Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

2016

Estudo da associação do treinamento físico aeróbio com diferentes terapias farmacológicas sobre as adaptações autonômicas cardíacas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR)

PPGRDF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
REABILITAÇÃO E DESEMPENHO FUNCIONAL
FMRP-USP

Karina Delgado Maida

Tese de Doutorado

Universidade de São Paulo

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor

Programa de pós-graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional

Laboratório de Fisiologia e Fisioterapia Cardiovascular

TESE DE DOUTORADO

"Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)".

“ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO COM DIFERENTES TERAPIAS FARMACOLÓGICAS SOBRE AS ADAPTAÇÕES AUTONÔMICAS CARDÍACAS EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR) ”

Aluna: Karina Delgado Maida

Orientador: Hugo Celso Dutra de Souza

Programa: Reabilitação e Desempenho Funcional, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Apoio Financeiro: Fundação de Amparo ao Ensino e Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, Número do Processo: 2013/02880-8.

Ribeirão Preto – SP

2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica

Maida, Karina Delgado

Estudo da associação do treinamento físico aeróbio com diferentes terapias farmacológicas sobre as adaptações autonômicas cardíacas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Ribeirão Preto, 2015.

163 p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Reabilitação e Desempenho Funcional.

Orientador: Souza, Hugo Celso Dutra.

1. Hipertensão Arterial. 2. Anti-hipertensivos. 3. Treinamento Físico. 4. Controle Autonômico Cardiovascular. 5. SHR.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Karina Delgado Maida

Estudo da associação do treinamento físico aeróbico com diferentes terapias farmacológicas sobre as adaptações autonômicas cardíacas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

- Orientador -

Prof. Dr. André Schmidt

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP Assinatura: _____

Prof. Dr. Rubens Fazan Júnior

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP Assinatura: _____

Profa. Dra. Kátia de Angelis Lobo D'Avila

Instituição: Universidade Nove de Julho – UNINOVE Assinatura: _____

Prof. Dr. Valdo José Dias da Silva

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM Assinatura: _____

*“A imaginação foi a companheira de toda a
minha existência, viva, rápida, inquieta,
alguma vez tímida e amiga de empacar, as
mais delas, capaz de engolir campanhas e
campanhas, correndo...”*

Machado de Assis

Dedicatória

*Aos meus pais Henrique e Cidinha,
exemplos de vida e perseverança.*

*À minha irmã Erika, minha alma e meu
coração.*

*Ao meu querido Marcel, sempre paciente
e dedicado.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu querido orientador Prof. Hugo C.D. de Souza que ao longo de 10 anos me proveu ensinamentos para a ciência e a para a vida. Obrigada pela confiança depositada e pela paciência diante de todas as minhas dúvidas. Levarei uma parte do senhor comigo por todo o meu caminhar.

Aos colegas João Henrique Blanco e Geisa Tezini que pacientemente me deixaram um legado de conhecimentos sem os quais não conseguiria ter dado o passo inicial.

Ao dedicado colega João Paulo Jacob Sabino que me ajudou nos momentos em que eu (e meus ratos) mais necessitava.

À querida aluna de iniciação científica Vanessa Bisco, sem ela tudo teria sido mais difícil. Obrigada pela dedicação e pela doçura!

A todos os colegas de laboratório pela colaboração neste trabalho. Em especial à querida Ana Paula Manfio, mais do que uma funcionária dedicada, um exemplo de bondade e uma amiga para a vida toda.

Aos funcionários da FMRP Marília Pereira e Samuel Felipini, sempre me recebendo com um sorriso no rosto e prontos para ajudar.

Às minhas amigas da vida inteira Fabíola e Maria Leonor, pelas longas conversas e pelos sábios conselhos.

Ao meu amado namorado Marcel Uchiyama, meu grande incentivador, meu sorriso de todos os dias. Obrigada pela admiração, compreensão e pela paciência!

Aos meus avós, meus exemplos de simplicidade, minha maior torcida. Em especial para o meu avô Antônio Delgado (vô Toninho) que partiu ao final desta minha jornada, deixando um vazio enorme em meu coração.

À minha irmã Erika, o oposto que me completa! Mesmo muito longe fisicamente, suas ligações sempre me fortalecem. Ao meu pequeno sobrinho Vicente Henrique, amor incondicional.

Aos meus pais Henrique e Cidinha que dedicam suas vidas à minha. Obrigada por me apoiarem em cada decisão, obrigada pelos conselhos, e acima de tudo obrigada por serem meus exemplos!

À minha querida coelha Valentina. Me ensinou da forma mais doce e pura a respeitar todos os animais que doaram suas vidas para este projeto. Obrigada pelo companheirismo.

A todos os ratos que utilizei para elaborar esta tese, em especial à minha primeira matriz de ratos SHR.

À Nossa Senhora Aparecida, companheira e protetora. Me ouviu todos os dias e guiou da melhor forma os meus passos.

RESUMO

MAIDA, K.D. Estudo da associação do treinamento físico aeróbio com diferentes terapias farmacológicas sobre as adaptações autonômicas cardíacas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). 163p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Nós investigamos em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) jovens (28 semanas) e velhos (52 semanas) os efeitos hemodinâmicos e autonômicos cardiovasculares promovidos por diferentes terapias anti-hipertensivas farmacológicas associadas ao treinamento físico aeróbio. Para tanto, ratos SHR de 18 semanas de idade (N=128) foram alocados em quatro grandes grupos (N=32): tratado com água (Grupo Veículo); tratado com Enalapril; tratado com Losartan; e tratado com Amlodipina. Cada grupo foi subdividido em dois menores grupos (N=16) tratados durante 10 ou 34 semanas, sendo que metade de cada grupo (N=08) era também submetido ao treinamento físico aeróbio por meio da natação pelo mesmo período de tempo (10 ou 34 semanas). No penúltimo dia de tratamento todos os animais tiveram canuladas a artéria e veia femorais para registro da pressão arterial (PA) e injeção de drogas, respectivamente. 24 horas após a avaliação autonômica cardiovascular foi realizada por meio de diferentes abordagens; avaliação do balanço simpato/vagal por meio do duplo bloqueio autonômico cardíaco com atropina e propranolol; análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e pressão arterial sistólica (VPAS) por meio da análise espectral; e análise da sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea. Todos os tratamentos promoveram redução da PA, entretanto, nos grupos jovens, o tratamento com Enalapril promoveu as maiores reduções, independentemente do treinamento físico, enquanto que nos grupos velhos, a associação do treinamento físico ao Enalapril promoveu efeito adicional na redução da PA. Em relação ao controle autonômico cardiovascular, o tratamento com Amlodipina promoveu maiores adaptações benéficas no grupo de SHR sedentários jovens quando comparado às demais drogas, caracterizados pelo predomínio do tônus autonômico vagal, aumento da variância na VFC, além de aumento na SBR. Embora o treinamento físico tenha promovido algumas adaptações benéficas quando aplicado sozinho, não foi capaz de potencializar os achados observados para a Amlodipina. O tratamento com Enalapril ou Losartan promoveu menores adaptações autonômicas cardiovasculares quando administrado em SHR sedentários em comparação à Amlodipina, entretanto

quando o Enalapril foi associado ao treinamento físico observamos sensível melhora no controle autonômico cardiovascular nos diferentes parâmetros avaliados, inclusive a redução das oscilações de baixa frequência (LF; 0,75-2.5Hz) na VPAS, além de aumento na SBR. Contrariamente, a Amlodipina sozinha não modificou os parâmetros autonômicos cardiovasculares nos SHR velhos, cabendo ao Enalapril e ao Losartan promoverem melhores efeitos quando aplicados sozinhos nesses animais. O treinamento físico também promoveu adaptações autonômicas benéficas nos SHR velhos, e em alguns parâmetros, como a VFC, as adaptações foram ainda melhores. Surpreendentemente, quando associado à Amlodipina, as adaptações foram ainda mais expressivas, com significativa atenuação do tônus autonômico simpático, redução da modulação simpática e aumento da modulação vagal na VFC, além de redução nas oscilações de LF na VPAS e aumento da SBR.

Em conclusão, nos animais jovens, a Amlodipina foi mais eficaz na promoção de adaptações autonômicas cardiovasculares benéficas, enquanto que o Enalapril apresentou resultados autonômicos semelhantes somente quando associado ao treinamento físico aeróbio. Por sua vez, nos animais velhos, a Amlodipina teve pouco efeito sobre o controle autonômico cardiovascular, enquanto que o Enalapril e o Losartan foram mais eficazes. Nesse caso, nossos achados indicam que o envelhecimento representa um fator determinante que interfere no controle autonômico cardíaco e atenua os efeitos dos diferentes tratamentos farmacológicos. Por fim, o treinamento físico apresenta um papel fundamental no tratamento da hipertensão arterial, participando desse processo como um catalizador dos efeitos autonômicos cardiovasculares promovidos pelo tratamento farmacológico, tanto em SHR jovens, quando associado ao Enalapril, quanto em SHR velhos, quando associado à Amlodipina.

Palavras-Chave: Hipertensão Arterial; Anti-hipertensivos; Treinamento Físico; Controle Autonômico Cardiovascular; SHR.

ABSTRACT

MAIDA, K.D. Study of association of aerobic physical training with aerobic different pharmacological therapies on cardiovascular autonomic adaptations in spontaneously hypertensive rats (SHR). 163p. Thesis (Ph.D.) - Ribeirão Preto Medical School, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2015.

We investigated in spontaneously hypertensive rats (SHR) young (28 weeks) and old (52 weeks) hemodynamic and autonomic cardiovascular effects caused by different pharmacological antihypertensive therapy associated with aerobic exercise. For that purpose, 18-weeks-old SHR (N = 128) were divided into four groups (N = 32): Water treated (Vehicle Group); treated with Enalapril; treated with Losartan; and treated with Amlodipine. Each group was subdivided into two smaller groups (N = 16) treated for 10 or 34 weeks, with half of each group (N = 08) was also subjected to physical training through swimming the same period of time (10 or 34 weeks). On the last day of treatment all animals were cannulated the femoral artery and vein to record blood pressure (AP) and injection of drugs, respectively. 24 hours after cardiovascular autonomic assessment was performed by means of different approaches; evaluation of sympathetic / vagal balance through double cardiac autonomic blockade with atropine and propranolol; analysis of heart rate variability (HRV) and systolic blood pressure (SAPV) by means of spectral analysis; and analysis of spontaneous baroreflex sensitivity (BRS). All treatments promoted AP reduction, however, in youth groups, treatment with Enalapril promoted the greatest reductions, regardless of physical training, while in the older groups, the association of physical training to Enalapril promoted additionally reduce AP. Regarding the cardiovascular autonomic control, treatment with Amlodipine produced greater beneficial adaptations in sedentary young group compared to other drugs, characterized by the predominance of vagal autonomic tone, increased variance in HRV, and increase in BRS. While physical training has promoted some beneficial adjustments when used alone, it was unable to potentiate the findings observed for Amlodipine. Treatment with Enalapril and Losartan promoted lower cardiovascular autonomic adaptations when administered in sedentary SHR compared to Amlodipine, however when Enalapril was associated with physical training we observed significant improvement in cardiovascular autonomic control in the different evaluated parameters, including the reduction of low-frequency oscillations (LF;

0,75-2.5Hz) in SAPV, besides an increase in the BRS. In contrast, Amlodipine alone did not modify the cardiovascular autonomic parameters in the old SHR, leaving the Enalapril and Losartan promote better effects when applied alone in these animals. Physical training also promoted beneficial autonomic adaptations in old SHR, and in some parameters, such as HRV, adjustments were even better. Surprisingly, when combined with Amlodipine, adaptations have been even more significant, with significant attenuation of the sympathetic autonomic tone, decreased sympathetic modulation and increased vagal modulation on HRV as well as reduction in the LF oscillations in SAPV and increased BRS.

In conclusion, in young animals Amlodipine was more effective in promoting beneficial cardiovascular autonomic adaptations, while Enalapril showed similar autonomic results only when combined with aerobic exercise. In turn, in old animals Amlodipine had little effect on the cardiovascular autonomic control, while Losartan and Enalapril were more effective. In this case, our findings indicate that aging is a factor that interferes with cardiac autonomic control and mitigate the effects of different pharmacological treatments. Finally, physical training has a key role in the treatment of hypertension, participating in this process as a catalyst of cardiovascular autonomic effects caused by drug treatment in both, young SHR, when combined with Enalapril, as in old SHR, when associated with Amlodipine.

Keywords: Hypertension; Antihypertensives; Physical training; Cardiovascular Autonomic Control; SHR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco	56
Tabela 2 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso), variabilidade da pressão arterial sistólica e sensibilidade barorreflexa espontânea	62
Tabela 3 - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas	65
Tabela 4 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco	75
Tabela 5 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso), variabilidade da pressão arterial sistólica e sensibilidade barorreflexa espontânea	81
Tabela 6 - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas	84
Tabela 7 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco	95
Tabela 8 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso), variabilidade da pressão arterial sistólica e sensibilidade barorreflexa espontânea.	101
Tabela 9 - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas	104
Tabela 10 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco.....	115

Tabela 11 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso) e variabilidade da pressão arterial sistólica	122
Tabela 12 - Sensibilidade barorreflexa espontânea	125
Tabela 13 - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas	126
Tabela 14 - Dados referentes à mortalidade nos grupos Veículo, Enalapril, Losartan e Amlodipina, todos sedentários e treinados, 10 e 34 semanas.....	136

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquematização das divisões e subdivisões dos grupos experimentais.....	43
Figura 2 - Representação esquemática do protocolo de avaliação do balanço simpato/vagal cardíaco.....	49
Figura 3 – Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 10 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M.	55
Figura 4 – Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.	58
Figura 5 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms ²), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms ²) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.	60
Figura 6 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg ²) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados	

em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado..... **61**

Figura 7 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado..... **64**

Figura 8 – Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 34 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M. **74**

Figura 9 - Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina treinado.. **77**

Figura 10 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms²), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms²) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados

em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina treinado **79**

Figura 11 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg²) nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina treinado. ... **80**

Figura 12 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina treinado. **83**

Figura 13 – Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 34 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M. **94**

Figura 14 - Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 34 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado..... **97**

Figura 15 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms^2), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms^2) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Losartan sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Enalapril treinado. **99**

Figura 16 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg^2) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Losartan sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Enalapril treinado. **100**

Figura 17 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Losartan sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Enalapril treinado. **103**

Figura 18 - Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 10 e 34 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados. mmHg , milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M. **114**

Figura 18 - Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras

hachuradas) nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, tratados durante 10 e 34 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas **117**

Figura 20 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms²), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms²) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas. **120**

Figura 21 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg²) nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas. **121**

Figura 22 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10

e 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas **124**

Figura 23 - Números absolutos de ratos mortos por semana nos grupos Veículo, Enalapril, Losartan e Amlodipina, sedentários e treinados **135**

LISTA DE ABREVIATURAS

BEI.....	Índice de efetividade barorreflexa
Ca ²⁺	Cálcio
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
FC	Frequência Cardíaca
FCi	Frequência Cardíaca Intrínseca
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HF	High Frequency (Alta Frequência)
iECA.....	Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina
IP.....	Intervalo de Pulso
LF	Low Frequency (Baixa Frequência)
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAP.....	Pressão Arterial Pulsátil
PAS.....	Pressão Arterial Sistólica
SBR.....	Sensibilidade Barorreflexa
SHR	Spontaneously Hypertensive Rat (Rato Espontaneamente Hipertenso)
FFT	Transformada Rápida de Fourier
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VLF.....	Very Low Frequency (Muito Baixa Frequência)
VPAS.....	Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	31
OBJETIVOS	39
MATERAIS E MÉTODOS	41
Animais experimentais	42
Grupos experimentais	42
Tratamento farmacológico.....	43
Treinamento dos animais.....	44
Pletismografia de cauda.....	45
Protocolos experimentais.....	46
Cirurgia de canulação	46
Registro da pressão arterial e da frequência cardíaca	46
Análise espectral da variabilidade do intervalo de pulso e pressão arterial sistólica	47
Estudo da sensibilidade barorreflexa espontânea	48
Avaliação do balanço simpato-vagal cardíaco e determinação da frequência cardíaca intrínseca de marcapasso	48
Cálculo do índice de mortalidade	49
Análise estatística	50
RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
ESTUDO 1: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 semanas de duração	53
Pressão arterial	54
Frequência cardíaca e balanço simpato-vagal	57
Análise da variabilidade da frequência cardíaca e variabilidade da pressão arterial sistólica	59
Sensibilidade barorreflexa espontânea.....	63
Resumo dos resultados.....	65
DISCUSSÃO DO ESTUDO 1: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 semanas de duração	66

ESTUDO 2: Efeitos do tratamento com Amlodipina ou Enalapril associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 semanas de duração	72
Pressão arterial	73
Frequência cardíaca e balanço simpato-vagal	76
Análise da variabilidade da frequência cardíaca e variabilidade da pressão arterial sistólica	78
Sensibilidade barorreflexa espontânea.....	82
Resumo dos resultados.....	84
DISCUSSÃO DO ESTUDO 2: Efeitos do tratamento com Amlodipina ou Enalapril associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 semanas de duração	85
ESTUDO 3: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 34 semanas de duração	92
Pressão arterial	93
Frequência cardíaca e balanço simpato-vagal	96
Análise da variabilidade da frequência cardíaca e variabilidade da pressão arterial sistólica	98
Sensibilidade barorreflexa espontânea.....	102
Resumo dos resultados.....	104
DISCUSSÃO DO ESTUDO 3: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 34 semanas de duração	105
ESTUDO 4: Efeitos do tratamento com Amlodipina associado ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 e 34 semanas de duração	112
Pressão arterial	113
Frequência cardíaca e balanço simpato-vagal	116
Análise da variabilidade da frequência cardíaca e variabilidade da pressão arterial sistólica	118
Sensibilidade barorreflexa espontânea.....	123
Resumo dos resultados.....	126
DISCUSSÃO DO ESTUDO 4: Efeitos do tratamento com Amlodipina associado ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 e 34 semanas de duração	127

ESTUDO 5: Índice de mortalidade, comparação entre todos os grupos em estudo.....	133
DISCUSSÃO DO ESTUDO 5: Índice de mortalidade, comparação entre todos os grupos em estudo.....	137
CONCLUSÃO.....	141
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	143

INTRODUÇÃO e JUSTIFICATIVA

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial e multicausal com alta e crescente prevalência (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010). Uma revisão sistemática quantitativa de 44 estudos, realizados entre 2003 e 2008 em 35 países, revelou uma prevalência de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres (PEREIRA et al., 2009). Outro estudo indicou que mais de 25% dos adultos da população mundial apresentava HAS no ano 2000, e que esta proporção aumentará para 29% em 2025, atingindo por volta de 2 bilhões de pessoas (KEARNEY et al., 2005). No Brasil, a proporção de indivíduos adultos hipertensos cresceu de 21,6% em 2006 para 24,3% em 2012 (DATASUS, 2012), e inquéritos populacionais em cidades brasileiras nos últimos 20 anos também apontaram uma prevalência acima de 30% nessa população (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010).

Atualmente, sabe-se que há vários fatores que podem predispor uma pessoa à HAS. Alguns deles estão ligados aos hábitos de vida, como a dieta rica em sódio e gorduras saturadas, o consumo de álcool, além do sedentarismo, que aumenta ainda mais o risco de desenvolvimento e agravamento da doença (WHELTON et al., 2002; KAHN et al., 2008). Outros fatores como tabagismo, estresse, patologias associadas como o diabetes, disfunções hormonais e fatores genéticos também estão relacionados com o desenvolvimento de HAS (DICKSON, SIGMUND, 2006). A incidência de HAS também aumenta linearmente com a idade, além de estar relacionada ao sexo e etnia (LANE; LIP, 2001; FERRARI et al., 2003; PINTO, E., 2007; GAZONI et al., 2009; DAUGHERTY et al., 2011).

A elevação crônica da pressão arterial (PA), por si só, já é um problema, no entanto é frequentemente acompanhada de outras perturbações na homeostase corporal que contribuem ainda mais para agravamento da doença. Nesse caso, o prejuízo no controle autonômico cardiovascular apresenta-se como um dos mais importantes, sendo considerado como um respeitável preditor da evolução da doença nesses pacientes, inclusive, alguns estudos

mostraram que esses prejuízos estão associados a um gradiente mais elevado e variável da PA sistólica ao longo de 24 horas (MIAO et al., 2006; METELKA, 2014; FENG et al., 2015). Dentre os prejuízos autonômicos cardiovasculares decorrentes da HAS podemos apontar, entre outros, o maior predomínio do tônus simpático cardíaco sobre o tônus vagal (PRAKASH et al., 2005 ; DOGRU et al., 2010), a redução da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), o aumento na variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS), e a diminuição na sensibilidade barorreflexa (SBR) (CELOVSKA et al., 2010; OKADA et al., 2012). Essas alterações, se não revertidas, podem ser determinantes para a evolução e agravamento da doença, culminando com prejuízos morfológicos e funcionais de tal monta que podem levar à insuficiência cardíaca, muitas vezes precocemente (PRAKASH et al., 2005; FENG et al., 2015; GRASSI; MARK; ESLER, 2015).

Dessa forma, inúmeras abordagens terapêuticas, farmacológicas e não farmacológicas, surgiram com intuito de controlar a doença, evitando uma série de danos vasculares, funcionais e morfológicos cardíacos, que interferem drasticamente na longevidade e na qualidade de vida do indivíduo. Nesse caso, há relatos da década de 1940 mostrando a preocupação com a dieta com baixo teor de sódio, entretanto, foi no final desta mesma década e nos anos 1950 que surgiram os primeiros resultados de pesquisas referentes ao desenvolvimento de inúmeras drogas anti-hipertensivas (HOOBLER, 1952; MOSER; ROCCELLA, 2013). O incremento dessas drogas no tratamento de pacientes hipertensos permitiu ao longo de décadas, maior controle da PA, redução das comorbidades e maior longevidade. Nesse caso, o tratamento farmacológico envolve várias classes de drogas (MANCIA, G. et al., 2013), entre elas; os inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA), como o Enalapril, que impedem a transformação de angiotensina I em angiotensina II, potencializam a produção de bradicinina, promovendo a vasodilatação arterial, reduzindo a resistência arterial periférica (ONDETTI; RUBIN; CUSHMAN, 1977; VIJAYARAGHAVAN; DEEDWANIA, 2011); os antagonistas

de receptor AT₁, como o Losartan, que agem bloqueando a ação da angiotensina II sobre os receptores AT₁, impedindo a vasoconstrição e a secreção adrenal de aldosterona, o que promove vasodilatação arteriolar e redução do volume circulante (GOTTLIEB et al, 1993; DIMITROVA et al., 1998; BONNER et al., 2009, INABA et al, 2011); e os bloqueadores de canais de cálcio (Ca²⁺), como a Amlodipina, que promovem diminuição na concentração de Ca²⁺ nas células musculares lisas dos vasos, reduzindo de forma direta a resistência vascular periférica (LEHMANN et al, 1983; KIZER et al., 2001; KRZESINSKI; SCHEEN, 2007).

Apesar dos comprovados efeitos benéficos do tratamento farmacológico no controle da PA, outras abordagens, ditas não farmacológicas, também foram implementadas e utilizadas com excelentes resultados, principalmente envolvendo o estilo de vida, a exemplo da adequação da dieta (TSUCHIHASHI, 2011). Efeitos adicionais também têm sido observados quando ocorre a redução da massa gorda e a cessação de hábitos como tabagismo e alcoolismo (O'KEEFE et al., 2007). No entanto, a abordagem envolvendo o estilo de vida que mais parece promover benefícios para o paciente é a prática regular de exercícios físicos, principalmente os reconhecidos como aeróbios, embora os exercícios resistidos também promovam benefícios (MILLAR et al., 2014). Nesse caso, foi demonstrado que o exercício físico aeróbio pode atuar como terapia não farmacológica de fundamental importância na prevenção e controle da HAS (WHELTON et al., 2002), uma vez que age promovendo a longo prazo importantes adaptações cardiovasculares, além de metabólicas, que beneficiam a hemodinâmica cardiovascular, atenuando e até prevenindo o desenvolvimento da HAS e seus efeitos deletérios (DE ANGELIS et al., 2004; FAGARD, CORNELISSEN, 2007; ROSSI et al., 2009; CORNELISSEN et al., 2010). Entre essas adaptações, a melhora nos parâmetros hemodinâmicos cardiovasculares associados às adaptações benéficas promovidas sobre o sistema nervoso autônomo são as que mais contribuem (COZZA et al., 2012). Em suma, o exercício físico tem sido utilizado como fator determinante na prevenção da HAS e prescrito como terapia anti-hipertensiva, atenuando

os valores da PA de forma aguda e crônica, e reduzindo seus efeitos deletérios para o sistema cardiovascular. Quanto aos mecanismos envolvidos nas diferentes ações observadas, ainda não foram suficientemente esclarecidos, sugerindo que além da melhora no balanço autonômico cardíaco, ocorreriam adaptações intrínsecas cardíacas, hormonais e metabólicas, além de uma recuperação da função endotelial vascular (CIOLAC et al., 2010; SCHMIDT-TRUCKSÄSS; WEISSER, 2011; FERNANDES et al., 2012). No entanto, apesar dos diversos efeitos benéficos cardiovasculares induzidos pelo exercício físico, pouco sabemos dos seus efeitos quando associado aos diferentes tratamentos farmacológicos, bem como os efeitos quando comparados indivíduos jovens com indivíduos mais velhos sob o mesmo tratamento. Nesse caso, é possível que as respostas hemodinâmicas e autonômicas cardiovasculares sejam distintas, principalmente pela importante influência dos processos crônico degenerativos que acompanham o envelhecimento.

De fato, esses apontamentos são muito importantes, uma vez que a terapia farmacológica frequentemente é aplicada concomitante à prática de exercícios físicos. Neste contexto, alguns autores avaliaram o efeito combinado do exercício físico com algumas drogas anti-hipertensivas. Um estudo clínico demonstrou que o treinamento físico aeróbico melhora a modulação autonômica cardíaca em indivíduos hipertensos, independentemente da associação ao tratamento com Enalapril, e que a associação somente produzia efeitos aditivos na redução da PA (COZZA et al., 2012). Por sua vez, estudo experimental demonstrou que a associação do treinamento físico ao Enalapril não promovia efeitos adicionais na redução da PA (KANAZAWA et al., 2006). Outros autores que consideraram a associação do treinamento físico ao Losartan, demonstraram redução da modulação autonômica simpática de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) (GUO et al., 2008), enquanto outro estudo relatou que esta mesma associação não promovia efeitos adicionais na redução da PA ou nas adaptações autonômicas cardiovasculares (AZEVEDO et al., 2003). Estes autores sugeriram que o

bloqueador dos receptores AT₁, por si só, já reduzia a PA a valores muito baixos, o que acabava por minimizar os efeitos do exercício físico (AZEVEDO et al., 2003). Por outro lado, foi demonstrado, também em SHR, que o treinamento físico quando associado ao tratamento com a Amlodipina promovia efeito aditivo na melhora da modulação autonômica cardíaca, reduzindo a modulação autonômica simpática (GUO et al., 2008). Adicionalmente, estudo clínico descreveu que em indivíduos hipertensos a PA diastólica (PAD) diminuía significativamente somente quando o treinamento físico e o tratamento com Amlodipina eram realizados de forma associada (OHTA et al., 2012).

Um ponto importante é que os estudos mais aprofundados nessa área ainda são incipientes, e até onde nós investigamos não há estudos que tenham abordado e comparado a associação do exercício físico aeróbio com as diferentes terapias farmacológicas no tratamento da HAS, principalmente no que diz respeito às diferentes formas de avaliação do controle autonômico cardiovascular, o que impossibilita conclusões mais aprofundadas sobre a interação entre estes dois tratamentos, bem como, seus efeitos benéficos, tanto a curto, quanto a longo prazo. No intuito de avaliar se as interações entre o exercício físico aeróbio e as diferentes classes medicamentosas trariam resultados semelhantes ou não, procuramos um modelo de estudo que permitisse uma investigação mais apropriada, sem um viés terapêutico já estabelecido, ou a presença de comorbidades. Nesse caso, optamos pela utilização do modelo de hipertensão espontânea em ratos.

O modelo de hipertensão espontânea em ratos (*Spontaneous Hypertensive Rats* - SHR) tem sido cada vez mais utilizado na prática científica para estudo da HAS, isto porque possui grande similaridade fisiopatológica com a hipertensão essencial do ser humano (TRIPPODO; FROHLICH, 1981). Este modelo foi introduzido por Okamoto e Aoki em 1963, através de uma reprodução genética entre irmãos das linhagens Wistar Kyoto, que por sua vez já possuíam pressão arterial média que variava entre 120-140mmHg. Assim, após a cruzada sucessiva entre

irmãos, a partir da 6^o geração, resultou em animais 100% portadores de doença hipertensiva (NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.A.), 1976). Porém, os SHR não nascem com a hipertensão arterial já instalada, mas sim, ela começa a se desenvolver a partir da sua 5^a semana de vida, atingindo níveis de pressão considerados hipertensivos já entre a 7^a e 15^a semanas, chegando a um platô entre a 20^a e 28^a semanas (YAMORI, Y., 1984).

A partir de investigações utilizando este modelo de hipertensão, já foi demonstrado que há uma melhora dos padrões hemodinâmicos cardiovasculares associados à diminuição da atividade simpática após o tratamento farmacológico ou treinamento físico, além de melhora da SBR representada por uma maior resposta taquicárdica reflexa à hipotensão induzida, o que representa uma regulação mais eficiente da PA (BRUM et al., 2000; KRIEGER et al., 2001; ROSSONI et al., 2011; SUETA et al., 2014). Outros estudos também demonstraram que SHR submetidos ao treinamento físico aeróbio apresentavam aumento do tônus vagal associado à diminuição do tônus simpático (BARBOSA-NETO et al., 2013), além de diminuição da frequência cardíaca (FC) em repouso (ROSSONI et al., 2011). Essas adaptações, segundo alguns autores, estão relacionadas com o aumento da expectativa de vida e prevenção de eventos cardíacos (MEDEIROS et al., 2004). Além de todos estes efeitos, outros estudos em SHR já demonstraram que o exercício físico aeróbio diminui outros efeitos deletérios da HAS, como por exemplo, a hipertrofia ventricular esquerda, o que pode ser consequência da redução da PA provocada pelo exercício observada nestes ratos (MASON et al., 2002; MARSH; COOMBES, 2005; RUSH; FORD, 2007; CIOLAC et al., 2010; ROSSONI et al., 2011; SCHMIDT-TRUCKSÄSS; WEISSER, 2011).

Diante do exposto, nosso estudo testou a hipótese de que a associação do exercício físico com diferentes classes de medicamentos anti-hipertensivos poderia promover distintos efeitos sobre os parâmetros autonômicos avaliados no modelo SHR, tanto a curto (ratos jovens), como a longo prazo (ratos velhos). Nesse caso, os resultados demonstrarão a escolha mais apropriada

da combinação exercício/fármaco, visando não tão somente o controle da PA, mas também a regulação mais adequada do balanço autonômico cardiovascular.

OBJETIVOS

Estudar e comparar em SHR os efeitos da associação a curto e a longo prazo entre diferentes terapias farmacológicas anti-hipertensivas (Enalapril, Losartan e Amlodipina) e o treinamento físico aeróbio sobre a evolução da HAS e sobre o controle autonômico cardiovascular por meio de diferentes abordagens:

1. Avaliação do balanço autonômico tônico da FC por meio do bloqueio farmacológico com atropina e propranolol;
2. Estudo do balanço autonômico fásico (variabilidade) da FC (intervalo de pulso) e da PA por meio da análise espectral;
3. Análise da sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea;
4. Quantificação da mortalidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais Experimentais

Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos (SHR) com 18 semanas de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto. Durante o período experimental os animais foram acondicionados no Biotério do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, com ciclo claro-escuro de 12 horas, à temperatura de 21 ± 1 °C, com livre acesso a água e ração (Nuvilab CR-1, Nuvital, Colombo, PR, Brasil).

A escolha da idade inicial dos ratos foi embasada no princípio de que nesta fase os ratos SHR já tinham atingido níveis de PA considerados hipertensivos, fato que ocorre entre a 7ª e 15ª semanas de vida. Além disso, nesta idade, ainda não tinham alcançado o platô da hipertensão arterial, o que ocorre entre a 20ª e 28ª semanas de vida (YAMORI, Y., 1984).

Os protocolos experimentais utilizados no presente estudo estão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciências de Animais de Laboratório e foram avaliados e aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP, SP, Brasil): Comitê de Ética em Experimentação Animal, CETEA/FMRP/USP, N° 092/2012.

Grupos Experimentais

Os SHR de 18 semanas de idade (N=128) foram alocados em quatro grandes grupos: tratado com água (Grupo Veículo, N=32); tratado com Enalapril (Grupo Enalapril, N=32); tratado com Losartan (Grupo Losartan, N=32); e tratado com Amlodipina (Grupo Amlodipina, N=32). Cada grupo foi subdividido em dois menores grupos (N=16) e tratados durante 10 ou 34 semanas, sendo que metade de cada grupo (N=08) era concomitantemente submetido ao

treinamento físico aeróbico por meio da natação pelo mesmo período de tempo. Uma esquematização da divisão de todos os grupos está apresentada na Figura 1.

Figura 1 - Esquematização das divisões e subdivisões dos grupos experimentais.

Tratamento farmacológico

Todos os grupos submetidos ao tratamento farmacológico (10 ou 34 semanas) receberam doses diárias das drogas através da diluição na água de beber. A quantidade de droga foi calculada a partir do peso corporal dos animais e do consumo diário de água, que foi averiguado por meio de bebedouro graduado. Os animais ficaram alocados em grupos de 4 animais por caixa, e a droga diluída em uma quantidade média para o grupo.

Foram selecionadas 3 classes farmacológicas para o tratamento da hipertensão arterial com uma droga representante de cada classe: iECA (Enalapril); bloqueadores de receptores AT_1 (Losartan); inibidores de canais de Ca^{2+} (Amlodipina). As dosagens foram determinadas a partir de revisão de estudos na literatura:

- Enalapril: $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (PAHOR, M., et al., 1991);

- Losartan: $05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (FOUCART, S., et al, 1996);
- Amlodipina: $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (HE et al., 2011).

Treinamento físico dos Animais

Os ratos dos grupos submetidos ao exercício aeróbio (10 ou 34 semanas) foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por meio da natação em 02 aquários de vidro (comprimento=120cm; largura=80cm; profundidade=80cm), contendo água aquecida (33°C), permitindo o treinamento de 04 animais ao mesmo tempo em cada aquário. Durante todo o período de treinamento os animais eram supervisionados para que nadassem todo o tempo.

O programa de treinamento foi realizado em duas etapas distintas, tanto para o treinamento de 10 semanas, quanto para o treinamento de 34 semanas; a primeira etapa consistiu de um período de adaptação ao treinamento (02 semanas) em que os animais eram treinados sem sobrecarga, 05 vezes por semana, em tempos crescentes (incremento de 5 minutos por dia), até atingirem 45 minutos de treinamento diário; por sua vez, na segunda etapa (08 semanas ou 32 semanas) os animais nadaram durante 45 minutos diários, 5 vezes por semana (SANT'ANA et al., 2011), com sobrepesos crescentes (2% a 12% do peso corporal). A escolha da adição ou não de peso de sobrecarga foi baseada na avaliação da curva da concentração do lactato por meio do protocolo descrito por GOBATTO et al, 2001. Essa avaliação ocorreu na segunda semana de treinamento e depois a cada 4 semanas, e o objetivo foi avaliar a intensidade do treinamento físico que deveria promover concentrações de lactato entre 4,5-5,5 mmol/L. Todos os animais dos grupos de sedentários também foram colocados 05 vezes por semana no aquário por 03 minutos durante as 10 ou 34 semanas para simular o estresse do treinamento.

Pletismografia de Cauda

Todos os grupos tiveram a evolução da PA sistólica (PAS), PAD e PA média (PAM) registradas através da pletismografia de cauda utilizando o sistema CODA®, *Kent Scientific Corporation*. Este é um sistema de registro indireto de PA em que os ratos são acondicionados em um tubo cilíndrico de acrílico, no qual são aquecidos e ventilados de maneira adequada para a realização das medidas de PA.

Assim, os ratos tiveram acoplados na região proximal de sua cauda um manguito de borracha que possuía a função de insuflar e desinflar automaticamente em intervalos fixos de 15 segundos. Próximo ao manguito foi acoplado um transdutor de pulso (sensor) que captava os sinais que eram enviados e registrados em sistema de computador. Todos os animais passaram por um período de adaptação ao experimento através de 3 medidas que não foram consideradas. Em seguida, 12 novas medidas foram realizadas, e assim, a PA foi considerada como a média de no mínimo dez medidas. Este procedimento foi realizado com o objetivo de confirmar a hipertensão arterial em todos os ratos, além de garantir que os grupos possuíam médias de PA semelhantes antes de iniciarem qualquer protocolo. A pletismografia de cauda também foi utilizada para o acompanhamento da evolução da PA em todos os grupos experimentais.

Para os grupos que foram acompanhados por 10 semanas as aferições foram realizadas em três momentos distintos. Antes do início do tratamento (ratos com 18 semanas de idade), 5 semanas após o início do tratamento (ratos com 22 semanas de idade) e ao final de 10 semanas de tratamento (ratos com 28 semanas de idade). Já os grupos que foram acompanhados por 34 semanas, a PA foi registrada até a 10ª semana de tratamento, semelhantemente aos grupos acompanhados por 10 semanas. Em seguida, foram avaliados na 20ª semana (38 semanas de idade) e na 34ª semana de tratamento (52 semanas de idade).

Protocolos Experimentais

Cirurgia de canulação

No 6º dia da última semana de tratamento (10ª ou 34ª semana) os animais foram anestesiados com ketamina 80 mg/kg e xilazina 10 mg/kg para implante de cânulas de polietileno (PE-50 fundido a uma extensão PE-10; Intramedic, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA) na artéria e veia femorais (esquerda) para posterior registro da PA e administração de drogas, respectivamente. As cânulas foram exteriorizadas na região dorsal, através do tecido subcutâneo. Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam injeção de antibiótico intramuscular (40000 U/kg Penicilina G procaina IM) para prevenir infecção, e anti-inflamatório não-esteroidal, flunixin meglumine (Banamine) subcutâneo (2.5 mg/kg), para analgesia no pós-operatório. Por fim, os animais eram alojados em caixas individuais por 24 horas para a recuperação pós-cirúrgica.

Registro da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

24 horas após o procedimento cirúrgico de canulação, a pressão arterial pulsátil (PAP) foi registrada por meio de um sistema digital de aquisição de sinais biológicos, composto por um transdutor de pressão (MLT844, ADInstruments, Bella Vista, Australia) e um amplificador de sinais (FE117, ADInstruments, Bella Vista, Australia) acoplado a um sistema de aquisição computadorizado (ADInstruments, Austrália - PowerLab 8/30). O sinal de PA foi adquirido usando frequência de amostragem de 2 KHz. A FC e a PAM foram inferidas a partir da PAP por meio de um software (PowerLab – Chart7 – ADInstruments, Austrália). Por intermédio desse registro, foi realizado o protocolo experimental para avaliação da variabilidade cardiovascular, SBR espontânea e duplo bloqueio autonômico farmacológico. Ao final do

protocolo, os animais foram sacrificados por sobredose de anestésico administrado por via endovenosa.

Análise da Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica e da Frequência Cardíaca por meio do registro do Intervalo de Pulso

As análises da VPAS e da VFC foram realizadas por meio de um programa computacional (CardioSeries v2.1 – <http://sites.google.com/site/cardioseries>), desenvolvido no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo, Brasil). Trechos com 60 minutos de duração, onde os valores se mantiveram dentro de uma relativa estacionariedade, foram utilizados para análise da VFC e VPAS. Os valores de intervalo de pulso (IP) e PAS foram reamostrados em 10 Hz (1 valor a cada 100 ms) por interpolação cúbica do tipo spline, para regularização do intervalo de tempo entre batimentos. As séries com valores interpolados de IP e PAS foram divididas em segmentos com 512 valores cada, com sobreposição de 50% (Protocolo de Welch). A estacionariedade dos valores de IP e PAS de cada segmento foi examinada visualmente e aqueles com artefatos ou transientes, foram excluídos. Cada segmento estacionário de IP e PAS foi submetido à análise espectral pela Transformada Rápida de Fourier (FFT), após janelamento do tipo Hanning. Os espectros de IP foram integrados em bandas de baixa (LF: 0,20 – 0,75 Hz) e alta frequência (HF: 0,75 – 3,00 Hz), com os resultados expressos em valores absolutos (ms^2) e unidades normalizadas (un), enquanto que os espectros de PAS foram integrados somente na banda de baixa frequência (LF: 0,20 – 0,75 Hz), com os resultados expressos em valores absolutos (mmHg^2). Os valores normalizados foram obtidos através do cálculo da porcentagem da potência de LF e HF com relação à potência espectral total, menos a potência da banda de muito baixa frequência (VLF, <0.2 Hz) (VAN DE BORNE et al., 1997, BILLMAN; KUKIELKA, 2006). O procedimento de

normalização foi realizado para minimizar as variações da potência total nos valores absolutos dos componentes de LF e HF (MALLIANI et al., 1991; TASK FORCE, 1996).

Análise da Sensibilidade Barorreflexa Espontânea

Ainda no trecho de 60 minutos, a SBR foi avaliada no domínio do tempo, por meio do Método da Sequência, utilizando o programa computacional CardioSeries v2.1, desenvolvido no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Séries temporais, batimento-a-batimento, com valores de IP e PAS foram utilizados para análise da SBR. Estes trechos foram analisados em busca de sequências de quatro ou mais batimentos nos quais aumentos progressivos da PAS foram acompanhados por aumentos progressivos do IP, ou reduções progressivas da PAS foram acompanhadas por reduções progressivas do IP. Uma sequência barorreflexa só foi utilizada quando o coeficiente de correlação (r) entre os valores de PAS e IP foi maior ou igual a 0,8. A SBR foi determinada a partir da média da inclinação da reta da regressão linear entre os valores de PAS e IP de cada sequência encontrada.

Avaliação do balanço simpato-vagal cardíaco e determinação da frequência intrínseca de marcapasso

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o balanço simpato/vagal cardíaco nos diferentes grupos e suas eventuais alterações. Foram administradas as drogas, atropina e propranolol, para bloquear, respectivamente, o vago e o simpático. Os diferentes grupos experimentais foram estudados por meio de dois procedimentos distintos:

1º) Após 10 minutos do término do teste de SBR foi administrada a atropina (5 mg/Kg, *i.v.*, Sigma Aldrich, EUA) e a FC do animal foi registrada por 15 minutos a fim de se obter um índice de controle vagal na determinação da FC basal. Após os 15 minutos, cloridrato de

propranolol (4 mg/Kg, *i.v.*, Sigma Aldrich, EUA) foi injetado e a FC registrada por mais 15 minutos para se determinar a frequência cardíaca intrínseca (FCi) de marcapasso.

2º) 24 horas após, no mesmo animal, foram administrados os bloqueadores autonômicos na ordem inversa, ou seja, propranolol seguido de atropina, com o objetivo de se calcular, à semelhança da sequência anterior, o índice do controle simpático na determinação da FC basal e também de se obter a FCi.

Figura 2 - Representação esquemática do protocolo de avaliação do balanço simpático/vagal cardíaco

Cálculo do índice de mortalidade

Em todos os grupos experimentais foram quantificados semanalmente os valores de mortalidade dos animais em números absolutos e percentuais (em relação ao *n* inicial) durante todo o processo de tratamento, ou seja, durante as 34 semanas. Dessa maneira, comparamos os diferentes tratamentos para averiguar qual deles obteve a maior taxa de mortalidade e a idade

dos animais no momento da morte. Uma curva que relacionou a mortalidade absoluta em relação ao tempo de tratamento também foi realizada.

Análise Estatística

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha eletrônica e as informações foram analisadas através do programa eletrônico Sigma-Stat®, versão 2.03. Em seguida, as variáveis normais, homocedásticas, foram analisadas utilizando-se testes paramétricos, na comparação entre dois grupos, o teste "t" de Student; e na comparação entre três ou mais grupos a análise de variância (ANOVA). Quando a distribuição não era normal, utilizamos testes não paramétricos na comparação entre dois grupos e o teste de Mann-Whitney, e na comparação entre três ou mais grupos o teste de Kruskal-Wallis. Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que p era menor que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussões foram divididos em cinco etapas para facilitar a apresentação e a discussão dos mesmos. Cada etapa teve a seguinte denominação:

***Estudo 1:** Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbico – protocolo de 10 semanas de duração.*

***Estudo 2:** Efeitos do tratamento com Amlodipina ou Enalapril associados ao treinamento físico aeróbico – protocolo de 10 semanas de duração.*

***Estudo 3:** Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbico – protocolo de 34 semanas de duração.*

***Estudo 4:** Efeitos do tratamento com Amlodipina associado ao treinamento físico aeróbico – protocolos de 10 e 34 semanas de duração.*

***Estudo 5:** Índice de Mortalidade, comparação entre todos os grupos em estudo*

***ESTUDO 1: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan
associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10
semanas de duração***

Pressão Arterial

A Figura 3 apresenta os resultados da evolução da PA obtida por pletismografia de cauda nos grupos tratados, respectivamente, com Veículo, Enalapril e Losartan por 10 semanas, sedentários e treinados. Todos os grupos iniciaram o protocolo experimental com valores da PAM semelhantes (Veículo sedentário, 167 ± 4 mmHg; Veículo treinado, 166 ± 3 mmHg; Enalapril sedentário, 169 ± 4 mmHg; Enalapril treinado, 163 ± 1 mmHg; Losartan sedentário, 176 ± 4 mmHg; Losartan treinado, 171 ± 3 mmHg). Os grupos sedentários tratados com Enalapril e Losartan, bem como o grupo Veículo treinado, apresentaram redução significativa da PAS, PAD e PAM na 5ª semana de tratamento e ao final das 10 semanas em relação ao grupo Veículo sedentário. Quando comparados, o grupo tratado com Enalapril apresentou maior redução. Por fim, o treinamento físico não potencializou a redução da PA nos grupos tratados com Enalapril ou Losartan em relação aos grupos tratados sedentários.

Figura 3 – Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 10 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M.

Tabela 1 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Enalapril	Losartan	Veículo	Enalapril	Losartan
Valores Basais						
PAS, mmHg	199 ± 8	124 ± 5 ^a	157 ± 4 ^{a b}	167 ± 4 ^{a b}	123 ± 2 ^{a c d}	148 ± 2 ^{a b d e}
PAD, mmHg	157 ± 9	96 ± 2 ^a	122 ± 4 ^{a b}	121 ± 6 ^{a b}	91 ± 3 ^{a c d}	113 ± 2 ^{a b e}
PAM, mmHg	174 ± 9	107 ± 1 ^a	136 ± 4 ^{a b}	139 ± 4 ^{a b}	104 ± 2 ^{a c d}	127 ± 2 ^{a b d e}
FC, bpm	384 ± 14	360 ± 8	369 ± 11	330 ± 11 ^{a b c}	331 ± 12 ^{a c}	348 ± 13
Controle tônico autonômico						
FC após atropina, bpm	399 ± 15	398 ± 3	396 ± 13	357 ± 3 ^{a b c}	372 ± 8	368 ± 15
Δ FC atropina, bpm	15 ± 2	38 ± 8 ^a	27 ± 8	27 ± 8	41 ± 8 ^a	19 ± 5 ^a
FC após propranolol, bpm	299 ± 4	313 ± 3 ^a	315 ± 10 ^a	295 ± 9	307 ± 8	302 ± 9
Δ FC propranolol, bpm	-84 ± 15	-46 ± 10	-54 ± 18	-33 ± 7 ^a	-23 ± 11 ^a	-46 ± 15
FCi, bpm	313 ± 3	320 ± 7	320 ± 7	301 ± 4 ^{a b c}	312 ± 5	311 ± 8

Valores basais de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM); e valores de frequência cardíaca (FC) obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico (frequência cardíaca intrínseca de marcapasso, FCi) com atropina e propranolol nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. Todos os valores estão apresentados como média ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Frequência Cardíaca e Balanço Simpatovagal

A Tabela 1 e a Figura 4 apresentam os resultados da FC antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco com atropina e propranolol. Todos os grupos sedentários apresentaram valores da FC basal semelhantes. Entretanto, somente os grupos Veículo e Enalapril treinados apresentaram redução da FC basal em comparação ao grupo Veículo sedentário. Em relação ao duplo bloqueio autonômico, o grupo Veículo sedentário apresentou o balanço autonômico cardíaco caracterizado pelo predomínio do tônus autonômico simpático na determinação da FC basal. Por outro lado, os grupos sedentários, Enalapril e Losartan, tiveram a redução da influência simpática e/ou aumentou da influência vagal na determinação da FC basal. O treinamento físico também reduziu a influência do drive autonômico simpático e/ou aumentou o drive autonômico vagal na determinação da FC basal no grupo Veículo. Adicionalmente, o grupo Enalapril treinado apresentou uma inversão no balanço autonômico cardíaco, caracterizada pelo predomínio do drive autonômico vagal. Em relação à FCi, todos os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes. Por sua vez, quando treinados, somente o grupo Veículo apresentou redução.

Figura 4 – Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Losartan sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Enalapril treinado.

Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca e Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

A Tabela 2 e a Figura 5 apresentam os resultados da análise da VFC realizada por meio da análise espectral. Os grupos sedentários apresentaram semelhantes valores dos parâmetros espectrais. Por sua vez, após o treinamento físico somente o grupo Enalapril apresentou diferenças em relação ao respectivo grupo sedentário, caracterizadas pelo aumento da variância total e das oscilações de LF e HF em valores absolutos. Quando os grupos treinados foram comparados, o grupo Enalapril apresentou maiores oscilações de LF e HF em valores absolutos em relação ao grupo Veículo, e maior variância total e aumento das oscilações de HF em unidades normalizadas em relação ao grupo Losartan.

Ainda na Tabela 2 e também na Figura 6, estão apresentados os resultados referentes à VPAS também obtidos na análise espectral. Os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes em relação à variância total e as oscilações da banda de LF. Quando treinados, o grupo Enalapril apresentou redução nas oscilações da banda de LF em relação ao grupo Veículo.

Figura 5 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms^2), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms^2) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Losartan sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Enalapril treinado.

Figura 6 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg²) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Tabela 2 – Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso), variabilidade da pressão arterial sistólica e sensibilidade barorreflexa espontânea.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Enalapril	Losartan	Veículo	Enalapril	Losartan
Variabilidade IP						
IP, ms	157 ± 6	167 ± 3	163 ± 5	183 ± 6 ^{a b c}	182 ± 7 ^{a c}	173 ± 6
Variancia, ms ²	19 ± 3	15 ± 3	23 ± 4	23 ± 4	38 ± 8 ^b	17 ± 3 ^e
LF, ms ²	2,4 ± 0,85	1,71 ± 0,33	2,14 ± 0,52	2,12 ± 0,46	5,99 ± 1,68 ^{b c d}	2,91 ± 0,64
LF, un	30 ± 5	25 ± 2	23 ± 4	27 ± 3	27 ± 5	27 ± 4
HF, ms ²	4,3 ± 0,47	5,0 ± 0,9	6,16 ± 0,89	5,06 ± 0,49	13,78 ± 0,81 ^{a b c d}	7,17 ± 0,89 ^{a e}
HF, un	70 ± 5	75 ± 2	77 ± 4	73 ± 3	73 ± 5	73 ± 4
Variabilidade PAS						
Variancia, mmHg ²	24 ± 2	20 ± 2	32 ± 4 ^b	22 ± 2	23 ± 3	21 ± 4
LF, mmHg ²	6,76 ± 0,69	5,38 ± 0,91	6,05 ± 0,94	6,92 ± 0,82	3,53 ± 0,68 ^{a c d}	5,93 ± 0,94
SBR espontânea						
BEI	0,141 ± 0,03	0,114 ± 0,04	0,127 ± 0,02	0,141 ± 0,02	0,200 ± 0,03	0,223 ± 0,05
Ganho <i>up</i> , ms/mmHg	0,83 ± 0,10	1,19 ± 0,14	0,95 ± 0,10	0,97 ± 0,13	2,37 ± 0,6 ^{a c d}	1,11 ± 0,14
Ganho <i>down</i> , ms/mmHg	0,82 ± 0,11	1,38 ± 0,09 ^a	0,94 ± 0,11 ^b	1,11 ± 0,19	2,55 ± 0,62 ^{a c d}	1,15 ± 0,16 ^e
Ganho médio, ms/mmHg	0,81 ± 0,11	1,32 ± 0,11 ^a	0,95 ± 0,11 ^b	1,05 ± 0,16	2,46 ± 0,61 ^{a c d}	1,13 ± 0,15

Variabilidade da frequência cardíaca (VFC), variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS): variância (ms²; mmHg²), baixa frequência (LF) e alta frequência (HF) em valores absolutos (ms²; mmHg²) e unidades normalizadas (un); sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: índice de efetividade barorreflexa (BEI) obtidos nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. Todos os valores estão apresentados como média ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Sensibilidade Barorreflexa Espontânea

A Tabela 2 e a Figura 7 também apresentam os resultados da análise da SBR espontânea obtida pelo método da sequência. Os resultados mostram que os grupos sedentário e treinado tratados com Enalapril apresentaram aumento na SBR espontânea em relação aos grupos sedentários e treinados tratados com Veículo ou Losartan. Entretanto, quando os grupos Enalapril sedentário e treinado foram comparados, apresentaram valores semelhantes.

Figura 7 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Resumo dos resultados

Tabela 3 - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Enalapril	Losartan	Veículo	Enalapril	Losartan
Valores basais						
PAS	---	↓↓	↓	↓	↓↓	↓
PAD	---	↓↓	↓	↓	↓↓	↓
PAM	---	↓↓	↓	↓	↓↓	↓
FC basal	---	↔	↔	↓	↓	↔
Tônus						
Predomínio simpático	●	●	●	●	○	●
Atenuação do simpático	○	●	●	●	●	○
Predomínio vagal	○	○	○	○	●	○
FC intrínseca	---	↔	↔	↓	↔	↔
VFC						
Variância	---	↔	↔	↔	↑	↔
LF, ms ²	---	↔	↔	↔	↑	↔
HF, ms ²	---	↔	↔	↔	↑↑	↑
LF, un	---	↔	↔	↔	↔	↔
HF, un	---	↔	↔	↔	↔	↔
VPAS						
Variância	---	↔	↑	↔	↔	↔
LF, mmHg	---	↔	↔	↔	↓	↔
Baroespontâneo						
BEI	---	↔	↔	↔	↔	↔
Ganho <i>up</i> , ms/mmHg	---	↔	↔	↔	↑↑	↔
Ganho <i>down</i> , ms/mmHg	---	↑	↔	↔	↑↑	↔
Ganho médio, ms/mmHg	---	↑	↔	↔	↑↑	↔

Legenda:

↔ Os valores não alteraram

↓ Diminuiu o valor

↓↓ Diminuiu de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

↑ Aumentou o valor

↑↑ Aumentou de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

● Apresentou este fator; ○ Não apresentou este fator

DISCUSSÃO DO ESTUDO 1: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 semanas de duração

Nós observamos que o tratamento farmacológico com Enalapril ou Losartan em SHR, assim como o treinamento físico aeróbio, reduziram a PA, porém, de forma mais acentuada nos animais tratados com Enalapril. A associação do Enalapril ou Losartan com o treinamento físico não potencializou a redução da PA. A avaliação autonômica mostrou que os tratamentos com Enalapril e Losartan apresentaram semelhantes efeitos no tônus autonômico cardíaco dos animais sedentários. Entretanto, o tratamento com Enalapril foi superior na melhora da SBR. Adicionalmente, quando associado ao treinamento físico aeróbio, o tratamento com Enalapril promoveu melhores resultados autonômicos cardiovasculares.

É amplamente descrito na literatura que os SHRs possuem um aumento da concentração de angiotensina II circulante, que por sua vez, influencia de modo negativo o controle autonômico cardiovascular (RECKELHOFF; ZHANG; SRIVASTAVA, 2000; MEHTA; GRIENDLING, 2007; GOMES-FILHO et al., 2008). Essa ação é caracterizada pelo aumento da influência simpática e/ou redução da influência vagal, prejudicando inclusive a SBR (REID, 1992; WOLLERT; DREXLER, 1999; YLITALO et al., 1999; MEHTA; GRIENDLING, 2007; OPARIL; SCHMIEDER, 2015). Dessa maneira, apresenta-se como um dos fatores mais importantes para o agravamento da hipertensão arterial neste modelo experimental. No presente estudo, quando os animais foram tratados com Enalapril ou Losartan, ocorreram efeitos positivos sobre a PA e sobre o controle autonômico cardiovascular. Esses resultados foram similares aos estudos prévios (LAFLAMME et al., 1997; KRUM, 2001; AZEVEDO, 2003). De acordo com a literatura, essa redução de PA estaria relacionada com a ação do Enalapril e do Losartan sobre a redução da resistência vascular periférica (HARRAP, NICOLACI, DOYLE, 1986; CADILHAC, GIUDICELLI, 1986; SNELDER et al., 2014). Quanto ao controle autonômico cardiovascular, a maioria dos estudos apontam para um efeito semelhante nos diversos parâmetros autonômicos avaliados entre o Enalapril e o Losartan em animais

sedentários. Nesse caso, estudos clínicos demonstraram que ocorrem reajustes similares da função barorreflexa após o tratamento com iECA ou antagonistas de receptores AT₁ que seriam decorrentes, principalmente da redução da hiperatividade simpática (WEINSTOCK; GORODETSKY, 1995; GUASTI et al., 2001; KLEIN, 2003). Também foi apontado que a melhora do controle autonômico cardiovascular após administração de Enalapril estaria relacionada com melhora da função endotelial, aumentando a produção de óxido nítrico (VANHOUTTE, 1998), entretanto esse parâmetro não foi avaliado no presente estudo. Outro aspecto importante envolve a capacidade do Enalapril em reduzir a concentração angiotensina II no sistema nervoso central, ação importante na atenuação do componente autonômico simpático (DAI et al., 1999; CULMAN et al., 1999). Por outro lado, também foi apontado que o bloqueio dos receptores AT₁ atenuaria o efeito trófico da angiotensina II no componente autonômico simpático (RIBEIRO, 2007), inclusive diminuindo a secreção de catecolaminas (SAAVEDRA, 2005), podendo, então, reduzir de maneira indireta a atividade simpática.

O motivo da associação do tratamento farmacológico com o treinamento físico aeróbio tem como fundamento a prescrição clínica atual, baseada no tratamento farmacológico e na mudança do estilo de vida, através da prática de exercícios físicos regulares. Adicionalmente, resultados de estudos anteriores mostraram que o treinamento físico aeróbio, assim como a redução da ação da angiotensina II, também provocam importantes adaptações autonômicas cardiovasculares. Inclusive, alguns dos efeitos do treinamento físico parecem resultar da redução da angiotensina II, o que culminaria em melhora da homeostase cardiocirculatória (GU et al., 2013; O'DONNELL, FLORAS, HARVEY, 2014; WU et al., 2014). Por sua vez, alguns autores postulam que as adaptações também decorreriam de efeitos nos núcleos neurais centrais de controle cardiovascular, resultando em aumento do tônus vagal e/ou diminuição do tônus simpático, além de melhora da SBR (KRAMER et al., 2000; ZHENG et al., 2005; DE ABREU

et al., 2009; MICHELINI; STERN, 2009; MASTELARI et al., 2011; BARBOSA-NETO et al., 2013; MASSON et al., 2015). No entanto, no presente estudo, observamos que o protocolo de treinamento físico aeróbio aplicado no modelo SHR promoveu redução da PA, porém, não influenciou adaptações nos parâmetros autonômicos cardiovasculares. A causa para essa discrepância entre nossos resultados e a literatura pode estar relacionada a uma baixa efetividade do protocolo de treinamento físico aeróbio proposto, no entanto, a sua efetividade ficou evidente ao promover adaptações características ao treinamento, como a redução da FC basal e da FCi de marcapasso (TRIPTON et al., 1991; SANT'ANA et al., 2011). Dessa forma, o motivo desta divergência permanece incerta, porém, não podemos desconsiderar as diferenças metodológicas.

Contrariamente, a associação do treinamento físico aeróbio ao tratamento com Enalapril, mas não com Losartan, promoveu efeitos aditivos, demonstrando adaptações superiores às encontradas nos animais sedentários tratados. O motivo desse achado precisa ser investigado, entretanto, sugerimos duas hipóteses para tal, uma relacionada à diminuição adicional dos níveis de angiotensina II e outra ao aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico. Neste contexto, na primeira hipótese, o treinamento físico interferiria nas vias da Elastase-2 e da Quimase, que são vias alternativas, não dependentes da enzima conversora de angiotensina (ECA), para a formação da angiotensina II. Esta ação reduziria a concentração de angiotensina II, inclusive no sistema nervoso central, exacerbando os efeitos positivos promovidos pela droga isolada. De fato, estudos demonstraram um aumento da Elastase-2 em artérias, pulmões e coração de SHR (SANTOS et al., 2003; BECARI et al., 2011), além de uma maior concentração dos níveis de mRNA para Quimase nestes animais quando comparados a ratos normotensos (KIRIMURA et al., 2005). Ademais, as vias vasculares e cardíacas da Elastase-2 e da Quimase se tornam potencialmente ativadas nos SHR tratados com Enalapril

devido a inibição da ECA (PAULA et al., 1998; BECARI et al., 2011). Entretanto, novos estudos serão necessários para a identificação da real interação entre o treinamento físico aeróbio e estes mecanismos. Por outro lado, nossa segunda hipótese está relacionada ao potencial aumento dos níveis de óxido nítrico provocados, tanto pelo Enalapril, por aumento da concentração de bradicinina, quanto pelo treinamento físico aeróbio, provocado pela tensão de cisalhamento vascular (*shear stress*) (SHEN et al., 1995; VANHOUTTE et al., 1998; DUNCKER et al., 2008). Nessa situação, o óxido nítrico é eficiente na redução da atividade simpática e na melhora da SBR (SOUZA et al., 2001; ELAYAN et al., 2002).

Por outro lado, a falta de efeitos aditivos do treinamento físico ao tratamento com Losartan já foi demonstrada em estudo anterior (AZEVEDO et al., 2003). Neste caso, os autores sugeriram que treinamento físico teria efeitos limitados em SHRs com hipertensão arterial já severa (AZEVEDO et al., 2003). Assim, sugerimos, no presente estudo, que o treinamento físico foi dependente dos efeitos específicos do Enalapril, seja aqueles sobre a redução da concentração angiotensina II, ou aqueles sobre o aumento da concentração de óxido nítrico, para, dessa forma, gerar adaptações autonômicas cardiovasculares significativas em SHR com a hipertensão arterial já estabelecida.

Por fim, na análise da VPAS, o grupo Enalapril treinado foi o único a apresentar resultados significativos com importante redução das oscilações de LF. Alguns autores relataram que em SHR o aumento de LF está associado a uma rigidez arterial (DABIRÉ et al., 2002), dessa forma, a associação do treinamento físico ao Enalapril pode ter promovido inclusive melhores adaptações da parede vascular destes animais, contribuindo para redução da resistência vascular periférica. Esta possível adaptação encontrada no grupo Enalapril treinado pôde ser demonstrada pela maior redução na PA e à melhora mais proeminente da SBR. Além disso, também não podemos descartar os efeitos do Enalapril e do treinamento físico aeróbio

sobre o aumento da liberação de óxido nítrico (VANHOUTTE et al., 1998; DUNCKER et al., 2008). Neste caso, o aumento da sua biodisponibilidade já foi demonstrado na literatura como um fator tamponante sobre as oscilações de LF na VPAS, opondo-se à modulação simpática vascular (PERSSON et al., 1997).

Em suma, essa etapa do estudo demonstrou que os tratamentos com Enalapril e Losartan promoveram adaptações autonômicas cardiovasculares semelhantes. Entretanto, o tratamento com Enalapril apresentou melhores efeitos autonômicos quando associado ao treinamento físico aeróbico, enquanto que a associação do treinamento físico ao Losartan não promoveu efeitos adicionais. O treinamento físico isoladamente, apesar de não ter promovido adaptações autonômicas cardiovasculares significativas, foi eficiente para reduzir a PA. Tais resultados sugerem que o treinamento físico aeróbico deveria ser uma ferramenta de fundamental importância em indivíduos hipertensos, principalmente pelo fato de potencializar os efeitos autonômicos cardiovasculares quando associado ao Enalapril. No entanto, seus efeitos na associação ao tratamento com Losartan devem ser melhor esclarecidos em estudos futuros.

ESTUDO 2: Efeitos do tratamento com Amlodipina ou Enalapril associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 10 semanas de duração

Pressão Arterial

A Figura 8 apresenta a evolução da PA obtida em todos os grupos por meio da pletismografia de cauda. Todos os grupos iniciaram o protocolo experimental com valores da PAM semelhantes (Veículo sedentário, 167 ± 4 mmHg; Veículo treinado, 166 ± 3 mmHg; Amlodipina sedentário, 172 ± 4 mmHg; Amlodipina treinado, 171 ± 2 mmHg; Enalapril sedentário, 169 ± 4 mmHg; Enalapril treinado, 163 ± 1 mmHg). Os grupos sedentários tratados com Amlodipina e Enalapril, bem como o grupo Veículo treinado, apresentaram redução significativa da PAS, PAD e PAM na 5ª semana de tratamento e ao final das 10 semanas em relação ao grupo Veículo sedentário. A Tabela 4, por sua vez, apresenta os valores finais de PA. Quando comparados, os grupos tratados com Enalapril, sedentário e treinado, apresentaram reduções mais proeminentes.

Figura 8 – Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 34 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M.

Tabela 4 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Amlodipina	Enalapril	Veículo	Amlodipina	Enalapril
Valores Basais						
PAS, mmHg	199 ± 8	145 ± 5 ^a	124 ± 5 ^{a b}	167 ± 4 ^{a b c}	153 ± 3 ^{a c d}	123 ± 2 ^{a b d e}
PAD, mmHg	157 ± 9	117 ± 3 ^a	96 ± 2 ^{a b}	121 ± 6 ^{a c}	111 ± 4 ^{a c}	91 ± 3 ^{a b d e}
PAM, mmHg	174 ± 9	128 ± 3 ^a	107 ± 1 ^{a b}	139 ± 4 ^{a c}	128 ± 3 ^{a c}	104 ± 2 ^{a b d e}
FC, bpm	384 ± 14	347 ± 15	360 ± 8	330 ± 11 ^{a c}	341 ± 15	331 ± 12 ^a
Controle tônico autonômico						
FC após atropina, bpm	399 ± 15	412 ± 13	398 ± 3	357 ± 3 ^{a b c}	368 ± 10 ^{b c}	372 ± 8
Δ FC atropina, bpm	15 ± 2	60 ± 7 ^a	38 ± 8 ^a	27 ± 8 ^b	26 ± 8 ^b	41 ± 8 ^a
FC após propranolol, bpm	299 ± 4	307 ± 11	313 ± 3 ^a	295 ± 9	285 ± 7 ^c	307 ± 8
Δ FC propranolol, bpm	-84 ± 15	-39 ± 7 ^a	-46 ± 10	-33 ± 7 ^a	-55 ± 13	-23 ± 11 ^a
FCi, bpm	313 ± 3	328 ± 8	320 ± 7	301 ± 4 ^{a b c}	297 ± 3 ^{a b c}	312 ± 5 ^{d e}

Valores basais de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM); e valores de frequência cardíaca (FC) obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico (frequência cardíaca intrínseca de marcapasso, FCi) com atropina e propranolol nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. Todos os valores estão apresentados como média ± EP.

^a P<0.05 vs. Veículo Sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina Sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril Sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo Treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina Treinado.

Frequência Cardíaca e Balanço Simpatovagal

A Tabela 4 e a Figura 9 apresentam os resultados da FC basal. Os grupos Veículo e Enalapril treinados, apresentaram redução da FC quando comparados ao grupo Veículo sedentário. Por sua vez, os grupos tratados com Amlodipina, sedentários e treinados, apresentaram valores semelhantes.

A Tabela 4 e a Figura 9 também apresentam os valores da FCi e do balanço do tônus autonômico cardíaco, ambos obtidos após o duplo bloqueio farmacológico com atropina e propranolol. Os resultados mostram que o grupo Veículo sedentário apresentou um balanço autonômico cardíaco caracterizado por um grande predomínio do tônus autonômico simpático na determinação da FC basal. O tratamento com Amlodipina e Enalapril, bem como o treinamento físico, significativamente reduziram a influência simpática e/ou aumentaram a influência vagal na determinação da FC basal. Entretanto, o grupo sedentário tratado com Amlodipina apresentou uma inversão no balanço autonômico cardíaco, caracterizado pelo predomínio do tônus autonômico vagal. Por outro lado, o tratamento com Enalapril somente apresentou esse mesmo efeito quando associado ao treinamento físico.

A Tabela 4 também mostra os valores obtidos para a FCi após o duplo bloqueio autonômico farmacológico com atropina e propranolol. Todos os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes. Quando treinados, os grupos Veículo e Amlodipina apresentaram significativa redução em relação a todos os grupos sedentários e o grupo Enalapril treinado.

Figura 9 - Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina treinado.

Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca e Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

A Tabela 5 e a Figura 10 apresentam os resultados da análise da VFC realizada por meio da análise espectral. O grupo Veículo treinado não diferiu do grupo Veículo sedentário. O grupo Amlodipina sedentário apresentou redução das oscilações da banda de LF em unidades normalizadas e aumento das oscilações da banda de HF em unidades absolutas e normalizadas em relação ao grupo Veículo sedentário. Quando treinado, o grupo Amlodipina apresentou aumento da variância total em relação ao grupo Veículo sedentário, além de aumento nas oscilações da banda de LF em unidades absolutas e normalizadas, e redução das oscilações da banda de HF em unidades absolutas em comparação ao grupo Amlodipina sedentário. Por sua vez, o grupo Enalapril sedentário não diferiu do grupo Veículo sedentário. No entanto, apresentou maiores oscilações da banda de LF em valores normalizados, e menores oscilações na banda de HF em valores absolutos e normalizados em relação ao grupo Amlodipina sedentário. Quando treinado, o grupo Enalapril apresentou aumento na variância total e nas oscilações das bandas de LF e HF em unidades absolutas em relação ao grupo Enalapril sedentário.

Ainda na Tabela 5 e na Figura 11, estão apresentados os resultados referentes à VPAS também obtidos após a análise espectral. Os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes em relação à variância total e as oscilações da banda de LF. Quando treinados, somente o grupo Enalapril apresentou redução nas oscilações da banda de LF em relação ao seu respectivo grupo sedentário.

Figura 10 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms²), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms²) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Amlodipina treinado.

Figura 11 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg^2) nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Amlodipina sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Amlodipina treinado.

Tabela 5 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso), variabilidade da pressão arterial sistólica e sensibilidade barorreflexa espontânea.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Amlodipina	Enalapril	Veículo	Amlodipina	Enalapril
Variabilidade IP						
IP, ms	157 ± 6	174 ± 8	164 ± 4	181 ± 5 ^{a c}	178 ± 8	178 ± 7 ^a
Variancia, ms ²	19 ± 3	20 ± 4	15 ± 3	23 ± 4	34 ± 4 ^{a c}	38 ± 8 ^c
LF, ms ²	2,4 ± 0,85	2,08 ± 0,49	1,71 ± 0,33	2,12 ± 0,46	4,75 ± 0,91 ^{b c d}	5,99 ± 1,68 ^{b c}
LF, un	30 ± 5	17 ± 2 ^a	25 ± 2 ^b	27 ± 3 ^b	32 ± 3 ^b	27 ± 5
HF, ms ²	4,3 ± 0,47	9,8 ± 0,92 ^a	5,0 ± 0,9 ^b	5,06 ± 0,49 ^b	9,67 ± 0,95 ^{a c d}	13,78 ± 0,81 ^{a b c d e}
HF, un	70 ± 5	83 ± 2 ^a	75 ± 2 ^b	73 ± 3 ^b	68 ± 3 ^b	73 ± 5
Variabilidade PAS						
Variação, mmHg ²	24 ± 2	25 ± 3	20 ± 2	22 ± 2	29 ± 2 ^c	23 ± 3
LF, mmHg ²	6,76 ± 0,69	6,68 ± 0,98	5,38 ± 0,91	6,92 ± 0,82	9,54 ± 0,84 ^{a b c d}	3,53 ± 0,68 ^{a b d e}
SBR espontânea						
BEI	0,141 ± 0,03	0,093 ± 0,02	0,114 ± 0,04	0,141 ± 0,02	0,150 ± 0,02	0,200 ± 0,03 ^b
Ganho up, ms/mmHg	0,83 ± 0,10	1,15 ± 0,15	1,19 ± 0,14	0,97 ± 0,13	1,29 ± 0,26	2,37 ± 0,6 ^{a d}
Ganho down, ms/mmHg	0,82 ± 0,11	1,28 ± 0,13 ^a	1,38 ± 0,09 ^a	1,11 ± 0,19	1,33 ± 0,28	2,55 ± 0,62 ^{a d}
Ganho médio, ms/mmHg	0,81 ± 0,11	1,23 ± 0,13 ^a	1,32 ± 0,11 ^a	1,05 ± 0,16	1,31 ± 0,27	2,46 ± 0,61 ^{a d}

Variabilidade da frequência cardíaca (VFC), variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS): variância (ms²; mmHg²), baixa frequência (LF) e alta frequência (HF) em valores absolutos (ms²; mmHg²) e unidades normalizadas (un); sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: índice de efetividade barorreflexa (BEI), obtidos nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 semanas. Todos os valores são apresentados como média ± EP. ^aP<0.05 vs. Veículo Sedentário; ^bP<0.05 vs. Amlodipina Sedentário; ^cP<0.05 vs. Enalapril Sedentário; ^dP<0.05 vs. Veículo Treinado; ^eP<0.05 vs. Amlodipina Treinado.

Sensibilidade Barorreflexa Espontânea

A Tabela 5 e a Figura 12 apresentam os resultados da análise da SBR espontânea obtida pelo método da sequência. Os resultados mostram que os grupos Amlodipina e Enalapril, ambos sedentários, apresentaram aumento do ganho barorreflexo para sequências *down* (taquicardia reflexa) e aumento do ganho barorreflexo médio em relação ao grupo Veículo sedentário. Quando treinados, somente o grupo Enalapril apresentou aumento do ganho barorreflexo para sequências *down*, para sequências *up* (bradicardia reflexa) e ganho barorreflexo médio quando comparado aos grupos Veículo, sedentário e treinado. Este grupo apresentou ainda um maior índice de efetividade barorreflexa (BEI) quando comparado ao seu respectivo grupo sedentário.

Figura 12 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P < 0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P < 0.05 vs. Amlodipina sedentário; ^c P < 0.05 vs. Enalapril sedentário; ^d P < 0.05 vs. Veículo treinado; ^e P < 0.05 vs. Amlodipina treinado.

Resumo dos resultados**Tabela 6** - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo, Amlodipina e Enalapril, sedentários e treinados, 10 semanas.

SEDENTÁRIO				TREINADO		
	Veículo	Amlodipina	Enalapril	Veículo	Amlodipina	Enalapril
Valores basais						
PAS	---	↓	↓↓	↓	↓	↓↓
PAD	---	↓	↓↓	↓	↓	↓↓
PAM	---	↓	↓↓	↓	↓	↓↓
FC basal	---	↔	↔	↓	↔	↓
Tônus						
Predomínio simpático	●	○	●	●	●	○
Atenuação do simpático	○	●	●	●	●	●
Predomínio vagal	○	●	○	○	○	●
FC intrínseca	---	↔	↔	↓	↓	↔
VFC						
Variância	---	↔	↔	↔	↑	↑
LF, ms²	---	↔	↔	↔	↑	↑
HF, ms²	---	↑	↔	↔	↑	↑↑
LF, un	---	↓	↔	↔	↑	↔
HF, un	---	↑	↔	↔	↓	↔
VPAS						
Variância	---	↔	↔	↔	↔	↔
LF, mmHg	---	↔	↔	↔	↑	↓
Baroespontâneo						
BEI	---	↔	↔	↔	↔	↔
Ganho up, ms/mmHg	---	↔	↔	↔	↔	↑
Ganho down, ms/mmHg	---	↑	↑	↔	↔	↑
Ganho médio, ms/mmHg	---	↑	↑	↔	↔	↑

Legenda:

↔ Os valores não alteraram

↓ Diminuiu o valor

↓↓ Diminuiu de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

↑ Aumentou o valor

↑↑ Aumentou de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

● Apresentou este fator; ○ Não apresentou este fator

***DISCUSSÃO DO ESTUDO 2: Efeitos do tratamento com
Amlodipina ou Enalapril associados ao treinamento físico
aeróbico – protocolo de 10 semanas de duração***

Os tratamentos farmacológicos com Amlodipina e Enalapril, assim como o treinamento físico aeróbio, reduziram a PA em SHR. Entretanto, os resultados desses tratamentos sobre o controle autonômico cardíaco foram bem diferentes. Nesse caso, enquanto o tratamento somente com a Amlodipina apresentou melhores resultados sobre o controle autonômico cardíaco, o tratamento com o Enalapril apresentou melhores resultados autonômicos somente quando associado ao treinamento físico aeróbio.

Como observado, todos os grupos apresentaram valores elevados e semelhantes da pressão arterial no início dos protocolos experimentais. De acordo com a literatura, esse modelo de hipertensão apresenta seu primeiro pico de elevação da PA em torno da 5ª ou 6ª semanas de vida, progredindo para níveis hipertensivos entre a 7ª e 15ª semanas, com um aumento progressivo de PA até atingirem um platô entre a 20ª e 28ª semanas (YAMORI et al., 1984; PICCO et al., 2012). Em nosso estudo, o grupo Veículo sedentário apresentou uma tendência de elevação da hipertensão entre a 18ª e 28ª semanas de vida, entretanto não foi significativa. Quando avaliamos os efeitos dos diferentes protocolos sobre a PA, observamos que o treinamento físico reduziu a PA, entretanto, somente a partir da 5ª semana, diferentemente dos animais tratados com Amlodipina ou Enalapril, que apresentaram redução já na 5ª semana de tratamento. Nesse caso, o tratamento com Enalapril promoveu maior redução de PA, e a associação do treinamento físico com o tratamento farmacológico, Amlodipina ou Enalapril, não teve efeito aditivo. Esses resultados foram similares a alguns estudos já divulgados (CHRISTENSEN et al., 1988; KANAZAWA et al., 2006).

De fato, a utilização de diferentes abordagens terapêuticas com o intuito de reduzir e controlar a PA é muito importante, principalmente porque sua elevação é frequentemente acompanhada de um desequilíbrio autonômico, caracterizado pelo aumento do tônus simpático e/ou redução de tônus vagal, prejuízos na modulação autonômica da VFC, além de atenuação

da SBR (MURPHY; SLOAN; MYERS, 1991; DICKHOUT; LEE, 1988; DANG, PANG, 2012). Todas essas alterações autonômicas contribuem para o aumento de risco cardiovascular.

Em nosso estudo, observamos que o treinamento físico aeróbio aplicado isoladamente, embora tenha promovido redução significativa da PA, não influenciou qualquer dos parâmetros autonômicos avaliados, diferentemente dos resultados observados em outros estudos, que mostraram que o treinamento físico aplicado nesse modelo de hipertensão promoveria importantes adaptações autonômicas cardiovasculares, como aumento do tônus vagal e/ou diminuição do tônus simpático, e melhora da SBR (MANFREDINI et al., 2008; CORNELISSEN et al., 2010). De acordo com esses autores, as adaptações seriam decorrentes de efeitos do treinamento físico em núcleos neurais centrais de controle cardiovascular, tendo como principal ação a redução da influência do componente autonômico simpático para o coração (KRAMER et al., 2000; ZHENG et al., 2005; MICHELINI; STERN, 2009). Nesse caso, a ausência de adaptações autonômicas em nosso estudo pode sugerir que o treinamento físico aeróbio aplicado não tenha sido efetivo. Entretanto, observamos outras adaptações comuns ao treinamento físico aeróbio, como a redução da FC basal e FCi de marcapasso (SANT'ANA et al., 2011), o que sugere a efetividade do treinamento proposto. Nesse caso, a causa da discrepância com resultados de outros estudos é incerta, porém pode envolver outras diferenças metodológicas.

Por outro lado, quando avaliamos os efeitos dos tratamentos farmacológicos, observamos que a Amlodipina e o Enalapril promoveram benéficas adaptações autonômicas cardiovasculares. Entretanto, como demonstram os resultados, ocorreram diferenças significativas, tanto no tratamento farmacológico isolado, como quando associado ao treinamento físico. Nesse caso, os efeitos da Amlodipina nos animais sedentários foram mais expressivos, em especial sobre a modulação autonômica da VFC. Isso de fato é interessante,

porque os efeitos da Amlodipina sobre o controle autonômico cardíaco são mais contraditórios do que os efeitos do Enalapril. Um estudo demonstrou que a Amlodipina provoca aumento da atividade vagal e que estaria relacionado, inclusive, com a diminuição da isquemia do miocárdio (ZALIŪNAS et al., 2005). Por outro lado, outros estudos relataram que o tratamento de longo prazo com Amlodipina poderia ser simpato-excitatório (DE CHAMPLAIN et al., 2007; LINDQVIST et al., 2007). Nesse caso, após a administração de Amlodipina foram observados a elevação dos níveis plasmáticos de norepinefrina (DE CHAMPLAIN et al., 2007) e aumentos da ativação simpática reflexa resultante dos seus efeitos vasodilatadores periféricos (DE CHAMPLAIN et al., 2007). Outros autores ainda descreveram que o tratamento com a Amlodipina não causaria alterações significativas na VFC, apresentando, portanto, uma relação neutra quanto à função autonômica (HAMADA et al., 1998). Por outro lado, foi demonstrado em SHR que a Amlodipina possuiria um efeito depressor simpático através de mecanismos centrais (HUANG; LEENEN, 2003; HIROOKA et al., 2006). Neste contexto, autores concluíram que a Amlodipina, quando administrada de forma crônica, agiria promovendo um equilíbrio entre os efeitos periféricos, aumentando a liberação de óxido nítrico, e efeitos no sistema nervoso central, reduzindo o estresse oxidativo, e assim influenciando de forma inibitória o componente autonômico simpático (HUANG; LEENEN, 2003; HIROOKA et al., 2006). Curiosamente, a associação do treinamento físico à Amlodipina não exerceu efeitos adicionais na melhora dos parâmetros autonômicos cardiovasculares, o que sugere a ausência de efeitos aditivos nesse modelo de tratamento. A causa desses achados é incerta e precisa ser investigada.

Por outro lado, a associação do Enalapril com o treinamento físico promoveu efeitos aditivos aos efeitos isolados. O motivo desse achado também precisa ser investigado, entretanto estudos prévios demonstraram que dentre outras ações, o treinamento físico aeróbio pode

suprimir os níveis de ECA, reduzindo a concentração de angiotensina II, contribuindo, portanto, para a melhora da modulação autonômica cardíaca (GU et al., 2013; WU et al., 2014). Desse modo, uma hipótese é que o treinamento físico apresentaria um efeito aditivo sobre a inibição da ECA, potencializando os efeitos sobre o controle autonômico cardiovascular. Outra hipótese é que o treinamento físico aeróbico possa ter interferido em vias alternativas para a formação de angiotensina II, como a via da Elastase-2 e da Quimase (PAULA et al., 1998; BECARI et al., 2011). De fato, estudos demonstraram um aumento da Elastase-2 em artérias, pulmões e coração de SHR (SANTOS et al., 2003; BECARI et al., 2011), e de acordo com a literatura, a eficiência catalítica da Elastase-2 para angiotensina I seria superior à ECA (PAULA et al., 1998; SANTOS et al., 2003). Adicionalmente, foi demonstrado que o tratamento com Enalapril, apesar de reduzir os níveis de ECA, o que contribui para a redução da angiotensina II, também induz o aumento da expressão de mRNA para Elastase-2, o que funcionaria, portanto, como uma via alternativa para a geração de angiotensina II quando a ECA é inibida tanto em tecido vascular, quanto em tecido cardíaco (BECARI et al., 2011). Além disso, foi demonstrado em humanos que a presença de Quimase em tecido vascular e cardíaco, agiria, a exemplo da ECA, como uma importante mediadora de formação da angiotensina II (URATA et al., 1990; BECARI et al., 2011). Em SHR, por sua vez, foi demonstrado uma maior concentração dos níveis de mRNA para Quimase quando comparado a ratos normotensos (KIRIMURA et al., 2005). No entanto, nestes animais a administração de um inibidor específico de Quimase não gerou qualquer alteração na PA, sugerindo que a formação de angiotensina II Quimase-dependente pode não contribuir de forma direta nos mecanismos de desenvolvimento de hipertensão no modelo SHR, apesar de haver estudos que relacionam a sua presença ao remodelamento vascular (KIRIMURA et al., 2005; TAKAI et al., 2014). Por outro lado, não podemos descartar a ação da Elastase-2 e da Quimase no presente estudo, o que justificaria o

porquê do tratamento com Enalapril isolado não ter apresentado grande melhora no controle autonômico cardíaco, bem como a justificativa para os melhores resultados alcançados na associação com o treinamento físico aeróbico. Entretanto, novos estudos serão necessários para a identificação da real participação dessas enzimas nesse processo.

Por outro lado, a análise da VPAS apresentou resultados diferentes dos observados para a VFC. Nesse caso, somente o tratamento com Enalapril associado ao treinamento físico aeróbico foi capaz de reduzir as oscilações de LF da PAS. Apesar da literatura apresentar poucas informações sobre os mecanismos subjacentes da redução da VPAS, alguns autores relataram que em SHR o aumento de LF está associado a uma rigidez arterial (DABIRÉ et al., 2002). Dessa forma, a associação do treinamento físico ao Enalapril pode ter promovido melhores adaptações da parede vascular destes animais, contribuindo para redução da resistência vascular periférica. Esta possível adaptação encontrada no grupo Enalapril treinado, por sua vez, pôde ser demonstrada pela maior redução na PA e à melhora mais proeminente da SBR. Além disso, o possível aumento da concentração de óxido nítrico provocado, tanto pelo Enalapril, através do aumento da bradicinina (VANHOUTTE et al., 1998), quanto pelo treinamento físico por meio do aumento da tensão de cisalhamento vascular (*shear stress*) (DUNCKER et al., 2008), pode ser um fator que também contribuiu para a melhora da VPAS no grupo Enalapril treinado. Nesse caso, o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico já foi demonstrado na literatura como um fator tamponante sobre as oscilações de LF na VPAS, opondo-se à modulação simpática vascular (PERSSON et al., 1997).

Em suma, nosso estudo demonstrou que, tanto o tratamento com Amlodipina, quanto o tratamento com Enalapril, promoveram adaptações no controle autonômico cardiovascular dos SHR. Entretanto, a Amlodipina foi mais eficaz na promoção de adaptações autonômicas cardiovasculares nos animais sedentários, enquanto que o Enalapril apresentou melhores efeitos

autônômicos somente quando associado ao treinamento físico aeróbio. Tais resultados sugerem que o treinamento físico aeróbio pode ser uma ferramenta de fundamental importância em indivíduos que fazem uso de Enalapril, no entanto, seus efeitos na associação ao tratamento com Amlodipina devem ser melhor estudados.

***ESTUDO 3: Efeitos do tratamento com Enalapril ou Losartan
associados ao treinamento físico aeróbio – protocolo de 34
semanas de duração***

Pressão Arterial

A Figura 13 apresenta a evolução da PA obtida em todos os grupos por meio da pletismografia de cauda. Os resultados mostram que todos os grupos iniciaram o estudo com valores semelhantes de PAM (Veículo sedentário, 167 ± 4 mmHg; Veículo treinado, 166 ± 3 mmHg; Enalapril sedentário, 169 ± 4 mmHg; Enalapril treinado, 163 ± 1 mmHg; Losartan sedentário, 176 ± 4 mmHg; Losartan treinado, 171 ± 3 mmHg). Além disso, todos os animais que receberam tratamento farmacológico e/ou foram submetidos ao treinamento físico aeróbio, apresentaram redução de PA desde o início do protocolo. Entretanto, podemos observar que até a 10^a semana o tratamento com Enalapril apresentou os melhores resultados nos animais sedentários, e que a associação do treinamento físico foi determinante para a maior redução observada nos grupos tratados com Enalapril ou Losartan. Entretanto, ao final do protocolo, mais precisamente na 34^a semana, podemos observar que a associação do treinamento físico teve pouco efeito nos animais tratados com Losartan, porém foi determinante para a redução da PA nos animais tratados com Enalapril.

A Tabela 7 apresenta os valores de PA obtidos ao final das 34 semanas de protocolo. Os resultados mostram que os grupos Enalapril e Losartan sedentários e treinados, assim como o grupo Veículo treinado apresentaram redução de PA quando comparados ao grupo Veículo sedentário. Nesse caso, o grupo sedentário tratado com Losartan apresentou significativa redução da PAS em relação aos demais grupos sedentários e ao grupo Veículo treinado. Quando somente os grupos treinados foram comparados, os resultados mostraram que a associação do treinamento físico ao tratamento com Enalapril reduziu a PAS, PAD e PAM, enquanto que a associação do treinamento físico ao Losartan somente reduziu a PAS, ambos em relação ao grupo Veículo treinado.

Figura 13 – Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 34 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M.

Tabela 7 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Enalapril	Losartan	Veículo	Enalapril	Losartan
Valores Basais						
PAS, mmHg	193 ± 7	162 ± 6 ^a	134 ± 9 ^{a b}	160 ± 7 ^{a c}	129 ± 7 ^{a b d}	144 ± 6 ^{a d}
PAD, mmHg	153 ± 9	114 ± 6 ^a	95 ± 8 ^a	96 ± 6 ^a	87 ± 4 ^{a b d}	93 ± 5 ^a
PAM, mmHg	169 ± 8	133 ± 6 ^a	110 ± 8 ^a	122 ± 6 ^a	104 ± 5 ^{a b d}	114 ± 5 ^a
FC, bpm	398 ± 7	400 ± 15	399 ± 15	345 ± 12 ^{a b c}	358 ± 10 ^a	366 ± 7
Controle tônico autonômico						
FC após atropina, bpm	422 ± 14	429 ± 15	421 ± 13	376 ± 9 ^{a b c}	379 ± 10 ^{a b c}	385 ± 8 ^{a b c}
Δ FC atropina, bpm	24 ± 8	29 ± 8	21 ± 4	30 ± 12	20 ± 4	18 ± 7
FC após propranolol, bpm	311 ± 9	317 ± 11	308 ± 8	294 ± 7	313 ± 10	304 ± 11
Δ FC propranolol, bpm	-86 ± 11	-83 ± 23	-90 ± 13	-50 ± 11 ^{a c}	-45 ± 9 ^{a c}	-62 ± 13
FCi, bpm	318 ± 6	326 ± 8	331 ± 6	300 ± 5 ^{a b c}	316 ± 7	318 ± 7 ^d

Valores basais de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM); e valores de frequência cardíaca (FC) obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico (frequência cardíaca intrínseca de marcapasso, FCi) com atropina e propranolol nos grupos Veículo, Enalapril, sedentários e treinados, todos tratados durante 34 semanas. Todos os valores estão apresentados como média ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Frequência Cardíaca e Balanço Simpatovagal

A Tabela 7 e a Figura 14 apresentam os resultados da FC antes e após o duplo bloqueio autonômico farmacológico com atropina e propranolol. O tratamento com Enalapril ou Losartan não alterou a FC basal em relação ao grupo Veículo sedentário. Os animais do grupo Veículo treinado apresentaram menores valores da FC quando comparados a todos os grupos sedentários. O tratamento com Enalapril ou Losartan nos grupos treinados não alterou a FC em relação aos seus respectivos grupos sedentários e ao grupo Veículo treinado. A única diferença observada foi a redução da FC no grupo Enalapril treinado em relação ao grupo Veículo sedentário.

A Tabela 7 e a Figura 14 também mostram que todos os grupos sedentários e treinados apresentaram um balanço autonômico cardíaco caracterizado por predomínio do tônus autonômico simpático na determinação da FC basal, demonstrado por uma maior resposta à administração de propranolol quando comparado à administração de atropina. Nenhum dos tratamentos promoveram atenuação ou inversão deste predomínio.

Quanto à FCi de marcapasso, os resultados demonstram que todos os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes. Quando treinados, somente o grupo Veículo apresentou redução.

Figura 14 - Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, todos tratados durante 34 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário; ^b $P < 0.05$ vs. Enalapril sedentário; ^c $P < 0.05$ vs. Losartan sedentário; ^d $P < 0.05$ vs. Veículo treinado; ^e $P < 0.05$ vs. Enalapril treinado.

Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca e Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

A Tabela 8 e a Figura 15 apresentam os resultados da análise da VFC realizada por meio da análise espectral. O grupo sedentário tratado com Enalapril não apresentou alterações na VFC, enquanto que o grupo sedentário tratado com Losartan apresentou aumento da variância e das oscilações de HF em unidades absolutas em relação ao grupo Veículo também sedentário. Por sua vez, o grupo Veículo treinado apresentou aumento da variância e das oscilações de HF em unidades absolutas quando comparado ao seu respectivo grupo sedentário. Também apresentou maiores oscilações da banda de HF em unidades absolutas em relação aos grupos Enalapril, sedentário e treinado, e Losartan treinado.

Na Tabela 8 e na Figura 16 também estão apresentados os resultados referentes à VPAS obtidos após a análise espectral. Os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes em todos os parâmetros espectrais avaliados. Quando treinados, o grupo Enalapril apresentou redução na variância total em relação ao seu respectivo grupo sedentário. Contrariamente, o grupo Losartan treinado apresentou aumento da variância total em relação ao seu respectivo grupo sedentário e ao grupo Enalapril treinado.

Figura 15 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms²), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms²) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Figura 16 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg²) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Tabela 8 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso), variabilidade da pressão arterial e sensibilidade barorreflexa espontânea.

	SEDENTÁRIO			TREINADO	
	Veículo	Enalapril	Losartan	Veículo	Enalapril
Variabilidade IP					
IP, ms	151 ± 2	151 ± 6	151 ± 2	175 ± 6 ^{a b c}	168 ± 4
Variancia, ms ²	9 ± 2	15 ± 2	23 ± 6 ^a	26 ± 4 ^a	13 ± 3 ^d
LF, ms ²	1,06 ± 0,32	1,50 ± 0,41	2,55 ± 0,84	2,23 ± 0,56	1,63 ± 0,4
LF, un	26 ± 3	25 ± 3	26 ± 5	20 ± 4	23 ± 2
HF, ms ²	2,7 ± 0,57	4,05 ± 0,61	6,29 ± 0,82 ^a	7,72 ± 0,66 ^{a b}	4,78 ± 0,8
HF, un	74 ± 3	75 ± 3	74 ± 5	80 ± 4	77 ± 2
Variabilidade PAS					
Variância, mmHg ²	30 ± 5	25 ± 3	18 ± 2	22 ± 1	15 ± 1 ^{a b}
LF, mmHg ²	4,93 ± 0,86	6,69 ± 0,82	5,86 ± 0,63	5,8 ± 0,7	5,11 ± 0,5
SBR espontânea					
BEI	0,093 ± 0,016	0,135 ± 0,03	0,092 ± 0,14	0,081 ± 0,006	0,269 ± 0,049
Ganho <i>up</i> , ms/mmHg	0,44 ± 0,04	0,82 ± 0,15 ^a	0,86 ± 0,18 ^a	0,94 ± 0,07 ^a	0,99 ± 0,14
Ganho <i>down</i> , ms/mmHg	0,42 ± 0,05	0,79 ± 0,15 ^a	0,78 ± 0,15 ^a	0,89 ± 0,06 ^a	0,96 ± 0,12
Ganho médio, ms/mmHg	0,43 ± 0,05	0,80 ± 0,15 ^a	0,82 ± 0,16 ^a	0,90 ± 0,07 ^a	0,98 ± 0,13

Variabilidade da frequência cardíaca (VFC), variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS): variância (ms²; mmHg²); frequência (HF) em valores absolutos (ms²; mmHg²) e unidades normalizadas (un); sensibilidade barorreflexa (SBR) e sensibilidade barorreflexa (BEI) obtidos nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 10 semanas. Todos os dados são expressos como média ± EP. ^aP<0.05 vs. Veículo sedentário; ^bP<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^cP<0.05 vs. Losartan sedentário; ^dP<0.05 vs. Enalapril treinado.

Sensibilidade Barorreflexa Espontânea

A Tabela 8 e a Figura 17 também apresentam os resultados da análise da SBR espontânea obtidos pelo método da sequência. Os resultados mostram que o tratamento com Enalapril ou Losartan, assim como o treinamento físico, aumentaram a sensibilidade barorreflexa. Adicionalmente, o grupo Enalapril treinado apresentou maior BEI quando comparado a todos os grupos sedentários e também ao grupo Veículo treinado, enquanto que o grupo Losartan treinado apresentou aumento do BEI em relação ao grupo Veículo, sedentário e treinado, e ao grupo Losartan sedentário.

Figura 17 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário; ^b P<0.05 vs. Enalapril sedentário; ^c P<0.05 vs. Losartan sedentário; ^d P<0.05 vs. Veículo treinado; ^e P<0.05 vs. Enalapril treinado.

Resumo dos resultados**Tabela 9** - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo, Enalapril e Losartan, sedentários e treinados, 34 semanas.

	SEDENTÁRIO			TREINADO		
	Veículo	Enalapril	Losartan	Veículo	Enalapril	Losartan
Valores basais						
PAS	---	↓	↓	↓	↓↓	↓
PAD	---	↓	↓	↓	↓↓	↓
PAM	---	↓	↓	↓	↓↓	↓
FC basal	---	↔	↔	↓↓	↓	↔
Tônus						
Predomínio simpático	●	●	●	●	●	●
Atenuação do simpático	○	○	○	○	○	○
Predomínio vagal	○	○	○	○	○	○
FC intrínseca	---	↔	↔	↓	↔	↔
VFC						
Variância	---	↔	↑	↑	↔	↔
LF, ms ²	---	↔	↔	↔	↔	↔
HF, ms ²	---	↔	↑	↑	↔	↔
LF, un	---	↔	↔	↔	↔	↔
HF, un	---	↔	↔	↔	↔	↔
VPAS						
Variância	---	↔	↔	↔	↓	↑
LF, mmHg	---	↔	↔	↔	↔	↔
Baroespontâneo						
BEI	---	↔	↔	↔	↑↑	↑
Ganho up, ms/mmHg	---	↑	↑	↑	↑	↑
Ganho down, ms/mmHg	---	↑	↑	↑	↑	↑
Ganho médio, ms/mmHg	---	↑	↑	↑	↑	↑

Legenda:

↔ Os valores não alteraram

↓ Diminuiu o valor

↓↓ Diminuiu de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

↑ Aumentou o valor

↑↑ Aumentou de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

● Apresentou este fator; ○ Não apresentou este fator

***DISCUSSÃO DO ESTUDO 3: Efeitos do tratamento com
Enalapril ou Losartan associados ao treinamento físico
aeróbio – protocolo de 34 semanas de duração***

Os tratamentos farmacológicos com Enalapril e Losartan, apesar de terem reduzido a PA, promoveram apenas adaptações autonômicas cardíacas discretas nos ratos sedentários tratados até o envelhecimento, a não ser pelo aumento da SBR que estava presente em todos os animais tratados. Mesmo assim, podemos observar que o treinamento físico foi determinante para melhores adaptações hemodinâmicas e autonômicas.

Assim como observado nos animais com 10 semanas, os tratamentos com Enalapril ou Losartan em ratos sedentários durante 34 semanas, promoveram redução da PA. Quando os tratamentos farmacológicos foram associados ao treinamento físico aeróbico, o tratamento com Enalapril demonstrou reduções mais proeminentes da PA em comparação ao tratamento com Losartan. Nesse caso, a associação do treinamento físico ao tratamento com Enalapril foi determinante para a manutenção da redução da PA. De fato, esses resultados já foram demonstrados, uma vez estudo apontou que a associação do treinamento físico ao Losartan não parece promover efeitos adicionais na redução da PA (AZEVEDO et al., 2003). Por outro lado, o mesmo não foi observado em relação ao Enalapril, onde a associação com o treinamento físico aeróbico parece apresentar redução mais efetiva da PA (KANAZAWA et al., 2006; COZZA et al., 2012). Este efeito, pode estar relacionado à diferentes causas, inclusive ao efeito o treinamento físico sobre o remodelamento vascular, melhorando a função endotelial, e consequentemente, a biodisponibilidade de fatores endoteliais. Nesse aspecto, estudos demonstraram que o treinamento físico realizado de forma regular parece exercer um efeito protetor vascular, recuperando a função endotelial (MASON et al., 2002; MARSH; COOMBES, 2005; RUSH; FORD, 2007). Além disso, o Enalapril também parece atenuar o remodelamento adverso da parede vascular no modelo SHR, o que a longo prazo, pode promover importante redução da resistência vascular periférica (HARRAP, NICOLACI, DOYLE, 1986; CADILHAC, GIUDICELLI, 1986; SNELDER et al., 2014). O treinamento

físico aeróbio também aumenta a força de cisalhamento vascular (*shear stress*), que em associação ao efeito do Enalapril aumentando a biodisponibilidade de bradicinina, podem promover aumento da produção de óxido nítrico com importante ação vascular (VANHOUTE et al., 1998; DUNCKER et al., 2008). Assim sendo, este aumento de óxido nítrico, via bradicinina e *shear stress* podem contribuir duplamente para a maior redução da resistência vascular periférica, e conseqüentemente para a maior redução de PA nesses animais.

Em relação ao controle autonômico cardiovascular, nossa proposta nesse estudo foi investigar os efeitos dos tratamentos com Enalapril e Losartan em ratos hipertensos mais velhos, bem como a capacidade do treinamento físico potencializar qualquer ação benéfica, uma vez que os prejuízos autonômicos associados ao envelhecimento vão exercendo uma maior influência na gravidade da doença (JUDY, FARRELL, 1979; WIDDOP et al., 1990; SWYNGHEDAUW, et al., 1997; DICKHOUT; LEE, 1998; DANG, PAN, 2012; CERONI et al., 2009; SUETA et al., 2014). De fato, esses prejuízos se iniciam antes mesmo do primeiro pico de elevação da PA e evoluem durante toda a vida do animal. Dessa forma, na proposta desse estudo propusemos que tratamentos realizados nesses animais desde jovens com 18 semanas (com a hipertensão arterial já estabelecida) até o envelhecimento, poderiam influenciar positivamente, reduzindo o desenvolvimento das alterações autonômicas cardiovasculares. Nesse caso, a composição entre o treinamento físico e os tratamentos com Enalapril ou Losartan poderiam trazer benefícios ainda maiores, mesmo que possivelmente com algumas diferenças. Neste contexto, observamos que em ratos sedentários, o tratamento com Enalapril somente promoveu aumento da SBR, enquanto que o tratamento com Losartan promoveu aumento da SBR, da variância e das oscilações de HF na VFC, o que indicaria um aumento da modulação autonômica vagal. De fato, observamos que as duas drogas, apesar de agirem sobre os efeitos da angiotensina II, provocaram diferentes adaptações. Neste caso, para a compreensão destes

resultados, é importante que o modo de ação de cada fármaco seja associado aos efeitos da hipertensão arterial e aos efeitos naturais do envelhecimento neste modelo experimental.

Nesta perspectiva, o Enalapril age basicamente impedindo a conversão de angiotensina I em angiotensina II (OIGMAN; FRITSCH, 1998), no entanto, uma parte deste peptídeo, continua circulante não tendo sua ação totalmente inibida. Isso porque, vias vasculares e cardíacas alternativas para a formação de angiotensina II, que são as vias da Elastase-2 e da Quimase, podem ser potencialmente ativadas devido ao bloqueio da ECA (PAULA et al., 1998; BECARI et al., 2011). Especialmente em SHRs, os níveis de mRNA para Quimase são maiores do que em ratos normotensos (KIRIMURA et al., 2005). Já o Losartan, bloqueia de forma mais robusta a ação angiotensina II periféricamente ao inibir os receptores AT₁, o que já foi inclusive relacionado como importante fator atenuante do efeito trófico da angiotensina II na modulação simpática (GOTTLIEB et al., 1993; DIMITROVA et al., 1998; OIGMAN; FRITSCH, 1998; BONNER et al., 2009; INABA et al., 2011; (CULMAN et al., 1999; FEITOSA, 2000; RIBEIRO, 2007). Neste contexto, os SHR possuem uma maior concentração de angiotensina II, enquanto que o envelhecimento também parece aumentar o seu volume circulante (RECKELHOFF; ZHANG; SRIVASTAVA, 2000; NAJJAR; SCUTERI; LAKATTA, 2005; MEHTA; GRIENDLING, 2007; GOMES FILHO et al., 2008). Dessa forma, o aumento da concentração de angiotensina II devido a estes dois fatores em conjunto, hipertensão e envelhecimento, podem influenciar um remodelamento vascular adverso, e, além disso, afetar o balanço autonômico tônico cardiovascular promovendo aumento da influência simpática e redução da influência vagal através de vias centrais e periféricas, resultando muitas vezes inclusive na redução da SBR (STEIN; TEPHENSON; WEAVER, 1984; REID, 1992; FYHRQUIST, METSÄRINNE, TIKKANEN, 1995; WOLLERT, DREXLER, 1999; YLITALO et al., 1999; MEHTA; GRIENDLING, 2007; LEENEN, 2014; OPARIL,

SCHMIEDER, 2015). Por conseguinte, o Enalapril, apesar de reduzir a concentração de angiotensina II circulante, permite que uma parte dela continue exercendo suas ações, já o Losartan, bloqueia de forma potente a ação deste peptídeo, e desse modo, este fato pode explicar o porquê desta droga, ao longo prazo, ter exercido adaptações autonômicas mais favoráveis. De fato, um estudo anterior já havia demonstrado que os bloqueadores de receptor AT₁ podem melhorar a SBR e reduzir a modulação simpática em ratos SHR tratados até o envelhecimento (SUETA et al., 2014). Outros autores demonstraram em indivíduos com hipertensão essencial moderada, que o tratamento com um bloqueador de receptor AT₁ (Telmisartan) reduzia a modulação simpática cardíaca em maior intensidade do que o tratamento com Enalapril (LEWANDOWSKI, et al., 2008). Dessa maneira, observamos em nosso estudo que apesar dos efeitos exercidos pelos tratamentos farmacológicos em ratos sedentários terem sido sutis, eles impediram, mesmo que em parte, a evolução e agravamento da hipertensão arterial, demonstrado principalmente por reduções significativas de PA e pelo aumento da SBR.

Contrariamente, quando houve a associação do treinamento físico aeróbio aos tratamentos farmacológicos, o tratamento com Enalapril, mesmo que sutis, apresentou melhores resultados, a exemplo do aumento do BEI e da redução da variância da VPAS. De fato, outros autores demonstraram que o treinamento físico associado ao Losartan não provocava melhora adicional no controle autonômico cardiovascular de SHR (AZEVEDO et al., 2003). Em nosso estudo, curiosamente, a associação do treinamento físico aeróbio ao tratamento com Losartan provocou, inclusive, aumento da variância na VPAS. Entretanto, este fato necessita ser melhor esclarecido. Por outro lado, de forma oposta aos nossos achados, um estudo em humanos hipertensos encontrou que o tratamento com Enalapril não exercia efeitos aditivos sobre as adaptações autonômicas cardiovasculares de indivíduos que realizaram treinamento físico aeróbio (COZZA et al., 2012). No caso do nosso estudo, deve-se levar em consideração o

modelo experimental utilizado, e também que o tratamento foi realizado até o envelhecimento. Neste sentido, é bem estabelecido que o modelo SHR possui aumento do estresse oxidativo além de atenuação da biodisponibilidade de óxido nítrico, o que contribui para a elevação da resistência vascular periférica e para a redução da sensibilidade aos estímulos de vasodilatação, ademais, também contribui para o aumento da influência simpática cardíaca (PANZA et al., 1990; CHOU et al., 1998; GOTO, C., 2003; BERTAGNOLLI et al., 2008; FUNOVIC et al., 2008; LEUNG et al. 2008; VANHOUTTE et al., 2009; MASSON et al., 2014), entretanto, infelizmente no presente estudo, não avaliamos o estresse oxidativo nesse modelo. Por outro lado, a ausência de melhores resultados decorrentes dos tratamentos utilizados pode ter como principal causa o envelhecimento, uma vez que é uma situação crônica-degenerativa que interfere na homeostase de todos os sistemas, inclusive na integridade da função endotelial (TORREGROSSA; ARANKE; BRYAN, 2011) e de sistemas centrais de controle cardiovascular. (PATEL; LI; HIROOKA, et al., 2001; KIRIMURA et al., 2005). Nesse contexto, estudos demonstraram que o treinamento físico aeróbio é capaz de proporcionar importante efeito protetor vascular, promovendo recuperação da função endotelial, inclusive com redução do estresse oxidativo (MASON et al., 2002; MARSH; COOMBES, 2005; RUSH; FORD, 2007). Outros autores sugeriram ainda que a atividade física regular pode, mesmo que em parte, evitar a disfunção endotelial induzida pelo envelhecimento devido a restauração da disponibilidade de óxido nítrico e redução estresse oxidativo (TADDEI et al., 2000).

Este efeito positivo e protetor do treinamento físico também pôde ser demonstrado em nosso estudo, através dos resultados encontrados no grupo treinado que não recebeu intervenção farmacológica. Nossos dados demonstraram que o treinamento físico puramente promoveu aumento da variância e nas oscilações de HF na VFC, indicando uma melhora da modulação vagal, além de aumento da SBR. Estas adaptações ao treinamento físico foram semelhantes às

já descritas na literatura (CORNELISSEN et al., 2010; MANFREDINI et al., 2008), e demonstram o efeito protetor exercido por ele, mesmo quando não houve associação farmacológica.

Em conclusão, o envelhecimento nos SHR é caracterizado pela redução na VFC e na SBR. Nosso estudo demonstrou que os tratamentos com Enalapril ou Losartan promoveram pequenas adaptações autonômicas favoráveis. Entretanto, os efeitos do Losartan foram mais evidentes nos animais sedentários, enquanto que o Enalapril apresentou melhores efeitos nos animais treinados. Estes achados também indicam que o treinamento físico aeróbico é uma ferramenta de fundamental importância no tratamento da hipertensão, principalmente quando os efeitos do envelhecimento estão associados. No entanto, seus efeitos na associação ao tratamento de longo prazo com Losartan devem ser melhor esclarecidos.

***ESTUDO 4: Efeitos do tratamento com Amlodipina associado
ao treinamento físico aeróbio – protocolos de 10 e 34 semanas
de duração***

Pressão Arterial

A Figura 18 apresenta a evolução da PA observada em todos os grupos por meio da pletismografia de cauda. Os resultados mostram que todos os grupos iniciaram o estudo com valores de PAM semelhantes (Veículo sedentário, 167 ± 5 mmHg; Veículo treinado, 166 ± 3 mmHg; Amlodipina sedentário, 172 ± 4 mmHg; Amlodipina treinado, 171 ± 2 mmHg). Além disso, todos os animais que receberam tratamento farmacológico e/ou foram submetidos ao treinamento físico aeróbio, apresentaram a evolução da redução da PA semelhantes.

A Tabela 10 apresenta os valores de PA em SHR jovens (10 semanas de tratamento) e velhos (34 semanas de tratamento). Os resultados demonstram que os grupos tratados com Amlodipina e/ou treinados apresentaram reduções da PA. Entretanto, SHR jovens tratados com Amlodipina, sedentários ou treinados, apresentaram menores valores da PAS e PAM em relação aos SHR jovens somente treinados. Quando velhos, esses resultados não foram percebidos.

Figura 18 - Valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) aferidas através da pletismografia de cauda ao longo das 34 semanas de acompanhamento nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados. mmHg, milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ E.P.M.

Tabela 10 - Valores hemodinâmicos obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico cardíaco.

	VEÍCULO 10 semanas		AMLODIPINA 10 semanas		VEÍCULO 34 semanas		AMLODIPINA 34 semanas	
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado
Valores Basais								
PAS, mmHg	199 ± 8	167 ± 4 ^a	145 ± 5 ^{a b}	153 ± 3 ^{a b}	193 ± 7	160 ± 7 ^e	143 ± 4 ^e	163 ± 8 ^e
PAD, mmHg	157 ± 9	121 ± 6 ^a	117 ± 3 ^a	111 ± 4 ^a	153 ± 9	96 ± 6 ^e	101 ± 1 ^e	116 ± 9 ^e
PAM, mmHg	174 ± 9	139 ± 4 ^a	128 ± 3 ^{a b}	128 ± 3 ^{a b}	169 ± 8	122 ± 6 ^e	118 ± 2 ^e	135 ± 7 ^e
FC, bpm	384 ± 14	330 ± 11 ^a	347 ± 15	341 ± 15	398 ± 7	345 ± 12 ^e	380 ± 10 ^f	346 ± 10 ^{e g}
Controle tônico autonômico								
FC após atropina, bpm	399 ± 15	357 ± 3 ^a	412 ± 13 ^b	368 ± 10 ^c	422 ± 14	376 ± 9 ^e	406 ± 8 ^f	376 ± 13 ^e
Δ FC atropina, bpm	15 ± 2	27 ± 8	60 ± 7 ^{a b}	26 ± 8 ^c	24 ± 8	30 ± 12	26 ± 5	29 ± 9
FC após propranolol, bpm	299 ± 4	295 ± 9	307 ± 11	285 ± 7	311 ± 9	294 ± 7	316 ± 14	312 ± 10
Δ FC propranolol, bpm	-84 ± 15	-33 ± 7 ^a	-39 ± 7 ^a	-55 ± 13	-86 ± 11	-50 ± 11 ^e	-64 ± 15	-34 ± 6 ^e
FCi, bpm	313 ± 3	301 ± 4 ^a	328 ± 8 ^b	297 ± 3 ^{a c}	318 ± 6	300 ± 5 ^e	318 ± 5 ^f	318 ± 7 ^f

Valores basais de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM); e valores de frequência cardíaca (FC) obtidos antes e após o duplo bloqueio autonômico (frequência cardíaca intrínseca de marcapasso, FCi) com atropina e propranolol nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, todos tratados durante 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados como média ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas.

Frequência Cardíaca e Balanço Simpatovagal

A Tabela 10 e a Figura 19 apresentam os resultados da FC basal, além dos valores do balanço autonômico tônico cardíaco e da FCi de marcapasso, ambos obtidos após o bloqueio farmacológico com atropina e propranolol. Nos grupos jovens (10 semanas), apenas o grupo Veículo treinado apresentou redução da FC basal. Entretanto, nos grupos tratados durante 34 semanas, os dois grupos treinados, Veículo e Amlodipina, apresentaram redução da FC basal em relação ao seu respectivo grupo sedentário.

Quanto ao balanço autonômico tônico, os resultados mostram que o grupo Amlodipina sedentário tratado durante 10 semanas apresentou um balanço autonômico cardíaco caracterizado pelo predomínio do tônus autonômico vagal na determinação da FC basal. Os demais grupos tratados durante 10 semanas apresentaram um balanço autonômico cardíaco caracterizado por predomínio do tônus autonômico simpático. No entanto, o grupo Veículo treinado 10 semanas apresentou significativa atenuação deste predomínio, demonstrado por redução significativa da influência simpática e/ou aumento da influência vagal na determinação da FC basal. A Figura 19 também mostra que todos os grupos 34 semanas apresentaram um balanço autonômico cardíaco caracterizado por predomínio do tônus autonômico simpático. O grupo Amlodipina treinado 34 semanas, no entanto, apresentou atenuação deste predomínio.

Quanto à FCi de marcapasso, todos os grupos de SHR sedentários, 10 e 34 semanas, apresentaram valores semelhantes. Por sua vez, nos animais treinados, os grupos Veículo e Amlodipina tratados por 10 semanas, e grupo Veículo tratado por 34 semanas, apresentaram redução.

Figura 18 - Representação gráfica da frequência cardíaca basal (FC; linha escura contínua), frequência cardíaca intrínseca (FCi; linha escura tracejada) e FC após o bloqueio vagal com atropina (efeito vagal; barras sólidas) e simpático com propranolol (efeito simpático; barras hachuradas) nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, tratados durante 10 e 34 semanas. bpm, batimentos por minuto. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b $P < 0.05$ vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c $P < 0.05$ vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d $P < 0.05$ vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f $P < 0.05$ vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g $P < 0.05$ vs. Amlodipina sedentário 34 semanas.

Análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca e Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

A Tabela 11 e a Figura 20 apresentam os resultados da análise da VFC realizada por meio da análise espectral. Nos grupos acompanhados por 10 semanas, o grupo Veículo treinado não diferiu do grupo Veículo sedentário. Entretanto, o grupo Amlodipina sedentário 10 semanas apresentou redução das oscilações da banda de LF em unidades normalizadas e aumento das oscilações da banda de HF em unidades absolutas e normalizadas em relação ao grupo Veículo sedentário. Por sua vez, o grupo Amlodipina treinado 10 semanas apresentou aumento da variância total associado a um aumento de HF em unidades absolutas quando comparado ao grupo Veículo sedentário. Adicionalmente, este grupo apresentou aumento das oscilações LF e redução das oscilações de HF em unidades normalizadas em relação ao grupo Amlodipina sedentário 10 semanas. Nos grupos acompanhados por 34 semanas observamos que o grupo Veículo sedentário apresentou redução da variância e das oscilações de HF em unidades absolutas quando comparado ao grupo Veículo sedentário tratado por 10 semanas. Por sua vez, o grupo Veículo treinado 34 semanas apresentou aumento da variância e das oscilações de HF em relação ao grupo Veículo sedentário também tratado durante 34 semanas. Ainda sobre os grupos tratados durante 34 semanas, o grupo Amlodipina sedentário não apresentou alterações significativas na VFC, enquanto que o grupo Amlodipina treinado apresentou redução das oscilações de LF e aumento das oscilações de HF em unidades absolutas em relação aos grupos Veículo e Amlodipina sedentários. Por sua vez, em unidade normalizadas o grupo Amlodipina treinado 34 semanas, apresentou redução nas oscilações de LF e aumento das oscilações de HF em relação aos demais grupos 34 semanas.

Ainda na Tabela 11 e também na Figura 21 estão apresentados os resultados referentes à VPAS obtidos após a análise espectral. Os grupos sedentários apresentaram valores semelhantes em relação à variância total e às oscilações da banda de LF. Quando treinados, o grupo Amlodipina 10 semanas apresentou aumento nas oscilações da banda de LF em relação ao seu respectivo grupo sedentário 10 semanas. Adicionalmente, o grupo Amlodipina treinado 34 semanas apresentou redução da variância em relação ao grupo Veículo sedentário 34 semanas.

Figura 20 - Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC): variância (ms^2), potência da banda de baixa frequência (LF) e potência da banda de alta frequência (HF) do espectro do IP expressas em valores absolutos (ms^2) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b $P < 0.05$ vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c $P < 0.05$ vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d $P < 0.05$ vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e $P < 0.05$ vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f $P < 0.05$ vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g $P < 0.05$ vs. Amlodipina sedentário 34 semanas.

Figura 21 - Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS): variância e potência da banda de baixa frequência (LF) expressas em valores absolutos (mmHg²) nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas.

Tabela 11 - Valores para a variabilidade da frequência cardíaca (intervalo de pulso) e variabilidade da pressão arterial sistólica.

	VEÍCULO 10 semanas		AMLODIPINA 10 semanas		VEÍCULO 34 semanas		AMLODIPINA 34 semanas	
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado
Variabilidade IP								
IP, ms	157 ± 6	181 ± 5 ^a	174 ± 8	178 ± 8	151 ± 2	175 ± 6 ^e	158 ± 3 ^f	174 ± 3 ^{e g}
Variancia, ms ²	19 ± 3	23 ± 4	20 ± 4	34 ± 4 ^a	9 ± 2 ^a	26 ± 4 ^e	13 ± 4 ^f	13 ± 4 ^f
LF, ms ²	2,4 ± 0,85	2,12 ± 0,46	2,08 ± 0,49	4,75 ± 0,91 ^{b c}	1,06 ± 0,32	2,23 ± 0,56	1,97 ± 0,7	0,76 ± 0,22 ^{f g}
LF, un	30 ± 5	27 ± 3	17 ± 2 ^{a b}	32 ± 3 ^c	26 ± 3	20 ± 4	33 ± 4 ^f	10 ± 1 ^{e f g}
HF, ms ²	4,3 ± 0,47	5,06 ± 0,49	9,8 ± 0,92 ^{a b}	9,67 ± 0,95 ^{a b}	2,7 ± 0,57 ^a	7,72 ± 0,66 ^e	3,5 ± 0,71 ^f	6,63 ± 0,84 ^{e g}
HF, un	70 ± 5	73 ± 3	83 ± 2 ^{a b}	68 ± 3 ^c	74 ± 3	80 ± 4	67 ± 4 ^f	90 ± 1 ^{e f g}
Variabilidade PAS								
Variância, mmHg ²	24 ± 2	22 ± 2	25 ± 3	29 ± 2	30 ± 5	22 ± 1	20 ± 3	15 ± 3 ^e
LF, mmHg ²	6,76 ± 0,69	6,92 ± 0,82	6,68 ± 0,98	9,54 ± 0,84 ^{a b c}	4,93 ± 0,86 ^d	5,8 ± 0,7 ^d	4,8 ± 0,91 ^d	3,68 ± 0,78 ^d

Variabilidade da frequência cardíaca (VFC), variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS): variância (ms², mmHg), baixa frequência (LF) e alta frequência (HF) em valores absolutos (ms², mmHg) e unidades normalizadas (un), nos grupos Veículo e Amlodipina, 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados como media ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas.

Sensibilidade Barorreflexa Espontânea

A Tabela 12 e a Figura 22 apresentam os resultados da análise da SBR espontânea obtida pelo método da sequência. Os resultados mostram que o grupo Amlodipina sedentário tratado durante 10 semanas apresentou aumento do ganho barorreflexo para sequências *down* (taquicardia reflexa) e do ganho barorreflexo médio em relação ao grupo Veículo sedentário. Por sua vez, após 34 semanas o grupo Veículo sedentário apresentou atenuação da sensibilidade barorreflexa total quando comparado ao grupo Veículo sedentário tratado somente por 10 semanas. Adicionalmente, os grupos Veículo e Amlodipina treinados por 34 semanas apresentaram aumento do ganho barorreflexo para sequências *down* e para sequências *up* (bradicardia reflexa), além de aumento do ganho barorreflexo médio em relação ao grupo Veículo sedentário. Enquanto que o grupo Amlodipina sedentário 34 semanas somente apresentou o aumento do ganho barorreflexo para sequências *up* quando comparado ao grupo Veículo sedentário 34 semanas. Ademais, este grupo, Amlodipina sedentário 34 semanas, também apresentou o maior BEI em relação aos demais grupos tratados durante 34 semanas.

Figura 22 – Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea: BEI, índice de efetividade barorreflexa; ganho *up*, bradicardia reflexa; ganho *down*, taquicardia reflexa e ganho barorreflexo médio (ms/mmHg) nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas. Todos os valores são apresentados em média $\pm$ EP. ^a P<0.05 vs. Veículo sedentário 10 semanas; ^b P<0.05 vs. Veículo treinado 10 semanas; ^c P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 10 semanas; ^d P<0.05 vs. Amlodipina treinado 10 semanas; ^e P<0.05 vs. Veículo sedentário 34 semanas; ^f P<0.05 vs. Veículo treinado 34 semanas; ^g P<0.05 vs. Amlodipina sedentário 34 semanas.

Tabela 12 - Sensibilidade barorreflexa espontânea.

	VEÍCULO 10 semanas		AMLODIPINA 10 semanas		VEÍCULO 34 semanas		AMLODIPINA 34 semanas	
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado
SBR espontânea								
BEI	0,141 ± 0,03	0,141 ± 0,02	0,093 ± 0,02	0,150 ± 0,02	0,093 ± 0,016	0,081 ± 0,006	0,192 ± 0,03 ^{ef}	0,084 ± 0,01 ^g
Ganho <i>up</i> , ms/mmHg	0,83 ± 0,10	0,97 ± 0,13	1,15 ± 0,15	1,29 ± 0,26	0,44 ± 0,04 ^a	0,94 ± 0,07 ^e	0,70 ± 0,10 ^e	1,00 ± 0,18 ^e
Ganho <i>down</i> , ms/mmHg	0,82 ± 0,11	1,11 ± 0,19	1,28 ± 0,13 ^a	1,33 ± 0,28	0,42 ± 0,05 ^a	0,89 ± 0,06 ^e	0,64 ± 0,11	1,08 ± 0,17 ^e
Ganho médio, ms/mmHg	0,81 ± 0,11	1,05 ± 0,16	1,23 ± 0,13 ^a	1,31 ± 0,27	0,43 ± 0,05 ^a	0,90 ± 0,07 ^e	0,68 ± 0,11	1,04 ± 0,16 ^e

Sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea, índice de efetividade barorreflexa (BEI) e ganhos barorreflexos nos grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 ou 34 semanas. Todos os valores são apresentados como media ± EP. ^a P<0.05 vs. Veículo 10 semanas sedentário; ^b P<0.05 vs. Veículo 10 semanas treinado; ^c P<0.05 vs. Amlodipina 10 semanas sedentário; ^d P<0.05 vs. Amlodipina 10 semanas treinado; ^e P<0.05 vs. Veículo 34 semanas sedentário; ^f P<0.05 vs. Veículo 34 semanas treinado; ^g P<0.05 vs. Amlodipina 34 semanas sedentário.

Tabela 13 - Resumo dos principais resultados encontrados para os grupos Veículo e Amlodipina, sedentários e treinados, 10 e 34 semanas.

10 semanas					34 semanas			
	Veículo sedentário	Veículo treinado	Amlodipina sedentário	Amlodipina treinado	Veículo sedentário	Veículo treinado	Amlodipina sedentário	Amlodipina treinado
Valores basais								
PAS	---	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
PAD	---	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
PAM	---	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
FC basal	---	↓	↔	↔	↔	↓	↔	↓
Tônus								
Predomínio simpático	●	●	○	●	●	●	●	●
Atenuação do simpático	○	●	●	●	○	○	○	●
Predomínio vagal	○	○	●	○	○	○	○	○
FC intrínseca	---	↓	↔	↓	↔	↓	↔	↔
VFC								
Variância	---	↔	↔	↑	↓	↑	↔	↔
LF, ms ²	---	↔	↔	↑	↔	↔	↔	↓
HF, ms ²	---	↔	↑	↑	↓	↑	↔	↑↑
LF, un	---	↔	↓	↑	↔	↔	↔	↓↓
HF, un	---	↔	↑	↓	↔	↔	↔	↑↑
VPAS								
Variância	---	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↓
LF, mmHg	---	↔	↔	↑	↔	↔	↔	↓
Baroespontâneo								
BEI	---	↔	↔	↔	↔	↔	↑	↓
Ganho up, ms/mmHg	---	↔	↔	↔	↓	↑	↑	↑
Ganho down, ms/mmHg	---	↔	↑	↔	↓	↑	↔	↑
Ganho médio, ms/mmHg	---	↔	↑	↔	↓	↑	↔	↑

Legenda:

↔ Os valores não alteraram

↓ Diminuiu o valor

↓↓ Diminuiu de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

↑ Aumentou o valor

↑↑ Aumentou de forma mais exacerbada do que nos demais grupos em estudo

● Apresentou este fator; ○ Não apresentou este fator

***DISCUSSÃO DO ESTUDO 4: Efeitos do tratamento com
Amlodipina associado ao treinamento físico aeróbio –
protocolos de 10 e 34 semanas de duração***

Como demonstrado anteriormente, SHR sedentários tratados com Amlodipina por 10 semanas apresentaram importantes adaptações autonômicas cardiovasculares. Por outro lado, o tratamento com Amlodipina por 34 semanas, ou seja, ratos com 52 semanas de vida, promoveu apenas pequenas adaptações na SBR, não influenciando os demais parâmetros avaliados. Neste sentido, os estudos sobre os efeitos da Amlodipina sobre o sistema nervoso autonômico cardiovascular são descritos de forma variável na literatura, principalmente devido às diferenças entre o tempo de tratamento e idade do modelo experimental utilizado. Neste caso, é importante ressaltar que o modelo SHR possui importantes alterações funcionais e estruturais, tais como o aumento da rigidez vascular e alterações autonômicas, que se exacerbam ao longo do processo de envelhecimento, e se tornam determinantes no sucesso do tratamento (SHIMAZU; TAMURA; SHIMAZU, 2005; PINTO, E. 2007; HOTTA; UCHIDA, 2010; DENKER; COHEN, 2013; SUN, 2015). No caso das alterações vasculares, estas são caracterizadas por uma hipertrofia da camada média vascular (MULVANY; AALKJAER, 1990; KATO et al., 1991; VAN GORP et al., 2000), além de atenuação da biodisponibilidade de óxido nítrico, o que contribui para a elevação da resistência vascular periférica e para a redução da sensibilidade aos estímulos de vasodilatação, estando, portanto, diretamente relacionado à integridade da função endotelial (PANZA et al., 1990; CHOU et al., 1998; GOTO, C., et al., 2003; FUNOVIC et al., 2008; LEUNG et al. 2008; VANHOUTTE et al., 2009; MASSON et al., 2014). Além disso, o óxido nítrico colabora de forma direta para a regulação do tônus simpático cardiovascular, agindo no núcleo paraventricular do hipotálamo, reduzindo a sua modulação, mantendo importante ação na regulação da PA (PATEL; LI; HIROOKA, 2001; KIRIMURA et al., 2005). Neste contexto, os bloqueadores de canal de Ca^{2+} , em especial a subclasse das Diidropiridinas, como a Amlodipina, podem induzir a ativação simpática reflexa por diminuição da resistência periférica total e diminuição da PA. No entanto, ao mesmo tempo,

promovem o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico endotelial através de sua propriedade antioxidante e também através do aumento da eficiência na sua formação, o que resulta em expressiva melhora da função vascular e influencia o controle autonômico cardiovascular diminuindo a modulação simpática (OHTSUKA et al, 2003; BERKELS et al., 2004). De fato, estudos anteriores demonstraram que a Amlodipina poderia promover redução da influência do componente autonômico simpático cardíaco através da promoção de um equilíbrio entre suas ações periféricas, principalmente àquelas relacionadas à liberação de óxido nítrico, e centrais, ao diminuir de forma significativa o estresse oxidativo (HUANG; LEENEN, 2003; HIROOKA et al., 2006). Este estresse oxidativo vascular em associação ao envelhecimento, são descritos como importantes fatores associados ao agravamento das doenças cardiovasculares, inclusive da HAS (LINKE et al., 2006; PAGAN et al., 2015). Portanto, associamos os efeitos positivos do tratamento com Amlodipina por 10 semanas, principalmente à sua ação sobre o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico, prejudicada no modelo SHR, que por consequência influencia as adaptações no sistema nervoso autonômico cardiovascular. Por outro lado, sugerimos que os efeitos quase nulos do tratamento com Amlodipina por 34 semanas, ocorreram devido à baixa sensibilidade do endotélio vascular envelhecido à droga. Neste caso, o tratamento com Amlodipina não foi capaz de reverter os efeitos deletérios do envelhecimento e da progressão da hipertensão arterial sobre o endotélio vascular, e assim, sobre o sistema nervoso autonômico cardiovascular.

Neste sentido, também observamos que em nosso estudo estão presentes os efeitos deletérios da evolução da doença e também do envelhecimento, já que o grupo Veículo que permaneceu sedentário até as 52 semanas de idade, quando comparado ao grupo Veículo sedentário de 28 semanas de idade, também apresentou a atenuação dos parâmetros autonômicos cardiovasculares, a exemplo da VFC e da SBR. Em contrapartida, ao contrário do

tratamento com Amlodipina, o treinamento físico aeróbio nestes animais envelhecidos promoveu melhora dos parâmetros autonômicos prejudicados nos ratos sedentários, sugerindo que o treinamento físico praticado durante 34 semanas exerceu um efeito protetor cardiovascular. De fato, estudos anteriores demonstraram que o treinamento físico realizado de forma regular exerce um efeito protetor em diversas doenças cardiovasculares, reduzindo a sua progressão, ao promover redução do estresse oxidativo e recuperação da função endotelial (MASON et al., 2002; MARSH; COOMBES, 2005; RUSH; FORD, 2007). Além disso, as adaptações autonômicas cardiovasculares encontradas neste grupo foram semelhantes às já descritas na literatura, que relataram que o treinamento físico aeróbio é capaz de promover importantes adaptações autonômicas cardiovasculares, tais como aumento do tônus vagal e/ou diminuição do tônus simpático, e melhora da SBR (CORNELISSEN et al., 2010; MANFREDINI et al., 2008). Por outro lado, observamos que o treinamento físico aeróbio praticado por 10 semanas, sem associação ao tratamento farmacológico, não promoveu adaptações autonômicas significativas, apesar de ter promovido adaptações típicas ao treinamento como redução da FC basal e FCi de marcapasso (DE ANGELIS et al., 2004; SANT'ANA et al., 2011). Este fato corrobora a maioria dos resultados da literatura (WHELTON, 2002; MANFREDINI et al., 2008; CORNELISSEN et al., 2010; FAGARD, CORNELISSEN, 2007). A causa desse achado precisa ser melhor investigada, no entanto, os resultados encontrados no grupo Veículo que realizou treinamento por 34 semanas sugerem que o tempo de protocolo foi determinante para a promoção de efeitos autonômicos positivos do treinamento físico.

Adicionalmente, nos grupos 10 semanas, quando analisamos a associação do treinamento físico ao tratamento com Amlodipina, observamos que ele também não promoveu efeitos adicionais aos efeitos da droga. Este fato também necessita ser melhor investigado, no entanto,

é possível que a sensível melhora induzida pela Amlodipina tenha sido determinante para que efeitos adicionais não tenham sido observados, ao contrário dos resultados observados no estudo anterior realizado com o tratamento dos animais com Enalapril por 10 semanas. Entretanto, nos grupos 34 semanas, a associação do treinamento físico ao tratamento com Amlodipina se mostrou determinante na promoção de melhora de todos os parâmetros avaliados. Este grupo apresentou as melhores adaptações autonômicas cardiovasculares entre todos os grupos tratados por 34 semanas, e inclusive, foi o único a demonstrar melhora na VPAS entre todos os grupos em estudo. Neste contexto, como descrevemos anteriormente, o endotélio vascular destes animais, encontra-se envelhecido, e assim, neste momento, sugerimos que apesar dele ter sido pouco sensível aos estímulos provocados pela droga, demonstrou boa resposta ao treinamento físico nas 34 semanas. De fato, o treinamento físico pode ter exercido um efeito protetor com adaptações de tal monta, que foi capaz de influenciar os efeitos promovidos pela Amlodipina, fazendo com que o endotélio passasse a ficar apto às adaptações promovidas por esta droga. Neste sentido, os efeitos do treinamento diretamente sobre as adaptações do controle autonômico cardiovascular, associados ao aumento da liberação de óxido nítrico vascular provocados pelo aumento do *shear stress* (VANHOUTTE et al., 1998) e pela administração de Amlodipina, podem ter contribuído para as melhores adaptações autonômicas cardiovasculares encontradas em SHR tratados por 34 semanas (KINGWELL, 2000; KURU et al., 2002; HUANG; LEENEN, 2003; HIROOKA et al., 2006; MASSON et al., 2014; HOLLOWAY, et al., 2015). Conforme descrevemos, a maior eficiência endotelial pode resultar na redução da influência simpática cardiovascular e na melhora da SBR (PERSSON et al., 1997; SOUZA et al., 2001; ELAYAN et al., 2002). Portanto, o treinamento físico demonstrou ser uma ferramenta de fundamental importância em indivíduos hipertensos que fazem uso da Amlodipina por longos períodos.

Em conclusão, o tratamento com a Amlodipina em SHR sedentários promoveu melhores adaptações no controle autonômico cardiovascular quando o tratamento foi realizado pelo período de 10 semanas. Entretanto, quando o tratamento se estendeu por 34 semanas, as adaptações foram bem mais discretas. Por outro lado, o treinamento físico aeróbio que pouco efeito adicionou nos SHR tratados durante 10 semanas, foi fundamental para potencializar os efeitos da Amlodipina sobre as adaptações autonômicas cardiovasculares em SHR tratados durante 34 semanas. Tais resultados sugerem que o treinamento físico aeróbio deve ser aplicado como terapia complementar em indivíduos hipertensos que fazem uso crônico de Amlodipina, no entanto, seus efeitos no tratamento de curto prazo, devem ser melhor elucidados.

ESTUDO 5: Índice de Mortalidade, comparação entre todos os grupos em estudo

A Figura 23 apresenta em números absolutos a quantidade de animais que morreram com o decorrer das semanas de acompanhamento em todos os grupos em estudo. Os dados de cada grupo que receberam o mesmo tipo de tratamento, porém, por 10 ou 34 semanas, foram somados e apresentados de forma conjunta. Os dados demonstram que os grupos Veículo, sedentário e treinado, apresentaram maiores números absolutos de mortalidade.

A Tabela 14, por sua vez, apresenta os dados gerais de mortalidade de todos os grupos em estudo, sedentários e treinados. Os resultados demonstram que os grupos Veículo treinados não apresentaram redução da mortalidade em valores percentuais. Nos grupos tratados com Enalapril ou com Losartan, os grupos sedentários apresentaram menores porcentagens de mortalidade do que os grupos treinados. Os grupos tratados com Amlodipina, por sua vez, apresentaram redução da mortalidade de forma semelhante entre os grupos sedentários e treinados. Adicionalmente, no grupo Losartan sedentário os animais apresentaram menor média de idade ao morrer, enquanto os demais grupos apresentaram média de idade semelhante.

Figura 23 - Número absolutos de ratos mortos por semana nos grupos Veículo, Enalapril, Losartan e Amlodipina, sedentários e treinados.

Tabela 14 - Dados referentes à mortalidade nos grupos Veículo, Enalapril, Losartan e Amlodipina, todos sedentários e treinados, 10 e 34 semanas.

	VEÍCULO		ENALAPRIL		LOSARTAN		AMLODIPINA	
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado
N, inicial	24	27	21	23	21	23	21	21
N, final	15	16	15	15	15	15	15	15
% de mortes	37,5	40,7	28,5	34,7	28,5	34,7	28,5	28,5
Idade								
Mais novo, semanas	19	23	20	18	19	20	20	27
Mais velho, semanas	52	52	52	52	52	51	52	52
Média, semanas	38 ± 14	39 ± 12	39 ± 15	38 ± 14	31 ± 13	39 ± 14	40 ± 13	40 ± 12

Dados referentes à mortalidade nos grupos Veículo, Enalapril, Losartan e Amlodipina, todos sedentários e treinados, 10 e 34 semanas. Número (N) de animais no início do estudo; número (N) de animais ao final do estudo e idade dos animais ao morrerem. Os dados são apresentados em valores absolutos ou em media ± desvio padrão. N, número de animais.

***DISCUSSÃO DO ESTUDO 5: Índice de Mortalidade,
comparação entre todos os grupos em estudo***

O prejuízo no controle autonômico cardíaco encontrado nos ratos SHR como, predomínio do tônus simpático sobre o tônus vagal, redução na VFC, aumento na VPAS e diminuição na SBR, tem sido considerados fatores importantes que contribuem para a maior mortalidade neste modelo experimental (PRAKASH et al., 2005; HALLSTROM et al., 2005; DOGRU et al., 2010; CELOVSKA et al., 2010; THAYER; YAMAMOTO; BROSSCHOT, 2010; OKADA et al., 2012). Em contrapartida, as adaptações autonômicas pós-exercício, tanto em humanos, quanto em modelos experimentais de hipertensão, já foram relacionadas com o aumento da expectativa de vida e prevenção de eventos cardíacos (MEDEIROS et al., 2004). Neste sentido, no presente estudo, os grupos Veículo, sedentários e treinados, apresentaram as maiores porcentagens de mortalidade entre os demais grupos. Nos animais sedentários, isso era de fato esperado, pois os efeitos da HAS sobre o controle autonômico cardiovascular, e ainda, os efeitos relacionados ao envelhecimento colaboram para o aumento da taxa de mortalidade. No entanto, ao contrário do que foi descrito na literatura, o treinamento físico aeróbico em nosso estudo não promoveu redução da mortalidade. Este resultado pode estar relacionado ao fato de que estes animais já possuíam uma hipertensão arterial severa, o que pode ter gerado impactos cardiovasculares negativos no momento do treinamento. Além disso, as adaptações autonômicas cardiovasculares nestes animais se apresentaram de forma sutil.

Por outro lado, a literatura frequentemente relaciona alguns tratamentos farmacológicos anti-hipertensivos com a redução da mortalidade, tanto em estudos com humanos, quanto em estudos experimentais. De fato, um consenso realizado pelo American College of Sports Medicine demonstrou que o tratamento com drogas anti-hipertensivas reduziu a mortalidade por doenças cardiovasculares em 21% nos pacientes com hipertensão arterial sistólica e diastólica, e em 18% nos pacientes com hipertensão arterial sistólica isolada (PESCATELLO, et al., 2004). Neste contexto, autores descreveram que além do efeito redutor da PA, os iECA, como o Enalapril, possuem efeitos cardioprotetores em indivíduos hipertensos. Estes efeitos,

por sua vez, são atribuídos à redução morbi-mortalidade por insuficiência cardíaca, e também à diminuição de morte súbita cardíaca por redução de arritmia ventricular (EGUCHI et al., 2002). Outro estudo que monitorou a morte de ratos SHR por causas naturais, constatou que a administração de iECA retarda a mortalidade independentemente da época de início da terapia (BLEZER et al., 1998). De maneira semelhante, em nosso estudo, o tratamento com Enalapril em ratos sedentários promoveu redução da mortalidade. No entanto, quando foi associado o treinamento físico aeróbio, esta redução foi menos proeminente.

Da mesma forma, estudos demonstram que o tratamento com Losartan pode ser positivo não apenas para a redução da PA, mas também para a redução da mortalidade devido às reduções nos índices de acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio (DAHLÖF et al., 2002). Estes efeitos positivos do Losartan, também foram relacionados à diminuição dos efeitos prejudiciais da angiotensina II, o que inclusive pode interferir na redução da hipertrofia ventricular esquerda (DAHLÖF et al., 2002). Este mesmo efeito também já foi demonstrado em estudos com indivíduos obesos (AMADOR et al., 2004). Outro estudo, encontrou ainda, redução de mortalidade em pacientes hipertensos após o tratamento com Losartan e relacionou este achado à redução dos níveis de endotelina-1 (potente vasoconstritor endógeno), que seria responsável pelo aumento dos eventos cardiovasculares (DOUMAS et al., 2004). Em nosso estudo, o tratamento com Losartan reduziu a mortalidade de forma importante, e novamente a associação ao treinamento físico não promoveu efeito aditivo nesta redução.

Por outro lado, os estudos que associam o tratamento com Amlodipina aos índices de mortalidade são bastante conflitantes. Autores já relataram que o tratamento com Amlodipina pode aumentar o número de eventos cardiovasculares, principalmente pelo fato de esta droga não exercer alterações sobre a SBR (AGODOA et al., 2001; EGUCHI et al., 2002; KURAMOTO et al., 2003; RUILOPE et al., 2005). No entanto, um estudo verificou que a administração de Amlodipina em ratos SHR prolongava o tempo de vida destes animais, e este

efeito estaria relacionado à uma diminuição da PA, associado à uma restauração do barorreflexo, promovendo inclusive um efeito preventivo contra os acidentes vasculares encefálicos (SONG et al., 2010). Além disso, autores demonstraram que o tratamento com Amlodipina promoveria redução da mortalidade de pacientes hipertensos, sugerindo que esta droga seja uma terapia adequada e de grande popularidade (SALVETTI; GHIADONI, 2006). Em nosso estudo o tratamento com Amlodipina demonstrou efeitos positivos sobre a redução da mortalidade dos SHR, tanto sedentários, quanto treinados. De fato, o tratamento com Amlodipina promoveu importantes adaptações autonômicas cardiovasculares que podem estar relacionadas a estes resultados.

CONCLUSÃO

Em conclusão, nos animais jovens (tratamento de 10 semanas), a Amlodipina e o Enalapril foram eficazes na promoção de adaptações autonômicas cardiovasculares benéficas. Enquanto que a associação do treinamento físico aeróbio ao tratamento com Enalapril apresentou melhores resultados autonômicos, demonstrando ser a combinação exercício-fármaco mais apropriada. Por sua vez, nos animais velhos (tratamento de 34 semanas), a Amlodipina teve pouco efeito sobre o controle autonômico cardiovascular, enquanto que o Enalapril e o Losartan foram mais eficazes. Nesse caso, nossos achados indicam que o envelhecimento representa um fator determinante que interfere no controle autonômico cardíaco e atenua os efeitos dos diferentes tratamentos farmacológicos. Dessa forma, o treinamento físico apresentou um papel fundamental no tratamento da hipertensão arterial, sendo eficaz para as adaptações autonômicas em SHRs envelhecidos sem tratamentos farmacológicos, mas não para a redução da mortalidade nestes animais. Além disso o treinamento físico participou como um catalizador dos efeitos autonômicos cardiovasculares promovidos pelo tratamento farmacológico, tanto em SHR jovens, quando associado ao Enalapril, quanto em SHR velhos, quando associado à Amlodipina. Novos estudos devem ser conduzidos com o intuito de identificar os mecanismos responsáveis pelos efeitos observados.

_REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. AGODOA, L. Y. et al. Effect of ramipril vs Amlodipine on renal outcomes in hypertensive nephrosclerosis: a randomized controlled trial. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 285, n. 21, p. 2719–2728, 2001.
1. AMADOR, N. et al. Sympathetic activity and response to ACE inhibitor (Enalapril) in normotensive obese and non-obese subjects. **Archives of medical research**, v. 35, n. 1, p. 54–8, 2004.
2. AZEVEDO, L. F. et al. Effects of Losartan combined with exercise training in spontaneously hypertensive rats. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 36, n. 11, p. 1595–603, 2003.
3. BARBOSA-NETO, O. et al. Exercise training improves cardiovascular autonomic activity and attenuates renal damage in spontaneously hypertensive rats. **Journal of sports science & medicine**, v. 12, n. 1, p. 52–9, 2013.
4. BECARI, C. et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition augments the expression of rat elastase-2, an angiotensin II-forming enzyme. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 301, n. 2, p. H565–H570, 2011.
5. BERKELS, R. et al. Amlodipine increases endothelial nitric oxide by dual mechanisms. **Pharmacology**, v. 70, n. 1, p. 39–45, 2004.
6. BERTAGNOLLI, M. et al. Exercise Training Reduces Sympathetic Modulation on Cardiovascular System and Cardiac Oxidative Stress in Spontaneously Hypertensive Rats. **American Journal of Hypertension**, v. 21, n. 11, p. 1188–1193, 1 nov. 2008.

7. BILLMAN, G.E.; KUKIELKA, M. Effects of endurance exercise training on heart rate variability and susceptibility to sudden cardiac death: protection is not due to enhanced cardiac vagal regulation. **Journal Applly of Physiology**, v.100, n. 3, p. 896-906, 2006.
8. BLEZER, E. L. et al. Enalapril prevents imminent and reduces manifest cerebral edema in stroke-prone hypertensive rats. **Stroke; a journal of cerebral circulation**, v. 29, n. 8, p. 1671–1677; discussion 1677–1678, 1998.
9. BONNER, T. J. et al. Management of a complex hind foot war injury with negative pressure wound therapy: A case study. **The Foot**, v. 19, n. 3, p. 177–180, set. 2009.
10. BRUM, P. C. et al. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, v. 36, n. 6, p. 1018–1022, 2000.
11. CADILHAC, M.; GIUDICELLI, J. F. Myocardial and vascular effects of perindopril, a new converting enzyme inhibitor, during hypertension development in spontaneously hypertensive rats. **Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie**, v. 284, n. 1, p. 114–126, 1986.
12. CELOVSKÁ, D. et al. The value of baroreflex sensitivity for cardiovascular risk stratification in hypertensives. **Vnitřní lékařství**, v. 56, n. 6, p. 607–612, 2010.
13. CERONI, A. et al. Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Experimental physiology**, v. 94, n. 6, p. 630–640, 2009.
14. CHOU, T. C. et al. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 31, n. 2, p. 643–648, 1998.
15. CHRISTENSEN, H. R. et al. Long-term hypotensive effects of an angiotensin converting enzyme inhibitor in spontaneously hypertensive rats: is there a role for vascular structure? **Journal of hypertension. Supplement : official journal of the International Society of Hypertension**, v. 6, n. 3, p. S27–S31, 1988.
16. CIOLAC, E.G.,et al, 2010. Effects of high-intensity aerobic interval training vs. moderate exercise on hemodynamic, metabolic and neuro-humoral abnormalities of

- young normotensive women at high familial risk for hypertension. **Hypertension Research**, v.33, n.8, p. 836-843, 2010.
17. CORNELISSEN, V. A et al. Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. **Journal of human hypertension**, v. 24, n. 3, p. 175–182, 2010.
 18. COZZA, I. C. et al. Physical exercise improves cardiac autonomic modulation in hypertensive patients independently of angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment. **Hypertension Research**, v. 35, n. 1, p. 82–87, jan. 2012.
 19. CULMAN, J. et al. Effects of systemic treatment with irbesartan and Losartan on central responses to angiotensin II in conscious, normotensive rats. **European journal of pharmacology**, v. 367, n. 2-3, p. 255–65, 1999.
 20. DABIRE, H.; LACOLLEY, P.; CHAOUCHE-TEYARA, K.; FOURNIER, B.; SAFAR, M.E. Relationship Between Arterial Distensibility and Low-Frequency Power Spectrum of Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.39, p.98–106, 2002.
 21. DAHLÖF, B. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. **Lancet**, v. 359, n. 9311, p. 995–1003, 2002.
 22. DAI, W.; FUNK, A.; HERDEGEN, T.; UNGER, T.; CULMAN, J. Blockade of Central Angiotensin AT1 Receptors Improves Neurological Outcome and Reduces Expression of AP-1 Transcription Factors After Focal Brain Ischemia in Rats. **Stroke**, n. 30, p. 2391-2399, 1999.
 23. DANG, N.; PAN, Y.-X. Central oxidative stress depresses baroreflex function in spontaneously hypertensive rats. **Zhongguo ying yong sheng li xue za zhi = Zhongguo yingyong shenglixue zazhi = Chinese journal of applied physiology**, v. 28, n. 5, p. 445–8, 2012.
 24. DAUGHERTY, S.L. et al. Age Dependent Gender Differences in Hypertension Management. **Journal of Hypertension**, v. 29, n.5, p. 1005-1011, 2011.

25. ABREU, S.B.; LENHARD, A.; MEHANNA, A.; SOUZA, H.C.D.; et al., Role of paraventricular nucleus in exercise training-induced autonomic modulation in conscious rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 148, p.28-35, 2009.
26. DE ANGELIS, K. et al. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 96, n. 6, p. 2174–2178, 2004.
27. DE CHAMPLAIN, J. et al. Effects of valsartan or Amlodipine alone or in combination on plasma catecholamine levels at rest and during standing in hypertensive patients. **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 9, n. 3, p. 168–178, 2007.
28. DENKER, M. G.; COHEN, D. L. What is an appropriate blood pressure goal for the elderly: review of recent studies and practical recommendations. **Clinical interventions in aging**, v. 8, p. 1505–17, 2013.
29. DI RIENZO M, BERTINIERI G, MANCIA G, PEDOTTI A. A new method for evaluating the baroreflex role by a joint pattern analysis of pulse interval and systolic blood pressure series. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v.23: p. 313-314, 1985.
30. DICKHOUT, J. G.; LEE, R. M. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **The American journal of physiology**, v. 274, n. 3 Pt 2, p. H794–H800, 1998.
31. DICKSON, M.E.; SIGMUND, C.D. Genetic basis of hypertension: revisiting angiotensinogen. **Hypertension Research**, v.48, p. 14-20, 2006.
32. DIMITROVA, A. et al. Treatment of moderate or severe arterial hypertension with Losartan. **Folia medica**, v. 40, n. 3B Suppl 3, p. 43–45, 1998.
33. DOĞRU, M. T. et al. Differences in autonomic activity in individuals with optimal, normal, and high-normal blood pressure levels. **Türk Kardiyoloji Dernegi Arsivi**, v. 38, n. 3, p. 182–188, 2010.

34. DOUMAS, M. N. et al. Different effects of Losartan and moxonidine on endothelial function during sympathetic activation in essential hypertension. **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 6, n. 12, p. 682–9, 2004.
35. DUNCKER, D. J.; BACHE, R. J. Regulation of coronary blood flow during exercise. **Physiological reviews**, v. 88, n. 3, p. 1009–1086, 2008.
36. EGUCHI, K.; KARIO, K.; SHIMADA, K. Differential effects of a long-acting angiotensin converting enzyme inhibitor (temocapril) and a long-acting calcium antagonist (Amlodipine) on ventricular ectopic beats in older hypertensive patients. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 25, n. 3, p. 329–333, 2002.
37. ELAYAN, H. H.; KENNEDY, B. P.; ZIEGLER, M. G. L-NAME raises systolic blood pressure in the pithed rat by a direct adrenal epinephrine releasing action. **Life sciences**, v. 70, n. 21, p. 2481–91, 2002.
38. FAGARD, R. H.; CORNELISSEN, V. A. Effect of exercise on blood pressure control in hypertensive patients. **European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology**, v. 14, n. 1, p. 12–17, 2007.
39. FEITOSA, G. S.; CARVALHO, E. N. DE. Sistema renina-angiotensina e insuficiência cardíaca : o uso dos antagonistas do receptor da angiotensina II. **Revista Brasileira de Hipertensão**. v. 7, n. 3, p. 250–254, 2000.
40. FENG, J. et al. Altered heart rate variability depend on the characteristics of coronary lesions in stable angina pectoris. **The Anatolian Journal of Cardiology**, v. 15, n. 16, p. 496–501, 2015.
41. FERNANDES, T., et al. Exercise Training Prevents the Microvascular Rarefaction in Hypertension Balancing Angiogenic and Apoptotic Factors: Role of MicroRNAs-16, -21, and -126. **Hypertension**, v. 59, n.2, p. 513-520, 2012.

42. FERRARI, A. U.; RADAELLI, A.; CENTOLA, M. Invited review: aging and the cardiovascular system. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 95, n. 6, p. 2591–2597, 2003.
43. FOUCART, S. Effects of chronic treatment with Losartan and Enalaprilat on [3H]-norepinephrine release from isolated atria of Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology American Journal of Hypertension**, n.9: p.61-69, 1996.
44. FUNOVIC, P. et al. Effect of beta-blockers on endothelial function during biological aging: a nanotechnological approach. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 51, n. 2, p. 208–215, 2008.
45. FYHRQUIST, F.; METSÄRINNE, K.; TIKKANEN, I. Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. **Journal of human hypertension**, v. 9 Suppl 5, n. 21, p. S19–S24, 1995.
46. GAZONI, F. M. et al. Hipertensão sistólica no idoso. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 16, n. 1, p. 34–37, 2009.
47. GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 130, n. 1, p. 21–27, 2001.
48. GOMES-FILHO, A. et al. Selective increase of angiotensin(1-7) and its receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats subjected to physical training. **Experimental physiology**, v. 93, n. 5, p. 589–598, 2008.
49. GOTO, C. Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilation in Humans: Role of Endothelium-Dependent Nitric Oxide and Oxidative Stress. **Circulation**, v. 108, n. 5, p. 530–535, 2003.
50. GOTTLIEB, S. S. et al. Hemodynamic and neurohormonal effects of the angiotensin II antagonist Losartan in patients with congestive heart failure. **Circulation**, v. 88, n. 4 Pt 1, p. 1602–1609, 1993.

51. GRASSI, G.; MARK, A.; ESLER, M. The Sympathetic Nervous System Alterations in Human Hypertension. **Circulation Research**, v. 116, n. 6, p. 976–990, 2015.
52. GU, Q. et al. Contribution of hydrogen sulfide and nitric oxide to exercise-induced attenuation of aortic remodeling and improvement of endothelial function in spontaneously hypertensive rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 375, n. 1-2, p. 199–206, 2013.
53. GUASTI, L. et al. Autonomic function and baroreflex sensitivity during angiotensin-converting enzyme inhibition or angiotensin II AT-1 receptor blockade in essential hypertensive patients. **Acta Cardiol**, v. 56, n. 5, p. 289–295, 2001.
54. GUO, Q. et al. Effects of Antihypertensive Drugs and Exercise Training on Insulin Sensitivity in Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension research**, v. 31, n. 3, p. 525–533, 2008.
55. HALLSTROM, A. P. et al. Characteristics of heart beat intervals and prediction of death. **International Journal of Cardiology**, v. 100, n. 1, p. 37-45, 2005.
56. HAMADA, T. et al. Evaluation of changes in sympathetic nerve activity and heart rate in essential hypertensive patients induced by Amlodipine and nifedipine. **Journal of hypertension**, v. 16, n. 1, p. 111–118, 1998.
57. HARRAP, S. B.; NICOLACI, J. A.; DOYLE, A. E. Persistent effects on blood pressure and renal haemodynamics following chronic angiotensin converting enzyme inhibition with perindopril. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 13, n. 11-12, p. 753–765, 1986.
58. HE, X. et al. Amlodipine ameliorates endothelial dysfunction in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 38, n. 4, p. 255–261, abr. 2011.
59. HENDLEY, E. D. et al. Dissociation of genetic hyperactivity and hypertension in SHR. **Hypertension**, v. 5, n. 2, p. 211–217, 2013.
60. HIROOKA, Y. et al. Amlodipine-induced reduction of oxidative stress in the brain is associated with sympatho-inhibitory effects in stroke-prone spontaneously

- hypertensive rats. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 29, n. 1, p. 49–56, 2006.
61. HOLLOWAY, T. M. et al. High-intensity interval and endurance training are associated with divergent skeletal muscle adaptations in a rodent model of hypertension. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 308, n. 11, p. R927–R934, 2015.
 62. HOOBLER, S.W. Drug therapy of hypertension. **J Mich State Med Soc.** v.51, n.8, p.1008-1013, 1952.
 63. HOTTA, H.; UCHIDA, S. Aging of the autonomic nervous system and possible improvements in autonomic activity using somatic afferent stimulation. **Geriatrics & gerontology international**, v. 10 Suppl 1, p. S127–36, 2010.
 64. HUANG, B. S.; LEENEN, F. H. H. Sympathoinhibitory and depressor effects of Amlodipine in spontaneously hypertensive rats. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 42, n. 2, p. 153–160, 2003.
 65. INABA, S. et al. Temporary Treatment With AT1 Receptor Blocker, Valsartan, From Early Stage of Hypertension Prevented Vascular Remodeling. **American Journal of Hypertension**, v. 24, n. 5, p. 550–556, 1 maio 2011.
 66. JUDY, W. V; FARRELL, S. K. Arterial baroreceptor reflex control of sympathetic nerve activity in the spontaneously hypertensive rat. **Hypertension**, v. 1, n. 6, p. 605–614, 1979.
 67. KAHN, J.K. et al. The 2008 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: part 2 - therapy. **Canadian Journal of Cardiology**, v.24, n.6, p.465-475, 2008.
 68. KANAZAWA, M. et al. Combination of Exercise and Enalapril Enhances Renoprotective and Peripheral Effects in Rats With Renal Ablation. **American Journal of Hypertension**, v. 19, n. 1, p. 80–86, 2006.
 69. KATO, H. et al. Angiotensin II stimulates collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. **Journal of hypertension**, v. 9, n. 1, p. 17–22, 1991.

70. KEARNEY, P. M. et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **The Lancet**, v. 365, n. 9455, p. 217–223, jan. 2005.
71. KINGWELL, B. A. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. **Faseb J**, v. 14, n. 12, p. 1685–1696, 2000.
72. KIRIMURA, K. et al. Role of chymase-dependent angiotensin II formation in regulating blood pressure in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 28, n. 5, p. 457–464, 2005.
73. KIZER, J.R. et al. Epidemiologic Review of the Calcium Channel Blocker Drugs. **Archives of Internal Medicine**, v. 161, p.1145-1158, 2001.
74. KRZESINSKI, J.M. , SCHEEN, A.J. A first drug combination for the treatment of arterial hypertension with a calcium channel antagonist (Amlodipine besylate) and an angiotensin receptor blocker (valsartan): **Exforge. Revue medicale de liege** , v.62, n.11, p.688-694, 2007.
75. KLEIN, I. H. H. T. Enalapril and Losartan Reduce Sympathetic Hyperactivity in Patients with Chronic Renal Failure. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 14, n. 2, p. 425–430, 2003.
76. KRAMER, J. M. et al. Hypothalamus, hypertension, and exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 53, n. 1, p. 75-85, 2000.
77. KRIEGER, E. M.; SALGADO, H. C.; MICHELINI, L. C. Resetting of the baroreceptors. **International review of physiology**, v. 26, p. 119–146, 1982.
78. KRIEGER, E.M.; DA SILVA, G.J.; NEGRÃO, C.E. Effects of exercise training on baroreflex control of the cardiovascular system. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.940, p.338-347,2001.
79. KRUM, H. Differentiation in the Angiotensin II Receptor 1 Blocker Class on Autonomic Function. **Current Hypertension Reports**, v.3, Suppl 1, p.S17–S23, 2001.

80. KURAMOTO, K. et al. Azelnidipine and Amlodipine: a comparison of their pharmacokinetics and effects on ambulatory blood pressure. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, v. 26, n. 3, p. 201–208, 2003.
81. KURU, O. et al. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. **European journal of applied physiology**, v. 87, n. 2, p. 134–140, 2002.
82. LAFLAMME, A. K. et al. Effects of Renin-Angiotensin Blockade on Sympathetic Reactivity and -Adrenergic Pathway in the Spontaneously Hypertensive Rat. **Hypertension**, v. 30, n. 2, p. 278–287, 1 ago. 1997.
83. LANE, D.A.; LIP, G.Y.H. Ethnic differences in hypertension and blood pressure control in the UK. **Q J Medicine**, v.94, p. 391 - 396, 2001.
84. LEENEN, F. H. H. Actions of circulating angiotensin II and aldosterone in the brain contributing to hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 27, n. 8, p. 1024–1032, 2014.
85. LEUNG, F. P. et al. Exercise, Vascular Wall and Cardiovascular Diseases. **Sports Medicine**, v. 38, n. 12, p. 1009–1024, 2008.
86. LEHMANN, H.U., et al. Hemodynamic effects of calcium antagonists. Review. **Hypertension**, v. 5, n.2, p.66-73, 1983.
87. LEWANDOWSKI, J. et al. The effect of Enalapril and telmisartan on clinical and biochemical indices of sympathetic activity in hypertensive patients. **Clinical and experimental hypertension (New York, N.Y. : 1993)**, v. 30, n. 5, p. 423–432, 2008.
88. LINDQVIST, M. et al. Long-term calcium antagonist treatment of human hypertension with mibefradil or Amlodipine increases sympathetic nerve activity. **Journal of hypertension**, v. 25, n. 1, p. 169–175, 2007.
89. LINDHOLM, L.H.; CARLBERG, B.; SAMUELSSON, O. Should beta blockers remain first choice in the treatment of primary hypertension? A meta-analysis. **The Lancet**, v.366, n. 9496, p.1545-1553, 2005.

90. LINKE, A.; MÖBIUS-WINKLER, S.; HAMBRECHT, R. Körperliches Training in der Behandlung von KHK und Adipositas. **Herz Kardiovaskuläre Erkrankungen**, v. 31, n. 3, p. 224–233, 2006.
91. MALLIANI, A et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v. 84, n. 2, p. 482–492, 1991.
92. MANCIA, G. et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **European Heart Journal**, v. 34, n. 28, p. 2159–2219, 2013.
93. MANFREDINI, F. et al. Sport Therapy for Hypertension: Why, How, and How Much? **Angiology**, v. 60, n. 2, p. 207–216, 15 set. 2008.
94. MANSON, J. E. et al. Walking compared with vigorous exercise for the prevention of cardiovascular events in women. **The New England journal of medicine**, v. 347, n. 10, p. 716–725, 2002.
95. MARSH, S. A.; COOMBES, J. S. Exercise and the endothelial cell. **International Journal of Cardiology**, v. 99, n. 2, p. 165–169, 2005.
96. MASSON, G. S. et al. Time-dependent effects of training on cardiovascular control in spontaneously hypertensive rats: Role for Brain oxidative stress and inflammation and baroreflex sensitivity. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.
97. MASSON, G. S. et al. Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 7, p. H1115–H1122, 2015.
98. MASTELARI, R.B.; SOUZA, H.C.D.; LENHARD, A.; F.M.A. ,CORRÊA; MARTINS-PINGE, M.C. Nitric oxide inhibition in paraventricular nucleus on cardiovascular and autonomic modulation after exercise training in unanesthetized rats. **Brain Research**, v.23, p. 1375-1368, 2011.

99. MEDEIROS, A. et al. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 12, p. 1909–1917, 2004.
100. MEHTA, P. K.; GRIENDLING, K. K. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 292, n. 1, p. C82–C97, 2007.
101. METELKA, R. Heart rate variability - current diagnosis of the cardiac autonomic neuropathy. A review. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 158, n. 3, p. 327–338, 2014.
102. MIAO, C.-Y. et al. Blood pressure variability is more important than blood pressure level in determination of end-organ damage in rats. **Journal of hypertension**, v. 24, n. 6, p. 1125–1135, 2006.
103. MICHELINI, L. C.; STERN, J. E. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. **Experimental Physiology**, v. 94, n. 9, p. 947–960, 1 set. 2009.
104. Ministério da Saúde. Acesso à base de dados do Sistema de Informações sobre Mortalidade. DATASUS 2012. [citado 05 de novembro de 2015]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabnet.exe?idb2012/g02.def>
105. MILLAR, P.J. et al. Evidence for the Role of Isometric Exercise Training in Reducing Blood Pressure: Potential Mechanisms and Future Directions. **Sports Medicine**, v.44, n.3, p.345-356, 2014.
106. MOSER, M.; ROCCELLA, E.J. The treatment of hypertension: a remarkable success story. **The Journal of Clinical Hypertension**, v.15, n.2, p. 88-91, 2013.
107. MULVANY, M. J.; AALKJAER, C. Structure and function of small arteries. **Physiological reviews**, v. 70, n. 4, p. 921–961, 1990.
108. MURPHY, C. A.; SLOAN, R. P.; MYERS, M. M. Pharmacologic responses and spectral analyses of spontaneous fluctuations in heart rate and blood pressure in SHR rats. **Journal of the autonomic nervous system**, v. 36, n. 3, p. 237–250, 1991.

109. NAJJAR, S. S.; SCUTERI, A.; LAKATTA, E. G. Arterial Aging: Is It an Immutable Cardiovascular Risk Factor? **Hypertension**, v. 46, n. 3, p. 454–462, 2005.
110. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.A.). Committee on care and use of spontaneous hypertensive rats (SHR). Spontaneous hypertensive rats: guidelines for breeding, care and use. **Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR) News**, v.19, n.3, p.1-20, 1976.
111. O'DONNELL, E.; FLORAS, J. S.; HARVEY, P. J. Estrogen status and the renin angiotensin aldosterone system. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 307, n. 5, p. R498–R500, 1 set. 2014.
112. OHTA, M. et al. Effects of Exercise Therapy Alone and in Combination with a Calcium Channel Blocker or an Angiotensin Receptor Blocker in Hypertensive Patients. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 34, n. 7, p. 523–529, 2012.
113. OHTSUKA, S. et al. Amlodipine improves vascular function in patients with moderate to severe hypertension. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 42, n. 2, p. 296–303, 2003.
114. OIGMAN, W.; FRITSCH, M. Drogas que intervêm no sistema renina-angiotensina. **HiperAtivo: Departamentos Brasileiro de Cardiologia**, v. 5, n. 2, p. 84–90, 1998.
115. OKADA, Y. et al. Relationship between sympathetic baroreflex sensitivity and arterial stiffness in elderly men and women. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 98–104, 2012.
116. O'KEEFE, J.H. et al. Alcohol and Cardiovascular Health. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 50, n. 11, p. 1009-1014, 2007.
117. ONDETTI, M. A.; RUBIN, B.; CUSHMAN, D. W. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. **Science (New York, N.Y.)**, v. 196, n. 4288, p. 441–444, 1977.
118. OPARIL, S., SCHMIEDER, R.E. New Approaches in the Treatment of Hypertension. **Circulation Research**, v.116, p.1074-1095, 2015.
119. PAGAN, L.U.; DAMATTO, R.L.; CEZAR, M.D.M.; LIMA, A.R.R.; et al. Long-Term Low Intensity Physical Exercise Attenuates Heart Failure Development in

- Aging Spontaneously Hypertensive Rats. **Cell Physiol Biochem**, v.36, n.1, p.61-74, 2015.
120. PAHOR, M. et al. Enalapril prevents cardiac fibrosis and arrhythmias in hypertensive rats. **Hypertension**, v. 18, n. 2, p. 148–157, 1991.
121. PANZA, J.A., QUYYUMI, A.A., BRUSH, J.E., EPSTEIN, S.R. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 22-27, 1990.
122. PATEL, K. P.; LI, Y. F.; HIROOKA, Y. Role of nitric oxide in central sympathetic outflow. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, v. 226, n. 9, p. 814–24, 2001.
123. PAULA, C. A. et al. Purification and substrate specificity of an angiotensin converting elastase-2 from the rat mesenteric arterial bed perfusate. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1388, n. 1, p. 227–238, out. 1998.
124. PEREIRA, M. et al. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. **Journal of hypertension**, v. 27, n. 5, p. 963–975, 2009.
125. PERSSON, K. et al. Morphological and functional evidence against a sensory and sympathetic origin of nitric oxide synthase-containing nerves in the rat lower urinary tract. **Neuroscience**, v. 77, n. 1, p. 271–281, 1997.
126. PESCATELLO, L. S. et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 36, n. 3, p. 533–553, 2004.
127. PICCO, D. C. R. et al. Spontaneously hypertensive rat as experimental model of salivary hypofunction. **Archives of Oral Biology**, v. 57, n. 10, p. 1320–1326, 2012.
128. PINTO, E. Blood pressure and ageing. **Postgraduate Medical Journal**, v. 83, n. 976, p. 109–114, 1 fev. 2007.

129. PRAKASH, E. S. et al. Cardiovascular autonomic regulation in subjects with normal blood pressure, high-normal blood pressure and recent-onset hypertension. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 32, n. 5-6, p. 488–494, 2005.
130. RECKELHOFF, J. F.; ZHANG, H.; SRIVASTAVA, K. Gender differences in development of hypertension in spontaneously hypertensive rats: role of the renin-angiotensin system. **Hypertension**, v. 35, n. 1 Pt 2, p. 480–483, 2000.
131. REID, I. A. Interactions between ANG II, sympathetic nervous system, and baroreceptor reflexes in regulation of blood pressure. **The American journal of physiology**, v. 262, n. 6 Pt 1, p. E763–78, 1992.
132. REILLY, R.F., PEIXOTO, A.J., DESIR, G.V. The evidence-based use of thiazide diuretics in hypertension and nephrolithiasis. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v.5, n.10, p.:1893-903, 2010.
133. RIBEIRO, A. B. Efeito dos bloqueadores dos receptores AT 1 da angiotensina II (BRAs) decorrente das suas estruturas moleculares : relevância clínica no tratamento da hipertensão arterial ? **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 14, n. 3, p. 182–184, 2007.
134. ROSSI, B. R. O. et al. O exercício físico atenua o déficit autonômico cardíaco induzido pelo bloqueio da síntese do óxido nítrico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, n. 1, p. 31–38, 2009.
135. ROSSONI, L.V. et al. Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v.29, n.12, p.2349-2358, 2011.
136. RUILOPE, L. M. et al. 24-hour ambulatory blood-pressure effects of valsartan and hydrochlorothiazide combinations compared with Amlodipine in hypertensive patients at increased cardiovascular risk: a VAST sub-study. **Blood pressure monitoring**, v. 10, n. 2, p. 85–91, 2005.
137. RUSH, J. W.; FORD, R. J. Nitric oxide, oxidative stress and vascular endothelium in health and hypertension. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 37, p. 185–192, 2007.

138. SAAVEDRA, J. M. Brain angiotensin II: New developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 25, n. June, p. 485–512, 2005.
139. SALVETTI, A.; GHIADONI, L. Thiazide diuretics in the treatment of hypertension: an update. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 17, n. 4 Suppl 2, p. S25–S29, 2006.
140. SANT'ANA, J. E. et al. Effect of the duration of daily aerobic physical training on cardiac autonomic adaptations. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 159, n. 1-2, p. 32–37, 2011.
141. SANTOS, C. F. et al. Functional role, cellular source, and tissue distribution of rat elastase-2, an angiotensin II-forming enzyme. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 285, n. 2, p. H775–H783, 2003.
142. SANTOS, M.; SHAH, A. M. Alterations in Cardiac Structure and Function in Hypertension. **Current Hypertension Reports**, v. 16, n. 5, p. 428, maio 2014.
143. SCHMIDT-TRUCKSÄSS, A.; WEISSER, B. Vascular aging, arterial hypertension and physical activity. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v.136, n.46, p.2367-2371, 2011.
144. SCIARRETTA, S. et al. Antihypertensive treatment and development of heart failure in hypertension: a Bayesian network meta-analysis of studies in patients with hypertension 17 and high cardiovascular risk. **Archives of Internal Medicine**, v. 171, n.5, p. 384-394, 2010.
145. SHEN, W.; ZHANG, X.; WOLIN, M.S.; SESSA, W. HINTZE, T.H. Nitric oxide production and NO synthase gene expression contribute to vascular regulation during exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 27, n. 8, p.1125-1134, 1995.
146. SHIMAZU, T.; TAMURA, N.; SHIMAZU, K. Aging of the autonomic nervous system. **Nippon rinsho. Japanese journal of clinical medicine**, v. 63, p. 973–977, 2005.

147. SNELDER, N. et al. Drug effects on the CVS in conscious rats: separating cardiac output into heart rate and stroke volume using PKPD modelling. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, p. 5076–5092, out. 2014.
148. SONG, S. W. et al. Blood pressure reduction combining baroreflex restoration for stroke prevention in hypertension in rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. JUL, n. July, p. 1–7, 2010.
149. SOUZA, H. C. et al. Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 280, n. 2, p. H844–H850, 2001.
150. STEIN, R. D.; STEPHENSON, R. B.; WEAVER, L. C. Central actions of angiotensin II oppose baroreceptor-induced sympathoinhibition. **The American journal of physiology**, v. 246, n. 1 Pt 2, p. R13–R19, 1984.
151. SUETA, D. et al. Blood pressure variability, impaired autonomic function and vascular senescence in aged spontaneously hypertensive rats are ameliorated by angiotensin blockade. **Atherosclerosis**, v. 236, n. 1, p. 101–107, 2014.
152. SUN, Z. Aging, Arterial Stiffness, and Hypertension. **Hypertension**, v. 65, n. 2, p. 252–256, 2015.
153. SWYNGHEDAUW, B. et al. Heart rate and heart rate variability, a pharmacological target. **Cardiovascular drugs and therapy / sponsored by the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy**, v. 10, n. 6, p. 677–685, 1997.
154. TADDEI, S. et al. Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. **Circulation**, v. 101, p. 2896–2901, 2000.
155. TAKAI, S. et al. Chymase inhibition improves vascular dysfunction and survival in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 32, n. 8, p. 1637–48; discussion 1649, 2014.
156. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **Circulation** 93: 1043-1065, 1996.

157. THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International Journal of Cardiology**, v. 141, n. 2, p. 122-31, 2010.
158. TIPTON, C. M. et al. Chronic exercise and its hemodynamic influences on resting blood pressure of hypertensive rats. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 71, n. 6, p. 2206–10, 1991.
159. TORREGROSSA, A. C.; ARANKE, M.; BRYAN, N. S. Nitric oxide and geriatrics: Implications in diagnostics and treatment of the elderly. **Journal of Geriatric Cardiology**, v. 8, p. 230–242, 2011.
160. TRIPPODO, N. C.; FROHLICH, E. D. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. **Circulation research**, v. 48, n. 3, p. 309–319, 1981.
161. TSUCHIHASHI, T. Lifestyle modification in the management of hypertension. **Nihon Rinsho Geka Gakkai Zasshi**, v.69, n.11, p.1977-1981, 2011.
162. URATA, H. et al. Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 36, p. 22348–22357, 1990.
163. VAN DE BORNE, P.; MONTANO, N.; PAGANI, N. et al. Abscense of low-frequency variability of sympathetic nerve activity in severe heart failure. **Circulation**, v.95, p.1449-54,1997.
164. VAN GORP, A W. et al. In spontaneously hypertensive rats alterations in aortic wall properties precede development of hypertension. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 278, n. 4, p. H1241–7, 2000.
165. VANHOUTTE, P. M. Endothelial dysfunction and inhibition of converting enzyme. **European heart journal**, v. 19 Suppl J, p. J7–J15, 1998.
166. VANHOUTTE, P. M. et al. Endothelial dysfunction and vascular disease. **Acta Physiologica**, v. 196, n. 2, p. 193–222, 2009.
167. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 95, n.1, supl. 1, p. I-III, 2010 . Available from

- <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&lng=en&nrm=iso>. access on 23 Nov. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2010001700001>.
168. VIJAYARAGHAVAN, K., DEEDWANIA, P. Renin-angiotensin-aldosterone blockade for cardiovascular disease prevention. **Cardiology Clinics**, v. 29, n.1, p. 137-156, 2011.
 169. WEINSTOCK, M.; GORODETSKY, E. Comparison of the effects of angiotensin II, Losartan, and Enalapril on baroreflex control of heart rate in conscious rabbits. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 25, p. 501–507, 1995.
 170. WHELTON, P. K. et al. Primary Prevention of Hypertension Clinical and Public Health Advisory From the National High Blood Pressure Education Program. **JAMA**, v. 288, n. 15, p. 1882-1888, 2002.
 171. WIDDOP, R. E. et al. The effect of ketanserin on cardiovascular reflexes in conscious normotensive and spontaneously hypertensive rats. **European journal of pharmacology**, v. 186, n. 1, p. 17–28, 1990.
 172. WOLLERT, K. C.; DREXLER, H. The renin-angiotensin system and experimental heart failure. **Cardiovascular research**, v. 43, n. 4, p. 838–849, 1999.
 173. WU, X. D. et al. Effect of aerobic exercise on miRNA-TLR4 signaling in atherosclerosis. **Int J Sports Med**, v. 35, n. 4, p. 344–350, 2014.
 174. YAMORI, Y. The development of Spontaneously Hypertensive Rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications. In: **Handbook of Hypertension**. Vol. 4. Experimental and genetic models of hypertension (de Jong W, ed). Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier, pp 224-239, 1984.
 175. YLITALO, A. et al. Effects of combination antihypertensive therapy on baroreflex sensitivity and heart rate variability in systemic hypertension. **The American journal of cardiology**. v. 83, p. 885-889, 1999.

176. ZALIŪNAS, R. et al. Effects of Amlodipine and lacidipine on heart rate variability in hypertensive patients with stable angina pectoris and isolated left ventricular diastolic dysfunction. **International journal of cardiology**, v. 101, n. 3, p. 347–353, 2005.
177. ZHENG, H. et al. Exercise training improves endogenous nitric oxide mechanisms within the paraventricular nucleus in rats with heart failure. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 288, n. 5, p. H2332–H2341, 2005.

ANEXO 1

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Comissão de Ética em Experimentação Animal

3602-3301

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para Uso de Animais em Experimentação nº 092/2012, sobre a aula “*Estudo das adaptações hemodinâmicas, autonômicas e morfométricas cardiovasculares promovidas por diferentes tratamentos farmacológicos em associação ao treinamento físico aeróbico em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).*”, sob a responsabilidade do **Professor Doutor Hugo Celso Dutra de Souza** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi **APROVADO** em reunião de 27 de agosto de 2012.

(We certify that the protocol nº 092/2012, about “*Study of hemodynamic, autonomic and cardiovascular morphometric changes promoted by different pharmacological treatments in combination with exercise training in spontaneously hypertensive rats (SHR)*”, agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the College of Medicine of Ribeirão Preto of the University of São Paulo – Ethical Commission of Ethics in Animal Research (CETEA) in 08/27/2012.

Ribeirão Preto, 27 de agosto de 2012.

Prof. Dr. Omero Benedicto Poli-Neto
Presidente da Comissão de Ética em
Experimentação Animal