FLÁVIO SILVA TAMPELINI

**EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO SOBRE OS
COMPONENTES FIBROELÁSTICO E COLÁGENO DA
AORTA DE RATOS NORMOTENSOS E HIPERTENSOS,
SEDENTÁRIOS E TREINADOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Morfofuncionais do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências
(Ciências Morfofuncionais).

**São Paulo
2007**

FLÁVIO SILVA TAMPELINI

**EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO SOBRE OS
COMPONENTES FIBROELÁSTICO E COLÁGENO DA
AORTA DE RATOS NORMOTENSOS E HIPERTENSOS,
SEDENTÁRIOS E TREINADOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Morfofuncionais do Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de
São Paulo, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências (Ciências
Morfofuncionais.**

**Área de Concentração: Ciências
Morfofuncionais**

**Orientador: Profa. Dra. Maria Luiza
Moraes Barreto de Chaves**

**São Paulo
2007**

DEDICATÓRIA

*Ao meu pai (em memória), que onde
estiver está acompanhando meus passos
e com certeza está muito feliz por mais
essa etapa cumprida. Você faz muita
falta. Saudade...*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Renato, que foi a pessoa com quem conversei pela primeira vez em julho de 2004 dizendo da minha vontade de fazer Pós-graduação em Anatomia, que me deu a oportunidade e abriu as portas para eu vir para São Paulo tentar realizar um sonho antigo. Agradeço também pelo modo cortês, sereno e humano com que me recebeu aqui no laboratório. Pelas conversas, ensinamentos, confiança em mim depositada, e principalmente pela experiência de vida e profissional que transmitiu e transmite diariamente. Tenho uma grande admiração, respeito e carinho pelo senhor. Muito Obrigado!

À Professora Maria Luiza, a quem devo meus sinceros agradecimentos por toda a história desde o meu ingresso. Lembro quando eu ainda estava fazendo estágio e tive a notícia que não poderia prestar a prova de ingresso, aquela situação me desesperou e ao mesmo tempo me desestruturou; mas, felizmente, sem nós esperarmos me tornei seu orientando. E desde aquele momento, eu passei a conhecer uma das pessoas mais profissionais que eu já vi; uma orientadora no sentido mais fiel da palavra. Pelo fato de não termos discutido um projeto desde a concepção e pela minha falta de experiência, muitos foram os problemas e obstáculos, mas vencemos e superamos tudo. Obrigado pelas dicas, conselhos, cobranças, amizade e confiança depositada. Muito Obrigado!

À Professora Lisete Compagno Michelinini pela oportunidade de realizar toda a análise funcional deste trabalho em seu laboratório, bem como a realização do protocolo de treinamento em sua sala no biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica. Obrigado pelas dicas e pela valiosa colaboração neste trabalho.

À Professora Maria Inês Nogueira, por autorizar a utilização do microscópio de seu laboratório onde analisei toda a parte morfológica do meu trabalho.

Ao Professor Edson Aparecido Liberti, pela simplicidade, amizade, companheirismo, conselhos, pelas inúmeras corridas dentro da USP, pelo prazer de ver sua aula, por tudo o que aprendi e continuo aprendendo dentro da Anatomia com você.

À Professora Silvia de Campos Boldrini, pelas conversas, amizade e por tantos momentos juntos durante os três anos em que fui monitor da Odonto.

Ao Professor Elio Hitoshi Shinohara do Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOUSP, ou simplesmente “Elião”. Lembro como se fosse hoje quando o encontrei pela primeira vez lá em Marília na sala dos técnicos de Anatomia da Unimar, você veio me dizendo que era fotógrafo e só depois fiquei sabendo quem realmente era o professor e cirurgião Elio. Nos conhecemos na Unimar, e hoje estamos aqui na USP, você professor e eu aluno de Pós-graduação. Construímos uma amizade baseada na cumplicidade, respeito e alicerçada na essência da palavra admiração, pois é isso que eu tenho por você. Muito obrigado pelos conselhos, papos, risadas e pelas inúmeras caronas para Marília, quantas conversas tivemos nessas idas e vindas, momentos inusitados e até certo ponto misteriosos, (o que foi aquela luz no céu de Botucatu à 1 da manhã, hein?). Você foi muito importante nessa minha caminhada, acompanhando desde o início do sonho, ainda em Marília, até hoje, no término de mais essa etapa. Você é uma pessoa iluminada e com um coração que não cabe dentro do peito. Te respeito, admiro e espero que nossa amizade perdure pela vida. Muito Obrigado por tudo!

À minha namorada Vanessa, pelo carinho, afeto, amor, companheirismo. Você tem sido importantíssima em minha vida; esse ano tem sido maravilhoso ao seu lado.

À minha mãe e meus avós, pelo carinho, amor, estímulo, compreensão, orações enfim, família é família. E também ao meu irmão pelo apoio e sobrinhos lindos.

Aos meus tios Norma e Zé, vocês são os grandes responsáveis por essa conquista, sem vocês não sei onde eu estaria, fizeram muita coisa por mim e serei eternamente grato. Muito Obrigado!

À Maria Alice, uma pessoa sensacional que fez parte da minha vida e acompanhou toda a minha história, até mesmo antes de meu ingresso na faculdade. Uma pessoa que me ouviu, que sabia do meu sonho, que sempre me incentivou e torceu por mim. Sou muito grato por tudo que fez por mim, não só a você, mas toda a sua família. Você também faz parte dessa conquista e, mais que ninguém, sabe o quanto estou feliz. Obrigado!

Ao Manoel (Mané) e Vilma, sou muito grato a vocês dois, que sempre torceram por mim e me incentivaram. Vocês são sensacionais.

À técnica de histologia, Marta Righetti “Martinha”, por me ensinar a preparar as lâminas e pela valiosa ajuda na confecção das lâminas que utilizei em meu trabalho.

Aos técnicos do didático, Adão, Amaro (*em memória*), Carlinhos, Edinho, Everton, Gil, Milton e Tim pela amizade, disponibilidade das peças quando pedia e diversos momentos de descontração.

Aos amigos do laboratório de Biologia Celular e Anatomia Funcional, pelo convívio durante estes anos e também pelos momentos alegres. (Amanda, Ana Claudia, Arnaldo, Caroline, Gabriela, Gisele, Joelcimar, Junior, Lincoln, Luana, Maria Alicia, Maria Tereza, Priscila, Ricardo).

Às pessoas com quem dividi moradia: Fred, Junior, Sandro, Rafael e Ricardo (Branco) pela convivência, respeito e amizade construída.

Ao Ricardo (Branco), com quem morei e dividi momentos de alegria, angústia e incertezas. Obrigado pelos conselhos e parceria, você é uma pessoa especial.

Aos amigos de outros laboratórios: Cibele, Dorival, Eduardo, Fátima, Josemberg, Leila, Leonardo Liberti, Marcelo Calderon, Mateus, Renata Vasconcelos, Ricardo Fontes, Thompson, Willian Bautz, Wilma pela amizade, conversas, convívio e companheirismo.

Ao amigo Willian Mayer, um cara diferenciado e que estou construindo uma amizade muito legal e sincera.

Ao amigo Alexandre (Batom), que me viu pela primeira vez perdido no departamento quando cheguei de Marília, e de forma cordial me apresentou a todos e tratou de me deixar à vontade. Dono de uma autoconfiança, generosidade e senso de justiça ímpares, uma pessoa que respeito e gosto muito.

Ao amigo e irmão Luciano Gonçalves (Prego). Nascemos na mesma cidade no interior do Paraná e só nos conhecemos aqui, que ironia do destino. Um amigo, um confidente, um batalhador e dono de uma raça invejável. Sem sombra de dúvida uma das maiores coisas que me aconteceu aqui em São Paulo foi te conhecer. Somos amigos, e isso diz tudo.

Ao outro grande amigo e irmão Guilherme Cotomacci (Gui). Diversas vezes ouvi que não existe amizade em ambiente de trabalho, ledor engano, só quem te conhece é capaz de dizer o quão especial você é. Uma pessoa humana, que está sempre disposta a ajudar os amigos, companheiro, um camarada de verdade. Obrigado pelas conversas, confidências, passeios, risadas, por ser muitas vezes um ombro amigo e que me ouvia sempre que eu precisava. Ganhei um grande amigo aqui em São Paulo e tenho certeza que é muito verdadeira nossa amizade.

Ao amigo Ricardo (Tevez), uma pessoa que demonstrou muita força nesses últimos tempos, um companheiro super animado e com uma presença de espírito muito grande. Um cara inteligente, responsável e o mais novo técnico em laboratório do Departamento de Anatomia. Parabéns!

Aos meus amigos de Marília Gu, Tiago e em especial Dall e Luis Orlando, cada um tomou um rumo na vida, mas o respeito e amizade que temos uns pelos outros permanece e permanecerá pra sempre.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq pela bolsa concedida e pelo suporte financeiro do projeto.

Enfim, obrigado a todos!

"A cada dia que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca, e que, esquivando-se do sofrimento, perdemos também a felicidade."

Carlos Drummond de Andrade

“Tudo o que fizeres fazei-o apaixonadamente e tudo o mais vos será dado por acréscimo”.

Goethe

RESUMO

TAMPELINI, F.S. **Efeito do exercício físico aeróbio sobre os componentes fibroelástico e colágeno da aorta de ratos normotensos e hipertensos, sedentários e treinados.** 2007. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

A hipertensão arterial (HA), uma entidade clínica multifatorial, é conceituada como uma síndrome caracterizada pela presença de níveis tensionais elevados. A HA está associada com mudanças geométricas, estruturais, morfológicas e funcionais na parede arterial. As proteínas fibrosas, elastina e colágeno, são os componentes estruturais-chave da matriz extracelular dos vasos sanguíneos, fornecendo força e elasticidade necessárias à aorta. Alterações estruturais nesses dois componentes são marcantes na HA, porém intervenções não farmacológicas, como o exercício físico, têm se mostrado eficazes não só em reduzir a pressão arterial, mas também em trazer benefícios a todo o sistema cardiovascular. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do exercício físico aeróbio sobre alterações morfológicas ocorridas na parede da aorta abdominal de animais hipertensos e normotensos, sedentários e treinados. Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e Wistar Kyoto (WKY) adultos foram utilizados para o protocolo experimental, que consistiu de quatro grupos experimentais divididos em normotensos sedentários e treinados, hipertensos sedentários e treinados. Os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento que durou 13 semanas, sendo 5 horas por semana, 1 hora por dia. Após o término do protocolo, os animais foram sacrificados e a aorta retirada para diferentes análises. Os resultados deste estudo mostraram que o exercício físico aeróbio foi eficaz em reduzir a pressão arterial, a frequência cardíaca e a razão parede/luz, bem como em aumentar a quantidade de fibras elásticas e a luz do vaso no grupo hipertenso treinado, em comparação ao grupo hipertenso sedentário. Já nos grupos normotensos treinado e sedentário, não ocorreram as mesmas alterações observadas no grupo hipertenso. A análise histológica da disposição do colágeno I e III na parede da aorta mostrou que os SHR sedentários apresentaram praticamente apenas o colágeno I, responsável por tornar o vaso mais rígido, enquanto que, nos demais grupos experimentais, tanto o colágeno I como o III foram evidenciados. Já no que diz respeito à quantificação da expressão protéica do colágeno I e III, ambos foram mais expressos nos SHR em relação aos normotensos, sendo que no grupo SHR o treinamento promoveu significativa diminuição da expressão protéica dos mesmos, em relação ao grupo

sedentário. O contrário ocorreu em relação à expressão de elastina; esta mostrou-se mais abundante no grupo normotenso em relação ao hipertenso e foi significativamente aumentada, em ambos os grupos, após o treinamento físico. Em contrapartida, se por um lado a elastina aumentou em virtude do treinamento físico, por outro, a expressão da α -actina mostrou-se significativamente diminuída após o treinamento, tanto nos normo como nos hipertensos. Estes resultados sugerem que o exercício físico aeróbio traz benefícios para os vasos de grande calibre, dados pelas alterações morfológicas, geométricas e constitucionais ocorridas em sua parede, mediante um processo de hipertensão.

Palavras-chave: hipertensão, exercício físico, aorta, colágeno, fibras elásticas.

ABSTRACT

TAMPELINI, F.S. **Aerobical physical exercise effects on fibroelastic and collagen components of normotensive and hypertensive, sedentary and trained rats aorta.** 2007. 90f. Master Thesis (Morfo-Functional Sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Arterial hypertension (AH) is known as a syndrome characterized by high blood pressure levels, caused by geometric, structural, morphological and functional changes on the arterial wall. Elastin and collagen are the most important components of blood vessels extracellular matrix, giving the necessary strength and elasticity to aorta. Structural changes on those components influence on AH, whereas non-pharmacological intervention, such as physical exercises, have been shown effective not only in reducing blood pressure, but also in bringing benefits for the entire cardiovascular system. As a consequence, the aim of this study was to evaluate the effect of aerobic exercises on morphological changes on abdominal aorta wall, in hypertensive and normotensive animals, sedentary and trained. Spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto (WKY) were used on the experimental protocol that consisted in four groups divided in sedentary and trained normotensive, and sedentary and trained hypertensive. Trained groups were submitted to a training protocol that lasted 13 weeks, 5 hours an week, 1 hour a day. By the end of protocol, animals were sacrificed and aorta was removed for analyses. Results showed that physical exercises were effective not only in reducing blood pressure, cardiac frequency and wall-to-lumen ratio, but also in increasing the number of elastic fibers and the internal diameter in trained hypertensive group, in comparison to sedentary hypertensive group. However, when comparing trained and sedentary normotensive groups, those modifications could not be seen. Concerning to collagen I and III distribution, although sedentary SHR showed only collagen I, which is responsible for the vessels stiffness, other experimental groups showed both collagens I and III. After quantitative analysis for collagen I and III, SHR presented a more accentuated proteins expression than WKY group. Moreover, trained SHR group showed a significant reduction on the both protein expression levels in comparison to the WKY. Contrarily, the elastin expression levels were significantly decreased in SHR and the training promoted an increment on these levels in both groups. In addition, α -actin showed to be more expressed in sedentary groups, both WKY and SHR, in relation to the respective trained groups. These

results suggest that aerobic physical exercises were benefic to large vessels, due to morphological, geometric and constitutional changes on the wall, in the presence of a hypertension process.

Key words: hypertension, physical exercise, aorta, collagen, elastic fibers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama representativo do arranjo circunferencial entre o colágeno tipo I, células musculares lisas, colágeno tipo III.....	28
Figura 2 - Diagrama representativo da localização e das múltiplas causas da rigidez arterial.....	31
Figura 3 - Diagrama representativo das diferentes maneiras que o remodelamento pode afetar a estrutura dos vasos sanguíneos.....	33
Figura 4 - Diagrama representativo mostrando o graticulo de integração utilizado para quantificar os diferentes tipos de fibras elásticas.....	43
Figura 5 - Representação das medidas selecionadas e cálculos realizados para a análise morfométrica das aortas abdominais.....	44
Figura 6 - Gráfico referente à distância máxima (em m) alcançada durante o teste de esforço realizado no início, na sexta semana e na décima terceira semana.....	48
Figura 7 – Gráfico referente ao efeito das treze semanas de treinamento, ou de sedentarismo, sobre a capacidade física nos diferentes grupos experimentais.....	49
Figura 8 - Gráfico referente ao ganho ponderal de peso (em gramas), após treze semanas de treinamento, nos diferentes grupos experimentais.....	50
Figura 9- Gráfico referente à pressão arterial média basal (PAM) nos diferentes grupos experimentais.....	51
Figura 10 - Gráfico referente à frequência cardíaca basal (FC) nos diferentes grupos experimentais.....	51

Figura 11 - Gráfico referente ao diâmetro interno nos diferentes grupos experimentais.....	52
Figura 12 – Fotomicrografia representativa de um vaso hipertenso (A) e outro normotenso (B) onde podemos observar a diferença entre o diâmetro interno de ambos. Aumento de 40X.....	53
Figura 13 - Gráfico referente à área de secção transversa nos diferentes grupos experimentais.....	54
Figura 14 - Gráfico referente à razão parede/luz nos diferentes grupos experimentais.....	55
Figura 15 - Gráfico referente à contagem de fibras elásticas pelas diferentes colorações e nos diferentes grupos experimentais.....	56
Figura 16 - Fotomicrografias das aortas abdominais para visualização dos diferentes tipos de fibras elásticas. Fibras elásticas maduras coradas pelo método de Verhoeff (A e B), fibras elásticas elaunínicas coradas pelo método de Weigert (C e D), fibras elásticas oxitalânicas coradas pelo método de Weigert-oxona (E e F). Aumento de 1000x.....	57
Figura 17 - Fotomicrografia da aorta abdominal nos diferentes grupos experimentais.....	58
Figura 18 - Fotomicrografia da aorta abdominal nos diferentes grupos experimentais corada com picrossírius para visualização de colágeno I (corado em vermelho) e colágeno III (corado em verde).....	60
Figura 19 – Gráfico referente à expressão protéica de α -actina nas aortas abdominais.....	63
Figura 20 - Gráfico referente à expressão protéica de colágeno I nas aortas abdominais.....	64

Figura 21 - Gráfico referente à expressão protéica de colágeno III nas aortas abdominais.....	65
---	----

Figura 22 - Gráfico referente à expressão protéica de elastina nas aortas abdominais.....	66
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

Ach – Acetilcolina
AE – Área Externa
AI - Área Interna
AST – Área de Secção Transversa
bpm – Batimento por Minuto
BVL – Bulbo Ventro Lateral
CML – Célula Muscular Lisa
DC – Débito Cardíaco
DE – Diâmetro Externo
DI – Diâmetro Interno
DMV – Núcleo Dorsal Motor do Vago
FC – Frequência Cardíaca
FCTC – Fator de Crescimento de Tecidos Conectivos
GLy – Aminoácido Glicina
HA – Hipertensão Arterial
IM – Intra Muscular
MEC – Matriz extracelular
MMP – Metaloproteinase de matriz
NA – Núcleo Ambíguo
NO – Óxido Nítrico
NTS – Núcleo do Trato Solitário
PA – Pressão Arterial
PAD – Pressão Arterial Diastólica
PAM – Pressão Arterial Média
PAS – Pressão Arterial Sistólica
PP – Pressão de Pulso
RVP – Resistência Vascular Periférica
S – Sedentário
SHR – Rato espontaneamente hipertenso
SHRS – Rato espontaneamente hipertenso sedentário
SHRT – Ratos espontaneamente hipertensos treinado

SNC – Sistema Nervoso Central

T – Treinado

TGF – β – Fator de Crescimento Transformante do Tipo Beta

VO2 - Volume de Oxigênio

VS – Volume Sistólico

WKY – Wistar Kyoto

WKYS – Wistar Kyoto Sedentário

WKYT – Wistar Kyoto Treinado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	22
1.1 Hipertensão.....	23
1.2 Controle da Pressão Arterial.....	24
1.3 Modelos Genéticos de Hipertensão.....	25
1.4 Aspectos Morfológicos dos Vasos Sanguíneos.....	26
1.4.1 Distribuição das Fibras Elásticas.....	28
1.4.2 Distribuição do Colágeno.....	29
1.5 Mecanismos da Rigidez Arterial.....	30
1.6 Efeito da Hipertensão na Morfologia da Aorta.....	32
1.7 Interação entre Exercício Físico, Hipertensão e Aorta.....	33
 2 OBJETIVOS.....	 36
 3 MATERIAL E MÉTODOS.....	 38
3.1 Animais Experimentais.....	39
3.2 Determinação do Peso Corporal.....	39
3.3 Avaliação da Capacidade Máxima dos Animais.....	39
3.4 Protocolo de Treinamento Físico de Baixa Intensidade.....	39
3.5 Técnica para Cateterização Arterial.....	40
3.5.1 Confeção das Cânulas.....	40
3.5.2 Implantação da Cânula Arterial.....	41
3.6 Registro simultâneo de Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	41
3.7 Preparação dos Tecidos para Análise Histológica.....	42
3.8 Quantificação dos diferentes tipos de fibras elásticas.....	42
3.9 Análise Morfométrica da Aorta Abdominal.....	43
3.10 Análise da Expressão Protéica por Western Blot.....	44
3.11 Apresentação dos Dados e Análise Estatística.....	46
 4 RESULTADOS	 47
4.1 Eficácia do Treinamento Físico.....	48
4.2 Peso Corporal.....	49
4.3 Valores Basais da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	50

4.4	Análise do Diâmetro Interno (luz), Área de Secção Transversa e Razão Parede/Luz.....	52
4.5	Quantificação dos Diferentes Tipos de Fibras Elásticas.....	55
4.6	Morfologia da Aorta Abdominal nos Diferentes Grupos Experimentais.....	58
4.7	Análise Qualitativa do Colágeno I e Colágeno III nos Diferentes Grupos Experimentais.....	60
4.8	Análise da expressão protéica das aortas abdominais.....	62
4.8.1	Padronização.....	62
4.8.2	α – actina.....	62
4.8.3	Colágeno I.....	63
4.8.4	Colágeno III.....	64
4.8.5	Elastina.....	65
5	DISCUSSÃO.....	67
5.1	Eficácia do treinamento físico e parâmetros hemodinâmicos.....	69
5.2	Morfologia e morfometria do vaso.....	72
5.3	Modulação da expressão da α – actina.....	74
5.4	Modulação da expressão da elastina e colágeno.....	75
6	CONCLUSÕES.....	79
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão

A hipertensão arterial (HA), uma entidade clínica multifatorial, é conceituada como uma síndrome caracterizada pela presença de níveis tensionais elevados, associados a alterações metabólicas, hormonais e a fenômenos tróficos (hipertrofia cardíaca e vascular). Uma das características da HA é o comprometimento da microcirculação e o conseqüente aumento da resistência vascular periférica (RVP). Este comprometimento pode ocorrer por diversos mecanismos: 1- por disfunção endotelial, que leva a um desequilíbrio entre os fatores relaxantes e contráteis do endotélio (TADDEI *et al.*, 2002); 2- por redução da luz arteriolar, provocada por vasoconstrição ativa, oriunda de um aumento da atividade simpática (OVERTON *et al.*, 1998); 3- por rarefação das arteríolas e capilares, que causa uma redução no número de canais de condutância na microcirculação e 4- por aumento da razão parede/luz de arteríolas (AMARAL *et al.*, 2000; MULVANY, 2002), o qual pode ser causado por hipertrofia, hiperplasia e remodelagem da musculatura lisa vascular (MULVANY, 2002).

A HA é o principal fator de risco para doenças cardiovasculares, como infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, doenças renais e outras enfermidades, sendo a causa de mais da metade das mortes ocorridas nos países desenvolvidos (KAPLAN, 1995). A morbidade e a mortalidade dos indivíduos nos dias de hoje estão diretamente associadas com a HA, sendo esta responsável por aproximadamente 50% dos óbitos decorrentes de doenças coronarianas e por 65% dos acidentes vasculares encefálicos. Estimativa recente, baseada em dados de 25 países de diversas regiões do mundo, indica que quase um bilhão (972 milhões) de pessoas com idade entre 18 e 91 anos apresentam HA (KEARNEY *et al.*, 2005). Ainda dados epidemiológicos mostram que, no Brasil, existem 30 milhões de pessoas com HA e destes 15 milhões não sabem que são hipertensos (BRANDÃO *et al.*, 2006). Estima-se que elevações de 5-6 mmHg na pressão arterial diastólica promovam um risco de acidente vascular encefálico da ordem de 35 a 40% e um risco de infarto agudo do miocárdio da ordem de 20 a 25% (BACON *et al.*, 2004). Essas complicações não estão diretamente relacionadas ao aumento da pressão arterial (PA), mas a mudanças estruturais no coração e nos vasos sanguíneos, sendo que o mais importante fator que contribui para a elevação da pressão arterial sistólica (PAS) é a rigidez arterial (BACON *et al.*, 2004).

1.2 Controle da pressão arterial

A PAS, a qual no homem encontra-se em torno de 120mmHg, indica uma estimativa do trabalho do coração e da força que o sangue exerce contra as paredes arteriais durante a sístole ventricular. A PAD, em torno de 80 mmHg, indica a resistência periférica ou a facilidade com que o sangue flui das arteríolas para dentro dos capilares. A regulação efetiva da pressão arterial (PA) é o resultado de uma atividade conjunta de diferentes sistemas de controle de retroalimentação neuro-hormonal que mantêm o balanço ingestão/excreção de água e sais, o débito cardíaco, a resistência periférica e a capacitância venosa, além de mecanismos locais de controle de pressão e fluxo em nível vascular (SHEPHERD e MANCIA, 1986; DAMPNEY, 1994; MICHELINI, 1998).

Ajustes do débito cardíaco, resistência periférica e capacitância venosa são possibilitados por ação de reflexos controlados pelo Sistema Nervoso Central (SNC). Este funciona como um centro integrador de estímulos oriundos de diferentes sensores cardiovasculares, modulando a atividade cardíaca e vascular por meio de respostas autonômicas e por liberação de diferentes hormônios (catecolaminas adrenais, angiotensinas, vasopressina) que colaboram para ajustes cardíacos e vasculares (KRIEGER *et al*, 1982; MICHELINI e MORRIS, 1999).

Reflexos originados nos pressorreceptores arteriais, receptores de estiramento, são os principais mecanismos de controle a curto-prazo da PA, onde os pressorreceptores são considerados eficientes no controle de alto ganho, com tempo de resposta que varia de segundos a minutos, mantendo assim a PA dentro de limites normais (GRASSI e MANCIA, 1998). Os pressorreceptores são estimulados por distensões arteriais proporcionais às variações da PA, onde os potenciais de ação são enviados, via nervos vago e glossofaríngeo, ao SNC. A primeira sinapse desses aferentes se faz no núcleo do trato solitário (NTS), na região dorsal do bulbo. Neurônios do NTS se projetam aos núcleos ambíguo (NA) e dorsal motor do vago (DMV), os quais realizam sinapses excitatórias com neurônios pré-ganglionares parassimpáticos, e estes se projetam ao coração determinando diminuição de frequência cardíaca. Alguns neurônios do NTS se projetam para a parte caudal do núcleo bulbo ventro-lateral (BVL), o qual contém neurônios gabaérgicos inibitórios (BLESSING e WILLOUGHBY, 1987) que se projetam para a porção rostral do BVL, onde se situam os corpos celulares de neurônios pré-motores simpáticos. Estes se projetam à coluna intermédio-lateral da medula, onde se localizam os neurônios pré-ganglionares simpáticos que inervam o

coração, vasos de resistência e de capacitância, determinando variações de frequência cardíaca (FC), volume sistólico (VS), RVP e de retorno venoso.

Com o aumento da PA, ocorre maior distensão vascular e aumento da atividade aferente dos nervos depressores aórtico e carotídeo. A estimulação dos neurônios secundários do NTS causa excitação do DMV e do NA, aumentando o tônus vagal e reduzindo a FC. Concomitantemente, é estimulado o BVLcaudal, reduzindo o tônus simpático ao coração e vasos. Há redução da frequência e da contratilidade cardíaca, queda do retorno venoso com redução do VS, diminuindo o débito cardíaco. Ocorre ainda uma queda da RVP, que também contribui para a redução acentuada da PA, contrabalanceando a elevação inicial e a mantendo dentro de limites bastante estreitos de variação. (MICHELINI e KRIEGER, 1984).

Quando ocorre uma queda acentuada da PA, os mecanorreceptores aórticos e carotídeos são menos deformados e a atividade aferente dos nervos depressor aórtico e sinusal é momentaneamente reduzida, ou mesmo suprimida. Os neurônios do NTS são pouco ou não estimulados, deixando de excitar os neurônios pré-ganglionares localizados no núcleo DMV e no NA, diminuindo o tônus vagal e, não excitando os neurônios depressores do núcleo BVLcaudal, promovem a liberação da atividade dos neurônios do núcleo BVLrostral, com conseqüente aumento do tônus simpático. Ocorre, portanto, aumento significativo da FC e contratilidade, elevação da RVP e do retorno venoso, com conseqüente aumento da pressão, voltando esta para valores basais.

1.3 Modelos Genéticos de Hipertensão Arterial

Ao longo dos anos, linhagens de ratos contendo diferentes fenótipos de pressão arterial foram desenvolvidas por meio de cruzamentos seletivos durante várias gerações. A maioria das linhagens existente é derivada do gênero Wistar e Sprague-Dawley. Dentre os modelos genéticos de HA, os ratos SHR (do inglês, *Spontaneously Hypertensive Rats*) são geneticamente hipertensos (OKAMOTO e AOKI, 1963). O modelo SHR encontra-se entre os mais estudados; sua importância está na similaridade fisiopatológica com a hipertensão essencial em humanos. Os ratos SHR machos e fêmeas começam a desenvolver HA com 4-5 semanas de vida; apresentam um nível de pressão compatível com a hipertensão espontânea entre a 7ª e a 15ª semanas, atingindo um platô de pressão entre a 20ª e 28ª. Entre as principais vantagens na utilização de modelos animais no estudo de doenças complexas como a HA estão: a homogeneidade genética, a possibilidade de seleção dos cruzamentos, o grande

número de animais da progênie e o relativo controle sob os fatores ambientais (OKAMOTO e AOKI, 1963).

1.4 Aspectos morfológicos dos vasos sanguíneos

Os vasos sanguíneos, acima de certo calibre, apresentam um plano geral comum de construção. De modo geral, são formados por três camadas: a túnica íntima, túnica média e túnica adventícia. A túnica íntima se estende da luz do vaso sanguíneo até a lâmina elástica interna, a primeira camada de lâminas elásticas concêntricas que circundam a luz, é fina e tem um papel insignificante nas propriedades mecânicas da parede da aorta. Ela é composta por uma grande variedade de tipos de colágenos (I, II, III, IV, V, VI e VIII), por fibronectina, proteoglicanas e ácido hialurônico. Quanto à composição, o colágeno tipo I corresponde a 16% do peso da íntima, o tipo III a 8% e o tipo IV a 2%, ficando água, proteoglicanas, componentes celulares e outros colágenos com 77% do peso da íntima. (SILVER *et al.*, 2001)

Nas artérias de grande calibre ou elásticas são freqüentes a quantidade de lâminas elásticas na túnica média. A túnica média estende-se da parte interna da lâmina elástica interna até a parte externa da lâmina elástica externa. Essa túnica tem a função de regularizar o fluxo sanguíneo. Durante a sístole, o tecido elástico se distende sob o impacto da contração cardíaca. Na diástole estas artérias voltam ao calibre normal, impulsionando o sangue e fazendo com que o fluxo e a pressão arterial tornem-se cada vez mais regulares (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). A túnica média consiste de fibras elásticas, que contêm elastina e fibrilina, de colágenos do tipo I, III, IV e V, de proteoglicanas, fibronectina e ácido hialurônico. Quanto à composição, o colágeno tipo I corresponde a 8% do peso da média, o tipo III a 16% e água, proteoglicanas, componentes celulares, outros colágenos e fibras elásticas correspondem a 76% do peso da média. (SILVER *et al.*, 2001).

Externamente à lâmina elástica externa encontra-se a adventícia, que consiste de fibroblastos, fibras colágenas de diâmetro largo, fibras elásticas, tecido adiposo e proteoglicanas. Semelhante à composição das túnicas íntima e média, na adventícia o colágeno tipo I corresponde a 14% do peso da adventícia, o tipo III a 7%, e água, proteoglicanas, componentes celulares, outros colágenos e elastina a 78% do peso da íntima (SILVER *et al.*, 2001).

As proteínas fibrosas, elastina e colágeno, são os componentes estruturais-chave da matriz extracelular dos vasos sanguíneos, fornecendo força e elasticidade necessárias à aorta, bem como permitindo variações de pressão durante cada batimento (MATSUDA *et al.*, 1989, MATSUDA *et al.*, 1993; JACOB, 2003). As propriedades funcionais dos vasos, particularmente das grandes artérias e veias, são largamente dependentes da quantidade absoluta e relativa desses dois constituintes (JACOB, 2003), onde a elastina confere elasticidade e o colágeno atua dando a rigidez para a parede arterial, limitando assim a extensibilidade. O grau de relação entre as fibras colágenas e elásticas é importante para conferir as propriedades mecânicas adequadas ao tecido, uma vez que 46% do peso da aorta correspondem a colágeno e 30% a elastina. Assim, alterações na quantidade e qualidade de qualquer um dos constituintes da matriz podem ser a base de doenças que afetam diretamente a aorta (CATTELL *et al.*, 1996; SILVER *et al.*, 2001).

Como citado anteriormente, as propriedades mecânicas da parede dos vasos são reflexo dos seus componentes estruturais, que incluem: água, íons, colágeno, fibras elásticas, proteoglicanas, fibroblastos, células musculares lisas e endoteliais. Em particular, o comportamento mecânico do colágeno tipo I e do colágeno tipo III, os quais se encontram em uma direção circunferencial, e das fibras elásticas é uma característica importante da parede vascular, pelo fato de a aorta ter uma importante função auxiliar de bomba e ser o maior vaso elástico distribuidor de sangue oxigenado para os diversos tecidos e órgãos do corpo (SILVER *et al.*, 2001).

Diante do exposto, a Figura 1 (A e B), a seguir, ilustra um esquema representativo dos diferentes constituintes dos vasos sanguíneos, bem como da disposição estrutural do colágeno tipo I, colágeno tipo III, fibras elásticas e musculatura lisa.

Figura 1 – Diagrama representativo do arranjo circunferencial entre o colágeno tipo I, musculatura lisa, colágeno tipo III (mostrado na superfície do colágeno tipo I) e fibras elásticas. Corte transversal do vaso (A). Corte sagital da parede do vaso (B). (SILVER *et al.*, 2001).

1.4.1 Distribuição das fibras elásticas

O principal componente das fibras elásticas é a elastina que é uma glicoproteína estrutural. Diferentes proporções de elastina e microfibrilas promovem características funcionais variáveis, adaptáveis às necessidades locais dos tecidos (KIELTY *et al.*, 2002). O desenvolvimento da elastogênese se dá através de três estágios graduais e sucessivos: fibras oxitalânicas (formadas exclusivamente por miofibrilas e sem elastina), elaunínicas (formadas por grande quantidade de miofibrilas e pouca elastina) e fibras elásticas ou elásticas maduras (formadas por grande quantidade de elastina e poucas miofibrilas).

As diferenças morfológicas presentes entre os três diferentes estágios em que podem se encontrar as fibras permitem que elas possam ser reconhecidas e diferenciadas com base na utilização de processamentos histológicos que utilizam diferentes corantes. Assim, o método de Verhoeff apenas evidencia as fibras elásticas, que correspondem às mais espessas. Já os

métodos de resorcina – fucsina (Weigert) e de orceína (Unna – Tanzer) evidenciam, além das fibras espessas, um plexo de fibras de menor espessura as quais correspondem às fibras elaunínicas. Por último, após oxidação prévia, tanto o método de resorcina-fucsina como o de orceína podem ser utilizados na identificação das fibras mais delgadas, as oxitalânicas. As fibras do sistema elástico estariam, pois, em processo de evolução contínua, partindo da forma da fibra oxitalânica para a elaunínica e, posteriormente, elásticas maduras, como descrevem COTTA-PEREIRA e IRVELA-ARISPE (1989).

Segundo estudos de RODRIGUES JUNIOR (1987) a diferente classificação do sistema de fibras elásticas apresenta uma justificativa de extrema importância, uma vez que a formação das fibras está diretamente envolvida com características funcionais que as mesmas apresentam. Assim, a propriedade da fibra é relatada pela sua grande quantidade de elastina, sendo que as fibras oxitalânicas e elaunínicas, sem ou com pouca elastina, dariam a resistência à tensão mecânica, o que representa ser um elemento capaz de sustentar as variações de distensão a que se submetem, garantindo assim a sua integridade. Os microfilamentos das fibras elásticas parecem desempenhar importante papel na integração e talvez na “amarria” das fibrilas colágenas. Embora sua função seja a de proporcionar resistência, as fibras oxitalânicas, por sua plena distribuição, têm sua função estendida para além da elastogênese. Sua localização dentro de tecidos sugere que elas sirvam como uma proteína elástica acessória, em regiões sujeitas ao estresse mecânico (GOLDFISCHER *et al.*, 1983; RODRIGUES JUNIOR, 1987; HORTA *et al.*, 2005). Já as fibras elásticas maduras, as quais possuem grande quantidade de elastina, representariam o elemento responsável pela distensibilidade reversível do tecido conectivo, sendo capaz de aumentar até uma vez e meia o seu comprimento e retornarem ao seu comprimento inicial (PANIAGUA *et al.*, 1983).

1.4.2 Distribuição do colágeno

Outro constituinte-chave da matriz extracelular dos vasos sanguíneos é o colágeno. O colágeno corresponde a um grupo de proteínas com repetidas seqüências de GLy –X-Y onde, GLy é o aminoácido glicina, e X e Y correspondem a outros aminoácidos, frequentemente prolina e hidroxiprolina (JENSEN e HOST, 1997). Essas proteínas formam um agregado de suporte para macromoléculas. O colágeno atua como um arcabouço estrutural e com papel importante na resistência a distensões excessivas dos vasos, conferindo rigidez aos vasos e, ao mesmo tempo, limitando a extensibilidade (CATTELL *et al.*, 1996). Existem ao menos 28

diferentes tipos de colágenos, e quantitativamente, predominam os tipos I e III. O colágeno tipo I está presente em muitos tecidos, sendo a mais abundante proteína do corpo humano. Já o tipo III é o segundo mais comum, encontrado em associação com o tipo I. Diversas células são capazes de sintetizar colágeno (osteoblastos, células endoteliais, células musculares lisas), mas a grande maioria deriva dos fibroblastos (JENSEN e HOST, 1997).

Predominantemente entre a parede da aorta, os principais tipos de colágeno são os tipos I e III, que correspondem a cerca de 80-90% do total do colágeno desse vaso (KIELTY *et al.*, 2002). Os colágenos I e III, em geral, cumprem uma função mecânica e conferem resistência a tensão. O tipo III está associado em particular com a extensibilidade da parede do vaso; já o tipo I confere a rigidez arterial. Além destas importantes funções mecânicas imprescindíveis para a integridade do vaso, o colágeno fornece uma ancoragem para as células e exerce uma importante influência na função celular através de seu contato com receptores (BARNES e FARNDAL, 1999).

Além dos tipos I e III a parede dos vasos sanguíneos apresenta: o colágeno tipo IV, que ocorre na membrana basal endotelial e circunda a lâmina basal da célula muscular lisa; o colágeno V, que está localizado no subendotélio e associado também com a superfície da célula muscular lisa; o colágeno VI, que é encontrado entre as fibras colágenas da túnica média e no subendotélio, onde tem um papel importante como placas de adesão; e o colágeno VIII, que é elaborado pelas células endoteliais e células musculares lisas após injúria arterial (BARNES e FARNDAL, 1999).

A distribuição dos diferentes tipos de colágeno, bem como a sua quantidade, pode apresentar um importante papel no desenvolvimento da aterosclerose, por mudanças nas características de distensibilidade dos vasos sanguíneos de grande calibre. Assim, a diminuição da elastina na parede do vaso, com conseqüente aumento dos níveis de colágeno na região, poderá levar com o tempo a uma diminuição da distensibilidade do vaso, uma vez que esta propriedade é mais encontrada na elastina em relação ao colágeno (FARIS, 1973; CATTELL *et al.*, 1996).

1.5 Mecanismos de rigidez arterial

A rigidez arterial se desenvolve por meio de uma complexa interação entre mudanças estáveis e dinâmicas, envolvendo elementos estruturais e celulares da parede dos vasos. A Figura 2 mostra as alterações vasculares que ocorrem em um processo de rigidez arterial.

Neste processo as células endoteliais apresentam um aumento da sua permeabilidade levando a disfunção endotelial; a íntima apresenta ainda um aumento do colágeno, de leucócitos, de metaloproteases de matriz, de células musculares lisas, do TGF – β e uma diminuição da elastina. Na túnica média ocorre um aumento do colágeno, das células musculares lisas e de metaloproteases de matriz, com diminuição da elastina. Na adventícia ocorre um aumento do colágeno e de fibroblastos (ZIEMAN *et al*, 2005). Essas alterações vasculares, além de influenciadas por forças mecânicas, podem ser moduladas por “fatores extrínsecos”, como hormônios, concentração de sal, níveis de glicose, lipídeos, aumento da luz do vaso e níveis de angiotensina ou outros vasoceptídeos (ZIEMAN, *et al*, 2005).

A rigidez arterial não é uniformemente disseminada através da árvore vascular, mas ocorre com frequência em vasos centrais e de condução. Doenças como a hipertensão e o diabetes mellitus, ou simplesmente a idade, amplificam as mudanças vasculares que resultam com o tempo em uma rigidez vascular (ZIEMAN, *et al*, 2005)

Figura 2 - Diagrama representativo da localização e das múltiplas causas da rigidez arterial. (ZIEMAN *et al.*, 2005)

1.6 Efeito da hipertensão na morfologia da aorta

A elevação da PA está então diretamente associada com mudanças geométricas, estruturais, morfológicas e funcionais na parede arterial (FRIDEZ *et al.*, 2003), sendo que essas mudanças podem se desenvolver em menos de dois meses após a instalação da doença (NIEDERHOFFER *et al.*, 2000). A HA é um dos maiores fatores de risco associados ao desenvolvimento da aterosclerose. Além disso, do ponto de vista biomecânico, com o aumento da PA ocorre, conseqüentemente, um aumento do estresse mecânico na parede da aorta (MATSUMOTO e HAYASHI, 1993). Neste sentido, alguns autores já demonstraram que a camada interna da parede da aorta se apresenta mais espessa na hipertensão aguda, enquanto a camada externa se mostra mais espessa na hipertensão crônica. Com relação à camada média, esta já apresenta uma espessura não uniforme, devido à evolução do conteúdo de colágeno, o qual exhibe um rápido aumento na hipertensão aguda e um pequeno aumento na hipertensão crônica; e também pelo aumento de forma exígua e contínua da elastina (FRIDEZ *et al.*, 2003).

O rápido aumento da espessura que ocorre na parede aórtica, concomitantemente à pequena alteração das propriedades elásticas da mesma, indicam que as adaptações quanto à dimensão do vaso precedem aquelas aonde ocorreram alterações quanto aos tipos de constituintes que o formam. Assim, a parede da aorta responde às mudanças de carga mecânica de duas formas: a primeira, com alterações da espessura da parede, para manter a tensão em uma escala ótima; a segunda, com alterações da elasticidade, para manter a função da parede em condições viáveis (MATSUMOTO e HAYASHI, 1993).

É bem estabelecido que a hipertensão essencial é associada com mudanças estruturais nos vasos de resistência, como diminuição da luz e aumento da razão parede/luz (FOLKOW, 1982). Porém, essas mudanças não podem ser associadas como sendo decorrentes de um crescimento, mas sim de um rearranjo dos diferentes materiais constituintes, levando a um remodelamento e, caracterizando assim, as mudanças estruturais da parede dos vasos (BAUMBACH e HEITAD, 1989). Entretanto, o termo remodelamento é usado para descrever qualquer alteração estrutural que acomete os vasos. Diante disso, MULVANY *et al.*, (1996) propuseram uma nova classificação para as alterações estruturais dos vasos, divididas em etapas: a) o processo de mudança da razão parede/luz sem mudança na quantidade ou característica dos materiais constituintes recebe o nome de remodelamento eutrófico. Esse processo pode ocorrer também com aumento na quantidade de material constituinte recebendo o nome de remodelamento hipertrófico e em outros casos ocorre uma diminuição na

quantidade de material constituinte sendo chamado de hipotrófico; b) as mudanças nas quais ocorre diminuição no diâmetro interno recebem o nome de remodelamento interno e as quais envolvem um aumento no diâmetro interno recebem o nome de remodelamento externo. Em vasos de resistência de pacientes com hipertensão arterial, temos um aumento da razão parede/luz, uma diminuição da luz, sem mudança na quantidade de material constituinte, com isso, essas mudanças são ditas remodelamento eutrófico interno (MULVANY *et al.*, 1996). Diante do exposto, a Figura 3, a seguir, ilustra um esquema representativo dos diferentes tipos de remodelamento que, segundo esses autores, os vasos sanguíneos podem sofrer diante de um processo de hipertensão essencial.

Figura 3 - Diagrama representativo das diferentes maneiras que o remodelamento pode afetar a estrutura dos vasos sanguíneos. O remodelamento pode ser hipertrófico (coluna da direita), hipotrófico (coluna da esquerda) ou eutrófico (coluna central). Essas formas de remodelamento ainda podem ocorrer interna ou externamente (MULVANY *et al.*, 1996).

1.7 Interação entre exercício físico, hipertensão arterial e aorta

Diversas intervenções não farmacológicas, os chamados tratamentos alternativos ou complementares aos tratamentos farmacológicos são recomendados como instrumentos de prevenção primária da HA (KAPLAN, 1995; CHOBANIAN *et al.*, 2003, MANCIA *et al.*, 2005). Entre elas as mudanças no estilo de vida, a diminuição na ingestão de sal e álcool, a redução do peso corporal e, principalmente, a atividade física aeróbia regular. Neste sentido, estudos epidemiológicos indicam uma grande associação entre a realização do exercício físico e uma PA em níveis controlados. Além disso, o exercício físico realizado de forma intermitente mostra-se eficaz não somente como mantenedor de uma PA baixa, mas também como mecanismo eficaz na redução da mesma (CHOBANIAN *et al.*, 2003; PESCATELLO *et al.*, 2004). Este, se realizado numa intensidade de 40-60% da VO₂ máxima, fornece melhores resultados na redução da PA do que exercícios de maior intensidade (PESCATELLO *et al.*, 2004).

Assim, diversos estudos relatam uma redução da PA em animais e humanos submetidos ao exercício físico (KOKKINOS *et al.*, 2001; WALLACE, 2003; TSAI *et al.*, 2004; HORTA *et al.*, 2005). Isto talvez se explique pela diminuição da resistência vascular periférica onde o sistema nervoso simpático e o sistema renina-angiotensina parecem estar envolvidos. Assim, o exercício físico induz à diminuição do débito cardíaco, alteração do balanço simpato-vagal com redução do tônus simpático, aumento da sensibilidade dos barorreceptores arteriais, diminuição dos níveis plasmáticos de renina e aldosterona (NEGRAO *et al.*, 1992; AMARAL *et al.*, 2000, 2001; MELO *et al.*, 2003; CORNELISSEN e FAGARD, 2005). Além disso, outros mecanismos parecem estar relacionados à diminuição da RVP no exercício, como a aumentada expressão gênica da NO sintase (YEN *et al.*, 1995; JONSDOTTIR *et al.*, 1998) e o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) pelo endotélio (GRAHAM e RUSH, 2004), os quais parecem então exercer importante fator ateroprotetor (JONSDOTTIR *et al.*, 1998; FUKAY *et al.*, 2002).

Além disso, alguns trabalhos da literatura indicam ainda que o exercício físico promove ganho na sensibilidade dos barorreceptores em animais normotensos e hipertensos (BRUM *et al.*, 2000), bem como aumento na sensibilidade à acetilcolina (ACh) em grupos treinados, quando comparados aos respectivos grupos controles (CHEN *et al.*, 1999; GRAHAM e RUSH, 2004). Ainda, o exercício físico pode agir diretamente induzindo em grandes vasos a um aumento da expressão gênica da tropoelastina, um precursor da elastina.

Isso pode levar a um remodelamento vascular que independe do aumento da PA ocorrido na HA (ALDEN *et al.*, 1991).

Embora NIEDERHOFFER *et al.*, (2000) tenham demonstrado que o exercício físico não apresenta efeitos significativos quanto a alterações no comprimento, diâmetro interno, espessura e conteúdo elástico da parede da aorta, outros autores já haviam demonstrado previamente um aumento do componente elástico, o que certamente levaria à melhora das propriedades elásticas da parede arterial (MATSUDA *et al.*, 1993).

Na verdade, hoje o exercício físico é visto de forma mais ampla, mostrando-se favorável não só para corrigir ou evitar o desenvolvimento da hipertensão, como também para prevenir outros riscos cardiovasculares (CORNELISSEN e FAGARD, 2005).

Com base no exposto anteriormente, não resta dúvida com relação à importância do exercício físico como um excelente meio para evitar não somente a HA, mas também como método de prevenção de outros problemas cardiovasculares. No entanto, embora o número de estudos avaliando os mecanismos deflagrados pelo exercício físico seja cada vez maior, as alterações morfológicas a ele associadas são ainda motivo de especulação, principalmente no que se refere à modificação dos constituintes da parede arterial e remodelamento vascular.

2 OBJETIVOS

Diante das considerações realizadas previamente, este estudo tem como proposição avaliar em ratos sedentários e em ratos submetidos ao treinamento físico, nas condições de normotensão (ratos Wistar Kyoto) ou hipertensão (ratos SHR), os seguintes parâmetros:

- 1) Quantificação dos diferentes tipos de fibras elásticas da parede da aorta abdominal.
- 2) Análise da razão parede/luz, área de secção transversa e luz (lúmen) da aorta abdominal.
- 3) Avaliação da expressão protéica dos colágenos I e III da parede da aorta abdominal.
- 4) Avaliação da expressão protéica de elastina da parede da aorta abdominal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais experimentais

Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos (SHR) machos e ratos normotensos (WKY), entre 2 e 3 meses de idade e com peso inicial entre 210 e 300g. Os animais, provenientes do Biotério Central do ICB-USP, foram mantidos durante o período experimental no Biotério setorial do Departamento de Fisiologia e Biofísica-ICB, onde permaneceram em ambiente com temperatura (entre 22 e 24° C) e iluminação (fotoperíodo com ciclos claro/escuro 12/12h) controladas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (não ultrapassando o número de 4 ratos por gaiola), recebendo água e ração *ad libitum* e pesados semanalmente. O protocolo experimental de treinamento físico foi realizado no Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica, segundo a orientação da Profa. Dra. Lisete Compagno Michelini do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, do mesmo departamento.

3.2 Determinação do peso corporal

Os ratos foram pesados em balança de prato (0 a 5Kg, Filizola) semanalmente, durante todo o período experimental e no momento dos experimentos.

3.3 Avaliação da capacidade máxima dos animais

A capacidade aeróbia máxima dos animais foi avaliada individualmente e de forma indireta, através de teste máximo de esforço utilizando-se um protocolo escalonado iniciando a 0,3 km/h, com incrementos de 0,3 km/h a cada 3 minutos até a exaustão do animal. A carga máxima foi considerada aquela em que o animal não conseguia mais correr espontaneamente.

3.4 Protocolo de treinamento físico de baixa intensidade

Após período inicial de adaptação de 2 semanas (10 sessões de 0,4 – 0,6 Km/h, 0% inclinação, 10 minutos/dia), os animais foram selecionados pela sua habilidade de andar/correr na esteira ergométrica (Inbramed, Millennium) adaptada para ratos. A esteira é constituída de 10 raias de acrílico transparente, pintadas em sua extremidade dianteira de preto, criando um ambiente para o qual os ratos são atraídos durante as sessões de treinamento. Estas modificações facilitam o treinamento dos ratos evitando o uso de choques elétricos.

No último dia do período de adaptação, os animais foram submetidos ao teste de esforço máximo, cujos resultados foram utilizados para alocar ratos com capacidade física equivalente aos grupos treinado (T) ou sedentário (S). Os animais considerados inaptos a andar/correr na esteira foram excluídos do protocolo. O treinamento físico de baixa intensidade foi realizado em esteira ergométrica durante 1 h/dia, 5 dias/semana, por 13 semanas, segundo o protocolo de treinamento padronizado no laboratório (50-60% da carga máxima atingida no teste de esforço). Na 6ª semana de treinamento, foi novamente realizado o teste máximo de esforço, sendo a velocidade de treinamento reajustada, de acordo com os novos valores.

Os ratos alocados ao grupo S foram mantidos sedentários por igual período de tempo e apenas uma vez/semana colocados na esteira (5 min com velocidade de aproximadamente 0,5 km/h), para que se acostumassem ao manuseio experimental e à esteira. Os ratos sedentários também foram submetidos a testes de capacidade máxima no mesmo período que os treinados. Ao final dos protocolos experimentais (13ª semana) os testes de esforço máximo foram repetidos para aferir-se a eficácia do treinamento. Neste protocolo foram avaliados, portanto, 4 grupos experimentais: WKY sedentários (WKYS) e treinados (WKYT) e SHR sedentários (SHRS) e treinados (SHRT).

3.5 Técnica para cateterização arterial

3.5.1 Confeção das cânulas

As cânulas para implantação crônica na artéria carótida foram confeccionadas com tubos Tygon (Critchley, Austrália), sendo a parte proximal a ser introduzida na luz vascular mais fina (diâmetro interno: externo = 0,28 : 0,61mm) com dois cm de extensão, a qual foi soldada, por aquecimento, à parte distal de maior calibre (diâmetro interno: externo = 0,50 : 1,50mm) com aproximadamente 6cm de comprimento. A soldagem foi realizada sob calor com auxílio de um guia de aço de 0,35mm de diâmetro para preservação da luz interna do cateter. As cânulas foram preenchidas com solução salina heparinizada (0,1: 1ml) e mantidas ocluídas com pino de metal.

3.5.2 Implantação da cânula arterial

Ao final do protocolo de treinamento ou sedentarismo, os ratos foram anestesiados, i.m., com ketamina, xilazina e acepromazina, numa razão de 0,7: 0,2: 0,1, respectivamente, na dose de 0,04-0,08 ml/100 g peso, posicionados em decúbito dorsal, após tricotomia e assepsia da região anterior do pescoço realizou-se uma incisão na região ventral direita para dissecação e isolamento da artéria carótida. Após a ligadura da porção distal com fio de algodão e do clampeamento da porção proximal com pinça de oclusão, realizou-se com auxílio de uma tesoura, uma incisão transversal na parede do vaso através da qual foi introduzida a porção mais fina da cânula de Tygon em direção à aorta.

A cânula foi firmemente amarrada à artéria com fio de algodão na região da junção dos tubos e a parte mais espessa de Tygon foi exteriorizada através do tecido subcutâneo no dorso do animal, onde foi fixada com uma sutura. As incisões ventral e dorsal do pescoço foram então suturadas, procedendo a seguir a assepsia local com água oxigenada.

Durante a recuperação anestésica, os ratos foram mantidos aquecidos, permanecendo em gaiolas individuais com água e ração *ad libitum*, até a realização dos experimentos no dia seguinte.

3.6 Registro simultâneo de pressão arterial e frequência cardíaca

Os registros basais de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) foram obtidos 24h após a canulação arterial com os animais acordados e com livre movimentação. No grupo treinado, os registros foram sempre feitos cerca de 24 horas após o final do treinamento.

A PA (pulsátil e média) foi registrada diretamente na aorta torácica, via cânula implantada na carótida direita, conectada a um transdutor de pressão (Gould 5900, 8 canais, Cleveland, OH, USA). A FC foi obtida a partir da contagem dos pulsos de PA, determinada através do tacógrafo (Biotach, Gould). Para obtenção dos valores basais de PA e FC, aguardou-se o tempo necessário (15-30 minutos) para o desaparecimento da atividade exploratória do animal. Os registros basais propriamente ditos foram iniciados após estabilização dos níveis de PA e FC e duraram cerca de 30-40 minutos.

3.7 Preparação dos tecidos para análise histológica

Ao final dos experimentos funcionais, os animais do grupo sedentário e do grupo treinado foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina/Cloridrato de Xylazina - Rompum (100/20mg/kg, *ip*). Foi realizada uma incisão ventral, na linha mediana da região torácica com abertura do tórax, a fim de expôr o coração. Os animais foram perfundidos, através da introdução da agulha no ápice do ventrículo esquerdo e ruptura do átrio direito para a troca de sangue por fixador. A perfusão foi realizada utilizando-se uma bomba peristáltica (Manostat Corporation) a uma pressão de 90-110 mmHg para os normotensos e de 160-180 mmHg para os animais hipertensos. Inicialmente, a perfusão foi feita com aproximadamente 100ml de solução salina e, posteriormente, com cerca de 200ml de solução de paraformaldeído a 4%, tamponado com PBS. Em seguida, foi realizada a dissecação para a retirada do terço inferior da aorta abdominal (em torno de 10mm). Este foi retirado logo abaixo das artérias renais e acima da bifurcação das artérias ilíacas. Estes segmentos arteriais foram fixados em solução de paraformaldeído tamponado a 4%, durante 48 horas. Em seguida, os tecidos foram desidratados em seqüência crescente de etanol (60%, 70%, 80%, 90% até absoluto III) e incluídos em parafina. Foram realizados cortes transversais de 5µm, os quais foram corados utilizando o seguinte método de coloração:

- Hematoxilina férrica (Verhoeff, 1908), para evidenciação de fibras elásticas maduras.
- Resorcina – fucsina (Weigert, 1898), para evidenciação de fibras elásticas maduras e elaunínicas.
- Resorcina – fucsina (Weigert, 1898) após oxidação com solução aquosa a 1% de oxona, para evidenciação de fibras elásticas maduras, elaunínicas e oxitalânicas.
- Hematoxilina – eosina, para análise morfométrica da túnica média da aorta abdominal.
- Picrosirius, para visualização qualitativa dos colágenos I e III.

Para cada amostra de tecido foram confeccionadas três lâminas com cinco cortes semi-seriados em cada uma, totalizando quinze cortes.

3.8 Quantificação dos diferentes tipos de fibras elásticas

As secções histológicas das aortas foram analisadas ao microscópio de luz com objetiva de 100X, em imersão e ocular de compensação Kf 10x18, com graticulos de integração de 400 pontos, exibindo 20 retas paralelas (Figura. 4). A distância (l) entre os pontos neste sistema é de $5\mu\text{m}$ e a distância (d) entre as linhas é de $4,94\mu\text{m}$.

Para se obter a fração de volume do sistema de fibras elásticas nas aortas, o sistema-teste é acoplado ao campo microscópico, permitindo contar o número de pontos que incidem sobre o sistema de fibras (P_i) e o número total de pontos no sistema-teste (P_u). A densidade de volume (V_{vi}) ocupada pelo sistema fibroso em secções histológicas longitudinais das aortas é dada pela equação $V_{vi} = P_i/P_u$. A medida de densidade de volume (V_{vi}) é semelhante ao fator de correção (f) que permite analisar a densidade linear de secções histológicas não-homogêneas (anisotrópicas) (MANDARIM DE LACERDA, 2003).

Figura 4 – Diagrama representativo mostrando o graticulo de integração utilizado para quantificar os diferentes tipos de fibras elásticas.

3.9 Análise morfométrica da aorta abdominal

Os cortes corados com a técnica de Hematoxilina - eosina foram analisados em diferentes aumentos (ocular de 10X com objetivas 2X, totalizando um aumento final de 20X), o que permitiu uma melhor visualização dos cortes analisados. A escolha dos cortes foi feita adotando-se os seguintes critérios: a lâmina foi observada inicialmente com objetiva de 2X, selecionando-se o corte apropriado (sem ranhuras, dobras ou bolhas). Foram escolhidos dez cortes de cada vaso, onde então foram realizadas as medidas. Foi selecionada a Área externa (AE) (lâmina elástica externa) e Área interna (AI) (lâmina elástica interna), diâmetro interno (DI) e diâmetro externo (DE) do corte analisado. As medidas de Área de Secção Transversal (AST) foram obtidas pela diferença entre AE-AI ($AST = AE - AI$); as medidas de espessura foram obtidas dividindo-se por dois a diferença entre o DE-DI ($H = DE - DI / 2$) e a razão parede/luz foi obtida pela razão entre espessura e DI ($R P/L = H / DI$), conforme mostra a Figura 5.

Figura 5 – Representação das medidas seleccionadas e cálculos realizados para a análise morfométrica das aortas abdominais.

As imagens selecionadas foram capturadas e medidas utilizando um sistema computadorizado acoplado ao microscópio (Nikon Eclipse E1000) (Processo FAPESP 01-13873-5), com um software específico para realização de medidas morfométricas (Image Pro®Plus, Media Cybernetics, Silver Spring, MA, EUA). Todas as medidas morfométricas foram expressas em micrômetros (μm).

3.10 Análise da expressão protéica por Western-Blot

Neste item foi inicialmente realizada a padronização do método de Western Blot para análise da expressão protéica de alfa-actina, colágenos I e III e elastina das aortas abdominais. Uma vez padronizadas as condições ideais, seguiu-se com a quantificação propriamente dita dessas proteínas, avaliando a possível existência de alguma correlação entre os aspectos funcionais e os elementos constituintes da parede da aorta nos diferentes grupos experimentais: WKYS, WKYT, SHRS e SHRT. A análise da expressão da α -actinina foi ainda utilizada como um controle interno para a quantificação de todas as proteínas avaliadas. Após a obtenção das amostras da aorta, oriundas dos animais que não foram destinados à perfusão, adicionou-se uma solução contendo um coquetel de inibidores de proteases, numa proporção de 300 μL de amostra para 1 μL do coquetel. Esses inibidores serviram para manter a integridade da amostra. O coquetel continha 5mM de aprotinina (SIGMA), 1mM de pepstatina (SIGMA), 1mM de leupeptina (SIGMA), e 0,1M de PMSF (Fenil-metil-sulfonil fluoreto – GIBCO). Posteriormente, foi realizado o método colorimétrico de BRADFORD (1976), para a dosagem da concentração total de proteína existente em cada uma das frações.

100 μg para colágeno I, 75 μg para colágeno III, 20 μg para α -actina ou 50 μg para elastina ou α -actinina da proteína total, foram submetidas ao aquecimento (5 minutos em água fervendo) para desnaturação das proteínas e posteriormente à eletroforese em gel de poliacrilamida 30%, por 3 horas a 100 Volts. Após separação das proteínas conforme o seu peso molecular, as proteínas do gel foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose (Trans Blot Transfer Medium Purê Membrane – BIO-RAD) utilizando um sistema semi-seco (Trans-Blot Semi-Dry Cell – BIO-RAD), sob 20 Volts de tensão, durante 1 hora. Após transferência, as membranas foram lavadas e coradas com Ponceau (ponceau 0,1% – AMRESCO + ácido acético glacial 100% – MERCK) para observação da presença das proteínas nas membranas. As membranas foram então lavadas com TBST (Tampão a base de NaCl – GIBCO e Tris Base – INVITROGEN com 1% de Tween 20 – AMRESCO) pH = 7,5,

durante 20 minutos. Posteriormente, as membranas foram incubadas com os anticorpos primários policlonais específicos: para colágenos I ou III (1:100 – SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY), para α -actina (1:3000 – SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY), para α -actinina (1:1000 – SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY) ou para elastina (1:500 – ABCAM, INC.), por 24 horas. Com relação à α -actina, após sua transferência a membrana foi incubada com leite em pó desnatado 5% por 3 horas para o bloqueio de sítios inespecíficos e, posteriormente, adicionado o anticorpo primário específico. Após este período, as membranas foram então lavadas com TBST por 45 minutos e foram adicionados os anticorpos secundários (conjugados de IgG com peroxidase): anti-goat para colágeno I/III (1:1000 – JACKSON IMMUNO RESEARCH), anti-mouse para α -actina e α -actinina (1:3000 e 1:10000 – JACKSON IMMUNO RESEARCH respectivamente) e anti-rabbit para elastina (1:22000 – JACKSON IMMUNO RESEARCH) por 1 hora a temperatura ambiente. Após a ligação do anticorpo secundário as membranas foram lavadas com TBST por 45 minutos e acrescentou-se a solução de ECL (AMERSHAM BIOSCIENCES), a qual promove uma reação de luminescência, cujo produto final impressiona um filme de raio X. Ao término deste processo, as membranas foram expostas ao filme (T-MAT G/RA Film – KODAK), promovendo a marcação de bandas, as quais são proporcionais à quantidade de proteína ligada ao anticorpo específico. Estas bandas foram posteriormente quantificadas densitometricamente em um sistema de fotodocumentação Gel Pro Imager (MEDIA CYBERNETICS).

3.11 Apresentação dos dados e análise estatística

Os resultados foram analisados como média $\pm$ EPM. A análise estatística dos dados foi realizada pela análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo teste *post-hoc* de *Newman-Keuls*, conforme apropriado. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

4.1 Eficácia do treinamento físico

A eficácia do treinamento físico foi avaliada através do teste de esforço físico máximo em esteira ergométrica, representado como velocidade máxima atingida durante o teste.

Como apresentado na Figura 6, desde o início do protocolo os SHR mostraram melhor desempenho (distância máxima) no treinamento do que os WKY (147 ± 7 vs 105 ± 7 m, respectivamente), mas sem diferença estatisticamente significante. Durante todo o protocolo experimental os SHR sempre apresentaram um melhor desempenho ao teste máximo, em relação aos WKY. Observou-se também que o desempenho ao teste máximo, bem como a diferença observada já no início dos protocolos experimentais, se manteve ao longo das 13 semanas do protocolo experimental, com velocidade sempre superior dos SHRT vs WKYT (Figura 6).

Figura 6 - Distância máxima (em m) alcançada durante o teste de esforço realizado no início, na sexta semana e na décima terceira semana nos ratos WKY sedentários (n=11) e treinados (n=13), SHR sedentários (n=13) e treinados (n=12). Média $\pm$ EPM. ANOVA, + $P < 0,05$ vs WKYS, ++ $p < 0,05$ vs WKYT, * $p < 0,05$ vs SHRS.

O treinamento aeróbio de baixa intensidade (50-60% do teste máximo) foi efetivo em aumentar a capacidade física dos grupos WKY e SHR, havendo em ambos os grupos aumento significativo da distância máxima alcançada na 6ª e 13ª semanas de treinamento, quando comparada aos seus respectivos controles. Até mesmo os SHRT, quando comparados aos WKYT, tiveram um aumento significativo na 6ª e 13ª semanas.

A eficácia do treinamento de baixa intensidade, conforme pode ser observado a seguir, foi equivalente em ambos os grupos (Figura 7). O ganho de capacidade física (diferença entre

a 13ª e a semana zero) para os WKYT e SHRT foi de 264 ± 12 e $279 \pm 33,5$ m, respectivamente, porém esses dados não foram estatisticamente diferentes. Com relação aos grupos sedentários, os WKY apresentaram o mesmo desempenho do início do protocolo experimental, já nos SHR observou-se uma ligeira redução, que não atingiu níveis de significância.

Figura 7 - Efeito das treze semanas de treinamento ou sedentarismo sobre a capacidade física dos ratos WKY sedentários (n=11) e treinados (n=13) e SHR sedentários (n=13) e treinados (n=12). Média $\pm$ EPM. ANOVA, + p<0,05 entre os grupos.

4.2 Peso corporal

O acompanhamento do peso corporal foi realizado desde o início do protocolo experimental (semana 0) até a última semana (13ª semana), nos quatro grupos experimentais: WKYS, WKYT, SHRS e SHRT. Os animais do grupo WKY (sedentários e treinados) apresentaram um peso corporal de $231,5 \pm 4,47$ e $218,5 \pm 4,7$ g, respectivamente, no início do experimento (semana 0); os SHR (sedentários e treinados) apresentaram peso de $268,7 \pm 4,59$ e $267,1 \pm 5,3$ g, respectivamente. No final do treinamento os WKYS apresentaram um peso de 331 ± 6 g, o que representa um aumento de 47% do peso inicial. Já os WKYT apresentaram peso de 314 ± 6 g, correspondendo a um aumento de 40% do peso inicial. No grupo SHRS o peso final foi de 328 ± 8 g, com aumento de 23% em relação ao início do protocolo. Os SHRT obtiveram um peso corporal no final do protocolo experimental de 319 ± 7 g, mostrando um ganho de 18% quando comparado ao início do protocolo.

A Figura 8 compara o ganho ponderal (em gramas) entre os diferentes grupos experimentais. O ganho ponderal dos ratos WKYS e WKYT durante o protocolo experimental

não apresentou diferença significativa ($+99,4 \pm 2,8$ vs $95,8 \pm 4,3$ g, respectivamente), o mesmo ocorrendo em relação aos ratos SHRS e SHRT ($60,3 \pm 5,3$ vs $50,5 \pm 2,9$ g, respectivamente). Quando comparado o grupo SHR com o grupo WKY, nota-se agora que houve um significativo e maior ganho de peso nos grupos WKY, em relação aos respectivos grupos SHR.

Figura 8 - Ganho ponderal de peso (em gramas) após treze semanas de treinamento dos ratos WKYS (n=11) e treinados (n= 13), SHRS (n=13) e SHRT (n=12). Média $\pm$ EPM. ANOVA, * $p < 0,05$ vs WKYT, + $p < 0,05$ vs WKYS.

4.3 Valores basais da pressão arterial e frequência cardíaca

Quanto aos parâmetros hemodinâmicos, foram avaliados ao longo do protocolo experimental a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) dos animais.

O grupo SHR apresentou níveis de PAM significativamente mais elevados que os WKY ($p < 0,001$ para o fator grupo), mas a pressão não apresentou diferença entre o fator condição ($p = 0,076$), embora houvesse interação significativa entre estes fatores ($p = 0,016$). O treinamento físico não alterou a PAM de repouso dos WKYS em relação ao WKYT (128 ± 2 vs 130 ± 2 mmHg, respectivamente), mas no grupo SHRT nota-se uma discreta, mas significativa queda da PAM, quando comparada à dos SHRS (172 ± 1 vs 165 ± 2 mmHg, respectivamente, $p < 0,05$), correspondendo a uma queda de 4,3%.

Figura 9 - Pressão arterial média basal (PAM) dos ratos WKYS (n=11) e WKYT (n=12), SHRS (n=11) e SHRT (n=10) Média $\pm$ EPM. ANOVA, * $p < 0,05$ vs respectivo WKY, + $p < 0,05$, entre os grupos.

Com relação à frequência cardíaca basal (FC), a análise de variância mostrou valores mais elevados nos SHR vs WKY ($p < 0,001$ para fator grupo) e que o treinamento físico foi eficaz em reduzir a FC basal ($p = 0,002$ para fator condição), não havendo, no entanto, interação entre estes fatores ($p = 0,320$). Quando comparados os WKYS com os WKYT observa-se que a FC teve uma pequena queda de 4,4% da FC basal (338 ± 5 vs 323 ± 5 bpm, $p > 0,05$), porém, estatisticamente não significativa. Já no grupo SHRT, quando comparado com o SHRS houve uma redução de 7,7% (386 ± 9 vs 356 ± 8 bpm, respectivamente), indicando também uma bradicardia de repouso (Figura 10).

Figura 10 - Frequência cardíaca basal (FC) dos ratos WKYS (n=11) e WKYT (n=12), SHRS (n=10) e SHRT (n=10). Média $\pm$ EPM. ANOVA, * $p < 0,05$ vs respectivo grupo WKY, + $p < 0,05$, entre os grupos.

4.4 Análise do diâmetro interno (luz), área de secção transversa e razão parede/luz

A Figura 11 mostra que os ratos WKY apresentaram valores de diâmetro interno significativamente maiores em relação aos SHR ($p<0,001$), o mesmo ocorrendo em relação a WKYT e SHRT ($p<0,05$, onde $p=0,007$). No entanto, a comparação entre os ratos WKYS e WKYT mostra que praticamente não houve diferença entre os grupos ($1113 \pm 27,44\mu\text{m}$, $n=5$, vs $1124 \pm 25,83\mu\text{m}$, $n=5$, respectivamente, onde $p=0,215$). Já no grupo SHRT, quando comparado com o SHRS houve um significativo aumento ($1045 \pm 11,18\mu\text{m}$, $n=5$ vs $961,8 \pm 14,18\mu\text{m}$, $n=5$, respectivamente, onde $p=0,032$). Diante desses resultados pode-se observar que o exercício físico promoveu aumento do diâmetro interno da aorta abdominal dos animais do grupo SHRT, em comparação àquele observado no grupo SHRS. O mesmo não ocorreu em relação aos grupos WKY. A Figura 12 mostra a diferença característica no diâmetro interno de um vaso normotenso (WKYS) e um hipertenso (SHRS).

Figura 11 – Diâmetro interno (dado em μm) da luz das aortas abdominais dos ratos WKYS ($n=5$) e WKYT ($n=5$), SHRS ($n=5$) e SHRT ($n=5$). Média $\pm$ EPM. ANOVA, * $p<0,05$ vs respectivo grupo WKY, ** $p<0,001$ vs respectivo grupo WKY, + $p<0,05$, entre os grupos.

Figura 12 – Fotomicrografia representativa de um vaso hipertenso (A) e outro normotenso (B) onde se pode observar a diferença entre o diâmetro interno de ambos. Aumento de 40X.

A Figura 13 mostra a área de secção transversa nos diferentes grupos experimentais, na qual se observa que o grupo SHR apresentou valores ligeiramente superiores aos do grupo WKY. A comparação entre os grupos WKYS vs SHRS mostra que os resultados foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$, onde $p = 0,004$), não ocorrendo significância entre os grupos WKYT vs SHRT ($p = 0,199$). No entanto, a comparação dos WKYS vs WKYT mostra que houve uma pequena tendência a aumento do grupo treinado, em relação ao sedentário, porém, não atingindo níveis de significância ($212431 \pm 7327 \mu\text{m}^2$, $n = 5$, vs $223046 \pm 5619 \mu\text{m}^2$, $n = 5$, respectivamente, onde $p = 0,149$). Ao compararmos o grupo SHRT com o SHRS, nota-se que praticamente não houve diferença entre os grupos ($232442 \pm 2351 \mu\text{m}^2$, $n = 5$ vs $235915 \pm 2717 \mu\text{m}^2$, $n = 5$, respectivamente, onde $p = 0,627$).

Figura 13 – Área de secção transversa das aortas abdominais dos ratos WKYS (n=5) e WKYT (n=5), SHRS (n=5) e SHRT (n=5). Média $\pm$ EPM. ANOVA, * $p < 0,05$ vs WKYS.

A Figura 14 mostra a razão parede/luz nos diferentes grupos experimentais. Conforme pode ser observado, a comparação dos WKYS vs SHRS e WKYT vs SHRT mostra que os resultados atingiram níveis de significância ($p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente). No entanto, a comparação dos WKYS vs WKYT mostra um pequeno aumento no grupo treinado em relação ao grupo sedentário, embora não significativo ($0,04920 \pm 0,00302 \mu\text{m}$, $n=5$ vs $0,05349 \pm 0,00143 \mu\text{m}$, $n=5$, respectivamente, onde $p=0,721$). Já o grupo SHRT, quando comparado ao grupo SHRS, apresentou uma significativa diminuição desse parâmetro ($0,06373 \pm 0,00153 \mu\text{m}$, $n=5$ vs $0,07155 \pm 0,00290 \mu\text{m}$, $n=5$, respectivamente, onde $p=0,013$).

Figura 14 – Razão parede/luz das aortas abdominais dos ratos WKYS (n=5) e WKYT (n=5), SHRS (n=5) e SHRT (n=5). Média $\pm$ EPM. ANOVA, ** $p < 0,001$ vs WKYS, * $p < 0,05$ vs WKYT, + $p < 0,05$, entre os grupos.

4.5 Quantificação dos diferentes tipos de fibras elásticas

Quanto ao tipo de fibras elásticas presentes nos diferentes grupos experimentais foram realizados três tipos de colorações: Verhoeff (para fibras elásticas maduras), Weigert (para fibras elásticas elaunínicas e maduras) e Weigert – Oxona (para fibras elásticas oxitalânicas, maduras e elaunínicas), como mencionado anteriormente.

A Figura 15 mostra os resultados obtidos frente às diferentes colorações e os respectivos valores para cada grupo experimental. A análise das fibras elásticas maduras, coradas pelo Verhoeff, mostra que os WKY apresentaram maior quantidade destas fibras em relação aos SHR. A comparação dos grupos WKYS vs SHRS e WKYT vs SHRT mostra que os resultados atingiram níveis de significância ($p < 0,001$). O treinamento, no entanto, não promoveu alteração na quantidade de fibras elásticas maduras no grupo WKY. Porém, no grupo SHR, o treinamento promoveu um significativo aumento na quantidade dessas fibras, quando comparado ao grupo sedentário ($25,28 \pm 0,98$, $n=5$, vs $21,76 \pm 0,77$, $n=5$, respectivamente).

Da mesma forma, também em relação às fibras elásticas elaunínicas e maduras (coradas por Weigert), observou-se uma maior quantidade destas fibras no grupo WKY, em relação ao SHR. Paralelamente, o treinamento físico, da mesma forma, não promoveu alteração na quantidade de fibras elásticas elaunínicas e maduras no grupo WKY, quando comparado ao grupo WKYS ($44,74 \pm 1,04$, $n=5$ vs $45,84 \pm 1,15$, respectivamente). Já com

relação ao grupo SHR, mais uma vez se observa que o treinamento físico promoveu um significativo aumento na quantidade deste tipo de fibra, em relação ao grupo sedentário ($41,12 \pm 0,87$, $n=5$ vs $32,60 \pm 0,96$, $n=5$, respectivamente).

Por último, com relação às fibras elásticas oxitalânicas, elaunínicas e maduras (coradas pelo Weigert – oxona), observa-se o mesmo perfil evidenciado anteriormente, ou seja, os WKY apresentaram maior quantidade destas fibras, em relação aos SHR, e o treinamento foi capaz de aumentar significativamente a quantidade destas fibras apenas no grupo SHR, em relação ao seu respectivo sedentário ($46,46 \pm 0,42$, $n=5$ vs $42,22 \pm 0,76$, $n=5$, respectivamente).

Figura 15 – Contagem de fibras elásticas pelas diferentes colorações e nos diferentes grupos experimentais, onde WKYS, WKYT, SHRS, e SHRT ($n=5$). Média $\pm$ EPM. ANOVA. **VERHOEFF**: * $p<0,001$ vs respectivo grupo WKY, + $p<0,05$, entre os grupos. **WEIGERT**: * $p<0,05$ vs WKYT, ** $p<0,001$ vs WKYS, + $p<0,001$, entre os grupos. **WEIGERT – OXONA**: * $p<0,05$ vs WKYT, ** $p<0,001$ vs WKYS, + $p<0,05$, entre os grupos.

De acordo com os dados apresentados, observa-se que os WKY (S e T) apresentaram maior número dos três tipos de fibras elásticas, quando comparados aos respectivos SHR. Isso sugere que na hipertensão ocorre uma diminuição na quantidade de fibras elásticas (Figura 16). Além disso, mesmo o grupo SHRT apresentando valores significativamente maiores que o grupo SHRS, o exercício não foi capaz de normalizar a quantidade de fibras elásticas nos níveis do grupo normotenso. No entanto, é importante ressaltar que mesmo o grupo SHRT que apresenta um déficit na proporção de fibras elásticas, em comparação ao grupo WKY, fica evidente que o exercício, em uma situação de hipertensão, é benéfico para os vasos elásticos, proporcionando um aumento na quantidade de fibras elásticas.

Figura 16 – Fotomicrografias das aortas abdominais para visualização dos diferentes tipos de fibras elásticas. Fibras elásticas maduras coradas pelo método de Verhoeff (A e B), fibras elásticas elaunínicas coradas pelo método de Weigert (C e D), fibras elásticas oxitalânicas coradas pelo método de Weigert-oxona (E e F). Aumento de 1000x.

4.6) Morfologia da aorta abdominal nos diferentes grupos experimentais

Figura 17 - Fotomicrografia de segmentos da parede da aorta abdominal, nos diferentes grupos experimentais, corados com Weigert. Objetiva de 4X e barra de calibração equivalente a 20µm. (A) WKYS, (B) WKYT, (C), SHRS e (D) SHRT. L (LUZ), a (adventícia).

A Figura 17 mostra a morfologia dos quatro grupos experimentais. Pode-se observar que nos grupos WKYS e WKYT ocorre uma maior homogeneidade da parede do vaso, com as lâminas elásticas paralelas, não fragmentadas e ausência de uniões entre as lâminas elásticas. Já no vaso hipertenso observa-se um desarranjo total das lâminas elásticas, as quais aparecem fragmentadas, com muitas uniões entre elas, não havendo paralelismo, como aquele observado no vaso normotenso. No vaso hipertenso treinado (SHRT), já se pode observar um remodelamento, com lâminas elásticas mais organizadas e com poucas uniões, além de bem menos fragmentadas. Diante do exposto, notam-se alguns efeitos que o exercício físico proporcionou no grupo hipertenso treinado, em comparação ao hipertenso sedentário.

4.7) Análise qualitativa do colágeno I e colágeno III nos diferentes grupos experimentais.

Figura 18 - Fotomicrografia de segmentos da aorta abdominal nos diferentes grupos experimentais corados com Picrosirius para visualização de colágeno I (corado em vermelho) e colágeno III (corado em verde). Objetiva de 4X e barra de calibração equivalente a 20 μm . (A) WKYS, (B) WKYT, (C), SHRS e (D) SHRT. L(luz) e a (adventícia), TM (túnica média).

A Figura 18 mostra a disposição qualitativa dos colágenos I e III, tanto na túnica média quanto na adventícia. No grupo WKYS pode-se observar na adventícia a presença de colágenos I e III, havendo, aparentemente, uma equivalência entre esses dois tipos. Na túnica média também são visualizados os dois tipos de colágeno porém, com predomínio do colágeno I, em pequena quantidade. Já no grupo WKYT, embora se observe na adventícia a presença dos dois tipos de colágeno, ocorre uma certa predominância do colágeno I, enquanto que na túnica média apenas o colágeno III. No grupo SHRS é característica a presença única e exclusiva de colágeno I, tanto na adventícia quanto na túnica média. Já no grupo SHRT se observa uma característica diferente do observado no grupo anterior, com sua adventícia predominando o colágeno I, mas com a presença de colágeno III, e na túnica média a presença dos dois tipos de colágeno aparentemente na mesma proporção.

De acordo com as características funcionais do colágeno I, cuja função é conferir ao vaso uma certa rigidez arterial, e do colágeno III, que está associado em particular com a extensibilidade da parede do vaso, pode-se avaliar que, maiores concentrações de colágeno I são prejudiciais ao vaso, pois o torna mais rígido e susceptível a possível ruptura. O ideal seria então um contrabalanço entre os dois tipos de colágeno, para que juntos cumprissem a sua função mecânica e aquela de conferir resistência a tensão. Como observado nos dados previamente apresentados, no grupo WKYS foram evidenciados os dois tipos de colágeno, tanto na adventícia como na túnica média, mantendo o vaso, hipoteticamente, dentro do que é tido como normal. Já o grupo WKYT apresenta características bem semelhantes às daquelas dos WKYS, porém sua túnica média é predominantemente de colágeno III, o que o torna, segundo sua função, mais extensível.

Analisando o grupo SHRS nota-se a presença apenas do colágeno I, tanto na adventícia, como na túnica média. Considerando a função do colágeno I, esse vaso apresenta, portanto, uma tendência a sofrer alterações e até mesmo estar mais sujeito a ruptura. Porém, o exercício físico foi capaz de reverter essa tendência de deposição apenas de colágeno I, apresentando em sua adventícia discreta quantidade de colágeno III. Já a túnica média também apresenta predomínio de colágeno I, mas nota-se a disposição de colágeno III entre o colágeno I.

4.8 Análise da expressão protéica das aortas abdominais

4.8.1 Padronização

A padronização da técnica de Western Blott teve início com a extração da proteína dos segmentos das aortas. Devido à natureza elástica destes vasos, houve grande dificuldade de prosseguir com a trituração e homogeneização das amostras e, conseqüentemente, a obtenção de boas quantidades de proteínas das diferentes amostras. Diante desse problema algumas modificações no protocolo inicial foram realizadas. Prosseguiu-se com o congelamento dos vasos em nitrogênio líquido com trituração manual, para em seguida as amostras serem sonicadas e realizada a homogeneização total das amostras. Estas modificações no protocolo propiciaram uma maior eficiência na extração de proteínas totais da aorta.

4.8.2 α -actina

Para avaliação da integridade dos extratos protéicos foram realizados inicialmente ensaios de Western Blott utilizando o anticorpo contra a α – actina, uma vez que esta proteína está presente em grande quantidade no tecido muscular liso. Um dado interessante ocorreu na realização desse teste preliminar, no qual se observou, em ambos os grupos treinados, uma considerável diminuição na expressão dessa proteína, a qual está diretamente relacionada com a diminuição do calibre do vaso, ou vasoconstrição. Assim, após a realização de número maior de experimentos, observou-se, como mostrado na Figura 19, que ambos os grupos treinados (WKY e SHR) apresentaram uma diminuição na expressão protéica da α – actina de aproximadamente 55% e 64% respectivamente, quando comparada àquela observada no respectivo grupo sedentário. Porém, quando comparados os grupos sedentários (WKYS e SHRS), não ocorreu diferença estatisticamente significativa ($p=0,978$), o mesmo acontecendo com os grupos treinados (WKYT e SHRT) ($p=0,693$). Portanto, observa-se que, mediante um protocolo de treinamento físico aeróbio de intensidade moderada, ocorreu uma diminuição da expressão protéica de α – actina em ambos os grupos, normo ou hipertenso. Assim, por essa proteína estar relacionada ao controle do calibre interno do vaso, ou ao tônus vascular, pode-se sugerir que o exercício físico seja capaz de tornar o vaso mais relaxado, e assim desempenhar suas funções com maior eficiência.

Figura 19 – Expressão protéica de α – actina das aortas abdominais. WKYS (n=5), WKYT (n=5), SHRS (n=5) e SHRT (n=5). Média $\pm$ EPM. ANOVA, + $p < 0,05$ vs respectivo sedentário.

4.8.3 Colágeno I

A Figura 20 mostra os resultados referentes à expressão protéica do colágeno I nos diferentes grupos experimentais. Conforme pode ser observado, o grupo SHRS apresentou um significativo aumento (58%) na expressão desta proteína, em relação ao grupo WKYS ($p < 0,05$, onde $p = 0,032$), o mesmo ocorrendo com o grupo SHRS, em relação ao seu respectivo grupo treinado (35%), ($p < 0,05$, onde $p = 0,046$). Quando analisado o grupo WKY observa-se que embora o grupo treinado apresentasse uma tendência à diminuição (17%) da expressão protéica de colágeno I, esta não foi significativa. Esses resultados mostram que o grupo SHR tanto sedentário quanto treinado, apresentaram uma expressão de colágeno I maior que no grupo WKY (S e T), o que sugere um maior comprometimento desse vaso, visto que o colágeno I confere rigidez arterial, e o aumento da sua expressão pode tornar o vaso mais susceptível a alterações morfológicas e funcionais. Ainda, pode ser observado que o treinamento físico foi eficaz em reduzir significativamente a expressão protéica de colágeno I

no grupo SHR, tornando esse vaso menos rígido e, conseqüentemente, mais próximo dos padrões da normotensão.

Figura 20 – Expressão protéica de colágeno I em aortas abdominais dos ratos WKYS (n=5), WKYT (n=5), SHRS (n=5) e SHRT (n=5). Média $\pm$ EPM. ANOVA, * p<0,05 vs WKYS, + p<0,05 vs SHRS.

4.8.4 Colágeno III

Em relação ao colágeno III, a Figura 21 mostra que a expressão dessa proteína no grupo SHRS foi significativamente maior (145%) em relação ao grupo WKYS (p<0,001). Ainda, o treinamento foi capaz de diminuir (em 49%) a expressão dessa proteína no grupo SHR (p<0,001). Ao analisar o efeito do treinamento no grupo WKY, embora se observe uma tendência à diminuição da expressão protéica do colágeno III, esta não chega a ser significativamente diferente entre os grupos sedentário e treinado (p=0,820). Funcionalmente, o colágeno III é responsável pela extensibilidade do vaso e, juntamente com o colágeno I, formam o arcabouço estrutural da aorta. Com isso, pode-se sugerir que o exercício físico também foi eficaz de reduzir a expressão de colágeno III mediante um processo de

hipertensão, colaborando, assim, para as positivas adaptações funcionais que o vaso de grande calibre sofre com o exercício físico de intensidade moderada.

Figura 21 – Expressão protéica de colágeno III em aortas abdominais dos ratos WKYS (n=4), WKYT (n=4), SHRS (n=5) e SHRT (n=6). Média $\pm$ EPM. ANOVA, * $p < 0,001$ vs WKYS, + $p < 0,001$ vs SHRS.

4.8.5 Elastina

A Figura 22 mostra os resultados referentes à expressão protéica de elastina nos diferentes grupos experimentais. Conforme pode ser observado, o grupo SHRS apresentou uma significativa diminuição (33%) da expressão protéica de elastina em relação ao grupo WKYS, ($p < 0,05$, onde $p = 0,011$). Ao analisar o efeito do treinamento físico entre os grupos WKY e SHR observa-se que, em ambos, ocorreu uma significativa diminuição da expressão protéica de elastina nos grupos WKYS e SHRS, quando comparados aos seus respectivos grupos treinados (61% e 79% respectivamente), onde $p < 0,001$. Esses resultados mostram que os vasos hipertensos apresentam uma diminuição da expressão de elastina em relação aos vasos normotensos. Outro resultado que merece destaque é que o exercício físico aeróbio foi eficaz em aumentar a expressão da elastina em ambos os grupos treinados. Isto sugere um

importante papel do exercício físico na HA, condição na qual os vasos apresentaram diminuição da elastina e de fibras elásticas, com aumento na deposição de colágeno I e III, o que os torna mais rígidos e mais frágeis.

Figura 22 – Expressão protéica de elastina em aortas abdominais dos ratos WKYS (n=5), WKYT (n=5), SHRS (n=4) e SHRT (n=5). Média $\pm$ EPM. ANOVA, + p<0,001 vs respectivos sedentários, * p<0,05 vs WKYS, # p<0,05 vs WKYT.

5 DISCUSSÃO

A HA crônica é uma doença altamente prevalente (afeta 20% dos adultos e aproximadamente 50% dos idosos), sendo um fator de risco importante para as doenças cardiovasculares. A busca por terapias anti-hipertensivas eficientes, farmacológicas ou não farmacológicas, tem sido o objetivo de muitos pesquisadores da área básica e/ou clínica (GRASSI & MANCIA, 1998, MUNTNER *et al*, 2002). Em decorrência da HA, inúmeras alterações morfológicas têm sido descritas em vasos hipertensos, como mudanças na geometria de sua parede, diminuição da sua distensibilidade e complacência e, conseqüentemente, maior rigidez arterial com maior susceptibilidade a ruptura (FOLKOW, 1982, FRIDEZ *et al*, 2003, BACON *et al*, 2004); alterações estas, na maioria das vezes, acompanhadas por modificações nos componentes da matriz extracelular (MEC). Intervenções não farmacológicas, os chamados tratamentos complementares aos tratamentos farmacológicos, têm sido cada vez mais recomendados como instrumentos de prevenção primária da hipertensão (KAPLAN, 1995, CHOBANIAN *et al*, 2003, MANCIA & GRASSI, 2005). Neste contexto, trabalhos recentes da literatura confirmam os enormes benefícios do exercício físico (uma ferramenta não farmacológica) na redução da PA em animais (KOKKINOS *et al*, 2001, CHOBANIAN *et al*, 2003, WALLACE, 2003, HORTA *et al*, 2005) e humanos (TSAI *et al*, 2004), bem como na prevenção de riscos cardiovasculares (CHOBANIAN *et al*, 2003, CORNELISSEN & FAGARD, 2005).

Artérias de condução têm um papel-chave no sistema cardiovascular, amortecendo a pressão de pulso (PP) durante o ciclo cardíaco. Alterações nos constituintes dos grandes vasos mediante um processo de hipertensão, como aumento na rigidez arterial (SAFAR *et al*, 2003) e perda da complacência e distensibilidade (ET-TAOUIL *et al*, 2003) têm sido observados. Outro fator importante para a participação dos grandes vasos no processo hipertensivo corresponde ao fato deles estarem mais sujeitos a influências comportamentais e genéticas não necessariamente relacionadas diretamente ao mecanismo de origem da PA. Além disso, fatores que modulam o tônus vascular, como a noradrenalina e o óxido nítrico, possuem diferentes e específicos efeitos no diâmetro e na rigidez de grandes vasos.

No que diz respeito aos componentes fibrosos da MEC, o colágeno e a elastina são os principais elementos responsáveis pelas propriedades mecânicas de grandes vasos, particularmente da aorta e de seus principais ramos. Alterações nestes componentes são relatadas na HA e conhecidas por contribuir para as mudanças na complacência vascular. Todas essas alterações criam uma arquitetura anormal da parede arterial, que afeta não

somente o desempenho mecânico, mas também as funções vasodilatadoras das artérias elásticas (BISHOP, 1998, JACOB, 2003).

Embora as funções dos componentes da MEC, bem como as consequências de seu desarranjo mediante um processo hipertensivo, sejam bem conhecidas, ainda permanece obscuro o papel do exercício físico na modulação do conteúdo elástico e de colágeno, em artérias de grande calibre. Com isso, foi verificado neste estudo o papel do exercício físico sobre tais componentes em aortas de ratos normotensos e hipertensos, realizando uma análise da morfologia e da geometria desse vaso. Estes objetivos, entretanto, somente puderam ser alcançados após a etapa de caracterização do modelo experimental utilizado.

5.1 Eficácia do treinamento físico e parâmetros hemodinâmicos

Parâmetros como eficácia do treinamento físico, peso corpóreo, PA e FC correspondem a importantes quesitos para a confirmação do protocolo experimental. Assim, ao compararmos os dados de capacidade aeróbia dos animais hipertensos (SHRS ou SHRT) com aqueles dos normotensos (WKYS ou WKYT), no início, durante ou após a realização dos protocolos experimentais, observa-se que os animais SHR apresentaram sempre desempenho superior. No entanto, no que diz respeito ao ganho induzido pelo treinamento físico, este foi similar nos dois grupos; fato este observado também por outros autores (AMARAL *et al*, 2000, 2001, MELO *et al*, 2003, MARTINS *et al*, 2005). Estudos comportamentais têm demonstrado que os SHR diferem dos WKY normotensos no que se refere à ansiedade (KULIKOV *et al*, 1997), à locomoção e à fuga a estímulos aversivos (RAMOS *et al*, 1997), sugerindo que a elevada ansiedade e a aumentada atividade locomotora observada nos SHR poderia justificar o seu maior desempenho em esteira, observado tanto em condições de sedentarismo como em treinamento. Estes dados concordam com trabalhos prévios da literatura (MELO *et al*, 2003, MARTINS *et al*, 2005, HIGA-TANIGUCHI *et al*, 2007, FELIX e MICHELINI, 2007).

Com relação ao peso corpóreo, ambos os grupos SHR e WKY (sedentários e treinados) apresentaram peso inicial semelhante. No entanto, embora tenha sido observado em todos os grupos um ganho de peso considerável ao final do protocolo experimental, este ganho foi superior nos WKY, em relação aos SHR, o que seria esperado uma vez que os animais hipertensos possuem um metabolismo mais acelerado que os WKY normotensos (OKAMOTO & AOKI, 1963). Este maior metabolismo pode ainda ser confirmado pelos

dados relativos à avaliação do consumo de água e de ração, embora esta análise não tenha sido rigorosamente realizada neste estudo.

Com relação aos dados de PA, nossos resultados mostraram uma redução parcial, mas significativa, de aproximadamente 4,3%, no grupo SHRT em comparação ao SHRS; nos WKY esta diferença não foi observada. O efeito do treinamento físico na redução parcial da PA de indivíduos hipertensos, reduzindo a morbi mortalidade, é conhecido há quase duas décadas (MEREDITH *et al*, 1990, ARAKAWA, 1993, LIMA *et al*, 1993, PAFFENBARGER *et al*, 1993, GAVA *et al*, 1995, ZANCHETTI *et al*, 1995, FORJAZ *et al*, 1996, VERAS-SILVA *et al*, 1997, MOTOYAMA *et al*, 1998, GRASSI e MANCIA, 1998, AMARAL *et al*, 2000, 2001, KOKKINOS *et al*, 2001, CHOBANIAN *et al*, 2003, MELO *et al*, 2003, WALLACE, 2003; TSAI *et al*, 2004; HORTA *et al*, 2005, HIGA-TANIGUCHI *et al*, 2007, FELIX & MICHELINI, 2007). Logo após uma sessão de exercício físico a PA cai, permanecendo abaixo dos níveis encontrados em repouso. Esse comportamento tem sido relatado como hipotensão pós-exercício e foi observado tanto em humanos (FORJAZ *et al*, 2000) como em animais (OVERTON *et al*, 1988). Alguns fatores que podem estar envolvidos tanto na ocorrência, quanto na magnitude e duração da hipotensão pós-exercício físico, são o nível inicial da PA, a intensidade do esforço, o tempo de duração da sessão e o tipo de exercício físico.

No que diz respeito ao treinamento físico prolongado, enfoque do presente estudo, os mecanismos hipotensores que explicam a queda da PA ainda não estão totalmente esclarecidos. Neste caso, estes poderiam estar relacionados com a atenuação da atividade nervosa simpática, observada indiretamente pela redução das concentrações plasmáticas de noradrenalina, e diretamente, pela diminuição da atividade nervosa simpática na musculatura lisa dos vasos nos leitos renal e muscular (*apud* NEGRÃO & BARRETO, 2006). Outra hipótese para a queda da PA é o aumento da sensibilidade do reflexo pressorreceptor que está associado à diminuição da atividade simpática (BRUM *et al*, 2000). Por sua vez, esta diminuição se mostra diretamente associada com a redução da resistência vascular periférica e a remodelação dos vasos de resistência (*apud* NEGRÃO & BARRETO, 2006). Ainda, um outro mecanismo sistêmico que é relatado como hipotensor após o exercício físico é a diminuição do débito cardíaco (DC) observado em ratos SHR (URATA *et al*, 1987, VERAS-SILVA *et al*, 1997), o qual ocorre em virtude da diminuição da frequência cardíaca (GAVA *et al*, 1995).

Além dos fatores descritos anteriormente, mecanismos como a alteração no balanço entre fatores relaxantes e contráteis dependentes do endotélio (MUSH *et al*, 1987, ARMSTRONG & LAUGHLIN, 1994) e a redução da resistência vascular, por normalização da razão parede/luz de arteríolas (AMARAL *et al*, 2000, FRANÇA *et al*, 2001) também têm sido relatados como hipotensores.

Uma característica marcante do treinamento físico é a indução da bradicardia de repouso em animais de experimentação, sendo esta indicativa de sua eficácia e observada tanto em normo como em hipertensos (CLAUSEN, 1977, SCHEUER & TIPTON, 1977, MEREDITH *et al*, 1990, FORJAZ *et al*, 1996, VERAS-SILVA *et al*, 1997, AMARAL *et al*, 2000, 2001, MELO *et al*, 2003, MARTINS *et al*, 2005, HIGA-TANIGUCHI *et al*, 2007, FELIX & MICHELINI, 2007). Assim como esses autores, nossos resultados também mostraram bradicardia de repouso no grupo SHRT (redução de cerca de 8% em relação ao SHRS). Essa queda na FC, juntamente com o ganho observado na capacidade aeróbia dos SHRT, mais uma vez, confirmam a eficácia do treinamento físico utilizado. No que diz respeito ao grupo WKYT, embora tivesse ocorrido diminuição da FC (cerca de 4,5%), esta não foi significativamente diferente daquela encontrada no grupo WKYS.

Quando se realiza uma atividade física, um dos efeitos mais precoces sobre o sistema cardiovascular é o aumento da FC; esse aumento ocorre de forma linear e proporcional à intensidade do exercício. Este aumento da FC ocorre por dois mecanismos principais: 1) diminuição do tônus vagal sobre o coração e 2) ativação do componente simpático para o coração. Essa intensificação simpática ocorre de forma progressiva, proporcional à potência executada (*apud* NEGRÃO & BARRETO, 2006). Embora o aumento da FC seja um dos eventos mais precoces, observado logo após o início da atividade física, quando este é realizado de forma crônica, uma bradicardia de repouso é instalada, como relatado previamente. Essa dita “adaptação cardiovascular” pode ser explicada por três mecanismos básicos: 1) aumento do tônus vagal ao coração, 2) diminuição do tônus simpático ao coração e 3) diminuição da frequência cardíaca intrínseca de marcapasso (NEGRAO *et al*, 1992; GAVA *et al*, 1995).

A prática regular de exercícios físicos tem sido recomendada como terapia alternativa a tratamentos farmacológicos a pacientes com hipertensão já estabelecida pois, além da redução nos níveis pressóricos, os exercícios físicos aeróbicos produzem efeitos benéficos adicionais como a diminuição do peso, o controle do estresse e a diminuição da resistência à

insulina (PAFFENBARGER *et al*, 1993, CHOBANIAM *et al*, 2003, CORNELISSEN & FAGARD, 2005).

5.2 Morfologia e morfometria do vaso

Mudanças estruturais das artérias na HA podem ocorrer por um processo de remodelamento definido como um rearranjo dos materiais da parede, mediante uma mudança no diâmetro da luz (HEAGERTY *et al*, 1993). O remodelamento vascular é considerado um processo adaptativo em resposta a longas mudanças no fluxo sanguíneo arterial que mantém a tensão e o estresse no vaso por períodos prolongados (SAFAR *et al*, 1998). Em termos de mecanismos arteriais, todas as túnicas das artérias contribuem para a tensão da parede. O aumento da razão parede/luz corresponde a um mecanismo adaptativo deflagrado na tentativa de normalizar o aumento da tensão promovido, na parede do vaso, pela HA (BUND, 2001). Esse aumento corresponde ao principal fator determinante para o aumento da RVP e, conseqüentemente, para o agravamento da HA. Nenhum tratamento farmacológico anti-hipertensivo foi, até o momento, capaz de reverter completamente a razão parede/luz. No entanto, o exercício físico, embora possa ser menos eficiente em promover diminuição da PA, é bem mais efetivo na correção da razão parede/luz (AMARAL *et al*, 2000).

Todos os dados relatados anteriormente mostrando o efeito do exercício físico sobre a morfologia dos vasos referem-se exclusivamente a vasos de resistência. Desta forma, os dados apresentados neste estudo são originais, na medida em que avaliam o papel do exercício físico aeróbio em vasos de grande calibre.

Assim, no que diz respeito ao efeito do treinamento sobre o diâmetro interno da aorta abdominal, nossos dados mostram que no grupo SHRT, o exercício promoveu um aumento deste parâmetro, em relação ao SHRS. No entanto, este aumento do diâmetro não chegou a atingir aquele encontrado em animais normotensos (WKYS ou WKYT). Estes dados corroboram com outros autores (FOLKOW, 1982, OVERTON *et al*, 1998, BRIONES *et al*, 2006), que relataram ocorrer uma diminuição da luz em arteríolas, mediante um processo de hipertensão. Embora o diâmetro da luz arterial seja determinado pelo tônus do músculo liso, somado às propriedades mecânicas estruturais e passivas da parede vascular, a pressão transmural influencia na luz por distensão passiva dos componentes da parede arterial e ainda por uma ativação da resposta contrátil (tônus miogênico) mediada, em parte, por prostaglandinas H_2 derivadas do endotélio e também por endotelinas (HUANG & KOLLER, 1997).

Com relação à área de secção transversa, esta não foi alterada pelo treinamento em ambos os grupos (SHR e WKY), sendo observado apenas um aumento deste parâmetro quando comparados os grupo SHRS e WKYS.

No que se refere à razão parede/luz das aortas dos animais sedentários utilizadas no presente estudo, os animais SHR apresentaram um aumento deste parâmetro, em comparação aos WKY. Este aumento pode ser causado por hipertrofia, hiperplasia e remodelagem da musculatura lisa vascular (MULVANY, 2002). O treinamento físico promoveu uma diminuição desta razão no grupo hipertenso, mesmo esta não alcançando os níveis observados nos animais normotensos. A ação do exercício físico em reduzir essa razão é de grande importância, uma vez que esta está relacionada diretamente à resistência do vaso. Desta forma, quanto maior a razão parede/luz, maior a resistência ao fluxo e, conseqüentemente, maior será a PA.

Segundo alguns autores, artérias de resistência apresentam um processo de remodelamento eutrófico interno (MULVANY *et al*, 1996), ou seja, sem alteração na composição dos materiais constituintes. Entretanto, em decorrência das diferenças estruturais encontradas em artérias de condução (grande calibre), principalmente quanto às suas propriedades elásticas, o processo de remodelamento difere, sendo este remodelamento caracterizado como hipertrófico interno (BUND, 2001). Da mesma forma que o observado por Bund (2001), os resultados obtidos no presente estudo mostram ter ocorrido um remodelamento hipertrófico interno, caracterizado por um aumento na razão parede/luz e área de secção transversa com diminuição do diâmetro interno. Nesse tipo de remodelamento o fenótipo sintético das CML é predominante, predispondo esses vasos a um aumento na deposição da MEC, principalmente de colágeno. O acúmulo desses componentes pode ser facilitado pela diminuição da atividade das metaloproteinases de matriz (MMP), que são enzimas que degradam a MEC (INTENGAN & SCHIFFRIN, 2000).

Outro tipo celular importante que colabora com o remodelamento vascular é o endotélio, que também controla as propriedades viscoelásticas da parede arterial. Ao se retirar o endotélio de grandes vasos foi demonstrado previamente que ocorre um aumento no diâmetro e na complacência, sem mudança da PA. Esses achados sugerem que a função endotelial e a rigidez arterial estão intimamente associadas, e que a contribuição de substâncias vasoconstritoras é necessária para esse processo (SAFAR *et al*, 1998, SAFAR *et al*, 2001). Ainda, dados da literatura sugerem que o exercício físico aeróbio, em animais

espontaneamente hipertensos, possa promover uma reendotelização (HAGG *et al*, 2004); estes resultados necessitam, no entanto, ser melhor esclarecidos.

Passando a avaliar agora os aspectos relacionados à morfologia, os resultados obtidos neste estudo mostram que os animais normotensos apresentam a parede da aorta organizada de maneira mais homogênea, em relação aos animais hipertensos. É possível que essa desorganização observada nos animais hipertensos ocorra devido a um aumento da espessura nas unidades das lâminas elásticas e não por um aumento no número das lâminas elásticas (MATSUMOTO & HAYASHI, 1991). Com relação ao exercício físico, este foi capaz de reorganizar, em parte, a morfologia desses vasos, tornando-os com características similares àquelas encontradas na normotensão. Recente trabalho da literatura também relata o efeito benéfico do exercício físico em aortas de ratos hipertensos, o qual parece ocorrer por diferentes mecanismos, dependentes ou independentes da redução da PA (HORTA *et al*, 2005).

5.3 Modulação da expressão da α – actina

Vários são os constituintes protéicos da parede dos vasos e estes podem ser modulados em decorrência de diferentes estímulos, químicos ou mecânicos. A expressão da α – actina, avaliada em todos os grupos experimentais, revelou que o treinamento físico induziu a uma considerável diminuição na expressão dessa proteína, tanto no grupo normo como no hipertenso. Considerando que essa proteína está diretamente associada ao processo contrátil da célula muscular lisa, é possível sugerir que o exercício aeróbio atue tornando o vaso mais relaxado, diminuindo a resistência periférica e possibilitando uma maior eficiência do vaso, tornando-o mais eficaz no desempenho de suas funções. Existem seis tipos de músculo liso (vascular, respiratório, urinário, reprodutor, gastrointestinal e ocular), sendo o vascular o mais estudado pelo envolvimento em inúmeras doenças vasculares (HOROWITZ *et al*, 1996). A contração é a primeira função das CML, necessária para manutenção do tônus e integridade vascular, e com uma forte interação com a matriz extracelular (ZARGHAM & THIBAUT, 2006). O aparato contrátil das CML é caracterizado pela expressão de proteínas específicas, como calponina, esmotelina, miosina de cadeia pesada, caldesmona e, sem dúvida, a α -actina (RENSEN *et al*, 2002).

Embora não existam na literatura estudos prévios demonstrando como o exercício físico atua modulando a expressão da α -actina, é possível supor que o exercício físico leva a

uma diminuição da expressão da α -actina por uma atenuação da atividade nervosa simpática, diretamente associada a uma redução da resistência vascular periférica.

5.4 Modulação da expressão da Elastina e Colágeno

Como mencionado previamente, a estabilidade e a complacência da parede vascular são dependentes diretamente da quantidade de elastina e de colágeno, a qual é regulada de forma dinâmica, entre o processo de produção e de degradação por MMPs. A alteração desse balanço, mediante, por exemplo, um processo hipertensivo leva a uma super produção de colágeno e a uma diminuição da quantidade de elastina (ZIEMAN *et al*, 2005). Entretanto, estudos indicam que a organização tridimensional dos constituintes da matriz correspondem a um fator de maior importância na manutenção das propriedades mecânicas do vaso do que o seu conteúdo ou densidade e assim o músculo liso transfere o estresse para o colágeno, durante a sístole, e para as fibras elásticas, durante a diástole (LAURENT *et al*, 2005).

Colágeno e elastina são potencialmente regulados pela MMPs, que através de seus efeitos colagenolíticos e elastinolíticos degradam a MEC através da formação menos efetiva do colágeno e quebra com fragmentação das moléculas de elastina. Células vasculares e inflamatórias como macrófagos e neutrófilos polimorfonucleares produzem collagenases (MMP-1, MMP-8, MMP-13) e elastases (MMP-7 e protease serina) (ZIEMAN *et al*, 2005). Outro mecanismo regularizador da elastina e colágeno é a interação MMP-integrinas, que ancoram os constituintes da MEC interagindo com as CML (INTENGAN & SCHIFFRIN, 2001). Alteração na relação da biossíntese de elastina também ocorre com mudanças na síntese do colágeno, indicando uma íntima interação entre esses dois componentes fibrosos da parede da aorta (DEYL *et al*, 1987). Outra relação existente entre essas proteínas ocorre na transição de carga na parede do vaso, onde a carga se transmite da elastina (responsável pela distensão do vaso em baixas pressões) para o colágeno (responsável pela distensão do vaso em altas pressões) (FONCK *et al*, 2007).

A natureza elástica da parede arterial mediante um processo de HA nos diferentes leitos vasculares é variada, onde artérias cerebrais e seus ramos apresentam um comportamento elástico diferenciado entre WKY e SHR (HAJDU *et al*, 1994). Em artérias coronárias de ratos SHR, a parede arterial apresenta-se mais rígida (POURAGEAUD *et al*, 1997) e artérias de resistência de pacientes hipertensos apresentam aumento (INTENGAN *et al*, 1993) ou inalteração (THYBO *et al*, 1996) da elasticidade, em comparação aos respectivos controles normotensos.

Neste contexto, merece ainda destaque o importante papel das fibras elásticas. Estas, apresentam fenestras em suas lâminas elásticas, sendo que a diminuição do tamanho das mesmas corresponde a um evento que precede o início do remodelamento vascular hipertensivo (BRIONES *et al*, 2003). Durante a fase de desenvolvimento do organismo, as fenestras tornam-se mais largas, por uma fusão com fenestras vizinhas. Assim, não ocorre aumento no número de fenestras, mas sim da área ocupada por elas. Após trinta dias de vida, os animais SHR começam a apresentar uma diminuição no tamanho das fenestras juntamente com o desenvolvimento da HA e, associado a essa diminuição, as lâminas elásticas ficam mais compactas (GONZALEZ *et al*, 2006). Essa diminuição torna o vaso mais rígido, promovendo menor distensibilidade, e com um aumento paralelo da expressão de colágeno (LAURANT *et al*, 1997, INTENGAN *et al*, 1999). Essa diminuição no tamanho das fenestras tem uma implicação funcional importante, pois como consequência ocorre um decréscimo da passagem de derivados do sangue e de fatores relaxantes e contráteis do endotélio através das lâminas elásticas da túnica média (BRIONES *et al*, 2003).

Em comparação à elastina, o colágeno tem um papel preponderante no aspecto relacionado à integridade arterial. Nos vasos, os tipos mais comuns são o I e o III (80-90%), sendo que a força de tensão do colágeno é aproximadamente mil vezes maior do que a da elastina (WANG *et al*, 2006). Com relação aos estudos avaliando o efeito do processo hipertensivo sobre a expressão do colágeno na parede dos vasos, os resultados são conflitantes. Alguns trabalhos indicam ocorrer na HA um aumento do colágeno do tipo III (CHAMIOT-CLERC *et al*, 1999), outros relatam que esse aumento no colágeno III só ocorre no período pré-hipertensivo e que, quando já estabelecida a HA, esses valores se modificam passando a haver o predomínio do colágeno I. Esta alteração pode ser considerada como uma resposta adaptativa ao aumento da carga pressórica, a qual, certamente, irá promover mudança das propriedades mecânicas do vaso (DEYL *et al*, 1987).

Pouco se sabe sobre o comportamento de grandes vasos mediante um protocolo de treinamento físico aeróbio em animais hipertensos. Desta forma, os resultados apresentados no presente estudo são originais ao demonstrar um aumento no conteúdo elástico (fibras elásticas elaunínicas, oxitalânicas e maduras) promovido pelo treinamento físico em animais SHR, mas sem alteração nos normotensos. Este fato merece relevância se for levada em consideração a diferente função que cada tipo de fibra elástica desempenha nos vasos, onde, as fibras elásticas oxitalânicas e elaunínicas fornecem resistência à tensão mecânica e as elásticas maduras são o elemento responsável pela distensibilidade reversível do vaso. A

somatória dos diferentes tipos de fibras elásticas garantem as características funcionais do vaso.

Ainda, os dados aqui apresentados são originais ainda em mostrar como o exercício físico atua no componente colágeno da aorta abdominal, tendo sido observado que no vaso hipertenso o colágeno I e III encontra-se bem mais expresso que no vaso normotenso e, com o exercício físico esses vasos hipertensos passaram a mostrar uma significativa redução na expressão tanto no colágeno I quanto o colágeno III. Estes resultados são importantes uma vez que o colágeno I corresponde a um colágeno mais duro e responsável, portanto, pela rigidez arterial; já o colágeno III é aquele responsável pela extensibilidade reversível do vaso. Uma diminuição no conteúdo desses dois tipos de colágeno deverão, desta forma, implicar em uma melhora das funções mecânicas do vaso, conferindo resistência a tensão. Além disso, uma redução do colágeno com aumento paralelo na quantidade de fibras elásticas na parede da aorta abdominal indica que a área distal da aorta é mais distensível em animais treinados, pelo fato do colágeno ser mais duro e resistir mais à elasticidade.

Um mecanismo para explicar o aumento do conteúdo elástico e a diminuição do colágeno no grupo hipertenso treinado poderia ser a resposta hemodinâmica facilitada durante o exercício físico, a qual estimula a síntese de proteínas fibrosas pelas CML (MATSUDA *et al*, 1993) e a degradação dos componentes da MEC via MMP (ZIEMAN *et al*, 2005). Outra hipótese para o aumento do conteúdo elástico nos animais exercitados é que o exercício pode ter um efeito direto de inibição do depósito de cálcio na elastina aórtica ou substituir a elastina degenerada por elastina nova (MATSUDA *et al*, 1993).

De acordo com o discutido previamente, pode ainda ser aventado que o exercício físico aeróbio pode atuar nas lâminas elásticas da média, aumentando a área das fenestras e facilitando a passagem de substâncias entre as lâminas elásticas, tornando-as menos compacta e conseqüentemente menos rígida. Por outro viés, o exercício pode agir nas MMPs, especialmente nas elastases (MMP-7) que degradam as fibras elásticas, intervindo na quebra e degradação da elastina e também nas collagenases que degradam o colágeno; também pode atuar na ligação integrinas-MMP permitindo uma maior interação com as CML e auxiliando, desta forma, a produção e a degradação de colágeno e elastina em vasos hipertensos. Uma outra forma de alterar a complacência arterial (colágeno e elastina) ocorre via modulação do tônus simpático-adrenérgico das CML da parede arterial. Nesse contexto, é possível ainda que o exercício físico aumente a complacência pela diminuição crônica do tônus simpático-

adrenérgico direto ou por aumento do efeito simpático inibido do óxido nítrico (BRUEL *et al*, 1998).

6 CONCLUSÕES

Com base no exposto anteriormente é possível concluir que o exercício físico aeróbio:

1 – Foi eficaz em aumentar a capacidade física dos grupos WKY e SHR, bem como reduzir a níveis basais a PA e a FC em animais SHR.

2 – Melhorou a geometria dos vasos hipertensos, que apresentaram um remodelamento hipertrófico interno, aumentando a luz e diminuindo a razão parede/luz, contribuindo para uma diminuição da resistência periférica, melhora no fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, uma diminuição da PA.

3 – Contribuiu para uma melhor organização morfológica da parede do vaso hipertenso, tornando as lâminas elásticas mais organizadas e bem menos fragmentadas.

4 – Aumentou o número de fibras elásticas (elaunínicas, oxitalânicas e maduras) no grupo hipertenso, embora este número não tenha atingido os valores encontrados na normotensão.

5 – Qualitativamente, alterou o conteúdo de colágeno no grupo hipertenso, promovendo melhor distribuição dos colágenos I e III. Quantitativamente, diminuiu a expressão de ambos os colágenos na hipertensão e, paralelamente, diminuiu a expressão da α -actina e aumentou a de elastina, as quais ocorreram tanto em condições de normo como de hipertensão, sugerindo que o exercício tenha tornado esses vasos menos rígidos e, conseqüentemente, mais próximos dos padrões encontrados na normotensão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDEN, S.M.; PIERCE, R.A.; TOZZI, C.A.; MACKENZIE, J.W.; DEAK, S.B.; BOYD, C.D. Changes in aortic levels of tropoelastin mRNA following treatment of rats with the antihypertensive drugs captopril and hydrolazine, **J. Surg. Res.** v.51, p.491-494, 1991.

AMARAL, S.L.; SILVEIRA, N.P.; ZORN, T.M.T.; MICHELINI, L.C. Exercise training causes skeletal muscle venular growth and alters hemodynamic responses in spontaneously hypertensive rats, **J. Hypertens.**, v. 19, p. 931-940, 2001.

AMARAL, S.L.; ZORN, T.M.T.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats, **J. Hypertens.**, v. 18, p. 1563-1572, 2000.

ARAKAWA, K. Antihypertensive mechanism of exercise. **J. Hypertens.**, v. 11, p. 223-229, 1993.

ARMSTRONG, R.B.; LAUGHLIN. Exercise blood flow pattern within and among rat muscles after training. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 246, p. H59 – H68, 1994.

BACON, S.L. Effects of exercise, diet and weight loss on high blood pressure. **Sports Med.**, v. 34, n.5, p.307-316, 2004.

BARNES, M.J.; FARNDAL, R.W. Collagens and atherosclerosis. **Exp. gerontol.**, v.34, p. 513-525, 1999.

BAUMBACH, G.L.; HEISTAD, D.D. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. **Hypertension**, v.13, p. 968-972, 1989.

BISHOP, J.E. Regulation of cardiovascular collagen deposition by mechanical forces. **Mol. Med. Today**, v. 4, p. 69-75, 1998.

BLESSING, W.W.; WILLOUGHBY, J.O. Depressor neurons in rabbit caudal medulla do not transmit the baroreceptor-vasomotor reflex. **Am J Physiol**, v.253(4), p. H777-786, 1987.

BRADFORD, M.M. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRANDAO, A.A.; AMODEO, C.; NOBRE, F.; FUCHS, F.D. **Hipertensão**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

BRIONES, A.M.; GONZALE, J.M.; SOMOZA, B.; GIRALDO, J.; DALY, C.J.; VILA, E.; GONZALEZ, M.C.; McGrath, J.C.; ARRIBAS, S.M. Role of elastin in spontaneously hypertensive rat small mesenteric artery remodeling. **J. Physiol.** v. 552, n.1, p. 185-195, 2003.

De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRIONES,A.M.; XAVIER, F.E.; ARRIBAS, S.M.; GONZÁLEZ, M.C.; ROSSONI, L.V.; ALONSO, M.I.; SALAICES,M. Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain-induced hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 291, p. H193-H201, 2006.

BRUEL, A.; ORTOFT, G.; OXLUND, H. Inhibition of cross links in collagen is associated with reduced stiffness of the aorta in young rats. **Atherosclerosis.**, v. 140, p. 135-145, 1998.

BRUM, P.C; DA SILVA, G.J; MOREIRA, E.D.; IDA, F.; NEGRAO, C.E.; KRIEGER, E.M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension.**, v.36, p.1018-1022, 2000.

BUND, S.J. Spontaneously hypertensive rat resistance artery structure related to myogenic and mechanical properties. **Clin. Sci.**, v. 101, p. 385-393, 2001.

CATTELL, M.A.; ANDERSON, J.C. HASLETON, P.S. Age-related changes in amounts and concentrations of collagen and elastin in normotensive human aorta. **Clin. Chim. Acta.**, v.245, n.1, p.73-84, 1996.

CHAMIOT-CLERC,P.H; RENAULD,J.F.; BLACHER, J.; LEGRAND, M.; SAMUEL, J.L.; LEVY, B.L.; SASSARD, J.; SAFAR, M.E. Collagen I and III and mechanical properties of conduit arteries in rats with genetic hypertension. **J. Vas. Res.** v. 36, p. 139-146, 1999.

CHEM, Y.; COLLINS, H.L.; DICARLO, S.E. Daily exercise enhances acetylcholine-induced dilation in mesenteric and hindlimb vasculature of hypertensive rats. **Clin. Exp. Hypertens.**, v.21, p.353-376, 1999.

CHOBANIAN, A.V.; BAKRIS,G.L.;BLACK,H.R.;CUSHMAN,W.C.; GREEN,L.A.; IZZO,J.L.; JONES,D.W.; MATERSON,B.J.; OPARIL,S.; WRIGHT,J.T.; ROCCELLA,E.J. National High Blood Pressure Education Program coordination committee. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension.**, v.42, p.1206-1252, 2003.

CLAUSEN, J.P. Effect of physical training on cardiovascular adjustments of exercise in man. **Physiol. Rev.**, v.57, p. 779-815, 1977.

CORNELISSEN, V.A.; FAGARD, RH. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure – regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. **Hypertension.**, v.46, p.667-675, 2005.

COTTA-PEREIRA, G.; IRUELA-ARISPE, M.L. Extracellular matrix: functional significance of oxytalan, elaunin and elastic fibers. **Prog. Clin. Biol. Res.**, v.295, p.101-107, 1989.

DAMPNEY, R.A.L. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. **Physiol. Rev.**, v.74, p. 323-362, 1994.

DEYL, Z.; JELINEK, J.; MACEK, K.; CHALDAKOV,G.; VANKOV,V.N. Collagen and elastin synthesis in the aorta of spontaneously hypertensive rats. **Blood Vessels.**, v. 24, p. 313-320, 1987.

ET-TAOUIL, K.; SAFAR, M.; PLANTE, G.E. Mechanisms and consequences of large artery rigidity. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 81, p. 205-211, 2003.

FARIS, A.W. The effects of physical training upon the collagen content of the aorta of adult male white rats. **J. Sports Med.**, v.13, p.108-110, 1973.

FELIX, J.V.C.; MICHELINI, L.C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. **Hypertension**, v. 50, p. 780-785, 2007.

FOLKOW, B. Physiological aspects of primary hypertension. **Physiol. Rev.**, v.62, p. 347-504, 1982.

FONCK, E.; PROD'HOM, G.; ROY, S.; AUGSBURGER, L.; RUFENACHT, D.A.; STERGIOPULOS, N. Effect of elastin degradation on carotid wall mechanics as assessed by a constituent-based biomechanical model. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 292(6), p. H2754-H2763, 2007.

FORJAZ, C.L.M.; MION, F.R.; NEGRAO, C.E. Effect of aerobic training on casual and ambulatory blood pressure in hypertensives. **Circulation**, v. 94, p. 1373-1380, 1996.

FORJAZ, C.L.; TINUCCI, T.; ORTEGA, K.C.; SANTAELLA, D.F.; MION JR, D.; NEGRÃO, C.E. Factors affecting post-exercise hypotension in normotensive and hypertensive humans. **Blood Press. Monit.**, v.5, p.255-62, 2000.

FRANÇA, T.R.; FORTES, Z.B.; MICHELINI, L.C. Altered sensitivity to norepinephrine after training in SHR skeletal muscle arterioles. **Hypertension**, v. 37, p. 991-999, 2001.

FRIDEZ, P.; ZULLIGER, M.; BOBARD, F.; MONTORZI, G.; MIYAZAKI, H.; KAYASHI, K.; STERGIOPULOS, N. Geometrical, functional, and Histomorphometric adaptation of rat carotid artery in induced hypertension. **J. Biomech.**, v.36, p.671-680, 2003.

FUKAI, T.; FOLZ, R.J.; LANDMESSER, U.; HARRISON, D.G. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease. **Cardiovasc. Res.**, v.55, p.239-249, 2002.

GAVA, N.S.; VERAS-SILVA, A.S.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac β -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v.26, p.1129-33, 1995.

GOLDFISCHER, S. Ultrastructure and staining properties of aortic microfibrils (oxytalan). **J. Histochem. and Cytochem.**, v.31, p.382-390, 1983.

GONZÁLEZ, J.M.; BRIONES, A.M.; SOMOZA, B.; DALY, C.J.; VILA, E.; STARCHER, B.; McGRATH, J.C.; GONZÁLEZ, M.C.; ARRIBAS, S.M. Postnatal alterations in elastic fiber organization precede resistance artery narrowing in SHR. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 291 (2), p.H804-H812, 2006.

GRAHAM, D.A.; RUSH, J.W. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. **J. Appl. Physiol.**, v.96, p.2088-2096, 2004.

GRASSI, G.; MANCIA, G. Antihypertensive treatment: past, present and future. **J. Hypertens.**, v.16, p. S1-S7, 1998.

HAGG, U.; ANDERSSON, I.; NAYLOR, A.S.; GRONROS, J.; JONDOTTIR, I.J.; BERGSTROM, G.; GAN, L.M. Voluntary physical exercise-induced vascular effects in spontaneously hypertensive rats. **Clin. Sci.**, v.107, p.571-581, 2004.

HAJDU, M.A.; BAUMBACH, G.L. Mechanics of large and small cerebral arteries in chronic hypertension. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 266, p. H1027-1033, 1994.

HEAGERTY, A.M.; AALKJAER, C.; BUND, S.J.; KORSGAARD, N.; MULVANY, M.J. Small artery structure in hypertension. Dual process of remodeling and growth. **Hypertension**, v. 21, p. 391-397, 1993.

HIGA-TANIGUCHI, K.T.; SILVA, F.C.P.; SILVA, H.M.V.; MICHELINI, L.C.; STERN, J.E. Exercise training-induced remodeling of paraventricular nucleus (nor) adrenergic innervations in normotensive and hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 292, p. R1717-R1727, 2007.

HOROWITZ, A.; MENICE, C.C.; LAPORTE, R.; MORGAN, K.G. Mechanisms of smooth muscle contraction. **Physiol. Rev.**, v. 76, n.4, p. 967-997, 1996.

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 Science**, v. 77, p.3336-3343, 2005.

HUANG, A.; KOLLER, A. Endothelin and prostaglandin H₂ enhance arteriolar myogenic tone in hypertension. **Hypertension**, v. 30, p. 1210-1215, 1997.

INTENGAN, H.P.; DENG, L.Y.; LI, J.S.; SCHIFFRIN, E.C. Mechanics and composition of human subcutaneous resistance arteries in essential hypertension. **Hypertension**, v. 33, part 2, p. 569-574, 1993.

INTENGAN, H.D.; THIBAUT, G.; LI, J.S.; SCHIFFRIN, E.L. Resistance artery mechanics, structure, and extracellular components in spontaneously hypertensive rats. Effects of angiotensin receptor antagonism and converting enzyme inhibition. **Circulation**, v. 100, p. 2267-2275, 1999.

INTENGAN, H.D.; SCHIFFRIN, E.L. Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants. **Hypertension**, v. 36, p. 312-318, 2000.

INTENGAN, H.D.; SCHIFFRIN, E.L. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation and fibrosis. **Hypertension**, v. 38, part 2, p. 581-587, 2001.

JACOB, M.P. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. **Biomed. Pharmacother.**, v.57, p.195-202, 2003.

JENSEN, L.T.; HOST, N.B. Collagen: scaffold for repair or execution. **Cardiovasc. Res.**, v.33, p. 535-539, 1997.

JONSDOTTIR, I.H.; JUNGERSTEN, L.; JOHANSSON, C.; WENNMALM, A.; THOREN, P.; HOFFMANN, P. Increase in nitric oxide formation after chronic voluntary exercise in spontaneously hypertensive rats. **Acta Physiol. Scand.**, v.162, p.149-153, 1998.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

KAPLAN, N. M. Guidelines for the treatment of hypertension: An American view. **J. Hypertens.**, v. 13, p. S113-S117, 1995. Suppl.2.

KEARNEY, P.M.; WHELTON, M.; REYNOLDS, K.; MUNTNER, P.; WHELTON, P.K.; HE, J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet.**, v.365, p.217-223, 2005.

KIELTY, C.M. SHERRATT, M.J.; SHUTTLEWORTH, C.A. Elastic fibers. **J. Cell Sci.**, v.115, p.2817-2828, 2002.

KOKKINOS, P.F.; NARAYAN, P.; PAPADEMETRIOU, V. Exercise as hypertension therapy. **Cardiol. Clin.**, v.19, p.507-516, 2001.

KRIEGER, E.M.; SALGADO, H.C.; MICHELINI, L.C. Resetting of the baroreceptors. **Int. Rev. Physiol.**, v.26, p. 119-146, 1982.

KULIKOV, A.; AGUERRE, S.; BERTON, O.; RAMOS, A.; MORMEDE, P.; CHAOUOFF, F. Central serotonergic systems in the spontaneously hypertensive and Lewis rat strains that differ in the elevated plus-maze test of anxiety. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.281, n.2, p. 775-784, 1997.

LAURANT, S.; TOUYZ, R.M.; SCHIFFRIN, E.L. Effect of pressurization on mechanical properties of mesenteric small arteries from spontaneously hypertensive rats. **J. Vasc. Res.**, v. 34, p. 117-125, 1997.

LAURANT, S.; BOUTOUYRIE, P.; LACOLLEY, P. Structural and genetic bases of arterial stiffness. **Hypertension.**, v. 45, p. 1050-1055, 2005.

LIMA, M.D.A.; GINOZA, M.; TAVARES, A.; DUFLOTH, D.L.; RIBEIRO, A.B.; MICHELINI, L.C.; KOHLMANN, J.R. Methylprednisolone induced hypertension in rats: a role for diminished insulin sensitivity. **Hypertension**, v.21, p. 547-555, 1993.

MANCIA, G.; GRASSI, G. European Society of Hypertension; European Society of Cardiology, Joint National Committee VII and European Society of Hypertension/European Society of Cardiology guidelines for evaluating and treating hypertension: a two way road? **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.16, p. S.74-77, 2005. Supp. 1.

MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Stereological tools in biomedical research. **Ann. Braz. Acad. Sci.**, v.75, p.469-486, 2003.

MARTINS, A.S.; CRESCENZI, A.; STERN, J.E.; BORDIN, S.; MICHELINI, L.C. Hypertension and exercise training differentially affect oxytocin and oxytocin receptor expression in the brain. **Hypertension**, v.46, p. 1004-1009, 2005.

MATSUDA, M. NOSAKA, T.; SATO, M.; LIJIMA, J.; OHSHIMA,N.; FUKUSHIMA,H. Effects of exercise training on biochemical and biomechanical properties of rat aorta. **Angiology**., v.40, p.51-58, 1989.

MATSUDA, M.; NOSAKA, T.; SATO, M.; OHSHIMA, N. Effects of physical exercise on the elasticity and elastic components of the rat aorta. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v.66, p.122-126, 1993.

MATSUMOTO, T.; HAYASHI, K. Mechanical and dimensional adaptation of rat aorta to hypertension. **J. Biomech. Eng.**, v.116, n.3, p.278-283,1993.

MELO, R. M.; MARTINHO, E. JR; MICHELINI, L.C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscle. **Hypertension**., v. 42 (4), p.851-857, 2003.

MEREDITH, I.T.; JENNINGS, G.L.; ESLER, M.D.; DEWAR, E.M.; BRUCE, A.M.; FAZIO, V.A. Time-course of the antihypertensive and autonomic effects of regular endurance exercise in human subjects. **J.Hypertens.**, v.8, p. 859-866, 1990.

MICHELINI, L.C. Endogenous vasopressin and the central control of heart rate during dynamic exercise. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.31, n.9, p. 1185-1195, 1998.

MICHELINI, L.C.; KRIEGER, E.M. Importance of the time course of aortic diastolic calibre dilation for baroreceptor resetting in acute hypertension. **J. Hypertens. Suppl.**, v.2, n.3, p. S387-389, 1984.

MICHELINI, L.C.; MORRIS, M. Endogenous vasopressin modulates the cardiovascular responses to exercise. **Ann N. Y. Acad. Sci.**, v. 897, p. 198-211, 1999.

MOTOYAMA, M.; SUNAMI, Y.; KINOSHITA, F.; KIYONAGA, A.; TANAKA, H.; SHINDO,M.; IRIE,T.; URATA, H.; SASAKI, J.; ARAKAWA, K. Blood pressure lowering effect of low intensity aerobic training in elderly hypertensive patients. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.30, n.6, p. 818-823, 1998.

MULVANY, M.J.; BAUMBACH, G.L.; AALKJAER, C.; HEAGERTY, A.M. Vascular remodeling. **Hypertension**., v. 28,n.3, p.505-506, 1996.

MULVANY, M.J. Small artery remodeling and significance in the development os hypertension. **News. Physiol. Sci.**, v. 17, p. 105-109, 2002.

MUNTNER, P.; ROCCELLA, H.E.J.; WHELTON,P.K. The impact of JNC-VI guidelines on treatments recommendations in the US population. **Hypertension**., v.30, p.897-902, 2002.

MUSH,T.I.; FRIEDMAN,D.B.; PITETTI, K.H.; HAIDET,G.C.; STRAY-GUNDERSEN,J.; MITCHELL, J.H. Regional distribution of blood flow of dogs during graded dynamic exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 63, p. 2269-2277, 1987.

NEGRÃO, C. E.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; DENADAI, M. L; KRIEGER, E.M. Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercise-trained rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 25, n.10, p. 1045-1052 1992.

NEGRÃO.C.E.; BARRETO,A.C.P. **Cardiologia do exercício do atleta ao cardiopata**. 2^aed.: Manole, São Paulo, 2006.

NIEDERHOFFER, N.; KIEFER,P.; DESPLANCHES,D.; LARTAUD-IDJOUADIENE,I.; SORNAY,M.H.; ATKINSON,J. Physical exercise, aortic blood pressure, and aortic wall elasticity and composition in rats. **Hypertension.**, v.35, p.919-924, 2000.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Circ. J.**, v. 27, p. 282-93, 1963.

OVERTON, J.M.; JOYNER, M.J.; TIPTON, C.M. Reductions in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. **J. Appl. Physiol.**, v.64, p.748-52, 1988.

OVERTON, J.M.; VAN NESS, J.M.; TAKATA, H.J. Effects of chronic exercise on blood pressure in Dahl salt – sensitive rats. **Am. J. Hypertens.**, v.11, p.73-80, 1998.

PAFFENBARGER, R.S.; HYDE, R.T.; WING, A.L.; LEE, I.; JUNG, D.L.; KAMPERT,J.B. The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. **N. Engl. J. Med.**, v.328, p. 538-545, 1993.

PANIAGUA, R.; REGADERA, J.; NISTAL, M.; SANTAMARIA, L.P. Elastic fibers in the human ductus deferens. **J. Anat.**, v.137, p.467-76, 1983.

PESCATELLO, L.S.; FRANKLIN, B.B.; FAGARD, R.; FARQIJAR, W.B.; KELLEY, G.A.; RAY, C.A. Exercise and hypertension: American college of sports medicine, position stand. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.36, p.533-552, 2004.

POURAGEAUD, D.F.; CRABOS, M.; FRESLON, J.L. The elastic modulus of conductance coronary arteries from spontaneously hypertensive rats is increased. **Journal of Hypertension.**, v. 15, p. 1113-1121, 1997.

RAMOS, A.; BERTON, O.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. A multiple – test study of anxiety- related behaviours in six inbred rat strains. **Beh. Brain Res.**, v. 85, n.1, p. 57-69, 1997.

RENSSEN,S.S.M.; THIJSEN,V.L.J.L.; DE VRIES,C.J.; DOEVENDANS,P.A.; DETERA-WADLEIGH,S.D.; VENEYS, G.J.J.M. Expression of the smoothelin gene is mediated by alternative promoter. **Cardiovasc. Res.**, v. 55, p. 850-863, 2002.

RODRIGUES JUNIOR, A.J. **Estudo morfofuncional do sistema de fibras elásticas da fáscia transversal na região inguinal no homem em várias idades**.Tese (Livres-docência) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1987.

SAFAR, M.E.; LONDON, G.M.; ASMAR, R.; FROHLICH, E.D. Recent advances on large arteries in hypertension. **Hypertension.**, v. 32, p. 156-161, 1998.

SAFAR, M.E.; CHAMOT-CLERC, P.; DAGHER, G.; RENAUD, J.F. Pulse pressure, endothelium function, and arterial stiffness in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 38, p. 1416-1421, 2001.

SAFAR, M.E.; LEVY, B.I.; STRUIJKER-BOUDIER, H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. **Circulation**, v. 107, p.2864-2869, 2003.

SCHEUER, J.; TIPTON, C.M. Cardiovascular adaptations to physical training. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 39, p. 221-251, 1977.

SHEPHERD, J.T., MANCIA, G. Reflex control of the human cardiovascular system. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, v.105, p.1-99, 1986.Review.

SILVER, F.H.; HORVATH, I.; FORAN,D.J. Viscoelasticity of the vessel wall: the role of collagen and elastic fibers. **Crit. Rev. Biom. Eng.**, v.29, n.3, p.279-302, 2001.

TADDEI, S.; VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; SUDANO, I.; SALVETTI, A. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction. **Drugs**, v.62, p.265-284, 2002.

THYBO, N.K.; MULVANY, M.J.; JASTRUP, B.; NIELSEN, H.; AALKJAER, C. Some pharmacological and elastic characteristics of isolated subcutaneous small arteries from patients with essential hypertension. **J. Hyperten.**, v. 14, p. 993-998, 1996

TSAI, J.C.; YANG, H.Y.; WANG, W.H.; HSIEH, M.H.; CHEN, P.T.; KAO, C.C.; WANG, C.H.; CHAN,P. The beneficial effect of regular endurance exercise training on blood pressure and quality of life in patients with hypertension. **Clin. Exp. Hyperten.**, v.26, n.3, p.255-265, 2004.

URATA, H.; TANABE, Y.; KIYONAGA, A.; IKEDA, M.; TANAKA, H.; SHINDO, M.; ARAKAWA, K. Antihypertensive and volume – depleting effects of mild exercise on essential hypertension. **Hypertension**, v.9, p. 245-252, 1987.

VERAS-SILVA, A.S.; MATTOS, K.C.; GAVA, N.S.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol.**, v.273, p. H2627-H2631, 1997.

YEN, M.H.; YANG, J.H.; SHEU,J.R.; LEE, Y.M.; DING,Y,A. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. **Life Science**, v.57, p.2205-2213, 1995.

WALLACE, J.P. Exercise in hypertension: a clinical review. **Sports Med.**, v.33, p.585-598, 2003.

WANG, X.; LEMAIRE, S.A.; CHEN,L.; SHEN, Y.H.; GAN, Y.; BARTSCH, H.; CARTER, S.A; UTAMA,B.; OU, H.; COSELLI,J.S.; WANG,X.L. Increased collagen deposition and elevated expression of connective tissue growth factor in human thoracic aortic dissection. **Circulation**, v. 114, p. I200-I205, 2006. Suppl 1.

ZANCHETTI, A. Guidelines for the management of hypertension: the world health organization international society of hypertension view. **J. Hypertens.**, v. 13, p. S119 – S122, 1995. Suppl. S.

ZARGHAM, R.; THIBAUT, G. α -8 integrin expression is required for maintenance of the smooth muscle cell differentiated phenotype. **Cardiovasc. Res.**, v. 71, n.1, p.170-178, 2006.

ZIEMAN, S.J.; MELENOVSKY, V.; KASS, D.A. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.25, p.932-943, 2005.