

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DE PORTO ALEGRE
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

**EFEITO DO DESTREINAMENTO NA FUNÇÃO
CARDIOVASCULAR MEDIADA POR ESPÉCIES
REATIVAS DE OXIGÊNIO EM RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

VINICIUS URBANO VIEGAS

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

Dissertação submetida ao Curso
de Pós-Graduação em Ciências
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
2009

“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais retorna ao seu tamanho original”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus, alimento da minha fé, que me concedeu os obstáculos quando clamei por coragem e determinação, força que conduz meus pensamentos e ações.

À minha orientadora Profa. Katya Vianna Rigatto, exemplo de dedicação, pela fé depositada, pelas oportunidades concedidas e pela incansável ajuda na realização deste sonho.

À minha co-orientadora Profa. Maria Cláudia Irigoyen, modelo de pesquisadora que, mesmo distante, me concedeu imenso amparo para a concretização desta etapa.

A Profa. Adriane Belló-Klein, pelo constante estímulo e ajuda recebida, por me acolher sempre que preciso.

À amiga Mariane Bertagnolli, minha guia e inspiradora ao longo de todos estes anos de trabalho. A amiga Francisca Mosele, pela ajuda prestada, pelo ombro amigo e pelas palavras incessantes de fé. Ao amigo Paulo Schenckel, pelos ensinamentos e auxílio em todas as horas. Ao amigo Alex Sander Araújo, pela valiosa ajuda e por sempre compartilhar seu inestimável conhecimento.

Aos amigos e colaboradores Cristiano Urbano, Daniela Dartora e Dhâniel Baraldi, pelo auxílio imprescindível e pelos momentos marcantes na realização deste trabalho.

Aos amigos do laboratório, em especial a Bianca Moraes, Bruno Berger, Cristina Campos, Daiane Ferreira, Gustavo Dreher, Karina Rabelo, Rafael

Colombo, Rafael Fernandes, Rafaela Siqueira, Roberta Mendes e Tânia Regina, pelo auxílio e eterno incentivo.

À minha namorada Mayssaa, pelo carinho, amor e fé depositadas durante toda esta caminhada; pela paciência e determinação na constante busca do meu crescimento.

Aos meus amigos, parceiros inseparáveis em todas as conquistas de minha vida.

Aos meus pais, Arnaldo e Sueli, meus irmãos e família, fontes eternas de amor incondicional, porto seguro de minha vida.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIII
RESUMO	XV
ABSTRACT	XVII
1 INTRODUÇÃO	02
1.1 Hipertensão Arterial	02
1.1.1 Papel das Espécies Reativas de Oxigênio na Disfunção Endotelial e as Defesas Antioxidantes	08
1.1.2 Hipertensão e Estresse Oxidativo Vascular	10
1.1.3 Efeito do exercício físico sobre o estresse oxidativo e hipertensão em SHR	11
1.2 Controle Autonômico da Pressão Arterial	14
1.3 Hipertrofia Cardíaca	16
1.3.1 Ratos Espontaneamente Hipertensos como Modelo Experimental	20
1.3.2 Remodelamento Cardíaco e Exercício Físico	21
1.4 Destreinamento	24
2 HIPÓTESE	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo Geral	30

3.2	Objetivos Específicos	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	33
4.2	CÁLCULO DE TAMANHO AMOSTRAL	33
4.3	AMOSTRA	33
4.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS	34
4.5	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	34
4.5.1	Protocolo de Treinamento Físico	34
4.5.2	Protocolo de Destreinamento	36
4.6	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	36
4.6.1	Cateterização Femoral	36
4.7	AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS	38
4.7.1	Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca	38
4.7.2	Geração dos Dados a partir dos Registros	38
4.7.3	Avaliação da Sensibilidade Reflexa	39
4.7.3.1	Pressorreceptora	39
4.7.3.2	Cardiopulmonar	40
4.7.4	Cateterização Intraventricular	41
4.7.4.1	Registro das Pressões Ventriculares Esquerdas	42
4.8	COLETA DOS TECIDOS	42
4.8.1	Índice de Congestão Pulmonar e Hepática	43
4.8.2	Índice de Hipertrofia Cardíaca	43
4.9	PREPARO DO SANGUE	43

4.10 MÉTODO DE HOMOGENEIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO	44
4.11 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	45
4.11.1 Dosagem de Proteínas	45
4.11.2 Dosagem de Hemoglobina	45
4.11.3 Atividade da Enzima Citrato Sintase	46
4.11.4 Quimiluminescência iniciada por t-BOOH	47
4.11.5 Atividade Enzimática	48
4.11.5.1 Superóxido Dismutase	48
4.11.5.2 Catalase	49
4.11.5.3 Glutaciona Peroxidase	50
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
5 RESULTADOS	53
5.1 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A ATIVIDADE DA CITRATO CINTASE NO MÚSCULO SÓLEO	53
5.2 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E A FREQUÊNCIA CARDÍACA	54
5.2.1 Pressão Arterial Média	54
5.2.2 Pressão Arterial Sistólica e Diastólica	55
5.2.3 Frequência Cardíaca	55
5.3 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR ANALISADA PELO ÍNDICE DE SENSIBILIDADE	56
5.3.1 Taquicardia Reflexa	56

5.3.2	Bradicardia Reflexa.....	57
5.4	EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO CARDIOPULMONAR.....	58
5.4.1	Resposta Hipotensora.....	58
5.4.2	Resposta Bradicárdica.....	59
5.5	EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A FUNÇÃO INTRAVENTRICULAR.....	60
5.6	AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS.....	61
5.6.1	Peso Corporal.....	61
5.6.2	Peso do Coração e Índice de Hipertrofia.....	62
5.6.3	Índice de Congestão Hepática e Pulmonar.....	63
5.7	ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	64
5.7.1	Quiluminescência em Tecido Cardíaco.....	64
5.7.2	Atividade das Enzimas Antioxidantes em Eritrócitos.....	65
5.7.3	Atividade das Enzimas Antioxidantes no Coração.....	66
6	DISCUSSÃO.....	69
6.1	Atividade da Enzima Citrato Sintase.....	69
6.2	Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	70
6.3	Avaliações Morfométricas.....	76
6.4	Reflexo Pressorreceptor.....	80
6.5	Reflexo Cardiopulmonar.....	83
6.6	Estresse Oxidativo.....	86
7	CONCLUSÕES.....	96

8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
---	----------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Fontes endoteliais de ânion superóxido promovendo a redução da biodisponibilidade de NO derivado do endotélio na doença vascular	07
FIGURA 2 – Redução univalente do oxigênio	09
FIGURA 3 – Efeitos vasculares das espécies reativas de oxigênio (ERO)	13
FIGURA 4 – Diferenças existentes nos padrões de hipertrofia cardíaca	18
FIGURA 5 – Protocolo diário de exercício escalonado de moderada intensidade (20 m/min) com duração de 1 hora	36
FIGURA 6 – Atividade da enzima citrato sintase no músculo sóleo dos grupos estudados	53
FIGURA 7 – Pressão arterial média durante registro de repouso nos grupos estudados	54
FIGURA 8 – Frequência cardíaca durante registro de repouso nos grupos estudados	56
FIGURA 9 – Resposta taquicárdica decorrente da injeção de nitroprussiato de sódio nos grupos estudados	57
FIGURA 10 – Resposta bradicárdica decorrente da injeção de fenilefrina nos grupos estudados	58
FIGURA 11 – Respostas hipotensoras decorrentes da injeção de serotonina	59

FIGURA 12 – Resposta bradicárdica produzida pela estimulação dos receptores cardiopulmonares pela serotonina.....	60
FIGURA 13 – Quimiluminescência (QL) em homogeneizado cardíaco nos grupos estudados.....	65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de PAD e PAS durante registro de repouso.....	55
TABELA 2 – Valores de PDVE e PSVE nos grupos estudados.....	61
TABELA 3 – Peso corporal dos grupos estudados.....	62
TABELA 4 - Pesos do coração, dos ventrículos e índice de hipertrofia cardíaca dos grupos estudados.....	63
TABELA 5 – Índices de congestão hepática e pulmonar.....	64
TABELA 6 – Atividade das enzimas antioxidantes, em eritrócitos, dos grupos estudados.....	66
TABELA 7 – Atividade das enzimas antioxidantes, em homogeneizado cardíaco, dos grupos estudados.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS

Ach	acetilcolina
Ang II	angiotensina II
ANOVA	análise de variância
CAT	catalase
CoA	coenzima A
CPS	contagens por segundo
CS	citrato sintase
DC	débito cardíaco
ERO	espécies reativas de oxigênio
ET-1	endotelina-1
eNOS	óxido nítrico sintase endotelial
FC	frequência cardíaca
GMPc	3'-5'-guanosina monofosfato cíclico
GPx	glutathione peroxidase
GR	glutathione reductase
GSH	glutathione reduzida
GSSG	glutathione oxidada
HAS	hipertensão arterial sistêmica
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase
NTS	núcleo do trato solitário
O ₂ ^{•-}	ânion superóxido
OH [•]	radical hidroxil
ONOO ⁻	peroxinitrito
PA	pressão arterial
PAD	pressão arterial diastólica
PAM	pressão arterial média
PAS	pressão arterial sistólica
PDVE	pressão diastólica ventricular esquerda
PMSF	fluoreto de fenilmetilsulfonila
PSVE	pressão sistólica ventricular direita
QL	quimiluminescência
REDOX	redução-oxidação RVP resistência vascular periférica
RVLM	rostral ventro-lateral bulbar
SHR	ratos espontaneamente hipertensos
SOD	superóxido dismutase
t-BOOH	hidroperóxido de tert-butil
TEM	teste de esforço máximo
VO ₂ máx	consumo máximo de oxigênio
XO	xantina oxidase
5HT	serotonina

RESUMO

A hipertensão é considerada um importante fator de risco cardiovascular devido a sua interação com diferentes mecanismos patológicos. As espécies reativas de oxigênio vem sendo reconhecidas como importantes fatores no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, dentre elas a hipertensão. Por outro lado, o exercício tem sido recomendado como uma medida não-farmacológica no tratamento antihipertensivo. Uma vez que a cessação da rotina de exercícios é extremamente comum, tanto em indivíduos hígidos como hipertensos, buscou-se avaliar os efeitos do destreinamento nos sistemas reguladores da pressão arterial (PA) e no seu controle, bem como a relação destes com o estresse oxidativo em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Assim, este estudo foi realizado com ratos machos SHR, com 20 semanas, divididos em três grupos: controle (C), treinado (T) e destreinado (D). O protocolo de exercício de moderada intensidade (20 m/min) foi realizado por 10 semanas em esteira ergométrica. Após este período, o grupo D foi submetido a 4 semanas de destreinamento. Foram avaliadas as respostas bradicárdicas e taquicárdicas do barorreflexo, bem como a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar. Foram avaliadas também as pressões intraventriculares sistólica e diastólica. O estresse oxidativo foi medido no sangue e coração. O treinamento físico diminui a PAM do grupo T, quando comparado ao C; o exercício promoveu incremento da sensibilidade barorreflexa e dos receptores cardiopulmonares a serotonina. Estas adaptações induzidas pelo exercício se mantiveram no grupo D em relação ao C. O estresse oxidativo cardíaco diminui

significativamente no grupo T comparado ao C, redução observada também no grupo D. Houve incremento da atividade da catalase nos eritrócitos do grupo T em relação ao C, bem como incremento da atividade da glutathione peroxidase no coração; estes resultados se mantiveram após as 4 semanas de destreinamento. Como conclusão, as adaptações induzidas pelo exercício se mantiveram após as 4 semanas de destreinamento nos animais SHR, sugerindo que estes animais apresentam benefícios derivados do treinamento que atenuam os efeitos deletérios da hipertensão sobre o sistema cardiovascular.

ABSTRACT

Hypertension is considered an important risk factor for cardiovascular diseases due to its interaction with different pathological mechanisms. The oxygen reactive species have been recognized as important factors on cardiovascular diseases development, just like hypertension. On the other hand, exercise has been recognized as a very good non-pharmacological approach on the antihypertensive treatment. Once the cessation of exercise routine is extremely common in healthy and hypertensive people, we have investigated the effects of detraining in the systems that regulate blood pressure (BP) and reflex control of the heart. We also investigated the effects of detraining in the oxidative stress in spontaneously hypertensive rats (SHR). Thus, 20-weeks old SHR were divided in three groups: control (C), training (T) and detraining (D). The moderate-intensity exercise protocol (20 m/min) was accomplished in a treadmill for 10 weeks. After that, D underwent a 4 weeks detraining period to study: (1) the bradycardic and tachycardic baroreflex responses and cardiopulmonary reflex sensitivity were assessed; (2) the left ventricular chamber was assessed to determine end diastolic and systolic pressure and (3) oxidative stress was measured in blood and heart tissues. Our results demonstrated that physical exercise decreased BP in T group as compared to C; exercise enhanced baroreflex response and cardiopulmonary receptors sensitivity to serotonergic stimulus in T group compared to C; the exercise-induced adaptations were preserved in D group when compared to C group; the cardiac oxidative stress

was reduced in training and detraining rats. Catalase activity, measured in erythrocytes, was increased in T group compared to C, while there was an increase in the heart glutathione peroxidase activity after training, which it was also observed after detraining period. In conclusion, even though after 4 weeks of detraining in SHR, the benefits due to exercise training were still present.



INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada por um aumento da pressão arterial em função do aumento da resistência arterial periférica. Na hipertensão, pequenas artérias são submetidas a alterações funcionais, estruturais e mecânicas, resultando na redução do diâmetro do seu lúmen. As alterações funcionais e estruturais do sistema cardiovascular incluem aumentada reatividade a agentes contráteis, disfunção endotelial, contratilidade alterada, deposição de matriz extracelular e remodelamento vascular (Paravicini & Touyz, 2006).

Além disso, a hipertensão é uma doença muito prevalente, acometendo cerca de 25% da população adulta no mundo, fato que sugere a importância da prevenção e tratamento desta patologia. Uma recente meta-análise de estudos observacionais prospectivos em indivíduos sem história de doença vascular prévia sugere que para cada acréscimo de 2mmHg na pressão arterial sistólica aumenta no risco de doença arterial coronariana fatal em 5% (Lewington et al., 2002).

Acredita-se que a hipertensão seja uma doença multifatorial pela interação de diferentes mecanismos fisiopatológicos envolvendo a regulação da PA e a disfunção do endotélio vascular. Estudos experimentais exploram estes

mecanismos e buscam elucidar a interação entre eles no estabelecimento da hipertensão arterial.

Dentre as inúmeras hipóteses que buscam elucidar a fisiopatologia da hipertensão essencial, acredita-se que disfunção da modulação simpática sobre o sistema cardiovascular seja um dos fatores responsáveis pelo estabelecimento do estado hipertensivo, participando ativamente no desenvolvimento precoce e na progressão tardia desta doença (Grassi et al., 2008). As alterações hemodinâmicas promovidas pelo tônus simpático cardiovascular elevado estão associadas ao aumento do *drive* adrenérgico, o que implica em um aumentado nível de norepinefrina plasmática em pacientes com hipertensão (Julius et al., 1991).

Grassi & Mancia (2007) sugerem que uma das causas para o aumento da atividade simpática na hipertensão seja a redução da atividade dos sistemas reflexos de modulação da PA (barorreflexo, receptores cardiopulmonares e quimiorreceptores) que restringem tonicamente o fluxo adrenérgico. Acredita-se ainda que a ativação simpática da hipertensão dependa do sistema renina angiotensina, graças às evidências de que a angiotensina II exerce efeitos excitatórios sobre centros simpáticos encefálicos (Grassi, 2001).

A disfunção endotelial é amplamente relatada como uma consequência da hipertensão. Assim como outras condições que levam à disfunção endotelial, a hipertensão está associada ao enrijecimento das artérias, estando este último associado ao risco de eventos cardiovasculares (Landmesser & Drexler, 2007). O aumento da estimulação adrenérgica também exerce efeitos desfavoráveis

sobre a função vascular por reduzir a distensibilidade e complacência arterial (Grassi & Mancia, 2007).

No entanto, as espécies reativas de oxigênio (ERO) vem sendo cada dia mais reconhecidas nas últimas décadas como importantes fatores do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, incluindo hipertensão, aterosclerose, diabetes, hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca. Seu efeito nocivo se deve, em grande parte, ao estado pró-oxidante que reduz a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e a capacidade antioxidante nos vasos (Touyz, 2003; Tain & Baylis, 2006; Vaziri & Rodriguez-Iturbe, 2006), culminando na disfunção do endotélio vascular (Feletou & Vanhoutte, 2006).

O termo estresse oxidativo é caracterizado pelo aumento das ERO e/ou redução da atividade antioxidante total. As ERO são produzidas em todos os tipos de células vasculares, incluindo endotelial, músculo liso e células adventícias, sendo formadas por numerosas enzimas. As fontes mais relevantes de ERO na hipertensão nestes tecidos são: xantina oxidase (XO), NO sintase (NOS) desacoplada e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase. Sua produção ocorre através das reações de redução-oxidação (redox) do oxigênio (O_2) a água (H_2O), sendo classificadas em dois grupos: radicais livres (ânion superóxido [$O_2^{\cdot-}$], radical hidroxil [OH^{\cdot}] e NO) e espécies não-radicaais derivadas do oxigênio (peróxido de hidrogênio [H_2O_2] e peroxinitrito [$ONOO^{\cdot-}$]).

O radical livre é qualquer espécie capaz de existência independente e que contenha um ou mais elétrons desemparelhados, o que concede alta reatividade

à molécula. Derivados não-radicais são menos reativos e mais estáveis, apresentando maior meia-vida que os radicais livres (Paravicini & Touyz, 2008).

Das espécies reativas geradas nas células cardiovasculares, o $O_2^{\cdot-}$ e o H_2O_2 parecem ser as mais importantes no que diz respeito ao desfecho fisiopatológico das doenças cardiovasculares. Ratos espontaneamente hipertensos (SHR, *spontaneously hypertensive rats*) apresentam aumento na produção de $O_2^{\cdot-}$ nas artérias cerebrais e aorta quando comparados com ratos controle normotensos Wistar-Kyoto (Zalba et al., 2000; Paravicini et al., 2004). O fator possivelmente associado ao desenvolvimento da hipertensão neste modelo animal de hipertensão é a elevada atividade da enzima XO na microcirculação mesentérica, sendo este fator associado ao aumento na produção de $O_2^{\cdot-}$ e consequente manutenção de tônus arteriolar elevado (Fortuno et al., 2004).

Estudo mostra que a inibição por longo prazo da XO com alopurinol reduz a atividade desta enzima sem haver redução da pressão arterial (PA) (Laakso et al., 1998). Estes dados suportam a relação da xantina oxidase com o dano no órgão-alvo derivado da hipertensão, e não como um fator que contribui para o seu desenvolvimento. Além disso, os SHR apresentam elevação da XO endotelial e aumento na produção de ERO, o que está associado ao aumento do tônus arteriolar (Suzuki et al., 1998). A NADPH oxidase tem sido considerada como uma das causas do desacoplamento da NOS e promotora da produção de $O_2^{\cdot-}$ dependente da XO (Paravicini & Touyz, 2008).

De fato, muitos estudos demonstram que a principal fonte de ERO na parede vascular é a NADPH oxidase, que utiliza NADH/NADPH como doadores

de elétrons para reduzir o oxigênio molecular e produzir $O_2^{\cdot-}$. A NADPH oxidase vascular é responsiva a diversos estímulos (FIGURA 1), tais como forças mecânicas como estiramento e estresse de cisalhamento; fatores metabólicos como hiperglicemia, hiperinsulinemia e ácidos graxos livres; e ainda agonistas de receptores acoplados à proteína G como a angiotensina II (Ang II), entre outros. A Ang II, através dos receptores AT_1 , assim como alterações do fluxo laminar que afetam o endotélio, são importantes e potentes reguladores da atividade da NADPH oxidase cardiovascular (Paravicini & Touyz, 2008). Em modelo de ratos hipertensos por infusão de Ang II, a expressão e a atividade da NADPH oxidase estão aumentadas (Rajagopalan et al., 1996; Fukui et al., 1997), enquanto a administração de um inibidor da NADPH oxidase reduz a produção vascular de $O_2^{\cdot-}$ e atenua o aumento de pressão arterial induzido pela Ang II (Rey et al., 2001).

Os vasos sanguíneos são expostos continuamente ao estresse mecânico, e alterações nestas forças são importantes no remodelamento vascular tanto sob condições fisiológicas quanto patológicas, como no exercício físico e hipertensão, respectivamente (Lehoux & Tedgui, 1998; Kojda & Hambrecht, 2005). O fluxo laminar induz o incremento da biodisponibilidade de NO através do aumento da expressão e atividade da NOS endotelial (eNOS). Em contrapartida, distúrbios no fluxo laminar, geralmente associado a aumento do tônus vascular na hipertensão, promovem aumento na produção endotelial de $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , gerando estresse oxidativo e dano vascular, possivelmente pela ativação da NADPH oxidase vascular (Paravicini & Touyz, 2006).

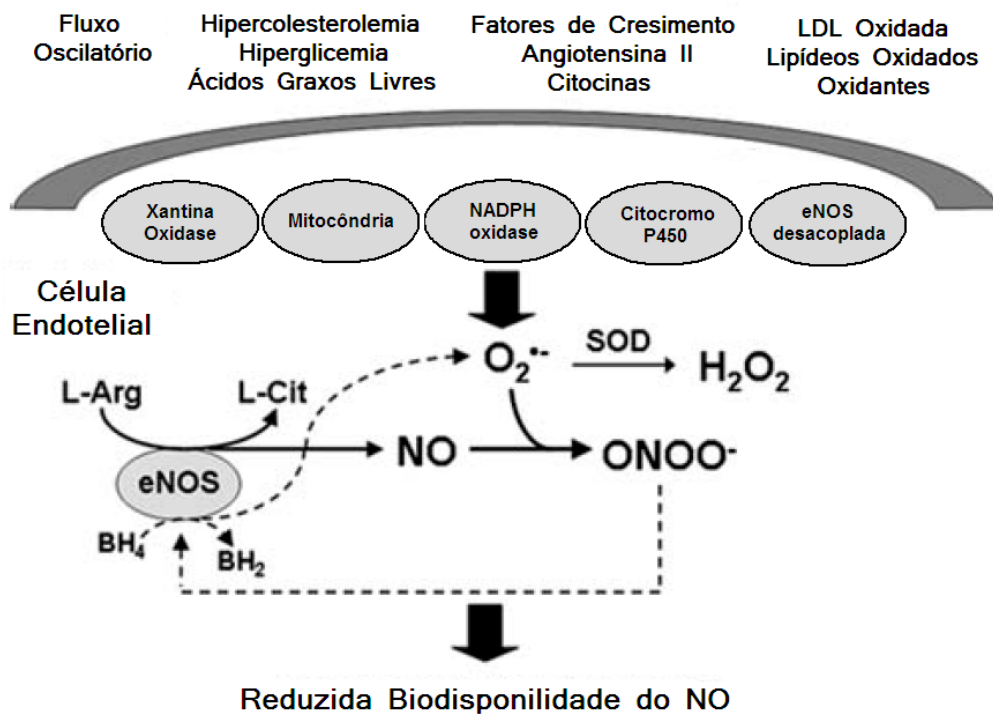


FIGURA 1 – Fontes endoteliais de ânion superóxido promovendo a redução da biodisponibilidade de NO derivado do endotélio na doença vascular. Diversos estímulos patológicos promovem a formação de $O_2^{\bullet-}$ por meio de diferentes fontes no endotélio vascular. O aumento na produção de $O_2^{\bullet-}$ reage rapidamente com o NO sintetizado pela eNOS, resultando na formação de $ONOO^-$. O peroxinitrito formado pode oxidar a tetrahydrobiopterina (BH_4) para dihidrobiopterina (BH_2), resultando no desacoplamento da eNOS e formação de $O_2^{\bullet-}$. Estas reações oxidativas reduzem a biodisponibilidade de NO levando a disfunção endotelial presente em pacientes com doenças vasculares. eNOS = óxido nítrico sintase endotelial; L-Arg = L-arginina; L-Cit = L-citulina. *Adaptado de (Thomas et al., 2008).*

1.1.1 Papel das Espécies Reativas de Oxigênio na Disfunção Endotelial e as Defesas Antioxidantes

Está muito bem estabelecido na literatura que o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio participa no desenvolvimento e manutenção da disfunção endotelial, o que mantém o quadro hipertensivo que culmina em efeitos nocivos sobre os sistemas de controle da pressão arterial e da dilatação dependente do endotélio mediada pelo óxido nítrico (Paravicini & Touyz, 2008; Thomas et al., 2008). Como iremos observar adiante, a regulação autonômica exercida pelos barorreceptores também fica prejudicada pelo comprometimento da função endotelial causado pelo aumento de ERO e/ou diminuição das enzimas antioxidantes para que se estabeleça estresse oxidativo cardiovascular.

Antioxidantes são definidos como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações relativas a um substrato oxidável, significativamente reduzem ou previnem a oxidação deste substrato. Organismos vivos apresentam diversas defesas antioxidantes para manter a sobrevivência contra o estresse oxidativo. Estes mecanismos são diferentes no compartimento intra do extracelular, compreendendo formas enzimáticas e não-enzimáticas. Os principais antioxidantes enzimáticos vasculares são: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx) (Sindhu et al., 2005; Sui et al., 2005; Gongora et al., 2006) (FIGURA 2).

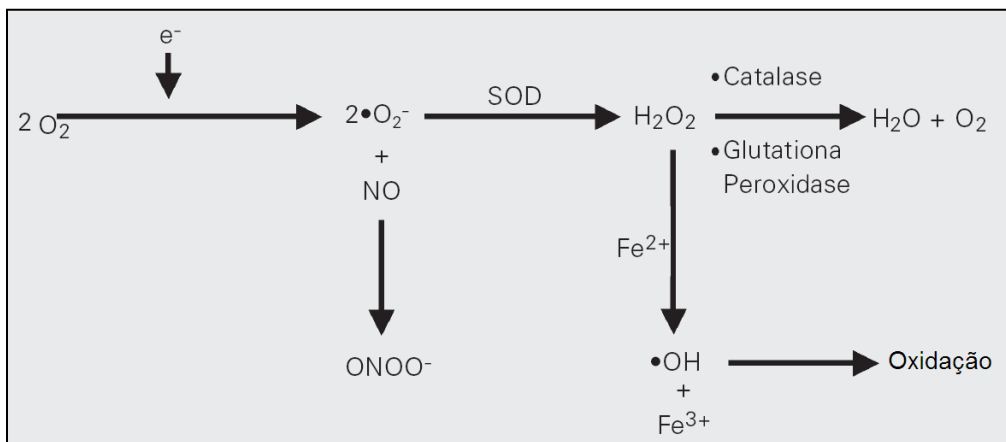


FIGURA 2 – Redução univalente do oxigênio. O diagrama demonstra como a redução univalente do oxigênio, na presença de um elétron livre (e^-), leva a formação de ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxil. Adaptado de (Touyz, 2004; Touyz & Schiffrin, 2004).

A SOD catalisa a dismutação do $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 e de O_2 . Apresenta três isoformas nos mamíferos: cobre/zinco (Cu,Zn SOD ou SOD1), mitocondrial (Mn SOD ou SOD2) e extracelular (ec SOD ou SOD3). A principal isoforma vascular é a extracelular, que é produzida pelas células musculares lisas vasculares e acopla-se aos glicosaminoglicanos na matriz extracelular da superfície celular endotelial e desempenha um importante papel na regulação do *status* oxidativo no interstício vascular (Wassmann et al., 2004). A GPx reduz o H_2O_2 e os peróxidos lipídicos a H_2O e álcoois lipídicos, respectivamente, e em parte oxida a glutaciona a glutaciona dissulfídeo. A glutaciona peroxidase apresenta grande importância em baixos níveis de estresse oxidativo (Paravicini & Touyz, 2008).

Por outro lado, a CAT é uma enzima antioxidante intracelular localizada principalmente nos peroxissomas celulares e no citosol, sendo responsável por catalisar a reação do H_2O_2 a H_2O e oxigênio molecular. É uma enzima bastante

efetiva em estados caracterizados por elevado estresse oxidativo, protegendo a célula contra o H_2O_2 . A enzima é especialmente importante em casos de limitado conteúdo de glutatona ou de reduzida atividade da GPx (Paravicini & Touyz, 2008). A reduzida biodisponibilidade dos componentes antioxidantes pode facilitar o aparecimento de estresse oxidativo celular, normalmente associado à hipertensão.

1.1.2 Hipertensão e Estresse Oxidativo Vascular

Existem fortes evidências de que o estresse oxidativo está aumentado em pacientes com hipertensão essencial (Paravicini & Touyz, 2008). O NO se difunde através da superfície hidrofílica para se acumular dentro da camada hidrofóbica das camadas lipídicas. Sendo assim, o processo de lipoperoxidação apresenta conseqüências desastrosas sobre a atividade do NO. Semelhante à sua reação com o $O_2^{\cdot-}$, na lipoperoxidação o NO é submetido a reações com radicais lipídicos que culminam na formação de derivados lipídicos nitrogenados (O'donnell et al., 1997). Diversos estudos mostram que a geração destes radicais lipídicos envolve a utilização do NO, reduzindo a sua biodisponibilidade (O'donnell et al., 1999; O'donnell et al., 2000).

Pacientes com hipertensão apresentam aumento de moléculas pró-oxidantes, como o H_2O_2 , associadas à diminuição da atividade das enzimas antioxidantes no sangue. Outro dado relevante é que indivíduos normotensos com risco genético para hipertensão, como histórico familiar positivo para

hipertensão, apresentam maior produção de H_2O_2 que indivíduos normotensos sem o mesmo histórico familiar. A produção de espécies reativas de oxigênio está aumentada nas células musculares lisas das artérias de pacientes hipertensos e isto está associado ao aumento da atividade da NADPH oxidase vascular (Paravicini & Touyz, 2008). Estes dados sugerem que existe um componente genético para o aumento da produção de H_2O_2 que pode culminar em disfunção endotelial e hipertensão, uma vez que contribuem para a diminuição da biodisponibilidade do NO.

Dessa forma, o aumento na geração de ERO e a redução das defesas antioxidantes contribuem para o aparecimento de estresse oxidativo em pacientes com hipertensão. De fato, estes pacientes apresentam reduzida atividade de enzimas antioxidantes, incluindo superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase (Paravicini & Touyz, 2008). Esses resultados são confirmados pela correlação inversa entre a atividade da SOD e a pressão arterial (Simic et al., 2006).

1.1.3 Efeito do exercício físico sobre o estresse oxidativo e hipertensão em SHR

Em condições patológicas, as ERO estão envolvidas na inflamação, disfunção endotelial, proliferação, migração e ativação celular, deposição de matriz extracelular, fibrose, angiogênese e remodelamento cardíaco, processos importantes que contribuem para o remodelamento cardiovascular e renal na

hipertensão, aterosclerose, diabetes, e insuficiência cardíaca (Paravicini & Touyz, 2008).

A Ang II modula efeitos vasculares através das ERO derivadas da NADPH oxidase. Os principais efeitos cardiovasculares das ERO incluem a regulação do crescimento e diferenciação celular, modulação da produção da matriz extracelular e inativação do NO (Paravicini & Touyz, 2006). Muitos destes efeitos estão associados às alterações patológicas observadas também na hipertensão, levando ao aumento do trabalho cardíaco e conseqüentemente à hipertrofia patológica (FIGURA 3).

Existe uma resposta adaptativa ao exercício, onde tanto a capacidade oxidativa quanto a resistência tecidual ao dano oxidativo estão aumentadas (Hong & Johnson, 1995). Isso deve basicamente ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes. De fato, evidências mostram a relação do exercício físico com o aumento da atividade da catalase e da reserva de glutathiona no músculo cardíaco em ratos (Marroni, 2002).

Segundo Bertagnolli e colaboradores (2006), o treinamento físico de SHR está associado à diminuição do estresse oxidativo, da atividade simpática para cardíaca e à melhora na sensibilidade barorreflexa. Estes resultados concordam com o de outro estudo, onde o exercício crônico melhorou a sensibilidade barorreceptora e a regulação da PA tanto em ratos normotensos quanto em hipertensos (Horta et al., 2005).

Resultados de nosso laboratório demonstram que, quando devidamente planejado, tanto o exercício crônico quanto o agudo podem diminuir a PA de

ratos SHR e seres humanos com hipertensão arterial essencial (Belló-Klein et al., 2000).

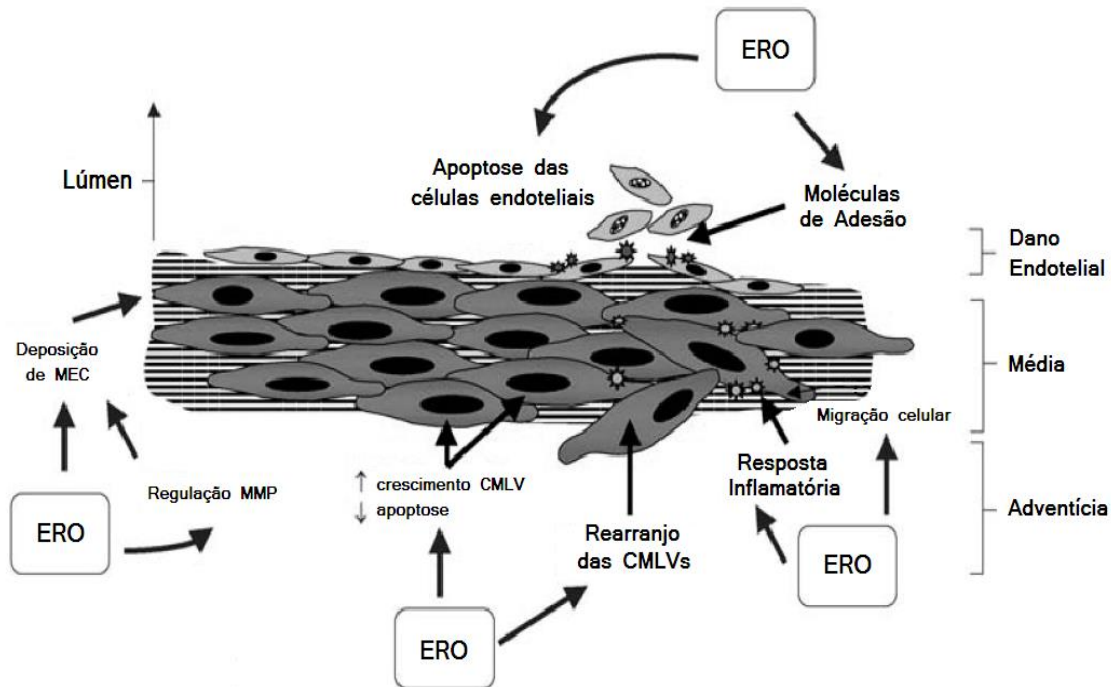


FIGURA 3 – Efeitos vasculares das espécies reativas de oxigênio (ERO). O aumento na biodisponibilidade de ERO influencia mecanismos celulares que culminam no crescimento, inflamação, diferenciação e migração de células musculares lisas vasculares (CMLV), bem como deposição de matriz extracelular (MEC) e dano endotelial. MMP = metaloproteinase matricial. Adaptado de (Touyz, 2004; Touyz & Schiffrin, 2004).

Embora estudos demonstrem esses efeitos do exercício físico, é escassa a bibliografia relacionada ao efeito do destreinamento na hipertensão, sobretudo em relação ao efeito sobre a hipertrofia cardíaca patológica. Se considerarmos que na sociedade moderna é comum a realização intermitente de exercício físico, caracterizada pelo entra e sai das academias de ginástica, fica evidente a

necessidade de investigar o efeito deste comportamento de treinamento/destreinamento do ser humano moderno.

Acreditamos que o treinamento físico possa contribuir para alteração do padrão de hipertrofia cardíaca observada nos animais SHR, tanto pelos efeitos hemodinâmicos como pela diminuição do estresse oxidativo, e que o destreinamento possivelmente reverta os benefícios do condicionamento físico.

1.2 Controle Autonômico da Pressão Arterial

Assim como o NO, o Sistema Nervoso Autônomo, representado pelo controle barorreflexo da frequência cardíaca, desempenha importante papel no controle da pressão arterial. O grau de prejuízo no funcionamento deste reflexo funciona como um indicador de mortalidade cardiovascular, uma vez que a reduzida sensibilidade barorreflexa é observada em condições patológicas como a insuficiência cardíaca (Mortara et al., 1997). Existem evidências que suportam a relação da hipertensão com a redução do controle barorreflexo da frequência cardíaca em humanos (Piccirillo et al., 1996) e modelos experimentais (Head & Adams, 1988).

A sensibilidade barorreflexa apresenta estrita relação com a complacência dos vasos arteriais. A redução desta sensibilidade, associada à redução da atividade aferente barorreflexa, é comumente atribuída a alterações mecanoelásticas dos vasos (Chapleau et al., 1995). Estas alterações

compreendem basicamente a redução da complacência observada no enrijecimento das artérias (Brum et al., 2000).

A influência do estresse oxidativo na sensibilidade barorreflexa já foi demonstrada em humanos (Piccirillo et al., 2003) e em modelos experimentais de insuficiência cardíaca (Rabelo et al., 2001). De fato, estudo demonstrou que SHR submetidos a um protocolo de exercício de intensidade moderada apresentam uma correlação inversa entre as respostas barorreflexas comparada a lipoperoxidação em eritrócitos e na aorta (Bertagnolli et al., 2006). O mesmo estudo também demonstrou correlação positiva entre a pressão arterial e a sensibilidade barorreflexa e o estresse oxidativo. Estes resultados indicam que o estresse oxidativo pode prejudicar a complacência vascular e a função endotelial, e ainda que, o exercício pode atenuar esses efeitos.

Baseado nas evidências experimentais sobre a importância do estresse oxidativo no dano vascular, houve grande interesse no desenvolvimento de estratégias que diminuam o processo oxidativo no auxílio ao tratamento da hipertensão. Medidas terapêuticas têm sido propostas sempre baseadas em três mecanismos majoritários: (1) aumento da capacidade antioxidante, (2) aumento da biodisponibilidade de NO e (3) redução da produção de ERO pela diminuição da atividade das enzimas geradoras de ânion superóxido.

A disfunção endotelial tem sido relatada como reversível tanto por intervenção farmacológica quanto não-farmacológica. Dentre as abordagens não-farmacológicas, o exercício físico de moderada intensidade vem demonstrando ser de grande importância no aumento da atividade antioxidante

tecidual. Estudos mostraram uma melhora na vasodilatação dependente do endotélio na microcirculação do antebraço de pacientes hipertensos submetidos ao treinamento físico (Higashi et al., 1999), e ainda, a atividade física tem sido relacionada à redução da atividade da NADPH oxidase e da produção de ERO, melhorando a injúria vascular e reduzindo a pressão arterial (Adams et al., 2005; Wang et al., 2006; Pan et al., 2007).

Considerando que o estresse oxidativo promove prejuízo da função endotelial e redução da sensibilidade barorreflexa acarretando um desequilíbrio no controle da pressão arterial, podemos concluir que o estresse oxidativo favorece o enrijecimento das artérias que aumenta drasticamente a resistência contra a qual o coração deve bombear o sangue. A adaptação do miocárdio é caracterizada por alterações morfofuncionais que culminam em hipertrofia do músculo cardíaco.

1.3 Hipertrofia Cardíaca

A hipertrofia cardíaca resulta de adaptações sincronizadas e programadas nos cardiomiócitos a nível molecular e bioquímico como uma resposta adaptativa a um alterado estado cardiovascular, causado pela combinação de fatores como pressão hemodinâmica elevada e desbalanço hormonal. Um aumento na síntese protéica e na massa dos cardiomiócitos sucinta em aumento do coração.

O aumento da massa muscular cardíaca reflete o processo de remodelamento do miocárdio em resposta ao estresse mecânico e diversos

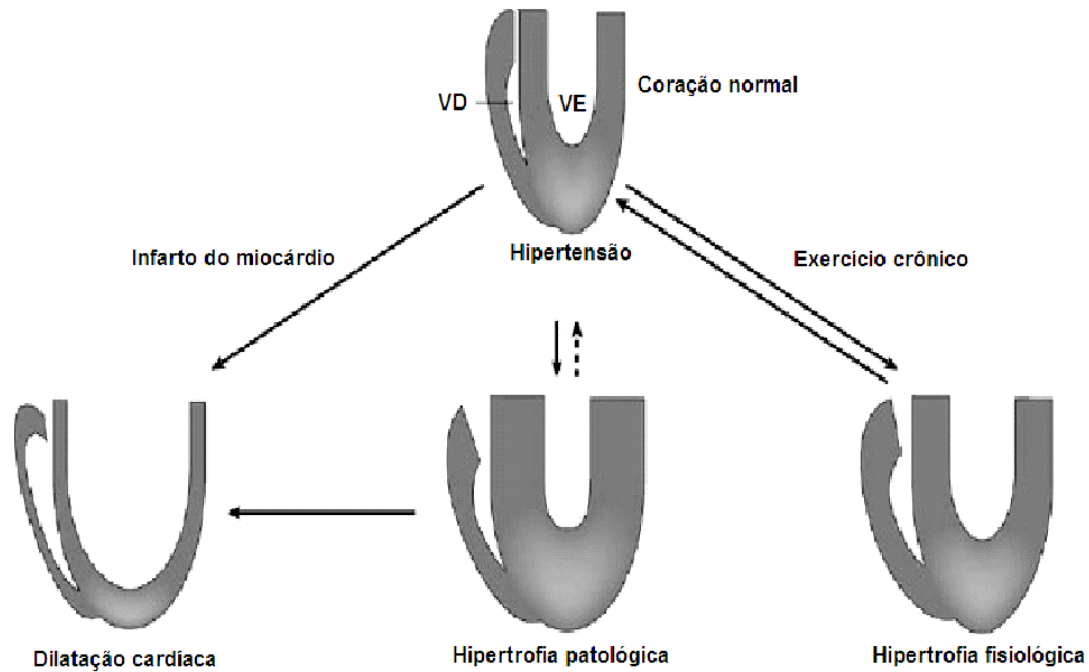
estímulos. A resposta hipertrófica é uma adaptação inicial ao aumento do trabalho cardíaco, promovido por condições fisiológicas ou patológicas (Richey & Brown, 1998; Kacimi & Gerdes, 2003), auxilia na manutenção da função ventricular e normalização do estresse da parede (Kacimi & Gerdes, 2003; Macdonnell et al., 2005).

A causa molecular primária para o aumento do coração é a hipertrofia dos miócitos, ou seja, aumento no tamanho das células musculares existentes, sem que haja hiperplasia do tecido. Apesar de os miócitos apresentarem um papel importante no desenvolvimento da hipertrofia, outras células tais como: fibroblastos, células endoteliais, células musculares lisas, etc., estão também envolvidas direta ou indiretamente neste processo (Gupta et al., 2007).

O crescimento hipertrófico se desenvolve de duas maneiras: a *hipertrofia concêntrica* é causada pela sobrecarga pressórica crônica e leva a uma diminuição do volume ventricular esquerdo e aumento da espessura da parede da câmara ventricular, enquanto a *hipertrofia excêntrica* é causada pela sobrecarga de volume, o que promove dilatação da câmara com redução da espessura da parede do miocárdio (Wakatsuki et al., 2004). Mecanicamente, a expansão excêntrica ocorre por adição de sarcômeros em série causando alongamento do miócito; o crescimento concêntrico, por outro lado, ocorre em função da adição de sarcômeros em paralelo resultando em alargamento da célula.

Dependendo das adaptações do miocárdio e da natureza de carga imposta ao coração, a hipertrofia pode ser classificada em fisiológica ou

patológica, sendo os mecanismos envolvidos em cada uma destas bastante diferentes (Richey & Brown, 1998; Gupta et al., 2007) (FIGURA 4).



A hipertrofia fisiológica é uma resposta adaptativa benéfica ao sistema cardiovascular, geralmente em resposta à gravidez ou ao treinamento físico (neste último caso, também conhecida como coração de atleta), não resultando em dano cardíaco (Gupta et al., 2007). Esta adaptação resulta em redução das frequências cardíacas de repouso e submáxima, aumentando o tempo de enchimento ventricular e retorno venoso. Estas adaptações auxiliam o miocárdio a satisfazer a aumentada demanda metabólica (Iemitsu et al., 2001; Iemitsu et al., 2003). O padrão da hipertrofia fisiológica varia segundo alguns estudos, de acordo com a modalidade esportiva praticada; no entanto, a progressão da

hipertrofia no coração de atleta não causa insuficiência cardíaca (Iemitsu et al., 2003).

A hipertrofia patológica é uma adaptação não compensada do coração em resposta ao aumento do trabalho cardíaco sob diferentes circunstâncias, tais como sobrecarga de pressão ou de volume. As principais causas de hipertrofia patológica são a hipertensão, polimorfismos genéticos, e a perda de miócitos seguida de dano isquêmico. O metabolismo cardíaco alterado também age como importante componente para o estabelecimento da hipertrofia (Rajabi et al., 2007). Apesar do aumento do tamanho do coração ser inicialmente um mecanismo compensatório, a hipertrofia patológica sustentada pode acarretar em um declínio da função ventricular esquerda, representando um fator de risco independente para a insuficiência cardíaca (Levy et al., 1990).

FIGURA 4 – Diferenças existentes nos padrões de hipertrofia cardíaca. VD = ventrículo direito; VE = ventrículo esquerdo.

A causa mais comum de hipertrofia ventricular esquerda é o aumento de pressão arterial. A sobrecarga no bombeamento cardíaco contra a pressão aumentada causa o aumento da espessura da parede ventricular com o tempo. As causas vinculadas à dilatação cardíaca são condições que danificam diretamente o músculo cardíaco, tal como inflamação, promovendo afinamento da parede ventricular, sendo amplamente associado à insuficiência cardíaca, o que acompanha os aumentos sustentados da PA (Gupta et al., 2007).

1.3.1 Ratos Espontaneamente Hipertensos como Modelo Experimental

Os SHR são um modelo adequado para estudos não só da hipertensão, mas também para análise da progressão da hipertrofia cardíaca patológica. Esse modelo apresenta similaridades com a hipertensão essencial humana, apresentando um período pré-hipertensivo, uma fase de desenvolvimento da hipertensão, e de hipertensão sustentada (Bell et al., 2004).

A hipertensão essencial em humanos está associada ao aumento da atividade nervosa simpática (Egan, 1989; Esler & Kaye, 2000; Grassi, 2004). A hiperatividade simpática parece ser o fator causal para o estabelecimento da hipertensão, uma vez que este aumento de atividade é observado no período prévio ao estabelecimento da patologia (Grassi, 2004). Como citado previamente, apesar de a disfunção endotelial contribuir para o desenvolvimento da hipertensão ou ser causada por ela, cabe a observar que ela é uma importante consequência do alterado fluxo ao longo dos vasos pelo aumento da atividade nervosa simpática.

Nos animais SHR, a atividade nervosa simpática está também elevada, mesmo antes do estabelecimento da hipertensão. Dessa forma, parece que o sistema nervoso simpático desempenha um papel fundamental na hipertensão tanto em humanos quanto em modelos animais. Estudos em SHR mostram que existe um aumento na expressão de alguns genes que desencadeiam uma resposta inflamatória local através da ativação de citocinas. Este processo acarreta redução do aporte de oxigênio do núcleo do trato solitário (NTS) e de

locais como a região rostral ventro-lateral bulbar (RVLM), área encefálica altamente responsiva a hipóxia e que participa intensamente no controle barorreflexo e da pressão arterial. Uma vez estabelecido este processo inflamatório, a adesão de leucócitos nos capilares reduz o fluxo local levando a hipóxia, o que ativa o RVLM; a ativação deste núcleo aumenta a atividade simpática para assegurar o fluxo sanguíneo adequado. Se o estímulo for mantido, ocorre o aumento da pressão arterial e, conseqüentemente, o estabelecimento da hipertensão (Waki et al., 2008).

1.3.2 Remodelamento Cardíaco e Exercício Físico

O remodelamento cardíaco nos ratos SHR é caracterizado por eliminação massiva de cardiomiócitos, hipertrofia severa e aumento do volume do tecido conectivo (Lushnikova & Nepomnyashchikh, 2003). Essas alterações contribuem para o comprometimento da função ventricular.

A apoptose também apresenta um importante papel na insuficiência cardíaca. A intensa apoptose dos cardiomiócitos no miocárdio hipertrófico dos ratos SHR serve como um marcador da descompensação e desenvolvimento da insuficiência cardíaca, sendo o principal regulador do número de células durante o processo de remodelamento do coração (Lushnikova & Nepomnyashchikh, 2003).

Dessa forma, existem diferenças nas propriedades cardíacas oriundas dos padrões de hipertrofia patológica e fisiológica. O exercício é caracterizado

como uma atividade física geralmente regular, feito com o intuito de aprimorar ou manter a aptidão física ou a saúde. Da mesma forma, é comumente associado à melhora da capacidade aeróbica, função cardíaca e endotelial, reduzindo a morbidade e mortalidade cardiovascular (Kemi et al., 2004).

Durante um exercício, estima-se um crescimento de aproximadamente 10 a 15 vezes no consumo de oxigênio pelo corpo (Navare & Thompson, 2003). O consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) está diretamente relacionado à função cardiovascular, onde algumas alterações na morfologia e funcionalidade do miocárdio se apresentam em paralelo às observadas no VO_2 máx, quando o exercício é imposto ou cessado. O exercício físico regular leva a um importante aumento do VO_2 máx e conseqüente adaptação aeróbica, estando relacionado às alterações na capacidade contrátil dos cardiomiócitos, fluxo de íons cálcio (Ca^{2+}) e função endotelial arterial (Kemi et al., 2004).

Durante a adaptação a um exercício regular, o coração enfrenta um aumento na demanda metabólica dos tecidos periféricos, o que resulta na necessidade de incrementar o débito cardíaco para o transporte adequado do oxigênio correspondente ao seu consumo. Neste caso, o aumento do débito cardíaco - em decorrência do aumento do volume sistólico - é resultante da hipertrofia fisiológica e alterações na função do miocárdio em resposta ao exercício (Kemi et al., 2004). Da mesma forma, o aumento na concentração de hemoglobina no sangue e da rede capilar, promovido em resposta ao exercício, apresenta importante papel na distribuição do oxigênio para os tecidos durante

atividade física (Evans, 1985), contribuindo para a melhoria da oxigenação celular.

Estudo mostra que atletas submetidos a um regime específico de treinamento obtiveram, além de maior VO_2 máx, maior espessura da parede do ventrículo esquerdo e massa (hipertrofia do músculo cardíaco), assim como maior volume e diâmetro diastólico final, em relação a indivíduos sedentários submetidos ao mesmo regime de treinamento (Giada et al., 1998). Outro estudo demonstrou que o treinamento físico em indivíduos previamente sedentários promoveu aumento no diâmetro diastólico interno do ventrículo esquerdo, enquanto não houve alterações na espessura da parede da câmara em resposta ao exercício (Dart et al., 1992).

Em indivíduos saudáveis, o exercício físico regular também é capaz de proporcionar decréscimo na PA sistólica e diastólica basal, assim como na frequência cardíaca de repouso (Dart et al., 1992; Zanettini et al., 1997).

Kemi e colaboradores (2004) sugerem que a alteração da função endotelial em resposta ao exercício crônico, como o incremento da vasodilatação induzida pela acetilcolina (Ach), apresenta-se de forma mais rápida que as alterações na morfologia e funcionalidade do cardiomiócito. No entanto, o estudo sugere que, apesar de ambas alterações se correlacionarem positivamente com o incremento do VO_2 máx, a relação temporal de hipertrofia do cardiomiócito e melhora da sua contratilidade e do consumo máximo de oxigênio indicam que os mecanismos celulares do miocárdio devem ser mais determinantes para o aumento da capacidade aeróbica.

A atividade física regular atenua ou retarda os efeitos de diversas doenças crônicas sobre o organismo, incluindo a hipertensão e a insuficiência cardíaca (Lee et al., 2006). Os mecanismos pelos quais o exercício atenua os efeitos da hipertensão e insuficiência cardíaca podem estar em parte relacionados à supressão da apoptose e hipertrofia patológica, prevenindo o remodelamento cardíaco. No entanto, poucos estudos demonstram o efeito do destreinoamento sobre o sistema cardiovascular.

1.4 Destreinoamento

Conceitualmente, o destreinoamento é a perda parcial ou total das adaptações induzidas pelo exercício. Pode ser caracterizado de acordo com o tempo de interrupção do treinamento, podendo ser de curto prazo, menos de quatro semanas de redução/ausência do treinamento; ou de longo prazo, mais de quatro semanas de redução/ausência do treinamento (Mujika & Padilla, 2000a). O destreinoamento promove redução nas performances máximas e submáximas de exercício, estando estas alterações possivelmente relacionadas ao declínio da função cardiovascular e potencial metabólico da musculatura esquelética (Neufer, 1989).

Em curto prazo, o destreinoamento promove declínio do VO_2 máx e do volume de sangue, causando conseqüente redução do volume sistólico. A frequência cardíaca aumenta insuficientemente na tentativa de equilibrar o volume sistólico diminuído, promovendo diminuição do débito cardíaco. Essas

alterações variam de acordo com período de treinamento imposto previamente, sendo mais tênues em indivíduos recém treinados (Mujika & Padilla, 2000a).

O VO_2 máx diminui progressivamente uma vez que o destreino perde por mais de quatro semanas, em consequência da redução do volume de sangue e dimensões cardíacas. Essas alterações promovem decréscimo ainda maior do volume sistólico e débito cardíaco, apesar do aumento da frequência cardíaca (Mujika & Padilla, 2000b). A redução do débito cardíaco em resposta ao destreino pode estar relacionada, além da redução do volume sanguíneo, a alterações na hipertrofia cardíaca, conteúdo total de hemoglobina, rede capilar da musculatura esquelética e controle da temperatura corporal (Neufer, 1989).

É importante ressaltar que as possíveis alterações promovidas pelo destreino estejam relacionadas tanto à diminuição da intensidade do estímulo durante o treinamento como à sua supressão. Grande parte dos estudos objetiva a avaliação dos efeitos da supressão do exercício físico após um período de treinamento.

Giada e colaboradores (1998), ao avaliarem o efeito do destreino em atletas de diferentes faixas etárias, observaram redução na espessura da parede do ventrículo esquerdo nos atletas jovens, enquanto nos mais velhos o destreino promoveu redução na massa do ventrículo esquerdo e diâmetro e volume diastólico final. Outro estudo demonstrou que o período de 21 dias de destreino após 10 semanas de natação foi suficiente para reduzir por completo a hipertrofia cardíaca em resposta ao exercício em ratos (Craig et al.,

1991). Em ambos estudos, o protocolo de destreinoamento utilizado fora o de ausência de estímulos por um período determinado.

No destreinoamento, o decréscimo da $VO_{2máx}$ correlaciona-se positivamente com a regressão da hipertrofia celular, assim como com a capacidade contrátil do cardiomiócito. Após 13 semanas de treinamento em esteira ergométrica, houve regresso completo do diâmetro do cardiomiócito em 2 semanas de destreinoamento, enquanto o comprimento manteve-se dentro das 4 semanas pós-treinamento (Kemi et al., 2004).

Conforme observado, as alterações decorrentes do destreinoamento previamente citadas estão relacionadas a indivíduos normotensos, onde o efeito da ausência de exercício por um período determinado se caracteriza exclusivamente na regressão da hipertrofia fisiológica conseqüente do treinamento realizado. No entanto, é escassa a bibliografia que se refere aos efeitos do destreinoamento na hipertrofia patológica, como a que ocorre na hipertensão sustentada.

Neste estudo, pretendemos avaliar os efeitos do destreinoamento sobre a função cardiovascular na hipertrofia patológica, um modelo experimental que se assemelha à hipertensão essencial em humanos. Pesquisando a literatura, observamos que são escassos os estudos que demonstram o efeito do destreinoamento em seres humanos ou animais hipertensos. Dessa forma, neste estudo foi utilizado um protocolo de destreinoamento físico posterior a um regime de treinamento de moderada intensidade em SHR, modelo experimental suscetível à progressão da hipertrofia patológica em decorrência da hipertensão.



HIPÓTESE

2 HIPÓTESE

H_0 : O destreino não promove atenuação das adaptações decorrentes do treinamento físico de moderada intensidade na função cardiovascular e sensibilidade barorreflexa em animais SHR.

H_1 : O destreino promove atenuação das adaptações decorrentes do treinamento físico de moderada intensidade na função cardiovascular e sensibilidade barorreflexa em animais SHR.



OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do destreinamento nos parâmetros hemodinâmicos, na sensibilidade barorreflexa e no estresse oxidativo em animais SHR previamente sedentários.

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar em animais SHR, após treinamento físico de moderada intensidade e destreinamento:

- Os parâmetros hemodinâmicos no repouso – pressão arterial média (PAM), PAS (pressão arterial sistólica), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC).
- As alterações de pressão intracardíaca, *in vivo* - pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE), pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE);
- A sensibilidade barorreflexa;
- O estresse oxidativo cardíaco e sanguíneo;
- A atividade antioxidante cardíaca e sanguínea;
- As alterações na massa do coração;

- A relação do estresse oxidativo com os parâmetros hemodinâmicos, bem como com a pressão ventricular esquerda e com o índice de hipertrofia cardíaca;
- A relação da sensibilidade barorreflexa e dos receptores cardiopulmonares com o estresse oxidativo.



**MATERIAIS E
MÉTODOS**

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O estudo foi desenvolvido de acordo com a Lei 6638, de 08 de maio de 1979, que estabelece normas para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de animais; dos Princípios Éticos na Experimentação Animal, formulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal; assim como àquelas contidas nos Princípios Internacionais Orientadores para a pesquisa Biomédica envolvendo Animais provenientes do Council for International Organizations of Medical Science (CIOMS) (Goldim, 1997).

4.2 CÁLCULO DE TAMANHO AMOSTRAL

O tamanho da amostra foi calculado a priori. Para o cálculo do tamanho amostral foi utilizado o programa SigmaPlot versão 11.0, considerando-se um $\alpha=0,05$ e poder estatístico de 80% ($\beta=0,20$).

4.3 AMOSTRA

Foram utilizados 21 ratos machos espontaneamente hipertensos (SHR), com 20 semanas de idade e pesando entre 350 e 400 gramas, provenientes do

Biotério da Universidade de São Paulo e da Fundação Universitária de Cardiologia do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais, agrupados em caixas plásticas com medidas de 270 x 260 x 310 mm, cinco animais por caixa. Durante todo o tratamento os animais foram mantidos em condições padrão, temperatura média de 22°C e controle claro/escuro 12/12h com acesso à água e ração (Guabi – Indústria de Alimentos Alisul Ltda).

4.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram estabelecidos três grupos experimentais: grupo controle, grupo treinado e grupo destreinado.

- I. *controle*: ratos SHR sedentários (n=7).
- II. *treinado*: ratos SHR submetidos ao treinamento (n=7).
- III. *destreinado*: ratos SHR submetidos ao período de destreinamento posteriormente a um período de treinamento físico (n=7).

4.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.5.1 Protocolo de Treinamento Físico

A adaptação ao exercício em esteira ergométrica iniciou na 19ª semana de vida dos animais SHR, em todos os grupos estudados. Na 20ª semana foi

iniciado o protocolo de treinamento físico nos grupos treinado e destreinado. A velocidade na esteira ergométrica utilizada em nosso estudo, relativa a intensidade moderada, foi determinada baseado em protocolos instituídos previamente em nosso laboratório (Bertagnolli et al., 2006), onde fora avaliada a cinética do lactato durante teste de esforço máximo (TEM) em animais SHR. Este teste foi elaborado baseado no protocolo de (Pilis et al., 1993).

Os animais foram submetidos a um protocolo de exercício físico de 1 hora diária, 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 aumentou gradativamente, iniciando em 15 minutos e evoluindo até 1 hora diária, onde se atingiu a velocidade prescrita para moderada intensidade de exercício.

O protocolo diário de exercício seguiu um padrão escalonado (Figura 5), 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 (Gava et al., 1995).

Os animais do grupo controle foram colocados na esteira com a mesma desligada, durante 10 minutos, para mimetizar os efeitos de manipulação na qual os animais dos outros grupos foram submetidos, durante 10 semanas, a partir da 20ª semana de vida.

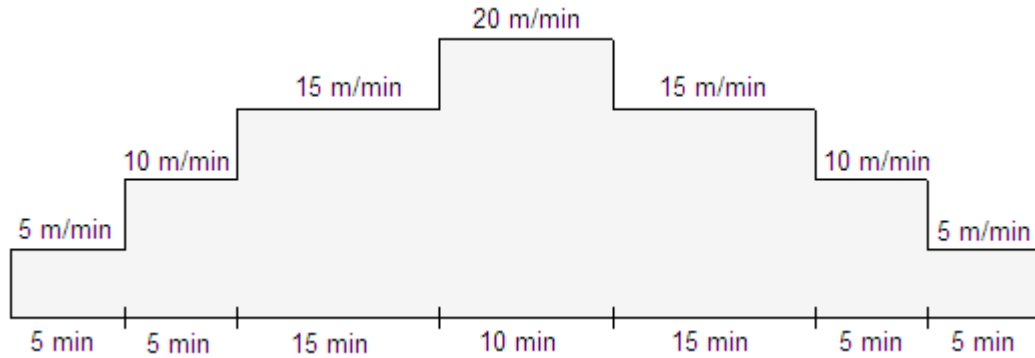


Figura 5 - Protocolo diário de exercício escalonado de moderada intensidade (20 m/min) com duração de 1 hora.

4.5.2 Protocolo de Destreinamento

Após o período de treinamento, os animais do grupo destreinado foram submetidos a um período de 4 semanas de destreinamento. O destreinamento iniciou no dia seguinte ao término do protocolo de exercício. Este período de destreinamento compreendeu a ausência de estímulos físicos como o exercício, sendo estes animais manipulados apenas para limpeza das caixas e reposição de ração e água.

4.6 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

4.6.1 Cateterização Femoral

Vinte e quatro horas após o período de treinamento (10 semanas), os animais dos grupos controle e treinado foram cateterizados para a realização das medidas hemodinâmicas; o mesmo ocorreu 24h após o término do período

de destreinamento (4 semanas) para o grupo destreinado. A canulação arterial foi realizada 24h antes da avaliação de pressão arterial em repouso e análise da sensibilidade barorreflexa. Os animais foram pesados em balança Marte no dia da cateterização femoral.

As análises hemodinâmicas no repouso foram realizadas após a cateterização da artéria e veia femorais. Para a realização da cateterização femoral, os animais foram anestesiados com Quetamina (100mg/kg) e Xilazina (20mg/kg). Os cateteres, confeccionados em tubos tygon PE-50 (diâmetro interno de 0,05 mm) e conectados a tubos de polietileno PE-10 (diâmetro interno de 0,01 mm) com aproximadamente 4 cm (Clay Adams, USA) foram posicionados no interior da aorta abdominal e da veia cava inferior, sendo estas acessadas através da artéria e veia femorais, respectivamente. Para registrar a pressão arterial, frequência cardíaca e para administração de drogas, os cateteres foram exteriorizados na região cervical (dorsalmente). As cânulas foram preenchidas com soro fisiológico 0,9% e heparina sódica (Liquemine – Roche, 5000 U), na proporção de 0,5 mL para 0,02 mL, respectivamente.

Através de uma incisão na região inguinal direita, as extremidades das cânulas foram introduzidas na artéria e veia femoral, para obtenção dos registros de PA e FC 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 receberam água e ração *ad libitum*.

4.7 AVALIAÇÕES HEMODINÂMICAS

4.7.1 Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca

Vinte e quatro horas após a canulação, estando o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50) que permitia livre movimentação do animal pela caixa durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético de registro de pressão (P23Db, Gould-Statham, Oxford, CA, USA) acoplado a um pré-amplificador de sinais (Hewlett Packard 8805C) que se encontrava ligado por um seletor de canais à placa analógico-digital CODAS (AT/MCA CODAS – DATAQ Instruments, Inc., Ohio, USA) em computador 486 (66MHz e 8Mb RAM), o que permitiu a análise dos pulsos da pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 2KHz por canal, para a mensuração dos valores de PAS, PAD e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA.

4.7.2 Geração dos Dados a partir dos Registros

O programa utilizado (WINDAQ – CODAS) permitiu trabalhar diretamente com a onda de pulso, que foi vista na tela do computador, enquanto os dados eram gravados em disco rígido. Neste programa, executou-se cálculos a partir de valores obtidos, gerando-se uma planilha (MICROSOFT EXCEL 5.0) com valores de pico (sístole), vale (diástole) e período entre picos, para cada onda de

pulso. Assim, foi possível trabalhar com valores de PAS, PAD, PAM e período de cada pulso de pressão. A partir do período entre um pico e outro, calculou-se os valores de FC para cada batimento, através do inverso do período multiplicado por 60 segundos.

4.7.3 Avaliação da Sensibilidade Reflexa

4.7.3.1 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 utilizado 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 cíclico (GMPc) 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 dose única de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (8 μ g). O volume

injetado foi de 0,1 mL, sendo observado um intervalo mínimo entre injeções para que a pressão arterial e frequência cardíaca retornem aos valores basais de repouso. Os picos - máximos e mínimos - da pressão arterial média foram registrados após cada dose de fenilefrina (ou nitroprussiato); para cada dose de droga injetada, a variação máxima ou mínima da frequência cardíaca - observada na variação de 40 mmHg a partir do valor de PA de repouso - foi comparada com os valores de frequência 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 frequência 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 frequência cardíaca a resposta reflexa decorrente deste estímulo.

4.7.3.2 Cardiopulmonar

Assim que os valores de pressão arterial e frequência cardíaca mais uma vez retornaram aos seus valores basais, foi dado início às injeções endovenosas (1; 4; 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de serotonina.

A serotonina estimula receptores cardiopulmonares do tipo 5HT-3 que possuem aferências vagais mielinizadas quimiossensíveis, desencadeando o

reflexo de Bezold-Jarisch. O reflexo de Bezold-Jarisch envolve uma diminuição do tônus simpático nos vasos de resistência e ativação das aferências vagais sobre o marcapasso cardíaco. Como resultado, ocorre queda simultânea da pressão arterial e frequência cardíaca. Para cada injeção da droga, as variações de pressão e frequência mínimas foram registradas por um período de dez segundos antes e quinze segundos após a injeção da droga. Esses valores foram comparados aos valores basais imediatamente antes das injeções, para posterior quantificação das respostas. As doses subseqüentes só foram administradas após o retorno dos parâmetros cardiovasculares 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.

4.7.4 Cateterização Intraventricular

Um segundo cateter de polietileno P-50 foi utilizado para a canulação do ventrículo esquerdo via artéria carótida direita, 24h após a avaliação da sensibilidade barorreflexa e dos receptores cardiopulmonares. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, ip); o cateter foi inserido até o ventrículo esquerdo.

4.7.4.1 Registro das Pressões Ventriculares Esquerdas

Antes da colocação do cateter P-50 no ventrículo, a pressão arterial foi registrada durante 5 minutos através da conexão da cânula arterial na carótida a um transdutor de pressão (Strain-Gauge - Narco Biosystem Miniature Pulse Transducer RP-155, Houston, Texas, USA) ligado a um amplificador de sinais (Pressure Amplifier HP 8805C). Logo após este registro, a cânula foi posicionada no ventrículo esquerdo e após 5 minutos de estabilização, a pressão ventricular sistólica esquerda e a pressão do final da diástole ventricular esquerda foram registradas. Os sinais analógicos da pressão foram digitalizados (CODAS - Data Acquisition System, PC 486) com taxa de amostragem de 2000 Hz.

4.8 COLETA DOS TECIDOS

O sangue foi coletado através da cânula P-50 introduzida na artéria carótida dos animais após a realização das medidas de pressão intraventricular. Após o término dos registros intraventriculares, os animais (ainda anestesiados) foram mortos por deslocamento cervical. Foram coletados o músculo cardíaco (lavado posteriormente em KCl 1,15%, conforme descrito em "*MÉTODO DE HOMOGENEIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO*"), músculo sóleo (lavado em soro fisiológico 0,9%), fígado e pulmões.

4.8.1 Índice de Congestão Pulmonar e Hepática

Os pulmões e os fígados foram pesados imediatamente após a coleta, sendo posteriormente secados em estufa (150°C) por uma semana. Após o término deste período, os tecidos ressecados eram novamente pesados, onde através dos dados coletados avaliou-se a relação entre o peso úmido/peso seco de cada tecido para análise do índice de congestão pulmonar e hepática.

4.8.2 Índice de Hipertrofia Cardíaca

Imediatamente após a medida das pressões intraventriculares, o coração foi pesado. A relação entre o peso do coração/peso corporal (índice de hipertrofia), foi expressa em miligramas do coração/gramas de peso corporal. Essa relação é aceita pela literatura como uma medida adequada de hipertrofia cardíaca no rato (Kawagushi et al., 1997).

As carcaças foram encaminhadas ao biotério com presteza para armazenamento apropriado até a coleta pelo setor de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Porto Alegre.

4.9 PREPARO DO SANGUE

Após a coleta, o sangue foi centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm em centrífuga refrigerada (Sorvall RC 5B – Rotor SM 24), o plasma foi retirado e

congelado em freezer a -80°C para as posteriores dosagens de estresse oxidativo. Os eritrócitos foram lavados com soro fisiológico 0,9%, novamente centrifugados e aliquotados. Uma parte foi ressuspensa em soro para medida de lipoperoxidação; ao restante, foi adicionada uma solução de ácido acético 1 mM e sulfato de magnésio 4 mM, e as amostras foram congeladas em freezer a -80°C para posteriores dosagens das enzimas antioxidantes.

4.10 MÉTODO DE HOMOGENEIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO

Depois de realizada a cateterização intraventricular, o coração foi lavado por três vezes em solução de cloreto de potássio (KCl) 1,15%. Para cada grama de tecido, foram acrescentados 5 mL de KCl 1,15%. Foi acrescentado 10 μL de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) 100 mM para cada 1 mL do homogeneizado. O PMSF é um inibidor de proteases e foi utilizado para que não houvesse degradação das enzimas cuja atividade foi medida. Após, foram colocados em tubo onde foram homogeneizados em Ultra-Turrax por 40 segundos e centrifugados em centrífuga refrigerada (Sorvall RC 5B - Rotor SM 24) por 20 minutos ($0-4^{\circ}\text{C}$) a 3.000 rpm. Após o homogeneizado foi aliquotado e acondicionado em *freezer* -80°C para posterior análise bioquímica.

4.11 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.11.1 Dosagem de Proteínas

As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry e colaboradores (Lowry et al., 1951), que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/mL. 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:

- NaHCO_3 (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%.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro, com o comprimento de onda de 625 nm. A concentração de proteínas foi expressa em mg de proteína.

4.11.2 Dosagem de Hemoglobina

A medida da concentração de hemoglobina foi realizada de acordo com o método de cianometahemoglobina. Esse método baseia-se na oxidação do ferro da hemoglobina pelo ferricianeto de potássio em pH fracamente alcalino (7,7-

8,0). Forma-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 $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,9mM) e 20 mL 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.

4.11.3 Atividade da Enzima Citrato Sintase

Os músculos sóleos foram homogeneizados durante 40 segundos em Ultra-Turrax, com tampão PBS (NaCl 136,8 mmol/L; KCl 2,7 mmol/L; KH_2PO_4 0,9 mmol/L; Na_2HPO_4 6,4 mmol/L, pH 7,4) na proporção 100 mg/1 mL mais PMSF. Após, o homogeneizado foi centrifugado por 15 minutos a 3000 rpm em centrífuga refrigerada a 4°C. O sobrenadante foi, então, retirado e congelado em freezer -80°C para as posteriores dosagens.

A enzima citrato sintase é utilizada como um marcador da capacidade aeróbica do tecido avaliado, sendo também um indicador de adaptação ao treinamento físico. Sua atividade foi determinada utilizando a metodologia descrita por Alp e colaboradores (Alp et al., 1976). A atividade enzimática foi avaliada a partir da quantificação do complexo formado entre a CoA (coenzima A) liberada com o DTNB do meio. O tampão utilizado consiste em tris-aminometano 50 mmol/L, EDTA 1mmol/L, DTNB 0,2 mmol/L, oxaloacetato 0,5 mmol/L e Triton X-100 0,05% (v/v), ao qual é adicionado 10 mL do

homogeneizado. O volume total do ensaio é de 1 mL e o pH 8,1. A reação é iniciada pela adição de oxaloacetato ao meio de incubação e a cinética da reação se realiza a 25°C, por um intervalo de 10 minutos. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 412 nm.

4.11.4 Quimiluminescência iniciada por t-BOOH

O método consiste em adicionar um hidroperóxido orgânico de origem sintética (o hidroperóxido de tert-butil – t-BOOH) à solução contendo homogeneizado cardíaco, 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 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 ensaio consistiu em adicionar 4 mL de tampão (140 mM de KCl, 20 mM de fosfatos, pH 7,4) e 0,5 mL de homogeneizado para a realização da leitura basal. Adiciona-se ao meio de reação 30 µL de t-BOOH (3 mM) e realiza-se a segunda leitura. Os resultados foram expressos em contagens por segundo (cps) por miligrama de proteína (Gonzalez Flecha et al., 1991).

4.11.5 Atividade Enzimática

4.11.5.1 Superóxido Dismutase

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 glutathione peroxidase. A técnica utilizada neste trabalho para determinação da SOD foi 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 solução tampão (Tris-base 50mM e EDTA 1mM, em pH 8,2), 4 µl de solução de catalase (30 µM), volumes adequados das soluções de SOD e 8 µL de pirogalol 24 mM (em ácido clorídrico a 10 mM), obtendo-se as concentrações desejadas. No meio de reação, foram utilizados 15 µl da amostra de glóbulos vermelhos previamente preparada (ou 10 µl de homogeneizado cardíaco), tampão Tris-base, 8 µl de

pirogalol (24mM) e 4 µl de catalase (30µM). A variação na absorbância foi acompanhada a 420 nm durante 2 minutos e os resultados expressos em U/mg de proteína.

4.11.5.2 Catalase

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

O ensaio consiste em medir a diminuição da absorbância ao comprimento de onda de 240nm. Para a realização das medidas, foram usados solução tampão de fosfatos de sódio a 50 mM em pH 7,4 e peróxido de hidrogênio 0,3M. Foram adicionados 955 µl deste tampão e 10 µl de amostra na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados 35 µl de peróxido de hidrogênio, onde se avaliou a diminuição da absorbância durante dois minutos no comprimento de onda selecionado. Os resultados foram expressos em pmoles/mg de proteína (Boveris & Chance, 1973).

4.11.5.3 Glutationa Peroxidase

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 1mL da solução de Drabkin e realizou-se a leitura a um comprimento de onda de 546nm. 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 peroxidante da hemoglobina.

Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathiona reduzida (GSH) para formar glutathiona 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, adiciona-se 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 glutathiona redutase (GR) 0,25 U/mL. A absorbância foi registrada por um período de 1 min a 340 nm para obtenção da linha de base. Após esse momento, adicionou-se 50 μ l de hidroperóxido de tert-butila (0,5 mM), e a diminuição da absorbância, devido ao consumo de NADPH, foi monitorada por aproximadamente 5 min. Os

resultados foram expressos em nmoles/min/mg de proteína (Flohe & Gunzler, 1984).

4.12 ANÁLISES ESTATÍSTICA

Após a determinação de todos os parâmetros relacionados anteriormente, foram calculadas as médias \pm desvios padrões para cada grupo. Foi utilizado o teste de Bartlett, para avaliar o comportamento paramétrico ou não-paramétrico dos dados. A avaliação da normalidade (distribuição Gaussiana) foi realizada através do método de Kolmogorov-Smirnov. Uma vez que os dados tenham passado pelos dois testes, a comparação entre dados paramétricos foi feita através da ANOVA (análise de variância) de uma via, com o teste complementar de Student Newman Keuls.

A significância estatística foi definida como um $p < 0,05$.



RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A ATIVIDADE DA CITRATO CINTASE NO MÚSCULO SÓLEO

O exercício físico promoveu um incremento ($p < 0,05$) na atividade da enzima citrato sintase no músculo sóleo no grupo treinado ($57,7 \pm 4,8$; $n=7$) em relação ao grupo controle ($47,6 \pm 8,6$; $n=7$). Ainda assim, a atividade da enzima permaneceu significativamente maior em relação ao grupo controle nos animais destreinados ($54,7 \pm 3,2$; $n=7$) (FIGURA 6).

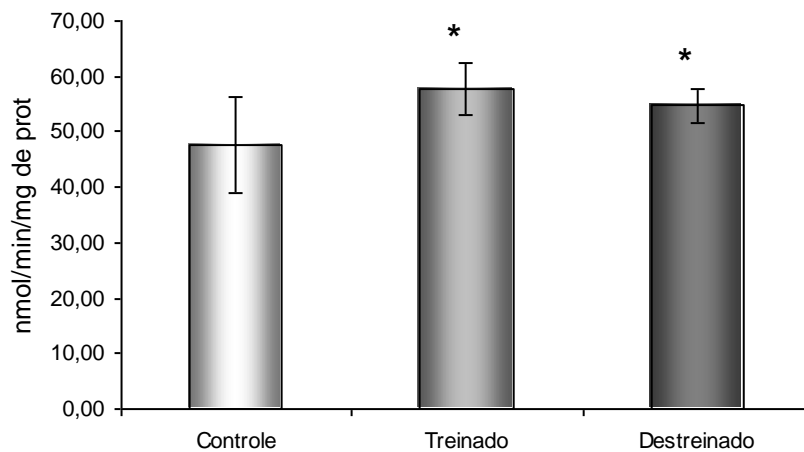


FIGURA 6 – Atividade da enzima citrato sintase no músculo sóleo dos grupos estudados. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

5.2 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E A FREQUÊNCIA CARDÍACA

5.2.1 Pressão Arterial Média

O exercício provocou uma redução significativa ($p < 0,01$) da PAM (mmHg) no grupo treinado ($141,7 \pm 7,5$; $n=7$) em relação ao grupo controle ($155,7 \pm 2,6$; $n=7$). Mesmo após o período de destreino, a redução da PAM se manteve significativa ($p < 0,01$) no grupo destreinado ($146,0 \pm 7,2$; $n=7$) em relação ao grupo controle, não apresentando diferença em relação ao grupo treinado (FIGURA 7).

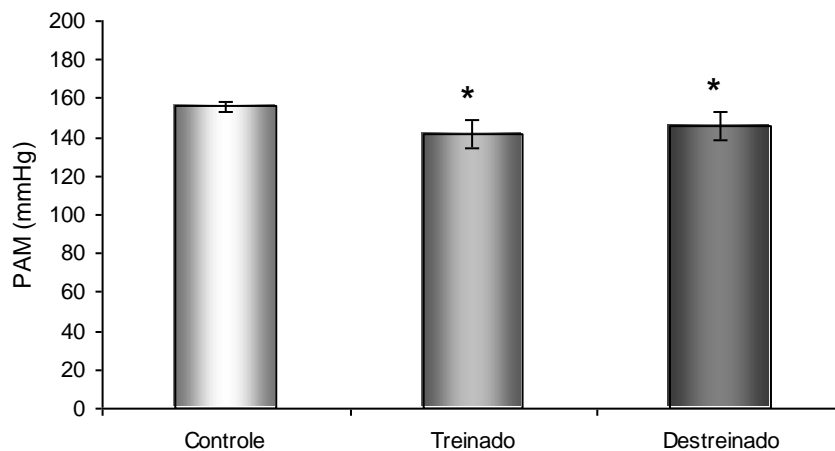


FIGURA 7 – Pressão arterial média durante registro de repouso nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

* $p < 0,01$ em relação ao grupo controle.

5.2.2 Pressão Arterial Sistólica e Diastólica

Os valores obtidos de PAS e PAD (em mmHg), durante o registro de repouso, são mostrados na TABELA 1. Foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) dos valores de PAD entre os animais treinados e controles. Para os valores de PAS, houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre os grupos treinado e destreinado em relação ao grupo controle.

TABELA 1 – Valores de PAD e PAS durante registro de repouso.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
PAD (mmHg)	125,7 ± 3,8	114,8 ± 9,2 *	118,6 ± 6,5
PAS (mmHg)	188,8 ± 4,5	170,9 ± 5,7 ‡	174,3 ± 8,9 ‡

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

‡ $p < 0,001$ em relação ao grupo controle.

5.2.3 Frequência Cardíaca

A frequência cardíaca (FC) em batimentos por minuto não apresentou diferença significativa entre os grupos controle ($323,4 \pm 30,0$; $n=7$), treinado ($321,5 \pm 18,0$; $n=7$) e destreinado ($313,1 \pm 15,6$; $n=7$) (FIGURA 8).

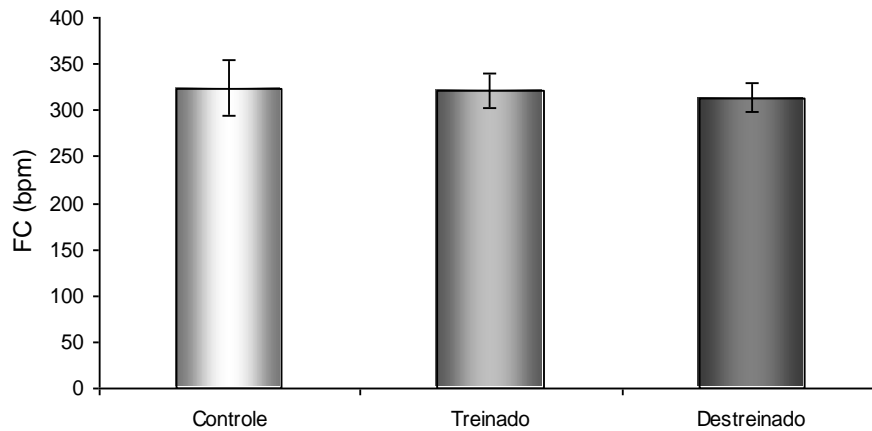


FIGURA 8 – Frequência cardíaca durante registro de repouso nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

5.3 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO PRESSORRECEPTOR ANALISADA PELO ÍNDICE DE SENSIBILIDADE

5.3.1 Taquicardia Reflexa

A resposta taquicárdica ($\Delta FC/\Delta PAM$; índice médio em bpm/mmHg), decorrentes das quedas de PAM induzidas pela injeção de dose única de nitroprussiato de sódio, apresentou-se aumentada ($p < 0,05$) nos grupos treinado ($1,0 \pm 0,2$; $n=7$) e destreinado ($1,0 \pm 0,3$; $n=7$) em relação ao grupo controle ($0,7 \pm 0,1$; $n=7$) (FIGURA 9).

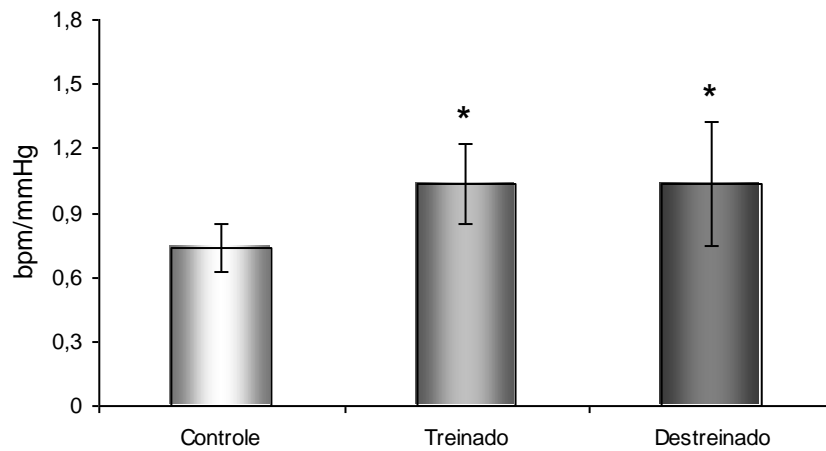


FIGURA 9 – Resposta taquicárdica decorrente da injeção de nitroprussiato de sódio nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

5.3.2 Bradicardia Reflexa

A resposta bradicárdica ($\Delta FC/\Delta PAM$; índice médio em bpm/mmHg), decorrentes do incremento de PAM induzido pela injeção de dose única de fenilefrina, apresentou-se aumentada ($p < 0,05$) nos grupos treinado ($1,7 \pm 0,4$; $n=7$) e destreinado ($1,9 \pm 0,4$; $n=7$) em relação ao grupo controle ($1,3 \pm 0,1$; $n=7$) (FIGURA 10).

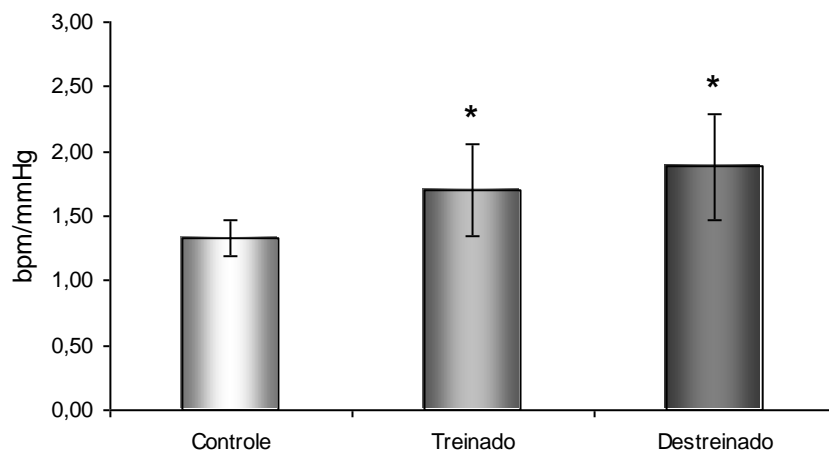


FIGURA 10 – Resposta bradicárdica decorrente da injeção de fenilefrina nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

5.4 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A SENSIBILIDADE DO REFLEXO CARDIOPULMONAR

5.4.1 Resposta Hipotensora

A queda da PAM (mmHg) induzida por doses crescentes de serotonina (respostas hipotensoras) não foi diferente entre os grupos estudados; controle ($-68,3 \pm 13,8$; $n=7$), treinado ($-81,9 \pm 13,2$; $n=7$) e destreinado ($-74,1 \pm 6,9$; $n=7$) (FIGURA 11).

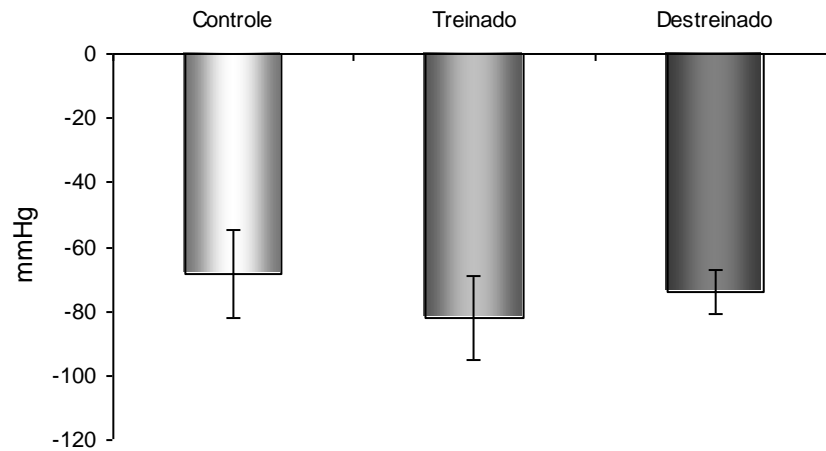


FIGURA 11 – Respostas hipotensoras decorrentes da injeção de serotonina. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

5.4.2 Resposta Bradicárdica

A resposta bradicárdia (bpm), produzida pela estimulação dos receptores cardiopulmonares pela serotonina, foi maior ($p < 0,01$) no grupo treinado ($- 275,2 \pm 15,7$; $n=7$) quando comparado tanto com o grupo controle ($- 239,7 \pm 22,9$; $n=7$). Após o período de destreino, a resposta bradicárdica foi menor ($p < 0,01$) no grupo destreinado ($- 244,9 \pm 17,6$; $n=7$) em relação ao grupo treinado (FIGURA 12).

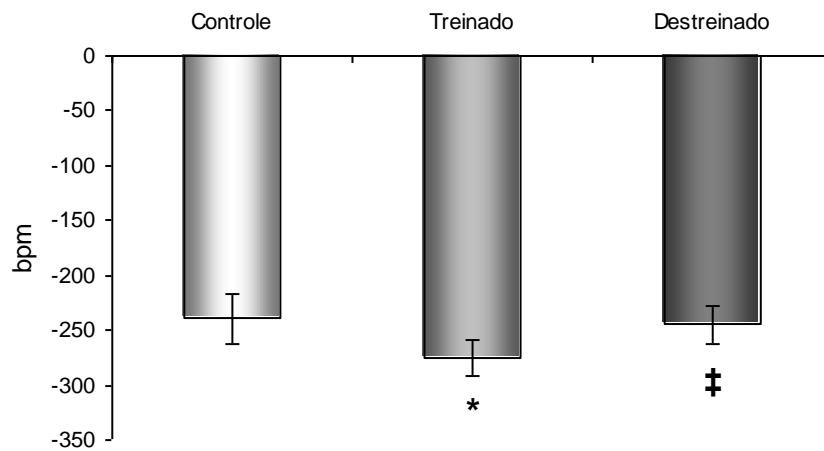


FIGURA 12 – Resposta bradicárdica produzida pela estimulação dos receptores cardiopulmonares pela serotonina. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

* $p < 0,01$ em relação ao grupo controle.

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

5.5 EFEITO DO DESTREINAMENTO SOBRE A FUNÇÃO INTRAVENTRICULAR

Na análise da pressão diastólica ventricular esquerda (PDVE) não foi observado diferença significativa entre os grupos estudados. Houve redução significativa ($p < 0,05$) da pressão sistólica ventricular esquerda (PSVE) no grupo treinado em relação ao grupo controle, enquanto que no grupo destreinado este dado apresentou-se significativamente maior que no grupo treinado ($p < 0,01$), não sendo diferente, no entanto, do grupo controle (TABELA 2).

TABELA 2 – Valores de PDVE e PSVE nos grupos estudados.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
PDVE (mmHg)	5,5 ± 0,8	5,7 ± 1,2	6,8 ± 1,4
PSVE (mmHg)	170,1 ± 8,0	144,9 ± 15,7 *	179,7 ± 24,1 ‡

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

* p<0,05 em relação ao grupo controle.

‡ p<0,01 em relação ao grupo treinado.

5.6 AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS

5.6.1 Peso Corporal

O peso corporal foi obtido no final do protocolo de exercício (grupos controle e treinado) e quatro semanas após o fim do período de exercício (grupo destreinado), quando foram iniciados os registros de pressão arterial. Não houve diferença significativa entre os grupos estudados (TABELA 3).

TABELA 3 – Peso corporal dos grupos estudados.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
Peso (g)	354,7 ± 15,0	368,0 ± 27,0	375,8 ± 9,9

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

5.6.2 Peso do Coração e Índice de Hipertrofia

O peso do coração foi maior ($p < 0,001$) nos animais treinados e destreinados em relação aos animais do grupo controle, não havendo diferença entre os dois primeiros grupos. Quando analisado o peso dos ventrículos, observou-se aumento ($p < 0,001$) nos grupos treinado e destreinado em relação ao grupo controle; na análise do peso do ventrículo esquerdo dos grupos estudados, houve aumento do peso ($p < 0,001$) no grupo treinado em relação ao grupo controle e aumento do peso ($p < 0,01$) no grupo destreinado em relação ao grupo controle. O peso do ventrículo direito não se apresentou diferente entre os grupos. Foi observado um aumento ($p < 0,001$) no índice de hipertrofia cardíaca (peso do coração/peso corporal) no grupo treinado e no destreinado em relação ao grupo controle, não havendo diferença significativa entre os grupos treinado e destreinado (TABELA 4).

TABELA 4 - Pesos do coração, dos ventrículos e índice de hipertrofia cardíaca dos grupos estudados.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
Coração (g)	1,30 ± 0,04	1,57 ± 0,11 *	1,51 ± 0,04 *
Ventrículos (g)	1,14 ± 0,04	1,33 ± 0,10 *	1,31 ± 0,07 *
Ventrículo Direito (g)	0,23 ± 0,05	0,24 ± 0,05	0,27 ± 0,04
Ventrículo Esquerdo (g)	0,91 ± 0,06	1,09 ± 0,07 *	1,04 ± 0,07 ‡
Índice (mg/g)	3,68 ± 0,07	4,26 ± 0,14 *	4,01 ± 0,14 *

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

* p<0,001 em relação ao grupo controle.

‡ p<0,01 em relação ao grupo controle.

5.6.3 Índice de Congestão Hepática e Pulmonar

Os índices de congestão hepática e pulmonar (peso úmido/peso seco) estão demonstrados na TABELA 5. O índice de congestão hepática não foi diferente nos grupos estudados, bem como o índice de congestão pulmonar.

TABELA 5 – Índices de congestão hepática e pulmonar.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
Índice Hepático	3,32 ± 0,07	3,41 ± 0,23	3,42 ± 0,26
Índice Pulmonar	3,98 ± 0,48	4,06 ± 0,30	3,99 ± 0,22

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

5.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

5.7.1 Quimiluminescência em Tecido Cardíaco

O efeito do exercício na diminuição da lipoperoxidação ($p < 0,05$) pode ser observado no coração ao se comparar a QL (cps/mg de proteína) entre os grupos treinado ($3669,6 \pm 701,0$; $n=7$) e controle ($4407,5 \pm 280,4$; $n=7$); esta redução manteve-se significativa ($p < 0,05$) no grupo destreinado ($3622,4 \pm 467,7$; $n=7$) quando comparado ao grupo controle (FIGURA 13).

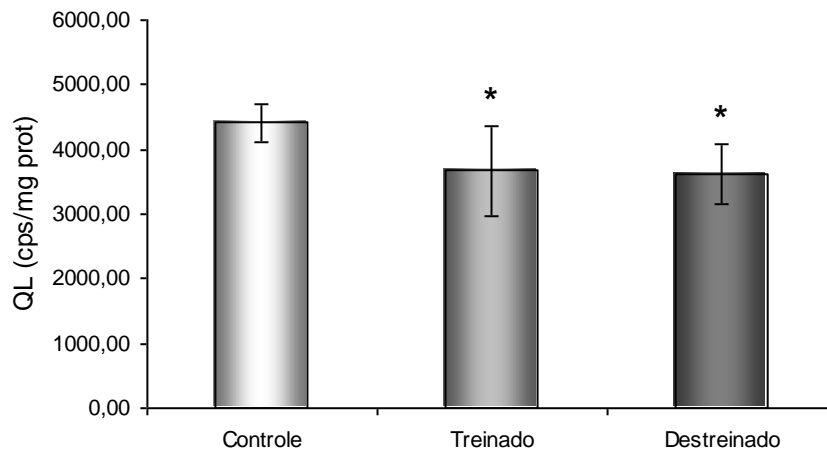


FIGURA 13 – Quimiluminescência (QL) em homogeneizado cardíaco nos grupos estudados. Os valores representam médias \pm desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

5.7.2 Atividade das Enzimas Antioxidantes em Eritrócitos

Os valores da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) são apresentados na TABELA 6.

A atividade da SOD (U/mg de proteína) nos eritrócitos não foi diferente entre os grupos estudados, bem como a atividade da GPx (nmoles/min/mg de proteína).

A atividade da CAT (pmoles/mg de proteína) nos eritrócitos aumentou significativamente ($p < 0,05$) no grupo treinado ($n=7$) em relação ao grupo controle ($n=7$), mantendo-se aumentada ($p < 0,05$) após o período de destreinamento ($n=7$) em relação ao grupo controle.

TABELA 6 – Atividade das enzimas antioxidantes, em eritrócitos, dos grupos estudados.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
SOD (U/mg prot)	12,4 ± 3,1	11,4 ± 2,7	12,0 ± 3,1
CAT (pmoles/mg de prot)	175,2 ± 39,8	245,7 ± 35,8 *	261,5 ± 75,0 *
GPx (nmoles/min/mg de prot)	357,9 ± 52,7	375,6 ± 104,6	356,0 ± 108,4

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

5.7.3 Atividade das Enzimas Antioxidantes no Coração

Atividade das enzimas SOD, CAT e GPx está apresentada na TABELA 7.

A atividade da SOD (U/mg de proteína) no coração diferiu significativamente entre os grupos estudados, apresentando aumento ($p < 0,01$) entre o grupo treinado ($n=7$) e controle ($n=7$); no entanto, após o período de destreinamento ($n=7$), a atividade da enzima foi menor ($p < 0,05$) que no grupo treinado, não sendo diferente do grupo controle.

A atividade da CAT (pmoles/mg de proteína), no coração, não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados.

A GPx teve a sua atividade no coração (nmoles/min/mg de proteína) aumentada ($p < 0,01$) após o período de treinamento ($n=7$) em relação ao grupo

controle (n=7); no grupo destreinado (n=7), a atividade da enzima teve um incremento significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo treinado e controle.

TABELA 7 – Atividade das enzimas antioxidantes, em homogeneizado cardíaco, dos grupos estudados.

	Controle (n = 7)	Treinado (n = 7)	Destreinado (n = 7)
SOD (U/mg prot)	7,3 ± 0,3	9,1 ± 1,1 *	7,7 ± 1,0 ‡
CAT (pmoles/mg de prot)	64,0 ± 3,5	58,1 ± 10,9	54,9 ± 8,0
GPx (nmoles/min/mg de prot)	89,8 ± 6,5	169,3 ± 18,3 *	169,9 ± 27,1 *

Os valores apresentados representam as médias ± desvio padrão.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

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

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O objetivo desta dissertação foi estudar os efeitos do destreino, em ratos SHR, sobre a pressão arterial e a sensibilidade barorreflexa e dos receptores cardiopulmonares, bem como avaliar o efeito deste sobre o estresse oxidativo sanguíneo e cardíaco, visando relacionar estes eventos às alterações morfofuncionais do sistema cardiovascular.

6.1 Atividade da Enzima Citrato Sintase

Observamos em nosso estudo que o exercício físico de moderada intensidade, em animais SHR, promoveu um incremento da atividade da enzima citrato sintase (CS) no músculo sóleo dos animais treinados em relação aos animais sedentários, adaptação que se manteve significativa nos animais destreinados.

A atividade da CS no músculo branco sóleo tem sido relatada na literatura como um marcador da eficiência do treinamento físico em animais SHR (Graham & Rush, 2004), onde o treinamento físico induz um aumento da atividade da enzima, conforme observado em nosso estudo. Estudo demonstrou que a atividade da enzima está aumentada em humanos submetidos ao treinamento físico; o mesmo estudo observou que, mesmo sob redução significativa do volume de treinamento físico (o que pode ser caracterizado como destreino) a capacidade oxidativa do músculo - medida através da

atividade da CS – permaneceu inalterada. Estes dados suportam os encontrados em nosso estudo, onde o destreinamento não reduziu significativamente a atividade da CS em animais SHR (Iaia et al., 2009).

6.2 Pressão Arterial e Freqüência Cardíaca

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que o exercício físico, de moderada intensidade e realizado por 10 semanas, foi capaz de reduzir os valores de PAM, PAD e PAS em ratos SHR comparados aos sedentários. O efeito do exercício físico sobre o sistema cardiovascular é amplamente discutido na literatura, tanto em modelos animais quanto em humanos. O exercício regular moderado tem sido associado à atenuação da PAM em humanos (Manfredini et al., 2008; Barone et al., 2009), bem como à redução da PAS e PAD (Hua et al., 2009). A redução dos valores de PAM após treinamento físico pode ser evidenciada através de estudos com animais SHR (Sun et al., 2008). Alguns fatores influenciam a resposta atenuadora da PA pelo exercício, dentre eles a intensidade de exercício utilizada e período de realização deste, bem como a idade na qual o animal é submetido ao protocolo de treinamento físico.

Com relação ao efeito atenuador da pressão arterial pelo exercício físico em animais SHR adultos, os estudos mostram resultados controversos, indicando diminuição significativa da PA (Felix & Michelini, 2007; Bertagnolli et al., 2008) ou a ausência deste efeito (Hong & Johnson, 1995). Uma vez observado que o exercício físico age não apenas na prevenção da hipertensão

(Bobillier Chaumont et al., 2001), mas também na redução da PA oriunda da mesma, foi importante averiguar a idade na qual os animais SHR apresentam o estabelecimento da hipertensão para, desta forma, avaliarmos o efeito de treinamento e destreinamento sobre a pressão arterial. Segundo (Bell et al., 2004), o período de evolução da PA, em animais SHR, está comprometido entre a 7^a e 16^a semana de vida, onde nesta última caracteriza-se estabelecimento da hipertensão. Em nosso estudo, optamos por iniciar o protocolo de exercício na 20^a semana, período no qual os animais SHR já se encontram com a hipertensão estabelecida.

Muitos pesquisadores buscam esclarecer os mecanismos pelos quais o exercício reduz a PA. Acredita-se que este efeito esteja associado à diminuição do débito cardíaco (DC) e/ou atenuação da resistência vascular periférica (RVP). A explicação para a provável diminuição do débito cardíaco induzida pelo treinamento físico é a demonstração da bradicardia de repouso em animais exercitados (Felix & Michelini, 2007). A bradicardia de repouso representa um marcador do treinamento físico, podendo ocorrer em função da melhora da contratilidade cardíaca (Kemi et al., 2004) e/ou pelo aumento do volume sanguíneo (Goodman et al., 2005). No entanto, nosso estudo não observou alteração significativa dos valores de FC nos grupos estudados, o que sugere que variação da PA observada nos animais treinados e destreinados deva-se a outro motivo que não a alteração do débito cardíaco.

A hipótese de que a atenuação da RVP esteja associada à redução dos valores pressóricos em animais treinados é enfatizada em estudos

demonstrando que o treinamento físico reduz os níveis de norepinefrina (Duncan et al., 1985), a atividade simpática (Cornelissen & Fagard, 2005) e a resistência periférica total em indivíduos hipertensos (Izdebska et al., 2004). A atividade física em animais SHR promoveu redução da espessura da parede e aumento da luz dos vasos de resistência, havendo ainda incremento da área de secção transversa da árvore arteriolar nos músculos exercitados, fatores que contribuem para o efeito de redução de PA observado no exercício físico neste modelo (Melo et al., 2003). Outro estudo demonstrou que a atividade física é eficiente em atenuar a hiperatividade do sistema renina-angiotensina cerebral, corroborando para a redução da PA (Felix & Michelini, 2007).

Outro fator importante que pode contribuir para a redução da resistência vascular periférica é o aumento da complacência vascular (principalmente arterial), induzida pelo exercício. Estudo observou que, quando submetidos ao treinamento físico, indivíduos normotensos apresentavam maior complacência arterial quando comparados ao início do protocolo de treinamento (Mustata et al., 2004). A melhora da complacência vascular está associada ao aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico no endotélio vascular, onde a redução da mesma apresenta relação com a disfunção endotelial. No nosso estudo, apesar de não avaliarmos a concentração dos metabólitos do óxido nítrico no plasma, aorta ou coração, o incremento da atividade da enzima catalase no grupo treinado pode estar associado à redução do estresse oxidativo e aumento das concentrações de NO, reduzindo a disfunção endotelial característica da hipertensão e promovendo incremento da complacência arterial.

O objetivo principal deste estudo é analisar o efeito do destreino sobre as adaptações cardiovasculares induzidas pelo exercício físico de moderada intensidade. Quando observamos os resultados, vemos que mesmo após o período de quatro semanas de destreino, os valores de PAM se mantiveram semelhantes aos do grupo treinado, sendo significativamente menores que os do grupo controle sedentário, bem como os resultados de PAS, que também se mantiveram menores que os do grupo controle, sem apresentar diferença em relação ao grupo treinado. No entanto, ao avaliarmos os resultados de PAD, observamos que o período de destreino preconizado em nosso trabalho foi suficiente para que as adaptações de redução desta, observadas no grupo treinado, fossem perdidas no grupo destreino. Zanettini e colaboradores (1997) demonstraram que o destreino de longa duração (oito semanas) reverteu completamente às adaptações induzidas pelo treinamento físico de moderada intensidade na PAM, PAD e PAS em indivíduos com hipertensão moderada. Outro estudo em humanos com histórico familiar de hipertensão mostrou que as adaptações de redução da PAM, PAD e PAS induzidas pelo exercício físico foram perdidas em 8 semanas de destreino (Buckworth et al., 1997).

O destreino de longa duração (maior que quatro semanas) é associado à perda das adaptações, induzidas pelo exercício, observadas na pressão arterial e frequência cardíaca; com isso, os valores de PAM que, no exercício físico, tendem a reduzir, bem como os de FC, após o destreino de longa duração, assumem seus valores elevados. O VO_2 máx diminui

progressivamente à medida que o tempo de destreino aumenta, e esta redução está associada à redução do volume sanguíneo, da concentração de hemoglobina e da capilarização periférica (Neufer, 1989), bem como a redução da hipertrofia fisiológica (Mujika & Padilla, 2000b). Estes dados poderiam elucidar a redução da PA em função da alteração do DC. Conforme discutido previamente, não observamos alteração da FC nos animais destreinados, o que favorece a idéia desta redução de PAM observada em nosso experimento estar associada à alteração da resistência vascular. Estes dados corroboram para a hipótese de que o incremento da PAM após um longo período de destreino reside no incremento da resistência vascular periférica. Estudo demonstrou em indivíduos háptidos que o treinamento físico promoveu redução da PAM e FC de repouso, enquanto houve incremento nos níveis plasmáticos dos metabólitos do NO; após oito semanas de destreino, houve reversão completa destas adaptações. De acordo com estes dados, os benefícios adquiridos com o treinamento físico, no que diz respeito a PA e FC, são revertidos por completo após período de destreino de longa duração (Wang, 2005).

Conforme relatado previamente, este estudo visou à análise do destreino de curta duração (quatro semanas) em animais SHR previamente treinados. Quando levado em consideração este curto período, poucos são os estudos que se comprometem em avaliar as alterações cardiovasculares frente ao destreino. Ainda assim, os estudos que avaliam o destreino de longa duração apresentam resultados por vezes variados.

Isso se deve ao fato da grande variação de protocolos de exercício utilizados nos experimentos (tanto no período de treinamento quanto no de descondicionamento), bem como o modelo estudado (humano ou animal) e, não menos importante, as características deste modelo.

No presente estudo, a manutenção dos valores de PAM no grupo destreinado, sendo estes semelhantes aos do grupo treinado, são elucidados por estudo de Raven (Raven et al., 1998), onde os resultados apontam para uma manutenção dos valores de PAM após oito semanas de destreinamento em humanos hígidos. Em contrapartida, um estudo em idosos hipertensos observou que o destreinamento de quatro semanas foi suficiente para que a PAM retornasse aos valores pré-condicionamento (Motoyama et al., 1998). Com relação aos dados obtidos neste estudo com relação a PAS, não foram encontrados estudos que façam referência à manutenção destes valores após o treinamento de quatro semanas. Para períodos mais extensos de destreinamento, conforme supracitado, observa-se uma regressão aos valores de pré-condicionamento físico. Em nosso trabalho, a PAD do grupo destreinado não apresentou diferença em relação aos grupos controle e treinado. O incremento nos valores de PAD observados em nosso estudo, mesmo que não significativos, pode estar associado ao incremento da resistência vascular periférica frente ao destreinamento. Discutimos anteriormente que períodos superiores a quatro semanas de destreinamento promovem redução dos níveis plasmáticos dos metabólicos de NO. Para tanto, outro estudo observou que em quatro semanas de destreinamento, o grau de rigidez arterial em pacientes

diabéticos regrediu aos valores prévios ao treinamento físico (Mustata et al., 2004), enquanto que Kemi e colaboradores (2004) demonstraram que o ganho na vasodilatação dependente do endotélio em ratos normotensos após treinamento físico foi abolido em apenas duas semanas de destreinamento. No entanto, os resultados obtidos em nosso experimento demonstram que a realização de um período de destreinamento de quatro semanas, em animais SHR, não é suficiente para promover regressão da PAM, PAS e, com menor veemência, PAD para valores prévios ao treinamento físico.

Além destas possíveis relações para elucidar o mecanismo de atenuação da PA no exercício e manutenção desta após o destreinamento, discutiremos adiante o possível efeito da modulação da atividade das enzimas antioxidantes na atenuação da resistência arterial periférica.

6.3 Avaliações Morfométricas

O exercício também está relacionado com alterações estruturais cardíacas em animais SHR. Neste estudo, não foi observada diferença no peso corporal entre os grupos estudados. No entanto, verificou-se aumento significativo do peso do coração, dos ventrículos e do ventrículo esquerdo no grupo treinado em relação ao grupo controle. Mas talvez o dado mais importante acerca das análises morfométricas reside no aumento do índice de hipertrofia cardíaca nos animais treinados em relação aos sedentários. Estes resultados são alheios aos apresentados por Iemitsu e colaboradores (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. Bertagnolli e colegas (2008) demonstraram em animais SHR que o treinamento físico reduziu a hipertrofia cardíaca; ainda assim, o mesmo estudo mostrou que a redução da hipertrofia cardíaca estava relacionada à redução do estresse oxidativo cardíaco.

Os resultados obtidos em nosso estudo são elucidados por Garcarena e colaboradores (2009), que demonstraram a eficiência do exercício físico na conversão da hipertrofia patológica para fisiológica, uma vez que mostraram que o exercício físico em animais SHR promoveu incremento do índice de hipertrofia cardíaca, ao mesmo tempo em que esta hipertrofia foi acompanhada de redução dos níveis de colágeno e de apoptose no tecido cardíaco. Outros estudos mostram um incremento da massa ventricular esquerda após o treinamento físico em indivíduos com hipertensão não tratada (Zanettini et al., 1997).

Em alguns casos, o exercício atua reduzindo 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. Apesar disto, como observado no presente estudo, o exercício pode promover incremento da hipertrofia cardíaca mesmo em um modelo em que o coração já apresenta características hipertróficas, como no modelo de hipertrofia patológica dos ratos SHR. Segundo Kemi e colaboradores (2004), o treinamento físico em animais normotensos promove incremento do volume, comprimento e diâmetro do

cardiomiócito, o que resulta em melhora da função ventricular esquerda, uma vez observada a melhora no encurtamento do cardiomiócito. Como apresentado anteriormente, diversos fatores podem estimular a hipertrofia cardíaca, o que culmina no aumento de expressão protéica e deposição de filamentos contráteis nestas células.

Ao analisarmos o efeito do destreinoamento sobre a morfologia cardíaca, observamos que todas as alterações obtidas com o treinamento se mantiveram após quatro semanas de descondicionamento físico. Estes resultados concordam com alguns estudos que observaram a manutenção da hipertrofia cardíaca após período de destreinoamento em humanos hipertensos (Zenettini et al., 1997) e em ratos normotensos (Kemi et al., 2004). Outros estudos mostram, no entanto, uma atenuação da hipertrofia fisiológica induzida pelo exercício após o destreinoamento. Ao avaliarem o efeito do destreinoamento em atletas de diferentes faixas etárias, Giada e colaboradores (1998) demonstraram que o destreinoamento induziu modificações morfológicas no ventrículo esquerdo similares nos diferentes grupos, mesmo sendo mais visíveis nos atletas mais velhos com respeito à redução do volume e massa ventricular. Segundo os autores, a redução na pré-carga parece ser a principal causa na redução da performance após o período de descondicionamento. Craig e colegas (1991) demonstraram que 21 dias de destreinoamento foram suficientes para reduzir por completo a hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício em ratos.

Outros resultados obtidos neste estudo foram os índices de congestão hepática e pulmonar. O aumento no valor destes dados está associado à

redução da função cardíaca, comumente observado na insuficiência cardíaca (Fedorov et al., 2005). Ainda assim, a formação de edemas em decorrência da insuficiência cardíaca pode estar relacionada ao aumento da pressão diastólica final e extravasamento de líquido dos vasos para o interstício (Katz, 2007). Nosso estudo não avaliou a relação da PDVE entre animais hipertensos e normotensos, o que nos impede de afirmar que estes animais não apresentavam disfunção diastólica ou aumento da congestão dos órgãos em relação a animais normotensos; no entanto, nosso estudo não observou alterações da PDVE mediante exercício e destreinamento, o que sustenta os dados observados para congestão hepática e pulmonar.

Foi observado redução significativa da PSVE nos animais treinados. Este dado sustenta aquele observado na PAS no mesmo grupo, com redução dos valores. No entanto, no grupo destreinado, os valores intraventriculares da pressão sistólica retornaram ao valor dos animais controle, o que não foi observado na PAS do mesmo grupo. É possível que a manutenção da reduzida PAM e PAS nos animais destreinados não esteja associada a fatores intrínsecos da função cardíaca, como contratilidade, por exemplo; sugere-se, através dos dados deste estudo, que a atenuação da PAM se deva, em suma, a alteração em outros mecanismos que influenciam diretamente na pressão sanguínea.

Desta forma, é possível observar que a atividade física auxilia na melhora da função cardíaca, o que pode ser observado na expressão da hipertrofia cardíaca fisiológica. Sobretudo, as adaptações na qual o coração é submetido

perduram neste mesmo após um mês de destreinamento em animais hipertensos.

A melhora da função do sistema cardiovascular induzida pelo exercício também pode envolver os mecanismos de controle reflexo da PA. Comumente se observa na hipertensão, tanto em humanos (Biaggioni, 2003), como em SHR (Bertagnolli et al., 2006), a piora do reflexo cardiopulmonar e do barorreflexo, associada com a depressão na atividade aferente dos pressorreceptores. A hipotensão induzida pelo exercício está associada à melhora da sensibilidade barorreflexa (Manabe et al., 2007). A seguir discutiremos nossos resultados que mostram o efeito do destreinamento sobre as alterações no controle barorreflexo e dos receptores cardiopulmonares induzidas pelo exercício em animais SHR.

6.4 Reflexo Pressorreceptor

A manutenção dos valores de PA em níveis adequados à perfusão dos diferentes tecidos nas mais diversas condições é um requisito básico para a sobrevivência dos mamíferos, sendo regulado por mecanismos neurohumorais complexos. O controle momento-a-momento da função cardiovascular é regulado através de mecanorreceptores arteriais especializados – os pressorreceptores – que detectam as alterações de PA e auxiliam na correção do mesmo. O reflexo desencadeado irá controlar e restabelecer os valores pressóricos através da modulação das eferências simpática e parassimpática ao sistema cardiovascular (Chapleau et al., 1995). Dados na literatura mostram que

o decréscimo da sensibilidade barorreflexa pode ser uma das causas ou conseqüências da hipertensão arterial. Alterações anatômicas e na complacência dos vasos (oriundas da disfunção endotelial) associadas à redução da atividade pressorreceptora contribuem para o desenvolvimento da hipertensão (Manabe et al., 2007). Bertagnolli e colegas (2006) demonstraram em seu estudo que a sensibilidade barorreflexa nos animais SHR sedentários estava reduzida em relação aos seus controles normotensos.

A hipertensão está relacionada ao aumento do estresse oxidativo, através de diferentes mecanismos, tanto em humanos quanto em modelos experimentais. Esta alteração do perfil oxidativo nos vasos promove redução da biodisponibilidade de NO, culminando em aumento da resistência vascular periférica e redução da complacência vascular (Ulker et al., 2003). O desenvolvimento da disfunção endotelial através do aumento do estresse oxidativo (De Craemer et al., 2001) elucidou um dos mecanismos envolvidos na alteração da complacência vascular verificada em animais hipertensos, diminuindo assim as respostas bradicárdica e taquicárdica do barorreflexo.

Nosso estudo mostrou que o exercício físico moderado promoveu uma melhora das respostas taquicárdica e bradicárdica em relação ao grupo controle. Estes dados são concordantes com os de outros estudos que mostram incremento da sensibilidade barorreflexa em animais SHR treinados (Bertagnolli et al., 2006). Um possível mecanismo envolvido na melhora da sensibilidade barorreflexa destes animais seria o aumento do estresse de cisalhamento durante o exercício, onde este promoveria aumento da liberação de fatores vasodilatadores

endoteliais (Katz, 1995), o que poderia contribuir para a melhora do controle barorreflexo. Estudos reportaram que a deformação mecânica do endotélio promovida pelo estresse de cisalhamento durante o exercício aumenta a expressão gênica da NO sintase endotelial (Awolesi et al., 1995).

Ao avaliarmos o efeito do destreinamento sobre a sensibilidade barorreflexa em animais SHR, observou-se que a melhora da sensibilidade promovida pelo exercício se manteve após as quatro semanas de descondicionamento. Nossos resultados concordam com o de outros estudos, onde foi observada a manutenção da sensibilidade barorreflexa após oito semanas de destreinamento em humanos normotensos (Buckworth et al., 1997).

Diferentes fatores podem estar associados à melhora da sensibilidade barorreflexa nos grupos estudados. Acredita-se que NO desempenhe importante papel na modulação do controle barorreflexo. Estudo mostrou que o bloqueio da produção de NO em indivíduos saudáveis promoveu redução da sensibilidade barorreflexa (Chowdhary et al., 2000). Ainda assim, o estresse de cisalhamento promovido pelo exercício favorece a liberação de fatores endoteliais e a sensibilidade do endotélio, o que auxilia na melhora da sensibilidade barorreflexa (Cameron & Dart, 1994).

O aumento no ganho de sensibilidade barorreflexa também pode ser explicado pela redução da atividade simpática. Estudos mostram que a diminuição da atividade simpática está relacionada a redução da liberação excessiva de norepinefrina em diversos tecidos (Meredith et al., 1990). Estas alterações no tônus simpático podem modificar a complacência vascular, com

consequente melhoria da descarga aferente barorreceptora em animais SHR (Seagard et al., 1987). Ainda assim, esta redução na atividade simpática favorece a redução da PA, o que pode também estar relacionado aos dados obtidos em nosso trabalho.

6.5 Reflexo Cardiopulmonar

Sabemos que a função dos barorreceptores no controle rápido da PA é imprescindível. No entanto, estudos em humanos e animais demonstram que o controle reflexo da circulação depende não apenas destes pressorreceptores, mas também dos receptores cardiopulmonares (Zanchetti & Mancia, 1991).

Os impulsos originados nos receptores cardiopulmonares, através do nervo vago, modulam a função cardíaca exercendo efeitos inotrópicos e cronotrópicos, contribuindo para o controle fisiológico da circulação (Vasquez et al., 1994). Os reflexos cardiopulmonares podem ser estimulados tanto por mudanças na pressão do coração como por agentes químicos. O reflexo quimiosensível é conhecido como reflexo de Bezold-Jarisch, caracterizado por bradicardia e hipotensão simultânea induzidas pelo aumento da atividade vagal sobre o coração (Ustinova & Schultz, 1994). Substâncias endógenas, como as prostaglandinas e a serotonina, podem estimular este reflexo (Higuchi et al., 1988).

Nosso estudo mostrou que o exercício físico promoveu aumento da resposta bradicárdica no grupo treinado em relação ao grupo controle. Ainda, as

adaptações induzidas pelo exercício foram mantidas após o período de destreinamento. No entanto, não observamos diferença significativa na resposta hipotensora induzida pela serotonina. Estas respostas são normalmente mediadas por ativação do vago e inibição do simpático (Thoren, 1979).

A alteração do reflexo de Bezold-Jarisch na hipertensão parece ser secundária ao estado hipertensivo e acompanhada por hipertrofia cardíaca. A hipertrofia cardíaca patológica reduz a distensibilidade das paredes ventriculares e atriais, o que induz a inibição dos receptores cardiopulmonares (Thoren et al., 1979). O treinamento físico em animais SHR aumenta a resposta dos receptores cardiopulmonares à ativação serotoninérgica (Silva et al., 1997).

O aumento da sensibilidade dos receptores cardiopulmonares em animais SHR submetidos ao exercício físico pode ser parcialmente explicado pela alteração estrutural do coração, considerando um aumento da densidade capilar (Crisman et al., 1985). A atividade física promoveu conversão da hipertrofia patológica em fisiológica em animais SHR; essa alteração pode ser observada através do incremento do índice de hipertrofia cardíaca, bem como redução da apoptose cardíaca e incremento da capilarização no tecido cardíaco mostrada no estudo (Garciaarena et al., 2009). De acordo com os resultados apresentados em nosso estudo, é possível que a melhora no reflexo cardiopulmonar observado nos animais treinados ocorra em função da alteração da estrutura do coração, havendo melhora da complacência ventricular e com consequente melhora da função cardíaca.

Quando avaliamos os resultados no grupo destreinado, observamos que as adaptações induzidas pelo exercício permaneceram após o período de descondicionamento. Conforme observado previamente, a hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício manteve-se após o período de destreinamento, bem como a redução da pressão arterial, o que pode elucidar, ao menos parcialmente, a manutenção do incremento da resposta bradicárdica no reflexo cardiopulmonar. Uma vez que observamos a reduzida pressão arterial, sugere-se que a elevada resistência periférica observada nos animais controle esteja reduzida, o que atenua o estresse sobre o tecido cardíaco, melhorando a sua função através da estabilização das alterações decorrentes do exercício, como redução da apoptose dos cardiomiócitos e fibrose e aumento da capilarização no miocárdio. Infelizmente, não foram encontrados estudos que abordassem o efeito do destreinamento sobre a sensibilidade dos receptores cardiopulmonares na hipertensão.

A diminuição do estresse oxidativo cardíaco e vascular – com consequente melhora da função endotelial - podem ser importantes fatores relacionados à melhora da sensibilidade do reflexo de Bezold-Jarisch (Ülker et al., 2003). Verificamos em nosso trabalho uma atenuação do estresse oxidativo cardíaco (mensurado através da lipoperoxidação no homogeneizado cardíaco) no grupo treinado em relação ao grupo sedentário, alteração que se manteve no grupo destreinado. Esse efeito do treinamento físico, associado ao seu efeito sobre a hipertrofia cardíaca, indica sua possível atuação na melhora da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar.

6.6 Estresse Oxidativo

O nosso estudo mostrou que o treinamento físico reduziu o estresse oxidativo cardíaco nos animais SHR; da mesma forma, o período de destreinamento preconizado neste trabalho não foi suficiente para regredir a lipoperoxidação cardíaca aos valores do grupo controle. Essa melhora do dano oxidativo aos lipídeos ocorreu simultaneamente ao incremento da atividade das enzimas antioxidantes cardíacas no grupo treinado, alteração que se manteve no grupo destreinado. Da mesma forma, o exercício físico de moderada intensidade foi eficiente na promoção do aumento da atividade da enzima catalase nos eritrócitos dos animais SHR, o que também se manteve após o destreinamento.

A existência de um equilíbrio entre a produção e catabolismo de substâncias pró-oxidantes é um indispensável mecanismo para a manutenção das funções biológicas. As ERO desempenham um papel importante no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, desencadeando diferentes efeitos deletérios nas estruturas celulares (Harrison et al., 2006). O aumento do estresse oxidativo vascular parece ser o responsável pela disfunção endotelial na hipertensão, resultado da reduzida biodisponibilidade de NO e aumento da produção de fatores contráteis derivados do endotélio (Feletou & Vanhoutte, 2006), o que leva a redução da função endotelial e da vasodilatação dependente do endotélio (Paravicini & Touyz, 2008; Thomas et al., 2008). O $O_2^{\cdot-}$, ao reagir com o NO, inibe sua ação e forma um potente pró-oxidante, o $OONO^-$ (Goss et

al., 1997), onde este último promoverá oxidação de proteínas, lipídeos e DNA nas células (Ballinger et al., 2000). Ainda assim, o H_2O_2 derivado do $O_2^{\cdot-}$ estimula o aumento da produção deste último através da NADPH oxidase, havendo maior produção de $OONO^-$ (Thomas et al., 2008).

Trabalhos evidenciam o aumento da geração de ERO em animais SHR (Bertagnolli et al., 2006), sugerindo o aumento do estresse oxidativo. A medida utilizada neste estudo para a medida do estresse oxidativo tecidual foi a lipoperoxidação, que indica as 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. No entanto, foi possível medir a lipoperoxidação nos eritrócitos, uma vez que problemas no armazenamento das amostras sanguíneas para análise da quimiluminescência impediram a análise desta técnica no tecido citado.

Diversos mecanismos vasoconstritores, incluindo inativação da NOS e ativação dos receptores AT_1 da Ang II, podem induzir o estresse oxidativo na hipertensão (Wilcox, 2002). Através da ativação do seu receptor, a Ang II estimula a atividade da NADPH oxidase, o principal gerador de $O_2^{\cdot-}$ no organismo. Essas ERO, por sua vez, reagem com NO e o inativam, agravando a vasoconstrição induzida pela Ang II e promovendo disfunção endotelial (Paravicini & Touyz, 2008). A elevação da PA pode aumentar ainda mais a ativação da NADPH oxidase através do *shear stress*, principalmente em animais SHR que apresentam rigidez arterial (Kojda & Harrison, 1999). Segundo Bertagnolli e colegas (2006), o estresse oxidativo medido através da

lipoperoxidação em eritrócitos é maior nos animais SHR sedentários em relação aos seus controles normotensos, bem como há redução da atividade da SOD nos eritrócitos destes animais hipertensos.

Verificamos, no nosso estudo, redução significativa do dano oxidativo aos lipídeos no homogeneizado cardíaco do grupo treinado em relação ao grupo controle. Interessantemente, essa atenuação no marcador de estresse oxidativo se manteve no grupo destreinado.

O exercício físico é, em teoria, um potente indutor de estresse oxidativo nos organismos animais por aumentar o consumo de oxigênio, o que associado ao aumento da atividade simpática, pode promover incremento nos níveis de espécies reativas de oxigênio (Johnson, 2002). No entanto, o exercício aeróbio está associado à inativação da NADPH oxidase, o que pode contribuir para redução do dano oxidativo (Landmesser & Drexler, 2007). Bertagnolli e colaboradores (2008) demonstraram que o exercício físico promoveu atenuação da modulação simpática cardíaca e redução da lipoperoxidação cardíaca em ratos SHR; ainda assim, o mesmo estudo mostrou uma correlação positiva entre a lipoperoxidação cardíaca e os níveis de norepinefrina. Esses resultados contribuem com a diminuição do dano oxidativo, após o exercício crônico, por diminuir a produção de ERO pela ação das catecolaminas (Nowicki et al., 2001). Infelizmente, não foram encontrados estudos que demonstrassem o efeito do destreinamento sobre o estresse oxidativo cardíaco.

No presente estudo, verificamos que a atividade das enzimas SOD e GPx nos eritrócitos não sofreram alteração frente ao exercício nos animais SHR. No

entanto, observamos um aumento da atividade da CAT nos eritrócitos do grupo treinado em relação ao controle, variação que se manteve mesmo após o destreinamento. Estes dados são parcialmente contrários ao estudo de Bertagnolli e colaboradores (2006), que observou um incremento na atividade das três enzimas nos eritrócitos de animais SHR treinados.

Para tanto, 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 observaram mudança na atividade da CAT (Selamoglu et al., 2000), enquanto que outro estudo observou incremento na expressão da Mn SOD no ventrículo esquerdo de ratos normotensos (Lawler et al., 2009). Por outro lado, estudo verificou que o treinamento físico moderado aumentou a atividade das enzimas CAT e GPx (Tauler et al., 1999), não alterando a atividade da SOD em atletas. Observou-se em outro estudo o aumento da expressão da CAT e GPx em eritrócitos de ratos treinados (Somani et al., 1995) .

Conforme observado, o aumento na atividade da CAT observado no grupo treinado em nosso estudo manteve-se significativamente maior no grupo destreinado em relação ao grupo controle. Não foram encontrados estudos que avaliassem o efeito do destreinamento na atividade da CAT. Contudo, Fatorous e colaboradores (2004) observaram que o treinamento induziu aumento da atividade antioxidante total em homens idosos, enquanto que o destreinamento de 16 semanas promoveu redução desta adaptação aos valores pré-

condicionamento. Vimos que existe uma relação estrita entre o estresse oxidativo e biodisponibilidade de NO. Maeda e cols. (2001) demonstraram que o destreinamento de quatro semanas não foi suficiente para reduzir o incremento nos níveis plasmáticos de metabólitos do NO; possivelmente, este efeito possa estar sendo mantido pela manutenção do aumento da atividade das enzimas antioxidantes nos eritrócitos, conforme observado em nosso experimento. Segundo Ülker e colaboradores (2003), as enzimas antioxidantes atuam como *scavengers* das ERO no organismo, diminuindo a ação dos radicais livres na inativação do NO; sendo assim, contribuem diretamente com o aumento de sua biodisponibilidade.

Observamos ainda, em nosso estudo, aumento significativo na atividade da SOD e da GPx cardíaca no grupo treinado, comparado aos sedentários. A atividade da GPx manteve-se inalterada após quatro semanas de destreinamento, enquanto que a atividade da SOD no grupo destreinado retornou aos valores de pré-condicionamento. A atividade da enzima catalase não foi diferente entre os grupos.

Em estudo realizado por Hong & Johnson (1995), após submeterem ratos SHR ao treinamento físico, verificou-se aumento da atividade da SOD e tecido cardíaco, o que concorda com os resultados do nosso trabalho; no entanto, o mesmo estudo não verificou alteração na atividade da CAT e da GPx. Assim como na relação do estresse oxidativo cardíaco e o destreinamento, não foram encontrados estudos que se referem à modulação da atividade das enzimas antioxidantes cardíacas no destreinamento.

A enzima SOD tem como papel fundamental a dismutação do ânion superóxido à peróxido de hidrogênio (Powers et al., 1999). Desta forma, o aumento da atividade da enzima contribui para o aumento da biodisponibilidade de NO, melhorando a função endotelial e cardíaca e favorecendo a diminuição da PA (Fukai et al., 2000).

A GPx catalisa a redução do H_2O_2 ou de hidroperóxidos orgânicos à água ou aos álcoois correspondentes utilizando a glutathiona reduzida (Margis et al., 2008). Assim, é possível que os dados obtidos de reduzida lipoperoxidação cardíaca nos grupos treinado e destreinado devam-se em grande parte ao aumento da atividade desta peroxidase, reduzindo o estresse oxidativo e melhorando a função cardíaca em relação ao animais sedentários. Sugere-se que períodos maiores de destreinamento podem reduzir a aumentada atividade enzimática antioxidante, o que não foi observada para a atividade da GPx neste estudo. No entanto, não é claro o motivo da redução da atividade da SOD cardíaca frente às quatro semanas de destreinamento neste estudo.

As aparentes discrepâncias em relação ao efeito do exercício na atividade antioxidante em diferentes tecidos podem ser explicadas pelas diferenças entre os protocolos de exercício administrados, bem como as espécies e características das amostras envolvidas. Em suma, nosso estudo mostrou que a atividade promoveu decréscimo do estresse oxidativo cardíaco, bem como incremento da atividade antioxidante em eritrócitos e coração; e que estas alterações, em âmbito geral, não sofreram alterações em decorrência do destreinamento.

Uma vez observado o aumento da atividade da CAT nos eritrócitos nos animais SHR frente ao exercício em nosso estudo, é possível que tenha ocorrido atenuação da disfunção endotelial e que esta, por sua vez, tenha sido responsável pela atenuação da pressão arterial e incremento da resposta barorreflexa observada neste estudo - adaptações que se mantiveram presentes mesmo após o período de destreinamento. Para tanto, a atividade física tem sido relacionada à redução da atividade da NADPH oxidase e produção de ERO (Landmesser & Drexler, 2007), bem como ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes em humanos (Johnson, 2002) e ratos hipertensos (Hong & Johnson, 1995), o que, em suma, resulta num aumento da biodisponibilidade de NO e redução de substâncias vasoconstritoras. Bertagnolli e colegas (2006) demonstraram que, em SHR, o aumento da atividade da CAT está associado à redução da PAM e melhora da sensibilidade barorreflexa. Possivelmente, os resultados observados em nosso estudo (para PAM e sensibilidade barorreflexa) estão associados ao incremento da atividade antioxidante nos eritrócitos.

Outro dado importante observado em nosso estudo foi o incremento do índice de hipertrofia cardíaca nos animais treinados, o que também se manteve nos animais destreinados. É possível que este achado morfológico tenha relação com redução do estresse oxidativo observado nestes grupos em nosso estudo. As ERO, sobretudo aquelas derivadas da elevada atividade da NADPH oxidase nos ratos SHR, participam como sinalizadores na hipertrofia patológica (Murdoch et al., 2006). O exercício físico, por sua vez, promove inativação da NADPH oxidase e atenuação do dano oxidativo (Rush et al., 2003), ao mesmo tempo em

que promove incremento da atividade antioxidante (Fatouros et al., 2004). Dessa forma, sugere-se que a melhora no perfil oxidativo no miocárdio dos animais treinados (o que permaneceu inalterado nos destreinados) tenha corroborado para o incremento do índice de hipertrofia cardíaca. Esta análise é possível graças à eficiência do exercício físico na conversão da hipertrofia patológica para fisiológica observada por Garcarena e colegas (2009), sendo este evento relacionado ao incremento no índice de hipertrofia cardíaca.

Os resultados encontrados em nosso estudo parecem ter relação com a melhora da função endotelial induzida pelo exercício, sendo que esteve possivelmente mantida após o destreinamento. Maeda e colegas (2001) demonstraram em um estudo com humanos normotensos que o aumento das concentrações plasmáticas dos metabólicos do NO, bem como a redução dos níveis plasmáticos de endotelina-1 (ET-1) (ambos efeitos induzidos pelo exercício), mantiveram-se presentes mesmo após quatro semanas de destreinamento, retornando aos valores de pré-condicionamento após oito semanas de destreinamento; estes resultados concordam com os de Wang (2005), que observou que a redução dos níveis de metabólicos do NO só foi observada em oito semanas de destreinamento, onde a função cutânea microvascular também foi reduzida. No entanto, observou-se em estudo que o destreinamento de duas semanas foi suficiente para atenuar as adaptações induzidas pelo exercício na sensibilidade barorreflexa em humanos (Convertino & Fritsch, 1992). Infelizmente, não foi encontrada bibliografia que faça referência ao efeito do destreinamento sobre a modulação simpática, o que também

poderia estar relacionado à manutenção da sensibilidade barorreceptora induzida pelo exercício no grupo destreinado. Possivelmente, os resultados observados em nosso estudo estejam relacionados a alterações mecanoelásticas dos vasos, favorecendo o incremento da complacência vascular e melhora da sensibilidade barorreflexa (Lindsay et al., 1992). Uma vez que observamos atenuação do quadro hipertensivo nos animais treinados, o que permaneceu inalterado nos animais destreinados, é possível que a esta significativa redução dos valores de PAM em SHR se deva à melhora da sensibilidade barorreflexa, conforme sugerido por Manabe e colaboradores (2007).



CONCLUSÕES

- O treinamento físico moderado reduziu os valores de PAM, PAS e PAD nos animais SHR. Estas alterações foram mantidas no grupo destreinado, com exceção da PAD, que não diferiu do grupo controle. O exercício não promoveu alteração da FC de repouso entre os grupos estudados.
- As respostas taquicárdica e bradicárdica do reflexo pressorreceptor obtiveram aumento em função do treinamento físico. Estas alterações mantiveram-se no grupo destreinado.
- O exercício promoveu incremento da resposta bradicárdica nos animais SHR. No entanto, esta adaptação foi perdida no grupo destreinado ao final das quatro semanas de descondicionamento. A resposta hipotensora não foi diferente entre os grupos estudados.
- O exercício promoveu aumento do índice de hipertrofia cardíaca em relação aos SHR sedentários, ao mesmo tempo em que estas alterações induzidas pela atividade física foram mantidas o grupo destreinado.
- A medida do dano oxidativo em lipídeos, avaliado pela QL, mostrou diminuição do estresse oxidativo cardíaco nos animais treinados; esta melhora no perfil oxidativo também foi observada no grupo treinado em relação ao controle.

- O exercício promoveu incremento da atividade enzimática antioxidante nos eritrócitos e no coração, adaptação que se manteve após o período de destreinoamento.

Observa-se neste estudo que a maioria das adaptações cardiovasculares e bioquímicas induzidas pelo exercício se mantiveram após o período de destreinoamento neste modelo de hipertensão, sugerindo que o animal SHR ainda apresenta benefícios oriundos do exercício que atenuem o desfecho fisiopatológico da hipertensão após o destreinoamento de quatro semanas. Esta constatação foi contrária à hipótese proposta neste trabalho, que esperava uma consistente atenuação das adaptações decorrentes do treinamento físico de moderada intensidade sobre a função cardiovascular e sensibilidade barorreflexa em animais SHR em decorrência do período de destreinoamento proposto.

São necessários outros estudos que avaliem os mesmos parâmetros em períodos maiores de destreinoamento, objetivando desta forma detectar a janela temporal exata na qual as alterações cardiovasculares induzidas pelo treinamento permaneçam e, caso ocorra a perda destas, avaliar se o animal se encontra em um estado deteriorado em relação ao período de pré-condicionamento. É importante ressaltar a necessidade destes estudos nos diferentes modelos de hipertensão humana.

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**



8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, V., Linke, A., Krankel, N., et al. Impact of regular physical activity on the NAD(P)H oxidase and angiotensin receptor system in patients with coronary artery disease. Circulation, v.111, n.5, Feb 8, p.555-62. 2005.

Alp, P., Newsholme, E. &Zammit, V. Activities of citrate synthase and NAD⁺-linked and NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. Biochem J, v.154, n.3, Mar, p.689-700. 1976.

Awolesi, M. A., Sessa, W. C. &Sumpio, B. E. Cyclic strain upregulates nitric oxide synthase in cultured bovine aortic endothelial cells. J Clin Invest, v.96, n.3, Sep, p.1449-54. 1995.

Ballinger, S. W., Patterson, C., Yan, C. N., et al. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. Circ Res, v.86, n.9, May 12, p.960-6. 2000.

Barone, B. B., Wang, N. Y., Bacher, A. C., et al. Decreased exercise blood pressure in older adults after exercise training: contributions of increased fitness and decreased fatness. Br J Sports Med, v.43, n.1, Jan, p.52-6. 2009.

Bell, D., Kelso, E. J., Argent, C. C., et al. Temporal characteristics of cardiomyocyte hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. Cardiovasc Pathol, v.13, n.2, Mar-Apr, p.71-8. 2004.

Belló-Klein A, Lagranha CJ, Bock, P, Barp J, Araújo ASR; Llesuy S, Belló AA, Khaper N, Singal PK. Submaximal exercise training in postnatal rats: Hemodynamic and oxidative stress changes. Exp Clin Cardiol. 2000; 5:149-153.

Bertagnolli, M., Campos, C., Schenkel, P. C., et al. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. J Hypertens, v.24, n.12, Dec, p.2437-43. 2006.

Bertagnolli, M., Schenkel, P. C., Campos, C., et al. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. Am J Hypertens, v.21, n.11, Nov, p.1188-93. 2008.

Biaggioni, I. Sympathetic control of the circulation in hypertension: lessons from autonomic disorders. Curr Opin Nephrol Hypertens, v.12, n.2, Mar, p.175-80. 2003.

Bobillier Chaumont, S., Maupoil, V., Jacques Lahet, J., et al. Effect of exercise training on metallothionein levels of hypertensive rats. Med Sci Sports Exerc, v.33, n.5, May, p.724-8. 2001.

Boveris, A. &Chance, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. Biochem J, v.134, n.3, Jul, p.707-16. 1973.

Brum, P. C., Da Silva, G. J., Moreira, E. D., et al. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. Hypertension, v.36, n.6, Dec, p.1018-22. 2000.

Buckworth, J., Convertino, V. A., Cureton, K. J., et al. Increased finger arterial blood pressure after exercise detraining in women with parental hypertension: autonomic tasks. Acta Physiol Scand, v.160, n.1, May, p.29-41. 1997.

Cameron, J. D. & Dart, A. M. Exercise training increases total systemic arterial compliance in humans. Am J Physiol, v.266, n.2 Pt 2, Feb, p.H693-701. 1994.

Chapleau, M. W., Cunningham, J. T., Sullivan, M. J., et al. Structural versus functional modulation of the arterial baroreflex. Hypertension, v.26, n.2, Aug, p.341-7. 1995.

Chowdhary, S., Vaile, J. C., Fletcher, J., et al. Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. Hypertension, v.36, n.2, Aug, p.264-9. 2000.

Convertino, V. A. &Fritsch, J. M. Attenuation of human carotid-cardiac vagal baroreflex responses after physical detraining. Aviat Space Environ Med, v.63, n.9, Sep, p.785-8. 1992.

Cornelissen, V. A. &Fagard, R. H. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. Hypertension, v.46, n.4, Oct, p.667-75. 2005.

Craig, B. W., Martin, G., Betts, J., et al. The influence of training-detraining upon the heart, muscle and adipose tissue of female rats. Mech Ageing Dev, v.57, n.1, Jan, p.49-61. 1991.

Crisman, R. P., Rittman, B. &Tomanek, R. J. Exercise-induced myocardial capillary growth in the spontaneously hypertensive rat. Microvasc Res, v.30, n.2, Sep, p.185-94. 1985.

- Dart, A. M., Meredith, I. T. & Jennings, G. L. Effects of 4 weeks endurance training on cardiac left ventricular structure and function. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.19, n.11, Nov, p.777-83. 1992.
- De Craemer, D., Lobe, E., Pauwels, M., et al. Angiotensin II administration causes enhanced expression of glomerulosclerosis-related markers and decreased renal antioxidant enzyme activities in rats. Exp Nephrol, v.9, n.2, Mar-Apr, p.125-32. 2001.
- Duncan, J. J., Farr, J. E., Upton, S. J., et al. The effects of aerobic exercise on plasma catecholamines and blood pressure in patients with mild essential hypertension. Jama, v.254, n.18, Nov 8, p.2609-13. 1985.
- Egan, B. M. Neurogenic mechanisms initiating essential hypertension. Am J Hypertens, v.2, n.12 Pt 2, Dec, p.357S-362S. 1989.
- Esler, M. & Kaye, D. Sympathetic nervous system activation in essential hypertension, cardiac failure and psychosomatic heart disease. J Cardiovasc Pharmacol, v.35, n.7 Suppl 4, p.S1-7. 2000.
- Evans, D. L. Cardiovascular adaptations to exercise and training. Vet Clin North Am Equine Pract, v.1, n.3, Dec, p.513-31. 1985.

- Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Villiotou, V., et al. Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. Med Sci Sports Exerc, v.36, n.12, Dec, p.2065-72. 2004.
- Fedorov, V. N., Ialtsev, A. V., Danilova, O. V., et al. [A dynamic model of total chronic heart failure in rats]. Patol Fiziol Eksp Ter, n.3, Jul-Sep, p.7-9. 2005.
- Feletou, M. & Vanhoutte, P. M. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.291, n.3, Sep, p.H985-1002. 2006.
- Felix, J. V. & Michelini, L. C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. Hypertension, v.50, n.4, Oct, p.780-5. 2007.
- Flohe, L. & Gunzler, W. A. Assays of glutathione peroxidase. Methods Enzymol, v.105, p.114-21. 1984.
- Fortuno, A., Olivan, S., Beloqui, O., et al. Association of increased phagocytic NADPH oxidase-dependent superoxide production with diminished nitric oxide generation in essential hypertension. J Hypertens, v.22, n.11, Nov, p.2169-75. 2004.

Fukai, T., Siegfried, M. R., Ushio-Fukai, M., et al. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. J Clin Invest, v.105, n.11, Jun, p.1631-9. 2000.

Fukui, T., Ishizaka, N., Rajagopalan, S., et al. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. Circ Res, v.80, n.1, Jan, p.45-51. 1997.

Garciaarena, C. D., Pinilla, O. A., Nolly, M. B., et al. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat: conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. Hypertension, v.53, n.4, Apr, p.708-14. 2009.

Gava, N. S., Veras-Silva, A. S., Negrao, C. E., et al. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. Hypertension, v.26, n.6 Pt 2, Dec, p.1129-33. 1995.

Giada, F., Bertaglia, E., De Piccoli, B., et al. Cardiovascular adaptations to endurance training and detraining in young and older athletes. Int J Cardiol, v.65, n.2, Jul 1, p.149-55. 1998.

Goldin JR, Raymundo MM. Pesquisa em saúde e direito dos animais. Porto Alegre: HCPA; 1997.

Gongora, M. C., Qin, Z., Laude, K., et al. Role of extracellular superoxide dismutase in hypertension. Hypertension, v.48, n.3, Sep, p.473-81. 2006.

Gonzalez Flecha, B., Llesuy, S. & Boveris, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. Free Radic Biol Med, v.10, n.2, p.93-100. 1991.

Goodman, J. M., Liu, P. P. & Green, H. J. Left ventricular adaptations following short-term endurance training. J Appl Physiol, v.98, n.2, Feb, p.454-60. 2005.

Goss, S. P., Hogg, N. & Kalyanaraman, B. The effect of nitric oxide release rates on the oxidation of human low density lipoprotein. J Biol Chem, v.272, n.34, Aug 22, p.21647-53. 1997.

Graham, D. A. & Rush, J. W. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. J Appl Physiol, v.96, n.6, Jun, p.2088-96. 2004.

Grassi, G. Renin-angiotensin-sympathetic crosstalks in hypertension: reappraising the relevance of peripheral interactions. J Hypertens, v.19, n.10, Oct, p.1713-6. 2001.

Grassi, G. Counteracting the sympathetic nervous system in essential hypertension. Curr Opin Nephrol Hypertens, v.13, n.5, Sep, p.513-9. 2004.

Grassi G., Mancia G. Hyperadrenergic and labile hypertension. In: Lip GH, Hall J (eds) Comprehensive hypertension. Mosby Elsevier, Philadelphia, 2007: 719–726

Grassi, G., Quarti-Trevano, F., Dell'oro, R., et al. Essential hypertension and the sympathetic nervous system. Neurol Sci, v.29 Suppl 1, May, p.S33-6. 2008.

Gupta, S., Das, B. & Sen, S. Cardiac hypertrophy: mechanisms and therapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal, v.9, n.6, Jun, p.623-52. 2007.

Harrison, D. G., Widder, J., Grumbach, I., et al. Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. J Intern Med, v.259, n.4, Apr, p.351-63. 2006.

Head, G. A. & Adams, M. A. Time course of changes in baroreceptor reflex control of heart rate in conscious SHR and WKY: contribution of the cardiac

vagus and sympathetic nerves. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.15, n.4, Apr, p.289-92. 1988.

Higashi, Y., Sasaki, S., Kurisu, S., et al. Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: role of endothelium-derived nitric oxide. Circulation, v.100, n.11, Sep 14, p.1194-202. 1999.

Higuchi, S., Morgan, D. A. & Mark, A. L. Contrasting reflex effects of chemosensitive and mechanosensitive vagal afferents. Hypertension, v.11, n.6 Pt 2, Jun, p.674-9. 1988.

Hong, H. & Johnson, P. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. Int J Biochem Cell Biol, v.27, n.9, Sep, p.923-31. 1995.

Horta, P. P., De Carvalho, J. J. & Mandarim-De-Lacerda, C. A. Exercise training attenuates blood pressure elevation and adverse remodeling in the aorta of spontaneously hypertensive rats. Life Sci, v.77, n.26, Nov 12, p.3336-43. 2005.

Hua, L., Brown, C. A. D., Hains, S., et al. Effects of Low-Intensity Exercise Conditioning on Blood Pressure, Heart Rate, and Autonomic Modulation of

Heart Rate in Men and Women with Hypertension. Biol Res Nurs, Jan 15. 2009.

laia, F. M., Hellsten, Y., Nielsen, J. J., et al. Four weeks of speed endurance training reduces energy expenditure during exercise and maintains muscle oxidative capacity despite a reduction in training volume. J Appl Physiol, v.106, n.1, Jan, p.73-80. 2009.

leimitsu, M., Miyauchi, T., Maeda, S., et al. Cardiac hypertrophy by hypertension and exercise training exhibits different gene expression of enzymes in energy metabolism. Hypertens Res, v.26, n.10, Oct, p.829-37. 2003.

leimitsu, M., Miyauchi, T., Maeda, S., et al. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.281, n.6, Dec, p.R2029-36. 2001.

Izdebska, E., Cybulska, I., Izdebskir, J., et al. Effects of moderate physical training on blood pressure variability and hemodynamic pattern in mildly hypertensive subjects. J Physiol Pharmacol, v.55, n.4, Dec, p.713-24. 2004.

Johnson, P. Antioxidant enzyme expression in health and disease: effects of exercise and hypertension. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, v.133, n.4, Dec, p.493-505. 2002.

Julius, S., Krause, L., Schork, N. J., et al. Hyperkinetic borderline hypertension in Tecumseh, Michigan. J Hypertens, v.9, n.1, Jan, p.77-84. 1991.

Kacimi, R. &Gerdes, A. M. Alterations in G protein and MAP kinase signaling pathways during cardiac remodeling in hypertension and heart failure. Hypertension, v.41, n.4, Apr, p.968-77. 2003.

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, n.1, Jul-Aug, p.23-50. 1995.

Katz, S. D. Blood volume assessment in the diagnosis and treatment of chronic heart failure. Am J Med Sci, v.334, n.1, Jul, p.47-52. 2007.

Kawagushi, H., H. Sano, et al. 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.

Kemi, O. J., Haram, P. M., Wisloff, U., et al. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. Circulation, v.109, n.23, Jun 15, p.2897-904. 2004.

Kojda, G. &Hambrecht, R. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? Cardiovasc Res, v.67, n.2, Aug 1, p.187-97. 2005.

Kojda, G. &Harrison, D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. Cardiovasc Res, v.43, n.3, Aug 15, p.562-71. 1999.

Laakso, J., Mervaala, E., Himberg, J. J., et al. Increased kidney xanthine oxidoreductase activity in salt-induced experimental hypertension. Hypertension, v.32, n.5, Nov, p.902-6. 1998.

Landmesser, U. &Drexler, H. Endothelial function and hypertension. Curr Opin Cardiol, v.22, n.4, Jul, p.316-20. 2007.

Lawler, J. M., Kwak, H. B., Kim, J. H., et al. Exercise Training Inducibility of MnSOD Protein Expression and Activity is Retained While Reducing Pro-oxidant Signaling in the Heart of Senescent Rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, Mar 18. 2009.

Lee, Y. I., Cho, J. Y., Kim, M. H., et al. Effects of exercise training on pathological cardiac hypertrophy related gene expression and apoptosis. Eur J Appl Physiol, v.97, n.2, May, p.216-24. 2006.

- Lehoux, S. & Tedgui, A. Signal transduction of mechanical stresses in the vascular wall. Hypertension, v.32, n.2, Aug, p.338-45. 1998.
- Levy, D., Garrison, R. J., Savage, D. D., et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. N Engl J Med, v.322, n.22, May 31, p.1561-6. 1990.
- Lewington, S., Clarke, R., Qizilbash, N., et al. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. Lancet, v.360, n.9349, Dec 14, p.1903-13. 2002.
- Lindsay, D. C., Jiang, C., Brunotte, F., et al. Impairment of endothelium dependent responses in a rat model of chronic heart failure: effects of an exercise training protocol. Cardiovasc Res, v.26, n.7, Jul, p.694-7. 1992.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem, v.193, n.1, Nov, p.265-75. 1951.
- Lushnikova, E. L. & Nepomnyashchikh, L. M. Morphological and stereological characteristics of myocardial remodeling in aged spontaneously hypertensive SHR rats. Bull Exp Biol Med, v.135, n.2, Feb, p.181-6. 2003.

- Macdonnell, S. M., Kubo, H., Crabbe, D. L., et al. Improved myocardial beta-adrenergic responsiveness and signaling with exercise training in hypertension. Circulation, v.111, n.25, Jun 28, p.3420-8. 2005.
- Manabe, H., Fukuma, N., Tuchida, T., et al. Analysis of alteration of blood pressure response to exercise through baroreflex. J Nippon Med Sch, v.74, n.2, Apr, p.123-30. 2007.
- Manfredini, F., Malagoni, A. M., Mandini, S., et al. Sport Therapy for Hypertension: Why, How, and How Much? Angiology, Sep 15. 2008.
- Marklund S. Handbook of methods for oxygen radical research. Boca Raton: CRC Press; 1985.
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., et al. Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. Febs J, v.275, n.15, Aug, p.3959-70. 2008.
- Marroni NP. Estresse oxidativo e antioxidantes. Canoas: Editora da Ulbra; 2002.
- Meerson, F. Z., Kagan, V. E., Kozlov Yu, P., et al. The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. Basic Res Cardiol, v.77, n.5, Sep-Oct, p.465-85. 1982.

- Melo, R. M., Martinho, E., Jr. & Michelini, L. C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles. Hypertension, v.42, n.4, Oct, p.851-7. 2003.
- Meredith, I. T., Jennings, G. L., Esler, M. D., et al. Time-course of the antihypertensive and autonomic effects of regular endurance exercise in human subjects. J Hypertens, v.8, n.9, Sep, p.859-66. 1990.
- Mortara, A., La Rovere, M. T., Pinna, G. D., et al. Arterial baroreflex modulation of heart rate in chronic heart failure: clinical and hemodynamic correlates and prognostic implications. Circulation, v.96, n.10, Nov 18, p.3450-8. 1997.
- Motoyama, M., Sunami, Y., Kinoshita, F., et al. Blood pressure lowering effect of low intensity aerobic training in elderly hypertensive patients. Med Sci Sports Exerc, v.30, n.6, Jun, p.818-23. 1998.
- Mujika, I. & Padilla, S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part I: short term insufficient training stimulus. Sports Med, v.30, n.2, Aug, p.79-87. 2000a.

Mujika, I. &Padilla, S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations. Part II: Long term insufficient training stimulus. Sports Med, v.30, n.3, Sep, p.145-54. 2000b.

Murdoch, C. E., Grieve, D. J., Cave, A. C., et al. NADPH oxidase and heart failure. Curr Opin Pharmacol, v.6, n.2, Apr, p.148-53. 2006.

Mustata, S., Chan, C., Lai, V., et al. Impact of an exercise program on arterial stiffness and insulin resistance in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol, v.15, n.10, Oct, p.2713-8. 2004.

Navare, S. M. &Thompson, P. D. Acute cardiovascular response to exercise and its implications for exercise testing. J Nucl Cardiol, v.10, n.5, Sep-Oct, p.521-8. 2003.

Neufer, P. D. The effect of detraining and reduced training on the physiological adaptations to aerobic exercise training. Sports Med, v.8, n.5, Nov, p.302-20. 1989.

Nowicki, P. T., Flavahan, S., Hassanain, H., et al. Redox signaling of the arteriolar myogenic response. Circ Res, v.89, n.2, Jul 20, p.114-6. 2001.

O'donnell, V. B., Chumley, P. H., Hogg, N., et al. Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation: kinetics of reaction with lipid peroxy radicals and comparison with alpha-tocopherol. Biochemistry, v.36, n.49, Dec 9, p.15216-23. 1997.

O'donnell, V. B., Coles, B., Lewis, M. J., et al. Catalytic consumption of nitric oxide by prostaglandin H synthase-1 regulates platelet function. J Biol Chem, v.275, n.49, Dec 8, p.38239-44. 2000.

O'donnell, V. B., Taylor, K. B., Parthasarathy, S., et al. 15-Lipoxygenase catalytically consumes nitric oxide and impairs activation of guanylate cyclase. J Biol Chem, v.274, n.29, Jul 16, p.20083-91. 1999.

Pan, Y. X., Gao, L., Wang, W. Z., et al. Exercise training prevents arterial baroreflex dysfunction in rats treated with central angiotensin II. Hypertension, v.49, n.3, Mar, p.519-27. 2007.

Paravicini, T. M., Chrissobolis, S., Drummond, G. R., et al. Increased NADPH-oxidase activity and Nox4 expression during chronic hypertension is associated with enhanced cerebral vasodilatation to NADPH in vivo. Stroke, v.35, n.2, Feb, p.584-9. 2004.

Paravicini, T. M. & Touyz, R. M. Redox signaling in hypertension. Cardiovasc Res, v.71, n.2, Jul 15, p.247-58. 2006.

Paravicini, T. M. & Touyz, R. M. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. Diabetes Care, v.31 Suppl 2, Feb, p.S170-80. 2008.

Piccirillo, G., Bucca, C., Durante, M., et al. Heart rate and blood pressure variabilities in salt-sensitive hypertension. Hypertension, v.28, n.6, Dec, p.944-52. 1996.

Piccirillo, G., Nocco, M., Moise, A., et al. Influence of vitamin C on baroreflex sensitivity in chronic heart failure. Hypertension, v.41, n.6, Jun, p.1240-5. 2003.

Pilis, W., Zarzeczny, R., Langfort, J., et al. Anaerobic threshold in rats. Comp Biochem Physiol Comp Physiol, v.106, n.2, Oct, p.285-9. 1993.

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, n.7, Jul, p.987-97. 1999.

Rabelo, E., De Angelis, K., Bock, P., et al. Baroreflex sensitivity and oxidative stress in adriamycin-induced heart failure. Hypertension, v.38, n.3 Pt 2, Sep, p.576-80. 2001.

Rajabi, M., Kassiotis, C., Razeghi, P., et al. Return to the fetal gene program protects the stressed heart: a strong hypothesis. Heart Fail Rev, v.12, n.3-4, Dec, p.331-43. 2007.

Rajagopalan, S., Kurz, S., Munzel, T., et al. 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, n.8, Apr 15, p.1916-23. 1996.

Raven, P. B., Welch-O'connor, R. M. & Shi, X. Cardiovascular function following reduced aerobic activity. Med Sci Sports Exerc, v.30, n.7, Jul, p.1041-52. 1998.

Rey, F. E., Cifuentes, M. E., Kiarash, A., et al. Novel competitive inhibitor of NAD(P)H oxidase assembly attenuates vascular O₂(⁻) and systolic blood pressure in mice. Circ Res, v.89, n.5, Aug 31, p.408-14. 2001.

Richey, P. A. & Brown, S. P. Pathological versus physiological left ventricular hypertrophy: a review. J Sports Sci, v.16, n.2, Feb, p.129-41. 1998.

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, n.4, Apr, p.H1378-87. 2003.

Seagard, J. L., Hopp, F. A. & Kampine, J. P. Effect of sympathetic sensitization of baroreceptors on renal nerve activity. Am J Physiol, v.252, n.2 Pt 2, Feb, p.R328-35. 1987.

Selamoglu, S., Turgay, F., Kayatekin, B. M., et al. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. Acta Physiol Hung, v.87, n.3, p.267-73. 2000.

Silva, G. J., Brum, P. C., Negrao, C. E., et al. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. Hypertension, v.30, n.3 Pt 2, Sep, p.714-9. 1997.

Simic, D. V., Mimic-Oka, J., Pljesa-Ercegovac, M., et al. Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with different degrees of essential hypertension. J Hum Hypertens, v.20, n.2, Feb, p.149-55. 2006.

- Sindhu, R. K., Ehdaie, A., Farmand, F., et al. Expression of catalase and glutathione peroxidase in renal insufficiency. Biochim Biophys Acta, v.1743, n.1-2, Mar 22, p.86-92. 2005.
- 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, n.4, Apr, p.635-9. 1995.
- Sui, H., Wang, W., Wang, P. H., et al. Effect of glutathione peroxidase mimic ebselen (PZ51) on endothelium and vascular structure of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Blood Press, v.14, n.6, p.366-72. 2005.
- Sun, M. W., Qian, F. L., Wang, J., et al. Low-intensity voluntary running lowers blood pressure with simultaneous improvement in endothelium-dependent vasodilatation and insulin sensitivity in aged spontaneously hypertensive rats. Hypertens Res, v.31, n.3, Mar, p.543-52. 2008.
- Suzuki, H., Delano, F. A., Parks, D. A., et al. Xanthine oxidase activity associated with arterial blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Proc Natl Acad Sci U S A, v.95, n.8, Apr 14, p.4754-9. 1998.
- Tain, Y. L. & Baylis, C. Dissecting the causes of oxidative stress in an in vivo model of hypertension. Hypertension, v.48, n.5, Nov, p.828-9. 2006.

Tauler, P., Gimeno, I., Aguiló, A., et al. Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. Pflugers Arch, v.438, n.6, Nov, p.782-7. 1999.

Thomas, S. R., Witting, P. K. & Drummond, G. R. Redox control of endothelial function and dysfunction: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal, v.10, n.10, Oct, p.1713-65. 2008.

Thoren, P. Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. Rev Physiol Biochem Pharmacol, v.86, p.1-94. 1979.

Thoren, P., Noresson, E. & Ricksten, S. E. Resetting of cardiac C-fiber endings in the spontaneously hypertensive rat. Acta Physiol Scand, v.107, n.1, Sep, p.13-8. 1979.

Touyz, R. M. Reactive oxygen species in vascular biology: role in arterial hypertension. Expert Rev Cardiovasc Ther, v.1, n.1, May, p.91-106. 2003.

Touyz, R. M. Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells -- implications in cardiovascular disease. Braz J Med Biol Res, v.37, n.8, Aug, p.1263-73. 2004.

Touyz, R. M. &Schiffirin, E. L. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. Histochem Cell Biol, v.122, n.4, Oct, p.339-52. 2004.

Ulker, S., McMaster, D., Mckeown, P. P., et al. Impaired activities of antioxidant enzymes elicit endothelial dysfunction in spontaneous hypertensive rats despite enhanced vascular nitric oxide generation. Cardiovasc Res, v.59, n.2, Aug 1, 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. Circ Res, v.74, n.5, May, p.904-11. 1994.

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, n.3, Mar, p.767-74. 1994.

Vaziri, N. D. &Rodriguez-Iturbe, B. Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. Nat Clin Pract Nephrol, v.2, n.10, Oct, p.582-93. 2006.

Wakatsuki, T., Schlessinger, J. & Elson, E. L. The biochemical response of the heart to hypertension and exercise. Trends Biochem Sci, v.29, n.11, Nov, p.609-17. 2004.

Waki, H., Gouraud, S. S., Maeda, M., et al. Specific inflammatory condition in nucleus tractus solitarius of the SHR: novel insight for neurogenic hypertension? Auton Neurosci, v.142, n.1-2, Nov 3, p.25-31. 2008.

Wang, J. S. Effects of exercise training and detraining on cutaneous microvascular function in man: the regulatory role of endothelium-dependent dilation in skin vasculature. Eur J Appl Physiol, v.93, n.4, Jan, p.429-34. 2005.

Wang, J. S., Lee, T. & Chow, S. E. Role of exercise intensities in oxidized low-density lipoprotein-mediated redox status of monocyte in men. J Appl Physiol, v.101, n.3, Sep, p.740-4. 2006.

Wassmann, S., Wassmann, K. & Nickenig, G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hypertension, v.44, n.4, Oct, p.381-6. 2004.

Wilcox, C. S. Reactive oxygen species: roles in blood pressure and kidney function. Curr Hypertens Rep, v.4, n.2, Apr, p.160-6. 2002.

Zalba, G., Beaumont, F. J., San Jose, G., et al. Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. Hypertension, v.35, n.5, May, p.1055-61. 2000.

Zanchetti, A. &Mancia, G. Cardiovascular reflexes and hypertension. Hypertension, v.18, n.5 Suppl, Nov, p.III13-21. 1991.

Zanettini, R., Bettega, D., Agostoni, O., et al. Exercise training in mild hypertension: effects on blood pressure, left ventricular mass and coagulation factor VII and fibrinogen. Cardiology, v.88, n.5, Sep-Oct, p.468-73. 1997.