

**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO OU RESISTIDO EM PARÂMETROS  
AUTONÔMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATAS HIPERTENSAS  
OOFORECTOMIZADAS**

**RENATA KELLY DA PALMA**

**São Paulo**

**2012**

**RENATA KELLY DA PALMA**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO OU RESISTIDO EM PARÂMETROS  
AUTONÔMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATAS HIPERTENSAS  
OOFORECTOMIZADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Nove de  
Julho, para obtenção do título de Mestre em  
Ciências da Reabilitação.

**Orientadora: Profa. Dra. Kátia De Angelis**

**São Paulo  
2012**

Palma, Renata Kelly da.

Efeitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em parâmetros autonômicos e de estresse oxidativo em ratas hipertensas ooforectomizadas. /Renata Kelly da Palma. 2012.

115 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação. Universidade Nove de Julho.

Orientador: Profa Dra Kátia De Angelis

1. Menopausa 2. Hipertensão 3. Treinamento físico

CDU 615.8

São Paulo, 13 de dezembro de 2012.

**TERMO DE APROVAÇÃO**

Aluno(a): RENATA KELLY DA PALMA

Título da Dissertação: "Efeitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em parâmetros autonômicos e de estresse oxidativo em ratas hipertensas ooforectomizadas"

Presidente PROFA. DRA. KATIA DE ANGELIS



Membro: PROF. DR. BRUNO RODRIGUES



Membro: PROF. DR. JOSE ANTONIO SILVA JUNIOR



## ***DEDICATÓRIA***

***Dedico a minha mãe.***

## **AGRADECIMENTOS**

*Primeiramente gostaria de agradecer a uma força maior que permite nossa existência e nós da oportunidade para alcançarmos tudo que almejamos.*

*À minha querida mãe, mulher de fibra, guerreira, que me ensinou a viver em um mundo onde as coisas não acontecem se não existir muito trabalho e persistência. Ensinou-me o valor da verdade, lealdade e dignidade.*

*Agradeço minha base familiar que me deixa cair porém me levanta em seguida, pois a queda faz parte da aprendizagem. Minha Vó Ina, por me permitir ter uma infância maravilhosa regada a mimos e carinhos, uma adolescência com os melhores conselhos e um presente com muito apoio e incentivo na vida acadêmica.*

*Ao meu irmão que sempre esteve presente nos momentos que mais precisei.*

*Aos meus amigos que estiveram ao meu lado nessa caminhada, compreendendo minha distância nesse momento. Meleca, Infinita, Panga, Goran e Dri.*

*Ao Prof. Dr. Cesar Casarin, culpado de tudo isso. A primeira pessoa que acreditou e enxergou uma pesquisadora em mim.*

*Aquela que está acima da média: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia De Angelis. Uma orientadora por acaso ou uma orientanda por acaso? Essa pergunta se torna pequena quando se observa o caminho que ela me conduziu para eu chegar até aqui. Agradeço por me aceitar, por me orientar, por tornar as coisas mais simples e por me mostrar os “macetes” da vida em situações adversas.*

*Aos amigos e colegas do Laboratório de Fisiologia Translacional. Nada seria possível sem uma ótima equipe. Obrigada por me receberem de braços abertos em um grupo tão*

*sólido por tanto tempo. Obrigada por me ensinarem absolutamente tudo, desde cuidar de um rato até como utilizar uma pipeta. Obrigado por permitirem que eu consolidasse amizades verdadeiras. Em especial aos: Fiel escudeiro (Guilherme) por encontrar em você um irmão, Malfibrooklin (Prof<sup>a</sup> Christiane) por apostar no meu potencial, Catcoração (Catarina) por acreditar que vale a pena me ajudar, Meu baiano preferido (in memoriam Thayguara) pelas horas inesquecíveis de conversas sobre a vida, DaniGabriela (Danielle) por me fazer acreditar que ainda existem muitas pessoas do bem nesse mundo maluco e a Natinha (Nathalia) por nunca negar ajuda e estar sempre sorrindo.*

*Obrigada a todos que fizeram parte dessa conquista direta ou indiretamente.*

***Agradeço a Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro.***

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do treinamento resistido ou aeróbio no controle autonômico cardiovascular e no estresse oxidativo em ratas ooforectomizadas hipertensas. Ratas fêmeas espontaneamente hipertensas (SHR) foram divididas em 4 grupos (n=8 cada): sedentário (HS), ooforectomizado sedentário (OHS), ooforectomizado treinado aeróbio (OHTa) e ooforectomizado treinado resistido (OHTr). O treinamento aeróbio (TA) foi realizado em esteira e o treinamento resistido (TR) em escada vertical com pesos fixados na cauda (5 dias/semana; 8 semanas). A pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) foram registradas de forma direta; a sensibilidade do baroreflexo (SBR) foi avaliada pelas respostas bradicárdicas (RB) e taquicárdicas (RT); e a modulação autonômica foi avaliada nos domínios do tempo e da frequência. O estresse oxidativo foi avaliado em tecido cardíaco pela lipoperoxidação, pelo dano a proteínas, pela razão glutatona reduzida/glutatona oxidada (GSSG/GSH) e pelas enzimas antioxidantes, catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx). A ooforectomia induziu aumento da PA, redução da RT, aumento da modulação simpática vascular, do balanço simpato-vagal cardíaco e da lipoperoxidação. O treinamento físico induziu redução na PA média (OHTa :146±3,1 e OHTr: 159±2,2 vs. HS:168±3,4 e OHS:177±3,4 mmHg) e bradicardia de repouso (OHTa: 331±6 e OHTr: 332±9 vs. HS: 363± e; OHS: 356±5 bpm). nos grupos OHTa e OHTr em relação aos sedentários. O TA aumentou a RT em relação aos outros grupos; no entanto, a RB foi aumentada para ambos, OHTa e OHTr em relação aos grupos HS e OHS. Ambos os treinamentos atenuaram o aumento da modulação simpática vascular e o TA aumentou modulação parassimpática cardíaca e a SBR espontânea (índice alfa). A lipoperoxidação foi reduzida nos grupos treinados em relação aos grupos sedentários (OHTr: 3649 ± 168 e OHTa: 4202 ± 310 vs. OHS: 6514 ± 547 e HS: 6661 ± 566 cps/mg proteína). O dano a



proteínas também foi reduzido nos grupos treinados. A relação GSSG/GSH não diferiu entre os grupos, no entanto, a GSSG foi maior no grupo OHTa em comparação aos outros grupos e a GSH foi menor no grupo OHTr em comparação com OHTa. A CAT foi maior nos grupos treinados em relação ao grupo HS. A atividade da SOD aumentou nos grupos OHTa e OHTr em relação aos grupos sedentários. Aumento adicional da CAT foi observada no grupo OHTa e da SOD no grupo OHTr. A atividade da GPx foi maior no grupo OHTr em relação ao grupo OHS. Além disso, a lipoperoxidação e o dano a proteínas apresentaram correlação positiva com VAR-PAS e negativa com RMSSD. Concluindo, o treinamento físico resistido ou aeróbio induziu redução da PA e da FC acompanhada de atenuação da disfunção autonômica em ratas SHR ooforectomizadas. Essas alterações estão provavelmente associadas a redução do estresse oxidativo induzido pela melhora no controle autonômico cardiovascular.

**PALAVRAS CHAVES:** Menopausa, Hipertensão e Treinamento Físico.

## Abstract

The purpose of the present study was to investigate the effects of or resistance or aerobic exercise on cardiovascular autonomic control and oxidative stress in ovariectomized hypertensive rats. Female spontaneously hypertensive rats (SHR) were divided into 4 groups (n=8 each): sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO) and resistance trained ovariectomized (HRTO). The aerobic training (AT) was performed on a treadmill and the resistance exercise training (RT) was performed on a vertical ladder with weights attached to rat tail (5days/week, 8 weeks). Arterial pressure (AP) and heart rate (HR) were directly recorded; baroreflex sensitivity (BRS) was evaluated by bradycardic (BR) and tachycardic responses (TR) and autonomic modulation was evaluated by time-domain and frequency-domain. Oxidative stress was evaluated in cardiac tissue by lipid peroxidation, protein oxidation, the ratio glutathione reductase/glutathione oxidized (GSSG/GSH) and catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) antioxidant enzyme activities. The ovariectomy induced increase in BP, TR reduction, increased vascular sympathetic modulation, cardiac sympatho-vagal balance and lipid peroxidation. The exercise training induced a reduction in BP (HATO:  $146 \pm 3.1$  e HRTO:  $159 \pm 2.2$  vs. HS:  $168 \pm 3.4$  e HSO:  $177 \pm 3.4$  mmHg) and bradycardia (HATO:  $331 \pm 6.4$  and HRTO:  $332 \pm 9$  vs. HS:  $363 \pm 7$  and HSO:  $356 \pm 5.1$  bpm) in HATO and HRTO groups in compared to sedentary groups. AT increased TR in relation to other groups. However, BR was better for both HATO and HRTO in relation to HS and HSO groups. Both exercise trainings attenuated the increased vascular sympathetic modulation and AT improved parasympathetic modulation and spontaneously BRS ( $\alpha$  index). Lipid peroxidation was reduced in trained groups in relation to sedentary groups (HRTO:  $3649 \pm 168$  and HATO:  $4202 \pm 310$  vs. HSO:

6514±547 and HS: 6661±566 cps/mg protein). The protein carbonylation reduced in trained groups as well. The ratio GSSG/GSH did not differ between groups, however GSSG was higher in HATO group as compared to other groups and GSH was lower in HRTO group as compared to HATO. CAT was higher in trained groups in compared to HS. SOD activity increased in HATO and HRTO in relation to sedentary groups. Additional enhancement was observed: for CAT in HATO group and for SOD in HRTO group. GPx activity was higher in HRTO in relation to HSO. Moreover, lipid peroxidation and protein carbonylation showed a correlations with VARPAS and RMSSD. In conclusion, resistance or aerobic exercise training induced a reduction in AP and HR related to attenuation of autonomic dysfunction in SHR ovariectomized rats. These changes were probably related to autonomic-induced improvement in cardiac oxidative stress profile.

**KEYWORDS:** Menopause, Hypertension, Aerobic Exercise Training, Resistance Exercise Training.

## SUMÁRIO

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b> _____	<b>Pg.1</b>
<b>OBJETIVOS</b> _____	<b>Pg.9</b>
<b>MÉTODOS</b> _____	<b>Pg.10</b>
<b>ANÁLISE DOS DADOS</b> _____	<b>Pg.22</b>
<b>RESULTADOS</b> _____	<b>Pg.23</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> _____	<b>Pg.52</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> _____	<b>Pg.53</b>
<b>ANEXO A-</b> Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais _____	<b>Pg.64</b>
<b>ANEXO B-</b> Carta de Submissão do artigo para revista <i>Hypertension</i> _____	<b>Pg.68</b>
<b>ANEXO C-</b> Artigo aceito para publicação _____	<b>Pg.70</b>

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

**Quadro 1.** Sequência experimental do projeto\_\_\_\_\_ Pg.11

**Quadro 2.** Modelo de treinamento físico aeróbio\_\_\_\_\_ Pg.13

**Quadro 3.** Resumo da prescrição do treinamento físico resistido na escada\_\_\_\_\_ Pg.15

**Table 1.** Hemodynamic evaluations in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups\_\_\_\_\_ Pg.41

**Table 2.** Cardiovascular autonomic modulation in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups\_\_\_\_\_ Pg.42

**Table 3.** Cardiac oxidative stress evaluations in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups\_\_\_\_\_ Pg.43

**Tabela 4.** Pearson correlations involving all studied animals\_\_\_\_\_ Pg.44

## LISTA DE FIGURAS

**Figure 1.A**, Baroreflex sensitivity (BRS) evaluated by tachycardic response; **B**, BRS evaluated by bradycardic response; and **C**, Spontaneous BRS evaluated by  $\alpha$  index in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups.

\*  $p \leq 0.05$  vs. HS; #  $p \leq 0.05$  vs HOS; †  $p \leq 0.05$  vs. HATO

## LISTA DE ABREVIATURAS

**CAT:** Catalase

**DCV:** Doença Cardiovascular

**DNPH:** Dinitrofenil Hidrazina

**ERO:** Espécies Reativas de Oxigênio

**FC:** Frequência cardíaca

**FFT:** Transformada Rápida de Fourier

**GPx:** Glutathione Peroxidase

**GSH:** Glutathione reduzida

**GSSG:** Glutathione oxidada

**GSH/GSSG:** Balanço Redox

**HAS:** Hipertensão Arterial Sistêmica

**HF:** Banda de Alta frequência

**HS:** Hipertenso sedentário

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de Hidrogênio

**IP:** Intervalo de pulso

**KCL:** Cloreto de Potássio

**LF:** Banda de Baixa frequência

**NO:** Óxido Nítrico

**OHS:** Hipertenso ooforectomizado sedentário

**OHTa:** Hipertenso ooforectomizado treinado aeróbio

**OHTr:** Hipertenso ooforectomizado treinado aeróbio

**OVX:** Ooforectomizada

**PA:** Pressão arterial

**PAD:** Pressão arterial diastólica

**PAM:** Pressão arterial média

**PAS:** Pressão arterial sistólica

**QL:** Quimiluminescência

**RB:** Resposta Bradicárdica

**RMSSD:** Raiz quadrada da média da soma dos quadrados das diferenças entre intervalos adjacentes (atividade parassimpática)

**RT:** Resposta Taquicárdica

**SHR:** Ratos Espontaneamente Hipertensos

**SBR:** Sensibilidade barorreflexa

**SOD:** Superóxido Dismutase

**t-BOOH:** Hidroperóxido de Tert-Butil

**TBARS:** Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

**TCA:** Ácido Tricloroacético

**VAR-IP:** Variabilidade do Intervalo de Pulso

**VPA:** Variabilidade da Pressão Arterial

**VFC:** Variabilidade da Frequência Cardíaca



## **1. CONTEXTUALIZAÇÃO**

### **1.1 Menopausa e Disfunção autonômica**

A causa mais importante de morte entre homens e mulheres, são as doenças cardiovasculares (DCV) (BRASIL, 1998; CASTANHO et al., 2001). O índice é maior em homens (39%) do que em mulheres entre 45 e 64 anos, porém após os 65 anos esse quadro se inverte e essa taxa se torna maior em mulheres (22%) (NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS, 1997; AHA STATISTICAL UPDATE, 2012). Com a entrada da mulher no mercado de trabalho a partir dos anos 60, a incidência de mortalidade por DCV aumentou, devido a uma maior exposição ao estresse, maus hábitos alimentares e fumo. No Brasil essa taxa aumentou de 10 para 25% nos anos 60 e 70 (CASTANHO et al., 2001).

Entre as mulheres o início da equivalência das taxas de eventos cardiovasculares coincide com o advento da menopausa, que leva a privação estrogênica (BRENNER, 1988). Mulheres que tem a menopausa mais cedo (<40 anos), apresentam dois anos a menos na expectativa de vida comparada com mulheres que tem a menopausa em idade normal ou tardia (OSSEWAARDE et al., 2005). Por esses motivos são atribuídos papel de cardioprotetor aos estrogênios (STAMPFER et al., 1991).

O diabetes, o excesso de peso e a obesidade, o fumo, a inatividade física, a hipertensão e a hipercolesterolemia são considerados fatores de riscos para DCV (CASTANHO et al., 2001). Grande parte desses fatores está ligada a alterações no controle do sistema nervoso autonômico sobre o sistema cardiovascular. A manutenção da função cardíaca normal é realizada através da regulação neural cardíaca pela integração da atividade do sistema nervoso simpático e parassimpático. Além disso, a homeostase cardiovascular depende da atuação dos reflexos

originados pelos pressoreceptores arteriais, pelos cardiopulmonares e por sua paridade e integração central (MANCIA et al., 1994). De uma maneira geral, as alterações da atividade simpática são bem mais conhecidas e estudadas que as do parassimpático nas DCV, constituindo as mais fortes evidências da disfunção autonômica (DE ANGELIS et al., 2004b).

Kuo e colaboradores (1999) mostraram que o sexo feminino antes da privação de hormônios apresentam maior predomínio vagal e maior sensibilidade dos pressoreceptores, portanto, maior proteção cardiovascular em relação ao sexo masculino. Entretanto, é importante enfatizar que essa proteção autonômica cardiovascular apresentada pelo sexo feminino é atenuada após a privação dos hormônios ovarianos (KUO et al., 1999).

A DCV na mulher após menopausa, muitas vezes envolve alterações na pressão arterial (PA) e em sua regulação. Considerando-se que a PA é mais elevada em homens do que em mulheres até a faixa etária de 60 anos (BURT et al., 1995). Após esta fase, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) (particularmente a sistólica) aumenta nas mulheres e a torna-se mais prevalente (STAMLER et al., 1976) ou pelo menos igualmente prevalente em homens e mulheres. Alguns estudos demonstram que os hormônios ovarianos podem ser responsáveis pela PA mais baixa em mulheres pré-menopausa e, na sua falta ou redução, também pelo aumento da PA em mulheres menopausadas (STAESSEN et al., 1997; STAMPFER et al., 1991) e em modelos animais de menopausa (RECKELHFF et al., 2000; HERNANDEZ et al., 2000; IRIGOYEN et al., 2005; FLUES et al., 2010).

O estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) vem sendo muito utilizado para avaliar o controle autonômico. A variabilidade natural dos parâmetros da FC e PA reflete a interação de diversos fatores que, em sua maioria, envolvem uma influência do sistema nervoso

autônomo sobre o aparelho cardiovascular (JOAQUIM et al., 2005). Hoje sabe-se que irregularidades na variabilidade da FC e da PA significam algum tipo de anormalidade, e que a diminuição da variabilidade da FC é um mau prognóstico (RIBEIRO e MORAES, 2005). Além disto, a avaliação da VFC e da variabilidade da PA (VPA) e de seus componentes também permite a avaliação da sensibilidade espontânea dos pressorreceptores, que são mecanorreceptores responsáveis pelo controle da PA através da atividade simpática e parassimpática a curto prazo (DE ANGELIS et al., 2004b; IRIGOYEN et al., 2003). Neste aspecto, vale destacar que o controle reflexo da circulação comandado pelos barorreceptores tem sido reconhecido também como um importante preditor de risco após evento cardiovascular (LA ROVERE et al., 2002).

## **1.2 Menopausa e Estresse oxidativo**

São multifatoriais os mecanismos pelo qual o estrogênio pode prevenir o desenvolvimento de DCV, entre eles incluem-se alterações no metabolismo lipídico, ações nos componentes das paredes vasculares (endotélio, músculo liso e células adventícias) e em elementos do sangue (plaquetas e leucócitos), bem como alterações no controle autonômico cardiovascular (MILLER, 1999). O estrogênio possui estrutura hidrofênolica, na qual o hidrogênio é doado para uma molécula instável, tornando-se um radical menos lesivo, estabilizando a molécula, retirando do meio um radical livre. Assim, o estrogênio tem ação antioxidante importante agindo como “scavenger” ou “o que captura” espécies reativas de oxigênio (ERO), estimulando a ativação de mais enzimas antioxidantes, aumentando a expressão da enzima superóxido dismutase, e concomitantemente aumentando a produção de mediadores vasoativos derivados do endotélio e diminuindo a expressão de enzimas pró-oxidantes (NADPH oxidase) (NIKI, 1992; KIM et al., 1996). As EROs são substâncias com alta reatividade para

outras biomoléculas, principalmente lipídios e proteínas das membranas celulares e para o DNA (DORMANDY, 1978; SIES, 1986) e produzem estresse oxidativo quando as defesas antioxidantes da célula são insuficientes para deter a produção oxidante (NORDMANN, 1994). Além disto, pode ocorrer uma diminuição expressiva do óxido nítrico (NO) quando as ERO são produzidas em grande quantidade, o que induz prejuízo na função endotelial e cardíaca (PANZA et al., 1990). As enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) e o sistema não enzimático são mecanismos que todas as células aeróbias possuem para combater os efeitos agressivos das ERO (DORMANDY, 1978; SIES, 1986).

O estudo de Berry e colaboradores (2001) mostraram que pacientes com hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes, fumantes, e até mesmo no processo fisiológico do envelhecimento apresentavam disfunção da vasodilatação e do endotélio e estresse oxidativo.

Além disto, é importante ressaltar que em trabalhos realizados em nosso grupo a melhora em parâmetros cardiovasculares e autonômicos têm sido correlacionados com a redução do estresse oxidativo e o aumento das enzimas antioxidantes em ratos machos velhos, com insuficiência cardíaca ou hipertensão e em ratos fêmeas submetidos à privação dos hormônios ovarianos (DE ANGELIS et al., 1997; RABELO et al., 2001; IRIGOYEN et al., 2005; BERTAGNOLLI et al., 2006). Neste sentido, vale lembrar que estresse oxidativo destaca-se como um potencial mecanismo que pode estar envolvido na disfunção dos pressorreceptores, (CHOWDHARY et al., 2000; DE ANGELIS et al., 1999), que pode alterar a distensibilidade arterial (KASSIS e AMTORP, 1987), bem como o efeito direto do NO ou do ânion superóxido pode modificar a descarga dos pressorreceptores (LI et al., 1996; SHULTZ e USTINOVA, 1998).

### **1.3. Treinamento físico e Menopausa**

O sedentarismo, que é maior entre mulheres após a menopausa (SOWERS e LA PIETRA, 1995), parece ser um dos mais importantes fatores de risco cardiovascular nas sociedades modernas (REGO et al., 1990). Mudanças no estilo de vida favorecem a diminuição dos fatores de risco para DCV. O Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, a World Health Organization, a European Society of Hypertension e o National High Blood Pressure Education Program recomendam intervenções como atividade física regular para prevenção e tratamento da HAS (PESCATELLO et al., 2004).

Nosso grupo vem estudando há alguns anos os efeitos do treinamento físico dinâmico aeróbio em modelos animais, ratos e camundongos machos, como uma abordagem não farmacológica capaz de induzir alterações favoráveis na regulação autonômica cardiovascular, bem como tem buscado os possíveis mecanismos, entre eles o estresse oxidativo, envolvidos nos benefícios dessa abordagem (DE ANGELIS et al, 1997, DE ANGELIS et al., 1999, DE ANGELIS et al., 2000, PARENTE COSTA et al., 2004, DE ANGELIS et al., 2004a, BERTAGNOLLI et al., 2006, HARTHMANN et al., 2007).

Sugawara e colaboradores (2004), em estudo com mulheres após a menopausa, verificaram que o treinamento físico de baixa ou de moderada intensidade melhorou a complacência arterial. Sabe-se que a redução na complacência arterial resulta no aumento progressivo da pressão arterial sistólica (PAS) relacionado ao envelhecimento, aumentando também a função ventricular esquerda, diminuindo a pressão diastólica, e com isso alterando a perfusão coronariana.

Um trabalho realizado em nosso laboratório demonstrou que o treinamento físico aeróbio em um modelo de menopausa em ratas induziu melhora da sensibilidade dos pressorreceptores, redução do peso corporal, bradicardia de repouso e normalização dos valores de PA (que estavam elevados nas ratas submetidas à privação estrogênica) (IRIGOYEN et al., 2005). Davy e colaboradores (1996) mostraram que mulheres menopausadas fisicamente ativas têm melhor sensibilidade barorreflexa e variabilidade da FC quando comparadas a mulheres menopausadas menos ativas.

Vale ressaltar que nosso grupo evidenciou normalização da PA após um protocolo de treinamento físico em ratas Wistar ooforectomizadas (IRIGOYEN et al., 2005 e SOUSA et al., 2007). Recentemente Figueroa e colaboradores (2011) verificaram uma melhora sistêmica na rigidez arterial, na hemodinâmica e na força muscular em mulheres pós-menopausa que realizaram exercícios combinados (aeróbio e resistido) de intensidade moderada.

Lembrando que a HAS em mulheres, quadriplica o risco de doença coronariana quando comparadas a mulheres normotensa e contribui para aproximadamente 35% dos eventos cardiovasculares e 45% dos infartos do miocárdio não diagnosticado (WELTY, 2004). Alguns estudos demonstraram que o treinamento físico promove a redução dos níveis pressóricos em homens e mulheres, pré ou pós-menopausa (WHELTON et al., 2002; KELLEY, 1999; SEALS et al., 1997). A atenuação da disfunção barorreflexa após treinamento físico dinâmico em indivíduos hipertensos é um dos fatores que pode contribuir para reduzir a PA (SILVA et al., 2010; BRUM et al., 2000; O'SULLIVAN e BELL, 2000; BERTAGNOLLI et al., 2006).

Neste sentido, considerando os benefícios do treinamento aeróbio em mulheres após advento da menopausa e modelos experimentais de menopausa, quais poderiam ser esses

benefícios no tratamento da hipertensão? Sendo assim há muitos anos modelos animais vêm sendo utilizados no estudo dessa patologia (PALMA et al., 2012). Dentre os modelos genéticos de hipertensão, podemos citar os ratos com hipertensão espontânea (SHR), que apresentam hiperatividade simpática e diminuição da sensibilidade barorreflexa (KRIEGER et al., 1999). Dessa forma estudos com ratos hipertensos após treinamento aeróbio demonstraram redução da PA de repouso, associada à diminuição da atividade simpática periférica e/ou do débito cardíaco (VERAS-SILVA et al., 1997). Neste aspecto, a normalização do exacerbado tônus simpático cardíaco estaria associada a bradicardia de repouso e, conseqüentemente, a redução do débito cardíaco (GAVA et al., 1995; VERAS-SILVA et al., 1997).

Por outro lado recentemente dados publicados pelo nosso grupo, demonstraram que a redução da PA em ratas SHR ooforectomizadas submetidas ao treinamento aeróbio, estava associado ao aumento do tônus vagal e não redução do tônus simpático como verificado em ratos machos SHR (SANCHES et al., 2012). Esses dados demonstram a diferença entre gêneros na manutenção da PA. Estudos evidenciam que, no climatério há uma considerável diminuição na capacidade de exercício, força e resistência muscular e massa óssea (SOWERS e LA PIETRA, 1995). Sendo assim, o treinamento resistido aumenta a força, potência e resistência muscular (CARDOSO et al., 2010), prevenindo e tratando a osteoporose em mulheres pós – menopausa (HOWE et al, 2011). Antigamente acreditava-se que exercício resistido poderia aumentar a PA, porém em uma metanálise, Fargard e colaboradores (2006) demonstraram claramente que esse conceito está incorreto. Verificou-se que na população em geral que o treinamento resistido reduziu PAS e diastólica (PAD) em 3,2 e 3,5 mmHg, respectivamente. Lembrando que a redução da PA diminui o risco de doença coronariana em 9%, de acidente vascular cerebral em 4% e de todas as causas de mortalidade em 4% (PESCATELLO et al., 2006). Na metanálise de

Fargat e colaboradores (2006) somente 3 estudos investigaram hipertensos e somente um estudo mostrou redução significativa da PAD (CORNELISSEN et al., 2010); entretanto, essa redução não foi significativa quando comparadas ao grupo controle. Além disso, somente dois estudos investigaram os efeitos de exercícios resistidos na ambulatorial. Esses estudos não verificaram alterações na pressão sanguínea após treinamento em normotensos ou hipertensos (MANCIA et al., 2009). A incapacidade de observar os efeitos hipotensores do treinamento de resistido pode estar relacionada com a ausência de redução da atividade nervosa simpática após esse tipo de treinamento. No entanto, futuros estudos são necessários para compreender os efeitos do treinamento resistido sobre a PA (CARDOSO et al., 2010).

Forjaz e colaboradores (2003) recomendam exercícios resistidos de baixa intensidade para hipertensos, porque nesses ocorre uma pequena elevação da PA, o que é considerado seguro. Faria e colaboradores (2010) avaliaram o efeito de uma sessão de treinamento resistido em ratos machos SHR e observaram uma redução da PA e aumentou o relaxamento dependente do endotélio.

Todavia, deve-se considerar que a maior parte dos trabalhos publicados na literatura com relação aos efeitos autonômicos do treinamento físico em animais e humanos foram realizados em amostras do sexo masculino ficando a dúvida se o sexo feminino, em situações fisiológicas, como o climatério, se adaptaria de forma semelhante ao treinamento físico.

Além disto, ainda não foram bem estudados os efeitos em parâmetros de modulação cardiovascular e de estresse oxidativo do treinamento físico aeróbio ou resistido na associação de dois fatores de risco, privação de hormônios e hipertensão.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Verificar os efeitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em parâmetros de controle autonômico cardiovascular e de estresse oxidativo em ratas SHR submetidas à privação de hormônios ovarianos.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em ratas SHR submetidas à privação dos hormônios ovarianos nas seguintes variáveis:

- capacidade física;
- pressão arterial e frequência cardíaca;
- sensibilidade barorreflexa;
- modulação autonômica cardíaca e vascular;
- lipoperoxidação e dano a proteína no tecido cardíaco;
- balanço redox da glutathiona (GSH/GSSG) no coração;
- atividade de enzimas antioxidantes no tecido cardíaco.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Amostra

Foram utilizados 32 ratas fêmeas espontaneamente hipertensas (SHR), provenientes do Biotério do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul com aproximadamente 10 semanas de vida (190-220g). Esse trabalho foi analisado e aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa com animais da Universidade Nove de Julho segundo parecer número 0035/2011. Os animais foram mantidos em gaiolas, contendo no máximo 6 animais em cada uma, em ambiente com temperatura controlada (22<sup>o</sup> - 24<sup>o</sup>C) e com luz controlada em ciclo de 12 horas (claro - escuro, invertido). Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais com 8 ratas em cada grupo:

Grupo I - **Hipertenso sedentário (HS)**: foram acompanhadas por 9 semanas e avaliadas na fase não ovulatória do ciclo estral.

Grupo II- **Ooforectomizado hipertenso sedentário (OHS)**: foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e acompanhadas por 8 semanas.

Grupo III - **Ooforectomizado hipertenso treinado aeróbio (OHTa)**: foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e a treinamento físico em esteira ergométrica rolante (Imbramed TK-01) durante 8 semanas.

Grupo IV- **Ooforectomizado hipertenso treinado resistido (OHTr)**: foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e a treinamento físico resistido em escada adaptada para ratos por 8 semanas.

### 3.2. Sequência experimental

**Quadro 1:** Sequência experimental do projeto.

	Dia 1	Dia 2-6	Dia 7	Dia 8 e 36	Dia 74-75	Dia 75...	Dia 76...	Dia 77...
Ooforectomia Bilateral	X							
Adaptação à esteira		X						
Adaptação à escada		X						
Teste de esforço máximo aeróbio			X		X			
Teste de esforço máximo resistido			X		X			
Início do Programa de treinamento físico				X				
Término do Programa de treinamento físico					X			
Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas						X		
Eutanásia							X	
Estresse e Enzimas Oxidativas								X

### 3.3. Ooforectomia Bilateral

As ratas foram anestesiadas com cloridrato de cetamina (Ketalar) e cloridrato de xilazina (Rompum) e colocadas em decúbito dorsal para que se realizasse uma pequena incisão (1cm) em paralelo com a linha do corpo na pele e na musculatura no terço inferior na região abdominal. Os

ovários foram localizados e realizou-se a ligadura dos ovidutos, incluindo os vasos sanguíneos. Os ovidutos foram seccionados e os ovários removidos. A musculatura e a pele foram suturadas e uma dose de antibiótico foi administrada (Benzetacil, 40 000 U/Kg, i.m) (LATOUR et al., 2001; IRIGOYEN et al., 2005).

### **3.4. Teste de Esforço Máximo**

Uma semana após a ooforectomia, o teste de esforço máximo constituiu em um protocolo escalonado com incrementos de velocidade de 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que fosse atingida a velocidade máxima suportada pelos animais. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o rato não fosse mais capaz de correr mediante o incremento de velocidade da esteira (BROOKS e WHITE, 1978). Antes deste procedimento, os animais foram adaptados por 5 dias a esteira ergométrica (10 min a 0,3 km/h). Observa-se relação entre velocidade atingida no teste de esforço e a medida direta do consumo de oxigênio em ratos (RODRIGUES et al., 2006).

### **3.5. Treinamento Físico Aeróbio**

O grupo de ratas treinadas foi submetido a um protocolo de treinamento físico (50-70% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço) em esteira ergométrica com velocidade e carga progressiva durante 8 semanas conforme descrito resumidamente abaixo (IRIGOYEN et al., 2005, SOUZA et al., 2007).

**Quadro 2:** Modelo de treinamento físico aeróbio

Semana	Duração (min)	Velocidade (Km/h)
1 <sup>a</sup>	15 – 23	0,3 – 0,9
2 <sup>a</sup>	23 – 50	0,3 – 1,1
3 <sup>a</sup>	47 – 55	0,3 – 1,1
4 <sup>a</sup>	55 – 60	0,3 – 1,2
5 <sup>a</sup>	60	0,3 – 1,4
6 <sup>a</sup>	60	0,3 – 1,5
7 <sup>a</sup>	60	0,3 – 1,5
8 <sup>a</sup>	60	0,3 - 1,5

### **3.6. Teste de Carga Máxima**

O treinamento físico resistido foi realizado em uma escada adaptada para ratos com aproximadamente 54 degraus verticais de 0,5 cm. Com base em estudos publicados sobre o treinamento de força em ratos (SILVEIRA et al., 2011; HORNBERGER et al., 2004), para determinação da carga máxima, admitiu-se que os animais devem realizar, no máximo, 8 escaladas, valorizando o metabolismo anaeróbio. Na escalada inicial foi aplicada uma carga relativa a 75% do peso corporal do animal. Após completar a escalada carregando essa carga com sucesso, o animal descansou por 2 minutos antes de realizar a próxima subida, com um peso

adicional de 30 gramas. Esse procedimento foi sucessivamente repetido até que o animal não consiga completar a escalada\* carregando o peso.

\* completar a escalada: para efeito de padronização, estabeleceu-se que o animal que “escorregar” para baixo estará exausto, ou seja, quando os dedinhos do rato não conseguirem manter-se segurando no degrau, ainda que o animal estiver parado, a qualquer sinal de “regressão” considera-se que o animal não suportará a subida com aquela carga.

### **3.7.Treinamento Físico Resistido Dinâmico**

Considerando que os efeitos do treinamento resistido não são tão esclarecidos como os do aeróbio, e sabendo que os animais utilizados no presente estudo apresentaram uma série de complicações decorrentes da hipertensão, a intensidade do treinamento foi entre 50-60% da carga máxima obtida no teste de esforço, de acordo com o proposto por Willians e colaboradores (2007) para pessoas com fatores de risco cardiovascular. O número de escaladas (repetições) e o peso (carga) carregado foi aumentado progressivamente ao longo das 8 semanas, sempre com intervalo de 1 minuto entre as subidas. A prescrição do treinamento físico segue detalhada no Quadro 1. Ao final da 4ª semana, foi realizado um novo teste de carga máxima (intermediário) para reajuste da carga de treinamento, em função do novo nível de condicionamento físico.

**Quadro 3:** Resumo da prescrição do treinamento físico resistido dinâmico na escada.

<b>Semana</b>	<b>Escaladas</b>	<b>Intensidade</b>
<b>1</b>	15	40%
<b>2</b>	15	40%
<b>3</b>	15	50%
<b>4</b>	15	50%
<b>5</b>	20	50%
<b>6</b>	20	50%
<b>7</b>	20	60%
<b>8</b>	20	60%

### **3.8. Avaliações Hemodinâmicas**

#### **3.8.1. Canulação e Registro de Pressão Arterial**

Após 9 semanas de protocolo, as ratas foram anestesiadas (i.p.) com cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocadas em decúbito dorsal para que se realize uma pequena incisão na região do pescoço para implantação de uma cânula na artéria carótida em direção ao ventrículo esquerdo, para registro direto da PA e na veia jugular para administração das drogas. Após a correta e firme implantação das cânulas na artéria carótida e veia jugular, as extremidades mais calibrosas das cânulas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele. As cânulas foram confeccionadas com tubos de Policloreto de Vinila (Abbott) equivalente ao polietileno PE10 e PE50. Estes foram soldados por aquecimento e logo

após, as cânulas foram preenchidas com solução fisiológica e mantidas ocluídas com pinos de aço inoxidável (DE ANGELIS et al., 1999, 2000; IRIGOYEN et al., 2005).

No dia seguinte à canulação, com o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético (Blood Pressure XDCR, Kent<sup>©</sup> Scientific, Litchfield, CT, EUA) que, por sua vez, esteve conectado a um pré-amplificador (STEMTECH BPMT-2, Quintron Instrument<sup>©</sup> Inc, Milwaukee, EUA). Sinais de PA foram gravados durante um período de 30 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, 1Kz, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para estudo dos valores de PAS, PA diastólica (PAD), PA média (PAM) e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA.

### **3.8.2. Avaliação da Sensibilidade dos Pressorreceptores**

Após o registro da PA e da FC, uma extensão de aproximadamente 20 cm (PE10) foi conectada na cânula venosa para posterior injeção de drogas vasoativas. Após os animais terem permanecido em condições de repouso por 15 minutos, a sensibilidade dos pressorreceptores foi testada através da infusão de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio. Fenilefrina e nitroprussiato foram infundidos randomicamente entre os animais, iniciando-se a sessão com um ou outro fármaco.

Para análise da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi comparado aos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi comparada com os valores de FC do período controle, imediatamente antes da injeção das



drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM.

### **3.8.3 Avaliação da Modulação Autonômica Cardiovascular**

A partir do registro basal dos animais acordados, foi possível utilizar a ferramenta de análise tempo-frequência da variabilidade da PAS. Os parâmetros para análise no domínio do tempo consistiram em calcular os valores médios da PAS, sendo a sua variabilidade quantificada pela variância da PAS.

A análise no domínio da frequência consistiu da decomposição do sistograma pela Transformada Rápida de Fourier (FFT). Após esse remodelamento matemático, foram obtidas as potências absolutas da banda de baixa frequência (BF: 0,20-0,75 Hz) (SOARES et al., 2004).

A variabilidade do intervalo de pulso foi obtida pela análise do tacograma a partir do registro da PAS, no qual a frequência dos batimentos foi determinada pelo intervalo entre dois picos sistólicos. Para essa análise foram utilizados registros estáveis, de no mínimo 5 minutos e com frequência de amostragem de 2.000 Hz. Também dois componentes foram obtidos na análise espectral: muito baixa frequência (MBF: banda de muito baixa frequência), baixa frequência (BF: 0,20-0,75 Hz) e alta frequência (AF: 0,75-3,0 Hz). O componente BF foi usado como um índice da atividade simpática. O componente AF foi usado como um índice da atividade parassimpática. Além disso, avaliou-se também as variáveis % BF (banda de baixa frequência do intervalo de pulso), %AF (banda de alta frequência do intervalo de pulso), RMSSD (raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais sucessivos) e VAR-IP (variância do intervalo de pulso) (ISHISE e ASANOI et al., 1998).

Valores de batimento a batimento da pressão arterial sistólica e intervalo RR foram usados para estimar a sensibilidade barorreflexa pelo método de análise espectral, utilizando o índice alfa da banda BF (0,20–0,75hz). A coerência entre a variabilidade dos sinais de intervalos RR e pressão arterial sistólica será realizada pelo método de análise espectral cruzada. O índice alfa foi calculado somente quando a magnitude da coerência ao quadrado entre os sinais de RR e pressão arterial sistólica excederam 0,5 (amplitude 0 a 1) na banda BF depois do cálculo da coerência, o índice alfa foi extraído da raiz quadrada da razão da variabilidade entre RR e PAS nas duas principais bandas de BF (ISHISE e ASANOI et al., 1998).

### **3.9. Eutanásia dos Animais**

No dia seguinte ao término das avaliações hemodinâmicas, os animais de todos os grupos foram sacrificados por decapitação e o coração foi pesado e congelados para avaliações de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes. Este método foi escolhido em função de outros métodos poderem alterar parâmetros de estresse oxidativo.

### **3.10. Preparação dos Tecidos**

O coração foi coletado e homogeneizado durante 30 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax, com KCl 1,15% e fluoreto de fenil metil sulfonila (PMSF), na concentração de 100mmol/L em isopropanol e na quantidade de 10 $\mu$ L/mL de KCl adicionado. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 3000rpm, em centrífuga refrigerada entre 0 e 4°C (Eppendorf, 5804-R), e o sobrenadante foi congelado em freezer a -70°C para as dosagens (LLESUY et al., 1985).

### **3.11. Dosagem de Proteínas**

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

### **3.12. Dosagens de Estresse Oxidativo e Enzimas Antioxidantes**

#### **3.12.1. Medida de Lipoperoxidação (LPO): Quimiluminescência iniciada por t-BOOH (QL)**

O método constituiu em adicionar um hidroperóxido orgânico de origem sintética (o hidroperóxido de tert-butil – t-BOOH) ao homogeneizado de tecido, avaliando-se a capacidade de resposta produzida pela amostra. A quimiluminescência foi medida em um contador beta (TriCrab 2800TR, PerkinElmer) com o circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio. As determinações foram realizadas em câmara escura, em frascos de vidro mantidos na penumbra para evitar a fosforescência ativada pela luz fluorescente. O meio de reação no qual foi realizado o ensaio constituiu em 3,5 mL de uma solução tampão fosfato mmol/L, contendo KCl 140 mmol/L (pH 7,4), à qual foi adicionado 0,5 mL de homogeneizado cardíaco. Após esse momento, foi realizada uma leitura inicial, considerada como a emissão basal de luz pelo homogeneizado. O hidroperóxido de tert-butila foi usado na concentração de 400 mmol/L, dos quais foram adicionados 30 µL no meio de reação para obter-se uma concentração final de 3 mmol/L. Foi medida a emissão de luz e desta descontou-se a emissão basal do homogeneizado para fins de cálculo (GONZALES FLECHA et al., 1991).

### **3.12.7. Dosagem de Proteínas Carboniladas (Dano a proteínas)**

O ensaio para detecção das carbonilas é uma das técnicas utilizadas para a determinação de proteínas modificadas oxidativamente (REZNICK e PACKER, 1994). A técnica se baseia na reação das proteínas oxidadas do tecido com 2,4 dinitrofenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguido de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. Desta forma, a absorvância das carbonilas foi medida em um espectrofotômetro a 360nm, em um meio de reação contendo os seguintes reagentes: guanidina (6M) em ácido clorídrico (HCl) (2,5M) pH= 2,5; 2,4 DNPH em HCl (2,5M); ácido tricloroacético (TCA) 20%; TCA 10%; etanol - acetato de etila 1:1 (V/V). Paralelamente foi realizada a curva padrão de proteína, com albumina, com a absorvância lida em 280nm no espectrofotômetro.

### **3.12.2. Razão GSH/GSSG**

#### **3.12.2.1. Glutathiona Total**

A glutathiona total mediu a reação de óxido redução entre GSH e GSSG. O meio de reação no qual foi realizado o ensaio consistiu em uma solução de tampão fosfato 300 mM ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$ ), e uma solução de DTNB (ácido ditionitrobenzóico). No momento do ensaio, agregou-se 1 mL de tampão fosfato, 100 $\mu\text{L}$  de DTNB, zerou-se o espectro (Biospectro) e após acrescentou-se 250  $\mu\text{L}$  amostra (BEUTLER et al., 1963).

#### **3.12.2.2. Glutathiona Oxidada**

Adicionou-se a amostra ácido perclórico, os quais foram colocados em ependorf e centrifugados, posteriormente foi neutralizado com bicarbonato potássico ( $\text{CO}_3\text{HK}$ ). Desta extrai uma alíquota de 60mL + 60 mL DNTB + 60 mL GSSH e 60 mL NADPH. A leitura foi realizada em espectrofotômetro 414 nm. Uma vez neutralizada com  $\text{CO}_3\text{HK}$  foi adicionado 5 ml de 2 vinil

piridina e deixou-se repousar por uma hora a temperatura ambiente. Logo repetiu-se o processo anterior. A diferença entre a primeira e a segunda leitura é a GSSG (TIETZE, 1969).

A GSH foi calculada a partir da subtração da glutathiona total pela GSSG. E em seguida foi calculada a razão GSH/GSSG no tecido cardíaco.

### **3.12.3. Catalase (CAT)**

A taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio é diretamente proporcional à atividade da CAT. Desta forma, o consumo de  $H_2O_2$  pode ser utilizado como uma medida de atividade da enzima CAT. O ensaio consiste em medir a diminuição da absorbância a 240nm, comprimento de onda onde há a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio, utilizando-se cubetas de quartzo. Para a realização das medidas foi usada uma solução tampão constituída de fosfatos a 50 mmol/L em pH 7,4. Foram adicionados 9 $\mu$ L deste tampão e 10 $\mu$ L de amostra de tecido na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados 35 $\mu$ L de peróxido de hidrogênio (0,3 mol/L) e foi monitorada a diminuição da absorbância no espectrofotômetro (Biospectro) (BOVERIS e CHANCE, 1973).

### **3.12.5. Superóxido Dismutase (SOD)**

A técnica utilizada está baseada na inibição da reação do radical superóxido com o piragalol. Uma vez que não se consegue determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm (Biospectro) durante 2 minutos. A atividade da SOD foi determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado.

No meio de reação, utiliza-se 20 µL de homogeneizado, 973 µL de tampão Tris-Fosfato a 50 mmol/L (pH 8,2), 8 µL de pirogalol a 24 mmol/L, 4 µL de CAT a 30 µmol/L. Esta curva obtida foi utilizada como branco. Foi também feita uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual foi obtida a equação da reta para realização dos cálculos.

### **3.12.6. Glutathione Peroxidase (GPx)**

Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathione reduzida (GSH) para formar glutathione oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido, a atividade da enzima pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx. A atividade da GPx foi medida em um espectrofotômetro (Biospectro). Monitorada a diminuição de absorvância do NADPH a 340 nm. Na cubeta do espectrofotômetro, foram adicionados 330 µL de tampão, 50 µL do homogeneizado (amostra), 500 µL de NADPH, 10 µL de azida sódica, 50 µL de GSH e 10 µL de GR. Registrou-se a absorvância por um período de aproximadamente 2 minutos, para obtenção da linha de base. Após esse momento, foram adicionados 50 µL de hidroperóxido de tert-butila, e a diminuição da absorvância devida ao consumo de NADPH foi monitorada por mais 3 minutos (FLOHE e GUNZLER, 1984).

### **3.13. Análise dos Dados**

Os resultados são apresentados como média ± erro padrão. O teste de análise de variância (ANOVA) de uma via foi aplicado para comparação dos grupos, seguido dos *post hoc* de *Student Newman Keuls*. O teste de correlação de *Pearson* foi utilizado para avaliar a associação entre as variáveis. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Artigo Submetido na revista *Hypertension* – Qualis A1**

#### **EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO RESISTIDO OU AERÓBIO EM RATAS MENOUPASADAS HIPERTENSAS: IMPACTO NO CONTROLE CARDIOVASCULAR**

#### ***EFFECTS OF RESISTANCE OR AEROBIC EXERCISE TRAINING IN HYPERTENSIVE MENOPAUSED RATS: IMPACT ON CARDIOVASCULAR CONTROL***

O objetivo desse artigo foi avaliar os efeitos do treinamento físico resistido ou aeróbio no controle autonômico cardiovascular e no estresse oxidativo em ratas hipertensas ooforectomizadas. Os resultados deste trabalho demonstram que o treinamento físico resistido ou aeróbio induziram redução da pressão arterial e da frequência cardíaca acompanhadas de atenuação da disfunção autonômica em ratas SHR ooforectomizadas. Essas alterações provavelmente estão associadas a redução do estresse oxidativo induzido pela melhora no controle autonômico cardiovascular.

**EFFECTS OF RESISTANCE OR AEROBIC EXERCISE TRAINING IN  
HYPERTENSIVE MENOPAUSED RATS: IMPACT ON CARDIOVASCULAR  
CONTROL**

**Renata Kelly da Palma<sup>1</sup>, Danielle da Silva Dias<sup>1</sup>, Guilherme Lemos Shimojo<sup>1</sup>, Filipe  
Fernandes Conti<sup>1</sup>, Nathalia Bernardes<sup>2</sup>, Catarina Andrade Barboza<sup>3</sup>, Iris Callado  
Sanches<sup>1</sup>, Alessander Araújo<sup>4</sup>, Susana Llesuy<sup>5</sup>, Katia De Angelis<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Laboratory of Translational, Universidade Nove de Julho, <sup>2</sup>Univesity of São Paulo,  
Medical School, <sup>3</sup>Human Movement Laboratory-São Judas University, <sup>4</sup>Federal do Rio  
Grande do Sul University, <sup>5</sup>Cátedra de Química General y Inorgánica, Facultad de  
Farmácia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.**

Resistance vs. Aerobic training in OVX SHR

Words: 5.355

Figures: 1

Tables: 4

Corresponding author:

Kátia De Angelis, PhD,

Universidade Nove de Julho - Science Rehabilitation Program.

Adrees: Av. Francisco Matarazzo, 612, 1º andar, Postal Code: 05001-100.

Sao Paulo, SP, Brazil.

E-mail: [prof.kangelis@uninove.br](mailto:prof.kangelis@uninove.br)



## **ABSTRACT**

The purpose of the present study was to investigate the effects of resistance or aerobic exercise training on cardiovascular autonomic control and oxidative stress in ovariectomized hypertensive rats. Female SHR were divided into 4 groups: sedentary, sedentary ovariectomized, and aerobic or resistance trained ovariectomized. Aerobic training was performed on a treadmill, while resistance exercise training was performed on a vertical ladder (5d/w; 8wk). Arterial pressure was directly recorded; baroreflex was evaluated by bradycardic and tachycardic responses and autonomic modulation was evaluated by in time and frequency domain. Cardiac oxidative stress was evaluated by lipid peroxidation, protein carbonylation, redox balance and antioxidant enzyme activities. Ovariectomy increased arterial pressure, sympathetic modulation and oxidative stress that were attenuated by both training protocols. Aerobic or resistance training induced bradycardia and improvement in baroreflex (with higher results for the aerobic group) when compared to sedentary groups. Aerobic training improved parasympathetic modulation. Lipid peroxidation and protein carbonylation were reduced in trained groups when compared to sedentary groups. Ovariectomy did not alter redox balance; however reduced-gluthatione was higher in aerobic group, while oxidated-gluthatione was lower in resistance group. Antioxidant enzymes presented higher activity in trained groups. Moreover, lipid peroxidation and protein carbonylation showed a correlations with VARPAS and RMSSD, suggesting an association between oxidative stress and autonomic modulation. In conclusion, resistance or aerobic exercise training induced a reduction in AP and HR related to the attenuation of autonomic dysfunction in SHR ovariectomized rats. These changes seem to be related to autonomic-induced improvement in cardiac oxidative stress profile.

Key words: Menopause, Hypertension, Aerobic Exercise Training, Resistance Exercise Training.

## **Introduction**

Hypertension is a major risk factor in the development of cardiovascular disease and particularly for postmenopausal women, suggesting that ovarian hormones play a role in blood pressure regulation<sup>1,2,3</sup>. Oxidative stress has been implicated in the pathophysiology of hypertension<sup>4</sup>, and it seems to play a mechanistic role in baroreflex dysfunction, since antioxidant substances seem to improve baroreflex sensitivity (BRS) in different species<sup>5,6</sup>. Other previous studies have demonstrated that estrogen deprivation induces endothelial dysfunction and autonomic impairment associated with oxidative stress<sup>7,8</sup>.

Therefore, it is well established that aerobic exercise decreases arterial pressure (AP), attenuates cardiac sympathetic modulation and oxidative stress in male hypertensive rats<sup>9,10,11</sup>. However, there have been no studies assessing the role of oxidative stress on cardiovascular autonomic dysfunction during estrogen deprivation in hypertensive rats.

A recent report from our laboratory has demonstrated the beneficial effects of aerobic exercise in ovariectomized (OVX) hypertensive rats, such as AP reduction associated with enhanced cardiac vagal tonus and baroreflex sensitivity<sup>12</sup>. However, resistance exercise training has shown positive effects on several menopause-related diseases, such as osteopenia, sarcopenia, diabetes, cardiovascular disease, and others<sup>13</sup>. However, the benefits of resistance exercise in OVX hypertensive rats have yet to be established. Therefore, the purpose of the present study was to investigate the effects of resistance or aerobic exercise training on cardiovascular autonomic control and oxidative stress profile in ovariectomized hypertensive rats.

## Methods

### *Animals and groups*

Thirty two adult female SHR (3 months) were obtained from the Animal Facility of the Institute of Cardiology of Rio Grande do Sul. The animals received freely available standard laboratory chow and water and were housed in a controlled room temperature (22° C) and *kept under controlled 12-h light-dark cycle*. Female spontaneously hypertensive rats (SHR) were assigned into 4 groups (n=8 each): sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO) and resistance trained ovariectomized (HRTO). All surgical procedures and protocols were approved by the ethics committee of Nove de Julho University (Protocol 0035/2011) and were conducted in accordance with the National Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals.

### *Ovariectomy*

At 12 weeks of age, animals were anesthetized (80 mg/kg ketamine and 12 mg/kg xylazine), and a small abdominal incision was made. The ovaries were then located, and a silk thread was tightly tied around the oviduct, including the ovarian blood vessels. The oviduct was sectioned and the ovary removed. The skin and the muscle wall were then sutured with silk thread. After surgery, the animals received antibiotics (40 000 U/kg penicillin G procaine IM)<sup>12,14,15</sup>.

### *Aerobic exercise training*

Aerobic exercise training was performed on a motor treadmill (Imbramed TK-01, Brazil) at low-to-moderate intensity (~50-60% maximum running speed) for 1 h a day, 5 days a week for 8 weeks, with a gradual increase in speed from 0.3 to 1.0 km/h. All animals were adapted to

the procedure (10 min/day; 0.3 km/h) for 5 days before the beginning of the exercise training protocol. After adaptation, the sedentary group was exposed to exercise only during the maximum treadmill test. However, the animals were placed on the stationary treadmill three times a week to provide a similar environment. Sedentary and trained rats were submitted to a maximum treadmill test as described in detail in a previous study<sup>16</sup>. Tests were performed at the beginning of the experiment and in the 4th and 8th weeks of the training protocol. The purpose was to determine physical capacity and exercise training intensity<sup>16</sup>.

#### *Resistance exercise training*

The resistance exercise training (RT) was adapted according to protocol already described<sup>17</sup> in ladder adapted for rats, with 54 vertical steps, with a 0.5 cm distance between them, and a small rat cage at the top, which was covered with a cloth to promote a dark environment for the animal resting between the climbs, during 8 weeks, 5 days a week and at moderate intensity (40-60% of the maximal load). A 5 day period was used for the adaption to climbing, before the maximal load test was carried out. The test consisted of an initial load of 75% of the body weight, to which 50 grams was gradually added in the subsequent climbs.

#### *Cardiovascular measurements*

On the day following the last exercise session, rats were anaesthetized with an intraperitoneal injection of ketamine (90 mg/kg) and xylazine ( 20 mg/kg ) to implant 2 polyethylene-tipped Tygon cannulas filled with heparinized saline into the right carotid artery and jugular vein for direct measurements of arterial pressure and drug administration, respectively. The free ends of the cannulas were tunneled subcutaneously and exteriorized at the top of the skull. To avoid detraining hemodynamics, measurements were made in conscious,

freely moving rats in their home cage 24 h after surgery since at that time no significant differences had been observed in AP values<sup>18,19</sup>. The arterial cannula was connected to a transducer (Blood Pressure XDCR, Kent® Scientific, USA), and AP signals were recorded for a 30-min period using a microcomputer equipped with an analog-to-digital converter (CODAS, 2Kz, DATAQ Instruments, USA). The recorded data were analyzed on a beat-to-beat basis to quantify changes in systolic (SAP), diastolic (DAP) and mean AP (MAP) and heart rate (HR).

#### *Cardiovascular autonomic measurements*

Increasing doses of phenylephrine (0.5 to 2.0 µg/mL) and sodium nitroprusside (5 to 20 µg/mL) were given as sequential bolus injections (0.1 mL) to produce pressure responses ranging from 5 to 40 mmHg for both pressoric and depressoric responses. A 3- to 5-min interval between doses was necessary for AP to return to baseline. Peak increases or decreases in MAP after phenylephrine or sodium nitroprusside injection and the corresponding peak reflex changes in HR were recorded for each drug dose<sup>19</sup>.

Time-domain analysis consisted of calculating mean pulse interval (PI) and SAP, with PI variability and SAP variability as the SD from its respective time series (three time series of 5 min for each animal). For frequency domain analysis, the same time series of PI and SAP were cubic spline interpolated (250 Hz) and cubic spline decimated to be equally spaced in time after linear trend removal; power spectral density was obtained through the Fast Fourier Transformation. Spectral power for low-frequency (LF; 0.20-0.75 Hz) and high-frequency (HF; 0.75-4.0 Hz) bands was calculated by power spectrum density integration within each frequency bandwidth, using a customized routine (MATLAB 6.0, Mathworks). Beat-to-beat values of SAP and PI were used to estimate the cardiac baroreflex sensitivity by spectral analysis, using the  $\alpha$

index for the LF band (0.20-0.75 Hz). The coherence between the PI and SAP signal variability was assessed through a cross-spectral analysis. The  $\alpha$  index was calculated only when the magnitude of the squared coherence between the PI and SAP signals exceeded 0.5 (range, 0-1) in the LF band. After coherence calculation, the  $\alpha$  index was obtained from the square root of the ratio between PI and SAP variability in the LF two major bands<sup>21</sup>.

#### *Oxidative stress evaluations*

After cardiovascular evaluations, the animals were killed by decapitation, the heart (ventricles) was immediately removed, rinsed in saline, and trimmed to remove fat tissue and visible connective tissue. Tissues were then cut into small pieces, placed in ice-cold buffer, and homogenized in an ultra-Turrax blender with 1 g of tissue per 5 mL of 150 mmol/L KCl and 20 nmol/L phosphate buffer, pH 7.4. Homogenates were centrifuged at 600g for 10 minutes at 2°C. Protein was determined by the method of Lowry et al.<sup>22</sup> using bovine serum albumin as the standard.

#### Lipid peroxidation

Lipid peroxidation (LPO) was measured by the tert-butyl hydroperoxide-initiated chemiluminescence (CL) assay, as previously described by Gonzalez Flecha et al.<sup>23</sup> CL assay was carried out with an LKB Rack Beta liquid scintillation spectrometer 1215 (LKB Producer AB) in the out-of-coincidence mode at room temperature (25°C to 27°C). The supernatants were diluted in 140 mmol/L KCl and 20 mmol/L phosphate buffer, pH 7.4, and added to glass tubes, which were placed in scintillation vials; 3 mmol/L tert-butylhydroperoxide was added, and CL was determined as the maximum level of emission. The results were reported as counts per second (cps)/mg of protein.

### Protein carbonylation

This method uses the a reaction of protein carbonyl groups with 2,4-*dinitrophenylhydrazine* (DNPH) to form a 2,4-dinitrophenylhydrazone , which can be measured spectrophotometrically as previously described<sup>24</sup>. The product of the reaction was measured at 360nm. The concentration of the carbonyl group was standardized on the protein unit (nmol carbonyl group/mg protein). The amount of protein was calculated from the bovine serum albumin dissolved in guanidine hydrochloride and read at 280 nm. Results were expressed as nmDNPH/mg of protein.

### Antioxidant enzyme

Superoxide dismutase activity was measured spectrophotometrically in heart homogenates by rate inhibition of pyrogallol autooxidation at 420 nm<sup>25</sup>. Enzyme activity was reported as U/mg protein. Catalase concentration was measured by monitoring the decrease in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration at 240 nm, and the results are reported as pmol of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/mg protein<sup>26</sup>. Glutathione peroxidase activity was determined by monitoring NADPH oxidation spectrophotometrically at 340 nm, and the results are reported as nmol/min/mg protein<sup>27</sup>.

### Determination of oxidized and reduced glutathione concentration

To determine oxidized and reduced glutathione concentration, tissue was deproteinized with 2 mol/l perchloric acid, centrifuged for 10 min at 1000 g, and the supernatant was neutralized with 2 mol/l potassium hydroxide. The reaction medium contained 100 mmol/l phosphate buffer (pH 7.2), 2 mmol/l nicotinamide dinucleotide phosphate acid, 0.2 U/ml



glutathione reductase, and 70 mmol/l 5,50 dithiobis (2-nitrobenzoic acid). To determine reduced glutathione, the supernatant was neutralized with 2 mol/l potassium hydroxide, to react with 70 mmol/l 5,50 dithiobis (2-nitro benzoic acid), and the absorbance values measured at 420 nm<sup>28</sup>.

### **Statistical Analysis**

Data are presented as mean  $\pm$ SEM. Comparisons between the 4 groups were performed with one-Way ANOVA, followed by Student Newmann Keuls post hoc test. Pearson correlation was used to study the association between variables. The significance level was established at  $P < 0.05$ .

## **RESULTS**

### *Maximal exercise capacity*

At the beginning of the experiment, maximal treadmill test results were similar among studied groups (HS: 2.4 $\pm$ 0.6, OHS: 2.5 $\pm$ 0.6 and HATO: 2.5 $\pm$ 0.8 km/h). Similarly, the maximal load in the ladder test was similar among studied groups (HS: 315 $\pm$ 19, HSO: 320 $\pm$ 13, HRTO: 300 $\pm$ 10g). However, after 8 weeks of exercise training, the aerobic trained group (HATO) demonstrated an increase in maximal speed of running when compared to the other groups (HATO: 2.9 $\pm$ 1.7 vs. HS: 2.3 $\pm$ 0.6 and OHS: 2.3 $\pm$ 0.6 km/h). Likewise, after 8 weeks of resistance exercise training, the resistance trained group (HRTO) demonstrated an increase in maximal load when compared to other groups (HRTO: 490 $\pm$ 10 vs. HS: 360 $\pm$ 20 and HSO: 335 $\pm$ 37 g).

### *Cardiovascular measurements*

Ovariectomy induced DAP and MAP increase in SHR. Aerobic exercise training induced SAP, DAP and MAP reductions when compared to other groups, including the HRTO group.

Resistance exercise training induced SAP, DAP and MAP reduction in relation to HS and OHS groups. Resting bradycardia was observed in trained groups when compared to sedentary groups (Table 1).

#### *Cardiovascular autonomic evaluations*

The OHS group presented reduced TR when compared to the HS group. Aerobic exercise training increased TR in relation to other groups (HATO:  $-2.74 \pm 0.15$  vs. HRTO:  $-1.42 \pm 0.2$ , HSO:  $-1.4 \pm 0.17$  and HS  $-1.91 \pm 0.2$  bpm/mmHg); however BR was improved for both HATO ( $-1.38 \pm 0.07$  bpm/mmHg) and HRTO groups ( $-1.34 \pm 0.05$  bpm/mmHg) when compared to sedentary groups (HS:  $-1.12 \pm 0.01$  and HSO:  $-1.01 \pm 0.09$  bpm/mmHg) (Figure 1A, 1B).

As shown in Table 2, regarding the autonomic modulation evaluation in time and frequency domains there was an increase in total variance of PI (VAR-PI) in HATO group when compared with other groups.

The square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent intervals (RMSSD), an indicator of parasympathetic modulation, was higher in HATO group when compared to sedentary groups. The RMSSD was higher in HRTO rats when compared to HSO rats.

The LF and HF bands of the PI were not different among the studied groups. However, the sympathovagal balance (LF/HF) was higher in the HSO group when compared to the HS group. Exercise training protocols (resistance or aerobic) attenuated this increment in OVX-SHR rats (Table 2).

Ovariectomy induced an increase in total SAP variance and in LF band of SAP in HSO group when compared to the other groups. No difference was observed in BPV among HS and trained groups (Table 2). Aerobic exercise training induced an increase in the  $\alpha$  index, an indicator of spontaneous baroreflex sensitivity, when compared with sedentary groups (HATO:  $1.07 \pm 0.09$  vs. HS:  $0.77 \pm 0.05$  and OHS:  $0.75 \pm 0.11$  ms/mmHg). The HRTO group ( $0.88 \pm 0.06$  ms/mmHg) presented similar  $\alpha$  index when compared to the other studied groups (Figure 1C).

#### *Oxidative stress evaluations*

As shown in the Table 3, ovariectomy in SHR rats induced an increase in protein carbonylation associated with higher CAT concentration and lower GPx activity. Membrane lipid peroxidation (LPO), as assessed by CL, showed a significant reduction in trained groups when compared to sedentary groups. The HRTO group demonstrated a reduced LPO when compared to HATO group. The increased protein carbonylation observed in HSO group was reversed by either resistance or aerobic exercise training. CAT concentration was higher in HATO and HRTO groups when compared to the HS group, with an additional increment in aerobic vs. resistance training. SOD activity increased in HRTO and HATO groups when compared to sedentary groups. An additional increase in SOD activity was observed in HRTO rats as compared to HATO rats. GPx activity was higher in HRTO rats in relation to HSO rats.

The GSSG/GSH ratio did not differ between groups. However, GSH was higher in the HATO group as compared to the other groups and GSSG was lower in the HRTO group as compared to the HATO group (Table 3).

Significant correlations were observed involving all studied animals (Table 4). The results showed a correlation between cardiac lipid peroxidation and RMSSD ( $r = - 0.6, *$

$P < 0.01$ ) and total variance of PI ( $r = 0.7$ ,  $P < 0.01$ ). Moreover, significant correlations were also observed between protein carbonylation and RMSSD ( $r = -0.9$ ,  $P < 0.0001$ ) and total variance of PI ( $r = 0.7$ ,  $P < 0.0001$ ).

## **Discussion**

The main findings of the present study show that resistance or aerobic exercise training decreased AP and HR and attenuated autonomic dysfunction correlated with reduced in cardiac oxidative stress in a model of menopause associated with hypertension. The AP reduction and the autonomic improvement were greater in the aerobic trained group than in the resistance trained group.

The AT protocol used in our study was effective in producing physical training in the OVX hypertensive rats. In the present study, trained aerobic rats showed a marked increase in estimated aerobic physiologic capacity as evaluated by their response to the maximal exercise test. We have previously demonstrated the correlation between maximal oxygen consumption ( $VO_{2max}$ ) and the maximal intensity of running in the treadmill test<sup>16</sup>. Likewise, trained resistance rats at the end of the protocol had a higher maximal load capacity than the sedentary animals, thus showing the effect of the resistance exercise training protocol prescribed, and lending support to the effectiveness of the utilization of the maximal load test for prescription. This result corroborates a study recently conducted by our group in which diabetic rats increased their maximum load at the end of a 8 week training protocol (unpublished).

Postmenopausal hypertension<sup>29</sup> is probably associated with estrogen loss. Ovarian hormones deprivation induced an additional increase in AP in OVX rats in this study, thus confirming our previously published findings<sup>15,30</sup>. Other studies have demonstrated that an

increase blood pressure in ovariectomized rats can be associated with decreases in the basal tone of arterioles<sup>31</sup>, oxidative stress and decrease nitric oxide (NO) production<sup>14</sup>. Indeed, ovariectomy in the present study induced an increase in MAP, accompanied by a marked increase in vascular sympathetic modulation (LF-SAP band and SAP VAR) and increase in cardiac sympathovagal balance. Moreover, a reduction in baroreflex mediated tachycardic response was observed in HSO rats when compared to HS rats.

Importantly, we demonstrated that 8 weeks of AT and RT resulted in a significant reduction of AP values. Our group has previously reported that a reduction in MAP was associated with increased vagal tonus in aerobic trained female SHR OVX<sup>12</sup>. RT has been used in ovariectomized rats with the objective to determine the benefits of RT on the tissues and organs affected by estrogen decline<sup>32,33</sup>. However, no studies have examined the role of RT associated with ovariectomy and hypertension in the improvement of cardiovascular health parameters.

The mechanisms involved in exercise-induced AP reduction in trained hypertensive humans might have also been present in trained rats in the present study, such as a reduction in cardiac output<sup>34</sup> and/or peripheral vascular resistance<sup>35</sup>. In fact a reduction in AP in aerobic trained premenopausal and postmenopausal women has been associated with a reduction in peripheral vascular resistance<sup>36</sup>. However, our study demonstrated a reduction in AP associated with resting bradycardia after AT and TR, thus corroborating the findings of Gava et al.<sup>37</sup> in male SHR trained. Resting bradycardia after training in this study can be explained by the increase in parasympathetic modulation (RMSSD). Meanwhile, RT had lower parasympathetic modulation improvement than AT, which may account for a greater AP reduction in AT when compared to RT. Additionally, the increase in baroreflex sensitivity (bradycardic responses)

after RT or AT may be the mechanism involved in reduced AP<sup>10</sup>. In fact, in line a we have undertaken<sup>12</sup>, the improvement in baroreflex sensitivity in the present study may be related to a normalization in SAP VAR and in the LF-SAP band after AT e RT. It may be the case that AT, rather than RT, induced led to an increase in spontaneous baroreflex sensitivity ( $\alpha$  index) and in tachycardic responses to sodium nitropussiate injections when compared to sedentary groups due to the increase in PI VAR and the additional enhancement in RMSSD observed in the HATO group.

Oxidative stress and dysfunction endothelial may also be related to changes in AP. Despite the unchanged GSH/GSSG relation, the imbalance between oxidant and antioxidant forces was observed in this study by increased protein oxidation and reduced GPx activity in HSO group. This may reflect a worsening in the redox state toward oxidative process which may be associated with decreases in nitric oxide (NO) bioavailability<sup>38,39</sup>.

Other studies have shown an increased ROS generation in SHR, indicating high oxidative stress<sup>11,40</sup>. A previous study from our group has demonstrated a positive correlation between systolic AP and lipoperoxidation, thus reinforcing the role of oxidative stress in AP changes during female hormone deprivation<sup>30</sup>. The present study also demonstrated that ovariectomy triggers an increase in CAT activity. Ruiz et al.<sup>41</sup> have shown that 17beta-estradiol has intrinsic antioxidant properties, and the lack of it would then result in enhanced CAT activity, probably due to an increased concentration of hydrogen peroxide. Our results are in agreement with Barp et al.<sup>42</sup>, who have likewise demonstrated an increased cardiac CAT activity in ovariectomized rats.

On the other hand, both RT and AT decreased lipid peroxidation and protein oxidation in trained hypertensive OVX rats. In AT, such important reduction in lipoperoxidation and protein oxidation were probably caused by increased CAT and SOD and GSH. Chronic moderate exercise thus decreased oxidative stress, and seemed to have improved endothelial function, through ROS inactivation by antioxidant defense<sup>10</sup>. Pialoux et al.<sup>43</sup> have demonstrated that after menopause, fitness level and regular physical activity mediate against oxidative stress by maintaining antioxidant enzyme, GPX and CAT efficiency in plasma. In this study RT had a greater reduction in lipoperoxidation than AT, perhaps because in addition to increased CAT and SOD, GPx increased as well.

According to Jun et al.<sup>44</sup>, hypertension does not significantly affect the GSH/GSSG ratio in the heart, as demonstrated in the present study. However, GSH was higher in AT group as compared to RT group, possibly because GPx was greater in RT rats. This enzyme is central to the peroxide metabolism in heart tissue<sup>45</sup> and in this process, GPx utilizes reduced-glutathione (GSH) as a substrate, leading to a reduction in the levels of this important non-enzymatic antioxidant defense in RT group.

Moreover, we found significant correlations between RMSSD and VAR of SAP with lipid peroxidation and protein carbonylation in heart tissue. These correlations indicate that the effect of AT and RT on autonomic modulation plays an important role in the reduction in oxidative stress. It is known that SHRs present high plasmatic norepinephrine concentrations associated with increased sympathetic activation<sup>46</sup>. In this study AT was able to increase parasympathetic modulation, thus suggesting reduced norepinephrine concentrations, possibly increased cardiac NO production and bioavailability decreases oxidative stress. Likewise, RT was able to attenuate autonomic modulation dysfunction after estrogen decline.

In conclusion, both resistance and aerobic exercise training induced a reduction in AP and HR related to attenuation of autonomic dysfunction in SHR ovariectomized rats. These changes were probably related to autonomic-induced improvement in cardiac oxidative stress profile.

### **Perspectives**

The present study shows that resistance and aerobic exercise training improved cardiac function and autonomic modulation in the heart with estrogen deprivation, probably by reducing oxidative stress. The clinical implications of these data open the opportunity to test a positive role of these nonpharmacological approaches in the management of cardiovascular risk in postmenopausal hypertension.

### **Acknowledgments**

This study was supported by Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP: 2007/57595-5; 2011/16441-0) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

### **No Disclosures**



## Figure Legends

**Figure 1.** **A**, Baroreflex sensitivity (BRS) evaluated by tachycardic response; **B**, BRS evaluated by bradycardic response; and **C**, Spontaneous BRS evaluated by  $\alpha$  index in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups. \*  $p \leq 0.05$  vs. HS; #  $p \leq 0.05$  vs HOS; †  $p \leq 0.05$  vs. HATO.

## REFERENCES

1. McBride SM, Flynn FW, Ren J. Cardiovascular alteration and treatment of hypertension: Do men and women differ? *Endocrine*. 2005;28:199–207.
2. Oparil S, Miller AP. Gender and blood pressure. *J Clin Hypertens*. 2005;7:3009.
3. Thompson J, Khalil RA. Gender differences in the regulation of vascular tone. *Clin Exp Pharmacol. Physiol*. 2003;30:1–15.
4. Touyz, R.M. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*. 2004;44(3):248–252.
5. Li Z, Mao HZ, Abboud FM, Chapleau MW. Oxygen-derived free radicals contribute to baroreceptor dysfunction in atherosclerotic rabbits. *Circ Res*. 1996;79:802–811.
6. Rabelo E, De Angelis K, Bock P, Fernandes TG, Cervo F, Bello -KleinA, Clausell N, Irigoyen MC. Baroreflex sensitivity and oxidative stress in adriamycin- induced heart failure. *Hypertension*. 2001;38:576–580.
7. Lima SM, Aldrighi JM, Consolim-Colombo FM, Mansur Ade P, Rubira MC, Krieger EM, Ramires JA. Acute administration of 17 -estradiol improves endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Maturitas*. 2005;50:266–274.
8. Farag NH, Bardwell WA, Nelesen RA, Dimsdale JE, Mills PJ. Autonomic responses to psychological stress: the influence of menopausal status. *Ann Behav Med*. 2003;26:134–138.
9. Silva G, Brum PC, NEgrão CE, Krieger EM. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1997;30:714-9.

10. Bertagnolli M, Campos C, Schenkel P, de Oliveira V, De Angelis K, Belló-Klein A, Rigatto K, Irigoyen M. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*. 2006;24: 2437–2443.
11. Bertagnolli M, Schenkel PC, Campos C, Mostrada CT, Casarini DE, Belló- Klein A, Irigoyen MC, Rigatto K. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2008;21(11): 1188-93.
12. Sanches IC, de Oliveira Brito J, Candido GO, da Silva Dias D, Jorge L, Irigoyen MC, De Angelis K. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. *Menopause*. 2012;19(5):562-8.
13. Brochu M, Malita MF, Messier V, Doucet E, Strychar I, Lavoie JM, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R. Resistance training does not contribute to improving the metabolic profile after a 6-month weight loss program in overweight and obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:3226 – 3233.
14. Hernandez I, Delgado JL, Díaz J, Quesada T, Teruel MJG, Carmen- Llanos M, Carbonell LF. 17 $\beta$ - Estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. *Am J Physiol*. 2000;279: R1599- R1605.
15. Flues K, Paulini J, Brito S, Sanches IC, Consolim- Colombo F, Irigoyen MC, De Angelis K. Exercise training associated with estrogen therapy induced cardiovascular benefits after ovarian hormones deprivation. *Maturitas*. 2010;65:267-271.

16. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2007;6:38.
- 17- Hornberger Jr, TA, Farrar, RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*. 2004;29:1:16–31.
18. De Angelis KL, Oliveira AR, Werner A, et al. Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. *Hypertension*. 1997;30:767-771.
19. Souza SB, Flues K, Paulini J, et al. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Hypertension*. 2007;50:786-791.
20. Irigoyen MC, Moreira RD, Moreira ED, Krieger EM. High-renin renal hypertension depresses the baroreflex control of heart rate and sympathetic activity. *J Hypertens*. 1988;6(8):619-25.
21. Soares PP, Da No´brega AC, Ushizima MR, Irigoyen MC. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. *Auton Neurosci*. 2004;30:24-31.
22. Lowry O, Rosebrough N, Farr A, Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265–275.
23. 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*. 1991;10:93–100.

24. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* 1994;233:357-63.
25. Marklund S, Orelund L, Perdahl E, Winblad B. Superoxide dismutase activity in brains from chronic alcoholics. *Drug Alcohol Depend.* 1983;12:209–215.
26. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121–126.
27. Flohe L, Gunzler W. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984;105:114-121.
28. Akerboom T, Sies H. Assay of glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in Enzymology.* 1981;77: 373–382.
29. Vokonas PS, Kannel WB, Cupples LA. Epidemiology and risk of hypertension in the elderly: the Framingham Study. *J Hypertens.* 1988;6:S3-S9.
30. Irigoyen MC, Paulini J, Flores LJF, Flues K, Bertagnolli M, Moreira ED, Consolim-Colombo F, Belló-Klein A, De Angelis K. Exercise Training Improves Baroreflex Sensitivity Associated With Oxidative Stress Reduction in Ovariectomized Rats. *Hypertension.* 2005;46(4):998-1003.
31. Huang A, Sun D, Koller A, and Kaley G. Gender difference in myogenic tone of rat arterioles is due to estrogen-induced, enhanced release of NO. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1997;272:H1804–H1809.
32. Corriveau P, Paquette A, Brochu M, Prud'homme D, Rabasa-Lhoret R, Lavoie JM. Resistance training prevents liver fat accumulation in ovariectomized rats. *Maturitas.* 2008;59:259 – 267.

33. Leite RD, Prestes J, Bernardes CF, Shiguemoto GE, Pereira GB, Duarte JO, Domingos MM, Baldissera V, De Andrade Perez SE. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2009;34:1079 – 1086.
34. Hagberg JM, Montain SJ, Martin WH, Ehsani AA. Effect of exercise training in 60-to 69-years-old persons with essential hypertension. *Am J Cardiol.* 1989;64:348-353.
35. Jennings GL, Deakin G, Komer P, Meredith I, Kingwell B, Nelson L. What is the dose-response relationship between exercise training and blood pressure? *Ann Med.* 1991;23:313-318.
36. Green JS, Stanforth PR, Gagnon J, et al. Menopause, estrogen, and training effects on exercise hemodynamics: the HERITAGE study. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;34:74-82.
37. Gava NS, Vêras-Silva AS, Negrão CE, Krieger EM. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1995;26(6 Pt 2):1129-1133.
38. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Bernini G, Magagna A, Salvetti A. Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans. *Hypertension.* 2001;38:274–279.
39. Chowdhary S, Townend JN. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. *Clin Sci.* 1999;97:5–17.
40. Zalba G, San Jose G, Moreno MU, Fortuno MA, Fortuno A, Beaumont FJ, Diez J. Oxidative stress in arterial hypertension: role of NAD(P)H oxidase. *Hypertension.* 2001;38:1395–1399.

41. Ruiz-Larrea MB, Martin C, Martinez R, Navarro R, Lacort M, Miller NJ. Antioxidant activities of estrogens against aqueous and lipophilic radicals; differences between phenol and catechol estrogens. *Chem Phys Lipids*. 2000;105(2):179–188.
42. Barp J, Sartório CL, Campos C, Llesuy SF, Araujo AS, Belló-Klein A. Influence of ovariectomy on cardiac oxidative stress in a renovascular hypertension model. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90:1229-1234.
43. Pialoux V, Brown AD, Leigh R, Friedenreich CM, Poulin MJ. Effect of Cardiorespiratory Fitness on Vascular Regulation and Oxidative Stress in Postmenopausal Women. *Hypertension*. 2009;54:1014-1020.
44. Jun R. Influence of gender on oxidative stress, lipid peroxidation, protein damage and apoptosis in hearts and brain from spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34:432–438.
45. Kaul N, Siveski-Iliskovic N, Hill M, Slezak J, Singal PK. Free radicals and the heart. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1993;30(2):55-67.
46. Donohue S, Stitzel R, Head R. Time course of changes in the norepinephrine content of tissues from spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1988;245:24–31.

**Table 1.** Hemodynamic evaluations in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups.

<b>Measurement</b>	<b>HS</b>	<b>HSO</b>	<b>HATO</b>	<b>HRTO</b>
<b>SAP (mmHg)</b>	193±3.8	202±5	164±3.4*#	180±2.8*#†
<b>DAP (mmHg)</b>	145±3.3	156±3.1*	128±2.8*#	139±2.4#†
<b>MAP (mmHg)</b>	168±3.4	177±3.4*	146±3.1*#	159±2.2*#†
<b>HR (bpm)</b>	363±7	356±5	331±6*#	332±9*#

Values are reported as mean ± SEM. \**P* < 0.05 vs. HS; #*P* < 0.05 vs. HSO; †*P* < 0.05 vs. HATO. SAP, systolic arterial pressure; DAP, diastolic arterial pressure; MAP, mean arterial pressure; HR, heart rate.



**Table 2.** Cardiovascular autonomic modulation in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRTO) groups

Measurement	HS	HSO	HATO	HRTO
<b>HRV</b>				
<b>VAR-IP (ms<sup>2</sup>)</b>	48.66±3.31	55.69±6.74	87.41±10.60*#	63.90±5.64†
<b>RMSSD (ms)</b>	5.46±0.46	4.56±0.49	7.43±0.48*#	6.20±0.29#
<b>%LF (nu)</b>	23.08±1.08	28.08±2.58	27.33±2.63	25.18±2.16
<b>%HF (nu)</b>	76.92±1.22	71.92±2.58	72.67±3	74.16±2.66
<b>LF/HF ratio</b>	0.29±0.01	0.43±0.04*	0.40±0.05	0.31±0.03
<b>BPV</b>				
<b>VAR-SAP (mmHg<sup>2</sup>)</b>	34.09±2.37	50.78±4.61*	43.21±4.77	39.03±4.19
<b>LF (mmHg<sup>2</sup>)</b>	5.46±0.53	7.69±0.46*	6.22±0.76	5.76±0.51

Data are reported as mean± SEM. \* P<0.05 vs. HS; # P<0.05 vs. OHS; † P<0.05 vs. HATO.

Heart rate (HRV) and systolic blood pressure (BPV) variabilities computed from 0.20 to 3 Hz (total power), low-frequency (LF: 0.20-0.75 Hz) and high-frequency (HF: 0.75-3 Hz) bands.

**Table 3.** Cardiac oxidative stress evaluations in sedentary (HS), sedentary ovariectomized (HSO), aerobic trained ovariectomized (HATO), and resistance trained ovariectomized (HRT0) groups.

Measurement	HS	HSO	HATO	HRT0
<b>Lipid peroxidation</b> (cps/mg protein)	6661±566	6514±547	4202±310*#	3649±168*#
<b>Protein carbonylation</b> (nmDNPH/mg protein)	5.78±0.26	7.79±0.73*	5.76±0.59#	4.33±0.26#
<b>CAT (pmol/mg protein)</b>	0.29±0.04	0.47±0.05*	0.63±0.05*#	0.5±0.02*†
<b>SOD (U/mg protein)</b>	11.47±0.4	11.17±0.4	13.6±0.5*#	16.86±0.5*#†
<b>GPx (μmol/min/mg protein)</b>	55±3.1	39±1.7*	49±2.2	60±9.2#
<b>GSSG (μmol/g tissue)</b>	21±1.64	23±2.2	26±0.77	20±1.2†
<b>GSH (μmol/g tissue)</b>	234±10.7	271±11.9	346±14.5*#	276±13.9†
<b>GSSG/GSH</b>	11.1±0.7	13.0±1.4	12.5±0.77	14.0±2.16

Data are reported as mean ±SEM. \**P* < 0.05 vs. HS; #*P* < 0.05 vs. HSO; †*P* < 0.05 vs.

HATO. CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase; GPx: glutathione peroxidase;

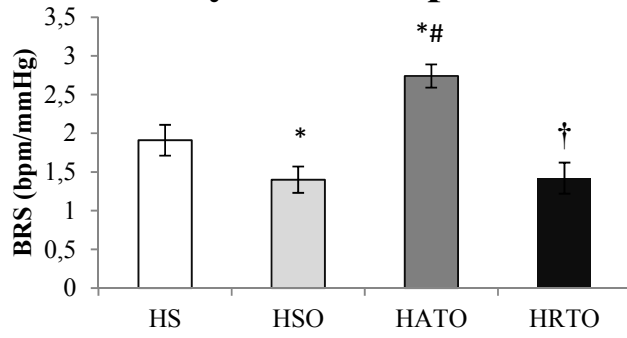
GSSG:oxidized glutathione; GSH:reduced glutathione;GSSG/GSH: oxidized glutathione/reduced glutathione ratio.

**Tabela 4.** Pearson correlations involving all studied animals.

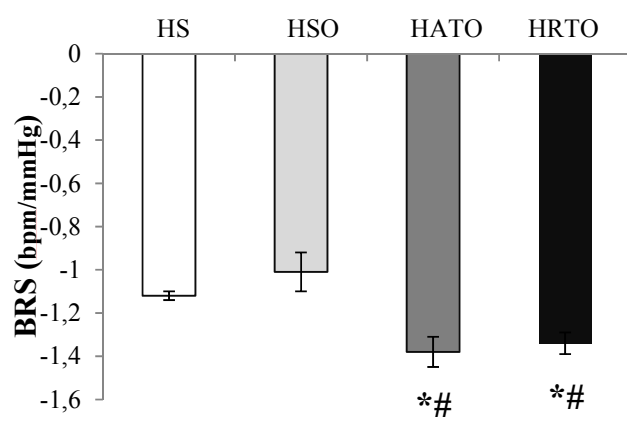
	<b>RMSSD</b>	<b>VAR-SAP</b>
<b>Lipid Peroxidation</b>	-0.6*	0.7*
<b>Protein Carbonylation</b>	-0.9 #	0.7 #

Values represent correlation coefficient r. \*  $P < 0.01$ ; #  $P < 0.0001$ .

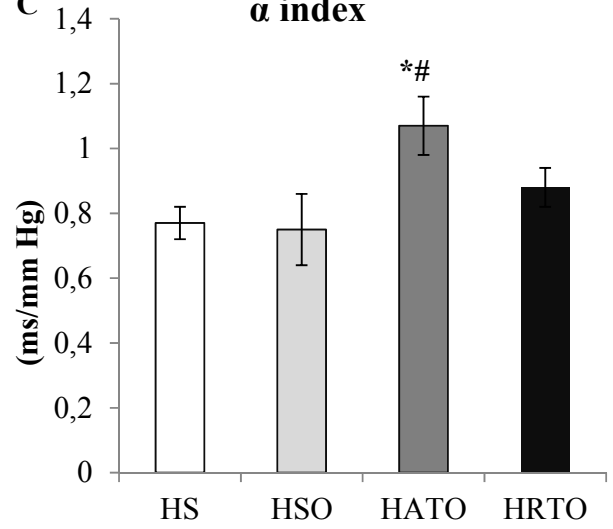
### A Tachycardic response



### B Bradycardic response



### C $\alpha$ index



## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nesse trabalho foi demonstrado que a ooforectomia induziu aumento adicional da pressão arterial, prejuízo na sensibilidade barorreflexa e hiperatividade simpática associado ao aumento do estresse oxidativo em tecido cardíaco. Entretanto, o treinamento físico resistido ou aeróbio induziram redução da PA e da FC acompanhada de atenuação da disfunção autonômica em ratas SHR ooforectomizadas. Essas alterações estão provavelmente associadas à redução do estresse oxidativo induzido pela melhora no controle autonômico cardiovascular. Estes achados em conjunto sugerem um papel importante destas abordagens não farmacológicas no manejo do risco cardiovascular da hipertensão após a privação de hormônios ovarianos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHA STATISTICAL UPDATE, 2012. ROGER, V. L. *et al.* Heart disease and stroke statistics-2012 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v.1,n.3,p.e2-e220, 2012.

BERRY, C.M.J. *et al.* Oxidative stress and vascular damage in hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, n.10,p.247-255, 2001.

BERTAGNOLLI, M. *et al.* Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J Hypertens**, v.24, n.12, p.2437-2443, 2006.

BEUTLER, E; DURAN, O; KELLY, BM. Improved method for determination of blood glutatione. **J Lab Clin Med**, v.61,p.802-888, 1963.

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

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Doenças Crônico- Degenerativas. Programa Nacional de Educação e Controle da Hipertensão Arterial. Normas Técnicas para o Programa Nacional da Hipertensão Arterial (PNECHA). Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1998. P.88.

BRENNER, P.F. The menopausal syndrome. **Obstet Gynecol**, v.72(5suppl),p.6-11, 1988.

BRUM, P.C. *et al.* Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, v.36, p.1018-22, 2000.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal Lipid Peroxidation. **Methods Enzymology**, v.52,p.302-309, 1978.

BURT, V.I.; WHELTON, P.; ROCELLA, E.J. Prevalence of hypertension in the US adult population: results of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. **Hypertension**, v.25,p.305-313, 1995.

CARDOSO, C. G. J.; GOMIDES, R. S.; QUEIROZ, et. al. Acute and chronic effects of aerobic and resistance exercise on ambulatory blood pressure. **Clinics**, v.65, n.3,p.317-325, 2010.

CASTANHO, V.S. *et al.* Sex Differences In Risk Factors For Coronary Heart Disease. A Study In A Brazilian Population. **Bmc Public Health**, p.1-3, 2001.

COWDHARY, S. *et al.* Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. **Hypertension**, n.36,p.264–269, 2000.

CORNELISSEN, V.; FAGARD, R.H.; VANHEES, L. The impact of dynamic resistance training on blood pressure and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension**, v.58,n.5,p.950-8, 2011.

DAVY, K.P. *et al.* Elevated heart rate variability in physically active postmenopausal women; a cardioprotective effect? **Am J Physiol**, v.271,n.40,p.H455- 460, 1996.

DE ANGELIS, K.L.D. *et al.* Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, v.30,n.3,p.767-771, 1997.

DE ANGELIS, K. *et al.* Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension**, v.34,n.2,p.768-772, 1999.

DE ANGELIS, K.L.D. *et al.* Effects of exercise training in autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. **Braz Journal of Medical Biological Research**, v.33,p.635-641, 2000.

DE ANGELIS, K. *et al.* Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **Journal of Applied Physiology**, v.96, n.6,p.2174-8, 2004a.

DE ANGELIS, K.; SANTOS, M.S.B.; IRIGOYEN, M.C. Sistema nervoso autônomo e doença cardiovascular. **Revista de da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v.3, 2004b.

DORMANDY, T.L. Free-radical oxidation and antioxidants. **Lancet**, v.1,p.647-650, 1978.

FAGARD, R.H. Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.33,p.853-6, 2006.

Faria, T. O. *et al.* Acute resistance exercise reduces blood pressure and vascular reactivity, and increases endothelium – dependent relaxation in spontaneously hypertensive rats. **Eur J Appl Physiol**, v.110,p.359–366, 2010.

FIGUEROA, A. *et al.* Combined resistance and endurance exercise training improves arterial stiffness, blood pressure, and muscle strength in postmenopausal women. **Menopause**, v.18,n.9,p.980-4, 2011.

FLUES, K. *et al.* Exercise training associated with estrogen therapy induced cardiovascular benefits after ovarian hormones deprivation. **Maturitas**, v.65,n.3,p.267-71, 2010.

FLOHE, L; GUNZLER, WA. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v.105,p.114-121, 1984.



FORJAZ, C.L.M. *et al.* Exercício resistido para o paciente hipertenso: indicação ou contra-indicação. **Rev Bras Hipertens**, v.10,p.119-124, 2003.

GAVA, N.S. *et al.* Low-intensity exercise training attenuates cardiac-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.26, p.1129-33, 1995.

GONZALEZ FLECHA, B; LLESUY, S; BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. **Free Radical Biol Med**, v.10,p.1093-100, 1991.

HARTHMANN, AD. *et al.* Exercise training improves arterial baro and chemoreflex in control and diabetic rats. **Auton Neurosci**, v.133,n.2,p.115-120, 2007.

HÈRNADEZ, I. *et al.* 17 $\beta$ -Estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. **Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol**, v.279,p.R1599-R1605, 2000.

HORNBERGER, T.A. JR.; FARRAR, R.P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v.29,n.1,p.16-31, 2004.

HOWE, T.E. *et al.* Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. **Cochrane Database Syst Rev**, v.6,n.7,p.CD00033, 2011.

Irigoyen, M.C. *et al.* Fisiopatologia da hipertensão: o que avançamos? **Rev Soc Cardiol de São Paulo**, v.1,p.20-45, 2003.

IRIGOYEN, M.C. *et al.* Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, v.46,n.2,p.1-6, 2005.

ISHISE, H. *et al.* Time course of sympathovagal imbalance and left ventricular dysfunction in conscious dogs with heart failure. **J appl physiol**, v.84,n.4,p.1234–1241, 1998.

JOAQUIM, L.F.; SALGADO, H.C.; FAZAN, R. Variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca, e sensibilidade do barorreflexo, em animais geneticamente manipulados. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.12,p.36-40, 2005.

KASSIS, E.; AMTORP, O. Cardiovascular and neurohumoral postural responses and baroreceptor abnormalities during a course of adjunctive vasodilator therapy with felodipine for congestive heart failure. **Circulation**, v.75,p.1204–1213, 1987.

KELLEY, G.A. Aerobic exercise and resting blood pressure among women: a meta-analysis. **Prev Med**, v.28, n.3,p.264-75, 1999.

KIM, D. H. *et al.* Human apolipoprotein E receptor 2. A novel lipoprotein receptor of the low density lipoprotein receptor family predominantly expressed in brain. **J. Biol. Chem.** v.271, p.8373–8380, 1996.

KRIEGER, E.M.; BRUM, P.C.; NEGRAO, C.E. State-of-the-Art lecture: influence of exercise training on neurogenic control of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.34,n.4,p.720-3, 1999.

KUO, T.B.J. *et al.* Effect of aging on gender differences in neural control of heart rate. **Am J Physiol**, 46: H2233-H2239, 1999.

LA ROVERE, J. Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction. **Circulation**, v.106,p.945-949, 2002.

LATOURE, M.G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J.M. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **J Appl Physiol**, v.90,n.1,p.235-241, 2001.

LI, Z. *et al.* Oxygen-derived free radicals contribute to baroreceptor dysfunction in atherosclerotic rabbits. **Circ Res**, v.79,p.802–811, 1996.

LLESUY, S.F. *et al.* Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. **Tumori**, v.71,p.241-249, 1985.

LOWRY, O.H; ROSENBROUGH, N.T; FARR, A.L. Protein measurements with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v.193,p.265-275, 1951.

MANCIA, G. *et al.* Hemodynamics and pressure variability in isolated systolic hypertension. **Cardiologia**, v.39,p.247-50, 1994.

MANCIA, G. *et al.* Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. **J Hypertens**, v.27,p.2121-2158, 2009.

MILLER, V.M. Gender, Estrogen, and NOS. Cautions about Generalizations. **Cir Res**, v.85,p.979-981, 1999.

NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. Statistical abstract of the United States.117<sup>th</sup> edition.US Bureau of the Census. Washington, DC, USA, 83p., 1997, <http://www.census.gov/prod/www/statistical-abstract-us.html>.

NIKI, E.; NAKANO, M. Estrogens as Antioxidants. **Methods in Enzymology**, v.186,p.330-333, 1990.

NORDMANN, R. Alcohol and antioxidant systems. **Alcohol**, v.29,p.513-522, 1994.

OSSEWAARDE, M.E. *et al.* Age at menopause, cause- specific mortality and total life expectancy. **Epidemiology**, v.16,p.556-62, 2005.

O’SULLIVAN, S.E.; BELL, C. The effects of exercise and training on human cardiovascular reflex control. **J Auton Nerv System**, v.81,p.16-24, 2000.

PALMA, R. K. *et al.* Efeitos do Treinamento físico aeróbio em modelos animais de hipertensão. **Revista Hipertensão** (impresso) 2012.

PARENTE COSTA, LP. *et al.* Treinamento físico melhora a disfunção quimiorreflexa em ratos diabéticos por estreptozotocina. **Rev Bras Educ Fís Esp**, v.18,n.3,p.293-301, 2004.

PANZA, JA. *et al.* Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **N Engl J Med**, v.5,n.323,p.22-7, 1990.

PESCATELLO, L.S. *et al.* American College of Sports Medicine.American College of Sports Medicine position stand.Exercise and hypertension. **Med Sci Sports Exerc**, v.36,n.3,p.533-53, 2004.

RABELO, E. *et al.* Baroreflex sensitivity and oxidative stress in adriamycin-induced heart failure. **Hypertension**, v.38,n.2,p.576-580, 2001.

RECKELHOFF, J.F.; ZHANG, H.; SRIVASTAVA, K. Gender differences in the development of hypertension in SHR: role of the renin angiotensin system. **Hypertension**, v.35,p.480-483, 2000.

REGO, R.A. *et al.* Fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis: inquérito domiciliar no Município de São Paulo, SP. **Rev Saúde Pub**, v.24,p.277-85, 1990.

REZNICK, A.Z.; PACKE, R. L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods Enzymol**, v.233,p.357-63, 1994.

RIBEIRO, J. P.; MORAES FILHO, R.S. Variabilidade da Frequência Cardíaca como Instrumento de Investigação do Sistema Nervoso Autônomo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.12,p.14-20, 2005.

RODRIGUES, B.; IRIGOYEN, M.C; DE ANGELIS, K. Correlation between speed and oxygen consumption (VO<sub>2</sub>) in rats submitted to maximum exercise test. **FIEP Bulletin**, v.76,p.231-233, 2006.

SANCHES, I.C. *et al.* Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**, v.19,n.5,p.562-8, 2012.

SCHULTZ, H.D.; USTINOVA, E.E. Capsaicin receptors mediate free radical-induced activation of cardiac afferent endings. **Cardiovasc Res**, v.38,p.348–355, 1998.

SEALS, D.R. *et al.* Effect of regular aerobic exercise on elevated blood pressure in postmenopausal women. **Am J Cardiol**, v.80, n.1,p.49-55, 1997.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angew Chem Int Ed Engl**, n.25,p.1058-71, 1986.

SILVA, I.C.M.; SARTORI, M.; DE ANGELIS, K. Mecanismos hipotensores do exercício físico. **Hipertensão**, v.13,p.166-171, 2010.

SILVEIRA, L.C. *et al.* Comparison of the effects of aerobic and resistance training on cardiac autonomic adaptations in ovariectomized rats. **AutonNeurosci**, v.5,n.162(1-2),p.35-41, 2011.

SOARES, P.P. *et al.* Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **AutonNeurosci**, v.113,n.(1-2),p.24-31, 2004.

SOUZA, SBC. *et al.* Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. **Hypertension**, v.30,p.786-791, 2007.

SOWERS, M.R.; LA PIETRA, M. Menopause: its epidemiology and potential association with chronic diseases. **Epidemiol Rev**, v.17,p.287-302, 1995.

STAESSEN, J.Á. *et al.* Conventional and ambulatory blood pressure and menopause in a prospective population study. **Journal of Human Hypertension**, v.11,p.507-514, 1997.

STAMLER, J. *et al.* Hypertension screening of 1 milion Americans. Community Hypertension Evaluation Clinic (CHEC) Program, 1973–1975. **JAMA**, v.235,p.2299–2306, 1976.

STAMPFER, MJ. *et al.* Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten – year follow- up from the nurses’ health study. **N. Engl. J. Med**, v.325,n.11,p.756-762, 1991.

SUGAWARA, J. *et al.* Effect of low-intensity aerobic exercise training on arterial compliance in postmenopausal women. **Hypertens Res**, v.27,n.12, p.897-901, 2004.

TIETZE, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. **Anal Biochem**, v.27,n.3,p.502-22, 1969.

VERÁS- SILVA, A.S. *et al.* Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol**, v.273,p.H2627-H2631, 1997.

WELTY, F.K. Preventing clinically evident coronary heart disease in the postmenopausal woman. **Menopause**, v.11,n.4,p.484-494, 2004.

WHELTON, S.P. *et al.* Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann Intern Med**, v.136,p.493-503, 2002.

WILLIAMS, M. A. *et al.* Resistance Exercise in Individuals with and without cardiovascular disease: 2007 Update: A scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v.116,p.572-584, 2007.

# **ANEXO A**

## **Parecer do COEP**



Protocolo de Pesquisa referente ao Projeto nº AN 001/2012 (reap AN 0035/2011)

Título do Projeto:  
**Efeitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em parâmetros autonômicos e de estresse oxidativo em ratas hipertensas ooforectomizadas**

Orientador: Prof. Dra. Kátia De Angelis

Aluno: Renata Kelly da Palma

**Objetivos:** O objetivo do presente estudo será verificar os efeitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em parâmetros, do controle autonômico cardiovascular e de estresse oxidativo em ratas SHR (fêmeas espontaneamente hipertensas) submetidas à privação de hormônios ovarianos. Os objetivos estão de acordo com a lei 11.794 de 08/10/2008. Também atende as principais recomendações da SBCAL.

**Método:** Serão utilizados 8 ratos Wistar fêmeas, provenientes do Biotério da Universidade Nove de Julho, e 32 ratos fêmeas espontaneamente hipertensos (SHR), provenientes do Biotério do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul com aproximadamente 10 semanas de vida (190-220g). O presente projeto é parte do subprojeto 5 do Auxílio Jovem Investigador 07/57595-5 da FAPESP. Os animais serão divididos em 5 grupos experimentais com 8 ratas em cada grupo, segundo o cálculo do n amostral.:

Grupo I- Controle saudável (CS): serão acompanhadas por 9 semanas (serão avaliadas nas fases não ovulatória do ciclo estral).

Grupo II - Hipertenso sedentário (HS): serão acompanhadas por 9 semanas (serão avaliadas nas fases não ovulatória do ciclo estral).

Grupo III- Ooforectomizado hipertenso sedentário(OHS): serão submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e acompanhadas por 8 semanas.

Grupo IV - Ooforectomizado hipertenso treinado aeróbio(OHTa): serão submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e a treinamento físico em esteira ergométrica rolante (Imbramed TK-01) durante 8 semanas.

Grupo V- Ooforectomizado hipertenso treinado resistido (OHTr): serão submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e a treinamento físico resistido em escada adaptada para ratos por 8 semanas.

Reduzir os animais para 5 em cada grupo (diminuindo o n. total para 25), ou justificar a necessidade de se manter o número de 8 em cada grupo. A Metodologia está de acordo com a lei 11.794 de 08/10/2008.

O n dos animais foi justificado por referências bibliográficas e pela questão da variação da pressão arterial.

**Animais (procedência, raça, linhagem, número de animais, peso, sexo):** Serão utilizados 40 ratos [8 ratos Wistar fêmeas, provenientes do Biotério da Universidade Nove de Julho, e 32 ratos fêmeas espontaneamente hipertensos (SHR), provenientes do Biotério do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul com aproximadamente 10 semanas de vida (190-220g)], fêmeas, linhagem Wistar e SHR (190 ± 220g), procedentes do biotério da Universidade Nove de Julho.

Os objetivos estão de acordo com a lei 11.794 de 08/10/2008. Também atende as principais recomendações da SBCAL.

**Condições de alojamento e nutrição:** Os animais serão mantidos em gaiolas, contendo no máximo 6 animais cada uma, em ambiente com temperatura controlada (22 °C – 24 °C) e com ciclo de luz e escuro controlado de 12 horas (invertido). A alimentação será *Ad Libitum*. **O projeto atende as principais recomendações da SBCAL.**

**Medidas para evitar estresse e/ou dor nos animais:**

**Ooforectomia Bilateral:** As ratas serão anestesiadas com cloridrato de cetamina (Ketalar) e cloridrato de xilazina (Rompum) e colocadas em decúbito dorsal para que se realize uma pequena incisão (1cm) em paralelo com a linha do corpo na pele e na musculatura no terço inferior na região abdominal.

**Canulação e Registro de Pressão Arterial:** Após 9 semanas de protocolo, as ratas serão anestesiadas (i.p.) com cloridrato de cetamina (50 mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12 mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocadas em decúbito dorsal para que se realize uma pequena incisão na região do pescoço para implantação de uma cânula na artéria carótida em direção ao ventrículo esquerdo, para registro direto da PA e na veia jugular para administração das drogas.

Como o projeto envolve alunos, mesmo sendo de mestrado, recomenda-se uma conversa com os alunos sobre os aspectos éticos descritos nas recomendações da SBCAL. É fundamental o esclarecimento sobre a autoria dos principais atos cirúrgicos e anestésicos de acordo com a legislação vigente e com as principais recomendações da SBCAL. (50 mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e (12 mg/Kg, Rompum, Bayer) Estes dois dados devem explicitar a concentração e a dosagem a ser administrada para os animais, uma vez que estas podem ser decisivas na sobrevivência dos animais no procedimento de anestesia.

De acordo com o pesquisador, os alunos receberão formação e treinamento nos procedimentos realizados, com apoio de uma técnica de pesquisa com bolsa FAPESP que acompanhará todos os experimentos.

**Doses a serem utilizadas:**

Cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar a 10% ou 100mg/mL, ParkeDavis), Cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum a 2% ou 20mg/mL Bayer).

De acordo com as principais recomendações da SBCAL.

**Procedimento Anestésico e/ou Analgésico (incluir dose e vias de administração):** Descritos acima.

**Eutanásia:** No dia seguinte ao término das avaliações hemodinâmicas, os animais de todos os grupos serão sacrificados por decapitação e os tecidos serão pesados e congelados para avaliações de estresse oxidativo, enzimas antioxidantes e concentração de nitritos e nitratos no tecido cardíaco. Tal método de eutanásia se faz necessário em função das demais técnicas induzirem aumento de estresse oxidativo (por exemplo pela ação de anestésicos), bem como pela necessidade de coleta de grande volume de sangue para medidas bioquímicas.

Há a pendência de um esclarecimento à respeito da acurácia do experimentador neste procedimento específico e de difícil execução, além de um esclarecimento dos princípios éticos aos alunos. Também se faz necessário a indicação do local onde o procedimento será realizado, uma vez que não há oficialmente guilhotina na UNINOVE.

De acordo com o pesquisador, os alunos receberão formação e treinamento nos procedimentos realizados, com apoio de uma técnica de pesquisa com bolsa FAPESP que acompanhará todos os experimentos.

Equipamentos, inclusive a guilhotina foram obtidos com verba de projeto FAPESP (Projeto Jovem pesquisador).

**Pertinência e valor científico do estudo proposto:** Deve-se considerar que a maior parte dos trabalhos publicados na literatura com relação aos efeitos autonômicos do treinamento físico em animais e



Protocolo de Pesquisa referente ao Projeto nº AN 001/2012 (reap AN 0035/2011)

Título do Projeto:

**Efcitos do treinamento físico aeróbio ou resistido em parâmetros autonômicos e de estresse oxidativo em ratas hipertensas ooforectomizadas**

humanos, assim como todos os nossos estudos citados acima, foram realizados em amostras do sexo masculino, ficando a dúvida se o sexo feminino, em situações fisiológicas, como o climatério, e fisiopatológicas se adaptaria ao treinamento físico. Vale ressaltar que nosso grupo evidenciou normalização da PA após um protocolo de treinamento físico em ratas Wistar ooforectomizadas (Irigoyen et al., 2005 e Sousa et al., 2007). Recentemente Figueroa et al., (2011) verificaram uma melhora sistêmica na rigidez arterial, na hemodinâmica e na força muscular em mulheres pós menopausa que realizaram exercícios combinados (aeróbio e resistido) de intensidade moderada. Porém esse era um grupo de mulheres saudáveis e não sabe-se qual a participação do exercício aeróbio e resistido individualmente para alcançar esse resultado.

**Trata-se de projeto de mestrado orientado por pesquisadora experiente e com produção relevante na área. O projeto atende as principais recomendações da SBCAL.**

**Apresentado a este Comitê para análise ética, foi considerado:**

( X ) Aprovado, sendo que este projeto deverá permanecer arquivado por 05 (cinco) anos nesta Secretaria.

( ) Com pendência (relacionar), devendo o Pesquisador encaminhar as modificações sugeridas, e iniciar a coleta de dados somente após a aprovação do projeto por este Comitê.

( ) Não-Aprovado

São Paulo, 14 de março de 2012



**Prof. Dra. Maria Antonietta Leitão Zajac**  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da  
Universidade Nove de Julho

# **ANEXO B**

Carta de Submissão do

artigo para revista

*Hypertension*

## Authorship Responsibility and Copyright Transfer Agreement

Each author must read and agree to the statements in sections 1. (Authorship Responsibility, Criteria, and Contributions) and 3. (either Copyright Transfer or For U.S. Government Employee Authors).

---

<b>Journal</b>	<i>Hypertension</i>	<b>Manuscript #</b>	HYPE201200719
<b>Date</b>	December 10, 2012 16:24 GMT	<b>IP Address</b>	186.251.39.229
<b>Title</b>	EFFECTS OF RESISTANCE OR AEROBIC EXERCISE TRAINING IN HYPERTENSIVE MENOPAUSED RATS: IMPACT ON CARDIOVASCULAR CONTROL		
<b>Authors</b>	Renata Palma, Danielle Dias, Guilherme Shimojo, Filipe Conti, Nathalia Bernardes, Catarina Barboza, Iris Sanches, Alex Sander Araújo, Susana Llesuy, Maria Cláudia Irigoyen, and Kátia De Angelis		

---

### 1. Authorship Responsibility, Criteria, and Contributions.

Each author should meet all criteria below (A, B, and C) and should indicate general and specific contributions by reading the criteria and checking the appropriate lines.

A. By checking this box, I certify these **three** things:

- The manuscript represents valid work and neither it nor another one that I have written with substantially similar content has been published or is being considered for publication elsewhere, except as described in an attachment.
- If asked, I will provide or fully cooperate in obtaining and providing the data on which the manuscript is based so the editors or their assignees can examine it.
- For papers with more than 1 author, I agree to allow the corresponding author to
  - be the main correspondent with the editorial office,
  - review the edited manuscript and proof, and
  - make decisions about releasing manuscript information to the media, federal agencies, or both.

If I am the only author, I will be the corresponding author and agree to handle these responsibilities.

B. I have given final approval of the submitted manuscript.

## ANEXO C



São Paulo, 10 de outubro de 2012.

Prezada Professora Kátia De Angelis

É com satisfação que venho comunicar-lhe que uma nova seção da Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão vai ser implementada em nossos próximos números, ainda em 2012.

Esta seção é destinada a alunos de pós graduação, residentes ou alunos em estágios de iniciação científica ou aperfeiçoamento que desenvolvam trabalho inédito ou de revisão e que pretendem divulgar o mesmo.

Aproveito a oportunidade para informar que seu artigo e de sua orientanda Renata Kelly da Palma pode ser publicado nessa seção.

Sem mais para o momento,

**MC Irigoyen**  
Presidente da Sociedade Brasileira de Hipertensão

### **Artigo aceito na Revista Hipertensão.**

Este estudo é uma revisão de literatura realizada na base de dados do *Medlines* em limite de data até junho de 2012. Para tanto foram utilizados os termos: *hypertension, rat, exercise training or physical training* e *arterial pressure or blood pressure* em diferentes formas combinadas em citações no título ou no resumo. Foram considerados para a revisão dos efeitos do treinamento físico aeróbio na hipertensão experimental somente artigos publicados no idioma inglês que utilizaram protocolos de treinamento dinâmicos (esteira, natação ou roda) realizados em ratos e que avaliaram variáveis cardiovasculares. Os resultados desta revisão evidenciam que o treinamento físico aeróbio dinâmico pode reduzir a pressão arterial em diferentes modelos de animais hipertensão por mecanismos que envolvem alterações neurohumorais, reforçando o importante papel desta abordagem no tratamento da hipertensão e de suas disfunções associadas.

## **EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO EM MODELOS ANIMAIS DE HIPERTENSÃO**

### **EFFECTS OF AEROBIC EXERCISE TRAINING IN ANIMAL MODELS OF HYPERTENSION**

Renata Kelly da Palma<sup>1</sup>, Christiane Malfitano<sup>1</sup>, Guilherme Lemos Shimojo<sup>1</sup>, Iris Callado Sanches<sup>1</sup>,  
Kátia De Angelis<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Fisiologia Translacional, Universidade Nove de Julho (Uninove), São Paulo,  
Brasil.

Suporte Financeiro FAPESP, nº do processo 2011/16441-0



## **RESUMO**

A hipertensão arterial é uma das principais causas de morte na população mundial devido ao acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio e insuficiência renal. O entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no seu desenvolvimento e manutenção é fundamental para criação de estratégias terapêuticas. Neste sentido, há muitos anos modelos animais vêm sendo utilizados no estudo dessa doença. Nesta revisão de literatura, abordamos os efeitos do treinamento físico aeróbio dinâmico como estratégia não farmacológica de manejo da hipertensão em modelos animais. Os resultados de estudos publicados evidenciam que o treinamento físico aeróbio dinâmico pode reduzir a pressão arterial em diferentes modelos de hipertensão em ratos por mecanismos que envolvem alterações neurohumorais, reforçando o importante papel desta abordagem no tratamento da hipertensão e de suas disfunções associadas.

Palavras Chaves: Hipertensão, Treinamento físico aeróbio, rato, pressão arterial.

## **ABSTRACT**

Hypertension is one of the leading causes of death due to stroke, heart attack and kidney failure. The understanding of the pathophysiological mechanisms involved in its development and maintenance is critical to potential therapeutic interventions. Thus, animal models of hypertension have been used in the study of this disease for many years. In this review we investigated the effects of dynamic aerobic exercise training as a non-pharmacological approach for the management of hypertension in animal models. The results demonstrated that aerobic exercise training may reduce blood pressure in different rat models of hypertension by mechanisms involving neurohumoral changes, reinforcing the important role of this approach in the treatment of hypertension and its associated disorders.

Key words: Hypertension, Aerobic exercise training, rat, bloodpressure.

## INTRODUÇÃO

No Brasil aproximadamente 32,6% das mortes e hospitalizações são decorrentes de doenças cardiovasculares. Entre 1996 e 1999 as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 17% das internações no setor público (SUS) de pessoas com idade entre 40 e 59 anos <sup>1</sup> e 27% com 60 ou mais anos <sup>2</sup>. De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde (World Health Organization - WHO, 2012), um em cada três adultos apresenta hipertensão, uma condição que causa cerca da metade de todas as mortes por acidente vascular encefálico e problemas cardíacos no mundo.

A hipertensão é uma doença silenciosa que associado aos maus hábitos de vida da sociedade moderna, frequentemente é percebida quando um evento cardiovascular se manifesta. Essa doença acarreta altos custos para os sistemas de saúde em vários países. No Brasil, por exemplo, os custos das doenças cardiovasculares correspondem a 1,74% do Produto Interno Bruto<sup>3</sup>. Dessa forma, estratégias que visem prevenir ou atenuar o desenvolvimento dos fatores de risco cardiovasculares têm sido amplamente investigadas, pois podem representar economias expressivas nos sistemas de saúde pública de vários países.

Nesse sentido, a pesquisa experimental fornece contribuições significativas, pois permite o controle de variáveis que são inerentes à vida moderna, como o estresse, por exemplo. Além disso, o uso de modelos animais na pesquisa permite a investigação de parâmetros invasivos que são eticamente inviáveis, ou com metodologias muito caras ou inacessíveis para a realização em humanos. Devido à origem multifatorial da hipertensão, diversos modelos experimentais dessa doença

foram desenvolvidos ao longo do tempo, cada um deles envolvendo um ou mais mecanismos, contribuindo para a investigação das alterações decorrentes dos vários fatores etiológicos da hipertensão.

Os modelos experimentais de hipertensão arterial podem ser agrupados de acordo com a etiologia da doença. Dentre os modelos genéticos de hipertensão, podemos citar os ratos com hipertensão espontânea (SHR) e a linhagem de ratos sensíveis à ingestão de sódio (Dahl). Além disto, existem os modelos de hipertensão induzida ambientalmente, por estresse ou ingestão de sal. Com relação à hipertensão renal, temos a hipertensão renovascular, decorrente da oclusão parcial da artéria renal, a renopriva e a perinefrítica. Por fim, há os modelos induzidos farmacologicamente, entre eles, o modelo denominado L-NAME, decorrente do bloqueio na formação de óxido nítrico (NO)<sup>4</sup>.

Nos últimos anos, esses modelos de hipertensão experimental foram submetidos a diferentes estratégias para controle dos níveis pressóricos. Dentre essas estratégias, podemos citar o uso de fármacos, o controle alimentar, e o treinamento físico. Neste sentido, nesta revisão de literatura são apresentados os principais efeitos do treinamento físico aeróbio dinâmico (TFA) em diferentes modelos experimentais de hipertensão em ratos, destacando a importância desta abordagem não farmacológica no manejo das disfunções decorrentes da hipertensão.

#### **PROCEDIMENTO PARA BUSCA DE ARTIGOS**

Este estudo é uma revisão de literatura realizada na base de dados do *Medline* em limite de data até junho de 2012. Para tanto foram utilizados os termos;

*hypertension, rat, exercise training or physical training e arterial pressure or blood pressure* em diferentes formas combinadas em citações no título ou no resumo. Foram considerados para a revisão dos efeitos do treinamento físico aeróbio na hipertensão experimental somente artigos publicados no idioma inglês que utilizaram protocolos de treinamento dinâmicos (esteira, natação ou roda) realizados em ratos e que avaliaram variáveis cardiovasculares.

## **HIPERTENSÃO GENÉTICA – ESPONTÂNEA**

### **RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)**

Ratos espontaneamente hipertensos originaram-se a partir de cruzamentos entre casais da colônia Wistar, com tendência a pressão sanguínea elevada, oriundos do centro de animais da Kyoto University, em Kyoto, Japão <sup>5</sup>. Em animais SHR, entre a quarta e sexta semana de idade, observa-se aumento da pressão arterial (PA) caracterizando, a partir desse momento, hipertensão sustentada. A hipertensão deste modelo caracteriza-se de forma espontânea, sem nenhuma intervenção fisiológica, farmacológica ou cirúrgica <sup>6</sup>.

A importância do estudo no modelo SHR é devido ao desenvolvimento da fisiopatologia ser semelhante à descrita na hipertensão essencial em humanos, com respostas hemodinâmicas e endócrinas parecidas <sup>7,8</sup>. Além disto, Sharma e colaboradores (1985) afirmam que este modelo de hipertensão tem uma vantagem sobre os outros, já que apresenta um aumento gradual da PA.

Estudos *in vivo* demonstraram que nos estágios iniciais da hipertensão, os ratos SHR apresentam um aumento do débito cardíaco com resistência periférica normal,

progredindo para o estágio de hipertensão estabelecido. Nesse período, o débito cardíaco retorna aos valores de normalidade, porém o aumento da PA é sustentado, sendo decorrente do aumento da resistência periférica total <sup>10</sup>.

No curso temporal da hipertensão, o animal SHR desenvolve progressivamente (entre 6 e 24 meses de idade) alterações morfofuncionais cardíacas, associadas ao desenvolvimento da hipertrofia ventricular esquerda (HVE) <sup>11</sup>, que podem auxiliar na manutenção da função cardíaca normal, apesar da elevada PA sistêmica <sup>12,13</sup>. Nesse modelo de hipertensão genética já está muito bem documentado a presença de hiperatividade simpática <sup>14</sup> e do sistema renina-angiotensina (SRA) <sup>15</sup>.

Muitos estudos abordam os efeitos do treinamento físico aeróbio no controle da PA em SHR. No final da década de 70, Evenwel e Struyker-Boudier (1979) verificaram que o TFA de natação, com duração de 11 semanas reduziu significativamente a pressão arterial sistólica (PAS) no grupo de SHR. Tipton e colaboradores (1983), em um estudo utilizando mais de 100 SHR de ambos os gêneros, constataram que a PA de repouso foi significativamente reduzida em ratos machos jovens SHR que foram submetidos a TFA de intensidade moderada (40-60% do VO<sub>2</sub> máximo) em esteira por 24 semanas, mas não nos submetidos a intensidade de treinamento de 75% do VO<sub>2</sub> máximo. Nesse estudo foi possível observar ainda diminuição da dosagem de anti-hipertensivo (-85%) em SHR submetidos a TFA moderado para obtenção de valores de PA de repouso reduzidas ou normais em SHR machos.

Além disto, outros efeitos benéficos do TFA foram demonstrados ainda entre as décadas de 80-90, como o aumento da área da superfície capilar <sup>18</sup>, a melhora no controle barorreflexo da PA e diminuição da frequência cardíaca de repouso <sup>19</sup>.

Na década de 90, estudos em ratos machos SHR observaram efeitos benéficos após o TFA de baixa intensidade em esteira. Gava e colaboradores (1995) observaram redução da PA associada à redução da frequência cardíaca de repouso, e à diminuição do tônus simpático. Véras-Silva e colaboradores (1997) também verificaram a diminuição do tônus simpático somente em TFA de baixa intensidade (55%  $Vo_2$ máx) quando comparado ao de alta intensidade (85%  $Vo_2$ máx), sem alteração do tônus vagal ou frequência cardíaca intrínseca, sugerindo que a atenuação do tônus simpático para o coração seria o principal mecanismo responsável pela redução da PA em SHR machos. De forma semelhante, um programa de TFA de natação em SHR fêmeas, além do efeito hipotensor, foi capaz de reduzir a ativação do sistema simpático e a concentração de prostaglandinas renais <sup>22</sup>.

Adicionalmente, o TFA em esteira foi capaz de aumentar a sensibilidade barorreflexa em SHR <sup>23</sup>, sendo este benefício explicado, pelo menos em parte, pelo aumento da aferência deste arco reflexo após o TFA em ratos SHR <sup>24</sup>. Outros estudos sugerem ainda que a redução do estresse oxidativo <sup>25</sup>, alterações na morfologia ultraestrutural renal <sup>26</sup>, redução da expressão de angiotensinogênio em núcleos centrais <sup>27</sup>, melhora da complacência vascular <sup>28</sup> e ativação do sistema cininacalicroína<sup>29</sup> poderiam contribuir para a melhora do barorreflexo e para redução da PA pós TFA em SHR.

Interessantemente dados recentes evidenciam que as alterações benéficas cardíacas, autonômicas e vasculares do TFA são muito atenuadas pela retirada do barorreflexo, sugerindo que este seja um mecanismo importante na modulação das adaptações ao treinamento físico <sup>30,31</sup>.

Zamo e colaboradores (2011) observaram redução da PAS e PA média além de bradicardia de repouso em SHR machos jovens e adultos após 8 semanas de TFA de natação. Tais alterações foram associadas à redução da angiotensina II circulante; porém somente nos SHR jovens houve diminuição da expressão dos componentes do sistema renina angiotensina no tecido cardíaco. Estudos mais recentes deste grupo evidenciam que um protocolo de 10 semanas de treinamento aeróbio de natação promoveu redução dos níveis dos microRNA 16 e 21 (que regulador da expressão do fator de crescimento endotelial vascular e com função antiapoptótica, respectivamente), o que pode estar envolvido na redução da rarefação vascular da musculatura esquelética causada pela hipertensão nos animais hipertensos treinados<sup>33</sup>.

Coimbra e colaboradores (2008) demonstraram que o TFA em esteira induziu ajustes cardiovasculares diferentes entre ratos SHR machos e SHR fêmeas, sugerindo que o efeito hipotensor ao treinamento esteja atrelado ao gênero. Neste sentido, recentemente, demonstramos que SHR fêmeas submetidas à privação de hormônios ovarianos e ao TFA por 8 semanas em esteira apresentavam redução da PA, aumento do tônus vagal e melhora da sensibilidade barreflexa, benefícios estes em parte atenuados com os animais SHR foram submetidos ao consumo crônico de frutose<sup>34</sup>.

#### RATOS HIPERTENSOS STROKE - PRONE (SHR-SP)

O modelo de ratos *stroke-prone* (SHR-SP) foi criado a partir da linhagem de SHR. Esses animais desenvolvem níveis pressóricos mais elevados que os SHR com grande tendência de mortalidade por acidente vascular encefálico (AVE)<sup>36</sup>.



Alguns estudos foram realizados para verificar os efeitos benéficos do TFA no controle da PA nos modelos SHR-SP. Lutgemeier e colaboradores (1987) submetem os SHR-SP ao TFA de natação com duração de 22 semanas, 6 vezes por semana, realizados duas vezes ao dia por 1,5 horas por dia. Este protocolo de treinamento físico foi capaz de reduzir a PA dos animais SHR-SP em comparação a ratos controles, talvez pela redução do tônus simpático-adrenal, diminuindo de níveis de corticosterona, epinefrina e norepinefrina. De forma semelhante, Song e colaboradores (1998) verificaram, após 4 semanas de treinamento físico de natação com duração de 1 hora por dia, 5 vezes por semana, redução da PAS em SHR-SP machos, assim como o aumento da sensibilidade a insulina e expressão de GLUT4.

#### RATOS DAHL SALT- SENSITIVE

O modelo *Dahl salt-sensitive* foi originalmente desenvolvido por Dahl a partir do rato da linhagem *Sprague-Dawley*, no qual se observa em alguns animais desenvolvimento de hipertensão com dieta rica em sal. A partir desses achados, Dahl e colaboradores (1962) selecionaram a partir de endo-cruzamento de ratos *Sprague-Dawley* e, baseados nos níveis pressóricos induzida por uma dieta rica em sódio (NaCl a 8%), duas linhagens de animais diferentes: *Dahl salt-sensitive*, a qual desenvolvia hipertensão arterial após alta ingestão de sal e o *Dahl salt –resistant*, que mantinha a PA em níveis normais com a mesma dieta.

Shepherd et al. e colaboradores (1982) demonstraram em ratos *Dahl salt-sensitive* com dieta de 8% de NaCl e submetidos concomitantemente a TFA em esteira por 12 semanas atenuação da hipertensão. No entanto, o mesmo não ocorreu para aqueles animais que iniciaram o TFA seis semanas após o início da ingestão de sal.

Além disto, esses autores demonstraram que o TFA realizado por 60 minutos por dia foi mais eficaz do que aquele com duração de 30 minutos por dia, sugerindo que a duração do TFA pode influenciar na resposta de atenuação da hipertensão.

### RATOS HIPERTENSOS BORDERLINE

O rato hipertenso *borderline* (BHR) é um modelo de hipertensão genético induzida ambientalmente por estresse ou pela ingestão de sal <sup>41,42</sup>, obtido pelos cruzamentos entre os ratos SHR e WKY <sup>43</sup>. O mecanismo pelo qual o estresse ambiental produz a hipertensão não está esclarecido neste modelo, entretanto, o sistema nervoso simpático parece contribuir para este desenvolvimento. O aumento da concentração de norepinefrina plasmática e as mudanças na reatividade vascular induzida pelo estresse ambiental em BHR podem contribuir para as adaptações hemodinâmicas observadas tanto em BHR <sup>44</sup>.

Cox e colaboradores (1985) demonstraram que o TFA de natação com duração de 12 semanas, atenuou o desenvolvimento da hipertensão gerada pelo estresse em BHR, apresentando redução da noraepinefrina, o que sugere uma atenuação do sistema nervoso simpático pelo treinamento. Lutgemeier e colaboradores (1987) submeteram animais BHR ao TFA de natação com duração de 22 semanas, 6 vezes por semana, realizados duas vezes ao dia por 1,5 horas por dia. Esse protocolo de treinamento físico foi capaz de reduzir a PA dos animais BHR em comparação a ratos controles. Squire e colaboradores (1987) verificaram que o TFA voluntário em roda com duração de semanas apresentava efeitos protetores à hipertensão induzida pelo estresse, apenas nos animais BHR mais velhos. No entanto, Melby e colaboradores

(1991) demonstraram que o TFA de natação por 20 semanas apesar de induzir bradicardia em BHR com hipertensão desenvolvida por dieta rica em sódio, não promoveu redução na PA.

Na associação da dieta rica em sódio e estresse para o desenvolvimento da hipertensão em BHR, observou-se redução dos níveis de norepinefrina em sistema nervoso central dos ratos submetidos à TFA de natação por 2 ou 6 meses, evidenciando o papel do exercício na prevenção da hipertensão induzida por estresse e pelo consumo elevado de sal <sup>46</sup>.

## **HIPERTENSÃO RENAL**

### HIPERTENSÃO RENOVASCULAR

A hipertensão renovascular está presente em 2% da população de hipertensos<sup>47</sup>. Neste sentido, modelos de hipertensão com redução do fluxo sanguíneo renal têm sido investigados. O primeiro modelo animal foi estabelecido por Goldblatt et al. (1934), no qual observou-se aumento progressivo da PA em cães através da constrição parcial da artéria renal. A técnica de Goldblatt consiste em constrição de uma ou as duas artérias renais usando um pequeno clipe de prata <sup>48</sup>. As formas mais utilizadas para desenhar esse modelo de hipertensão são: dois rins um clipe (2R1C; constrição de uma artéria renal enquanto o rim contralateral permanece íntegro), um rim e um clipe (1R1C; constrição de uma artéria renal e o rim contralateral é removido) e dois rins e dois cliques (2R2C; constrição da aorta ou das duas artérias renais).

Rodrigues e colaboradores (2007) demonstraram que o TFA de natação de baixa intensidade (sem sobrecarga de peso na cauda) foi capaz de reduzir a PA e melhorar a sensibilidade barorreflexa para respostas bradicárdicas em ratos com hipertensão 2R1C. Em um estudo posterior, esse mesmo grupo verificou que aumentando da intensidade do TFA de natação (sobrecarga de peso de 3% do peso corporal na cauda) não promoveu melhora das respostas bradicárdicas. Dessa forma, os autores sugeriram que o aumento da intensidade do treinamento físico levaria a um aumento atividade simpática renal, suprimindo os benefícios desta abordagem <sup>50</sup>.

Por outro lado, alguns autores não observaram a redução da pressão arterial após o TFA em ratos com hipertensão severa (2R1C). Marcus e colaboradores (1985) realizaram um protocolo de TFA em esteira de intensidade moderada (50-70%  $Vo_2$ máx) com duração de 8 a 12 semanas e não evidenciaram redução da PA nos animais 2R1C. Rakusan e colaboradores (1987) submeteram o rato 2R1C a um protocolo de natação com intensidade moderada por apenas 6 semanas e também não observaram redução da PA pós treinamento. Boissier e colaboradores (2007) utilizaram 70% do esforço máximo alcançado em esteira pelos ratos para prescrever o TFA de 10 semanas e não obtiveram atenuação da hipertensão neste modelo. No entanto, é importante ressaltar que houve diminuição na pressão de pulso em dois dos estudos citados acima, o que poderia estar associada a redução na rigidez arterial, sugerindo que o TFA possa melhorar a complacência vascular neste modelo experimental <sup>51,53</sup>.

## HIPERTENSÃO RENOPRIVA

A hipertensão renopriva é induzida por nefrectomia bilateral em diferentes espécies, incluindo seres humanos, especialmente se a vida do animal, ou do ser humano, for prolongada após remoção completa dos rins <sup>54</sup>.

A nefrectomia unilateral não causa hipertensão nem lesões cardiovasculares. A remoção de um rim e, aproximadamente, dois terços do outro rim leva a um aumento lento da PA. Nesse modelo, o volume intravascular aumentado resulta em hipertensão e podem ter a mesma patogênese da hipertensão renopriva <sup>55</sup>.

Animais SHR submetidos a 5/6 de nefrectomia, por remoção de rim esquerdo e retirada de dois terços de rim direito, foram submetidos ao TFA em esteira por 4 semanas de intensidade moderada, observando-se atenuação da proteinúria e proteção ao aumento de esclerose glomerular. Entretanto, o TFA associado ao Enalapril ou Losartam reduziu significante a PA e induziu proteção adicional contra o aumento de esclerose glomerular <sup>56</sup>. O TFA de corrida voluntária em roda não induziu normalização da PA em ratos Wistar <sup>57,58</sup> ou ratas Sprague-Dawley submetidos a 5/6 nefrectomia, apesar de reduzir o estresse oxidativo em tecido cardíaco <sup>59</sup> e melhorar a função vascular <sup>58</sup>.

## **HIPERTENSÃO POR INIBIÇÃO CRÔNICA DO ÓXIDO NÍTRICO**

Ribeiro e colaboradores (1992) e Baylis e colaboradores (1992) descreveram pela primeira vez a hipertensão sustentada induzida pela inibição da formação de óxido nítrico (NO), por meio de um inibidor da enzima NO sintase, o L- nitró-arginina-

metil-éster (L-NAME). Estes achados demonstram a importância do NO na regulação da resistência vascular sistêmica, exercendo um efeito vasodilatador tônico.

Esse modelo de hipertensão está associado a uma vasoconstrição periférica intensa e um conseqüente aumento na resistência vascular periférica. Kassab e colaboradores (1998) demonstraram que o débito cardíaco reduz mesmo durante a inibição crônica da NO sintase. Além disso, observaram taquicardia associada à hipertensão, induzida pela hiperatividade simpática, sem alterações na frequência cardíaca intrínseca<sup>63</sup>. O efeito direto do L-NAME impedindo a síntese endotelial do NO e atenuando a vasodilatação tônica é um importante mecanismo na gênese deste modelo de hipertensão experimental<sup>64</sup>. A hipertensão neste modelo experimental também foi associada à lesão renal, caracterizada por glomeruloesclerose, isquemia glomerular e infiltrado intersticial renal<sup>60,61</sup>.

Estudos realizados em nosso grupo evidenciaram que 10 semanas de TFA de intensidade leve-moderada em esteira em ratos hipertensos pela administração de L-NAME não induziu redução da PA<sup>65</sup>. Entretanto, ocorreu uma melhora da sensibilidade periférica à insulina<sup>65</sup> e redução dos níveis pressóricos (dados não publicados) após uma sessão de treino nos animais L-NAME treinados em comparação ao grupo sedentário.

Kuru e colaboradores (2002) observaram a resposta ao TFA em esteira com duração de 4 semanas em ratos Wistar que foram submetidos à administração de L-NAME. Os grupos desse protocolo foram divididos em curto (4 semanas de administração) e longo prazo (10 semanas de administração). O grupo de curto prazo iniciou o TFA concomitantemente a administração de L-NAME e o grupo de longo

prazo iniciou o TFA na sexta semana de administração de L-NAME. Como resultado foi observado redução da PA nos ratos submetidos ao TFA em ambos os grupos, bem como a prevenção do aumento da espessura na parede da aorta quando comparado aos ratos hipertensos sedentários, sugerindo que essa alteração morfofuncional da parede da aorta possa estar associada a redução da PA. Em um estudo posterior, esse grupo de pesquisa observou após TFA que não houve diferenças na resposta de contração e relaxamento do músculo vascular liso, porém houve uma diferença na resposta da resistência endotelial da artéria aorta e normalização a resposta de acetilcolina no grupo treinado <sup>67</sup>.

De acordo com Husain (2003) o TFA associado à administração de L-NAME foi capaz de aumentar a síntese de NO, por meio da ativação da enzima NO sintase endotelial promovendo aumento no fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e na densidade capilar, o que deve ter contribuído para a restauração do fluxo sanguíneo, reduzindo a concentração de lactato plasmático e o estresse oxidativo no plasma observado no grupo L-NAME sedentário.

Por outro lado, Rossi e colaboradores (2008) não demonstraram atenuação da hipertensão após TFA em esteira com 10 semanas de duração, apesar de ter sido evidenciada atenuação do predomínio simpático observado em animais L-NAME sedentários.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Novas abordagens vêm sendo utilizadas para a atenuação da fisiopatologia da hipertensão em modelos animais, dentre elas o TFA. Existem evidências consistentes de que o TFA desempenha um papel-chave na atenuação de diversos fatores

envolvidos no desenvolvimento e manutenção da hipertensão em modelos animais. Neste sentido, boa parte dos estudos publicados evidencia que o TFA de intensidade moderada mostra-se eficaz em reduzir a PA em diferentes modelos de hipertensão. Todavia, em modelos de hipertensão mais severa, ou associada a complicações, a atenuação da hipertensão não é um consenso. Neste aspecto, é importante enfatizar que a divergência de resultados publicados em relação aos efeitos hipotensores do TFA pode estar relacionada ao período de início de aplicação desta abordagem (antes, durante ou após o estabelecimento da hipertensão), a variações do modelo de hipertensão (2R1C vs. 1R1C, dose de L-NAME, etc..), ao tipo de treinamento aplicado (esteira vs. natação vs. roda), as características do treinamento (intensidade e duração da sessão, frequência e duração do treinamento), a associação a outras abordagens (tratamento anti-hipertensivo, retirada do barorreflexo, etc...), ao método de medida da PA (acordado vs. anestesiado, direto vs. indireto), entre outros. Adicionalmente, os modelos experimentais têm auxiliado desde os primeiros relatos de efeitos benéficos do TFA em hipertensos, no entendimento dos mecanismos envolvidos na atenuação das disfunções associadas à hipertensão. Entre esses mecanismos destacam-se a melhora do controle/modulação autonômica cardíaca e vascular e do barorreflexo, a bradicardia de repouso, a atenuação da hiperatividade do SRA, a melhora complacência vascular, o aumento da capilarização, além de outros mecanismos neurohumorais e moleculares ainda pouco estudados.

Concluindo, os resultados de estudos publicados evidenciam que o TFA dinâmico pode reduzir a PA em diferentes modelos de animais hipertensão por mecanismos que envolvem alterações neurohumorais, reforçando o importante papel desta abordagem no tratamento da hipertensão e de suas disfunções associadas.



## REFERÊNCIAS

- 1- ALMEIDA, F.F.; BARRETO, S.M.; COUTO, B.R.; STARLING, C.E. Predictive factors of in-hospital mortality and of severe perioperative complications in myocardial revascularization surgery. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 80(1), p. 51-60, 2003.
- 2- LIMA E COSTA, M.F.F.; GUERRA, H.L.; BARRETO, S.M.; GUIMARÃES, R.M. Diagnóstico da situação de saúde da população idosa brasileira: um estudo da mortalidade e das internações hospitalares públicas. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 9(1), p. 23-41, 2000.
- 3- NETO, G.B.; SILVA, E.N. Os custos da Doença Cardiovascular no Brasil: um breve comentário econômico. **ArqBrasCardiol**, v. 91(4), p. 217-18, 2008.
- 4- FAZAN, R.JR.; DIAS DA SILVA, V.J.; SALGADO, H.C. Modelos de hipertensão arterial. **Rev. Bras. Hipertens**, v. 8, p. 19-29, 2001.
- 5- OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Circ. J**, v. 27, p. 282-93, 1963.
- 6- ZICHA, J.; KUNES, J. Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. **Physiol. Rev**, v. 79(4), p. 1227-82, 1999.
- 7- TRIPPODO, N.C.; FROHLIC, E.D. Similarities of genetic spontaneous hypertension. **Circ. Res**, v. 48(3), p. 309-19, 1981.
- 8- SEALS, D.R.; HAGBERG, J.M.; SPINA, R.J.; ROGERS, M.A.; SCHECHTMAN, K.B.; EHSANI, A.A. Enhanced left ventricular performance in endurance trained older man. **Circulation**, v. 89(1), p. 198-205, 1994.

9- SHARMA, R.V.; TOMANEK, R.J.; BHALLA, R.C. Effect of swimming training on cardiac function and myosin ATPase activity in SHR. **J. Appl. Physiol**, v. 59(3), p. 758-65, 1985.

10- SMITH, T.L.; HUTCHINS, P.M. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat. **Hypertension**, v.1(5), p. 508-17, 1979.

11- ENGELMANN, G.L.; VITULLO, J.C.; GERRITY, R.G. Morphometric analysis of cardiac hypertrophy during development, maturation, and senescence in spontaneously hypertensive rats. **Circ. Res**, v. 60(4), p. 487-94, 1987.

12- ADAMS, M.A.; BOBIK, A.; KORNER, P.I. Differential development of vascular and cardiac hypertrophy in genetic Hypertension: relation to sympathetic function. **Hypertension**, v. 14(2), p. 191-202, 1989.

13- CICOGNA, A.C.; ROBINSON, K.G.; CONRAD, C.H.; SQUIRE, R.; OKOSHI, M.P.; BING, O.H. Participação do estado contrátil e do relaxamento miocárdico na disfunção ventricular durante a transição hipertrofia-falência cardíaca. **Arq.Bras.Cardiol**,v. 69(6), p. 381-84, 1997.

14- [LUNDIN, S.](#); [RICKSTEN, S.E.](#); [THORÉN, P.](#) Renal sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats and normotensive controls, as studied by three different methods. **Acta.Physiol. Scand.**, v. 120(2), p. 256-72, 1984.

15- SCHELLING, P.; MEYER, D.; LOOS, H.E.; SPECK, G.; PHILLIPS, M.I.; JOHNSON, A.K.; GANTEN, D. A micromethod for the measurement of renin in brain nuclei: its application in spontaneously hypertensive rats. **Neuropharmacology**, v.21(5), p. 455-63, 1982.

- 16- EVENWEL, R.; STRUYKER - BOUDIER, H. Effect of physical training on the development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. **Pflugers. Arch**, v. 381(1), p. 19-24, 1979.
- 17- TIPTON, C.M.; MATTHES, R.D.; MARCUS, K.D.; ROWLETT, K.A.; LEININGER, J.R. Influences of exercise intensity, age, and medication on resting systolic blood pressure of SHR populations. **J. Appl. Physiol**, v. 55(4), p. 1305-10, 1983.
- 18- FRIBERG, P.; HOFFMANN, P.; NORDLANDER, M.; THOREN, P. Effects of voluntary physical exercise on cardiac function energetics in spontaneously hypertensive rats. **Acta. Physiol. Scand**, v. 133(4), p. 495-500, 1988.
- 19- BENNETT, C. H.; KOTCHEN, T. A. Cardiovascular responses to alpha adrenergic agents in chronically – exercised spontaneously hypertensive rats. **Clin. Exp. Hypertens**. v. 11(8), p. 1607-25, 1989.
- 20- GAVA, N.S.; VÉRAS-SILVA, A.S.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 26 (6 pt 2), p. 1129-33, 1995.
- 21- VÉRAS-SILVA, A.S.; MATTOS, K.C.; GAVA, N.S.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol**, v. 273, p. 2627-31, 1997.
- 22- IKEDA, T.; GOMI T.; SASAKI, Y. Effects of swim training on blood pressure, catecholamine and prostaglandins in spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Heart. j**, v. 35(2), p. 205-11, 1994.

- 23- SILVA, G.J.; BRUM, P.C.; NEGRÃO. C.E.; KRIEGER, E.M. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 30, p. 714-9, 1997.
- 24- BRUM, P.C.; DA SILVA, G.J.; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, v. 36(6), p. 1018-22, 2000.
- 25- BERTAGNOLLI, M.; CAMPOS, C.; SCHENKEL, P.C.; DE OLIVEIRA, V.L.; DE ANGELIS, K.; BELLÓ-KLEIN, A.; RIGATTO, K.; IRIGOYEN, M.C. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J. Hypertens.** v.24(12), p. 2437-43, 2006.
- 26- GARCIA-PINTO, A.B.; DE MATOS, V.S.; ROCHA, V.; MORAES-TEIXEIRA, J.; CARVALHO, J.J. Low-Intensity physical activity beneficially alters the ultrastructural renal morphology of spontaneously hypertensive rats. **Clinics**, v. 66(5), p. 855-63, 2011.
- 27- FELIX, J.V.; MICHELINI, L.C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen, mRNA expression within the nucleus tractussolitarii. **Hypertension**, v. 50(4), p. 780-5, 2007.
- 28- HÄGG, U.; ANDERSSON, H.; NAYLOR A.S.; GRÖNROS, J.; JONSDOTTIR, I.H.; BERGSTRÖM, G.; GAN L.M. Voluntary physical exercise-induced vascular effects is spontaneously hypertensive rats. **Clin.Sci**, v. 107(6), p. 571-81, 2004.

29- CAETANO, A.L.; VIEL, T.A.; BITTENCOURT, M.F.; ARAUJO, M.S.; DE ANGELIS, K.; BUCK, H.S. Change in central kinin B2 receptor density after exercise training in rats. **Auton. Neurosci**, v. 158, p. 71-8, 2010.

30- [CERONI, A.](#); [CHAAR, L.J.](#); [BOMBEIN, R.L.](#); MICHELINI, L.C. Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. [Exp. Physiol](#), v. 94(6), p. 630-40, 2009.

31- MORAES-SILVA, I.C.; DE LA FUENTE, R.N.; MOSTARDA, C.; ROSA, K.; DAMACENO-RODRIGUES, N.R.; CALDINI, E.G.; DE ANGELIS, K.; KRIEGER, E.M.; IRIGOYEN, M.C. Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol**, v. 37(3), p. 114-20, 2009.

32- ZAMO, F.S.; BARAUNA, V.G.; CHIAVEGATTO, S.; IRIGOYEN, M.C.; OLIVEIRA, E.M. The renin-angiotensin system is modulated by swimming training depending on the age of spontaneously hypertensive rats. **Life Sci**, v. 89, p. 93-9, 2011.

33- FERNANDES, T.; MAGALHÃES, F.C.; ROQUE, F.R.; PHILLIPS, M.I.; OLIVEIRA, E.M. Exercise Training prevents the microvascular rarefaction in hypertension balancing angiogenic and apoptotic factors role of microRNAs-16, -21, and -126. **Hypertension**, v. 59(2), p. 513-20, 2012.

34- COIMBRA, R.; SANCHEZ, L.S.; POTENZA, J.M.; ROSSINI, L.V.; AMARAL, S.L.; MICHELINI, L.C. Is Gender Crucial for Cardiovascular Adjustments Induced by Exercise

Training in Female Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**, v. 52(3), p. 514-21, 2008.

35- SANCHES, I.C.; DE OLIVEIRA BRITO, J.; CANDIDO, G.O.; DA SILVA DIAS, D.; JORGE, L.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**, v. 19(5), p. 562-8, 2012.

36- OKAMOTO, K.; YAMORI, Y.; NAGOAKA, A. Establishment of stroke-prone spontaneously hypertensive rats(SHR).**Circ. Res**, v. 35, p. 143-153, 1974.

37- LÜTGEMEIER, L.; LUFT, F.C.; GANTEM, U.; LANG, R.E.; GLESS, K.H.; GANTEM D. Blood pressure, electrolyte and adrenal responses in swim-trained hypertensive. **J. Hypertens**, v. 5(2), p. 241-7, 1987.

38- SONG, Y.J.; SAWAMURA, M.; IKEDA, K.; IGAWA, S.; NARA, Y.; YAMORI, Y. Training in swimming reduces blood pressure and increases muscle glucose transport activity as well as GLUT4 contenes in stroke-prone sponteously hypertensive rats. **Appl. Human. Sci**, v. 17(6), p. 275-80, 1998.

39- DAHL, L.K.; HEINE, M.; TASSINARI, L. Role of genetic factores in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. **Nature**, v. 194, p. 480-2, 1962.

40- SHEPHERD, R.E.; KUEHNE, M.L.; KENNO, K.A.; DURSTINE, J.L.; BALON, T.W.; RAPP, J.P. Attenuation of blood pressure increases in Dahl salt- sensitive rats by exercise. **J. Appl. Physiol**, v. 52(6), p. 1608-13, 1982.

- 41- SQUIRE, J.M.; MYERS, M.M.; FRIED, R. Cardiovascular responses to exercise and stress in the borderline hypertensive rat. **Med. Sci. Sports Exerc**, v. 19(1), p. 11-6, 1987.
- 42- MELBY, C.J.; SANDERS, B.J.; JOHNSON, A.K. The effects of exercise training on salt-induced hypertension in the borderline hypertensive rat. **Clin. Exp. Hypertens. A**, v. 13(5), p. 865-72, 1991.
- 43- SANDERS, B.J.; LAWLER, J.E. The borderline hypertensive rat (BHR) as a model for environmentally- induced hypertension: a review and update. **Neurosci.Biobehav rev**, v. 16(2), p. 207-17, 1992.
- 44- FUCHS, L.C.; HOQUE, A.M.; CLARKE, N.L. Vascular and hemodynamic effects of behavioral stress in borderline hypertensive and Wistar-Kyoto rats. **Am. J. Physiol**, v. 274, p. 375-82, 1998.
- 45- COX, R.H.; HUBBARD, J.W.; LAWLER, J.E.; SANDERS, B.J. Exercise Training Attenuates Stress- Induced Hypertension in the Rat. **Hypertension**, v. 7(5), p. 747-51, 1985.
- 46- LAWLER J.E.; ZHENG, G.; LI S.; WANG, C.H.; EDGEMON, I.P. Norepinephrine levels in discrete brain nuclei in borderline hypertensive rats exposed to compound stressors. **Brain Res Bull**, v. 41(2), p. 87-92, 1996.
- 47- VOICULESCU, A.; HOFER, M.; HETZEL, G.R.; MALMS, J.; MÖDDER, U.; GRABENSEE, B.; HOLLENBECK, M. Noninvasive investigation for renal artery stenosis: contrast-enhanced magnetic resonance angiography and color dopplersonography as compared to digital subtraction angiography. **Clin.Exper.Hypertens**,v. 23(7), p. 521-31,2001.

48- GOLDBLATT, H.; LYNCH, J.; HANZAL, R.F.; SUMMERVILLE W.W. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. **J Exp. Med**, v. 59(3), p. 347-79, 1934.

49- RODRIGUES, M.C.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; MACHADO, R.P.; SILVA, M.E.; ROCHA, J.L.; FERREIRA, P.M.; SANTOS, R.A.; ALZAMORA, A.C. Evidence for a role of AT(2) receptors at the CVLM in the cardiovascular changes induced by low-intensity physical activity in renovascular hypertensive rats. **Peptides**, v. 28(7), p. 1375-82, 2007.

50- SOARES, E.R.; LIMA, W.G.; MACHADO, R.P.; CARNEIRO, C.M.; SILVA, M.E.; RODRIGUES, M.C.; DE CASTRO, U.G.; SANTOS, R.A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; ALZAMORA, A.C. Cardiac and renal effects induced by different exercise workloads in renovascular hypertensive rats. **Braz. J. Med. Biol. Res**, v. 44(6), p. 573-82, 2011.

51- MARCUS, K.D.; TIPTON, C.M. Exercise training and its effects with renal hypertensive rats. **J. Appl. Physiol**, v. 59(5), p. 1410-5, 1985.

52- RAKUSAN, K.; WICKER, P.; ABDUL-SAMAD, M.; HEALY, B.; TUREK, Z. Failure of swimming exercise to improve capillarization in cardiac hypertrophy of renal hypertensive rats. **Circ. Res**, v. 61(5), p. 641-7, 1987.

53- BOISSIERE, J.; EDER, V.; MACHET, M.C.; COURTEIX, D.; BONNET, P. Moderate exercise training does not worsen left ventricle remodeling and function in untreated severe hypertensive rats. **J. Appl. Physiol**, v. 104(2), p. 321-7, 2008.

54- FERRARIO, C. M.,; VARAGIC, J.,; HABIBI, J.,; NAGATA S.,; KATO J.,; CHAPPELL, M. C.,; TRASK A. J.,; KITAMURA, K.,; WHALEY-CONNELL, A.,; SOWERS, J. R. Differential regulation



of angiotensin-(1-12) in plasma and cardiac tissue in response to bilateral nephrectomy. **Am. J. Physiology. –Heart C.** v. 296: H184-H192.

55- LENDINGHAM, J.M.; PELLING, D. Hemodynamic and others studies in the renoprival hypertensive rat. **J. Physiol**, v. 210(1), p. 233-52, 1970.

56- KOHZUKI, M.; KAMIMOTO, M. WU, X.M.; XU, H.L.; KAWAMURA, T.; MORI, N.; NAGASAKA, M.; KUROSAWA, H.; MINAMI, N.; KANAZAWA, M.; SAITO, T.; YOSHIDA, K. Renal protective effects of chronic exercise and antihypertensive therapy in hypertensive rats with chronic renal failure. **J. Hypertens**, v.19(10), p. 1877-82, 2001.

57- ADAMS, G.R.; ZHAN, C.D.; HADDAD, F.; VAZIRI, N.D. Voluntary exercise during chronic renal failure in rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** 2005 Apr;37(4):557-62.

58- SHELKOVNIKOV, S.; SUMMERS, S.M.; ELAHIMEHR, R.; ADAMS, G.; PURDY, R.E.; VAZIRI, N.D. Effect of Exercise Training on Aortic Tone in Chronic Renal insufficiency. **Am. J. Hypertens**, v. 21(5), p. 564-9, 2008.

59- BAI, Y.; SIGALA, W.; ADAMS, G.R.; VAZIRI, N.D. Effect of Exercise on Cardiac Tissue Oxidative and Inflammatory Mediators in Chronic Kidney Disease. **J. Am. J. Nephrol**, v. 29(3), p. 231-21, 2009.

60- RIVEIRO, M.O.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G.; LOVISOLO, S.M.; ZATZ, R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. **Hypertension**, v. 20(3), p. 298-303, 1992.

61- BAYLIS, C.; MITRUKA, B.; DENG, A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. **J. Clin. Invest**, v. 90(1), p. 278-81, 1992.

62- KASSAB, S.; MILLER, M.T.; HESTER, R.; NOVAK, J.; GRANGER, J.P. Systemic hemodynamics and regional blood flow during chronic nitric oxides synthesis inhibition in pregnant rats. **Hypertension**, v. 31, p. 315-20, 1998.

63- SOUZA, H.C.D.; BALLEJO, G.; SALGADO, M.C.; DA SILVA V.J.; SALGADO, H.C. Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol**, v. 280(2), p. 844-50, 2001.

64- BIANCARDI, V. C.; BERGAMASCHI, C. T.; LOPES, O. U.; CAMPOS, R. R. Sympathetic activation in rats with L-Name- induced hypertension . **Braz. J. Med. Biol. Res**, v. 40(3), p. 401-8, 2007.

65- DE ANGELIS, K.; GADONSKI, G.; FANG, J.; DALL'AGO, P.; ALBUQUERQUE, V.L.; PEIXOTO, L.R.A.; FERNANDES, T.G.; IRIGOYEN, M.C. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME- hypertensive rats. **Hypertension**, v. 34(2), p. 768-72, 1999.

66- KURU, O.; SENTÜRK, U.K.; DEMIR, N.; YESILKAYA, A.; ERQÜLER, G.; ERKILIÇ, M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. **J. Appl. Physiol**, v. 87(2), p. 134-40, 2002.

67- KURU, O.; SENTURK, U.K.; KOÇER, G.; OZDEM, S.; BASKURT, O.K.; CETIN, A.; YESLIKAYA, A.; GÜNDÜZ, F. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. **J. Appl. Physiol**, v. 107(3), p. 896-902, 2009.

68- HUSAIN, K. Interaction of exercise training and cronic NOS inhibition on blood pressure , heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. **Pathophysiology**, v. 10(1), p. 47-56, 2003.

