UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho
Locomotor

LAFIC - FMRP - USP

Programa de Reabilitação e Desempenho Funcional

CAMILA BALSAMO GARDIM

**ESTUDO DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO COLINÉRGICA CRÔNICA
COM BROMETO DE PIRIDOSTIGMINA SOBRE AS ADAPTAÇÕES
HEMODINÂMICAS, AUTONÔMICAS E MORFOFUNCIONAIS
CARDÍACAS INDUZIDAS PELO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO
EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

Ribeirão Preto
2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO DE PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Documentação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Gardim, Camila Balsamo

Estudo do efeito da estimulação colinérgica crônica com brometo de piridostigmina sobre as adaptações hemodinâmicas, autonômicas e morfofuncionais cardíacas induzidas pelo treinamento físico aeróbio em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Ribeirão Preto, 2016. 112 f.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de conhecimento: Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

1. Hipertensão Arterial. 2. Treinamento Físico. 3. Brometo de piridostigmina. 4. Sistema Nervoso Autônomo.

Folha de Aprovação

Camila Balsamo Gardim

Estudo do efeito da estimulação colinérgica crônica com brometo de piridostigmina sobre as adaptações hemodinâmicas, autonômicas e morfofuncionais cardíacas induzidas pelo treinamento físico aeróbio em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A minha família, Jeremias, Iraci e Caio que estiveram sempre ao meu lado, dando todo alicerce possível. Ao meu namorado, Daniel, pelo companheirismo, pela confiança e pelo apoio em mim depositado, sendo essencial na realização desse sonho. Muito obrigada, vocês são a minha base.

AGRADECIMENTOS

Agradeço este trabalho, primeiramente a Deus, que acima de tudo me deu forças e garra para alcançar mais esse objetivo;

Ao meu namorado Daniel Salvini de Almeida por fazer parte da minha vida, por todo amor e por toda a preocupação que tens comigo, obrigada estar ao meu lado me apoiando em todos os momentos, sejam eles fáceis ou difíceis, obrigada simplesmente por tudo; sem você não conseguiria ter chegado até aqui, te amo muito;

Agradeço de igual forma aos meus pais, Jeremias Gardim e Iraci Balsamo e ao meu irmão Caio Balsamo Gardim que confiaram em mim e no meu potencial, sendo o meu porto-seguro diário. Obrigada por todas as orações, amo vocês;

Ao meu orientador Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza por me permitir partilhar de seu conhecimento ilimitado, por toda a paciência ao longo desses dois anos e pelo participar tão próximo do meu desenvolvimento atual.

Agradeço a toda a minha família, por estarem sempre ao meu lado e torcerem imensamente por mais esse sonho;

Agradeço as minhas amigas de laboratório (LAFFIC), Ana Kaline, Carol, Sueni, Sabrina, Tábata e Stella pela cooperação e por todo conhecimento compartilhado nesses anos;

Agradeço a minha amiga Rayana que mesmo de longe sempre se preocupou comigo e juntas realizaremos mais um sonho.

Aos funcionários do Departamento de fisioterapia que auxiliavam em tudo o que fosse pedido;

A todas as meninas do biotério da fisioterapia que estavam lá presentes ajudando em tudo o que fosse possível;

Agradeço a Natália e ao Éder, alunos de iniciação científica, que nesse finalzinho me ajudaram imensamente com os afazeres dos ratos;

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão de bolsa de estudo;

Às pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu concluísse mais essa fase da minha vida.

Meus sinceros, muito obrigada.

*Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não
sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não
sou o que era antes”.*

(Marthin Luther King)

Gardim, CB. **Estudo do efeito da estimulação colinérgica crônica com brometo de piridostigmina sobre as adaptações hemodinâmicas, autonômicas e morfofuncionais cardíacas induzidas pelo treinamento físico aeróbio em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).** 2016. 112 f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O presente estudo teve por objetivo estudar as adaptações hemodinâmicas, autonômicas e morfofuncionais cardíacas em ratos hipertensos (SHR) submetidos à estimulação colinérgica crônica, com 2 dosagens diferentes (5 e 15 mg), e associar ao treinamento físico aeróbio, utilizando diferentes enfoques: 1. Avaliação do balanço autonômico tônico da frequência cardíaca (FC) por meio do bloqueio farmacológico com atropina e propranolol; 2. Estudo do balanço autonômico fásico (variabilidade) da FC (intervalo de pulso) e pressão arterial por meio da análise espectral; 3. Análise da sensibilidade barorreflexa por meio da administração de múltiplas e aleatórias doses de fenilefrina e nitroprussiato de sódio; 4. Avaliação ecocardiográfica bidimensional. Para tanto foram utilizados 54 ratos, divididos 2 grandes grupos: treinados (n=27) e sedentários (n=27). Os animais que treinaram, deram início ao experimento na 18ª semana de vida, na qual tinha duração de 10 semanas; logo em seguida, os ratos eram colocados em tratamento com brometo de piridostigmina por mais 2 semanas, na 30ª semana, os ratos eram submetidos a cirurgia de canulação, para posterior análise da pressão arterial, da FC, da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e da variabilidade da pressão arterial (VPAS). Antecedente a cirurgia, os ratos eram levados para o exame de ecocardiografia bidimensional para análise da morfofuncionalidade cardíaca. Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que p for menor que 5%. Os resultados mostraram uma diminuição dos valores de PAS, PAD e PAM, além de diminuir a FC basal e a FC intrínseca nos ratos tratados com 5 e 15 mg de brometo, tanto sedentários quanto tratados. Também houve um aumento de LF (ms^2) e uma diminuição de HF (ms^2), mostrando melhora na condição autonômica cardíaca. Os principais achados na morfofuncionalidade sugerem um aumento da FE, VE, DC, IC e VDF e VSF, além de observarmos um aumento tanto da área, quanto da espessura do ventrículo esquerdo nos ratos tratados e treinados. Dessa forma, podemos concluir que o tratamento com brometo de piridostigmina foi eficaz quanto aos valores hemodinâmicos, quanto a alguns parâmetros morfofuncionais e quanto à avaliação autonômica cardíaca, sugerindo ser uma boa terapia farmacológica para o tratamento da hipertensão, entretanto, uma investigação mais aprofundada deve ser realizada para um entendimento melhor dos efeitos. Da mesma forma, que o treinamento físico aeróbio promoveu modificações benéficas aos parâmetros avaliados, potencializando a ação do tratamento com o inibidor de acetilcolinesterase.

Palavras-chave: 1. Hipertensão Arterial. 2. Treinamento Físico. 3. Brometo de piridostigmina. 4. Sistema Nervoso Autônomo.

ABSTRACT

Gardim, BG. **Study of chronic cholinergic stimulation with pyridostigmine bromide effect on hemodynamic changes, cardiac autonomic and morphofunctional induced by aerobic exercise in spontaneously hypertensive rats (SHR).** 2016. University of São Paulo.

The objective was to study the hemodynamic changes, autonomic and cardiac morphofunctional in hypertensive rats (SHR) subjected to chronic cholinergic stimulation with two different doses (5 and 15 mg), and associate with the physical training, using different approaches: 1. Assessment tonic autonomic balance, heart rate (HR) by pharmacological blockade with atropine and propranolol; 2. Study of phasic autonomic balance (variability) HR (pulse interval) and blood pressure by spectral analysis; 3. Assessment of baroreflex sensitivity by administration of multiple doses of phenylephrine and random and sodium nitroprusside; 4. Evaluation two-dimensional echocardiography. Therefore, we used 54 rats divided two groups: trained (n = 27) and sedentary (n = 27). The animals trained, gave start to experiment in the 18th week of life, which lasted for 10 weeks; soon after, the rats were placed in treatment pyridostigmine bromide for over 2 weeks, at 30 weeks, the rats were subjected to cannulation surgery for analysis of blood pressure, HR, heart rate variability (HRV) and arterial pressure variability. Antecedent surgery, the rats were brought into the test for dimensional echocardiography analysis of cardiac morfofuncionalidade. Differences were considered statistically significant when p is greater than 5%. The results showed a decrease in SAP, DBP, and MAP, and to decrease the basal HR and HR intrinsic in mice treated with 5 and 15 mg bromide, both sedentary as treated. There was also an increase in NF (MS2) and a decrease in HF (ms2), showing improvement in cardiac autonomic condition. The main findings in morfofuncionalidade suggest an increase in EF, LV, CD, CI and EDV and ESV, and observe an increase in both the area, the thickness of the left ventricle in treated and trained rats. Thus, we can conclude that treatment with pyridostigmine bromide was effective as the hemodynamic values, as some morphological and functional parameters and the cardiac autonomic assessment, suggesting that a good drug therapy for the treatment of hypertension, however, further investigation should It is performed for a better understanding of the effects. Similarly, the physical training promotes beneficial changes to the evaluated parameters, potentiating the action of treatment with acetylcholinesterase inhibitor.

Keywords: 1. Hypertension. 2. Physical Training. 3. Pyridostigmine Bromide. 4. Autonomic nervous system.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BPM	Batimento por minuto
DCV	Doença cardiovascular
DDFVE	Diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo
DSFVE	Diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo
EPM	Erro padrão da média
EPPVED	Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em diástole
EPPVES	Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em s
ESIVES	Espessura do Septo Intraventricular em sístole
ESIVED	Espessura do Septo Intraventricular em diástole
EPP	Espessura da parede posterior
ERP	Espessura relativa da parede
FC	Frequência cardíaca
FCb	Frequência cardíaca basal
FCi	Frequência cardíaca intrínseca
FE	Fração de ejeção
FFT	Transformada rápida de fouries
g	Gramma
HAS	Hipertensão Arterial Sistólica
HF	Banda de alta frequência
i.p.	Intraperitoneal
IP	Intervalo de pulso
Kg	Quilograma
LF	Banda de baixa frequência

LF/HF	Balanço simpato-vagal
µg	Micrograma
Mg	Miligrama
mmHg	Milímetro de mercúrio
ms	Milissegundo
Um	Unidades normalizadas
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAP	Pressão arterial pulsátil
PAS	Pressão arterial sistólica
PIR	Brometo de piridostigmina
RVP	Resistência Vascular Periférica
SBR	Sensibilidade do barorreflexo
SED-Veículo	Grupo SHR sedentário não tratado com droga
SED-5mg PIR	Grupo SHR sedentário tratado com 5 mg de brometo de piridostigmina
SED-15mg PIR	Grupo SHR sedentário tratado com 15 mg de brometo de piridostigmina
SHR	Ratos Espontaneamente hipertensos
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SIV	Septo interventricular
TRE-Veículo	Grupo SHR treinado não tratado com droga
TRE-5mg PIR	Grupo SHR treinado tratado com 5 mg de brometo de piridostigmina

TRE-15mg PIR	Grupo SHR treinado tratado com 15 mg de brometo de piridostigmina
VDFVE	Volume diastólico final do ventrículo esquerdo
VE	Ventrículo esquerdo
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VPAS	Variabilidade da pressão arterial sistólica
VSFVE	Volume sistólico final do ventrículo esquerdo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores pressóricos basais dos grupos SHR, sedentários e treinados.....	66
Tabela 2. Valores médios da FC basal e FC intrínseca, antes e após o duplo bloqueio farmacológico com metil-atropina (efeito vagal) e propranolol (efeito simpático), em animais SHR sedentários e treinados.....	69
Tabela 3. Valores médios dos índices barorreflexos sobre o ganho negativo (Nitroprussiato de sódio) e ganho positivo (fenilefrina), em ratos SHR sedentários e treinados.....	71
Tabela 4. Valores da variabilidade da frequência cardíaca, no domínio da frequência em animais SHR, sedentários e treinados.....	74
Tabela 5. Valores da variabilidade da pressão arterial em ratos SHR sedentários e treinados.....	76
Tabela 6. Ecocardiografia dos valores funcionais dos grupos WKY e SHR, sedentários e treinados.	80
Tabela 7. Ecocardiografia dos valores morfológicos dos grupos WKY e SHR, sedentários e treinados.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem ilustrativa do aquário para o treinamento físico por meio da natação. (Fotografia: acervo pessoal).....	55
Figura 2: Imagem ilustrativa do tratamento com brometo de piridostigmina diluído na água de beber. (Fotografia: acervo pessoal).....	56
Figura 3: Desenho esquemático e ilustração do implante de cateter na veia e artéria femoral das ratas. (A) Identificação do local para dissecação da pele; (B) dissecação e isolamento da artéria e veia femoral; (C) veia femoral; (D) artéria femoral. (Desenho: S. Lacchini; Fotografia: acervo pessoal).....	57
Figura 4: Sistema de registro da pressão arterial pulsátil para as avaliações hemodinâmicas e autonômicas cardíacas. (Fotografia: acervo pessoal).....	58
Figura 5: Imagens ilustrativas do exame de ecocardiografia. (A) Preparo da pele; (B) posicionamento do animal; (C) e (D) aquisição de dados e imagens. (Fotografias: acervo pessoal).....	63
Figura 6. Valores da pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) obtidos nos grupos Wistar e SHR, treinados e sedentários. Os valores estão apresentados como médias $\pm$ EPM.....	65
Figura 7. Valores médios da FC basal e FC intrínseca, antes e após o duplo bloqueio farmacológico com metil-atropina (efeito vagal) e propranolol (efeito simpático). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM ^a P<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^b P<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^c P<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^d P<0,05 versus Veículo-Treinado; ^e P<0,05	68

versus Pir-5mg-Treinado.....

Figura 8. Valores do ganho da sensibilidade barorreflexa após a administração de nitroprussiato de sódio (taquicardia) e fenilefrina (bradicardia). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado..... 70

Figura 9. Variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. LF: low frequency; HF: high frequency; ms²: milissegundos ao quadrado - valores absolutos; nu: unidades normalizadas; LF/HF: razão de LF/HF. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus SHR-H2O; ^bP<0,05 versus TRE-H2O; ^cP<0,05 versus TRE-15mg PYR..... 73

Figura 10. Variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS) nos grupos WKY e SHR sedentários e treinados. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. LF: low frequency; HF High frequency; mmHg: milímetros de mercúrio ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado..... 75

Figura 11. Valores funcionais pela ecocardiografia em ratos SHR e WKY, sedentários e treinados Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. FC: frequência cardíaca; VE: volume de ejeção; DC: Débito Cardíaco; IC: Índice Cardíaco; μ L: microlitros; mL: mililitros; g: gramas; min: minutos. ^aP<0,05 versus 78

Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.....

Figura 12. Valores funcionais pela ecocardiografia em ratos SHR e WKY, sedentários e treinados. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. FC: frequência cardíaca; VE: volume de ejeção; DC: Débito Cardíaco; IC: Índice Cardíaco; FE: Fração de ejeção; FEN: Fração de encurtamento; VDF: Volume diastólico final; VSF: volume sistólico final; μ L: microlitros; mL: mililitros; g: gramas; min: minutos. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.....

79

Figura 13. Ecocardiografia dos valores morfológicos de todos os grupos SHR, sedentários e treinados. FC: frequência cardíaca; MVE: massa ventrículo esquerdo; MVE: massa ventrículo esquerdo corrigido; AVED: área do ventrículo esquerdo em diástole; AVES: área do ventrículo esquerdo em sístole; ERP: espessura relativa da parede. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.....

82

Figura 14. Ecocardiografia dos valores morfológicos de todos os grupos SHR, sedentários e treinados DIVED: diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole; DIVES: diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole; EPPVED: espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em

83

diástole; EPPVES: espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole; ESIVD: espessura do septo intraventricular em diástole. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.....

JUSTIFICATIVA	30
INTRODUÇÃO	33
<i>Hipertensão Arterial Sistêmica</i>	33
<i>Sistema Nervoso Autônomo e Hipertensão Arterial</i>	35
<i>Atividade Barorreflexa</i>	36
<i>Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial</i>	39
<i>Bloqueio Autônomo Cardiovascular</i>	41
<i>Ratos espontaneamente hipertensos e ratos Wistar Kyoto</i>	42
<i>Tratamento da hipertensão arterial</i>	43
<i>Tratamento não farmacológico – exercício físico</i>	44
<i>Tratamento farmacológico com brometo de piridostigmina</i>	45
OBJETIVOS	49
MATERIAIS E MÉTODOS	51
<i>Grupos experimentais</i>	51
<i>Treinamento dos animais</i>	51
<i>Tratamento com inibidor de acetilcolinesterase</i>	53
<i>Implantação das cânulas na artéria e veias femorais</i>	54
<i>Protocolos Experimentais</i>	55
<i>Registro da Pressão arterial e da frequência</i>	55
<i>Estudo da sensibilidade do reflexo barorreceptor por meio da administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (NPS)</i>	56
<i>Avaliação do balanço simpato-vagal cardíaco e determinação da frequência intrínseca de marcapasso</i>	57
<i>Análise Espectral da Variabilidade do Intervalo de Pulso (IP) e Pressão Arterial Sistólica (PAS)</i>	57
<i>Avaliação morfofuncional do ventrículo esquerdo mediante o emprego da ecocardiografia bidimensional convencional</i>	58

<i>Morfológicos.....</i>	59
<i>Funcionais.....</i>	60
<i>Procedimentos do protocolo do ecocardiograma.....</i>	61
<i>Análise estatística.....</i>	62
RESULTADOS	65
1. <i>Pressão arterial sistólica, diastólica e média.....</i>	65
2. <i>Valores da frequência cardíaca basal e intrínseca e o duplo bloqueio autônomo farmacológico – Balanço simpatovagal.....</i>	67
3. <i>Sensibilidade barorreflexa</i>	70
4. <i>Análise Espectral da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC).....</i>	72
5. <i>Análise Espectral da Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS)</i>	75
6. <i>Avaliação morfofuncional do ventrículo esquerdo mediante o emprego da ecocardiografia bidimensional convencional.....</i>	77
<i>Resultados da Função Cardíaca.....</i>	77
<i>Resultados da Morfologia Cardíaca.....</i>	81
DISCUSSÃO	86
CONCLUSÃO	94
CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

JUSTIFICATIVA

Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que a hipertensão é acompanhada de importante disfunção no controle autonômico cardiovascular, caracterizada pela diminuição na sensibilidade barorreflexa e alterações na variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (ERDOĞAN et al., 2008; KHANDOKER et al., 2010). Essa disfunção autonômica, associada aos demais prejuízos morfológicos, funcionais e inflamatórios, se não tratados adequadamente, colocam a hipertensão arterial como uma importante causa da insuficiência cardíaca, reduzindo a qualidade e a expectativa de vida dos indivíduos (PASSOS ET AL., 2006).

Desta forma, é de grande relevância a busca de novas terapias farmacológicas e não farmacológicas com ação cardioprotetora visando prevenir e/ou reverter o desenvolvimento e evolução de doenças cardiovasculares (PERK & VERESS, 2000, DORN et al., 2001; BALADY et al., 2007). Nesse aspecto, estudos recentes em indivíduos saudáveis demonstraram que o brometo de piridostigmina, uma droga comercialmente utilizada no tratamento da *Myasthenia Gravis*, promove uma série de modificações positivas sobre o controle autonômico cardiovascular, como bradicardia (NÓBREGA et al., 1996; DEWLAND et al., 2007) e aumento na VFC (NÓBREGA et al., 2001; BEHLING et al., 2003; SOARES et al., 2004). Por sua vez, o treinamento físico aeróbio, entre outras ações, também ocasiona importante influência no controle autonômico cardiovascular, além da melhora no remodelamento cardíaco, tanto em animais experimentais, quanto em humanos (SOUZA et al., 2005; COZZA et al., 2012).

De fato, alguns dos efeitos da estimulação colinérgica com brometo de piridostigmina sobre o controle autonômico cardíaco se assemelham aos observados após o treinamento físico aeróbio, tanto em humanos, quanto em modelos experimentais (NÓBREGA et al., 2001; BEHLING et al., 2003; SOARES et al., 2004; HARTHMANN et al., 2007). Entretanto, até o momento, poucos estudos investigaram

os efeitos autonômicos induzidos pela estimulação colinérgica na hipertensão. Em nosso laboratório foi mostrado que a estimulação colinérgica com brometo de piridostigmina por duas semanas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) promoveu a redução na pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC). Entretanto, a fração de ejeção, o único parâmetro funcional avaliado também apresentou-se reduzida. Adicionalmente, o estudo dos parâmetros autonômicos mostraram melhora no balanço tônico autonômico e redução na VPAS (BLANCO et al., 2015). A explicação para a melhora dos parâmetros funcionais e autonômicos, porém com redução da fração de ejeção pode estar relacionada com a dosagem utilizada no estudo (25 mg/kg). Nesse caso, nossa primeira hipótese era de que o tratamento com doses mais baixas (5 e 15 mg/kg) poderiam promover efeitos hemodinâmicos e autonômicos semelhantes aos observados anteriormente, além de melhora nos parâmetros morfológicos e funcionais cardíacos dos ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Ademais, nossa segunda hipótese era de que o treinamento físico aeróbio pudesse potencializar todos os efeitos benéficos observados no tratamento somente pela estimulação colinérgica.

Hipertensão Arterial Sistêmica

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é definida como uma condição clínica multicausal, na qual apresenta níveis elevados e sustentados da pressão arterial (PA) e associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo, além de alterações metabólicas e inflamatórias que acarretam em um aumento do risco de desenvolvimento de eventos cardiovasculares, tais como a insuficiência cardíaca, o infarto agudo do miocárdio, o acidente vascular cerebral, a insuficiência renal crônica, a aneurisma de aorta e a retinopatia hipertensiva. (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010, SECRETARIA PÚBLICA DE SAÚDE, 2011).

Quando associada a outros fatores de risco como diabetes mellitus, obesidade, sedentarismo e tabagismo, os níveis pressóricos podem ser ainda mais elevados e as consequentes lesões de órgãos-alvo ainda mais graves. Dessa forma, o controle da PA e dos seus fatores associados é essencial para a redução da morbimortalidade decorrentes da evolução da doença, que vem crescendo demasiadamente a cada ano (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1996).

Para elucidar o impacto da doença a âmbito mundial, dados apontam que 600 milhões de pessoas sejam portadoras da HAS (WHO, 2002), além disso, já está bem definido na literatura que há um aumento da prevalência da doença com o aumento progressivo da idade (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2010; KINLEY et al., 2015). No Brasil, em 2003, 27,4% dos óbitos foram decorrentes de doenças cardiovasculares, já a HAS, é responsável por 40% das mortes por acidente vascular cerebral e 25% das mortes por doença coronariana. Entre os gêneros, a prevalência foi de 35,8% nos homens e de 30% em mulheres, semelhante à de outros países, que revelou por meio de uma revisão sistemática quantitativa uma prevalência

global de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres (LEWINGTON et al., 2003; ROSÁRIO et al., 2009).

Diante desses dados, é necessário destacar alguns fatores de risco, indispensáveis para prevenir e/ou reverter esse quadro, dentre elas destaca-se: idade principalmente acima de 50 anos, gênero e etnia, genética, ingestão excessiva de sal, obesidade, sedentarismo e fatores socioeconômicos (IV DIRETRIZES DE HIPERTENSÃO ARTERIAL).

A avaliação clínico-laboratorial do paciente hipertenso tem por objetivo confirmar a elevação da PA, firmar o diagnóstico de hipertensão, identificar os fatores de risco para doenças cardiovasculares, avaliar lesões de órgão alvo, identificar doenças associadas à hipertensão, estratificar o risco cardiovascular do paciente e diagnosticar a HA secundária em caso de suspeita clínica. Um dos principais métodos para o diagnóstico da hipertensão é o exame MAPA (monitorização ambulatorial da pressão arterial), que permite o registro indireto e intermitente da pressão arterial durante 24 horas ou mais, enquanto o paciente realiza suas atividades habituais durante os períodos de vigília e sono (ORTEGA, et al. 2008).

Nesse contexto, é de extrema importância o conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da HAS. A regulação da PA é uma das funções fisiológicas mais complexas do organismo, dependendo de ações integradas do sistema cardiovascular, renal, neural e endócrino (PAGE, 1987). A PA é determinada pela combinação do produto do débito cardíaco (DC) e da resistência vascular periférica (RVP) (FREIS, 1960), juntamente influenciado por fatores como: os reflexos cardiovasculares, fatores hormonais e derivados do endotélio. O volume sanguíneo circulante, o retorno venoso e a frequência cardíaca (FC) podem influenciar o DC, assim como, a RVP é determinada por vários mecanismos vasoconstrictores e vasodilatadores como o sistema nervoso

simpático, o sistema renina angiotensina e a modulação endotelial. A RVP depende também da espessura da parede das artérias, existindo uma potencialização ao estímulo vasoconstrictor nos vasos nos quais há espessamento de suas paredes (Frohlich, 1992). Um dos fatores mais determinantes no controle do sistema cardiovascular é o sistema nervoso autônomo (SNA), o qual fornece nervos aferentes e eferentes ao coração, na forma de terminações simpáticas por todo o miocárdio e parassimpáticas para o nódulo sinusal, o miocárdio atrial e o nódulo atrioventricular (AUBERT, et al., 2003).

Sistema Nervoso Autônomo e Hipertensão Arterial

Os mecanismos como os barorreceptores, quimioceptores, receptores atriais, receptores ventriculares, modificações do sistema respiratório, sistema vasomotor, sistema renina-angiotensina-aldosterona e sistema termorregulador, influenciam diretamente a atuação do SNA sobre o coração (COOKE, et al. 1998; PASCHOAL, et al. 2002). Uma das principais funções do SNA é a manutenção da homeostase, ou seja, quando estímulos internos sinalizam a necessidade de uma determinada regulação, o sistema nervoso central ativa o sistema autônomo, que realiza as ações compensatórias.

Este controle neural está intimamente ligado à FC e atividade reflexa barorreceptora (AUBERT, et al., 2003). A partir das informações aferentes, por meio de uma complexa interação de estímulo e inibição, respostas das vias simpática e parassimpática são formuladas e modificam a FC, adaptando-a às necessidades de cada momento. O aumento da FC é consequência da maior ação da via simpática e da menor atividade parassimpática, ou seja, inibição vagal, enquanto que, a sua redução depende basicamente do predomínio da atividade vagal. Além disso, o simpático também pode

exercer efeito trófico sobre as células musculares lisas e miocárdicas (RAJENDRA, et al., 2006; VICTOR & MARK, 1995).

Dessa forma, o SNA torna-se fundamental no controle da PA, tanto em indivíduos normotensos, quanto em indivíduos portadores da hipertensão. Entretanto, sabe-se que na HAS, os diversos mecanismos de controle autonômico da PA estão alterados e por isso da importância de diferentes métodos de avaliação, não só para caracterizar o estabelecimento das disfunções no SNA, mas também como um potencial diagnóstico e prognóstico para futuros eventos cardiovasculares (JUNIOR CAMPOS, et al., 2001; IRIGOYEN, et al., 2001). Para essa avaliação, algumas ferramentas estão sendo utilizadas e validadas, dentre elas, destaca-se a sensibilidade barorreflexa, bloqueio farmacológico de receptores autonômicos cardíacos e as análises das oscilações temporais do intervalo de pulso (IP) e da PA.

Atividade Barorreflexa

Na fisiologia cardiovascular, o barorreflexo ou reflexo barorreceptor é um dos mecanismos homeostáticos do corpo para manter a PA normalizada. Os barorreceptores arteriais são terminações nervosas livres, densamente ramificadas, localizadas primordialmente nas paredes do arco aórtico (barorreceptores aórticos) e dos seios carotídeos (barorreceptores carotídeos) (LATERZA, et al., 2008). As terminações barorreceptoras se distribuem na camada adventícia, próximo à borda médio-adventicial da parede vascular, onde se ancoram fortemente aos demais constituintes do vaso, envoltas por colágeno e elastina. O principal mecanismo de ativação dos barorreceptores é a deformação mecânica das terminações neurais, decorrente da distensão da parede vascular determinada pela onda de pulso (GUYENET, 2006).

A função primordial dos barorreceptores é manter a PA estável, dentro de uma faixa estreita de variação, esteja o indivíduo em repouso ou desenvolvendo diferentes atividades comportamentais. Além disso, exerce uma importante regulação reflexa da FC, débito cardíaco, contratilidade miocárdica, resistência vascular periférica e, conseqüentemente, distribuição regional do fluxo sanguíneo (HAIBARA & SANTOS, 2000).

Como dito anteriormente, os principais componentes neurais envolvidos na regulação da PA compreendem as terminações nervosas aórticas e carotídeas, na qual as informações originárias se projetam por meio dos nervos vago e glossofaríngeo, respectivamente, e convergem para a região do núcleo do trato solitário (NTS), considerado, então, a primeira estação central dos sinais sensoriais originados do sistema periférico (CARDOZO, et al., 2012). A partir do NTS, os neurônios projetam-se para dois grupamentos de neurônios no bulbo ventrolateral: 1) neurônios inibitórios na área ventrolateral caudal do bulbo (CVLM) que, por sua vez, projetam-se para neurônios pré-motores do SNS na área ventrolateral rostral do bulbo (RVLM, neurônios simpato excitatórios). Finalmente, os neurônios RVLM projetam-se para os neurônios pré-ganglionares do SNS localizados na coluna intermédio-lateral da medula espinhal; e 2) outro grupamento de neurônios está localizado no núcleo ambíguo (NA) e núcleo dorsal motor do nervo vago, que contém os corpos celulares dos neurônios pré-ganglionares do SNP. De cada uma dessas áreas e núcleos bulbares, neurônios projetam-se para outras áreas e núcleos do SNC levando informações cardiovasculares. Dessas regiões também partem projeções para outras regiões bulbares e para neurônios da coluna intermédio-lateral da medula, determinando a integração central do controle da PA. Utilizando-se dessa complexa interação, o reflexo barorreceptor controla o tônus

simpático e parassimpático para o coração, além do tônus simpático para o vago (KOIKE et al., 2006; De CASTRO et al., 2008; KOUGIAS et al., 2010).

Em situações normais, os barorreceptores arteriais enviam constantemente potenciais de ação ao SNC, visto que, a elevação da PA estimula ainda mais os barorreceptores, aumentando a frequência de disparos que, reflexamente, reduz a atividade simpática e aumenta a atividade parassimpática, promovendo dilatação arteriolar, bradicardia e redução da contratilidade miocárdica. Entretanto, evidências demonstram que a regulação da FC pelos barorreceptores é exercida, preferencialmente, pela estimulação de neurônios vagais (SPYER, 2002).

Em condições experimentais, o controle barorreflexo pode ser avaliado por meio da administração de fármacos vasoativos hipertensores, como a fenilefrina, e hipotensores, como o nitroprussiato de sódio (FARAH et al., 1999). Entretanto, há uma forma mais recente de avaliação, que é a análise das flutuações espontâneas da PA desencadeando flutuações da FC, denominada de sensibilidade barorreflexa espontânea. Ambos os métodos são amplamente utilizados, tanto na clínica, quanto em estudos experimentais (LA ROVERE et al., 2011).

Clinicamente, a medida da sensibilidade barorreflexa, tem sido mensurada por diferentes meios, e utilizada como a avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), como um marcador de risco de morte súbita após infarto do miocárdio. Estudos clínicos têm mostrado, por exemplo, que em pacientes infartados uma sensibilidade reduzida do barorreflexo (<3 ms/mmHg) está associada com mortalidade mais elevada. Uma alta incidência de redução da sensibilidade barorreflexa também tem sido encontrada em pacientes diabéticos com coronariopatia (HAIBARA & SANTOS, 2000).

Variabilidade da frequência cardíaca e da Pressão Arterial

Uma das formas de se avaliar o SNA, e seus ramos simpático e parassimpático, é por meio da VFC que descreve a dinâmica dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos R-R), a qual é influenciada pela ação que os ramos do SNA exercem sob o nó sinusal. Dita como uma ferramenta simples e passível de ser utilizada em diversas condições, saúde e doença (VANDERLEI, et al., 2009; SINSKI, et al., 2006; SUBBALAKSHMI, et al., 2008)

A variação dos intervalos RR é uma condição fisiológica normal e esperada, pois indica a habilidade do coração em responder aos múltiplos estímulos fisiológicos e ambientais, dentre eles mudança ortostática, diferentes períodos do ciclo respiratório e estresse mental (VANDERLEI, et al., 2009). Diante disto a alta VFC geralmente indica boa adaptação do organismo, por caracterizar as oscilações dos intervalos RR em diferentes situações do ambiente, qualificando um indivíduo saudável com mecanismos autonômicos eficientes. Inversamente, baixa VFC geralmente é um indicador de adaptação anormal e insuficiente do SNA, isso porque as oscilações permanecem iguais mesmo quando o organismo é exposto a diferentes estados, indicando a presença de mau funcionamento fisiológico no indivíduo (MARÃES, 2010).

As análises da VFC podem ser realizadas utilizando-se métodos lineares e não lineares. No âmbito linear há duas grandes subdivisões: a) o domínio do tempo que é realizado por meio de análises estatísticas e geométricas e b) o domínio da frequência. No âmbito não linear as análises baseiam-se na teoria de caos (RADESPIEL, et al., 2003).

As análises no domínio de tempo utilizam técnicas matemáticas para mensurar a variabilidade presente nos intervalos entre ondas R, por meio de cálculos de sua média,

variações do desvio padrão da frequência cardíaca ao longo do tempo; enquanto no domínio da frequência é feita análise espectral que permite decompor a variação da frequência cardíaca em um determinado tempo em seus componentes oscilatórios fundamentais, ou seja, a série temporal é decomposta em diferentes componentes de frequência (ACHTEN, et al., 2003; MARÃES, 2010).

Essas análises no domínio da frequência avaliam a participação individual do sistema nervoso simpático e parassimpático em diferentes situações fisiológicas e patológicas, além de sua interferência nos principais sistemas que alteram a VFC (BRANDÃO, et al., 2014). Seus índices se dividem em bandas de frequência. Estudos realizados tanto em humanos quanto em ratos demonstram que as oscilações de alta frequência (HF= high frequency, 0,75-2,5 Hz) da FC refletem a modulação parassimpática, enquanto que o componente de baixa frequência (LF= low frequency, 0,20-0,75) representa tanto a modulação simpática, quanto a modulação parassimpática, entretanto, com maior atuação do simpático. Por sua vez, a razão LF/HF representaria um índice de balanço da modulação autonômica cardíaca (SCHROEDER, et al., 2005; TASKE FORCE, 1996).

Já em relação à variabilidade da PA (VPA), somente os componentes LF têm sido considerados, uma vez que refletem a modulação simpática (TASKE FORCE, 1996). A gênese dessas flutuações é incerta, entretanto, sistemas humorais e o barorreflexo, modulando a influencia do sistema simpático e parassimpático para o coração e vasos, parecem contribuir efetivamente, inclusive sobre as oscilações de muito baixa frequência (VLF= Very low frequency: <0,20 Hz).

Como pode ser verificada em estudos já publicados na literatura, a VFC em ratos SHR apresenta-se diminuída, diferentemente, da VPA que se encontra aumentada em relação aos ratos Wistar-Kyoto (WKY), principalmente em ratos envelhecidos

(BLANCO, et al., 2015; TEZINI, et al., 2013). Um trabalho mostrou que os prejuízos na modulação autonômica da FC e da PA, nesses animais seriam decorrentes, principalmente da redução do ramo vagal para o coração e alterações estruturais promovendo aumento na reatividade vascular (FRIBERG, et al., 1989).

Bloqueio Autonômico Cardiovascular

Diferentemente da VFC, a avaliação farmacológica com bloqueadores autonômicos informa sobre a influência tônica autonômica sobre o coração. Entretanto, como visto anteriormente, nem sempre o aumento tônico no drive simpático e vagal traduz em valores aumentados em outras ferramentas de avaliação.

O sistema nervoso autonômico simpático e parassimpático pode ser avaliado por meio da administração de bloqueadores autonômicos, sendo que após a administração do propranolol, o efeito simpático é observado, na qual promove a bradicardia, tendo como referência a FC basal. Enquanto que na administração de metil-atropina verificou uma taquicardia, sendo observado o efeito vagal do sistema. Já a FC obtida após a administração de ambos os bloqueadores representa a ritmicidade cardíaca sem a influência do SNA, denominada frequência intrínseca de marcapasso (CHAPLEU & SABHARWAL, 2011). Em SHR, assim como em outros modelos de hipertensão ocorre alterações no drive simpato-vagal para o coração, caracterizado por um aumento no tônus do drive simpático e redução no drive vagal, isso ocorre por diferentes causas, e apontam para grandes prejuízos tanto nas aderências, quanto nos sítios centrais integrativos, bem como nas eferências autonômicas (SILVA, et al., 1997).

Ratos espontaneamente hipertensos (SHR)

Em 1963, Okamoto e Aoki, desenvolveram um novo modelo experimental de hipertensão, sem que nenhum recurso fisiológico, farmacológico ou cirúrgico fosse necessário. Os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) foram desenvolvidos por uma cepa originária do endocruzamento dos ratos Sprague-Dawley, uma reprodução genética meticulosa, entre irmãos e irmãs, que uniformemente resultou em animais naturalmente portadores de doença hipertensiva, em 100% dos descendentes (OKAMOTO, et al., 1966). Os SHR começam a desenvolver a HAS com 05 semanas de vida, ao passo que, entre a 7^o e a 15^a semana, a elevação dos níveis pressóricos é considerável, atingindo um platô na 20^a e 28^a semanas (YAMORI, 1984). Desde então, o SHR é reconhecido como um excelente modelo de hipertensão experimental e pode servir como modelo de estudos clínicos da hipertensão essencial humana.

A semelhança entre a hipertensão humana e a observada no SHR, inclui a predisposição genética para hipertensão sem etiologia específica, o aumento da resistência periférica total sem expansão de volume e, igual resposta a tratamentos com drogas (TRIPPODO & FROHLICH, 1981; UNDEFREIND & SPECTOR, 1972).

A hipertensão do SHR adulto está diretamente associada a um aumento da resistência periférica total (RVP) e um débito cardíaco normal ou diminuído. Com o desenvolvimento da HAS, o SHR desenvolve uma progressiva hipertrofia cardíaca (THOMAS, et al., 1997), bem como, o débito cardíaco permanece em níveis normais com o progresso da hipertensão, até que nos estágios finais a função cardíaca começa a ser comprometido, quando, então, o débito cardíaco começa a reduzir-se em função de uma insuficiência cardíaca congestiva (FROHLICH, 1977). Sabe-se que as pequenas artérias, arteríolas e, possivelmente, os esfíncteres pré-capilares sejam os principais

responsáveis pelo aumento da resistência vascular periférica (TRIPPODO & FROHLICH, 1981).

A importância dos fatores neurais no desenvolvimento do SHR foi demonstrada por meio da redução da PA, em resposta à ablação cirúrgica ou farmacológica do sistema nervoso autônomo simpático, da prevenção do desenvolvimento da hipertensão por imunossimpatectomia, da simpatectomia química e outros métodos (TRIPPODO & FROHLICH, 1981).

A escolha desse modelo experimental se deve ao fato de que os SHR são classicamente conhecidos por apresentarem alterações funcionais, morfométricas e hemodinâmicas cardíacas associadas ao prejuízo no balanço do tônus autonômico cardíaco, redução na sensibilidade barorreflexa, e modificações na modulação autonômica da VFC, caracterizadas pela redução da influência do componente vagal e aumento da influência do componente simpático cardíaco (OKAMOTO AOKI, 1963; PFEFFER et al., 1979; TUCKER & DOMINO, 1988; MINAMI & HEAD, 1993).

Tratamento da hipertensão arterial

Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que a hipertensão também acarreta importante disfunção autonômica levando a um prejuízo no controle barorreflexo e na VFC, caracterizada por redução da influência ondulatória do componente vagal e aumento da influência do componente simpático (ERDOĞAN et al., 2008; KHANDOKER et al., 2010). Essa multiplicidade de consequências coloca a HAS na origem das doenças cardiovasculares e, portanto, caracteriza-a como uma das causas de maior redução da qualidade e expectativa de vida dos indivíduos (PASSOS et al., 2006).

O tratamento da HAS visa à prevenção primária tanto de doenças cardiovasculares, como doenças renais, e não somente ao controle dos sintomas, pois estes estão discutivelmente associados a níveis pressóricos. Dessa forma, o benefício do tratamento pode ser aferido por uma redução da incidência de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral dentre outros eventos cardiovasculares, comuns na população.

Desta forma, é de grande relevância a busca de novas terapias farmacológicas e não farmacológicas com ação cardioprotetora visando prevenir e/ou reverter o desenvolvimento e evolução de doenças cardiovasculares (PERK & VERESS, 2000, DORN et al., 2001; BALADY et al., 2007).

Tratamento não farmacológico – Exercício Físico

Atualmente, medidas alternativas para mudança no estilo de vida, tais como redução de peso, diminuição na ingestão de sódio e álcool e prática de atividade física regular, têm sido propostas para prevenir e combater essa doença (APPEL, 1999). A adoção dessas medidas alternativas pode ser empregada como tratamento único, não farmacológico ou em concomitância com o tratamento farmacológico.

Uma das principais ferramentas no combate a HAS é o exercício físico, que está incluso em todos os programas de reabilitação cardiovascular, de modo que tal atividade física promova importantes alterações autonômicas e hemodinâmicas que vão influenciar o sistema cardiovascular. Como exemplo, podemos citar a bradicardia de repouso (NEGRÃO, et al., 1992), a diminuição da atividade nervosa simpática renal (NEGRÃO, et al., 1993), o aumento da influência do componente autonômico vagal cardíaco e/ou redução da influência do componente autonômico simpático, resultando,

em muitos casos, em aumento da sensibilidade barorreflexa e da VFC, principalmente perante as doenças crônico-degenerativas, como a HA (de ANGELIS et al., 2004; IRIGOYEN et al., 2005; HARTHMANN, 2007), além da melhora no remodelamento cardíaco, aprimorando a performance cardíaca, e reduzindo a hipertrofia de cardiomiócitos, tanto em animais experimentais, quanto em humanos (SOUZA et al., 2001; SOUZA et al., 2007; COZZA et al., 2012).

Com relação a PA, sabe-se que o treinamento físico é capaz de diminuir a pressão em 75% dos pacientes hipertensos (Hagberg, et al., 1997). Da mesma forma, Halbert et al. (2000) relataram que o treinamento físico aeróbio reduzia a pressão arterial sistólica em 4,7 mmHg e a pressão arterial diastólica em 3,1 mmHg, quando comparadas às de um grupo-controle sem treinamento físico.

Já em ratos SHR, o exercício de baixa intensidade, realizado durante 10 semanas foi capaz de reduzir significativamente a PA (BLANCO, et al., 2015). Somado a isso, o exercício físico parece estimular a angiogênese e promover um efeito preditor sobre a integridade do endotélio, melhorando a função vasodilatadora endotelial, além de estimular fatores antioxidantes (HIGASHI, et al., 1999; KURU, et al., 2002)

Tratamento farmacológico com brometo de piridostigmina

Está bem estabelecido, que diversas classes de anti-hipertensivos apresentem potenciais benefícios para redução da PA em indivíduos hipertensos, interferindo nos processos de remodelamento do coração bem como em vasos arteriais e venosos, dentre elas, existem os β -adrenérgicos e os α -adrenérgicos, inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), inibidores das enzimas de AT₁, da angiotensina II de canais de cálcio Ca²⁺ e os diuréticos (de SOUZA, et al., 2005; RUBIRA, et al, 2007).

Apesar de um vasto espectro de anti-hipertensivos presentes, a busca por novos fármacos tem sido necessária para que contemplem cada vez mais efeitos satisfatórios no controle da HAS, e minimizem os efeitos colaterais presentes nas drogas. Nesse sentido, o uso do brometo de piridostigmina, uma droga comercialmente utilizada no tratamento da *Myasthenia Gravis*, que inibe de forma reversível a enzima acetilcolinesterase, também promove uma série de modificações positivas sobre o controle autonômico cardiovascular, como bradicardia (NÓBREGA et al., 1996; DEWLAND et al., 2007) e aumento na VFC (NÓBREGA et al., 2001; BEHLING et al., 2003; SOARES et al., 2004), além da redução nas respostas hemodinâmicas ao estresse físico (ANDRONE et al., 2003; SERRA et al., 2009). Nesse caso, foi observado que em pacientes com insuficiência cardíaca, o tratamento com piridostigmina não prejudicou a função miocárdica (DE PONTES et al., 1999), mas sim, reduziu o risco de arritmias ventriculares, assim como aumentou a VFC (BEHLING et al., 2003). 6

Adicionalmente, estudos experimentais demonstraram que ratos da linhagem Wistar, tratados com brometo de piridostigmina, apresentavam atenuação do consumo de oxigênio pelo miocárdio promovido pela estimulação simpática central, o que indicaria que a mesma teria um papel cardioprotetor independente do equilíbrio autonômico cardíaco (GRABE-GUIMARÃES et al., 1999). Em outro estudo, foi observado que ratos normotensos, também tratados com brometo de piridostigmina (~31mg/Kg/dia) na água de beber durante sete dias, apresentavam aumento significativo da VFC e da sensibilidade barorreflexa, mostrando sensível melhora no controle autonômico cardíaco (SOARES et al., 2004).

De fato, alguns dos efeitos da estimulação colinérgica com brometo de piridostigmina sobre o controle autonômico cardíaco se assemelham aos observados após o treinamento físico aeróbico, tanto em humanos, quanto em modelos

experimentais (NÓBREGA et al., 2001; BEHLING et al., 2003; SOARES et al., 2004; HARTHMANN et al., 2007). Entretanto, até o momento, nenhum estudo investigou os efeitos autonômicos induzidos pela estimulação colinérgica com diferentes dosagens, associada ou não ao treinamento físico aeróbio, perante a HA, tampouco os seus efeitos sobre a hemodinâmica e a funcionalidade.

Nossa hipótese, portanto, é que o tratamento dos SHR com as 2 diferentes dosagens de brometo de piridostigmina possa promover adaptações benéficas autonômicas, hemodinâmicas e morfofuncionais cardíacas, e que a associação com o treinamento físico aeróbio possa potencializar essas adaptações.

Estudar e associar as adaptações autonômicas, hemodinâmicas, funcionais e morfométricas cardíacas em SHR submetidos à estimulação colinérgica crônica, com 2 diferentes dosagens (5 e 15 mg de brometo de piridostigmina), ao treinamento físico aeróbio, utilizando diferentes enfoques:

1. Avaliação do balanço autonômico tônico da frequência cardíaca (FC) por meio do bloqueio farmacológico com atropina e propranolol;
2. Estudo do balanço autonômico fásico (variabilidade) da FC (intervalo de pulso) e pressão arterial (PA) por meio da análise espectral;
3. Análise da sensibilidade barorreflexa por meio da administração de múltiplas e aleatórias doses de fenilefrina e nitroprussiato de sódio;
4. Avaliação ecocardiográfica bidimensional;

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados para o experimento ratos do modelo SHR, todos machos, com 18 semanas de vida. Os animais foram mantidos durante o período experimental no biotério setorial do Laboratório do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo, onde permaneceram em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas à temperatura de 22 ± 1 °C, umidade relativa do ar de 55%, e livre acesso à água e comida (Nuvilab CR-1, Nuvital, Colombo, PR, Brasil). Todos os procedimentos experimentais empregados nesse projeto estão de acordo com o CEUA – Gestão em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (nº 035/2014, FMRP/USP).

Grupos experimentais

No total, foram utilizados 54 animais. Esses animais foram divididos em dois grandes grupos: sedentários (n=27) e treinados (n=27), e subdivididos em 6 grupos menores de acordo com o tratamento a que foram submetidos (água, ~ 5 mg/Kg e ~15 mg/Kg):

*** SHR-SED Veículo: (n=9)**

*** SHR-TRE Veículo: (n=9)**

*** SHR-SED ~ 5 mg/Kg: (n=9)**

*** SHR-TRE ~ 5 mg/Kg: (n=9)**

*** SHR-SED ~15 mg/Kg: (n=9)**

*** SHR-TRE ~15 mg/Kg: (n=9)**

Treinamento dos animais

O treinamento teve início na 18ª semana de vida. Os animais dos grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento aeróbio por meio da natação em 02 aquários de vidro (comprimento=120cm; largura=80cm; profundidade=80cm) contendo água aquecida (33°C), divididos em 04 compartimentos (comprimento=60cm;

largura=40cm; profundidade=80cm), permitindo o treinamento de 04 animais em cada aquário, entretanto de forma individualizada.

Figura 1: Imagem ilustrativa do aquário para o treinamento físico por meio da natação. (Fotografia: acervo pessoal).

O programa de treinamento foi realizado em duas etapas distintas envolvendo 12 semanas; a primeira etapa correspondeu a um período de adaptação ao treinamento (02 semanas) em que os animais foram treinados sem sobrecarga, 05 vezes por semana, em tempos crescentes (incremento de 5 minutos por dia), até atingirem 30 min. de treinamento diário; por sua vez, na segunda etapa (10 semanas) os animais nadaram durante 45 minutos diários, 05 vezes por semana, com sobrepesos crescentes (sem peso na 1ª e 2ª semanas; 2% do peso corporal na 3ª e 4ª semanas, 4% do peso corporal na 5ª e 6ª semanas, 6% do peso corporal na 7ª e 8ª semanas e 8% do peso corporal na 9ª e 10ª semanas) fixados na região peitoral (cinta impermeável com fecho em velcro contendo chumbo) quando necessário. A escolha do peso das sobrecargas foi baseada na avaliação da curva da concentração do lactato por meio do protocolo descrito por GOBATTO et al., 2001. Essa avaliação ocorreu em quatro momentos na segunda etapa do treinamento, ou

seja, na 3^a, 5^a, 7^a e 9^a semanas de treinamento físico, cujo objetivo foi avaliar a intensidade do treinamento físico que deverá promover concentrações de lactato por volta de 5,8 mmol/L.

Tratamento com o inibidor da acetilcolinesterase

Figura 2: Imagem ilustrativa do tratamento com brometo de piridostigmina diluído na água de beber. (Fotografia: acervo pessoal).

O tratamento farmacológico foi iniciado na 28^a semana de vida dos animais, que corresponderá nos animais treinados à 10^a semana após o início do treinamento físico, através da administração de brometo de piridostigmina (SIGMA/AUDRICH) por via oral, diluído na água de beber, por um período de 02 semanas. As concentrações foram calculadas, individualmente, no início de cada semana, para que os grupos de animais tratados com diferentes dosagens, obtenham a ingestão de ~5mg/kg e ~15mg/kg/dia. Essas dosagens foram baseadas em experimentos prévios e no estudo de SOARES et al., 2004.

Implantação de cânulas na artéria e veia femorais

No 6º dia da 30ª semana (última semana de treinamento) os animais foram anestesiados com tribromoetanol (0,1ml/Kg) para a realização do procedimento cirúrgico. A artéria e veia femorais esquerdas foram canuladas para registro direto da pressão arterial e infusão de drogas, respectivamente. As cânulas foram exteriorizadas para a região cirúrgica. Logo após o término da cirurgia, foi administrado o analgésico Banamine (0,1ml/kg) e o multibiótico para pequeno porte (0,3ml/Kg). Os animais foram alojados em caixas individuais por 24 horas para a recuperação pós-cirúrgica.

Figura 3: Desenho esquemático e ilustração do implante de cateter na veia e artéria femoral das ratas. (A) Identificação do local para dissecação da pele; (B) dissecação e isolamento da artéria e veia femoral; (C) veia femoral; (D) artéria femoral. (Desenho: S. Lacchini; Fotografia: acervo pessoal).

Protocolos experimentais:***Registro da Pressão Arterial e da Frequência Cardíaca***

Figura 4: Sistema de registro da pressão arterial pulsátil para as avaliações hemodinâmicas e autonômicas cardíacas. (Fotografia: acervo pessoal).

Passada 24 horas após o procedimento cirúrgico de canulação, a PA pulsátil (PAP) foi registrada por meio de um sistema digital de aquisição de sinais biológicos, composto por um transdutor de pressão (ADInstruments Austrália – MLT0380) e um amplificador de sinais (ADInstruments, Austrália - ML110) acoplado a um sistema de aquisição computadorizada (ADInstruments, Austrália - PowerLab 8/30). O sinal da PA foi adquirido usando a frequência de amostragem de 2KHz. Já a FC e a PA média (PAM) foram aferidas a partir da PAP por meio do software (PowerLab – Chart 7 – ADInstruments, Austrália). Durante esse registro, foi realizado o protocolo experimental para a avaliação da variabilidade cardiovascular, teste do reflexo barorreceptor e duplo bloqueio autonômico farmacológico. Ao final do protocolo, os animais foram anestesiados por sobre dose de anestésico administrado via endovenosa.

Estudo da sensibilidade do reflexo barorreceptor por meio da administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (NPS)

O estudo da sensibilidade do reflexo barorreceptor foi realizado em todos os grupos experimentais com os animais acordados. No dia anterior ao experimento, os animais tiveram canuladas a veia e a artéria femorais para injeção de drogas e registro da pressão arterial média (PAM). As diferentes concentrações de drogas injetadas foram padronizadas para 0,03 ml de solução. Foram utilizadas múltiplas drogas alternadas e aleatórias de fenilefrina (0,5 a 16 µg/kg) e nitroprussiato de sódio (NPS) (0,1 a 32 µg/kg), e para cada animal foram obtidas, pelo menos, 5 diferentes respostas que variaram de 0 até 50 mmHg (Δ PAM), tanto para respostas hipertensoras (fenilefrina) como hipotensoras (NPS). Antes do início do experimento, os animais tiveram a cânula da artéria femoral conectada ao sistema de registro, e a cânula da veia femoral conectada à extensão de PE-10 de aproximadamente 30 cm de comprimento. Após as conexões, os animais permaneceram em observação por um período variável (15-30 minutos) até que se adaptem ao ambiente. As injeções das substâncias vasoativas somente foram realizadas quando os animais estivessem tranquilos e o registro da PA e FC estáveis. Antes da injeção de cada dose da substância vasoativa, foi registrado a PA controle e após cada uma delas, era esperado que a PA e FC voltassem a níveis basais antes da próxima injeção. Foram utilizadas as alterações da FC consequentes das elevações e das diminuições da PA após infusão, respectivamente, de fenilefrina e NPS, para verificar a sensibilidade do reflexo (bpm/mmHg). As variáveis da FC induzidas pelas variações da PAM foram analisadas graficamente por meio de uma regressão linear e, ainda, por meio de uma equação logística sigmoideal (barocurva) o que permite a comparação da sensibilidade do reflexo barorreceptor nos diferentes grupos.

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

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o tônus vagal e simpático nos diferentes grupos e suas eventuais alterações. Foram administradas as drogas, atropina (4mg/kg) e propranolol (5mg/kg) para bloquear, respectivamente, o vago e o simpático. Antes dos experimentos, a FC basal foi registrada por cerca de 30 minutos e, a seguir, foram feitas as injeções das respectivas drogas. A FC controle foi registrada por 30 minutos e, logo após foi injetada a atropina (4mg/kg). A FC foi registrada por 15 minutos a fim de se obter um índice de controle vagal na determinação da FC basal. Logo após, foi administrado o propranolol (5mg/kg) e a FC foi registrada por mais 15 minutos, a fim de se obter a frequência intrínseca de marcapasso. Os resultados dos protocolos atropina/propranolol e propranolol/atropina foram considerados separadamente, exceto quanto à FC basal (antes de qualquer bloqueio), a qual foi apresentada como a média de ambos os protocolos.

Análise Espectral da Variabilidade do Intervalo de Pulso (IP) e Pressão Arterial Sistólica (PAS)

A análise da variabilidade do IP e PAS foi realizada sobre o registro basal de 30 minutos obtidos antes do bloqueio farmacológico com atropina e propranolol. Para tanto, foram obtidos os pontos de inflexão, ciclo a ciclo, do pulso arterial, determinando os valores sistólicos da PA. A série temporal do IP será gerada a partir do sinal pulsátil da PAS medindo-se o tempo entre os picos sistólicos adjacentes, batimento a batimento. As séries temporais geradas do IP e PAS foram divididas em segmentos seriados de 300 batimentos, com sobreposição de 50% entre os segmentos adjacentes. Após o cálculo das médias e da variância de cada segmento, estes foram submetidos à análise espectral através

do método auto regressivo, conforme descrito na literatura (MALLIANI et al., 1991; TASK FORCE, 1996). Usando segmentos estacionários das séries temporais, parâmetros auto regressivos foram estimados através do método de Levinson-Durbin, e a ordem do modelo será escolhida de acordo com o critério de Akaike. Em seguida, sobre cada segmento estacionário individual de 300 batimentos, a decomposição espectral foi realizada mediante uso de software apropriado (software LA24, Universidade de Milão, Itália). Este procedimento permite uma quantificação automática do eixo da frequência e da potência de cada componente oscilatório relevante, presentes nas séries temporais. Os componentes oscilatórios foram classificados em: muito baixa frequência (very low frequency - VLF; 0.01 – 0.20 Hz), baixa frequência (low frequency - LF; 0.20 – 0.75 Hz) e alta frequência (high frequency - HF; 0.75 – 2.50 Hz). A potência das oscilações de LF e HF da VFC também foi expressa em unidades normalizadas, obtida através do cálculo da razão entre o valor da potência da banda, LF ou HF, pela potência espectral total após a subtração dos valores de VLF, multiplicando-se o resultado por 100. 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).

Avaliação morfofuncional do ventrículo esquerdo mediante o emprego da ecocardiografia bidimensional convencional

Este protocolo foi realizado no Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ USP, utilizando o ecocardiógrafo para pequenos animais (Sistema de Ultrassom VeVo 2100, Visualsonics Inc.). Esse equipamento foi concedido pela FAPESP por meio do projeto Multiusuários (2009-54010-1).

A imagem ultrassonográfica das estruturas cardíacas é amplamente reconhecida por proporcionar uma das mais acuradas medidas não invasiva para caracterização da massa ventricular e análise da função cardíaca em humanos (DEVEREUX & REICHEK, 1977; DEVEREUX et al., 1986; DEVEREUX, 1987). O aparelho de ecocardiograma produz imagens por meio da emissão de ondas de som que, ao incidirem nos tecidos, são refletidas em ângulos que dependem diretamente das características físicas dos mesmos. As ondas, ao retornarem (eco) ao transdutor, são processadas e representadas graficamente na forma de imagens que são apresentadas em monitores de vídeo ou impressas.

Em animais de experimentação, o uso do ecocardiograma como metodologia não invasiva para a análise da função e das estruturas cardíacas, também vem se tornando rotina, graças ao avanço tecnológico e desenvolvimento de transdutores ultrassonográficos com frequências maiores, que proporcionam uma resolução adequada a pequenas estruturas (PAWLUSH et al., 1993). Essa prática vem sendo amplamente utilizada em estudos que requeiram análise anátomo funcional do sistema cardiovascular no acompanhamento de determinadas doenças, justamente por permitir a sobrevivência do animal até o final do experimento.

Além disso, a associação dos estudos ecocardiográficos aos celulares tem permitido o melhor entendimento do processo de remodelamento do cardíaco em modelos experimentais (KAGAYA et al., 1996).

O ecocardiograma seguiu as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SAHN et al., 1978), com o objetivo de avaliar os seguintes parâmetros:

Morfológicos:

- Diâmetro diastólico final do VE (DDVE)
- Diâmetro sistólico final do VE (DSVE)

- Espessura do septo interventricular (SIV)
- Espessura da parede posterior do VE (PP)
- Espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo (ERP);
- Massa ventricular esquerda corrigida pelo peso corporal (MVE/peso).

Funcionais:

- Fração de ejeção do VE (FE%);
- Fração de encurtamento do VE ($\Delta D\%$);
- Volume diastólico final (VDVE)
- Volume sistólico final do VE (VSVE)

Figura 5: Imagens ilustrativas do exame de ecocardiografia. (A) Preparo da pele; (B) posicionamento do animal; (C) e (D) aquisição de dados e imagens. (Fotografias: acervo pessoal).

Procedimentos do protocolo do ecocardiograma:

Após anestesia com isoflurano, os animais tiveram a região torácica devidamente tricotomizada e foram mantidos em decúbito dorsal para a realização do exame. Foi utilizado o aparelho de ultrassom Sonos 5500, *Philips* (Andover, MA), com transdutor de 12 MHz que permite a obtenção de imagens bidimensionais (modo bi ou 2D) e monodimensionais (modo M). O modo 2D permitiu a avaliação da contração global e segmentar do ventrículo esquerdo em tempo real; o modo M foi utilizado para a medida das dimensões do ventrículo esquerdo, e sua vantagem consiste no fato de possuir alta resolução temporal, a qual permite o registro do ciclo cardíaco completo. As imagens obtidas pelo modo 2D e modo M foram feitas utilizando como referencial anatômico o plano transversal e o corte paraesternal, ao nível dos músculos papilares, com uma velocidade de varredura de 100-150 mm/s (taxa adequada a um animal de frequência cardíaca de 300 bpm). As melhores imagens foram usadas para avaliação *off-line* da função ventricular. A realização do exame e das medidas foi feita sempre pelo mesmo observador. A partir da projeção paraesternal do eixo curto do ventrículo esquerdo, ao nível dos músculos papilares, foi usado o modo-M, para quantificação das dimensões do septo interventricular (SIV) e parede posterior (PP), assim como das dimensões da cavidade do ventrículo esquerdo em diástole (DDVE) e sístole (DSVE), todos expressos em milímetros (mm).

A massa ventricular esquerda foi obtida a partir da fórmula validada em ratos: $1,047 \times [(DDVE+PP+SI)^3 - DDVE^3]$, onde: 1,047 representa a densidade do miocárdio (FARD et al., 2000; BARAUNA et al., 2007; WICHI et al., 2007). Após a obtenção desta medida, este valor foi corrigido pelo peso corporal (valor absoluto/peso corporal do animal).

Outro importante índice morfológico avaliado, fornecido pelo ecocardiógrafo, para caracterização da hipertrofia cardíaca (excêntrica/concêntrica) foi a espessura relativa da parede (ERP), cuja fórmula é: $2 \times PP / DDVE$ (PP: parede posterior do VE em diástole; DDVE: diâmetro diastólico do VE).

Os valores referentes aos diâmetros da cavidade ventricular esquerda, em sístole e em diástole, foram utilizados para estimativa da função sistólica do ventrículo esquerdo, por meio da fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (Delta D). A fração de ejeção (FE) foi estimada pelo modo de Teichholz (TEICHHOLZ et al., 1976) e expressa em porcentagem (%). Todos os valores expressos representam a média de três valores consecutivos obtidos para cada animal.

Abaixo estão descritas as fórmulas que o aparelho de ecocardiografia utiliza para calcular os valores do Delta D e da fração de ejeção do ventrículo esquerdo:

- a) $\Delta D (\%) = (DDVE - DSVE / DDVE) \times 100$
- b) $FE (\%) = (VDVE - VSVE / VDVE) \times 100$
- c) $\text{Volume diastólico} = DDVE^3 \times (7 / 2,4 + DDVE)$
- d) $\text{Volume sistólico} = DSVE^3 \times (7 / 2,4 + DSVE)$

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. Inicialmente, foi determinada a normalidade dos dados, e, 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 for normal, foram utilizados testes não paramétricos, na comparação entre dois grupos, o teste de Mann-Whitney, e na

comparação entre três ou mais grupos o teste de Kruskal-Wallis. As proporções foram comparadas pelo teste do χ^2 , acompanhado do teste exato de Fisher. Para verificar as correlações entre as variáveis hemodinâmicas, morfofuncionais e autonômicas cardíacas foi utilizado o coeficiente de correlação de *Pearson* para dados paramétricos e para casos onde a distribuição dos dados seja não paramétrica foi adotado o Spearman. Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que p for menor que 5%.

RESULTADOS

❖ Ratos SHR H₂O Vs. 5 mg PYR Vs. 15 mg PYR, sedentários e treinados.

1. Pressão arterial sistólica, diastólica e média

A figura 6 e a tabela 1 mostram os resultados da PA nos ratos SHR tratados e treinados. Pode-se observar que os valores da PAS, PAD e PAM diminuíram com o tratamento de PIR tanto na dosagem de 5 quanto a de 15 mg, entretanto a de 15mg teve uma redução ainda maior. Da mesma forma, quando os ratos praticaram por 10 semanas o treinamento físico aeróbio, essa redução foi potencializada tanto no de 5 mg quanto no de 15 mg, quando comparado aos seus respectivos grupos controle.

Figura 6. (A) Valores da pressão arterial sistólica (PAS), (B) diastólica (PAD) e (C) média (PAM) obtidos em todos os grupos SHR, treinados e sedentários. Os valores estão apresentados como médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.

Tabela 1. Valores pressóricos basais dos grupos SHR tratados com brometo de piridostigmina, sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Tratamento	Fator Treinamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
PAS, mmHg	191 ± 1	169 ± 1 ^a	175 ± 2	158 ± 2 ^b	166 ± 2	136 ± 2 ^{cde}	<0.001	<0.001	NS
PAD, mmHg	152 ± 3	145 ± 2	140 ± 1 ^a	130 ± 2 ^b	130 ± 4 ^a	107 ± 3 ^{cde}	<0.001	<0.001	NS
PAM, mmHg	165 ± 2	153 ± 1 ^a	152 ± 2 ^a	139 ± 2 ^b	146 ± 3 ^a	118 ± 1 ^{cde}	<0.001	<0.001	NS

PAS: Pressão arterial sistólica, PAD: Pressão arterial diastólica, PAM: Pressão arterial média; mmHg: milímetros de mercúrio. Os valores estão expressos em médias ± EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado. NS: não significativo.

2. Valores da frequência cardíaca basal e intrínseca e o duplo bloqueio autonômico farmacológico – Balanço simpátovagal

A figura 7 e a tabela 2 mostram os resultados obtidos após o duplo bloqueio autonômico farmacológico com atropina e propranolol.

A FC basal diminuiu nos grupos sedentários tratados com 5 e 15 mg de brometo de piridostigmina quando comparado ao seu grupo controle. Da mesma forma que foi observada uma diminuição dos valores dos grupos treinados e tratados com ambas as doses de PIR. Já quando essa comparação é feita inter grupos, podemos verificar que essa diminuição é ainda maior, provando que a ação do medicamento juntamente com o treinamento de 10 semanas potencializou o efeito sobre a FC basal. Entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos quando comparado a FC intrínseca.

Quando analisado administração de atropina, foi observado menores variações da FC basal nos grupos tanto tratados-sedentários quanto tratados-treinados em relação a administração de propranolol, indicando uma predominância do componente autonômico simpático na determinação da FC basal.

Figura 7. (A) Valores médios da FC basal e (B) FC intrínseca, antes e após o duplo bloqueio farmacológico com (C) metil-atropina (efeito vagal) e (D) propranolol (efeito simpático). FC: frequência cardíaca. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus H₂O-Sedentário; ^bP<0,05 versus H₂O-Treinado; ^cP<0,05 versus 5mg-Treinado; ^dP<0,05 versus 15mg-Treinado.

Tabela 2. Variações absolutas (Δ) e percentuais (%) da frequência cardíaca (FC) após o duplo bloqueio autonômico cardíaco com atropina e propranolol, e valores da frequência cardíaca intrínseca (FCi) e a frequência cardíaca basal (FCb), em animais SHR sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Hipertensão	Fator Treinamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Parâmetros Basais									
FC basal, bpm	379 $\pm$ 5	350 $\pm$ 7 ^a	344 $\pm$ 10 ^a	335 $\pm$ 7 ^{bd}	326 $\pm$ 4 ^{ab}	314 $\pm$ 1d ^{cde}	NS	0.002	NS
FC intrínseca, bpm	307 $\pm$ 7	300 $\pm$ 16	299 $\pm$ 13	298 $\pm$ 5	296 $\pm$ 12	278 $\pm$ 7	NS	NS	NS
Efeito Vagal									
FC após atropina, bpm	397 $\pm$ 4	379 $\pm$ 5 ^a	376 $\pm$ 3 ^a	362 $\pm$ 3 ^{bd}	357 $\pm$ 5 ^a	360 $\pm$ 2	NS	NS	NS
% FC após atropina, bpm	20 $\pm$ 2	37,5 $\pm$ 0,3	30 $\pm$ 0,8	35,5 $\pm$ 1	49 $\pm$ 3	57 $\pm$ 4	NS	NS	NS
Efeito Simpático									
FC após Propranolol, bpm	331 $\pm$ 5	330 $\pm$ 5	305 $\pm$ 2 ^a	295 $\pm$ 4b ^d	285 $\pm$ 2 ^a	291 $\pm$ 2 ^d	NS	NS	NS
% FC após propranolol, bpm	80 $\pm$ 6	62,5 $\pm$ 2	70 $\pm$ 8	65,5 $\pm$ 10	51 $\pm$ 5	43 $\pm$ 6	NS	NS	NS

Frequência cardíaca basal (FCb) e frequência cardíaca intrínseca (FCi). mmHg, milímetros de mercúrio; bpm, batimentos por minuto. Os valores estão apresentados como médias $\pm$ EPM. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. FC: frequência cardíaca. ^aP<0,05 versus H₂O-Sedentário; ^bP<0,05 versus H₂O-Treinado; ^cP<0,05 versus 5mg-Treinado; ^dP<0,05 versus 15mg-Treinado. NS: não significativo.

3. Sensibilidade barorreflexa

Os resultados obtidos mostram os valores da sensibilidade barorreflexa após a administração de nitroprussiato de sódio e fenilefrina. Foi observado um aumento da resposta da FC após a administração de fenilefrina e uma diminuição quando aplicado o nitroprussiato de sódio nos grupos tratados (5 e 15 mg PIR) e treinados, mostrando semelhantes ganhos tanto para as resposta taquicárdicas (nitro), quanto bradicárdicas (fenil).

Figura 8. Valores do ganho da sensibilidade barorreflexa após a administração de (A) fenilefrina (bradicardia) e (B) nitroprussiato de sódio (taquicardia). Bpm: batimento por minuto; mmHg: milímetro de mercúrio. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. FC: frequência cardíaca. . ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.

Tabela 3. Valores médios dos índices barorreflexos sobre o ganho negativo (nitroprussiato de sódio) e ganho positivo (fenilefrina), em ratos SHR sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Hipertensão	Fator Tratamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Ganho negativo (bpm/mmHg)	1,2 ± 0,7	0,87 ± 0,1 ^a	1,67 ± 0,1	1,18 ± 0,04 ^d	2,02 ± 0,3	1,65 ± 0,2 ^{de}	NS	NS	NS
Ganho Positivo (bpm/mmHg)	-1,16 ± 0,1	-0,90 ± 0,1 ^a	-1,12 ± 1	-1,05 ± 0,05 ^b	-1,63 ± 0,2 ^{ab}	-1,13 ± 0,2 ^{de}	NS	NS	NS

BPM: batimento por minuto; mmHg: milímetro de mercúrio. Os valores estão expressos em médias ± EPM. FC: frequência cardíaca. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado. NS: não significativo.

4. Análise Espectral da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)

A tabela 4 e a figura 9 mostram os resultados da análise da VFC no domínio da frequência. Os resultados da variância representados na figura 9A não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Entretanto, na figura 9 B, na qual mostram os resultados das bandas de LF em valores absolutos, verificamos um aumento dos grupos TRE 5 e 15 mg PIR quando comparado ao grupo TRE-Veículo. Da mesma forma que houve um aumento de LF em valores absolutos quando comparado o grupo TRE-5mg com o SED-5mg,

Já os resultados obtidos na banda HF em valores absolutos foi observado um aumento dos grupos SED e TRE 15 mg em relação tanto ao grupo veículo quanto ao grupo 5 mg PIR (Figura 9 C).

A Figura 9 D representa a banda LF em unidade normalizada e houve um aumento dos valores do grupo SED-15mg quando comparado ao SED-Veiculo e ao 5 mg. Quando comparado inter grupos, houve diferença apenas entre os grupos SED-15mg e TRE-15mg.

Figura 9. Variabilidade da frequência cardíaca (VFC) no domínio da frequência, obtidos em todos os grupos SHR, treinados e sedentários. (A) Variância, (B) LF, ms^2 - oscilações de baixa frequência em valores absolutos, (C) HF, ms^2 - oscilações de alta frequência em valores absolutos; (D) LF, un - oscilações de baixa frequência em unidades normalizadas; (E) HF, un - oscilações de alta frequência em unidades normalizadas. ms, milissegundos; un, unidades normalizadas. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. FC: frequência cardíaca. ^a $P < 0,05$ versus Veículo-Sedentário; ^b $P < 0,05$ versus Pir-5mg-Sedentário; ^c $P < 0,05$ versus Pir-15mg-Sedentário; ^d $P < 0,05$ versus Veículo-Treinado; ^e $P < 0,05$ versus Pir-5mg-Treinado.

Tabela 4. Valores da variabilidade da frequência cardíaca, no domínio da frequência em animais SHR, sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Tratamento	Fator Treinamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Variância, ms ²	33 ± 5	44 ± 6	39 ± 3	52 ± 4	42 ± 1	55 ± 2	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
LF, ms ²	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,7	1,6 ± 0,4	2,3 ± 0,3 ^{bd}	2,1 ± 0,04	2,7 ± 0,3 ^d	0.021	<i>NS</i>	<i>NS</i>
HF, ms ²	6,0 ± 0,4	5,2 ± 1	6,4 ± 0,3	6,1 ± 0,7	12,8 ± 0,8 ^{ab}	7,0 ± 0,7 ^{cd}	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
LF, %	20,3 ± 2	25,0 ± 3 ^a	20,9 ± 3	27 ± 3	15,4 ± 1 ^{ab}	27,5 ± 1 ^c	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
HF, %	79,6 ± 2	75 ± 3	79,0 ± 3	73,0 ± 3	84,6 ± 1	72,5 ± 3 ^c	0.003	<i>NS</i>	<i>NS</i>
LF/HF	0,3 ± 0,09	0,4 ± 0,09	0,3 ± 0,08	0,3 ± 0,05 ^c	0,4 ± 0,05	0,6 ± 0,04 ^{bc}	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>

Variância, oscilações da VFC de baixa (LF) e alta frequência (HF) em valores absolutos (ms²) e unidades normalizadas (un), razão LF/HF e variância. ms, milissegundo; un, unidades normalizadas; mmHg, milímetro de mercúrio. Os valores estão apresentados como média ± EPM. LF: low frequency; HF: high frequency; ms²: milissegundo ao quadrado; LF/HF: razão de LF/HF. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado. *NS*: não significativo.

5. Análise Espectral da Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica (VPAS)

A figura 10 e a tabela 5 mostram os resultados da análise da variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS). Pode ser observado um aumento tanto da banda LF quanto da banda HF nos grupos tratados-sedentários 5 e 15 mg PIR quando comparado ao grupo SED-Veículo. Agora quando analisado o grupo tratado-treinado houve diferença estatística entre os grupos 5 e 15 mg PIR em relação ao seu respectivo grupo controle. Já os resultados da variância mostram um aumento significativo dos valores dos grupos SED e TRE 15mg de PIR quando comparado tanto ao veículo quanto aqueles que tomaram 5 mg de PIR dos seus respectivos grupos.

Figura 10. Variabilidade da pressão arterial sistólica (VPAS) em valores absolutos (mmHg²), (A) Variância, (B) LF e a (C) HF, nos grupos WKY e SHR sedentários e treinados. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.

Tabela 5. Valores da variabilidade da pressão arterial em ratos SHR, tratados com brometo de piridostigmina, sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Tratamento	Fator Treinamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Variância, mmHg	19 ± 4	27 ± 1	26 ± 2	34 ± 1	43 ± 0,8 ^{ab}	45 ± 3 ^{de}	0.031	NS	NS
LF, mmHg ²	7,0 ± 0,3	5,2 ± 0,3 ^a	8,5 ± 0,4 ^a	9,8 ± 0,3 ^d	9,0 ± 0,9 ^a	13,1 ± 0,9 ^{cd}	0.013	0.002	NS
HF, mmHg ²	16,2 ± 0,3	12,1 ± 0,3 ^a	17,3 ± 0,6 ^a	19,0 ± 0,d ^b	19,4 ± 0,1 ^a	21,9 ± 0,7 ^{cd}	<0.001	0.024	NS

Os valores estão expressos em médias ± EPM. LF: low frequency; HF High frequency; mmHg: milímetros de mercúrio. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado. NS: não significativo.

6. Avaliação morfofuncional do ventrículo esquerdo mediante o emprego da ecocardiografia bidimensional convencional

- Resultados da Função Cardíaca

A figura 11 e 12 e a tabela 6 mostram os resultados da função cardíaca por meio da ecocardiografia bidimensional. Os resultados mostraram que a FC aumentou nos grupos sedentários e tratados com 5 e 15 mg PYR quando comparado ao TRE-Veículo. Já o VE e apresentou um aumento no grupo TRE-15mg em relação aos grupos SED-Veículo, SED-5mg e TRE-5mg. Da mesma forma que foi observada no índice Cardíaco, na qual o grupo TRE-15mg aumentou quando comparado ao TRE-5mg. Já quando analisado o DC esse aumento foi ainda mais significativo em relação a todos os grupos estudados, menos quando comparado ao grupo TRE-Veículo.

Já a figura 12 A mostra os resultados da fração de ejeção, e pode-se observar um aumento dos valores nos grupos TRE-5mg quando comparado ao grupo SED-5mg, e um aumento do grupo TRE-15mg em relação ao grupo TRE-5mg. Sobre os valores da fração de encurtamento (Figura 12 B) houve diferença estatística apenas quando comparado o grupo SED-5mg ao grupo TRE-Veículo.

No volume diastólico final verificou-se um aumento no grupo TRE-15mg quando comparado aos grupos SED e TRE-5mg.

Figura 11. Valores funcionais obtidos pela ecocardiografia em ratos SHR e WKY, sedentários e treinados. (A) Frequência cardíaca (FC), (B) Volume de Ejeção (VE), (C) Débito Cardíaco (DC), (D) Índice Cardíaco (IC). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.

Figura 12. Valores funcionais pela ecocardiografia em todos os ratos SHR, sedentários e treinados. (A) Fração de Ejeção (FE), (B) Fração de encurtamento (FEN), (C) Volume Diastólico Final (VDF), (D) Volume Sistólico Final (VSF). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. μL : microlitros; mL: mililitros; g: gramas; min: minutos. ^a $P < 0,05$ versus Veículo-Sedentário; ^b $P < 0,05$ versus Pir-5mg-Sedentário; ^c $P < 0,05$ versus Pir-15mg-Sedentário; ^d $P < 0,05$ versus Veículo-Treinado; ^e $P < 0,05$ versus Pir-5mg-Treinado.

Tabela 6. Valores funcionais obtidos por meio da ecocardiografia dos grupos SHR, sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Tratamento	Fator Treinamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
FC da Ecocardiografia, bpm	305 ± 13	311 ± 13 ^a	347 ± 16	308 ± 16 ^b	359 ± 6	298 ± 7	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
VE, µL	206 ± 13	242 ± 13 ^a	222 ± 19	195 ± 19	238 ± 11	264 ± 15 ^c	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
DC, mL/min	62 ± 4	74 ± 6	66 ± 5	59 ± 3	73 ± 6	91 ± 5 ^c	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
IC, mL/g	0,33 ± 0,09	0,36 ± 0,03	0,30 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,40 ± 0,06	0,44 ± 0,02 ^{ce}	<i>NS</i>	0.041	<i>NS</i>
FE, %	76 ± 1	73 ± 1	61 ± 2 ^a	65 ± 3 ^b	73 ± 1	75 ± 2	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
FENC, %	33 ± 1	30 ± 0,7	36 ± 1	25 ± 1 ^b	30 ± 1	32 ± 1	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
VDF, µL	299 ± 30	328 ± 36	225 ± 11	289 ± 9 ^d	301 ± 27	350 ± 22 ^{ce}	<i>NS</i>	0.023	<i>NS</i>
VSF, µL	65 ± 7	86 ± 12	43 ± 1	106 ± 17	72 ± 4	85 ± 10	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>

Os valores estão expressos em médias ± EPM. Os valores estão expressos em médias ± EPM. FC: frequência cardíaca; VE: volume de ejeção; DC: Débito Cardíaco; IC: Índice Cardíaco; FE: Fração de ejeção; FENC: Fração de encurtamento; VDF: Volume diastólico final; VSF: volume sistólico final; µL: microlitros; mL: mililitros; g: gramas; min: minutos. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado. *NS*: Não significativo.

- Resultados da Morfologia Cardíaca

A figura 13 e 14 e a tabela 7 revelam os resultados da morfologia cardíaca dos grupos SHR treinados e tratados com 2 dosagens de PYR. Pode ser observado na figura 13 B um aumento da massa do ventrículo esquerdo no grupo TRE-15mg em relação aos grupos TRE-H₂O. Já a massa do ventrículo esquerdo corrigido foi maior nos grupos treinados e tratados com 5 e 15 mg quando comparado tanto ao grupo SED quanto ao grupo TRE-Veículo.

Os valores da área do ventrículo esquerdo em diástole aumentaram nos grupos treinados 5 e 15 mg quando comparado aos grupos controles (SED e TRE-Veículo). Enquanto que os resultados da área do ventrículo esquerdo em sístole aumentaram no grupo TRE-5mg em relação ao grupo TRE-Veículo.

Os valores da espessura da parede posterior em sístole foi maior nos grupos TER-5 e 15 mg PIR quando comparado ao grupo TRE-Veículo, diferente do observado na comparação entre os grupos SED-Veículo e TRE-Veículo, na qual o treinamento promoveu uma diminuição do índice analisado.

Os valores da espessura do septo intraventricular em sístole foram menores no grupo TRE-H₂O quando comparado ao seu respectivo grupo controle, os demais valores não apresentaram diferença estatisticamente significantes.

Figura 13. Ecocardiografia dos valores morfológicos de todos os ratos SHR, sedentários e treinados. (A) frequência cardíaca (FC); (B) massa ventrículo esquerdo (MVE); (C) massa ventrículo esquerdo corrigido (MVEC); (D) área do ventrículo esquerdo em diástole (AVED); (E) área do ventrículo esquerdo em sístole (AVES); (F) espessura relativa da parede (ERP). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.

Figura 14. Ecocardiografia dos valores morfológicos de todos os ratos SHR, sedentários e treinados. (A) diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole (DIVED); (B) diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole (DVIES); (C) espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em diástole (EPPVED); (D) espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole (EPPVES); (E) espessura do septo intraventricular em diástole (ESIVD), (F) espessura do septo intraventricular em sístole (ESIVS). Os valores estão expressos em médias $\pm$ EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.

Tabela 7. Ecocardiografia dos valores morfológicos dos grupos SHR, sedentários e treinados.

	SHR-Veículo		SHR-5mg		SHR-15mg		Fator Tratamento	Fator Treinamento	Interação
	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	Sedentário	Treinado	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>P</i>
Peso (g)	201 ± 4	203 ± 3	209 ± 3	201 ± 3	210 ± 3	206 ± 2	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
MVE, mg	500 ± 21	527 ± 32	427 ± 8 ^a	625 ± 24 ^{bd}	591 ± 81 ^c	695 ± 23 ^{cd}	0.039	0.021	<i>NS</i>
MVEC, mg/g	1,86 ± 0,08	1,99 ± 0,2	2,81 ± 0,01 ^a	3,11 ± 0,1 ^d	3,10 ± 0,3 ^a	3,36 ± 0,d ^b	0.022	0.040	<i>NS</i>
AVED, mm ² /Kg	363 ± 7	376 ± 35	394 ± 29	462 ± 14 ^d	400 ± 29	472 ± 21 ^d	<i>NS</i>	0.032	<i>NS</i>
AVES, mm ² /Kg	259 ± 8	281 ± 12	248 ± 17	319 ± 1b ^b	201 ± 17 ^a	301 ± 10 ^c	<i>NS</i>	0.011	<i>NS</i>
ERP, mm/Kg	0,5 ± 0,01	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,46 ± 0,01	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
DIVED, mm/Kg	32 ± 0,8	28 ± 0,2 ^a	31 ± 0,1	34 ± 0,8 ^d	32 ± 1	33 ± 0,5 ^d	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
DIVES, mm/Kg	21 ± 0,7	18 ± 0,8	19 ± 0,1	25 ± 0,1 ^{bd}	23 ± 1 ^b	32 ± 0,6	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
EPPVED, mm/Kg	5,4 ± 0,1	5,5 ± 0,4 ^a	7,3 ± 0,2	7,7 ± 0,3 ^d	7,0 ± 0,2	7,6 ± 0,2 ^d	0.041	0.022	<i>NS</i>
EPPVES, mm/Kg	9,0 ± 0,72	10 ± 0,5	10 ± 0,4	11 ± 0,5	9,2 ± 0,2	11 ± 0,5 ^c	<i>NS</i>	0.031	<i>NS</i>
ESIVD, mm/Kg	7,3 ± 0,1	5,0 ± 0,2 ^a	6,0 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,2 ± 0,1	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
ESIVS, mm/Kg	10,1 ± 0,3	8,0 ± 0,2 ^a	10,1 ± 0,1	8,1 ± 0,4	8,6 ± 0,1 ^a	9,2 ± 0,1	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>

Os valores estão expressos em médias ± EPM. ^aP<0,05 versus Veículo-Sedentário; ^bP<0,05 versus Pir-5mg-Sedentário; ^cP<0,05 versus Pir-15mg-Sedentário; ^dP<0,05 versus Veículo-Treinado; ^eP<0,05 versus Pir-5mg-Treinado.. *NS*: Não significativo.

Este estudo propõe estudar o efeito do treinamento físico aeróbico com duração de 10 semanas e verificar seus efeitos autonômicos, hemodinâmicos e morfofuncionais, em ratos SHR tratados com 5 e 15 mg de brometo de piridostigmina e verificar a eficácia que o tratamento promoveu, além de observarmos se com o treinamento físico essas melhorias foram potencializadas.

Atualmente, esta bem estabelecida na literatura que existem grandes adaptações decorrentes do treinamento físico aeróbico no sistema cardiovascular, dentre estas adaptações, é importante ressaltar a redução de parâmetros hemodinâmicos, o DC, a FC de repouso, a resistência vascular periférica, e a adequação dos mecanismos de sensibilidade barorreflexa, principalmente em indivíduos hipertensos, reduzindo os níveis tensionais da PA. (BRUM et al., 2000; GANDO et al., 2010; KRIEGER, 1989; MORTARA et al., 1997; THIJSEN et al., 2010). Esse aumento da resistência vascular periférica, responsável pela manutenção dos níveis pressóricos elevados na HA primária, é consequência de alterações estruturais e funcionais na microcirculação, que regulam o fluxo sanguíneo e a PA (LEVY et al., 2001; FEIHL et al., 2006). Estudos mostram que a redução da PA induzida pelo treinamento físico em SHR foi correlacionada com a normalização de ambos, considerando tanto a razão parede/luz vascular, quanto um aumento da razão capilar por fibra no músculo esquelético (AMARAL et al., 2000; MELO et al., 2003).

Tendo em vista o que foi dito anteriormente, os resultados hemodinâmicos do nosso estudo mostraram que os valores da PAS, PAD e PAM diminuíram com o tratamento com o inibidor de acetilcolinesterase, tanto na dosagem de 5 quanto a de 15 mg, entretanto pode-se observar que a dosagem de 15mg resultou em uma redução ainda

maior. Da mesma forma, quando os ratos foram submetidos a 10 semanas o treinamento físico aeróbio, por meio da natação, na qual essa redução foi potencializada tanto no de 5 mg quanto no de 15 mg, quando comparado aos seus respectivos grupos. Essa redução dos níveis pressóricos está condizente com estudos anteriores feitos em indivíduos hipertensos, assim como em ratos jovens SHR submetidos ao treinamento físico aeróbio. Para evidenciar os mecanismos envolvidos na atenuação da PA induzida pelo exercício, podemos destacar a redução do débito cardíaco verificado em animais treinados, visto que tal redução da FC poderia justificar o efeito do exercício aeróbico em diminuir o débito cardíaco e, conseqüentemente, a PA (HORTA et al., 2005). Outro fator responsável pela diminuição dos valores pressóricos de SHR treinados poderia ser a atenuação RVP total, pelo aumento da complacência vascular, principalmente arterial, induzida pelo exercício.

Com relação aos valores da FC basal e FC intrínseca e o duplo bloqueio autonômico farmacológico, ambos os tratamentos, brometo de piridostigmina (5 e 15 mg PYR) e treinamento físico, foram capazes de reduzir a FC basal, e a associação entre os dois tratamentos também potencializou a bradicardia em relação aos demais. Por sua vez a FC intrínseca foi significativamente menor nos dois grupos treinados. A causa da redução da FC pode estar associada com a maior biodisponibilidade da acetilcolina na fenda sináptica, alterando o eixo do balanço simpátovagal cardíaco. Além disso, essa bradicardia de repouso é uma característica de adaptação ao organismo ao treinamento aeróbico e é considerada como marcador de treinamento físico. Resultados similares foram descritos em experimentos prévios feitos por Zamo et al. (2004) nos quais os SHR treinados jovens apresentaram bradicardia de repouso após protocolo de exercício e que essa bradicardia foi mantida a partir da quarta semana de treinamento

(MADEIROS et al., 2000; AMARAL et al., 2001). Outro estudo realizado por Medeiros et al. (2000) relataram que a bradicardia de repouso decorrente do treinamento por natação não acontece pela diminuição da atividade simpática ou pela diminuição da FC do coração, mas devido ao aumento do tônus vagal. Outra explicação cabível para esse caso ocorre por meio de um rearranjo autonômico cardíaco caracterizado pelo maior predomínio tônico do componente autonômico parassimpático sobre o componente simpático, associado à redução da FC intrínseca encontrada nesses animais (ZUCKER et al., 2004; MUELLER & HASSER, 2005). De acordo com a literatura, essas adaptações parecem decorrentes de alterações em sítios de controle cardiovascular, principalmente em regiões centrais, como o hipotálamo, núcleo do trato solitário e a medula ventrolateral, tanto por meio do remodelamento neural, quanto por meio da ação de fatores endógenos (TEZINI et al., 2009, DE ABREU et al., 2009; FELIX & MICHELINI, 2007).

O método mais antigo e mais utilizado principalmente na experimentação animal foi descrito em 1969 por Smyth HS et al. (1969) e consiste em injetar endovenosamente doses crescentes de uma substância pressora (fenilefrina), produzindo aumentos da PA que estimula os pressorreceptores arteriais e reflexamente induz reduções da FC e da atividade simpática de um nervo periférico. Geralmente, esse teste é seguido da administração de uma substância vasodilatadora (o nitroprussiato de sódio) que reduz a PA e induz à taquicardia reflexa e ao aumento da atividade simpática periférica. As respostas da FC ao duplo bloqueio farmacológico autonômico cardíaco com metil-atropina e propranolol mostraram que o grupo SED-Veículo apresentou predomínio simpático na determinação da FC basal em relação aos demais grupos, uma vez que a resposta cronotrópica após a administração de metil-atropina foi menor quando

comparada a resposta obtida após a administração de propranolol. A associação do tratamento com o treinamento físico promoveu a diminuição da FC basal após a administração tanto de metil-atropina quanto de propranolol quando comparado aos grupos controle.

A sensibilidade dos pressorreceptores é uma excelente medida de função autonômica. Este reflexo pode ser ativado pelo estímulo mecânico dos corpos carotídeos, mudanças posturais e injeção de algumas drogas, os quais induzem modificações de PA que devem ocasionar alterações da FC (FERRER et al., 1991). A sensibilidade do controle reflexo da FC comandada pelos barorreceptores pode ser avaliada por meio das respostas de bradicardia ou taquicardias desencadeadas pela infusão de drogas vasoativas como fenilefrina e nitroprussiato de sódio ou nitroglicerina, respectivamente. Existem evidências de que a atividade cardíaca responde mais rápido para a liberação de acetilcolina do que para a liberação de norepinefrina, portanto, as resposta sinusais que determinam alterações agudas da FC são mediadas de modo predominante por via atividade reflexa vagal (HEAD, 2003). Os nossos resultados mostraram um aumento da resposta da FC após a administração de fenilefrina e uma diminuição quando aplicado o nitroprussiato de sódio nos grupos tratados (5 e 15 mg PYR) e treinados, mostrando semelhantes ganhos tanto para as resposta taquicárdicas (nitro), quanto bradicárdicas (fenil).

A variação dos intervalos RR é uma condição fisiológica normal e esperada, pois indica a habilidade do coração em responder aos múltiplos estímulos fisiológicos e ambientais, dentre eles mudança ortostática, diferentes períodos do ciclo respiratório e estresse mental (RADESPIEL et al., 2003). Diante disto, a alta VFC geralmente indica boa adaptação do organismo, por caracterizar as oscilações dos intervalos RR em

diferentes situações do ambiente, qualificando um indivíduo saudável com mecanismos autonômicos eficientes. Inversamente, baixa VFC geralmente é um indicador de adaptação anormal e insuficiente do SNA, isso porque as oscilações permanecem iguais mesmo quando o organismo é exposto a diferentes estados, indicando a presença de mau funcionamento fisiológico no indivíduo (MARÃES, 2010; VANDERLEI, et al., 2009; LOPES, et al., 2013). Com isso, os nossos resultados da VFC no domínio da frequência mostraram um aumento de LF (ms^2 e un), LF/HF e uma diminuição de HF dos grupos SHR tratados e treinados quando comparado ao grupo controle, mostrando que o treinamento e o tratamento, tanto com 5 mg quanto com 15 mg PYR melhorou o SNA, aumentando o SNS e diminuindo o SNP. Com relação à VPAS, pode-se observar um aumento das bandas de LF e HF (mmHg^2) quando comparado aos grupos SED- H_2O e TRE- H_2O , os demais resultados não foram estatisticamente significante.

Estudos que utilizem o brometo de piridostigmina como forma de tratamento são pouco encontrados na literatura, entretanto, algumas pesquisas avaliaram a utilização do brometo de piridostigmina sobre função autonômica cardiovascular. Em indivíduos saudáveis, o tratamento com uma dose única de brometo de piridostigmina (30mg oralmente [p.o.]) não apresentou nenhum efeito sobre a FC basal, PA, ou VFC, mas fez reduzir o tempo de recuperação FC após o exercício extenuante (DEWLAND et al., 2007). Um estudo publicado por Behling et al. (2003) com animais experimentais também demonstraram os efeitos autonômicos cardiovasculares da estimulação colinérgica, particularmente quando associada com doença cardiovascular. Além disso, pesquisas recentes revelam que o tratamento com brometo de piridostigmina (22mg/kg/dia) em ratos com infarto do miocárdio ou insuficiência cardíaca crônica

melhorou a função circulatória, evitando a diminuição SBR e danos na VFC, que são características típicas de coração falha (JACINTO et al., 2013).

Os resultados da função cardíaca por meio do emprego da ecocardiografia bidimensional mostrou uma tendência à diminuição da FC nos grupos tratados e treinados. Diferentemente do observado nos grupos tratados e sedentários, na qual a FC aumentou em relação ao seu grupo controle. Já os valores de VE, DC e IC foram menores nos grupos SHR-5mg, tanto treinado como sedentário, em relação ao grupo SHR TRE-15mg. A FE também teve uma tendência ao aumento nos grupos tratados (5 e 15 mg) e treinados quando comparado aos seus respectivos grupos controles. Ainda sobre a função cardíaca, tanto o VDF quanto o VSF aumentaram após as 10 semanas de treinamento seja no grupo água quanto nos grupos submetidos ao tratamento com o inibidor de acetilcolinesterase. Sobre a morfologia cardíaca nos SHR, foi observado um aumento da massa e da área do ventrículo esquerdo, tanto na sístole quanto na diástole, nos grupos tratados e treinados, entretanto, o diâmetro e a espessura da parede não tiveram alterações significantes.

Já esta bem estabelecida na literatura, os efeitos benéficos promovidos pelo treinamento físico sobre a morfologia e funcionalidade cardiovascular, contudo, a maioria dos estudos refere-se a atletas ou ensaios clínicos. Já em modelos experimentais, os poucos encontrados foram realizados em diferentes modelos de doenças, modalidade de exercício, intensidade e frequência de treinamento físico empregado, o que dificulta a comparação dos nossos resultados (NUNES et al, 2013; LAZAR et al, 2013; KRALJEVIC et al, 2013; XU et al, 2008; DUMANOIR et al, 2007; GOODMAN et al, 2005; PLUIM et al, 2000).

❖ **Sumarização dos resultados: Ratos SHR H₂O Vs. 5 mg PYR Vs. 15 mg PYR, sedentários e treinados**

- ↓ PAS, PAD e PAM
- ↓ FC basal e ↓FC intrínseca
- ↑ FC metil atropina e ↓FC propranolol
- ↓ Do ganho positivo (fenilefrina) e ↑do ganho negativo (nitroprussiato de sódio)
- ↑ LF (ms² e un), LF/HF e ↓HF (ms²) - VFC
- ↑ LF (mmHg) e HF (mmHg) – VPAS
- ↓ FC, DC, VE e IC e ↑VDF e VSF
- ↑ FE, MVE, MVEC, AVED e AVES

CONCLUSÃO

De acordo com nossos resultados o tratamento com o brometo de piridostigmina em ratos hipertensos, sedentários e submetidos ao treinamento físico aeróbio nos permite afirmar em relação aos parâmetros hemodinâmicos, autonômicos e morfofuncionais que:

- O tratamento com brometo de piridostigmina, tanto o de 5 mg quanto o de 15 mg diminui a pressão arterial e a frequência cardíaca basal e intrínseca em relação ao controle. Entretanto, a dosagem de 15 mg reduziu ainda mais esses parâmetros hemodinâmicos, entendendo que a dosagem maior seria a mais indicada nesses casos. Quando associado o tratamento com o treinamento físico essa redução também se potencializa, comprovando mais uma vez os benefícios trazidos pela prática de atividade física.
- Pode-se observar sobre a avaliação autonômica cardíaca uma melhora da VFC nos animais tratados com 5 e 15 mg da droga, aumentando o componente simpático e diminuindo o componente vagal. Da mesma forma que quando associamos o tratamento com o treinamento físico verificamos que essa melhora também é significativa, potencializando sua ação.
- Sobre as adaptações morfofuncionais concluímos que embora não significativa, houve uma melhora da fração de ejeção nos ratos tanto os tratados e sedentários, quando os tratados e treinados, melhorando a função cardíaca, ponto importante visto que, em estudos anteriores a fração de ejeção diminuiu com o tratamento de brometo. Além disso, houve um aumento da massa, da aérea e da espessura da parede do ventrículo esquerdo nos ratos tratados e treinados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo do presente estudo foi associar as adaptações autonômicas, hemodinâmicas e morfofuncionais cardíacas em SHR submetidos à estimulação colinérgica crônica, com 2 diferentes dosagens, ao treinamento físico aeróbio, e assim contribuir para novas terapias seja ela farmacológica ou não farmacológica. Por meio dos resultados, verificamos que o tratamento com brometo de piridostigmina foi eficaz quanto aos valores hemodinâmicos, quanto a alguns parâmetros morfofuncionais e quanto à avaliação autonômica cardíaca, sugerindo ser uma boa terapia farmacológica para o tratamento da hipertensão, entretanto, uma investigação mais aprofundada deve ser realizada para um entendimento melhor dos seus efeitos.

Da mesma forma, que o treinamento físico aeróbio promoveu modificações benéficas aos parâmetros avaliados, potencializando a ação do tratamento com o inibidor de acetilcolinesterase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHTEN, J.; JEUKENDRUP, A.E. Heart rate monitoring: Applications and limitations. **Rev Bras Med Esp.** v. 33, n. 7, p. 518-538, 2003.
- AMARAL, S.L.; SILVEIRA, N.P.; ZORN, T.M. et al. Exercise training causes skeletal muscle venular growth and alters hemodynamic responses in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens.** v. 19n. 5, p. 931-940, 2001.
- AMARAL, S.L.; ZORN, T.M.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens.** v. 18, p. 1563-172, 2000.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION: Heart and Stroke Facts: 1996 Statistical Supplement. Dallas, **American Heart Association**, pp. 1-23. 1996.
- ANDRONE, A.D. et al. Acetylcholinesterase inhibition with pyridostigmine improves heart rate recovery after maximal exercise in patients with chronic heart failure. **Heart.**, v. 89, n. 8, p. 854-858, 2003.
- APPEL, L.J. Nonpharmacologic therapies that reduce blood pressure: a fresh perspective. **Clin Cardiol** v. 22, p. III1-5, 1999.
- AUBERT, A.E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart rate variability in athletes. **Sports Med.** v. 33, n. 12, p. 889-919, 2003.
- BALADY, G.J. et al. Core components of cardiac rehabilitation/secondary prevention programs: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association exercise, cardiac rehabilitation, and prevention committee, the council on clinical cardiology; the councils on cardiovascular nursing, epidemiology and prevention, and nutrition, physical activity, and metabolism; and the American

association of cardiovascular and pulmonary rehabilitation. **Circulation**. v. 115, n. 20, p. 2675-2682, 2007.

BEHLING, A., MORAES, R.S., ROHDE, L.E. et al. Cholinergic stimulation with pyridostigmine reduces ventricular arrhythmia and enhances heart rate variability in heart failure. **Am. Heart J.** 146 (3), 494–500, 2003.

BLANCO, J.H.D.; GASTALDI, A.C.; GARDIM, C.B.; et al. Chronic cholinergic stimulation promotes changes in cardiovascular autonomic control in spontaneously hypertensive rats. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**. v. 193, p. 97-103, 2015.

BRANDÃO. G.S.; SAMPAIO, A.A.C.; BRANDÃO, G.S.; et al. Análise da variabilidade da frequência cardíaca na mensuração da atividade do sistema nervoso autônomo: nota técnica. **MTP&RehabJournal**. v.12, p. 630-655, 2014.

BRUM, P. C. et al. Exercise training increases baroreceptor gain-sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, v. 23, n. 36, 2000.

CARDOZO, D.C.; DESTRO, D.S.; CARDOZO, L.C. Influência do exercício físico no controle barorreflexo na hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo. v. 6, n.34, p.342-348, 2012.

CHAPLEAU, M.W.; SABHARWAL, R. Methods of assessing vagus nerve activity and reflexes. **Heart Fail Rev**. v. 16, n. 2, p. 109-127, 2011.

COOKE, W.H.; COX, J.F.; DIEDRICH, A.M.; et al. Controlled breathing protocols probe human autonomic cardiovascular rhythms. **Am J Physiol**. v. 274, n. 2 Pt 2, p. H709-718, 1998.

- DA C.Y.; FERNANDES, T.G.; LULHIER, F.; et al. Streptozotocin diabetes modifies arterial pressure and baroreflex sensitivity in rats. **Braz J Med Biol Res** v. 28, p. 497-501, 1995.
- DE ANGELIS, K. et al. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **J Appl Physiol**. v. 96, n. 6, p. 2174-2178, 2004.
- DE ANGELIS, K.L.D.; OLIVEIRA, A.R., DALL'AGO, P.; et al. Effects of Exercise Training in Autonomic and Myocardial Dysfunction in Streptozotocin-Diabetic Rats. **Braz J Med Biol Res** v. 33, p. 635-641, 2000.
- DE ANGELIS, K.L.D.; SANTOS, M.S.B.; IRIGOYEN, M.C. **Sistema nervoso autonômico e sistema cardiovascular**. Rev. Soc. de Cardiol. do Rio Grande do Sul., v. 8, n. 3, p. 1-7, 2004.
- DE CASTRO, U.G., et al. Nitric oxide at the CVLM is involved in the attenuation of the reflex bradycardia in renovascular hypertensive rats. **Braz J Med Biol Res**. v.41, n. 7, p. 557-562, 2008.
- DE PONTES, P.V. et al. Cholinergic stimulation with pyridostigmine, hemodynamic and echocardiographic analysis in healthy subjects. **Arq Bras Cardiol**. v. 72, n. 3, p. 297-306, 1999.
- DE SOUSA, M.G.; YUGAR-TOLEDO, J.C.; RUBIRA, M., et al. Ascorbic acid improves impaired venous and arterial endothelium-dependent dilation in smokers. **Acta pharmacologica Sinica** v. 26, p. 447-452, 2005.

- DEVEREUX, R.B.; ALONSO, D.R.; LUTA, E.M. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. **Am J Cardiol.** v. 57, n. 6, p. 450-458, 1986.
- DEVEREUX, R.B.; REICHEK, N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. **Circulation.** v. 55, n. 4, p. 613-618, 1977.
- DEVEREUX, R.B.; LIEBSON, P.R.; HORAN, M. J. Recommendations Concerning Use of Echocardiography in Hypertension and General Population Research. **Hypertension** v. 9, n. Suppl II, p. II-97-II-104, 1987.
- DEWLAND, T.A., ANDRONE, A.S., LEE, F.A., Effect of acetylcholinesterase inhibition with pyridostigmine on cardiac parasympathetic function in sedentary adults and trained athletes. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** v. 293, n. 1, p. H86–H92, 2007.
- DORN, J. et al. Correlates of compliance in a randomized exercise trial in myocardial infarction patients. **Med Sci Sports Exerc.** v. 33, n. 7, p. 1081-1089, 2001.
- DUMANOIR, G.R.; HAYKOWSKY, M.J.; SYROTUIK, G. et al. The effect of high-intensity rowing and combined strength and endurance training on left ventricular systolic function and morphology. **Int J Sports Med** v. 28, n. 6, p. 488-494, 2007.
- ERDOĞAN, D. et al. Structural, functional and autonomic changes in the cardiovascular system in growth hormone deficient patients. **Ann Noninvasive Electrocardiol.** Jan, v. 9, n. 1, p. 19-23, 2004.

- FAGARD, R.G. Exercise, characteristics and blood pressure response to dynamic physical training. **Med. Sci. Sports Exer.** v. 33, p. 1229-1233, 2001.
- FARAH, V.M.; MOREIRA, E.D.; PIRES, M.D.; et al. Comparison of three methods for the determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. **Braz J Biol Res.** v. 32, n. 3, p. 361-369, 1999.
- FEIHL, F.; LIAUDET, L.; WAEBER, B. Hypertension: A disease of the microcirculation? **Hypertension** v. 48, p. 1012-1017, 2001.
- FELIX, A.C.; DUTRA, S.G.; TEZINI, G.C., et al. Aerobic physical training increases contractile response and reduces cardiac fibrosis in rats subjected to early ovarian hormone deprivation. **J Appl Physiol** v. 15, n. 10, p. 1276-1285, 2015.
- FELIX, J.V., MICHELINI, L.C. Training induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduce angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitary. **Hipertension.** v. 50, n. 4, p. 780-785, 2007.
- FERRER, M.T.; KENNEDY, W.R.; SAHINEN, F. Baroreflexes in patients with diabetes mellitus. **Neurology** v. 41, p. 1462-1466, 1991.
- FOZZARD, H.A.; SOLARO, R.J. Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Oxford University Press, **Inc**, pp. 213-239, 2002.
- FREIS, E.D. Hemodynamics of hypertension. **Physiol.** v. 40, p. 27-54, 1960.
- FRIBERG, P.; KARLSSON. B.; NORDLANDER, M. Autonomic Control of the diurnal variation in arterial blood pressure and rate heart in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. **J Hypertens Suppl.** v. 6, n. 4, p. S58-60, 1989.

- FROHLICH, E.D. The adrenergic nervous system and hypertension: State of the art. **Mayo Clin Proc** v. 52, p. 361-8, 1977.
- FROHLICH, E.D.; APSTEIN, C.; CHOBANIAN, A.V.; et al. The heart in hypertension. **N Engl J Med**. v. 327, p. 998-1008, 1992.
- GANDO, Y. et al. Longer time spent in light physical activity is associated with reduced arterial stiffness in older adults. **Hypertension**, n. 56, 2010.
- GOBATTO, C.A et al. **Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. v. 130, p. 21-27, 2001.
- GOODMAN, J.M.; LIU, P.P.; GREEN, H.J. Left ventricular adaptations following short-term endurance training. **J Appl Physiol** v. 98, p. 454-460, 2005.
- GRABE-GUIMARÃES, A. et al. Pyridostigmine blunts the increases in myocardial oxygen demand elicited by the stimulation of the central nervous system in anesthetized rats. **Clin Auton Res**. v. 9, n. 2, p. 83-89, 1999.
- GUYENET, P.G. The sympathetic control of blood pressure. **Nat Rev Neurosci**. v. 7, n. 5, p. 335-346, 2006.
- HAGBERG, J.M.; PARK, J.J.; BROWN, M.D. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. **Sports Med**, v. 30:, p. 93-206, 2000.
- HAIBARA, A.S.; DOS SANTOS, R.A.S. Descobrimento e importância dos barorreceptores. **Rev Bras Hipertens**. v.7, n.2, p. 113-115, 2000.

- HALBERT, J.A.; SILAGY, C.A.; FINUCANE, P. The effectiveness of exercise training in lowering blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials of 4 weeks or longer. **J Hum Hypertens.** v. 11, p. 641-649, 1997.
- HARTHMANN, A.D. et al. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. **Auton Neurosci.** v. 133, n. 2, p. 115-120, 2007.
- HEAD J. Painful diabetic neuropathyóproviding the best patient service. **Diabetes Metab Res Rev;** v. 19, n. 1, p. S22-28, 2003.
- HIGASHI, Y.; SASAKI, S.; KURISU, S.; et al. Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: role of endothelium-derived nitric oxide. **Circulation.** v. 14, n. 100, p. 1194-1202, 1999.
- HORTA, P.P.; DE CARVALHO, J.J.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Exercise training attenuates blood pressure elevation and adverse remodeling in the aorta of spontaneously hypertensive rats. **Life Sci.** v.77, n. 26, p. 3336-3343, 2005.
- IRIGOYEN, M. C. & KRIEGER, E. M. Barorreflexo control os sympathetic activity in experimental hypertension. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 31, p. 1213-1220, 2000.
- IRIGOYEN, M.C. et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension.** v. 46, n. 4, p. 998-1003, 2005.
- IRIGOYEN, M.C.; COMSOLIM-COLOMBO, F.M.; KRIEGER, E.M. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. **Rev Bras Hipertens.** v. 8, n. 1, p.55-62, 2001,

- JACINTO, C.P.; GASTALDI, A.C.; AGUIAR, D.Y., et al. Physical therapy for airway clearance improves cardiac autonomic modulation in children with acute bronchiolitis. **Braz. J. Phys. Ther.** v. 17, n. 6, p. 533–540, 2013.
- JUNIOR CAMPOS, R.; COLOMBARI, E.; CAROVO, S.; et al. Hipertensão arterial: o que tem a dizer o sistema nervoso. **Rev Bras Hipertens.** v. 8, n.1, p. 41-54, 2001.
- KAGAYA, Y.; HAJJAR, R.J.; GWATHMEY, J.K.; et al. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition with fosinopril improves depressed responsiveness to Ca^{2+} in myocytes from aortic-banded rats. **Circulation.** v. 94, p. 2915–2922, 1996.
- KHANDOKER, A.H. et al. Association of cardiac autonomic neuropathy with alteration of sympatho-vagal balance through heart rate variability analysis. **Med Eng Phys.** Mar, v. 32, n. 2, p. 161-167, 2010.
- KINLEY, D.J; LOWRY, H.; KATZ, C.; et al. Depression and anxiety disorders and the link to physician diagnosed cardiac disease and metabolic risk factors. **General Hospital Psychiatry.** v. 37, n. 4, p. 288-293, 2015.
- KOIKE, M.K.; MOREIRA, E.D.; DA SILVA, G.J.; et al. Resetting of aortic baroreceptors in response to hypotension does not alter gain sensitivity. **Clin Exp Pharmacol Physiol.** v.33, n. 8, p. 679-684, 2006.
- KOUGIAS, P.; WEAKLEY, S.M.; YAO, Q.; et al. Arterial baroreceptors in the management of systemic hypertension. **Med Sci Monit.** v.16, n. 1, p. RA1-8, 2010.

- KRALJEVIC, J.; MARINOVIC, J.; PRAVDIC, D. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. **Cardiovasc Res** v. 99, n. 1, p. 55-64, 2013.
- KRIEGER, E. M. Arterial baroreceptor resetting in hypertension (the J. W. McCubbin lecture). **Clinical Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 15, 1989.
- KURU, O.; SENTURK, U.K.; DEMIR, N.; et al. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. **Eur J Appl Physiol**. v. 87, n. 2, p. 134-140, 1998.
- LA ROVERE, M.T.; MAESTRI, R.; PINNA, G.D., et al. Clinical and hemodynamic correlates of heart rate turbulence as a non-invasive index of baroreflex sensitivity in chronic heart failure. **Clin Sci (Lond)**. v. 121, n. 6, p. 279-284, 2011.
- LATERZA, M.C.; AMARO, G.; NEGRÃO, C.E.; et al. Exercício físico regular e controle autonômico na hipertensão arterial. **Rev SOCERJ**. v. 21, n. 5, p. 320-328, 2008.
- LATERZA, M.C.; DE MATOS, L.D.; TROMBETTA, I.C. et al. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. **Hypertension** v. 49, p. 1298-1306, 2007.
- LAZAR, J.M.; KHANNA, N.; CHESLER, R. et al. Swimming and the heart. **Int J Cardiol** v. 168, n. 1, p. 19-26, 2013
- LEVY, B.I.; AMBROSIO, G.; PRIES, A.R.; et al. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? **Circulation**. v. 104, p. 735-740, 2001.

- LEWINGTON, S.; CLARKE, R, QIZIBALSH, N.; et al. Age-sepcific relevance of usual bold pressure to vascular mortality; a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospetive studies. **Lancet**. v. 6, n. 19, p. 3-13, 2002.
- LOPES, P.F. F.; De OLIVEIRA, M.I.B.; ANDRÉ, S.M.S, et al. Clinical Applications of Heart Rate Variability. **Rev Neurocienc**, v. 21, n. 4, p. 600-603, 2013.
- LOUIS, W.J.; HOWES, L.G. Genealogy of the spontaneously hypertensive rat and Wistar-Kyoto rat strains: Implications for studies of inherited hypertension. **Cardiovasc Pharmacol**. v. 16, n. 7, p. 51-5, 1990.
- MALLIANI, A. et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v. 84, p. 482-492, 1991;
- MARÃES, V.R.F.S. Frequência cardíaca e sua variabilidade: análises e aplicações. **Rev Andal Med Deporte**. v. 3, n. 1, p. 33-42, 2010.
- MEDEIROS, A.; NEGRÃO, C.E.; BRUM, P.C. Efeito do treinamento físico de natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. **Revista Paulista de Educação Física** v. 14, n. 1, p. 7-15, 2000.
- MELO, R.P.; JR MARTINHO, E.; MICHELINI, L.C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles. **Hypertension** v.42, p. 851-857, 2003.
- MORTARA, A. et al. Arterial baroreflex modulation of heart rate in chronic heart failure: clinical and hemodynamic correlates and prognostic implications. **Circulation**, n. 10, v. 96, 1997.

- MUELLER, P. J; HASSER, E. M. Putative role of the NTS in alterations in neural control of the circulation following exercise training rats. **Am. J. Physiol. Integra. Comp. Physiol.** v. 290, n. 2, p. 383-392, 2006.
- NEGRÃO, C.E.; IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsive ness. **Am J Physiol.** v. 265, p. 365-370, 1993.
- NEGRÃO, C.E.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C. Vagal and sympathetic controls of the heart rate during exercise in sedentary and trained rats. **Braz J Med Biol Res.** v.25, p. 1045-1052, 1992.
- NÓBREGA, A.C. et al. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. **Clin Auton Res.** v. 11, n. 1, p. 11-17, 2001.
- NÓBREGA, A.C.; CARVALHO, A.C.; BASTOS, B.G. Resting and reflex heart rate responses during cholinergic stimulation with pyridostigmine in humans. **Braz J Med Biol Res**, v. 29, n. 11, p. 1461-1465, 1996.
- NUNES, R.B.; ALVES, J.P.; KESSLER, L.P. et al. Aerobic exercise improves the inflammatory profile correlated with cardiac remodeling and function in chronic heart failure rats. **Clinics** v. 68, n. 6, p. 876-882, 2013.
- OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J.** v. 27, p. 282-293, 1963.

- OKAMOTO, K.; TABEL, R.; FUKUSHIMA, M.; et al. Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J.** v. 30, p. 703-716, 1966.
- ORTEGA, K. C.; da Silva, G. V.; Jr Mion, D. Monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA). **Rev Bras Hipertens.** v.15, n. 4, p. 209-214, 2008.
- PAGE, I.H. Hypertension Mechanisms. **Grune and Stratton**, 1987.
- PASCHOAL, M.A.; PETRELLUZZI, K.F.S.; GONÇALVES, N.V.O. Estudo da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. **Rev Ciênc Med.** v.11, n. 1, p. 27-37, 2002.
- PASSOS V.M.A.; ASSIS, T.D. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiologia e Serviços de Saúde.** v. 15; n. 1; p. 35-45, 2006
- PAWLUSH, D.G., MOORE, R.L.; MUSCH, T.I; et al. Echocardiographic evaluation of size, function, and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. **J. Appl. Physiol.** v. 74, p. 2598–2605, 1993.
- PERK, J. & VERESS, G. Cardiac rehabilitation: applying exercise physiology in clinical practice. **Eur J Appl Physiol.** v. 83, n. 4 -5, p. 457-462, 2000.
- PLUIM, B.M.; ZWINDERMAN, A.H.; VAN DER LAARSE. A. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation** v. 101, n. 3, p. 336-344, 2000.

- RADESPIEL. M.T.; RAUH, R.; MAHLKE, C.; et al. Agreement of two different methods for measurement of heart rate variability. **Clin Auton Res.** v. 13, n. 2, p. 99-102, 2003.
- RAJENDRA, A.U., JOSEPH, P.K.; KANNATHAL, N., et al. Heart rate variability: a review. **Med Bio Eng Comput.** v. 44, n. 12, p. 1031-1051, 2006.
- ROSÁRIO, T. M. et al. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres, MT. **Arq Bras Card.** v. 93; n. 6, p. 672-678, 2009.
- RUBIRA, M.C.; CONSOLIM-COLOMBO, F.M.; RABELO, E.R.; ET al. Venous or arterial endothelium evaluation for early cardiovascular dysfunction in hypertensive patients? **J Clin Hypertens** v. 9, p. 859-865, 2007.
- SAHN, D.J.; de MARIA, A.; KISSLO, J.; et al. The committee on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography : Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: Results of a survey of echocardiographic measurements. **Circulation** v. 58, p. 1072, 1978.
- SCHROEDER, E.B.; CHAMBLESS, L.E.; LIAO, D, et al. **Diabetes, Glucose, Insulin, and Heart Rate Variability.** *Diabetes Care.* v. 28, n. 3, p. 34-46, 2005.
- SCHROEDER, E.B.; CHAMBLESS, L.E.; LIAO, D.; et al. Diabetes, Glucose, Insulin, and Heart Rate Variability. **Diabetes Care.** v. 28, n. 3, p. 34-46, 2005.
- SERRA, S.M. et al. Cholinergic stimulation improves autonomic and hemodynamic profile during dynamic exercise in patients with heart failure. **J Card Fail.** v. 15, n. 2, p. 124-129, 2009.

- SILVA, G.J.J.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E, et al. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**. v. 30, n. Pt2, p. 714-719, 1997.
- SINSKI, M.; LEWANDOWSKI, J.; ABRAMCZYK, P.; et al. Why study sympathetic nervous system? **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol**. v.57, n. 11, p. 79- 87, 2006.
- SMYTH, H.S.; SLEIGHT, P.; PICKERING, G.W. Reflex regulation of arterial pressure during sleep in man: a quantitative method of assessing baroreflex sensitivity. **Circ Res** v. 24, p. 109-121, 1969.
- SOARES, P.P, et al. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **Auton Neurosci**. v. 113, n. 1-2, p. 24-31, 2004.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA/SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO/SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol**. v. 95, n. 1, p. 1-51, 2010.
- SOUZA, H.C. et al. Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v. 280, n. 2, p. H844-850, 2001.
- SOUZA, H.C. et al. Nitric oxide synthesis blockade increases hypertrophy and cardiac fibrosis in rats submitted to aerobic training. **Arq Bras Cardiol**. v. 89, n. 2, p. 88-93, 2007.
- SPYER, K.M. Vagal pre ganglionic neurons innervating the heart. In: PAGE, E

- SUBBALAKSHMI, N.K.; ADHIKARI, P.M.R.; RAJEEV, A.; et al. Independent predictors of cardiac parasympathetic dysfunction in type 2 diabetes. **Singapore Med J.** v. 49, n. 2, p. 121-128, 2008.
- 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. **Eur Heart J.** v. 17, p. 354-381, 1996.
- TEZINI, G.C.; SILVEIRA, L.C.; VILLA-CLÉ, P.G. JR, et al. The effect of aerobic physical training on cardiac autonomic control of rats submitted to ovariectomy. **Menopause** v. 16, n. 1, p. 110-116, 2009.
- TEZINI, G.C.S.V.; BECARI, C.; ZANOTTO, C.Z.; et al. Ageing is the main determinant of hemodynamics and autonomic cardiac changes observed in post-menopausal female rats. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical.** v. 174, p. 36-41, 2013.
- THIJSEN, D. H. et al. Impact of inactivity and exercise on the vasculature in humans. **European Journal of Applied Physiology**, n. 108, 2010.
- THOMAS, C.J.; RANKIN, A.J.; HEAD, G.A.; et al. ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not spontaneously hypertensive rats. **Hypertension.** v. 5, p. 1126-32, 1997.
- TRIPPODO, N.C.; FROHLICH, E.D. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension: man and rat. **Circ Res.** v. 48, p. 309-319, 1981.

- UNDENFREIND, S.; SPECTOR, S. Spontaneously hypertensive rat. **Science**. v.176, p 1155-1156, 1972.
- VANDERLEI, L.C.M.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A.; et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc**. v.24, n. 2, p. 205-217, 2009.
- VICTOR, R.G.; MARK, A.L. The sympathetic nervous system in human hypertension. **Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management**. pp. 755-773, 1995.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Issues of communication and risk. World Health Report 2002: from non communicable diseases & mental health (NMH) communications. **Geneva: World Health Organization**; 2002.
- YAMORI, Y. Development of the spontaneously hypertensive rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications. In: Experimental and genetic models of hypertension. **Handbook of hypertension**. Ed: W de Jong, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, v. 4, pp. 224-239, 1984.
- ZAMO, F.S. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Alterações hemodinâmicas e estruturais provocadas pelo treinamento físico por natação em ratos espontaneamente hipertensos - participação do sistema renina-angiotensina. São Paulo: s.n, [178] 2004.
- ZUCKER, I.H.; PATEL, K.P.; SCHULTZ, H.D. et al. Exercise training and sympathetic regulation in experimental heart failure. **Exerc. Sport Sci. Rev**. v. 32, n. 3, p. 107-111, 2004.