparados entre os grupos através da análise de variância de uma via (ANOVA) para dados não pareados. Quando se fez necessário, o teste complementar usado foi o teste de TUKEY.

O teste utilizado para comparar as PAS caudais no controle da evolução da hipertensão e as respostas do bloqueio seqüencial dos sistemas pressores foi análise de variância com parcelas divididas (ANOVA de 2 vias) seguido do teste de Duncan.

Para avaliar a associação entre dados individuais de PAM e QL obtidos entre todos os grupos estudados, determinou-se o coeficiente de correlação de Pearson. Os valores apresentados são as médias \pm erro padrão e foram considerados significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS



5. RESULTADOS

5.1. CONTROLE DA EVOLUÇÃO DA HIPERTENSÃO

O aumento da pressão arterial sistólica (PAS; mm Hg), nos ratos SHR, foi gradativo quando comparado com a PAS dos animais Wistar-Kyoto normotensos, a partir da 9ª semana de vida até a 14ª semana. A partir desta semana, foi atingido um platô que caracterizou o estabelecimento da hipertensão arterial. Esse aumento da PAS foi significativamente maior ($p < 0,0001$) nos animais hipertensos (SHR; 135 ± 4 ; $n=5$) comparado com os normotensos (KYOTOS; 118 ± 8 ; $N=5$) a partir da 10ª semana. Dentro do grupo SHR, a PAS diferiu significativamente a partir da 12ª semana (179 ± 6), sendo que, no grupo normotenso, a PAS não diferiu ao longo dessas semanas. Estes resultados estão apresentados na FIGURA 2.

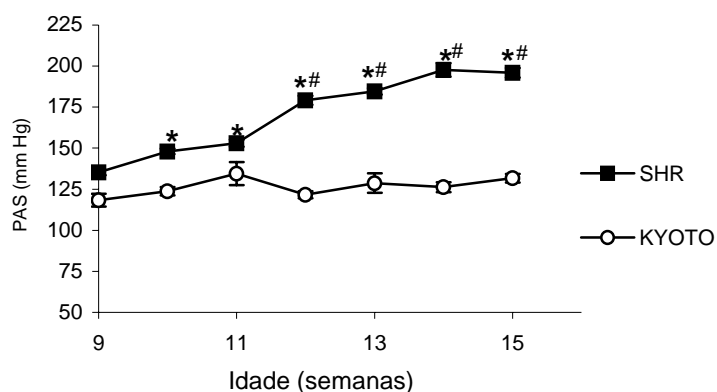


FIGURA 2 – Controle da evolução da hipertensão, através da medida da PAS (mm Hg) dos animais normotensos (KYOTO) e hipertensos (SHR). Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,01$ em relação ao grupo normotenso (KYOTO).

$p < 0,01$ em relação à 9ª semana no grupo SHR.

5.2. DETERMINAÇÃO DA INTENSIDADE DO TREINAMENTO FÍSICO

5.2.1. Limiar de Lactato

A relação da concentração de lactato (mmol/L) com a velocidade, durante o teste de esforço máximo nos grupos HS e HT, no período pré-treinamento, está apresentada na FIGURA 3. Este gráfico indica a velocidade onde se verificou o limiar de lactato no grupo HS (15 m/min, n=5) e no grupo HT (20 m/min, n=5).

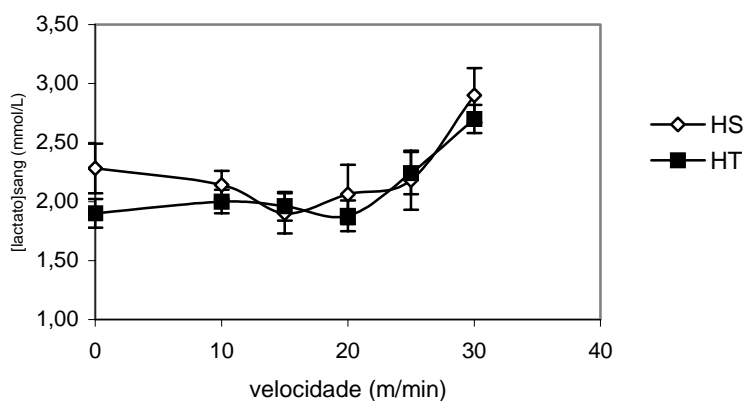


FIGURA 3 – Relação da concentração de lactato dos grupos hipertenso sedentário (HS) e treinado (HT) pela velocidade (m/min) durante teste de esforço máximo no período pré-treinamento. Os valores representam médias \pm erro padrão.

Após o período de 5 semanas de treinamento com intensidade igual a 20 m/min no grupo de ratos hipertensos treinados, observou-se alteração do limiar de lactato neste grupo (25 m/min; n=5), quando comparado com o período pré-treinamento (FIGURA 4). Não houve modificação no limiar de lactato do grupo HS (15 m/min; n=5) após 5 semanas.

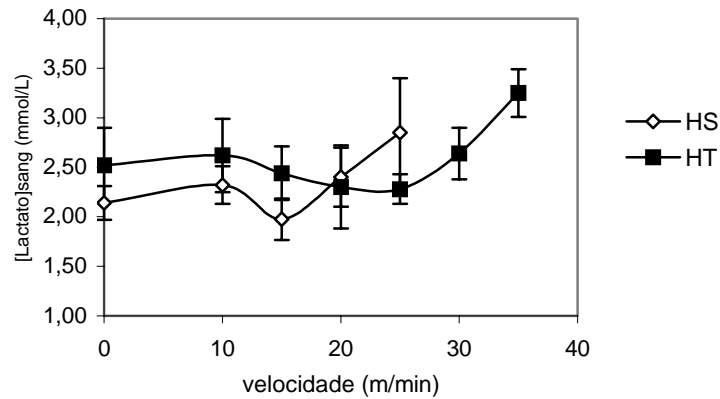


FIGURA 4 – Relação da concentração de lactato dos grupos hipertenso sedentário (HS) e treinado (HT) pela velocidade (m/min) durante teste de esforço máximo no período pós-treinamento. Os valores representam médias \pm erro padrão.

5.3. EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA

5.3.1. Pressão Arterial Sistólica Pré-Treinamento

A PAS foi medida no início do protocolo de treinamento por pletismografia caudal, nos grupos de ratos normotensos e hipertensos sedentário e treinado. Os resultados demonstram que houve diferença significativa ($p < 0,0001$) na PAS (mm Hg) entre os grupos normotenso (128 ± 2 ; $n=10$), hipertensos sedentário (178 ± 3 ; $n=12$) e treinado (177 ± 3 ; $n=11$). No entanto, não foi verificada diferença da PAS entre os grupos de animais hipertensos (FIGURA 5).

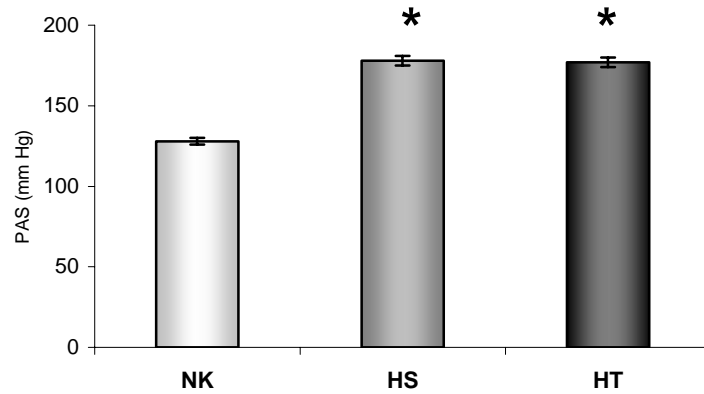


FIGURA 5 – Medida da pressão arterial sistólica na cauda dos animais dos grupos estudados. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $P < 0,001$ em relação ao grupo normotenso (NK).

5.3.2. Avaliação da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca Pós-Treinamento

O exercício provocou uma diminuição significativa ($p < 0,01$) da PAM (mm Hg) no grupo hipertenso treinado (146 ± 5 ; $n=11$) em relação ao hipertenso sedentário (165 ± 4 ; $n=12$). No entanto, a PAM dos animais hipertensos treinados permaneceu maior ($p < 0,05$) que dos animais normotensos (125 ± 4 ; $n=10$) (FIGURA 6).

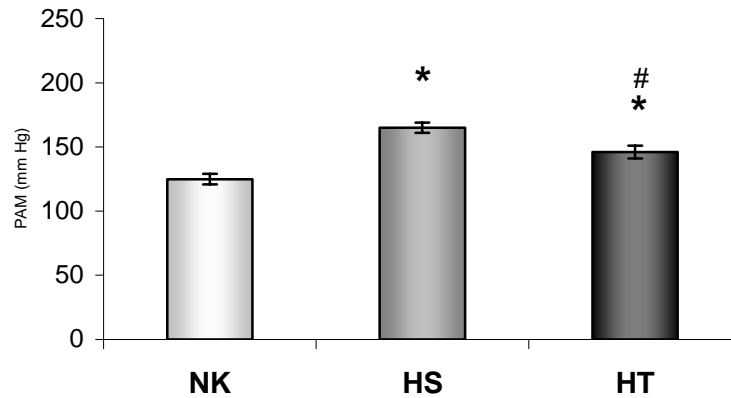


FIGURA 6 – Pressão arterial média durante registro de repouso nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,01$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

Os valores obtidos de PAS e PAD, em mm Hg, são mostrados na TABELA 1. Foi observada diferença significativa dos valores de PAS ($p < 0,0001$) entre os animais hipertensos sedentário e normotensos, bem como entre o grupo hipertenso treinado e seus controles normotensos e hipertensos sedentário. Houve diferença significativa nos valores de PAD ($P < 0,0001$) entre os grupos hipertenso treinado e normotenso em relação ao grupo hipertenso sedentário.

TABELA 1 – Valores de PAS e PAD (mm Hg), durante registro de repouso.

	NK (n=10)	HS (n=12)	HT (n=11)
PAS	144 \pm 4	194 \pm 4*	174 \pm 7* #
PAD	107 \pm 3	136 \pm 3*	119 \pm 4 ψ

Valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,001$ em relação ao grupo normotenso.

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso treinado.

ψ $p < 0,01$ em relação ao grupo hipertenso treinado.

A frequência cardíaca (FC) em batimentos por minuto (bpm) diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre os grupos normotenso (290 ± 17 ; $n=10$) e hipertensos sedentário (341 ± 11 ; $n=12$) e treinado (353 ± 10 ; $n=11$). Porém, não foi verificada diferença significativa na FC entre os grupos hipertensos sedentário e treinado (FIGURA 7).

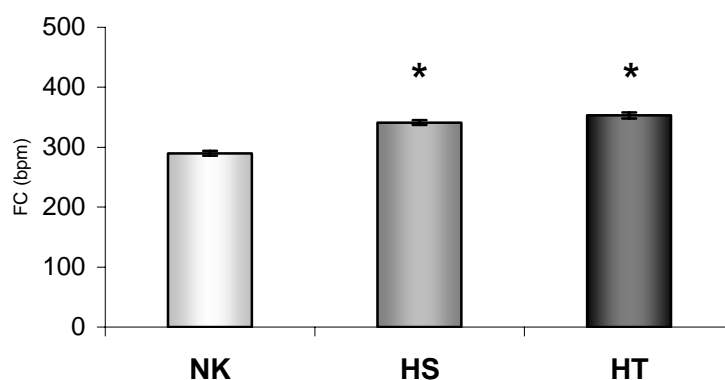


FIGURA 7 - Frequência cardíaca durante registro de repouso nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

5.4. EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR ANALISADA PELO ÍNDICE DE SENSIBILIDADE

5.4.1. Taquicardia Reflexa

A resposta taquicárdica ($\Delta FC/\Delta PAM$; índice médio em bpm/mm Hg), decorrentes das quedas de PAM induzidas por injeções de doses crescentes de nitroprussiato de sódio, apresentou-se diminuída ($p < 0,05$) nos grupos hipertensos sedentário ($1,18 \pm 0,07$; $n=9$) e treinado ($2,02 \pm 0,1$; $n=9$), em relação ao grupo normotenso ($2,57 \pm 0,18$; $n=7$). Porém, verificou-se aumento da resposta taquicárdica ($p < 0,001$) no grupo hipertenso treinado quando comparado ao hipertenso sedentário (FIGURA 8).

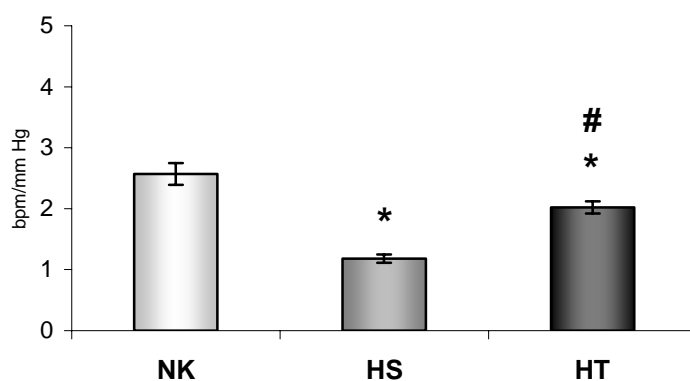


FIGURA 8 – Resposta taquicárdica decorrente da injeção de nitroprussiato de sódio, nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,001$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.4.2. Bradicardia Reflexa

A resposta bradicárdica ($\Delta FC/\Delta PAM$; índice médio em bpm/mm Hg), decorrente da elevação da PAM induzida por injeções de doses crescentes de fenilefrina, apresentou-se diferente entre os grupos estudados (ANOVA,

$p < 0,0001$). Verificou-se diminuição significativa ($p < 0,01$) da resposta bradicárdica nos grupos hipertensos sedentário ($0,8 \pm 0,09$; $n=9$) e treinado ($1,29 \pm 0,1$; $n=9$), quando comparados com o grupo normotenso ($1,89 \pm 0,15$; $n=7$). No entanto, a bradicardia reflexa estava aumentada ($p < 0,05$) no grupo hipertenso treinado comparado com o grupo hipertenso sedentário, indicando um efeito benéfico do exercício (FIGURA 9).

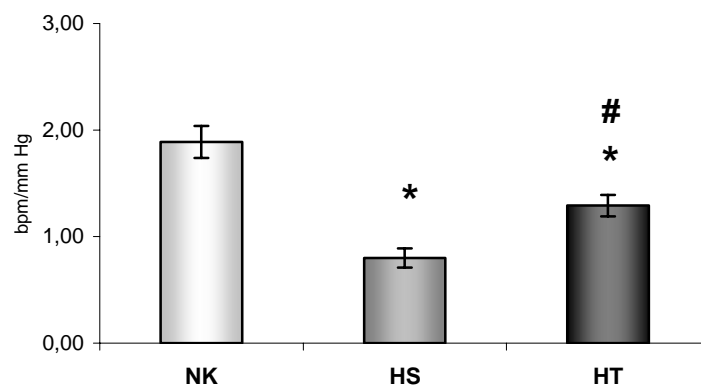


FIGURA 9 – Resposta bradicárdica decorrente da injeção de fenilefrina, nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,001$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.5. EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO CARDIOPULMONAR

5.5.1 Resposta Hipotensora

A queda da PAM (mm Hg) induzida por doses crescentes de serotonina (respostas hipotensoras) foi menor ($p < 0,05$) no grupo hipertenso sedentário ($-11,9 \pm 1,4$; $n=6$) do que no grupo hipertenso treinado ($-19,1 \pm 1,9$; $n=7$)

(FIGURA 10). Entretanto, não houve diferença entre os grupos hipertensos e normotenso ($-14,5 \pm 1,7$; $n=5$).

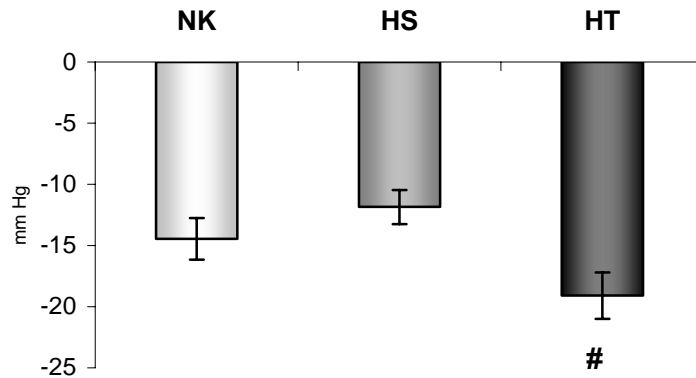


FIGURA 10 – Respostas hipotensoras decorrentes das injeções de serotonina. Os valores representam médias \pm erro padrão.

$p<0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.5.2 Bradicardia Reflexa

A bradicardia reflexa (bpm) produzida pela estimulação dos receptores cardiopulmonares pela serotonina, foi menor ($p<0,01$) no grupo hipertenso sedentário ($-67,7 \pm 2,8$; $n=5$) quando comparado tanto com o grupo normotenso ($-112,8 \pm 12,4$; $n=5$), quanto com o hipertenso treinado ($-93,0 \pm 7,5$; $n=7$; $p<0,05$) (FIGURA 11).

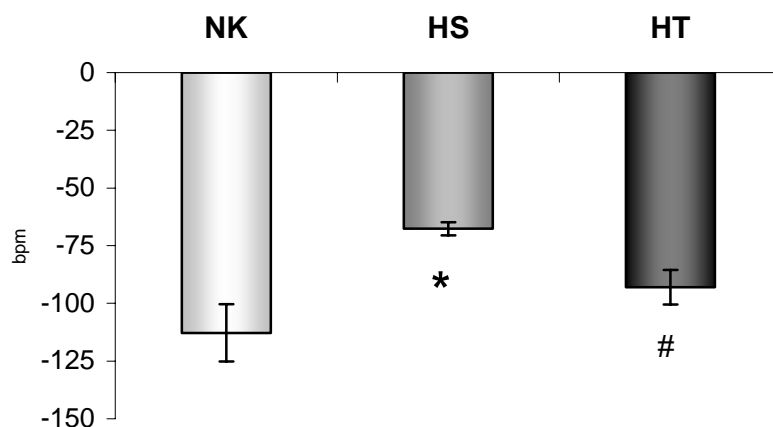


FIGURA 11 – Resposta bradicárdica produzida pela estimulação dos receptores cardiopulmonares pela serotonina. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,01$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.6. EFEITO DO EXERCÍCIO SOBRE OS SISTEMAS PRESSORES

5.6.1. Bloqueio Seqüencial

As respostas da PAM (mm Hg) ao bloqueio seqüencial às drogas administradas estão apresentadas na FIGURA 12 em percentagem de variação da PAM (% Delta PAM), nos grupos normotenso (NK; $n=5$), hipertenso sedentário (HS; $n=7$) e hipertenso treinado (HT; $n=7$).

Verificamos, ao administrar o antagonista do receptor V1 da vasopressina (iAVP), que não houve diferença significativa na atividade do sistema arginina-vasopressina, entre os grupos estudados (NK= $3,7 \pm 1\%$; HS= $2,0 \pm 1\%$; HT= $4,3 \pm 1,0\%$).

Também não verificamos diferença significativa na atividade do sistema renina-angiotensina, ao administrarmos o losartan (LOS), entre os grupos normotenso ($9,6 \pm 2\%$), hipertenso sedentário ($7,7 \pm 1,5\%$) e hipertenso treinado ($5,2 \pm 1,2\%$). A atividade do sistema nervoso simpático, ao administrarmos hexametônio (HEX), não esteve significativamente diferente entre os grupos estudados (NK= $48,1 \pm 7\%$; HS= $44,5 \pm 3\%$; HT= $45,7 \pm 1\%$).

No entanto, a atividade do sistema regulador endotelial, verificada através da administração do L-NAME (LNM), esteve significativamente diminuída ($p < 0,05$) no grupo hipertenso sedentário (HS= $86,1 \pm 9\%$) quando comparado ao grupo normotenso (NK= $105,9 \pm 10\%$). O efeito do exercício mostrou aumentar significativamente ($p < 0,05$) a atividade desse sistema no grupo hipertenso treinado (HT= $120,6 \pm 13\%$) quando comparado ao hipertenso sedentário.

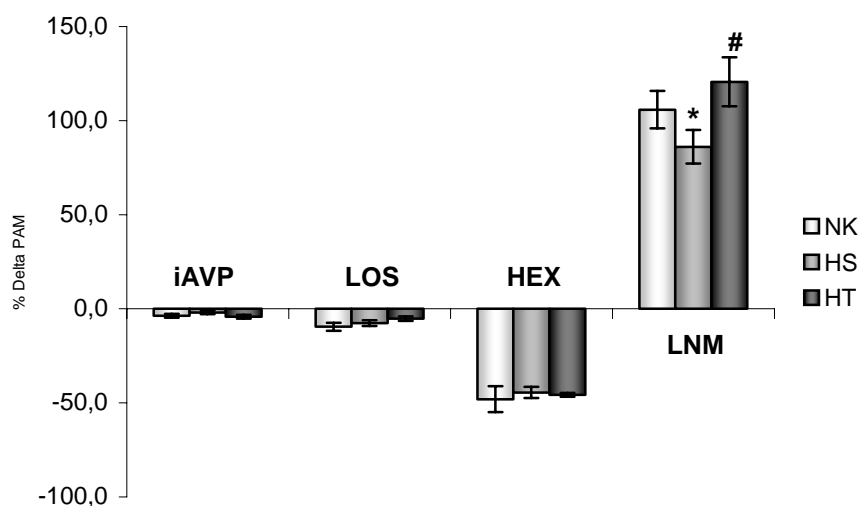


FIGURA 12 – Respostas da PAM ao bloqueio sequencial nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.7. AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS

5.7.1. Peso Corporal

O peso corporal foi obtido no final do protocolo de exercício, quando foram iniciados os registros de pressão arterial. Não houve diferença significativa entre os grupos normotenso e hipertensos sedentário e treinado (TABELA 2).

TABELA 2 – Peso corporal dos grupos estudados.

	NK (n=10)	HS (n=11)	HT (n=11)
Peso (g)	328 ± 33	343 ± 28	355 ± 40

Os valores apresentados representam as médias ± erro padrão.

5.7.2. Peso do Coração e Índice de Hipertrofia

O peso do coração nos animais normotensos foi significativamente menor ($p < 0,01$) quando comparado aos animais hipertensos sedentários e treinados. No entanto, o índice de hipertrofia cardíaca diferiu significativamente ($p < 0,01$) entre os grupos normotenso e hipertensos sedentário. Também houve diferença significativa entre os grupos hipertensos sedentário e treinado (TABELA 3).

TABELA 3 – Peso do coração e índice de hipertrofia dos grupos estudados.

	NK (n=10)	HS (n=11)	HT (n=11)
Peso(g)	1,05 ± 0,04	1,34 ± 0,04*	1,26 ± 0,02*
Índice (mg/g)	3,20 ± 0,07	3,81 ± 0,09*	3,44 ± 0,15#

Os valores representam médias ± erro padrão.

* $p < 0,01$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

Foi obtida uma correlação positiva ($r=0,82$; $n=29$) entre os valores de pressão arterial média (mm Hg) e o índice de hipertrofia (mg/g) considerando todos os grupos do estudo, indicando que quanto maiores os valores de pressão arterial, maior a hipertrofia cardíaca (FIGURA 13).

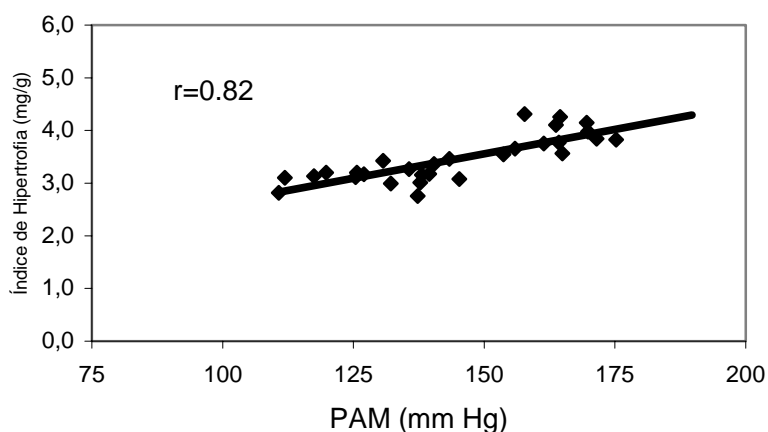


FIGURA 13 – Correlação entre a PAM e o índice de hipertrofia cardíaca ($p < 0,0001$).

Também foi verificada uma correlação negativa ($r=-0,85$; $n=14$) entre o índice de hipertrofia cardíaca (mg/g) e a bradicardia reflexa (bpm) induzida pela

administração de serotonina. Esta relação indica que quanto maior a hipertrofia cardíaca, menor será a resposta do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarish (FIGURA 14).

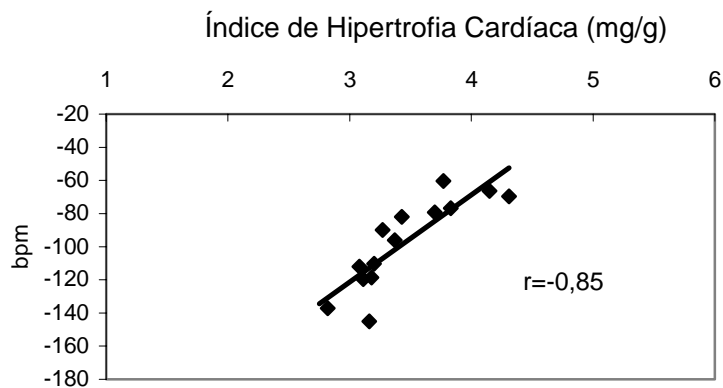


FIGURA 14 – Correlação entre índice de hipertrofia cardíaca e bradicardia reflexa induzida pela administração de serotonina ($p<0,0001$).

5.8. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

5.8.1. Lipoperoxidação

5.8.1.1. Quimiluminescência em Eritrócitos

Os valores de QL nos eritrócitos (contagens por segundo/mg de hemoglobina) mostraram-se significativamente aumentados ($p<0,0001$) nos animais hipertensos sedentários (20635 ± 1541 ; $n=11$) quando comparados com os animais normotensos (10531 ± 768 ; $n=5$) e hipertensos treinados (11741 ± 1132 $n=11$) (FIGURA 15).

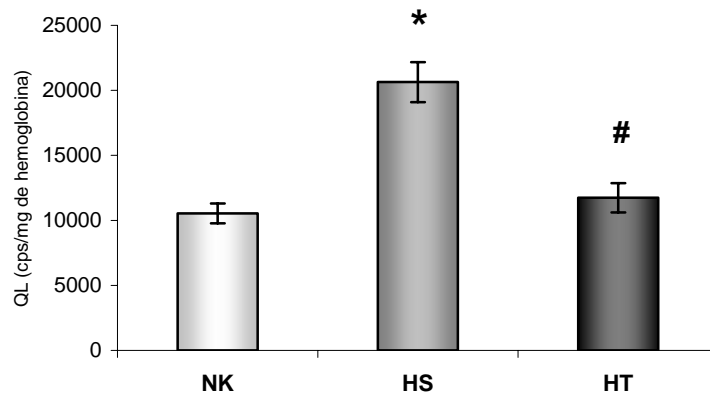


FIGURA 15 – Quimiluminescência (QL) em eritrócitos dos grupos estudados. Os valores estão representados por médias \pm erro padrão.

* $p < 0,001$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,001$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

A lipoperoxidação em eritrócitos estava negativamente correlacionada ($r = -0,80$; $n = 14$) à resposta bradicárdica induzida pela fenilefrina, indicando que quanto maior os valores de QL (cps/mg de hemoglobina) em eritrócitos menor a sensibilidade barorreflexa (bpm/mm Hg) (FIGURA 16).

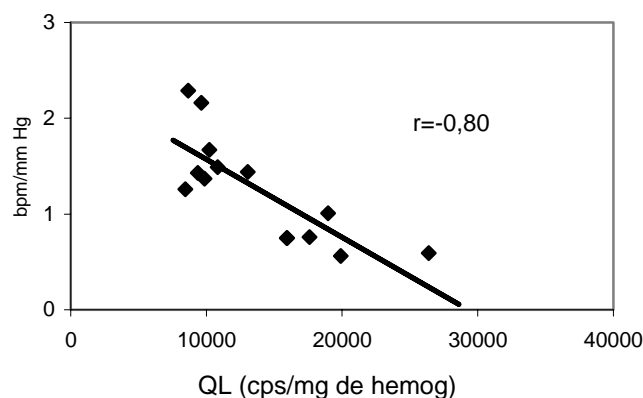


FIGURA 16 – Correlação negativa ($r = -0,80$) entre os valores de QL em eritrócitos e a resposta bradicárdica do barorreflexo (bpm/mm Hg) ($p < 0,001$).

Os valores de QL em eritrócitos (cps/mg de hemoglobina) também apresentaram correlação negativa ($r = -0,80$; $n = 14$) com a resposta taquicárdica (bpm/mm Hg), induzida pela administração de nitroprussiato de sódio. Esta resposta indica que quanto menor a lipoperoxidação nos eritrócitos, maior será a resposta taquicárdica do barorreflexo (FIGURA 17).

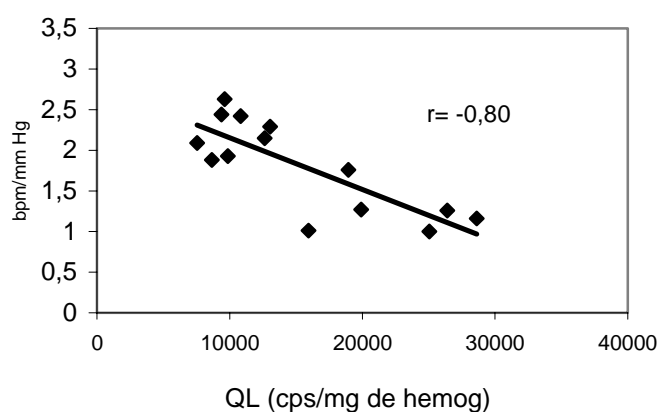


FIGURA 17 - Correlação negativa ($r = -0,80$) entre os valores de QL em eritrócitos e a resposta taquicárdica do barorreflexo (bpm/mm Hg) ($p < 0,001$).

Foi verificada uma correlação negativa ($r = -0,80$; $n = 11$) entre os valores de QL nos eritrócitos (cps/mg de hemoglobina) e a bradicardia reflexa (bpm) induzida pela administração de serotonina. Esta relação indica que quanto maior o dano oxidativo aos lipídios em eritrócitos, menor será a resposta do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarish (FIGURA 18).

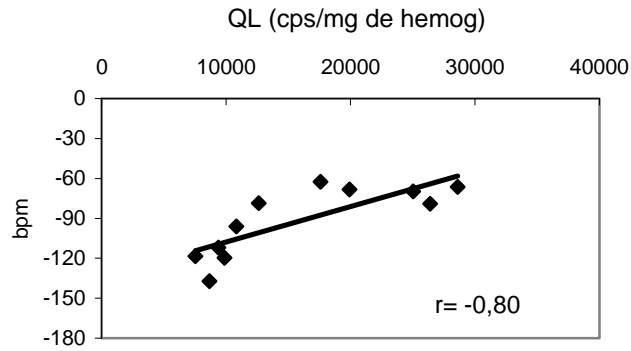


FIGURA 18 - Correlação negativa ($r = -0,80$) entre os valores de QL em eritrócitos e a bradicardia reflexa induzida pela serotonina. ($p < 0,01$).

5.8.1.2. Quimiluminescência em Tecido Cardíaco

O efeito do exercício na diminuição da lipoperoxidação ($p < 0,05$) também pôde ser observado no coração ao se comparar a QL (cps/mg de proteína) entre os grupos hipertensos sedentário (12694 ± 1285 ; $n=7$) e treinado (8678 ± 523 ; $n=8$). Não foi verificada diferença significativa entre esses grupos e o grupo normotenso (11171 ± 1407 ; $n=6$) (FIGURA 19).

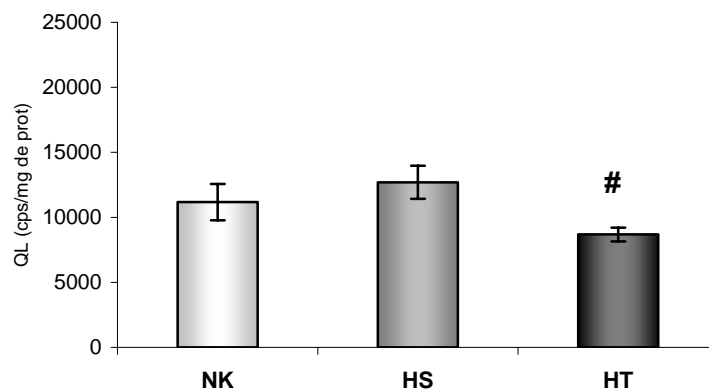


FIGURA 19 - Quimiluminescência (QL) em homogeneizado cardíaco dos grupos estudados. Os valores estão representados por médias \pm erro padrão.

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.8.1.3. Quimiluminescência na Aorta

Na aorta, observou-se diferença significativa ($p < 0,01$) na QL (cps/mg de proteína) entre os ratos normotensos (13417 ± 2348 ; $n=6$) e os ratos hipertensos sedentários (27766 ± 2449 ; $n=5$). O exercício baixou estes valores no grupo hipertenso treinado (20048 ± 1546 ; $n=7$) em relação aos hipertensos sedentários (FIGURA 20).

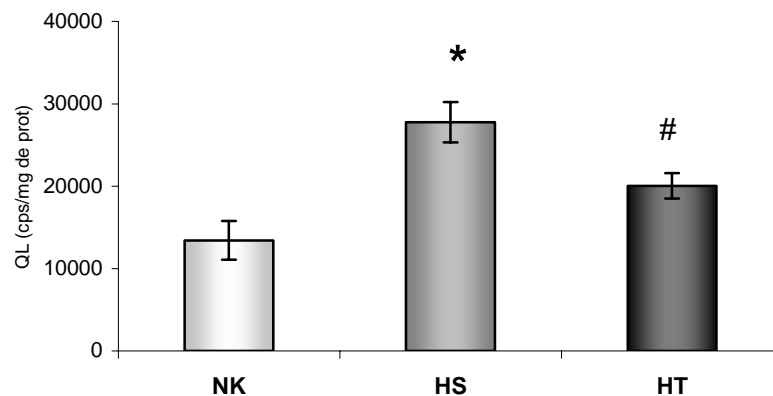


FIGURA 20 - Quimiluminescência (QL) em homogeneizado de aorta dos grupos estudados. Os valores estão representados por médias \pm erro padrão.

* $p < 0,01$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

A lipoperoxidação na aorta estava negativamente correlacionada ($r = -0,83$; $n=11$) à resposta bradicárdica induzida pela fenilefrina, indicando que

quanto maior os valores de QL (cps/mg de proteína) na aorta menor a resposta bradicárdica do barorreflexo (bpm/mm Hg) (FIGURA 21).

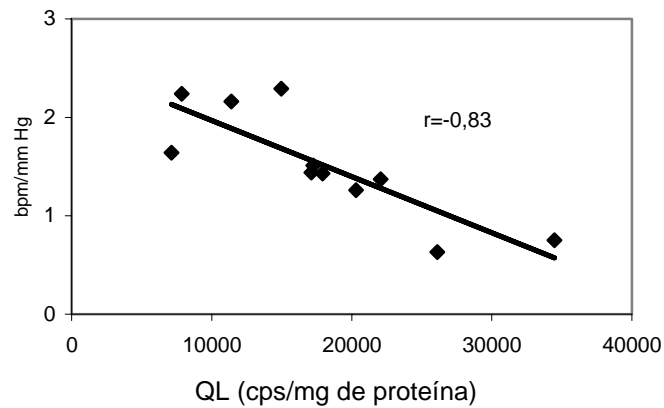


FIGURA 21 – Correlação negativa ($r = -0,83$) entre os valores de QL em aortas e a resposta bradicárdica do barorreflexo ($p < 0,01$).

Os valores de QL em aorta (cps/mg de proteína) também apresentaram correlação negativa ($r = -0,87$; $n = 10$) com a resposta taquicárdica (bpm/mm Hg), induzida pela administração de nitroprussiato de sódio. Esta correlação indica que quanto maior a lipoperoxidação na aorta, menor é a resposta taquicárdica ao barorreflexo (FIGURA 22).

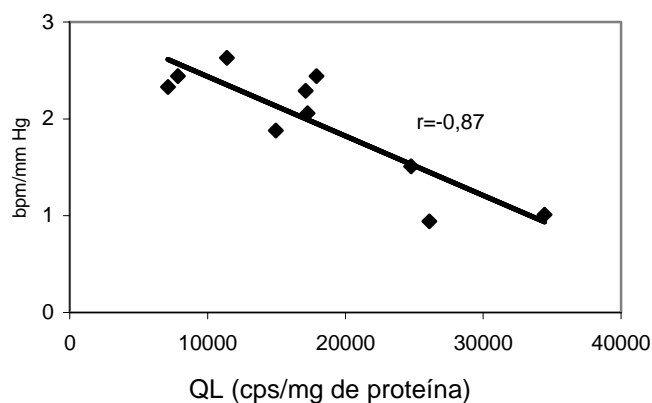


FIGURA 22 - Correlação negativa ($r = -0,87$) entre os valores de QL em aortas e a resposta taquicárdica do barorreflexo ($p < 0,01$).

5.8.2. Atividade das Enzimas Antioxidantes

5.8.2.1. Atividade das Enzimas Antioxidantes em Eritrócitos

Os valores da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPx) são apresentados na TABELA 4.

A atividade da SOD (U/mg de proteína) mostrou-se significativamente diminuída ($p < 0,05$) no grupo hipertenso sedentário ($n=8$) quando comparado com o grupo normotenso ($n=7$). No entanto, o exercício aumentou ($p < 0,05$) a atividade desta enzima no grupo hipertenso treinado ($n=11$) quando comparado com o sedentário.

A atividade da enzima CAT (pmoles/mg de proteína) nos eritrócitos diminuiu significativamente ($p < 0,001$) entre o grupo hipertenso treinado ($n=5$) e o grupo normotenso ($n=6$) e hipertenso sedentário ($n=5$).

Em relação à enzima GPx (nmoles/min/mg de proteína), sua atividade diferiu significativamente ($p < 0,01$) apenas entre os grupos hipertensos sedentário ($n=9$) e treinado ($n=10$), não diferindo entre o grupo normotenso ($n=9$).

TABELA 4 – Atividade das enzimas antioxidantes, em eritrócitos, dos grupos estudados.

	NK	HS	HT
SOD (U/mg de prot)	58,0 ± 4,1	41,7 ± 3,2*	56,6 ± 4,1#
CAT (pmoles/mg de prot)	0,35 ± 0,07	0,24 ± 0,03	1,52 ± 0,21* #

GPx (nmoles/min/mg de prot)	13,0 ± 0,7	11,7 ± 0,8	15,0 ± 0,4#
------------------------------------	------------	------------	-------------

Valores representam médias ± erro padrão.

* p<0,05 em relação ao grupo normotenso (NK).

p<0,05 em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.8.2.2. Atividade das Enzimas Antioxidantes no Coração

A atividade das enzimas SOD, CAT e GPx são apresentadas na TABELA 5.

Os valores da atividade da enzima SOD (U/mg de proteína), no coração, diferiram significativamente (p<0,05) entre os grupos hipertenso sedentário (n=9) e normotenso (n=8). O exercício aumentou (p<0,05) a atividade desta enzima no grupo hipertenso treinado (n=9) em relação ao sedentário.

A atividade da CAT (pmoles/mg de proteína) no coração não diferiu significativamente entre os grupos normotenso (n=9) e hipertensos sedentário (n=9) e treinado (n=9).

A atividade da GPx (nmoles/min/mg de proteína), em homogeneizado cardíaco, diferiu apenas entre os grupos hipertenso treinado (n=7) e normotenso (n=6), não apresentando diferença significativa entre o grupo hipertenso sedentário (n=7).

TABELA 5 – Atividade das enzimas antioxidantes, em homogeneizado cardíaco, dos grupos estudados.

	NK	HS	HT
SOD (U/mg de prot)	52,1 ± 2,4	41,5 ± 2,2*	50,2 ± 2,5#
CAT (pmoles/mg de prot)	3,83 ± 0,15	3,47 ± 0,13	3,42 ± 0,18
GPx (nmoles/min/mg de prot)	11,3 ± 1,4	14,2 ± 1,1	17,3 ± 1,7*

Valores representam médias ± erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

A atividade da enzima SOD (U/mg de proteína), no coração, estava inversamente correlacionada ($r = -0,83$; $n = 14$) com a pressão arterial média (mm Hg), indicando que, quanto menor a atividade desta enzima no coração, maior é o valor da PAM (FIGURA 23).

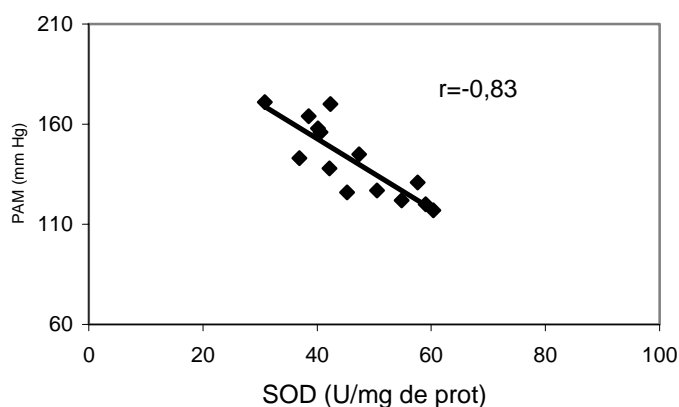


FIGURA 23 – Correlação negativa ($r = -0,83$) da atividade da SOD e PAM ($p < 0,001$).

5.8.2.3. Atividade das Enzimas Antioxidantes na Aorta

Os valores da atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx estão demonstradas na TABELA 6.

Não houve diferença significativa na atividade da enzima SOD em aortas entre os grupos hipertensos sedentário (n=5) e treinado (n= 5), com seus controles normotensos (n=5). O mesmo ocorrendo com a atividade da GPx (nmoles/min/mg de proteína), em homogeneizado de aorta, entre os grupos hipertensos sedentário (n=5) e treinado (n=5) e o grupo normotenso (n=5).

A atividade da CAT (pmoles/mg de proteína) na aorta diferiu significativamente ($p < 0,05$) somente entre os grupos hipertenso sedentário (n=9) e treinado (n=9), não diferindo com o grupo normotenso (n=6).

TABELA 6 – Atividade das enzimas antioxidantes, em homogeneizado de aorta, dos grupos estudados.

	NK	HS	HT
SOD (U/mg de prot)	30,8 ± 2,0	28,8 ± 1,6	29,6 ± 1,7
CAT (pmoles/mg de prot)	2,4 ± 0,4	1,76 ± 0,17	2,73 ± 0,09*
GPx (nmoles/min/mg de prot)	39,1 ± 2,9	29,9 ± 1,4	30,1 ± 1,1

Valores representam médias ± erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.8.3. Avaliação da Concentração dos Metabólitos do Óxido Nítrico

5.8.3.1. Concentração de Nitratos Totais no Plasma

A concentração de nitratos totais (NOx em mmol/L) no plasma apresentou uma variação significativa ($p < 0,05$) entre os grupos hipertensos sedentário ($2,45 \pm 0,32$; $n=6$) e treinado ($3,84 \pm 0,37$; $n=7$), não diferindo com o grupo normotenso ($3,26 \pm 0,29$; $n=5$) (FIGURA 24).

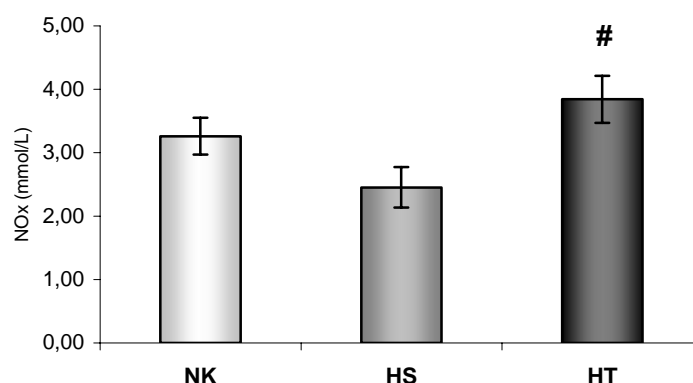


FIGURA 24 – Concentração de nitratos totais (NOx; mmol/L) em plasma nos diferentes grupos estudados. Os valores estão representados como médias \pm erro padrão.

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

5.8.3.2. Concentração de Nitratos Totais em Tecido Cardíaco

A concentração de NOx (mmol/L) em homogeneizado de tecido cardíaco apresentou uma variação significativa entre todos os grupos experimentais ($p < 0,0001$). Na FIGURA 25 podemos observar uma diminuição significativa ($p < 0,001$) dos nitratos totais entre os grupos normotenso ($7,05 \pm 0,44$; $n=7$) e hipertensos sedentário ($4,03 \pm 0,34$; $n=7$) e treinados ($5,49 \pm 0,35$; $n=6$) ($p < 0,05$). No entanto, o exercício provocou um aumento significativo ($p < 0,05$)

na concentração de NOx no coração dos animais hipertensos treinados quando comparado com o grupo hipertenso sedentário.

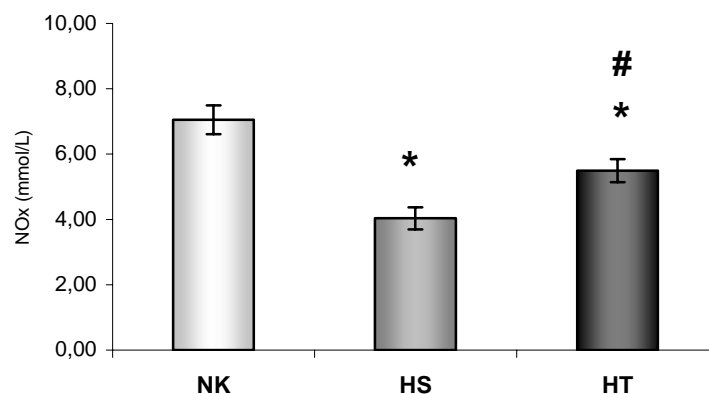


FIGURA 25 – Concentração de nitratos totais (NOx; mmol/L) em homogeneizado de tecido cardíaco nos diferentes grupos estudados. Os valores estão representados como médias \pm erro padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo normotenso (NK).

$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertenso sedentário (HS).

A concentração de NOx no coração (mmol/L) estava positivamente correlacionada ($r=0,81$; $n=10$) com a atividade da enzima SOD (U/mg de proteína) em homogeneizado cardíaco. Esta correlação demonstra que quanto maior a atividade da enzima SOD no coração, maior é a concentração de NOx neste tecido (FIGURA 26).

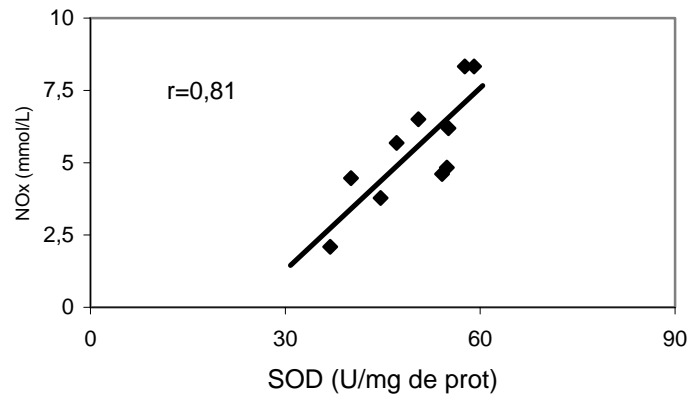


FIGURA 26 – Correlação positiva ($r=0,81$) entre a atividade da enzima SOD e a concentração de NOx ($p<0,005$).

5.8.3.3. Concentração de Nitratos Totais em Aorta

Não houve diferença significativa na concentração de NOx (mmol/L) em homogeneizado de aorta entre os grupos normotenso ($3,15 \pm 1,04$; $n=6$) e hipertenso sedentário ($3,76 \pm 2,04$; $n=5$) e hipertenso treinado ($4,00 \pm 2,25$; $n=4$).

DISCUSSÃO



6. DISCUSSÃO

O objetivo desta dissertação foi estudar os efeitos do treinamento físico, em ratos SHR, sobre a pressão arterial, bem como elucidar alguns dos mecanismos fisiológicos envolvidos no controle reflexo da PA; e avaliar o estresse oxidativo e a produção de óxido nítrico em diferentes tecidos. Buscou-se também correlacionar estas alterações bioquímicas com o controle barorreflexo da pressão arterial.

6.1. Pressão arterial e frequência cardíaca

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o treinamento físico, de intensidade moderada e realizado por 10 semanas, diminui os valores de PAM, PAS e PAD em ratos SHR comparados aos sedentários. O efeito do exercício regular e moderado sobre a atenuação da pressão arterial foi também reportado em humanos, diminuindo tanto a PAS, como a PAD (Fagard, 2001). A mudança no estilo de vida, incluindo exercício regular e dieta, mostrou também ser eficiente na redução da PA de pacientes com hipertensão essencial moderada, podendo diminuir os valores de PAS em 15 a 20 mm Hg (Roberts et al., 2002). A atenuação da PA após treinamento físico também pode ser verificada em estudos com animais SHR (Tipton et al., 1983; Negrão et al., 1993; Vêras-Silva et al., 1997). Alguns fatores como a idade do animal no início do protocolo de exercício, bem como a intensidade utilizada e o período

de realização deste, podem influenciar na variação da resposta atenuadora da PA pelo exercício.

Estudos com animais SHR jovens que utilizaram protocolos de treinamento com intensidade moderada mostraram importante queda dos valores de PA, tanto sistólica como diastólica (Yen et al., 1995; Brum et al., 2000; Chaumont et al, 2001). Esses animais jovens não apresentam ainda valores pressóricos elevados, sendo que o seu aumento inicia em torno da oitava semana de vida. Sendo assim, o exercício mostrou-se benéfico quando utilizado de forma preventiva, isto é, antes dos animais apresentarem hipertensão. Em relação ao efeito atenuador da PA pelo exercício em animais SHR adultos, os estudos mostram resultados controversos, indicando apenas uma leve diminuição da PA (LaPier & Rodnick, 2001) ou a ausência deste efeito (Hong & Johnson, 1995). Uma vez que a realização do treinamento físico nestes animais demonstrou diminuir seus valores pressóricos, verifica-se a importância de não apenas investigar estes efeitos naqueles animais com hipertensão em desenvolvimento, mas também naqueles com a hipertensão já estabelecida, avaliando o verdadeiro efeito do exercício sobre a atenuação da PA. Sendo assim, nosso trabalho avaliou em primeiro lugar, a idade a partir da qual os animais SHR apresentam a hipertensão estabelecida, para então, verificarmos o real efeito do treinamento físico sobre a PA.

Ao realizarmos o controle da PAS, por pletismografia caudal, foi verificado que a partir da 9ª semana, os animais SHR já apresentavam PAS maiores que os normotensos. Porém, a partir da 10ª semana de idade, os animais SHR passaram a ter esses valores significativamente elevados quando comparados com seus controles normotensos. A partir desta semana, a

pressão continuou a subir até atingir o platô na 14^o semana, mantendo, então, os valores elevados da PA. Estes dados concordam com aqueles encontrados em um estudo prévio realizado por Bell e colaboradores (2004), no qual foi observado o início do aumento da PA em animais SHR a partir da 7^o semana de idade. Estes valores continuaram a subir progressivamente até que, a partir da 16^o semana, foi atingido o platô, caracterizando o estabelecimento da hipertensão.

Em nosso estudo, optamos por iniciar o protocolo de exercício na 15^o semana, período no qual verificamos que os animais SHR já se encontravam com a hipertensão estabelecida. Neste momento, os animais SHR foram randomizados em um grupo sedentário e outro submetido ao exercício. Os valores de PAS obtidos na cauda, avaliados no início do protocolo de exercício, mostraram que não havia diferença entre os dois grupos SHR, tanto sedentários como aqueles que seriam treinados, indicando ainda que ambos os grupos hipertensos apresentavam valores de PAS elevados quando comparados aos normotensos.

Ao avaliarmos o efeito do exercício crônico na hipertensão já estabelecida, verificamos o seu efeito benéfico na atenuação dos valores de PAM, PAS e PAD. O esclarecimento do mecanismo pelo qual o exercício reduz a PA tem sido estudado por muitos pesquisadores. Acredita-se que estes efeitos sejam conseqüências da diminuição do débito cardíaco e/ou da atenuação da resistência periférica total. A explicação para a provável diminuição do débito cardíaco pelo treinamento físico é a demonstração da bradicardia de repouso em animais exercitados (Negrão et al., 1992), sendo esta resposta um marcador de adaptação ao treinamento. Estes dados

justificam o provável efeito do exercício na diminuição do débito cardíaco e, conseqüentemente, da PA.

Alguns autores acreditam que a atenuação da resistência periférica total também seja importante fator responsável pela diminuição dos valores pressóricos em animais treinados. Esta hipótese foi enfatizada em estudos prévios demonstrando em animais normotensos que o exercício crônico diminuiu a atividade renal simpática e a responsividade α -noradrenérgica (Negrão et al., 1993). Além disso, estudos em humanos mostraram que o treinamento físico reduziu os níveis de norepinefrina (Duncan et al., 1985) e a atividade simpática muscular (Grassi et al., 1994). Esses fatores contribuem para a diminuição da resistência periférica total e da PA após treinamento físico.

Entretanto, ao contrário do que relatam outros autores (Tipton, 1991; Silva et al., 1997; Véras-Silva et al., 1997), não foi verificada nesse estudo variação de FC entre os grupos de animais hipertensos sedentário e treinado. Este resultado nos leva a crer que provavelmente o volume sistólico dos animais não aumentou de forma importante para justificar uma queda da FC, sem causar diminuição do débito cardíaco. Sendo assim, os resultados sugerem que esse efeito de diminuição da PA no grupo treinado possa ter ocorrido devido à diminuição da resistência vascular periférica. Outros resultados obtidos em nosso estudo reforçam esta hipótese, como o aumento dos metabólitos do óxido nítrico (NO) no sangue dos SHR treinados, e a diminuição do estresse oxidativo na aorta e sangue.

Outro fator relevante que pode contribuir com a diminuição da resistência vascular periférica é o aumento da complacência vascular,

principalmente arterial, induzida pelo exercício. Estudos realizados em ratos normotensos observaram que estes animais, quando submetidos ao treinamento físico, apresentaram maior complacência arterial, avaliada *in vitro*, quando comparados com os animais sedentários (Kingwell et al., 1997; Kingwell et al., 1998). O aumento da concentração de nitratos no plasma observado em nossos animais indica que provavelmente tenha ocorrido melhora da função endotelial nos animais submetidos ao treinamento físico.

Um outro indicador de adaptação ao treinamento físico, encontrado em nosso estudo, foi a modificação da velocidade do limiar de lactato no grupo de ratos SHR treinados, passando de 20 m/min a 25 m/min. A velocidade máxima atingida no teste de esforço máximo (TEM) neste grupo passou de 30 m/min para 35 m/min. Estes dados indicam a melhora tanto da capacidade aeróbica, como anaeróbica nos animais exercitados. No grupo de animais sedentários, não foi observada alteração nos valores da velocidade no limiar de lactato, permanecendo 15 m/min, tanto no período pré-treinamento, como no período pós-treinamento. A velocidade máxima tolerada no TEM neste mesmo grupo diminuiu no período pós-treinamento (25 m/min), quando comparada com a velocidade no início do protocolo (30 m/min). Estes resultados indicam que, os animais sedentários apresentaram no decorrer do protocolo, piora da capacidade aeróbica e menor tolerância ao exercício máximo, provavelmente devido aos efeitos da progressão da hipertensão.

Sabe-se que em humanos, a concentração de lactato no sangue aumenta exponencialmente com a intensidade do exercício. O ponto de quebra na curva de lactato sangüíneo *versus* carga do exercício é conhecido como limiar anaeróbico (LA). O LA ocorre dentro de uma faixa de variação

submáxima de intensidade do exercício, entre 50 e 80% da carga máxima (Wasserman et al., 1973; Hughson et al., 1987; Connett et al., 1990). Um estudo realizado por Pilis e colaboradores (1993) demonstrou que, mesmo em ratos, na corrida em esteira com intensidade crescente, a concentração de lactato no sangue apresenta um padrão similar ao descrito em humanos. Sendo assim, através da curva de lactato pode-se determinar a intensidade do exercício na qual a sua concentração começa a aumentar rapidamente, sendo este ponto o LA. Considerando o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}) em ratos, verificado por outros autores, concluiu-se que o LA em ratos corresponde a 55-65% do VO_{2max} (Bedford et al., 1979; Glesson & Boldwin, 1981).

Não houve, até então, qualquer estudo identificando e analisando o limiar de lactato em animais SHR. No entanto, ao analisarmos a relação do LA com o VO_{2max} previamente avaliado por outros pesquisadores (Negrão et al., 1987; Gava et al., 1995), verificamos que a velocidade de 20 m/min, identificada no período pré-treinamento, corresponde a 50-55 % do VO_{2max} dos animais hipertensos e a velocidade de 25 m/min, obtida no período pós-treinamento, à 60-65% do VO_{2max} . Ao analisarmos esta relação, porém considerando a velocidade máxima no TEM, observamos que a velocidade de 20 m/min corresponde à aproximadamente 65% da velocidade máxima, e a velocidade de 25 m/min, no período pós-treinamento, à aproximadamente 70% da velocidade máxima.

Baseado nestes dados pode-se considerar a intensidade utilizada no protocolo de exercício deste experimento como moderada, visto que no protocolo escalonado, a velocidade não ultrapassou a velocidade do LA. Desde o início da realização de pesquisas envolvendo exercício e hipertensão, houve

uma especial preocupação em relação à determinação da intensidade ideal utilizada, com o objetivo de atenuar a PA. Em um estudo realizado por Vêras-Silva et al. (1997), comparou-se as respostas pressóricas ao exercício realizado à 55% e 85% do VO_{2max} , considerados em animais SHR, de baixa e alta intensidade, respectivamente. Nesse estudo foi observado que o treinamento físico de baixa intensidade reduziu a PAS, PAD e PAM, enquanto o treinamento de alta intensidade não modificou os valores de PA em SHR. Estes estudos reforçam o conceito de que o exercício físico de baixa e moderada intensidade são mais eficientes no tratamento da hipertensão.

O exercício também parece estar relacionado com alterações estruturais cardíacas em animais SHR. Nosso estudo, apesar de não ter observado diferença no peso corporal entre os grupos estudados, verificou aumento significativo do peso do coração em relação ao peso corporal (índice de hipertrofia cardíaca) nos SHR sedentários. O exercício, apesar de não ter diminuído significativamente o peso do coração nos animais SHR, reduziu o índice de hipertrofia cardíaca. Além disso, verificou-se uma correlação positiva entre o índice de hipertrofia cardíaca e os valores de PAM nos nossos animais, indicando que quanto maior os valores de PA, maior a hipertrofia cardíaca.

Estes resultados são reforçados pelo estudo de Bell e colaboradores (2004), que avaliou o curso temporal da hipertrofia cardíaca em animais SHR. Foi verificado nesse estudo que a relação peso coração/peso corporal nos animais hipertensos aumentou a partir da 16ª semana de idade até a 20ª semana, correspondendo ao período aproximado de estabelecimento do platô hipertensivo.

Nossos resultados também concordam com os encontrados no estudo realizado por Iemitsu et al. (2003), onde foi verificada discreta diminuição da hipertrofia cardíaca em animais SHR treinados comparados com os sedentários. Ao avaliar a função cardíaca, bem como o metabolismo deste tecido, os autores observaram melhora induzida pelo exercício.

A sobrecarga pressórica na hipertensão resulta em hipertrofia cardíaca patológica, tendo como consequência a redução da função cardíaca e podendo levar ao quadro de insuficiência cardíaca (Panidis et al., 1984; Richey & Brown, 1998). No entanto, o treinamento físico moderado induz outro tipo de hipertrofia cardíaca, definida como fisiológica e conhecida como “coração do atleta” (Raskoff et al., 1976; Fagard, 1997). Esse tipo de hipertrofia induz respostas adaptativas benéficas ao sistema cardiovascular, como diminuição da FC de repouso, diminuição da FC submáxima durante o exercício e aumento do retorno venoso (Fagard, 1997; Iemitsu et al., 2000). Assim, o exercício atua em alguns casos diminuindo parcialmente a hipertrofia cardíaca, não apenas por diminuir os valores do peso do coração *per se*, mas principalmente por melhorar a função e o metabolismo cardíaco.

A melhora da função do sistema cardiovascular induzida pelo exercício, também pode envolver os mecanismos de controle reflexo da PA. Frequentemente se observa na hipertensão, tanto em humanos (Andresen & Yang, 1989; Biaggioni, 2003), como em animais SHR (Minami et al., 1989; Silva et al., 1997; Ruggeri et al., 2000), a piora do reflexo cardiopulmonar e do barorreflexo, associada com a depressão na atividade aferente dos pressorreceptores.

A seguir discutiremos nossos resultados que mostram o efeito do exercício sobre as alterações no controle barorreflexo e dos receptores cardiopulmonares em animais SHR.

6.2. Reflexo Pressorreceptor

A manutenção dos valores de PA em níveis adequados à perfusão tecidual em diferentes condições é um requisito básico para a sobrevivência dos mamíferos, e é regulado por mecanismos complexos neurohumorais. O controle momento-a-momento da função cardiovascular é regulado através de pressorreceptores arteriais que detectam e corrigem alterações na PA. O reflexo desencadeado irá controlar e restabelecer os valores pressóricos através da modulação da eferência simpática e parassimpática ao sistema cardiovascular (Chapleau et al., 1995). No entanto, a disfunção barorreflexa tem sido estudada na hipertensão arterial e outras doenças cardiovasculares (Korner, 1989; Zanchetti & Mancia, 1991; Head, 1994). Dados na literatura mostram que o prejuízo da sensibilidade barorreflexa pode ser uma das causas ou conseqüência da hipertensão arterial. Alterações na estrutura e distensibilidade podem ocorrer na parede dos vasos, o que conseqüentemente, diminui a atividade pressorreceptora, contribuindo para o desenvolvimento da hipertensão (Chapleau et al., 1988; Chapleau et al., 1995).

Existem evidências de que a hipertensão em humanos pode ser induzida ou agravada pelo prejuízo do controle barorreflexo (Sleight, 1991), sendo esta alteração também observada em modelos experimentais de hipertensão, como nos animais geneticamente hipertensos (Andresen et al., 1978; Gordon et al.,

1981). Nossos dados reforçam o envolvimento do deficiente controle barorreflexo na regulação da PA em animais SHR. Ao comparar os índices de sensibilidade barorreflexa entre animais normotensos e hipertensos, verificamos diminuição das respostas induzidas pelo barorreflexo, tanto bradicárdicas, como taquicárdicas nos ratos SHR. Ao avaliar a alteração da sensibilidade barorreflexa neste modelo experimental Minami e colegas (1989) verificaram que a diminuição da sensibilidade barorreflexa iniciava a partir da 4^o e 5^o semana de vida destes animais, quando comparados com seus controles normotensos. Assim, baseados nos estudos desse e de outros autores, sugere-se que a disfunção barorreflexa na hipertensão ocorra devido a alterações em diversos componentes do arco reflexo: alterações tanto nos sistemas aferentes e eferentes, como nos componentes centrais e nos núcleos moduladores da resposta barorreflexa (Minami et al., 1989; Head, 1994).

Modificações na estrutura das grandes artérias e a diminuição da distensibilidade vascular podem ser considerados mecanismos responsáveis pelo estabelecimento desta alteração na hipertensão (Andresen et al., 1980; Coleridge et al., 1984). A estas alterações, somam-se ainda a disfunção endotelial e o aumento do estresse oxidativo.

A disfunção endotelial, verificada na hipertensão, promove diminuição da biodisponibilidade de fatores vasodilatadores derivados do endotélio, principalmente o NO, contribuindo para o aumento da resistência vascular periférica e diminuição da complacência arterial (Kingwell et al., 1995; Ülker et al., 2003). Acredita-se que o NO tenha uma importante função na regulação do controle barorreflexo, pois, ao realizar o bloqueio da produção de NO em indivíduos saudáveis, verificou-se diminuição da sensibilidade barorreflexa

(Chowdhary et al., 2000). Além disso, a biodisponibilidade de NO na aorta e seio carotídeo pode alterar esta sensibilidade, tanto pelos seus efeitos na distensibilidade arterial, como pelos efeitos diretos do NO e de espécies reativas do oxigênio (ERO) na despolarização dos pressorreceptores (Schultz & Ustinova, 1998; Li et al., 1996). Uma vez verificada a disfunção endotelial através da diminuição da resposta vasodilatadora à acetilcolina (Ülker et al., 2003), bem como o aumento do estresse oxidativo (De Craemer et al., 2001), relaciona-se esses mecanismos com as alterações na complacência vascular verificada em animais hipertensos, e na sensibilidade dos pressorreceptores, diminuindo assim as respostas bradicárdicas e taquicárdicas do barorreflexo.

A elevação da pressão arterial durante o exercício, acompanhada por taquicardia ao invés de bradicardia, tem sido interpretada como uma demonstração da diminuição da atividade do barorreflexo durante o exercício. No entanto, existe evidência de que o barorreflexo está ativamente envolvido no controle da circulação durante o exercício (Papelier et al., 1994). Krieger e colaboradores (1998) avaliaram a sensibilidade barorreflexa na resposta bradicárdica, ao aumento da pressão arterial no repouso e durante o exercício e verificaram que a sensibilidade barorreflexa foi igualmente efetiva nas duas condições.

Alguns autores, ao investigar o efeito do treinamento físico na sensibilidade barorreflexa, verificaram melhora deste controle em indivíduos hipertensos (Pagani et al., 1988; Somers et al., 1991). Esse efeito do exercício crônico foi também evidenciado em animais SHR, indicando melhora do controle da FC pelo barorreflexo, associada à diminuição dos valores de PA (Silva et al., 1997).

Nosso estudo também mostrou que o exercício melhorou a sensibilidade barorreflexa dos animais exercitados em relação aos sedentários. Verificamos uma redução da resposta taquicárdica de 54% nos animais SHR sedentários e de 28% nos animais treinados, ao compará-los com os controles normotensos. O treinamento físico também provocou uma redução na resposta bradicárdica de 32% nos treinados, enquanto nos SHR sedentários a atenuação da bradicardia foi de 58%, quando comparados com os animais normotensos. Estes resultados indicam que o treinamento físico não restabeleceu totalmente as respostas taquicárdicas e bradicárdicas do barorreflexo, no entanto melhorou este mecanismo de controle da PA.

A intensidade moderada utilizada no protocolo de exercício deste experimento pode ser um dos fatores que contribuíram para a melhora da sensibilidade barorreflexa. Em outro estudo, o treinamento físico de baixa intensidade (50% do VO_{2max}), com animais SHR jovens, também restabeleceu parcialmente as respostas bradicárdicas (18%) e taquicárdicas (17%) do barorreflexo, quando comparadas com as respostas dos animais normotensos (Silva et al., 1997).

O aumento da complacência vascular, após o treinamento físico, foi observado em humanos (Giannattasio et al., 1992) e ratos normotensos (Kingwell et al., 1997). No entanto, esta resposta não foi observada em animais SHR (Kingwell et al., 1997). Uma provável explicação para a melhora da sensibilidade barorreflexa nesses animais seriam as mudanças endoteliais após o treinamento físico, pois o aumento do *shear stress* durante o exercício aumenta a liberação de fatores vasodilatadores endoteliais (Katz, 1995), o que pode contribuir para a melhora do controle barorreflexo.

Estudos prévios, realizados com animais SHR, mostraram que o exercício crônico aumenta a resposta vasodilatadora à administração de acetilcolina em comparação com a resposta observada em SHR sedentários (Yen et al., 1995; Chen et al., 1996; Chen et al., 1999). O aumento da concentração de nitritos/nitratos no plasma de animais SHR treinados, encontrado em nosso estudo, e também por outros autores (Jonsdottrir et al., 1998; Kohmo et al., 2002), reforçam a idéia da melhora na função endotelial induzida pelo exercício.

O aumento no ganho de sensibilidade nos barorreceptores também pode ser explicado pela redução da atividade simpática. Diversos estudos demonstraram previamente a diminuição da atividade simpática, e da liberação excessiva de norepinefrina em diversos tecidos, tanto em humanos (Meredith et al., 1991; Grassi et al., 1994; Brown et al., 2002), como em ratos (Negrão et al., 1993;). Estas alterações na atividade simpática podem modificar o tônus dos vasos e a distensibilidade arterial, com conseqüente melhoria da descarga aferente barorreceptora em animais SHR (Bolter & Ledsome, 1976; Seagard et al., 1987).

No entanto, nossos resultados discordam daqueles encontrados por Chen e colaboradores (1995) que, ao submeterem animais SHR ao exercício espontâneo diário, observaram atenuação da sensibilidade barorreflexa tanto no grupo SHR sedentário, como no treinado. Os autores atribuíram essa atenuação a mudanças no componente central do reflexo.

No nosso estudo avaliamos apenas as respostas bradicárdicas e taquicárdicas do barorreflexo, o que não indica o local exato de alteração do arco reflexo promovida pelo exercício. Nossa preocupação foi investigar a

relação destas respostas reflexas com o estresse oxidativo avaliado no sangue, coração e aorta. Nossos resultados mostraram importantes correlações negativas, tanto da resposta taquicárdica como da bradicárdica, com o dano oxidativo aos lipídeos no sangue e aorta. Esses achados indicam que o aumento do estresse oxidativo sistêmico em animais SHR está envolvido com a diminuição da sensibilidade barorreflexa, como discutiremos mais adiante.

6.3. Reflexo Cardiopulmonar

É indiscutível a importante função dos barorreceptores na rápida estabilização da PA, mas estudos em humanos e animais demonstram que o controle reflexo da circulação depende não somente destes pressorreceptores, mas também dos receptores cardiopulmonares (Zanchetti & Mancia, 1991). Nosso estudo mostrou melhoria da sensibilidade dos receptores cardiopulmonares nos animais hipertensos treinados, quando comparados com seus controles sedentários.

Os impulsos originados nos receptores cardiopulmonares, via vago, modulam a função cardíaca, por reduzirem a PA e a FC, contribuindo para o controle fisiológico da circulação (Vasquez, 1994). Os reflexos cardiopulmonares podem ser estimulados tanto por mudanças da pressão no coração, como também por agentes químicos. Este reflexo quimiosensitivo é conhecido como reflexo de Bezold-Jarisch, caracterizado por bradicardia e hipotensão simultâneas induzidas pelo aumento da atividade vagal para o coração (Higuchi et al., 1988; Ustinova & Schultz, 1994). Substâncias

endógenas, como as prostaglandinas e serotonina, podem estimular este reflexo (Higuchi et al., 1988).

Dados clínicos e experimentais têm demonstrado que o reflexo de Bezold-Jarisch exerce importante papel no controle da função cardiovascular em condições normais e patológicas (Mark, 1983; Meyrelles et al., 1994). Estudos em humanos mostraram que o reflexo cardiopulmonar pode estar exagerado na hipertensão limítrofe, normal na hipertensão moderada, e prejudicado na hipertensão estabelecida (Mark & Kerber, 1982; Zanchetti & Mancia, 1991).

O reflexo de Bezold-Jarisch foi testado em diferentes modelos de hipertensão experimental, mas seus resultados não podem ser comparados devido aos diferentes mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesses modelos (Ferrari et al., 1984; Thames & Johnson, 1985). No entanto, nossos resultados mostraram que este reflexo estava prejudicado nos animais SHR quando comparados aos seus controles normotensos.

No presente estudo, a resposta bradicárdica foi menor nos animais SHR sedentários quando comparados aos normotensos. Não observamos diferença significativa na resposta hipotensora induzida pela serotonina, mas podemos perceber uma tendência à diminuição dessa resposta nos animais SHR sedentários em relação aos treinados. Essas respostas são normalmente mediadas por ativação do vago e inibição do simpático (Thorén, 1979). Outros estudos reforçam nossos achados, pois também verificaram prejuízo do reflexo cardiopulmonar em animais SHR comparados aos seus controles normotensos (Verberne et al., 1988; Widdop et al., 1990).

A alteração do reflexo de Bezold-Jarisch na hipertensão parece ser secundária ao estado hipertensivo e acompanhada por hipertrofia cardíaca. Um estudo realizado por Zanchetti & Mancia (1991), em humanos hipertensos, mostrou aumento da resposta reflexa em hipertensos limítrofes, bem como normalidade da resposta em hipertensos moderados sem evidências clínicas de hipertrofia cardíaca. No entanto, em hipertensos severos com hipertrofia cardíaca, a resposta do reflexo cardiopulmonar estava reduzida. Por outro lado, a regressão terapêutica da hipertrofia cardíaca parece restaurar parcialmente a função desse reflexo (Grassi et al., 1990).

O processo de hipertrofia cardíaca pode promover a modificação estrutural do arranjo das fibras miocárdicas, o que pode estar associado com a redução da resposta dos receptores cardiopulmonares nessa condição. A hipertrofia cardíaca, verificada na hipertensão, reduz a distensibilidade da parede tanto ventricular como atrial, o que provavelmente induz a inibição dos receptores cardiopulmonares (Thorén et al., 1979). Assim, acredita-se que a redução da hipertrofia cardíaca em SHR poderia estar associada com a normalização da sensibilidade dos receptores cardiopulmonares.

No nosso estudo, o exercício crônico moderado mostrou restabelecer parcialmente a resposta bradicárdica do reflexo cardiopulmonar, e recuperar totalmente a resposta hipotensora, superando inclusive a dos animais normotensos. O estudo realizado por Silva e colaboradores (1997), com animais SHR, concorda com nossos resultados, pois também mostrou que o treinamento físico de baixa intensidade aumenta a resposta dos receptores cardiopulmonares à ativação serotoninérgica.

Também observamos no nosso estudo uma importante correlação inversa entre o índice de hipertrofia cardíaca e a bradicardia reflexa induzida pela administração de serotonina. Esta correlação indica que quanto menor a hipertrofia cardíaca, maior é a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch. Assim, verificamos que o treinamento físico melhora a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares, provavelmente, por diminuir o índice de hipertrofia cardíaca nos animais SHR ao compararmos com os animais sedentários.

O aumento da sensibilidade dos receptores cardiopulmonares em animais SHR submetidos ao exercício físico, pode ser parcialmente explicado pela alteração estrutural do coração, considerando o aumento da densidade capilar (Crisman et al., 1985). Além disso, modificações na estrutura miocárdica após o treinamento físico, como na hipertrofia cardíaca fisiológica do atleta, podem induzir o aumento da complacência ventricular, provavelmente pelo aumento da pré-carga, e melhorar a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares (Iemitsu et al., 2003).

Outro fator importante a ser considerado é a possível atuação das ERO na piora da sensibilidade do reflexo de Bezold-Jarisch. No nosso estudo, verificamos uma relação inversa entre os valores de lipoperoxidação em eritrócitos e a bradicardia reflexa induzida pela administração de serotonina. Esse dado indica que quanto maior o dano oxidativo aos lipídeos em eritrócitos, ou seja, o estresse oxidativo sistêmico, menor é a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares.

Assim como nos pressorreceptores, a melhora da função endotelial e a diminuição do estresse oxidativo cardíaco no coração e vasos, podem ser

importantes fatores relacionados com a melhora da sensibilidade do reflexo de Bezold-Jarisch (Ülker et al., 2003). Verificamos no nosso trabalho que o exercício crônico e moderado reduziu o estresse oxidativo sistêmico, bem como aumentou a concentração de nitratos totais tanto no plasma como no coração, indicando a melhora da função endotelial no sistema cardiovascular. Esse efeito do treinamento físico, associado ao seu efeito sobre a hipertrofia cardíaca, indica sua possível atuação na melhora da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch.

6.4. Bloqueio Seqüencial dos Sistemas Pressores

No presente estudo realizamos o bloqueio seqüencial para investigarmos o efeito do exercício em SHR, sobre:

- o sistema arginina-vasopressina, através do bloqueio dos receptores V_1 para vasopressina;
- o SRA, através do bloqueio dos receptores AT_1 pelo losartan;
- o sistema nervoso simpático, através do bloqueio dos receptores adrenérgicos pelo hexametônio.
- a participação do NO no relaxamento dependente do endotélio através da inibição de sua síntese pelo L-NAME.

Verificamos que o aumento percentual da pressão com o bloqueio da síntese de óxido nítrico, pelo L-NAME, foi significativamente maior no grupo SHR treinado, em comparação ao o grupo SHR sedentário. Porém, os SHR não diferiram do controle, que apresentou variação, não significativa, percentualmente maior do que os SHR sedentários, mas menor do que a

variação nos animais treinados. Esses resultados indicam que o exercício provavelmente tenha provocado maior participação do NO no controle da PA. Essa participação do NO, durante o treinamento físico, seria importante a ponto de ser maior nos animais hipertensos treinados, do que em animais normotensos.

Esses dados condizem com outros estudos que verificaram o aumento da produção e função do NO em animais submetidos ao treinamento físico (Sessa et al., 1994; Uematsu et al., 1995). Além disso, estudos realizados com animais SHR mostraram que o exercício crônico moderado aumentou a resposta endotelial à acetilcolina (Yen et al., 1995; Chen et al., 1996; Chen et al., 1999), aumentou a concentração de nitritos/nitratos no plasma (Kohmo et al., 2002) e aumentou a atividade da enzima NO sintase no hipotálamo (DiCarlo et al., 2002) desses animais.

Não verificamos diferença na atividade do sistema arginina-vasopressina entre os grupos estudados. Esse dado indica que, provavelmente, este sistema não esteve significativamente alterado nos animais SHR tanto sedentários como treinados.

Ao avaliarmos a atividade do sistema renina-angiotensina neste experimento, também não verificamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados. No entanto, podemos observar uma discreta tendência à diminuição da atividade desse sistema no grupo de animais SHR treinados em relação aos sedentários. Dados prévios indicam que o exercício aeróbico, tanto de baixa quanto de alta intensidade, não alteraram os níveis de Ang II em humanos hipertensos (Higashi et al., 1999; Goto et al., 2003). Kohmo et al. (2002) verificaram que a elevação dos níveis plasmáticos de Ang II em

animais SHR adultos foi prevenida pelo exercício crônico. Esses autores acreditam que a diminuição da Ang II plasmática, também diminui a produção do ânion superóxido em animais SHR exercitados, proporcionando uma maior biodisponibilidade de NO, e com isso, contribui para a diminuição da PA verificada nesses animais.

É importante considerar que o nível de Ang II circulante está diretamente relacionado com a perfusão renal e, portanto, diretamente proporcional aos níveis de PA. Nesse caso, os animais sedentários, por apresentarem maior PA, seriam os que teriam a menor participação desse sistema, seguidos pelos SHR treinados e finalmente pelos controles normotensos. Essa tendência foi verificada em nosso estudo, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa.

Nossos resultados do controle barorreflexo mostraram melhora da resposta taquicárdica no grupo SHR exercitado em relação aos sedentários, indicando que a participação do sistema nervoso simpático na manutenção da PA basal, nesses animais, é menor. Surpreendentemente no bloqueio não verificamos diferença estatisticamente significativa na atividade do sistema nervoso simpático entre os grupos estudados.

Diversos estudos demonstram aumento da atividade simpática nos animais SHR, quando comparados aos seus controles normotensos (Mathias, 1991; Reja et al., 2002; Cabassi et al., 2002). Esses resultados não foram observados em nosso estudo, provavelmente devido a diferenças metodológicas. Novos experimentos são necessários para confirmação desses achados.

6.5. Estresse oxidativo

O nosso estudo mostrou que o treinamento físico realmente diminuiu o estresse oxidativo sistêmico, avaliado no sangue, coração e aorta dos animais SHR. Verificamos diminuição do dano oxidativo aos lipídeos, um marcador de estresse oxidativo, associado à melhora da atividade das enzimas antioxidantes no grupo SHR treinado. Soma-se a esses resultados, o aumento da concentração de nitratos totais verificado no plasma e coração, o que indica melhora da função endotelial no grupo hipertenso submetido ao exercício crônico moderado, provavelmente pela maior biodisponibilidade do NO.

O equilíbrio entre a produção e o catabolismo de oxidantes é um mecanismo importante para a manutenção de diversas funções biológicas. Grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio, são produzidas nas células vasculares, e atuam como importantes sinalizadores intracelulares (Nordmann, 1994). A produção de ERO é regulada por enzimas, como a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, e seu catabolismo por enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) (Griendling et al., 2000).

As ERO também estão relacionadas com os processos patofisiológicos de diversas doenças, sendo essa ação atribuída a sua alta reatividade e aos seus efeitos deletérios nas estruturas celulares (Halliwell & Gutteridge, 1999; Zalba et al., 2000; Imlay, 2003). Muitos estudos em humanos e modelos experimentais de hipertensão têm mostrado que a disfunção endotelial está

associada ao aumento da produção de ERO (Dijhorst-Oci et al., 1999; Romero & Reckelhoff, 1999; Cai & Harrison, 2000).

Estudos prévios evidenciaram que a geração de ERO em excesso, associada à atenuação do sistema antioxidante, induz a diminuição da biodisponibilidade do NO na hipertensão, levando ao prejuízo da função endotelial e redução da vasodilatação dependente do endotélio (Panza et al., 1990; Taddei et al., 1998). O radical superóxido, ao reagir com o NO, inibe sua ação e forma um potente pró-oxidante, o peroxinitrito (OONO^\cdot) (Beckman et al., 1990; Goss et al., 1997). Os peroxinitritos induzem a oxidação de proteínas, lipídeos e DNA nas células (Ballinger et al., 2000). Assim, a diminuição da biodisponibilidade do NO na hipertensão pode ser determinada tanto pela redução da produção de NO, como também pelo aumento da inativação oxidativa do NO pelas ERO (Cai & Harrison, 2000).

Muitos trabalhos mostram evidências do aumento da geração de ERO em animais SHR (Consentino et al., 1998; Zalba et al., 2001), sugerindo aumento do estresse oxidativo. No presente estudo, a medida da lipoperoxidação (LPO), através da QL, em sangue, coração e aorta, indicou aumento do dano oxidativo aos lipídeos nos animais SHR em relação aos normotensos. A LPO indica alterações na permeabilidade da membrana, na função secretória e até morte celular, causadas por radicais livres (Meerson et al., 1982), sendo um marcador de estresse oxidativo.

O aumento dos valores da QL nas células sangüíneas e aorta, verificado em nosso estudo, indica o aumento do estresse oxidativo sistêmico nos ratos SHR com a hipertensão estabelecida, quando comparados com os ratos normotensos. Esses resultados confirmam aqueles encontrados em outros

trabalhos onde também foi verificado aumento do estresse oxidativo em tecidos vasculares de ratos SHR. Grunfeld e colaboradores (1995), bem como Consentino e colaboradores (1998) verificaram o aumento da produção de ERO, principalmente do ânion superóxido, *in vitro* em células endoteliais de aorta de SHR.

Diversos mecanismos vasoconstritores, incluindo inativação da NOS e ativação de receptores AT₁ da Ang II, podem induzir o estresse oxidativo na hipertensão (Wilcox, 2002). A Ang II estimula o estresse oxidativo, principalmente por ativar, via receptores AT₁, a expressão e ativação da NADPH oxidase, o principal gerador de ânion superóxido no organismo. Essas ERO, então, reagem com o NO e o inativam, agravando a vasoconstrição induzida pela Ang II e promovendo disfunção endotelial (Jaimes et al., 1998; Hannken et al., 1998).

A elevação da PA pode também induzir estresse oxidativo no endotélio (Cardillo et al., 1998). Durante o aumento da PA, as forças hemodinâmicas que agem nas células vasculares (*shear stress*) podem ativar a NADPH oxidase, principalmente em animais SHR que apresentam rigidez arterial (Kojda & Harrison, 1999).

Alguns pesquisadores estão investigando a relação entre a atividade simpática e a produção de ERO. Um estudo realizado por Aizawa e colaboradores (2002) mostrou que a administração de norepinefrina em ratos normotensos aumentou o estresse oxidativo, medido através dos níveis de 8-epi-PGF₂ no plasma. Esses autores atribuem esse efeito a um mecanismo dependente dos valores pressóricos e fatores hemodinâmicos. No entanto, outro estudo realizado por Rajagopalan e colaboradores (1996) verificou que a

infusão de norepinefrina não aumentou a produção de ânion superóxido em aortas. Sendo assim, permanece a dúvida sobre qual tecido seria responsável pelo aumento da produção de ERO, em resposta à infusão de norepinefrina.

Nowicki e colegas (2001) mostraram que as arteríolas possuem expressão aumentada de NADPH oxidase comparadas com as artérias, e assim, esses autores sugerem que elevações da pressão intramural aumentam a produção de ERO a partir das células musculares lisas das arteríolas e não das artérias. Esse estudo pode explicar aqueles resultados que não encontraram aumento da produção de ERO em resposta à norepinefrina em artérias isoladas (Kawazoe et al., 2000).

Associado ao possível aumento da produção de ERO na hipertensão, outro fator importante relacionado ao aumento do estresse oxidativo, é a diminuição da atividade das enzimas antioxidantes. A hipertensão pode comprometer o mecanismo de defesa antioxidante do sistema cardiovascular (Berry et al., 2001).

No presente estudo verificamos diminuição da atividade das enzimas SOD ($\approx 29\%$) e CAT ($\approx 31\%$) nos eritrócitos dos animais SHR sedentários, quando comparados com os animais normotensos. No coração, a atividade apenas da SOD ($\approx 20\%$) estava reduzida nos animais SHR sedentários. Estes achados reforçam o aumento do estresse oxidativo nos animais SHR quando comparados com os seus controles normotensos.

Diversos pesquisadores verificaram mudanças na atividade das enzimas antioxidantes, relacionadas com a hipertensão, em diversos tecidos, incluindo miocárdio (Yuan et al., 1996; Csonka et al., 2000), endotélio vascular (Pogan et al., 2001), músculo esquelético (Hong & Johnson, 1995), rim (De Craemer et

al., 2001) e eritrócitos (Yuan et al., 1996). Outro estudo, realizado com animais SHR, relacionou a alteração do sistema de defesa antioxidante com modificações genéticas e com o estado redox de células de diversos tecidos desses animais (Binda et al., 2001).

Alguns autores acreditam que a Ang II diminui a expressão de enzimas antioxidantes. De Craemer e colaboradores (2001) verificaram essa ação da angiotensina no córtex renal de animais SHR, o que, somado ao aumento da produção de ânion superóxido, contribuiu para o aumento do estresse oxidativo nesses animais.

Por termos avaliado o sistema de defesa antioxidante em diversos tecidos, inclusive sangue, podemos sugerir que a alteração do sistema de defesa antioxidante em animais SHR sedentários ocorre de forma sistêmica, o que provavelmente determina a disfunção endotelial nesses animais. As enzimas antioxidantes atuam como *scavengers* das ERO no organismo, e por isso diminuem a ação desses radicais livres na inativação do NO. Sendo assim, contribuem diretamente com o aumento de sua biodisponibilidade (Ülker et al., 2003).

Na hipertensão, diferentes formas de intervenção estão sendo investigadas na tentativa de restabelecer o equilíbrio entre a produção de ERO, e o mecanismo de defesa antioxidante, buscando diminuir o estresse oxidativo.

Nosso estudo avaliou o efeito do treinamento físico no estresse oxidativo de animais SHR e buscou relacionar essas modificações com a melhora do controle reflexo da PA, e com a disfunção endotelial, ao analisarmos a concentração dos metabólitos do NO em diversos tecidos.

Verificamos, no nosso estudo, que o treinamento físico moderado diminuiu de forma significativa o dano oxidativo aos lipídeos nos animais SHR treinados, medido através da QL. Essa diminuição em relação aos SHR sedentários, ocorreu tanto em eritrócitos ($\approx 43\%$) como em homogeneizado de coração ($\approx 31\%$) e de aorta ($\approx 28\%$).

O exercício crônico aumenta o consumo de oxigênio pelo organismo, principalmente no tecido muscular e, essa elevada taxa metabólica oxidativa associada ao aumento da atividade simpática, pode predispor a produção em excesso de formas parcialmente reduzidas de oxigênio e dos seus derivados reativos (Ji & Leichtweis, 1997). Então, permanece a pergunta: Qual o mecanismo pelo qual o treinamento físico induz a diminuição do dano oxidativo, se ocorre aumento da produção de ERO durante o exercício?

A diminuição da atividade da Ang II induzida pelo exercício poderia ser uma das explicações. Porém, estudos em humanos hipertensos verificaram que o exercício aeróbico, tanto de baixa quanto de alta intensidade, não alteraram os níveis de Ang II nesses indivíduos (Higashi et al., 1999; Goto et al., 2003). No entanto, acredita-se que a inativação da NADPH oxidase após exercício aeróbico possa contribuir com a diminuição do dano oxidativo por ERO (Sowers, 2002; Rush et al., 2003).

Outros autores também verificaram diminuição da concentração de catecolaminas no plasma após longo período de treinamento físico em pacientes com hipertensão (Higashi et al., 1999). Esses achados concordam com estudos prévios demonstrando que o treinamento físico reduziu os níveis de norepinefrina no plasma e atenuou a ativação simpática em animais SHR (Mathias, 1991). Esses resultados contribuem com a diminuição do dano

oxidativo, após exercício crônico, por diminuir a produção de ERO pela ação das catecolaminas (Nowicki et al., 2001).

Alterações na atividade das enzimas SOD, CAT e GPx, induzidas pelo exercício em diversos tecidos também estão relacionadas ao aumento da resistência tecidual ao dano oxidativo (Alessio, 1993). No presente estudo, verificamos aumento da atividade das enzimas antioxidantes induzido pelo treinamento físico, em animais SHR exercitados. Nos eritrócitos, a atividade da SOD ($\approx 36\%$), bem como da CAT ($\approx 530\%$) e da GPx ($\approx 28\%$) aumentaram nos animais SHR treinados em relação aos hipertensos sedentários.

Estudos que avaliaram em eritrócitos a atividade das enzimas antioxidantes em resposta ao treinamento físico, mostraram resultados controversos. Em humanos, alguns autores verificaram o efeito do exercício aeróbico no aumento da atividade das enzimas SOD e GPx em eritrócitos, porém, não verificaram mudança na atividade da CAT (Selamoglu et al., 2000). Por outro lado, Tauler e colaboradores (1999) verificaram que o treinamento físico moderado aumentou a atividade das enzimas CAT e GPx, não alterando a atividade da SOD em atletas. Somani e colaboradores (1995) observaram aumento da expressão da CAT e GPx em eritrócitos de ratos treinados.

Em nosso estudo, observamos aumento significativo da atividade das enzimas SOD ($\approx 21\%$) e GPx ($\approx 22\%$) no coração de SHR treinados, comparados com os sedentários. No entanto, a atividade da CAT não diferiu entre os dois grupos.

O número de trabalhos avaliando o efeito do treino de resistência no sistema antioxidante cardíaco é vasto e evidenciam a diversidade e variabilidade dos efeitos do exercício no ajuste dos diferentes sistemas de

defesa antioxidante cardíacos (Tiidus & Houston, 1994; Hong & Johnson, 1995; Somani et al., 1995). Husain & Hazelrigg (2002), estudaram em animais com bloqueio da síntese do NO por L-NAME, o efeito do exercício crônico sobre o sistema de defesa antioxidante no coração. Esses autores verificaram que após 8 semanas de treinamento moderado, esses animais apresentaram aumento da expressão protéica das enzimas SOD, CAT e GPx no coração, quando comparados aos seus controles sedentários.

Em estudo realizado por Hong & Johnson (1995), após submeterem ratos SHR ao treinamento físico, verificou-se aumento da atividade da SOD em tecido cardíaco, no entanto não foi verificada qualquer alteração na atividade da CAT e da GPx.

Observamos no nosso estudo uma importante correlação inversa entre os valores de PAM e a atividade da SOD no coração nos grupos estudados. Essa relação pode indicar que quanto maior a atividade da SOD no tecido cardíaco, menor é a PAM. A enzima antioxidante SOD tem como principal função a dismutação do ânion superóxido à peróxido de hidrogênio (Powers et al., 1999). Sendo assim, o aumento da atividade dessa enzima no coração promove diminuição da ação do ânion superóxido nesse tecido, o que contribui para o aumento da biodisponibilidade do NO, melhorando a função endotelial e cardíaca e favorecendo a diminuição da PA (Fukai et al., 2000). A correlação positiva encontrada no nosso estudo entre a atividade da SOD e a concentração de nitratos totais no coração, reforça a importância da atividade da SOD no favorecimento do balanço positivo para as forças antioxidantes.

Na aorta observamos aumento da atividade apenas da CAT ($\approx 55\%$) induzida pelo exercício nos animais SHR treinados, quando comparados aos

sedentários. A atividade das enzimas SOD e GPx não diferiu entre os grupos estudados nesse tecido. Outros estudos mostraram resultados contrários aos nossos, com aumento da atividade da enzima SOD no endotélio vascular de ratos exercitados (Fukai et al., 2002). Outros estudos também obtiveram aumento da atividade da SOD no endotélio vascular e células musculares lisas da aorta, em vários modelos animais (Yamashita et al., 1999; Rush et al., 2003). Esses autores atribuem o aumento da expressão da SOD nas células endoteliais ao constante *shear stress* durante o exercício. Esse mesmo mecanismo também demonstrou aumentar a expressão e a atividade da enzima GPx em células endoteliais bovinas (Takeshita et al., 2000). Porém, nenhum desses estudos verificou aumento da atividade da CAT induzido pelo exercício na aorta.

Nos nossos animais SHR treinados, a diminuição significativa da LPO observada na aorta, quando comparado ao grupo SHR sedentário, indica que a enzima CAT foi importante na diminuição do dano oxidativo nesse tecido.

Essas aparentes discrepâncias, em relação ao efeito do exercício sobre o mecanismo enzimático de defesa antioxidante nos diferentes tecidos, podem ser explicadas pelas diferentes espécies e tecidos usados nos estudos mencionados. Aspectos de caráter metodológico em relação ao treinamento físico também dificultam a comparação direta dos resultados obtidos nos diversos estudos citados. Entre eles, podemos destacar as diferenças entre as características dos protocolos de exercício, considerando a intensidade e o tipo de exercício utilizado, bem como o período de duração do protocolo.

Nosso estudo mostrou que o treinamento moderado, em esteira ergométrica, e realizado por 10 semanas, foi eficiente na redução do dano

oxidativo aos lipídeos em diferentes tecidos de animais SHR, bem como melhorou a capacidade de defesa antioxidante enzimática nesses animais treinados.

Associado a esses resultados, também observamos aumento da concentração de nitratos totais no plasma ($\approx 57\%$) e tecido cardíaco ($\approx 36\%$) dos animais SHR treinados quando comparados aos sedentários, no entanto, não verificamos a mesma resposta na aorta. Apesar do mecanismo de melhora da função endotelial durante o exercício não ser ainda totalmente esclarecido, acredita-se que o exercício aeróbico regular aumenta a produção de NO pela diminuição da inativação do NO realizado pelo aumento do sistema antioxidante e talvez da atenuação da NADPH oxidase. Essas ações em conjunto levariam ao aumento da biodisponibilidade do NO. Dados de outros autores concordam com nossos achados, pois também verificaram aumento da concentração de nitratos totais no plasma de animais SHR submetidos ao exercício crônico (Jonsdottrir et al., 1998; Kohmo et al., 2002). Um dos possíveis mecanismos pelo qual o treinamento físico aumenta a função endotelial é o aumento do *shear stress* vascular resultante ao aumento do fluxo sanguíneo. O aumento agudo e crônico do *shear stress* estimula a liberação de NO tanto em vasos isolados (Miller & Vanhoutte, 1988), como em cultura de células (Uematsu et al., 1995).

A up-regulação da expressão gênica e protéica da NOS endotelial durante treinamento físico pode contribuir para a melhora da função endotelial através do aumento da produção de NO (Sessa et al., 1994). Além disso, o *shear stress* também estimula a expressão e atividade da SOD pelo endotélio

vascular, o que contribui para a inativação do ânion superóxido por essa enzima, aumentando a biodisponibilidade do NO (Davis et al., 2003).

A melhora da função endotelial nos animais SHR submetidos ao treinamento físico também pôde ser observada no nosso experimento ao realizarmos o bloqueio da produção de NO através da administração de L-NAME. Verificamos que o aumento da PA nos animais SHR treinados foi maior do que nos sedentários e nos normotensos, indicando maior participação do NO na regulação da PA do grupo exercitado.

6.6. Relação do estresse oxidativo com o controle reflexo da PA

Consideramos muito importantes nesse estudo, as correlações que obtivemos entre o dano oxidativo e o controle reflexo da PA. Esses resultados indicam a influência do estresse oxidativo sistêmico na alteração da sensibilidade tanto dos pressorreceptores, como dos receptores cardiopulmonares em animais SHR. Poucos estudos investigaram essa relação até o momento, sendo que a literatura refere-se ou à insuficiência cardíaca (Rabelo et al., 2001; Nightingale et al., 2003) ou à hipertensão moderada em humanos (Ormezzano et al., 2004).

No presente estudo verificamos uma forte correlação inversa entre os valores de QL nos eritrócitos e a sensibilidade barorreflexa tanto à bradicardia ($r = -0,80$) como à taquicardia ($r = -0,80$) nos grupos estudados. Considerando que os valores de QL em eritrócitos medem o dano oxidativo aos lipídeos nessas células, podemos considerar que esses marcadores periféricos indicam aumento do estresse oxidativo sistêmico, seja por aumento da produção de

ERO, seja pela diminuição dos mecanismos de defesa antioxidantes no organismo dos animais SHR.

Também observamos uma forte correlação negativa entre os valores de QL em aortas e a resposta bradicárdica ($r = -0,83$) e taquicárdica ($r = -0,87$) do barorreflexo nos animais dos grupos estudados. Essa relação inversa indica que o aumento do estresse oxidativo, tanto nas células endoteliais vasculares, como nas células musculares lisas da aorta, está associado à diminuição da sensibilidade barorreflexa.

Não apenas o funcionamento dos pressorreceptores esteve relacionado com o estresse oxidativo, mas também a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares. Podemos observar no presente estudo a correlação inversa ($r = -0,80$) entre os valores de QL em eritrócitos e a resposta bradicárdica do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch à administração de serotonina. Este resultado indica que, quanto maior o estresse oxidativo sistêmico na hipertensão, menor é essa sensibilidade do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch.

Baseado nesses dados e em outros previamente discutidos, podemos determinar diversos fatores que provavelmente estão envolvidos na relação do estresse oxidativo com a sensibilidade barorreflexa.

O primeiro deles, como já discutimos anteriormente, pode ser a alteração da distensibilidade arterial verificada na hipertensão (Coleridge et al., 1984; Andresen et al., 1980). A distensibilidade arterial encontra-se diminuída nos animais SHR (Kingwell et al., 1997; Kingwell et al., 1998), quando comparados com seus controles normotensos, e isso pode ocorrer em parte pela disfunção endotelial verificada nesses animais (Ülker et al., 2003).

Vimos anteriormente que a biodisponibilidade do NO está diretamente envolvida com a produção de ERO, visto que essas espécies ao reagirem com o NO promovem sua inativação (Goss et al., 1997). Sendo assim, acredita-se que, a inativação do NO pelo aumento das ERO na hipertensão gera a disfunção endotelial, o que altera a sensibilidade tanto dos pressorreceptores, como dos receptores cardiopulmonares. A diminuição dos nitratos totais no plasma, verificada nos animais SHR, reforça essas idéias e aumenta a relação da disfunção endotelial, e do estresse oxidativo, com os mecanismos de controle reflexo da PA.

As conclusões acima são reforçadas por outros estudos, pois foi encontrado em modelos animais que os radicais livres também podem inibir diretamente os disparos de despolarização dos barorreceptores (Li et al., 1996).

A diminuição da atividade enzimática antioxidante em animais SHR sedentários, evidenciada em nosso estudo, acompanhada do conseqüente aumento da produção de ERO, contribui para a diminuição da sensibilidade dos pressorreceptores, bem como dos receptores cardiopulmonares, evidenciada nos animais sedentários.

Nossos resultados indicam que o exercício moderado apresenta um efeito benéfico, em animais espontaneamente hipertensos, no controle da PA.

CONCLUSÕES



7. SUMÁRIO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

- O treinamento físico moderado reduziu os valores de PAM, PAS e PAD nos animais SHR. No entanto a FC não se mostrou diferente entre os grupos SHR.
- As respostas bradicárdicas e taquicárdicas do reflexo comandado pelos pressorreceptores estavam diminuídas nos animais SHR sedentários. Porém, o exercício crônico restabeleceu parcialmente esta sensibilidade.
- A estimulação do reflexo cardiopulmonar de Bezold-Jarisch mostrou que a bradicardia reflexa estava diminuída nos animais hipertensos sedentários, sendo que o exercício restabeleceu essa resposta nos animais treinados. A hipotensão, causada pela retirada da atividade simpática, não estava diminuída nos animais hipertensos sedentários. No entanto, o exercício aumentou consideravelmente a resposta hipotensora nos SHR.
- Não houve diferença significativa na atividade dos sistemas arginina-vasopressina, renina-angiotensina e simpática entre os grupos estudados. No entanto, percebe-se uma tendência à diminuição da atividade do sistema renina-angiotensina e simpático nos SHR treinados em relação ao grupo sedentário e controle.
- Houve diferença na atividade do sistema regulador endotelial da PA, estando maior no grupo SHR treinado do que nos sedentários e grupo controle. Este resultado sugere melhora da função endotelial e provável aumento da produção de NO, obtidos com o exercício físico.

- A hipertensão induziu um aumento do índice de hipertrofia cardíaca nos animais SHR. Porém, o exercício físico diminuiu esse índice nos animais hipertensos treinados comparados com os sedentários.
- As medidas do dano oxidativo aos lipídeos, avaliado pela QL, mostraram diminuição do estresse oxidativo nos animais hipertensos treinados, confirmado pelo aumento da atividade das enzimas antioxidantes nesse grupo.
- O treinamento físico aumentou a produção de NO no plasma e coração, sugerindo melhora da função endotelial.
- As alterações do estresse oxidativo no sangue e aorta estavam inversamente relacionadas com a sensibilidade barorreflexa.
- A lipoperoxidação medida em eritrócitos, assim como a hipertrofia cardíaca, estavam inversamente correlacionada com a sensibilidade do reflexo de Bezold-Jarisch.

Assim, os resultados obtidos confirmam a hipótese proposta de que o treinamento físico moderado melhora o perfil antioxidante e, conseqüentemente, diminui o estresse oxidativo em ratos espontaneamente hipertensos, além de melhorar a sensibilidade do barorreflexo e do reflexo de Bezold-Jarisch. Concluimos, então, que o estresse oxidativo desempenha importante papel na alteração da sensibilidade barorreflexa e do reflexo cardiopulmonar na hipertensão, e que o exercício, por alterar o quadro de dano oxidativo, melhora a função endotelial e o controle reflexo da PA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, M.M. Fisiologia. 2° ed. **Editora Guanabara Koogan SA**, Rio de Janeiro/RJ, 1999.
- AIZAWA, T.; ISHIZAKA, N.; USUI, S.I.; OHASHI, N.; OHMO, M. & NAGAI, R. Angiotensin II and catecholamines increase plasma levels of 8-epi-prostaglandin $F_{2\alpha}$ with different pressor dependencies in rats. **Hypertension**, v.39, p.149-154, 2002.
- ALESSIO, H.M. Exercise-induced oxidative stress. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.25, p.218-224, 1993.
- ANDRESEN, M.C.; KRAUHS, J.M. & BROWN, A.M. Relationship of aortic wall and baroreceptor properties during development in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Circul. Res.**, v.43, p.728-738, 1978.
- ANDRESEN, M.C.; KURAOKA, S. & BROWN, A.M. Baroreceptor function and changes in strain sensitivity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Circul. Res.**, v.47, p.821-828, 1980.
- ANDRESEN, M.C. & YANG, M. Arterial baroreceptor resetting contributions of chronic and acute processes. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.15, p.19-30, 1989.
- ARAKAWA, K. Antihypertensive mechanism of exercise. **J. Hypertens.**, v.11, p.223-229, 1993.

- AVERILL, D.B. & DIZ, D.I. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata. **Brain Res. Bull.**, v.51, p.119-128, 2000.
- BALLINGER, S.W.; PATTERSON, C.; YAN, C.N.; DOAN, R.; BUROW, D.L.; et al. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. **Circ. Res.**, v.86, p.960-966, 2000.
- BATLOUNI, M. Endotélio e hipertensão arterial. **Rev. Brasileira Hipert.**, v. 8, n.3, p. 328-38, 2001.
- BARLUCCHI, L.; LERI, A., DOSTAL, D.E.; FIORDALISO, F.; TADA, H.; HINTZE, T.H.; KAJTSURA, J.; et al. Canine ventricular myocytes possess a renin-angiotensin system that is upregulated with heart failure. **Cir. Res.**, v.88, p.298-304, 2001.
- BECKMAN, J.S., BECKMAN, T.W.; CHEN, J.; MARSHALL, P.A. & FREEMAN, B.A. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v.87, p.1620-1624, 1990.
- BEDFORD, T.G.; TIPTON, C.M.; WILSON, N.C.; OPPLIGER, R.A. & GISOLFT, C.V. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. **J. Appl. Physiol.**, v.47, p.1278-1283, 1979.
- BELL, D.; KELSO, E.J.; ARGENT, C.C.H.; LEE, G.R.; ALLEN, A.R. & McDERMOTT, B.J. Temporal characteristics of cardiomyocyte

hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. **Cardiovasc. Pathol.**, v.13, p.71-78, 2004.

BERRY, C., BROSNAN, M.J.; FENNELL, J.; HAMILTON, C.A. & DOMINICZAK, A.F. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v.10, p.247-255, 2001.

BIAGGIONI, I. Sympathetic control of the circulation in hypertension: lessons from autonomic disorders. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v.12, p.175-180, 2003.

BINDA, D.; NICOD, L.; VIOLLON-ABADIE, C.; et al. Strain difference (WKY,SPRD) in the hepatic antioxidant status in rat and effect of hypertension (*SHR, DOCA). Ex vivo and in vitro data. **Mol. Cell Biochem.**, v.218, p.139-146, 2001.

BLAIR, S.N.; GOODYEAR, N.N.; GIBBONS, L.W. & COOPER, K.H. Physical fitness and incidence of hypertension in healthy normotensive men and women. **JAMA**, v.252, p.487-490, 1984.

BOLTER, C.P. & LEDSOME, J.R. Effect of cervical sympathetic nerve stimulation on canine carotid sinus reflex. **Am. J. Physiol.**, v.230, p.1026-1030, 1976.

BOVERIS, A. & CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. **Biochem. J.**, v.134, p.707-716, 1973.

- BROWN, M.D.; DENGEL, D.R.; HOGIKYAN, R.V. & SUPIANO, M.A. Sympathetic activity and the heterogeneous blood pressure response to exercise training in hypertensives. **J. Appl. Physiol.**, v.92, p.1434-1442, 2002.
- BUEGE, J.À. & AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Meth. Enzymol.**, v.52, p.302-309, 1978.
- BURT, V.L.; WHELTON, P.; ROCCELLA, E.J.; BROWN, C.; CTLER, J.A.; HIGGINS, M.; et al. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. **Hypertension**, v.25, p.305-313, 1995.
- BRUM, P.C.; DA SILVA, G.J.J.; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; NEGRÃO, C.E. & KRIEGER, E.M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hipertensive rats. **Hypertension**, v.36, p.1018-1022, 2000.
- CABASSI, A.; VINCI, S.; CANTONI, A.M.; QUARTIERI, F.; MOSCHINI, L.; CAVAZZINI, S.; CAVATORTA, A. & BORGHETTI, A. Sympathetic activation in adipose tissue and skeletal muscle of hypertensive rats. **Hypertension**, v.39, p.656-661, 2002.
- CAI, H. & HARRISON, D.G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circ. Res.**, v.87, p.840-844, 2000.
- CARDILLO, C.; KILCOYNE, C.M.; QUYYUMI, A.A.; CANNON, R.O. & PANZA, J.A. Selective defect in nitric oxide synthesis may explain the impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. **Circulation**, v.97, p.851-856, 1998.

- CASTELLI, W.P. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study.** *Ann. J. Med.*, v.76, p.4-12, 1984.
- CHAMOUNT, S.B.; MAUPOIL, V.; LAHET, J.J. & BERTHELOT, A. Effect of exercise training on metallothionein levels of hypertensive rats. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.33, p.724-728, 2001.
- CHAPLEAU, M.W.; HAJDUCZOK, G. & ABBOUD, F.M. Mechanisms of resetting of arterial baroreceptors: an overview. **Am. J. Med. Scien.**, v.295, p.327-334, 1988.
- CHAPLEAU, M.W.; HAJDUCZOK, G. & ABBOUD, F.M. Peripheral and central mechanisms of baroreflex resetting. **Clin. and Experim. Pharmacol. and Physiol.**, v.15 (suppl), p.31-43, 1989.
- CHAPLEAU, M.W.; CUNNINGHAM, J.T.; SULLIVAN, M.J.; WACHTEL, R.E. & ABBOUD, F.M. Structural versus functional modulation of the arterial baroreflex. **Hypertension**, v.26, p.341-347, 1995.
- CHEN, C.Y.; DiCARLO, S.E. & SCISLO, T.J. Daily spontaneous running attenuated the central gain of the arterial baroreflex. **Am. J. Physiol.**, v.268, p.H662-H669, 1995.
- CHEN, H.L.; CHIANG, I.P. & JEN, C.J. Exercise training increases acetylcholine-stimulated endothelium-derived nitric oxide release in spontaneously hypertensive rats. **J. Biomed. Sci.**, v.3 p.454-460, 1996.
- CHEN, Y.; COLLINS, H.L. & DiCARLO, S.E. Daily exercise enhances acetylcholine-induced dilation in mesenteric and hindlimb vasculature of hypertensive rats. **Clin. Exp. Hypertens.**, v.21, p.353-376, 1999.

CHOBANIAN, A.V.; BAKRIS, G.L.; BLACK, H.R.; CUSHMAN, W.C.; GREEN, L.A.; IZZO, J.L.; et al. & National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. JNC 7. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. **Hypertension**, v.42, p.1206-1252, 2003.

CHOWDHARY, S.; VAILE, J.C.; FLETCHER, J.; ROSS, H.F.; COOTE, J.H. & TOWNEND, J.N. Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. **Hypertension**, v.36, p.264-269, 2000.

CLARKSON, P.M. & THOMPSON, H.S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **Am. J. Clin. Nutr.**, v.72, p.637S-646S, 2000.

COLERIDGE, H.M.; COLERIDGE, J.C.G.; POORE, E.R.; ROBERTS, A.M. & SCHULTZ, H.D. Aortic wall properties and baroreceptor behavior at normal arterial pressure and in acute hypertensive resetting in dogs. **J. Physiol. (Lond.)**, v. 350, p.309-326, 1984.

CONNETT, R.J.; HONIG, C.R.; GAYESKI, T.E.J. & BROOKS, G.A. Defining hypoxia: a systems view of VO_2 , glycolysis, energetics, and intracellular PO_2 . **J. Appl. Physiol.**, v.68, p.833-842, 1990.

CONSENTINO, F., PATTON, S.; D'USCIO, L.V.; WERNER, E.R.; WERNER-FELMAYER, G.; MOREAU, P.; MALINSKI, T. & LUSCHER, T.F. Tetrahydrobiopterin alters superoxide and nitric oxide release in prehypertensive rats. **J. Clin. Invest.**, v.101, p.1530-1537, 1998.

- CRISMAN, R.P.; RITTMAN, B. & TOMANEK, R.J. Exercise-induced myocardial capillary growth in the spontaneously hypertensive rat. **Microvasc. Res.**, v.30, p.185-194, 1985.
- CSONKA, C.; PATAKI, T.; KOVACS, P.; et al. Effects of oxidative stress on the expression of antioxidative defense enzymes in spontaneously hypertensive rat hearts. **Free Radic. Biol. Med.**, v.29, p.612-619, 2000.
- DAVIES, K.J.A.; QUINTANILHA, A.T.; BROOKS, G.A.; et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.107, p.1198-1205, 1982.
- DAVIS, M.E.; GRUMBACH, I.M.; FUKAI, T.; CUTCHINS, A. & HARRISON, D.G. Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase promoter activity through nuclear factor kappaB binding. **J. Biol. Chem.**, v.279, p.163-168, 2003.
- DE ANGELIS, K.L.; OLIVEIRA, A.R.; WERNER, A.; BOCK, P.; BELLO-KLEIN, A.; FERNANDES, T.G.; BELLO, A.A. & IRIGOYEN, M.C. Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, v.30, p.767-771, 1997.
- DE CRAEMER, D.; LOBE, E.; PAUWELS, M.; VERBEELEN, D. & VAN DEN BRANDEN, C. Angiotensin II administration causes enhanced expression of glomerulosclerosis-related markers and decreased renal antioxidant enzyme activities in rats. **Exp. Nephrol.**, v.9, p.125-132, 2001.

- DHALLA, N.S.; ELMOSELHI, A.B.; HATA, T. & MAKINO, N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. **Cardiovasc. Res.**, v.47, p.446-456, 2000.
- DiCARLO, S.E.; ZHENG, H.; COLLINS, H.L.; RODENBAUGH, D.W. & PATEL, K.P. Daily exercise normalizes the number of diaphorase (NOS) positive neurons in the hypothalamus of hypertensive rats. **Brain Res.**, v.955, p.153-160, 2002.
- DIJHORST-OCI, L.T.; STORES, E.S.; KOOMANS, H.A. & RABELINK, T.J. Acute simultaneous stimulation of nitric oxide and oxygen radicals by angiotensin II in humans in vivo. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v.33, p.420-424, 1999.
- DUNCAN, J.J.; FARR, J.E.; UPTON, S.J.; HAGAN, R.D.; OGLESBY, M.E. & BLAIR, S.N. The effect of aerobic exercise on plasma catecholamine and blood pressure in patients with mild essential hypertension. **JAMA**, v.254, p.2609-2613, 1985.
- FAGARD, R.H. Impact of different sports and training on cardiac structure and function. **Cardiol. Clin.**, v.15, p.397-412, 1997.
- FAGARD, R.G. Exercise, characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.33, p.1229-1233, 2001.
- FARAH, V.M.; MOREIRA, E.D.; USHIZIMA, M.; CESTARI, I.^a; IRIGOYEN, M.C. & KRIEGER, E.M. Acute AT1 receptor blockade does not improve the

depressed baroreflex in rats with chronic renal hypertension. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.33, p.1491-1496, 2000.

FERRARI, A.U.; GORDON, F.J. & MARK, A.L. Impairment of cardiopulmonary baroreflexes in Dahl salt-sensitive rats fed low salt. **Am. J. Physiol.**, v247 (suppl 16), p.H119-H123, 1984.

FERRARI, R.; CECONI, C.; CURELLO, S.; CARGNONI, A.; CONDORELLI, E. & RADDINO, R. Role of oxygen in myocardial ischaemic and reperfusion damage: effect of alpha-tocopherol. **Acta Vitaminol. Enzymol.**, V.7 (Suppl), P.61-70, 1985.

FLEMING, I. & BUSSE, R. Signal transduction of eNOS activation. **Cardiovasc. Res.**, v.43, p.532-541, 1999.

FLOHÉ, L. & GUNZLER, W.A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol.**, v.105, p.114-121, 1984.

FRANCHINI, K.G. & COWLEY, JR.A.W. Renal cortical and medullary blood flow responses during water restriction: role of vasopressin. **Am. J. Physiol.**, v.270, p.R1257-R1264, 1996.

FRANCHINI, K.G., CESTARI, I.A. & KRIEGER, E.M. Restoration of arterial blood oxygen tension increases arterial pressure in sinoaortic-denervated rats. **Am. J. Physiol.**, v.266, p.H1055-H1061, 1994.

FUKAI, T.; SIEGFRIED, M.R.; USHIO-FUKAI, M.; CHENG, Y.; KOJDA, G. & HARRISON, D.G. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. **J. Clin. Invest.**, v.105, p.1631-1329, 2000.

- FURCHGOTT, R.F. & ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v.288, p373-376, 1980.
- GANONG, W.F. Fisiologia médica. 17° ed. **Ed. Prentice-Hall do Brasil LTDA**, 1998.
- GAVA, N.S.; VÉRAS-SILVA, A.S.; NEGRÃO, C.E. & KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac β -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.26, p.1129-1133,1995.
- GAVRAS, H.; HATZINIKOLAOU, O.; NORTH, W.G.; BRESNAHAN, M. & GAVRAS I. Interaction of the sympathetic nervous system with vasopressin and rennin in the maintance of blood pressure. **Hypertension**, v.4, p.400-405, 1982.
- GIANNATTASIO, C.; CATTANEO, B.M.; MONGONI, A.A.; CARUGO, S.; SAMPIERI, L.; CUSPIDI, C.; GRASSI, G. & MANCIA, G. Changes in arterial compliance by physical training in hammer-throwers. **J. Hypertens.**, v.10)suppl 6), p.S53-S55, 1992.
- GIMBRONE, M.A., JR., NAGEL, T. & TOPPER, J.N. Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. **J. Clin. Invest.**, v.100 (suppl), p.S61-S65, 1997.
- GLESSON, T.T. & BOLDWIN, K.M. Cardiovascular response to treadmill exercise in untrained rats. **J. Appl. Physiol.**, v.50, p.1206-1211, 1981.

- GOLDIN, J.R. & RAYMUNDO, M.M. Pesquisa em saúde e direito dos animais. 2° ed. **HCPA**, Porto Alegre/RS, 1997.
- GONZALEZ FLECHA, B.; LLESUY, S. & BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. **Free Radical Biol. Med.**, v.10, p.1093-100, 1991.
- GORDON, F.J.; MATSUGUCHI, H. & MARK, A.L. Abnormal baroreflex control of heart rate in prehypertensive and hypertensive Dahl genetically salt-sensitive rats. **Hypertension**, v.3 (suppl II), p.135-141, 1981.
- GOSS, S.P.A.; HOGG, N. & KALYANARAMAN. The effect of nitric oxide release rates on the oxidation of human low density lipoprotein. **J. Biol. Chem.**, v.272, p.21647-21653, 1997.
- GOTO, C.; HIGASHI, Y.; KIMURA, M.; NOMA, K.; HARA, K.; et al. The effect of different intensities of exercise on endothelial-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. **Circulation**, v.108, p.530-535, 2003.
- GRANGER, D.L.; ANSTEY, N.M.; MILLER, W.C. & WEINBERG, J.B. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. **Methods Enzymol.**, v.301, p.58-61, 1999.
- GRASSI, G.; GIANNATTASIO, C.; SERAVALLE, G.; CATTANEO, B.M.; CLEROUX, J. & MANCIA, G. Cardiogenic reflexes and left ventricular hypertrophy. **Eur. Heart J.**, v.11 (suppl G), p.95-99, 1990.

- GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CALHOUN, D.A. & MANCIA, G. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. **Hypertension**, v.23, p.294-301, 1994.
- GRIENGLING, K.K., LASSEGUE, B. & ALEXANDER, R.W. The vascular angiotensin (AT1) receptor. **Thromb. Haemost.**, v.70, p.188-192, 1993.
- GRIENGLING, K.K.; SORESCU, D. & USHIO-FUKAI, M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. **Circ. Res.**, v.86, p.494-501, 2000.
- GRUNFELD, S.; HAMILTON, C.A.; MESAROS, S.; MCCLAIN, S.W.; DOMINICZAK, A.F.; BOHR, D.F. & MALINSKI, T. Role of superoxide in the depressed nitric oxide production by the endothelium of genetically hypertensive rats. **Hypertension**, v.26, p.854-857, 1995.
- GUS, M.; MOREIRA, L.B.; PIMENTEL, M.; GLEISNER, A.L.; MORAES, R.S. & FUCHS, F.D. Associação entre diferentes indicadores de obesidade e hipertensão arterial. **Arq. Bras. Cardiol**, v.70, p.111-114, 1998.
- HANNKEN, T.; SCHROEDER, R.; STAHL, R.A.; et al. Angiotensin II-mediated expression of p27^{kip1} and induction of cellular hypertrophy in renal tubular cells depend on the generation of oxygen radicals. **Kidney Int.**, v.54, p.1923-1933, 1998.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. 3th. edition, **Oxford University Press**, 1999.

- HEAD, G.A. Cardiac baroreflexes and hypertension. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.21, p.791-802, 1994.
- HIGASHI, Y.; SASAKI, S.; KURISU, S.; YOSHIMIZU, A.; SAKI, N.; MATSUURA, H.; KAJIYAMA, G. & OSHIMA, T. Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: role of endothelium-derived nitric oxide. **Circulation**, v.100, p.1194-1202, 1999.
- HIGUCHI, S.; MORGAN, D.A. & MARK, A.L. Contrasting reflex effects of chemosensitive and mechanosensitive vagal afferents. **Hypertension**, v.11, p.674-679, 1988.
- HOLLANDER, J.; FIEBIG, R.; GORE, M.; BEJMA, J.; OOKAWARA, T.; OHNO, H. & JI, L.L. Superoxide dismutase gene expression in skeletal muscle, fiber-specific adaptation to endurance training. **Am. J. Physiol.**, v.277, p.R856-R862, 1999.
- HONG, H. & JOHNSON, P. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v.27, p.923-931, 1995.
- HORENSTEIN, M.S.; VANDER HEIDE, R.S. & L'ECUYER, T.J. Molecular basis of anthracycline-induced cardiotoxicity and its prevention. **Mol. Genet. Metab.**, v.71, p.436-444, 2000.
- HUANG, P.L.; HUANG, Z.; MASHINO, H.; BLOCK, K.D.; MOSKOWITZ, M.A.; BEVAN, J.A. & FISHMAN, M.C. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. **Nature**, v.377, p.239-242, 1995.

- HUGHSON, R.L.; WEISINGER, J.H. & SWANSON, G.D. Blood lactate concentration increases as a continuous function in progressive exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.62, p.1975-1981, 1987.
- HUSAIN, K. & HAZELRIGG, S.R. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. **Biochim. Bioph. Acta**, v.1587, p.75-82, 2002.
- IEMITSU, M.; MIYAUCHI, T.; MAEDA, S.; et al. Intense exercise causes decrease in expression of both endothelial NO synthase and tissue NOx level in hearts. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v.279, p.R951-R959, 2000.
- IEMITSU, M.; MIYAUCHI, T.; MAEDA, S.; SAKAI, S.; FUJII, N.; MIYAZAKI, H.; KAKINUMA, Y.; MATSUDA, M. & YAMAGUCHI, I. Cardiac hypertrophy by hypertension and exercise training exhibits different gene expression of enzymes in energy metabolism. **Hypertens. Res.**, v.26, p.829-837, 2003.
- IKEDA, T.; GOMI, T. & SASAKI, Y. Effects of swim training on blood pressure, catecholamines and prostaglandins in spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Heart. J.**, v.35, p.205-211, 1994.
- IMLAY, J.A. Pathways of oxidative damage. **Ann. Rev. Microbiol.**, v.57, p.395-418, 2003.
- INOUE, N.; RAMASAMY, S.; FUKAI, T.; NEREM, R.M. & HARRISON, D.G. Shear stress modulates expression of Cu/Zn superoxide dismutase in human aortic endothelial cells. **Circ. Res.**, v.79, p.32-37, 1996.

- IRIGOYEN, M.C. & KRIEGER, E.M. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.31, p.1213-1220, 1998.
- ITO, H.; TORII, M. & SUZUKI, T. A comparative study on defense systems for lipid peroxidation by free radicals in spontaneously hypertensive and normotensive rat myocardium. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.103, p.37-40, 1992.
- JAIMES, E.A.; GALCERAN, J.M. & RAIJ, L. Angiotensin II induces superoxide anion production by mesangial cells. **Kidney Int.**, v.54, p.775-784, 1998.
- JI, L.L.; FU, R. & MITCHELL, E.W. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. **J. Appl. Physiol.**, v.73, p.1854-1859, 1992.
- JI, L. & LEICHTWEIS, S. Exercise and oxidative stress: sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. **Age**, v.20, p.91-106, 1997.
- JI, L.L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.222, p.283-292, 1999.
- JONSDOTTRIR, I.M.; JUNGERSTEN, L.; JOHANSSON, C.; WENMOALM, A.; THROREN, P. & HOFFMANN, P. Increase in nitric oxide formation after chronic voluntary exercise in spontaneously hypertensive rats. **Acta. Physiol. Scand.**, v.162, p.149-153, 1998.
- KAPLAN, N.M. Clinical hypertension. 7^o ed. Baltimore: **Williams & Wilkins**, 1998.

- KAPPAGODA, C. T., LINDEN, R. J. & SNOW, H. M. The effect of stretching the superior vena caval-right atrial junction on right atrial receptors in the dog. **J. Physiol.**, v.227, p.875-887, 1972.
- KATZ, S.D. The role of endothelium-derived vasoactive substances in the pathophysiology of exercise intolerance in patients with congestive heart failure. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, v.38, p.23-50, 1995.
- KAWAGUCHI, H.; SANO, H. & KITABATAKE, A. Increased mRNA Expression of Renin-Angiotensin System in hypertrophied rat heart. In Sharma et al (eds). Adaptation Biology and medicine, **Narosa Publishing House**, New Delhi, v.1, 1997.
- KAWAZOE, T.; KOSAKA, H.; YONEYAMA, H. & HATA, Y. Acute production of vascular superoxide by angiotensin II but not by catecholamines. **J. Hypertens.**, v.18, p.179-185, 2000.
- KINGWELL, B.A.; CAMERON, J.D.; GILLIES, K.J.; JENNINGS, G.L. & DART, A.M. Arterial compliance may influence baroreflex function in athletes and hypertensives. **Am. J. Physiol.**, v.268, p.H411-H418, 1995.
- KINGWELL, B.A.; ARNOLD, P.J.; JENNINGS, G.L. & DART, A.M. Spontaneous running increases aortic compliance in Wistar-Kyoto rats. **Card. Res.**, v.35, p.132-137, 1997.
- KINGWELL, B.A.; ARNOLD, P.J.; JENNINGS, G.L. & DART, A.M. The effects of voluntary running on cardiac mass and aortic compliance in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, v.16, p.181-185, 1998.

- KOHMO, H.; FURUKAWA, S.; NAITO, H.; MINAMITANI, K.; OHMORI, D. & YAMAKURA, P. Contribution of nitric oxide, angiotensin II, and superoxide dismutase to exercise-induced attenuation of blood pressure elevation in spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Heart J.**, v.43, p.25-34, 2002.
- KOJDA, G. & HARRISON, D. Interactions between NO and reactive oxygen species pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. **Cardiovasc. Res.**, v.43, p.562-571, 1999.
- KORNER, P.I. Baroreceptors in hypertension. **Clin Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.15, p.45-64, 1989.
- KRIEGER, E.M. Arterial baroreceptor resetting in hypertension (the J. W. McCubbin memorial lecture). **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.15 (suppl), p.3-17, 1989.
- KRIEGER, E.M. & MICHELINI, L. Dados básicos sobre a manutenção da pressão arterial. **Rev. Soc. Cardiol. ESP**, v.4, p.9-17, 1992.
- KRIEGER, E.M.; BRUM, P.C. & NEGRÃO, C.E. Role of baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. **Biol. Res.**, v.31, p.273-279, 1998.
- KURU,, O.; SENTURK, U.K.; DEMIR, N.; YESIKAYA, A.; ERGULER, G. & ERKILIE, M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v.87, p.134-140, 2002.
- LAHERA, V.; SALOM, M.G.; MIRANDA-GUARDIOLA, F.; MONCADA, S. & ROMERO, J.C. Effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester on renal

function and blood pressure. **Am. J. Physiol.**, v.261, p.F1033-F1037, 1991.

LaPIER, T.L.K. & RODNICK, K.J. Effects of aerobic exercise on energy metabolism in the hypertensive rat heart. **Physical Therapy**, v.81, p.1006-1017, 2001.

LEEUWENBURGH, C. & HEINECKE, J.W. Oxidative stress and antioxidants in exercise. **Curr. Med. Chem.**, v.8, p.829-838, 2001.

LEFER, D.J. & GRANGER, D.N. Oxidative stress and cardiac disease. **Am. J. Med.**, v.109, p.315-323, 2000.

LESSA, I. Epidemiologia da hipertensão arterial. O adulto brasileiro e as doenças da modernidade. **Epidemiologia das doenças crônicas são transmissíveis**. São Paulo/SP – Rio de Janeiro/RJ. Ed.: Hucitcec/Abraço, p.77-96, 1998.

LEWINGTON, S.; CLARKE, R.; QIZIBASH, N.; PETO, R. & COLLINS, R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: A meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. Prospective Studies Collaboration. **Lancet**, v.360, p.1903-1913, 2002.

LI, Z.; MAO, H.Z.; ABBoud, F.M. & CHAPLEAU, M.W. Oxygen-derived free radicals contribute to baroreceptor dysfunction in atherosclerotic rabbits. **Circ. Res.**, v.79, p.802-811, 1996.

LIFTON, R.P.; GHARAVI, A.G. & GELLER, D.S. Molecular mechanisms of human hypertension. **Cell**, v.104, p.545-556, 2001.

- LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.T. & FARR, A.L. Protein measurements with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v.193, p. 265-275, 1951.
- MARK, A.L. The Bezold-Jarisch reflex revisited: clinical implications of inhibitory reflexes originating in the heart. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.1, p.90-102, 1983.
- MARK, A.L. & KERBER, R.E. Augmentation of cardiopulmonary baroreflex control of forearm vascular resistance in borderline hypertension. **Hypertension**, v.4, p.39-46, 1982.
- MARKLUD, S. Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Boca Raton. **CRC Press**, p.243-247, 1985.
- MATHIAS, C.J. Role of sympathetic efferent nerves in blood pressure regulation and in hypertension. **Hypertension**, v.18 (suppl. III), p.22-30, 1991.
- MEERSON, F.Z.; KAGAN, V.E.; KOSLOV, Y.P.; BELKINA, L.M. & ARKIPENKO, Y.V. The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. **Basic. Res. Cardiol.**, v.77, p.465-485, 1982.
- MEREDITH, I.T.; FRIBERG, P. & JENNINGS, G.L. Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in man. **Hypertension**, v.18, p.575-582, 1991.
- MEYRELLES, S.S.; CABRAL, A.M. & VASQUEZ, E.C. Impairment of the Bezold-Jarisch reflex in conscious rats with myocardial hypertrophy. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.27, p.1065-1069, 1994.

- MILLER, V.M. & VANHOUTTE, P.M. Enhanced release of endothelium-derived factors by chronic increases in blood flow. **Am. J. Physiol.**, v.255, p.H446-H451, 1988.
- MINAMI, N.; IMAI, Y.; MUNAKATA, M.; SASAKI, S.; SEKINO, H.; ABE, K. & YOSHINAGA, K. Age-related changes in blood pressure, heart rate and baroreflex sensitivity in SHR. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.15 (suppl), p.85-87, 1989.
- MIYAZAKI, H.; OH-ISHI, S.; OOKAWARA, T.; et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v.84, p.1-6, 2001.
- MONCADA, S.; PALMER, R.M. & HIGGS, E.A. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. **Biochem. Pharmacol.**, v.38, p.1709-1715, 1989.
- MORAES, R.S.; FUCHS, F.D.; COSTA, F.D. & MOREIRA, L.B. The influence of familial predisposition to hypertension on the association between urinary sodium excretion and blood pressure in a population-based sample of young adults. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.33, p.799-803, 2000.
- MOREIRA, L.B.; FUCHS, F.D.; MORAES, R.S.; BREDEMEIER, M. & DUNCAN, B.B. Alcohol intake and blood pressure: the importance of time elapsed since last drink. **J. Hypertens.**, v.16, p.175-180, 1998.
- MORENO Jr., H.; CEZARETI, M.L.R.; PIÇARRO, I.C.; BARROS NETO, T.L.; KASINSKI, N.; MARTINEZ FILHO, E.E. & SARAGOÇA, M.A.S. The influence of isotonic exercise on cardiac hypertrophy in arterial hypertension:

- impact on cardiac function and the capacity for aerobic work. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxford., v.112, p.313-320, 1995.
- NIGHTINGALE, A.K.; BLACKMAN, D.J.; FIELD, R.; GLOVER, N.J.; PEGGE, N.; et al. Role of nitric oxide and oxidative stress in baroreceptor dysfunction in patients with chronic heart failure. **Clin. Sci.**, v.104, p.529-535, 2003.
- NORDMANN, R. Alcohol and antioxidant systems. **Alcohol Alcohol**, v.29, p.513-522, 1994.
- NEGRÃO, C.E.; JI, L.L.; SCHAUER, J.E.; NAGLE, F.J. & LARDY, H.A. Carnitine supplementation and depletion: tissue carnitines and enzymes in fatty acid oxidation. **J. Appl. Physiol.**, v.63, p.315-321, 1987.
- NEGRÃO, C.E.; MOREIRA, E.D.; SANTOS, M.C.L.M.; FARAH, V.M. & KRIEGER, E.M. Vagal function impairment after exercise training. **J. Appl. Physiol.**, v.72, p.1749-1753, 1992.
- NEGRÃO, C.E.; IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; FREIRE, P.M. & KRIEGER, E.M. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. **Am. J. Physiol (Regul. Integrat. Comp. Physiol. 34)**, v.265, p.R365-370, 1993.
- NOWICKI, P.T.; FLAVAHAN, S.; HASSANAIN, H.; MITRA, S.; HOLLAND, S.; GOLDSCHMIDT-CLERMONT, P.J. & FLAVAHAN, N.A. Redox signaling of the arteriolar myogenic response. **Circ. Res.**, v.89, p.114-116, 2001.

- OKAMOTO, K. & AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Circ. J.**, v.27, p.282-293, 1963.
- ORMEZZANO, O.; CRACOWSKI, J.L.; BAGUET, J.P.; FRANCOIS, J.; BESSARD, G. & MALLION, J.M. Oxidative stress and baroreflex sensitivity in healthy subjects and patients with mild-to-moderate hypertension. **J. Hum. Hypertens.**, v.18, p.517-521, 2004.
- PAFFENBARGER, R.S.; HYDE, R.T.; WING, A.L.; et al. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. **N. England L. Med.**, v. 328, p.538-545, 1993.
- PAGANI, M.; SOMERS, V.; FURLAN, R.; DELL ORTO, S; CONWAY, J. et al. Changes in autonomic regulation induced by physical training in mild hypertension. **Hypertension**, v.12, p.600-610, 1988.
- PALMER, R.M., FERRIGE, A.G. & MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v.327, p.524-526, 1987.
- PALMER, R.M.; ASHTON, D.S. & MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, v.333, p.664-666, 1988.
- PANIDIS, I.P.; KOTLER, M.N.; REN, J.F.; MINTZ, G.S.; ROSS, J. & KALMAN, P. Development and regression of left ventricular hypertrophy. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.3, p.1309-1320, 1984.

- PANZA, J.A., QUYYUMI, A.A.; BRUSH JR, J.E. & EPSTEIN, S.E. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **N. Engl. J. Med.**, v.323, p.22-27, 1990.
- PAPELIER, Y.; ESCOURROU, P.; GAUTHIER, J.P. & ROWELL, B. Carotid baroreflex control of blood pressure and heart rate in men during dynamic exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.77, p.520-526, 1994.
- PILIS, W.; ZARZECZNY, R.; LANGFORT, J.; KACIUBA-ÚSCIEKO, H.; NAZAR, K. & WOJTYNA, J. Anaerobic threshold in rats. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.106, p.285-289, 1993.
- POGAN, L.; GARNEAU, L.; BISSONNETTE, P.; WU, L. & SAUVE, R. Abnormal Ca^{2+} signaling in vascular endothelial cells from spontaneously hypertensive rats: role of free radicals. **J. Hypertens.**, v.19, p.721-730, 2001.
- POWERS, S.K.; JI, L.L. & LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.31, p.987-997, 1999.
- PRYOR, W.A. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. **Free Radic. Biol. Med.**, v.28, p.141-164, 2000.
- RABELO, E.; DE ANGELIS, K.; BOCK, P.; FERNANDES, T.G.; CERVO, F.; BELLÓ-KLEIN, A.; CLAUSELL, N. & IRIGOYEN, M.C. Baroreflex sensitivity and oxidative stress in adriamycin-induced heart failure. **Hypertension**, v.38, p.576-580, 2001.

- RAJAGOPALAN, S.; KURZ, S.; ZEL, T.; FREEMAN, B.A.; GRIENDLING, K.K. & HARRISON, D.G. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alterations of vasomotor tone. **J. Clin. Invest.**, v.97, p.1916-1923, 1996.
- RAPOPORT, R.M. & MURAD, F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP. **Circ. Res.**, v.52, p.352-357, 1983.
- RASKOFF, W.J.; GOLDMAN, S. & COHN, K. The "athletic heart": prevalence and physiological significance of left ventricular enlargement in distance runners. **JAMA**, v.236, p.158-162, 1976.
- REJA, V.; GOODCHILD, A.K. & PILOWSKY, P.M. Catecholamine-related gene expression correlates with blood pressures in SHR. **Hypertension**, v.40, p.342-347, 2002.
- RICHEY, P.A. & BROWN, S.P. Pathological versus physiological left ventricular hypertrophy: a review. **J. Sports Sci.**, v.16, p.129-141, 1998.
- RIGATTO, K.V.; DE ANGELIS, K.L.D.; GADONSK, G.I.; FANG, L.; DALLAGO, P.; ALBUQUERQUE, V.L.; PEIXOTO, L.R.A.; FERNANDES, T.G.; BELLÓ-KLEIN, A. & IRIGOYEN, M.C. Exercise reverses insulin resistance in trained L-NAME hypertensive rats. **Hypertension**, v.33, p.1074-, 1999.

- ROBERTS, C.K.; VAZIRI, N.D. & BARNARD, J. Effect of diet and exercise intervention on blood pressure, insulin, oxidative stress, and nitric oxide availability. **Circulation**, v.106, p.2530-2532, 2002.
- ROMERO, J.C. & RECKELHOFF, F.F. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. **Hypertension**, v.34, p.943-949, 1999.
- RUBANYI, G.M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v.22 (suppl 4), p.S1-14, 1993.
- RUSH, J.W.; TURK, J.R. & LAUGHLIN, M.H. Exercise training regulates SOD-1 and oxidative stress in porcine aortic endothelium. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v.284, p.H1378-H1387, 2003.
- RUGGERI, P.; COGO, C.E.; PICCHIO, V.; ERMIRIO, R. & MARY, D.A. Reflex cardiovascular responses to somatic stimulation in spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, v.18, p.595-600, 2000.
- SACKS, F.M.; SVETKEY, L.P.; VOLLMER, W.M.; APPEL, L.J.; BRAY, G.A.; HARSHA, D.; et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. **N. England J. Med.**, v.344, p.3-10, 2001.
- SANTAJULIANA, D.; HORNFEELDT, B.J. & OSBORN, J.W. Use of ganglionic blockers to assess neurogenic pressor activity in conscious rats. **J. Pharmacol. Toxicol. Meth.**, v.35, p.45-54, 1996.

- SCHULTZ, H.D. & USTINOVA, E.E. Capsaicin receptors mediate free radical-induced activation of cardiac afferent endings. **Cardiovasc. Res.**, v.38, p.348-355, 1998.
- SEAGARD, J.L.; HOPP, F.A. & KAMPINE, J.P. Effect of sympathetic sensitization of baroreceptor on renal nerve activity. **Am. J. Physiol.**, v.252, p.R328-R335, 1987.
- SELAMOGLU, S.; TURGAY, F.; KAYATEKIN, B.M.; GONENE, S. & YSLEGEN, C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. **Acta Physiol. Hung.**, v.87, p.267-273, 2000.
- SEN, C.K. Oxidants and antioxidants in exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.79, p.675-686, 1995.
- SESSA, W.C.; PRITCHARD, K.; SEYEDI, N.; WANG, J. & HINTZE, T. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. **Circ. Res.**, v.74, p.349-353, 1994.
- SIES, H. & MEHLHORN, R. Mutagenicity of nitroxide-free radicals. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.251, p.393-396, 1986.
- SILVA, G.J.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E. & KRIEGER, E.M. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.30, p.714-719, 1997.

- SLEIGHT, P. Role of the baroreceptor reflexes in circulatory control, with particular reference to hypertension. **Hypertension**, v.18 (suppl III), p.31-34, 1991.
- SOMANI, S.M.; RAVI, R. & RYBAK, L.P. Effect of exercise training on antioxidant system in brain regions of rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.50, p.635-639, 1995.
- SOMANI, S.M. & RYBAK, I.P. Comparative effects of exercise training on transcription of antioxidant enzyme and the activity in old rat heart. **Indian. J. Physiol. Pharmacol.**, v.40, p.205-212, 1996.
- SOMERS, V.K.; CONWAY, J.; JOHNSTON, J. & SLEIGHT, P. Effects of endurance training and blood pressure in borderline hypertension. **Lancet**, v.337, p.1363-1368, 1991.
- SOUTHORN, P. & POWIS, G. Free radicals in medicine. I. Chemical Nature and Biologic Reactions, in: *Myio Clin. Proc.*, v.63, p.381-389, 1988.
- SOWERS, J.R. Hypertension, angiotensin II, and oxidative stress. **N. Engl. J. Med.**, v.346, p.1999-2001, 2002.
- TADDEI, S.; VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; MACAGNA, A. & SALVETTI, A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. **Circulation**, v.97, p.2222-2229, 1998.

- TANAKA, H.; BASSET Jr., D.R.; HOWLEY, E.T.; THOMPSON, D.L.; ASHRAF, M. & RAWSON, F.L. Swimming training lowers the resting blood pressure in individuals with hypertension. **J. Hypertens.**, v.15, p.651-657, 1997.
- TAKESHITA, S.; INOUE, N.; UEYAMA, T.; KAWASHIMA, S. & YOKOYAMA, M. Shear stress enhances glutathione peroxidase expression in endothelial cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.273, p.66-71, 2000.
- TAVARES, L.A.; LIMA, E.G. & VASQUEZ, E.C. Hipertensão arterial – presente e futuro. São Paulo: **Fundo Editorial BYK**, 1989.
- TAULER, P.; GIMENO, I.; AGUILO, A.; GUIX, M.P. & PONS, A. Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. **Pflugers Arch.**, v.438, p.782-787, 1999.
- THAMES, M.D. & JOHNSON, L.N. Impaired cardiopulmonary baroreflex control of renal nerves in renal hypertension. **Circ. Res.**, v.57, p.741-747, 1985.
- THORÉN, P. Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. **Rev. Physiol Biochem. Pharmacol.**, v.86, p.1-94, 1979.
- THORÉN, P.; NORESSON, E. & RICKSTEN, S.E. Resetting of cardiac C-fiber endings in the spontaneously hypertensive rat. **Acta Physiol Scand.**, v.107, p.13-18, 1979.
- TIIDUS, P.M. & HOUSTON, M.E. Antioxidant and oxidative enzyme adaptations to vitamin E deprivation and training. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.26, p.354-359, 1994.

- TIPTON, C.M.; MATHES, R.D.; MARCUS, K.D.; ROWLET, K.A. & LEININGER, JR. Influences of exercise intensity, age and medication on resting blood pressure of SHR populations. **J. Appl. Physiol.**, v.55, p.1305-1310, 1983.
- TIPTON, C.M. Exercise, training and hypertension: an update. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v.19, p.447-505, 1991.
- TULIS, D.A., UNTHANK, J.L. & PREWITT, R.L. Flow-induced arterial remodeling in rat mesenteric vasculature. **Am. J. Physiol.**, v.274, p.H874-H882, 1998.
- UEMATSU, M.; OHARA, Y.; NAVAS, J.P.; NISHIDA, K.; MURPHY, T.J.; et al. Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress. **Am. J. Physiol.**, v.269, p.C1371-1378, 1995.
- UGGERE, T.A.; ABREU, G.R.; SAMPAIO, K.N.; CABRAL, A.M. & BISSOLI, N.S. The cardiopulmonary reflexes of spontaneously hypertensive rats are normalized after regression of left ventricular hypertrophy and hypertension. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.33, p.589-594, 2000.
- ÜLKER, S.; McMASTER, D.; McKEOWN, P.P. & BAYRAKTUTAN, U. Impaired activities of antioxidant enzymes elicit endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats despite enhanced vascular nitric oxide generation. **Card. Res.**, v.59, p.488-500, 2003.
- USTINOVA, E.E. & SCHULTZ, H.D. Activation of cardiac vagal afferents in ischemia and reperfusion: prostaglandins versus oxygen-derived free radicals. **Circul. Res.**, v.74, p.904-911, 1994.

- VARAGIC, J. & FROHLICH, E.D. Local cardiac rennin-angiotensin system: hypertension and cardiac failure. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v.34, p.1435-1442, 2002.
- VASAN, R.S.; LARSON, M.G.; LEIP, E.P.; EVANS, J.C.; O'DONNELL, C.J.; KANNEL, W.B.; et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. **N. England J. Med.**, v.345, p.1291-1297, 2001.
- VASQUEZ, E.C.; CUNHA, R.S. & CABRAL, A.M. Baroreceptor reflex function in rats submitted to chronic inhibition of nitric oxide synthesis. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.27, p.767-774, 1994.
- VÉRAS-SILVA, A.S.; MATTOS, K.C.; GAVA, N.S.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E. & KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol.**, v.273 (suppl), p.H2627-H2631, 1997.
- VERBERNE, A.J., YOUNG, N.A. & LOUIS, W.J. Impairment of inhibitory cardiopulmonary vagal reflexes in spontaneously hypertensive rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v.23, p.63-68, 1988.
- WASSERMAN, K.; WHIPP, B.J.; KOYAL, S.N. & BEAVER, W.L. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.35, p.235-243, 1973.
- WAYNFORTH, H.B. & FLECKNELL, P.A. Experimental and surgical technique in the rat. **Academic Press**. London, 1992.

- WHELTON, S.P.; CHIN, A.; XIN, X. & HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Ann. Intern. Med.**, v.136, p.493-503, 2002.
- WIDDOP, R.E.; VERBERNE, A.J.; JARROTT, B. & LOUIS, W.J. Impaired arterial baroreceptor reflex and cardiopulmonary vagal reflex in conscious spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, v.8, p.269-275, 1990.
- WILCOX, C.S. Reactive oxygen species: roles in blood pressure and kidney function. **Curr. Hypertens. Rep.**, v.4, p.160-166, 2002.
- WORLD HEALTH REPORT. Reducing risks, promoting healthy life. Geneva, Switzerland: **World Health Organization**, <http://www.who.int/whr/2002>, 2002.
- XIE, P.; CHAPLEAU, M.W.; McDOWELL, T.S.; HAJDUCZOCK, G. & ABOUD, F.M. Mechanisms of decrease baroreceptor activity in chronic hypertensive rabbits: role of endogenous prostanoids. **J. Clin. Invest.**, v.86, p.625-630, 1990.
- YAMASHITA, N.; HOSHIDA, S.; OTSU, K.; ASAHI, M.; KUZUYA, T. & HORI, M. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. **J. Exp. Med.**, v.189, p.1699-1706, 1999.
- YEN, M.H.; TANG, J.H.; SHEU, J.R.; LEE, Y.M. & DING, Y.A. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. **Life Science**, v.57, p.2205-2213, 1995.

YU, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev.**, v.74, p.139-162, 1994.

YUAN, Y.V.; KITTS, D.D. & GODIN, D.V. Heart and red blood cell antioxidant status and plasma lipid levels in the spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rat. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.74, p.290-297, 1996.

ZALBA, G., SAN JOSE, G.; MORENO, M.U.; FORTUNO, M.A.; FORTUNO, A.; BEAUMONT, F.J. & DIEZ, J. Oxidative stress in arterial hypertension: role of NAD(P)H oxidase. **Hypertension**, v.38, p.1395-1399, 2001.

ZALBA, G.; BEAUMONT, J.; SAN JOSE, G.; FORTUNO, A.; FORTUNO, M.A. & DIEZ, J. Vascular oxidant stress: molecular mechanisms and pathophysiological implications. **J. Physiol. Biochem.**, v.56, p.57-64, 2000.

ZANCHETTI, A. & MANCIA, G. Cardiovascular reflexes and hypertension. **Hypertension**, v.18 (suppl III), p.13-21, 1991.