

ADRIANA RUGGERI

**EVOLUÇÃO TEMPORAL DO CONTROLE AUTONÔMICO E
RESPOSTAS CARDIOVASCULARES ASSOCIADAS EM SHR
JOVENS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO AERÓBIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo
2016

ADRIANA RUGGERI

**EVOLUÇÃO TEMPORAL DO CONTROLE AUTONÔMICO E
RESPOSTAS CARDIOVASCULARES ASSOCIADAS EM SHR
JOVENS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO AÉROBIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Prof^a Dr^a Lisete Compagno Michelini

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

São Paulo
2016

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Ruggeri, Adriana

Evolução temporal do controle autonômico e respostas cardiovasculares associadas em SHR jovens submetidos ao treinamento aeróbio / Adriana Ruggeri; orientador Lisete Compagno Michelini. -- São Paulo, 2016.

119 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Treinamento aeróbio. 2. SHR jovens. 3. Controle autonômico. 4. Adaptações cardiovasculares. 5. Neurônios parassimpáticos pré-ganglionares. I. Compagno Michelini, Lisete, orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato (a): Adriana Ruggeri.
Título da Dissertação: Evolução temporal do controle autonômico e respostas cardiovasculares associadas em SHR jovens submetidos ao treinamento aeróbio.

Orientador(a): Profa. Dra. Lisete Compagno Michelini.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da **Dissertação de Doutorado**, em sessão pública realizada a/...../.....,

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome completo:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome completo:
Instituição:



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **056** nas fls. **128** do livro **02** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a)) **Lisete Compagno Michelin**, Coordenador (a) da Linha de pesquisa "*Evolução temporal do controle autonômico e respostas cardiovasculares associadas em SHR jovens submetidos ao treinamento aeróbico*" do qual participam o(s) **Adriana Ruggeri, Sebastião Júnior Donato, Carla Rocha dos Santos, Leila Buttler, Tássia Santos Rodrigues da Costa, Gustavo Santos Masson, Bruno Cesar de Oliveira Alcantra**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)** em **08.05.2012, com validade de 4 anos.**

São Paulo, 09 de maio de 2012.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador
CEUA - ICB/USP

Prof. Dr. ARIEL MARIANO SILBER
Secretário
CEUA – ICB/USP



Cidade Universitária "Armando de Barros Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508-000
Comissão de Ética no Uso de Animais - Telefone (11) 3091-7730 - e-mail: cep@icb.usp.br

Of. CEUA.043.16

São Paulo, 05 de maio de 2016.

Prezado(a) Professor(a),

Informo que o projeto intitulado "*Evolução temporal do controle autonômico e respostas cardiovasculares associadas em SHR jovens submetidos ao treinamento aeróbico*", registrado sob o protocolo nº **56/2012** e aprovado em 08/05/2012 que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, foi **prorrogado até 30/04/2017**, sem a inclusão de novos animais no projeto citado acima, haja vista o prazo de depósito da tese de doutorado da aluna **Adriana Ruggeri**.

Cordialmente,

Prof. Dr. Anderson de Sá Nunes
Coordenador - CEUA-ICB/USP

Dedico aos meus pais, irmãos e a toda minha família,
que sempre me incentivaram para que eu cumprisse essa
grande etapa de minha vida...

AGRADECIMENTOS

Ao meus pais, mestres e amigos, **Vera e Cláudio** por cada palavra e orientação, todas carregadas de amor, confiança, incentivo e compreensão.

Aos meus irmãos, **Leonardo, Flávia e Hermano**, que sempre acreditaram na minha capacidade e sempre me energizavam com pequenos grandes gestos.

Ao **Fábio**, meu grande amigo e companheiro incontestável, por sempre valorizar e reconhecer meus esforços, sobretudo por me incentivar e fazer parte do meu crescimento pessoal e profissional.

À minha amiga, **Valéria**, por todo apoio, carinho e paciência.

Aos meus **amigos**, por fazerem parte desta conquista, cada um de sua maneira.

À **Profa. Dra. Lisete Compagno Michelini** por toda orientação, incentivo e ensinamentos.

Aos **colegas do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular (ICB/USP)** por todas orientações e auxílios.

Ao **Alexandre Ceroni** por todas orientações e auxílios com as cirurgias.

À **Thais Tessari Zampieri** por todos ensinamentos, orientações, amizade e muitas risadas.

À **Ana Maria Peracoli Campos** por todos ensinamentos e orientações de Imunohistoquímica, mas sobretudo por todo carinho e paciência.

Aos **Profs. Dr. Martin Andreas Metzger e Dr. Luiz Roberto Giorgetti de Britto** por terem sanado diversas dúvidas e disponibilizado diversos equipamentos.

Aos **Profs. Dr. Fernando Ladd e Dra. Aliny Antunes Lobo Sadd**, por todo auxílio com a técnica de estereologia.

Aos **funcionários do biotério, da biblioteca e das secretarias**, sempre dispostos e despendendo grandes energias para nos orientar e ajudar.

À **CNPq e FAPESP** por financiar e auxiliar na realização deste trabalho.

*“Não são nossas habilidades que mostram o que realmente somos.
São nossas escolhas.”*
Alvo Dumbledore
em Harry Potter e a Câmara Secreta
(J. K. Rowling)

RESUMO

RUGGERI, A. **Evolução temporal do controle autonômico e respostas cardiovasculares associadas em SHR jovens submetidos ao treinamento aeróbio.** 2016. 119 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Hipertensão arterial cursa com hipertonia simpática e importante déficit do controle autonômico da circulação. O treinamento aeróbio (T) iniciado na fase crônica da hipertensão melhora parcialmente o controle autonômico induzindo apenas redução parcial da hipertonia simpática e da pressão arterial. Sabe-se que ratos hipertensos espontâneos (SHR) apresentam ligeira hipertonia simpática mesmo na fase pré-hipertensiva. Não sabemos se T realizado mais precocemente possibilitaria ou não um controle mais eficaz da circulação. É nossa hipótese que o T iniciado na fase pré-hipertensiva possa não só reduzir a atividade simpática, mas aumentar o controle vagal ao coração, melhorando a regulação autonômica nos SHR. Neste trabalho investigamos em SHR jovens e controles normotensos (WKY) os efeitos sequenciais do T sobre os parâmetros hemodinâmicos, o funcionamento dos barorreceptores arteriais (fenilefrina e nitroprussiato de sódio *iv*), o tônus simpático e parassimpático ao coração (duplo bloqueio, atenolol e atropina *iv*) e suas variabilidades (análise espectral), bem como sobre a expressão de neurônios pré-ganglionares vagais (que expressam Colina Acetil Transferase, ChAT) nos núcleos dorsal motor do vago (DMV) e ambíguo (NA) e que se projetam ao coração. SHR e WKY (com 28-30 dias) foram submetidos ao T ou sedentarismo (S) e canulados cronicamente nas semanas 0, 1, 2, 4 e 8. Após os registros funcionais, os encéfalos foram removidos para a quantificação de neurônios ChAT-positivos no DMV e NA (estereologia associada à imunoperoxidase). A participação dos aferentes periféricos na modulação dos efeitos do T foi avaliada em SHR submetidos à desnervação sinoaórtica (SAD). No início dos protocolos (semana 0) SHR estavam normotensos, mas já apresentavam redução do barorreflexo espontâneo e elevação do plateau inferior, aumento da atividade do simpático vasomotor (LF-PAS) e da variabilidade da PAS, elevado tônus simpático com aumento da razão LF/HF ao coração e elevada FC basal. Estas alterações nos SHR pré-hipertensos foram acompanhadas de inalteração da densidade neuronal, mas redução significativa do volume dos corpos celulares dos neurônios ChAT-positivos no NA e DMV. Nos WKY-S entre as semanas 0 e 2 houve aumento da densidade e do volume dos neurônios ChAT-positivos no NA, simultaneamente à redução do volume dos corpos celulares dos pré-ganglionares colinérgicos no DMV, efeitos que persistiam até a semana 8, mas que foram completamente bloqueados nos SHR-S. SHR-S apresentaram elevação progressiva da PAM (a partir de S₂) prejuízo do barorreflexo e disfunção autonômica (S₈). Nos SHR, T normalizou o barorreflexo, reverteu a disfunção autonômica, determinou instalação da bradicardia de repouso, atrasou em 2 semanas a instalação da hipertensão, reduzindo marcadamente sua magnitude. Nos SHR-T houve recuperação parcial dos neurônios colinérgicos no NA e DMV com aumento do efeito vagal e redução do balanço simpato-vagal ao coração (T₂-T₈). SAD aboliu a melhora do controle barorreflexo e a instalação da bradicardia de repouso observada nos SHR-T intactos. Nossos dados indicam que os efeitos do T são modulados pelos barorreceptores e quimiorreceptores. Quando iniciado precocemente, T corrige a disfunção baroreflexa reduz a hipertonia simpática, mantém parcialmente a tonicidade de neurônios

colinérgicos aumentando a modulação vagal ao coração e possibilitando melhor controle autonômico da circulação.

Palavras-chave: Treinamento aeróbio. SHR jovens. Controle autonômico. Adaptações cardiovasculares. Neurônios parassimpáticos pré-ganglionares.

ABSTRACT

RUGGERI, A. **Temporal evolution of autonomic control and cardiovascular responses associated in young SHR submitted of aerobic training.** 2016. 119 p. Ph.D Thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Arterial hypertension courses with sympathetic hyperactivity and marked deficits of the autonomic circulatory control. Aerobic training (T) started at the chronic phase of hypertension partially improves autonomic control, determining partial reduction of both sympathetic activity and blood pressure. It is not known whether T performed in an earlier phase results (or not) in a more efficient control of the circulation. We hypothesized that T starting at the pre-hypertensive phase reduces not only the sympathetic activity, but increases vagal outflow to the heart, thus improving autonomic cardiovascular control. In this study we investigated in young SHR and normotensive controls (WKY) the sequential T-induced effects on either hemodynamic parameters, activation of arterial baroreceptors (phenylephrine and sodium nitroprusside iv), sympathetic and parasympathetic tone to the heart (double blockade with atropine and atenolol) and their variabilities (power spectral analysis), as well as the expression of pre-ganglionic parasympathetic neurons (containing Choline acetyl transferase, ChAT) within the dorsal motor nucleus of the vagus (DMV) and nucleus ambiguus (NA) that project to the heart. SHR and WKY (aged 28-30 days) were submitted to T or kept sedentary (S) and chronically cannulated at weeks 0, 1, 2, 4 and 8. After functional recordings, brains were harvested for quantification of ChAT-positive neurons within the DMV and NA (stereology associated with immunoperoxidase assay). The role of peripheral afferents in T-induced modulatory effects was evaluated in SHR submitted to sinoaortic denervation (SAD). At the beginning of protocols (week 0), SHR showed normal blood pressure but exhibited reduced spontaneous baroreflex sensitivity with upward displacement of the inferior plateau, increased sympathetic vasomotor activity (LF-SAP) and SAP variability, augmented sympathetic tonus with increased LF/HF ratio to the heart and elevated basal HR. These responses of the pre-hypertensive SHR were accompanied by unchanged neuronal density, but significant cell body volume reduction in NA and DMV ChAT-positive neurons. WKY-S showed, between weeks 0 and 2, increased neuronal volume and density within NA ChAT-positive neurons, simultaneously with cell body volume reduction of DMV parasympathetic pre-ganglionic neurons. These effects persisted up to week 8, but were completely blocked by in SHR-S, which showed progressive increase of pressure (since S₂), baroreflex deficit and autonomic dysfunction (S₈). In SHR, T normalized both baroreflex control and autonomic dysfunction, induced resting bradycardia, delayed in 2 weeks the appearance of hypertension and markedly reduced its magnitude. SHR-T showed partial recovery of ChAT-positive neurons within the NA and DMV, with augmentation of vagal effect and reduction of sympatho-vagal balance to the heart (T₂-T₈). SAD abrogated the improvement of baroreflex control and the appearance of resting bradycardia observed in intact SHR-T. Our data indicate that T-induced effects were modulated by arterial baroreceptors and chemoreceptors. When started at the pre-hypertensive phase, T corrects baroreflex dysfunction, reduces sympathetic hyperactivity, partially maintain the tonicity of pre-ganglionic cholinergic neurons thus increasing vagal outflow to the heart and allowing a better autonomic control of the circulation.

Keywords: Aerobic training. Young SHR. Autonomic control. Cardiovascular responses. Parasympathetic pre-ganglionic neurons.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Esquema da síntese e degradação da Acetilcolina.....31
- Figura 2** - Desenho experimental dos protocolos de treinamento físico e sedentarismo, com adaptação de 1 semana, seguido de 8 semanas dos protocolos.....34
- Figura 3** - Desenho experimental dos grupos SAD e SHAM, com adaptação inicial de 1 semana, protocolos de treinamento físico e sedentarismo de 8 semanas, cirurgias SAD ou SHAM, semana de recuperação e momentos dos testes máximos.....39
- Figura 4** - Ilustração esquemática da cirurgia SAD, com destaque das três secções realizadas.....40
- Figura 5** - Encéfalo vista dorsal e ventral, com destaque da área aonde se encontra o tronco encefálico, onde foram realizadas as fatias (“*slices*”) coronais no sentido caudal- rostral.....42
- Figura 6** - Esquema representativo das subáreas do Núcleo Dorso Motor do Vago (DMV), com áreas caudal, intermediária e rostral, que são representadas por imagens do Atlas de Paxinos e Watson (2009) e estão acompanhadas de suas fotomicrografias (40X) com neurônios positivos para ChAT.....44
- Figura 7** - Esquema representativo das subáreas do Núcleo Ambíguo (NA), com áreas retro, loose, subcompacta e compacta, que são representadas por imagens do Atlas de Paxinos e Watson (2009) e estão acompanhadas de suas fotomicrografias (40X) com neurônios positivos para ChAT.....45
- Figura 8** - Imagem representativa do uso do *software* estereológico NewCAST Visiopharm para contagem de todos os neurônios positivos para ChAT que tocam a linhas verdes e quantificação do volume dos neurônios.....46
- Figura 9** - Pesos corporais (g) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S), obtidos nos dias de canulação arterial nos diferentes tempos experimentais.....49
- Figura 10** - Pesos corporais (g) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S) ao final das 8 semanas de protocolos.....50
- Figura 11** - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....51
- Figura 12** - Evolução temporal da pressão arterial (PAM, mmHg) e frequência cardíaca (FC, em b/min) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S) durante as 8 semanas experimentais.....53

Figura 13 - Pressão arterial média (PAM, em mmHg) no final dos protocolos, na 8ª.semana de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	54
Figura 14 - Frequência cardíaca basal (FC, em b/min) no final dos protocolos, na 8ª.semana de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	54
Figura 15 - Alterações temporais na variabilidade da PAS e seus componentes LF, HF e VLF (mmHg ²) em WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	58
Figure 16 - Comparação da variabilidade da PAS e seus componentes LF, HF e VLF (mmHg ²) em WKY e SHR jovens ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	59
Figure 17 - Alterações temporais na variabilidade do IP (ms ²), seus componentes LF e HF e índice LF/HF em WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	63
Figura 18 - Comparação da variabilidade da FC (ms ²) e de seus componentes LF e HF e LF/HF index em WKY e SHR jovens ao final dos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	64
Figura 19 - Alterações temporais do Alpha-LF (em ms ² /mmHg) e Alpha-HF (em ms ² /mmHg) em hipertensos (SHR) e normotensos (WKY) sedentários (S) e treinados (T).....	66
Figura 20 - Comparação do Alpha-LF (em ms ² /mmHg, painel A) e Alpha-HF (em ms ² /mmHg, painel B) entre normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	67
Figure 21 - Alterações temporais nas barocurvas de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S)	69
Figure 22 - Comparação dos parâmetros das barocurvas de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) sedentários (S) e treinados (T) ao final das 8 semanas experimentais. São comparados o platô inferior, a faixa operacional do reflexo e a sensibilidade barorreflexa do controle reflexo da frequência cardíaca determinada pela ativação/desativação dos barorreceptores.....	70
Figura 23 - Comparação dos efeitos sequenciais da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre o tônus e o efeito vagal e simpático de WKY jovens nas semanas 0, 2 e 8 dos protocolos experimentais.....	75
Figura 24 - Comparação dos efeitos sequenciais da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre o tônus e o efeito vagal e simpático de SHR jovens nas semanas 0, 2 e 8 dos protocolos experimentais.....	76

Figura 25 - Quantificação do número de neurônios ChAT positivos no núcleo dorsal motor do vago (DMV) e nas suas porções caudal, intermediária e rostral, nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	79
Figura 26 - Quantificação do volume de neurônios (em μm^3) ChAT positivos no núcleo dorsal motor do vago (DMV) e nas suas porções caudal, intermediária e rostral, nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	80
Figura 27 - Fotomicrografias ilustrando a localização de neurônios positivos para ChAT na porção compacta do NA (40X) e comparando nesta mesma área os efeitos do treinamento (T) ou sedentarismo (S) em ratos normotensos (WKY, 400 X) e hipertensos (SHR, 400 X).....	83
Figura 28 - Quantificação do número total de neurônios ChAT positivos no núcleo ambíguo (NA) e nos subnúcleos retroambíguo, NA "loose", NA subcompacto e NA compacto, nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	86
Figura 29 - Quantificação do volume médio de neurônios (em μm^3) ChAT positivos no núcleo ambíguo como um todo (NA) e nos subnúcleos retroambíguo, NA "loose", NA subcompacto e NA compacto, nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S).....	87
Figura 30 - Comparação dos pesos corporais (g) dos SHR SHAM e SAD, treinados (T) e sedentários (S), obtidos nos dias de canulação arterial ao final das 8 semanas experimentais.....	89
Figura 31 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de SHR dos grupos SHAM e SAD ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	90
Figura 32 - Comparação dos valores de pressão arterial média (PAM, em mmHg) de SHR submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ou SAD ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	91
Figura 33 - Comparação dos valores de frequência cardíaca (FC, b/min) de SHR submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ou SAD ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	91
Figura 34 - Comparação dos efeitos do treinamento sobre barocurvas em SHR jovens submetidos a cirurgia fictícia (SHAM) ao final das 8 semanas experimentais.....	93
Figura 35 - Comparação do índice de sensibilidade baroreflexa de SHR jovens submetidos à SHAM ou SAD ao final das 8 semanas de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	94

Figura 36 - Comparação dos índices de bradicardia e taquicardia reflexas em de SHR jovens submetidos a SAD ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....95

Figura 37 - Comparação dos efeitos da desnervação sinoaórtica (SAD) e do treinamento (T) sobre a variabilidade da pressão arterial sistólica (Var-PAS) e seu componente simpático vasomotor (LF-PAS) em SHR jovens ao final dos protocolos experimentais.....97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da pressão arterial de adultos de acordo com a 7th Joint National Committee (JNC).....	23
Tabela 2 - Grupos experimentais divididos por linhagem (SHR e WKY), condição (T ou S) e tempo (semanas 0, 1, 2, 4, 8).....	35
Tabela 3 - Grupos experimentais divididos por linhagem (SHR e WKY) e condição (T ou S).....	35
Tabela 4 - Pesos corporais (g) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S), obtidos nos dias de canulação arterial nos diferentes tempos experimentais.....	49
Tabela 5 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	50
Tabela 6 - Valores da PAM (mmHg) e FC (b/min) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	52
Tabela 7 - Valores de variabilidade da pressão arterial sistólica (Var-PAS, em mmHg ²) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	55
Tabela 8 - Valores do componente LF da pressão arterial sistólica (LF- PAS, em mmHg ²) em ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	55
Tabela 9 - Valores do componente HF da pressão arterial sistólica (HF-PAS, em mmHg ²) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	56
Tabela 10 - Valores do componente VLF da pressão arterial sistólica da (VLF- PAS, em mmHg ²) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	57
Tabela 11 - Valores referentes à variabilidade do intervalo de pulso (Var-IP, ms ²) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	60
Tabela 12 - Valores em unidades normalizadas (nu) do componente LF do intervalo de pulso (LF-IP) para os ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	61

Tabela 13 - Valores em unidades normalizadas (nu) do componente HF do intervalo de pulso (HF-IP) para os ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	61
Tabela 14 - Valores da razão LF/ HF do intervalo de pulso (IP) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	62
Tabela 15 -Valores referentes ao índice do barorreflexo espontâneo ($ms^2/mmHg^2$) calculados pelo α -LF de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	65
Tabela 16 - Valores referentes ao índice do barorreflexo espontâneo ($ms^2/mmHg^2$) calculados pelo α -HF em ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	65
Tabela 17 - Parâmetros das barocurvas em WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	68
Tabela 18 - Parâmetros das barocurvas em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	68
Tabela 19 - Alterações de frequência cardíaca induzidas por atropina e atenolol em WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	72
Tabela 20 - Alterações de frequência cardíaca induzidas por atropina e atenolol em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	72
Tabela 21 - Alterações do tônus e efeitos simpáticos e vagais em WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	73
Tabela 22 - Alterações do tônus e efeitos simpáticos e vagais em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.....	73
Tabela 23 - Efeitos do sedentarismo (S) e treinamento (T) sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no DMV e suas subáreas caudal, intermediária e rostral em WKY nas semanas experimentais 0, 2 e 8.....	77
Tabela 24 - Efeitos do sedentarismo (S) e treinamento (T) sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no DMV e suas subáreas caudal, intermediária e rostral em SHR nas semanas experimentais 0, 2 e 8.....	78

Tabela 25 - Efeitos do treinamento sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no NA como um todo e em suas subáreas retro, loose, subcompacta e compacta em WKY submetidos aos protocolos sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	84
Tabela 26 - Efeitos do treinamento sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no NA como um todo e em suas subáreas retro, loose, subcompacta e compacta em SHR submetidos aos protocolos sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	85
Tabela 27 - Pesos corporais (g) de SHR SHAM e SAD, obtidos ao final dos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) em SAD e SHAM.....	88
Tabela 28 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de SHR dos grupos SHAM e SAD ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	89
Tabela 29 - Valores da PAM (mmHg) e FC (b/min) de SHR submetidos à SHAM ou SAD ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	90
Tabela 30 - Parâmetros das barocurvas em SHR jovens submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	92
Tabela 31 - Índice de sensibilidade baroreflexa de SHR jovens submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ou SAD ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	94
Tabela 32 - Índice de sensibilidade da bradicardia e taquicardia reflexas (em b/min/mmHg) de SHR jovens submetidos à SAD ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).....	94
Tabela 33 - Variabilidade da pressão arterial sistólica (Var-PAS) e seus componentes espectrais em SHR jovens submetidos à SAD ou SHAM e aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	95
Tabela 34 - Variabilidade da frequência cardíaca (Var-IP) e seus componentes espectrais em SHR jovens submetidos à SAD ou SHAM e aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AcCoA**- Acetil coenzima A
- ACh**- Acetilcolina
- AChE**- Acetil colinesterase
- ChAT**- Colina acetil transferase
- CVLM**- Núcleo rostroventrolateral caudal
- DMV**- Núcleo dorsal motor do vago
- FC**- frequência cardíaca
- GABA**- Neurotransmissor ácido γ -aminobutírico
- GAD65**- Descarboxilase do ácido glutâmico, isoforma 65
- GAD67**- Descarboxilase do ácido glutâmico, isoforma 67
- HF**- *High frequency*
- IML**- Coluna intermédio lateral da medula
- IP**- Intervalo de pulso
- KPBS**- tampão fostato de potássio
- LF**- *Low frequency*
- NA**- Núcleo ambíguos
- NTS**- Núcleo do trato solitário
- PA**- pressão arterial
- PAM**- Pressão arterial média
- PAS**- Pressão arterial sistólica
- PBS**- Tampão fosfato de sódio
- PVN**- Neurônios parvocelulares do núcleo paraventricular do hipotálamo
- RVLM**- Núcleo rostroventrolateral rostral
- S**- Sedentário/ sedentarismo
- SAD**- Desnervação sinoaórtica
- SHAM**- cirurgia fictícia
- SHR**- *Spontaneously Hypertensive Rat*
- T**- Treinamento aeróbio de intensidade baixa a moderada/ treinados
- Var- PAS**- Variabilidade da pressão arterial sistólica
- Var- IP**- Variabilidade do intervalo de pulso (ou da frequência cardíaca)
- VLF**- *Very low frequency*
- WKY**- Wistar-kyoto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 Hipertensão arterial	23
1.2 Hipertensão primária X treinamento aeróbio X controle autonômico	24
1.3 Treinamento físico em hipertensos jovens	29
1.4 Escolha da Acetilcolina (ChAT) como marcador de neurônio colinérgico	30
2 OBJETIVOS	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 Animais Experimentais	33
3.2 Protocolos de Treinamento Físico e Sedentarismo	33
3.3 Grupos experimentais	35
3.4 Canulação Arterial e Registro Direto da PA e FC	35
3.5 Teste da sensibilidade dos barorreceptores	37
3.6 Análise espectral da PA e FC	37
3.7 Bloqueios Simpático e Vagal	38
3.8 Desnervação sinoaórtica (SAD) e cirurgia fictícia (SHAM)	39
3.9 Obtenção e processamento do tecido encefálico para imunoistoquímica ...41	
3.9.1 <i>Técnica de Peroxidase</i>	42
3.10 Técnica de Estereologia	43
3.10.1 <i>Cálculo do número total de neurônios ChAT positivos no DMV e NA</i>	46
3.10.2 <i>Cálculo do volume dos neurônios ChAT positivos no DMV e NA</i>	47
3.11 Análise estatística	48
4 RESULTADOS	49
4.1 Alterações temporais do peso corporal dos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo	49
4.2 Avaliação do desempenho em esteira dos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo	50
4.3 Evolução temporal de parâmetros hemodinâmicos dos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo	52

4.4 Análise espectral em séries temporais da pressão arterial sistólica e intervalo de pulso de SHR e WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento ou sedentarismo.....	54
4.5 Alterações sequenciais do reflexo barorreceptor estimulado nos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo.....	67
4.6 Alterações sequenciais do tônus e efeito simpático e vagal em SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo.....	72
4.7 Efeitos do sedentarismo e treinamento sobre a expressão de neurônios pré-ganglionares vagais nos SHR e WKY.....	77
4.8 Efeitos da desnervação sinoaórtica (SAD) em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento ou sedentarismo.....	88
<i>4.8.1 Peso dos animais.....</i>	<i>88</i>
<i>4.8.2 Avaliação do desempenho em esteira.....</i>	<i>89</i>
<i>4.8.3 Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos.....</i>	<i>90</i>
<i>4.8.4 Avaliação do controle baroreflexo.....</i>	<i>91</i>
<i>4.8.5 Avaliação da variabilidade da PAS e IP e seus componentes espectrais.....</i>	<i>95</i>
5 DISCUSSÃO	98
6 CONCLUSÃO	109
REFERÊNCIAS.....	110

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hipertensão arterial

A hipertensão arterial é caracterizada por níveis elevados e mantidos da pressão arterial (PA) e está associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como o acidente vascular cerebral, a aterosclerose, o infarto no miocárdio (CHOBANIAN et al., 2003; MANCIA; GRASSI, 1998; MUNTNER et al., 2002; RIBEIRO, 1996; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010), entre outras, como a doença renal crônica (HUANG et al., 2014).

Segundo Chobanian et al. (2003), a hipertensão arterial pode ser classificada de acordo com os níveis de pressão e a elevação dessa acima nos níveis adequados está diretamente relacionada com o aumento do risco de desenvolver doenças cardiovasculares: pacientes com valores entre 130-139/85-89 mmHg possuem duas vezes o risco aumentado, quando comparados aos indivíduos com pressão arterial abaixo de 120/80 mmHg (VASAN, et al., 2001). Essa classificação foi feita com indivíduos adultos (acima dos 18 anos) e está exposta na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação da pressão arterial de adultos de acordo com a 7th Joint National Committee (JNC)

Estágio	Pressão arterial sistólica (mmHg)	Pressão arterial diastólica (mmHg)
Normal	<120	<80
Pré-hipertensão	120-139	80-89
Hipertenso- Estágio I	140-159	90-99
Hipertenso- Estágio II	>160	>100

Fonte: Adaptado de 7th Joint National Committee (JNC)

De acordo com o 7th JNC (Tabela 1), os adultos pré-hipertensos não são considerados doentes, mas já têm risco de desenvolver a hipertensão arterial e, assim, devem ser acompanhados, orientados para manter hábitos saudáveis e não precisam de qualquer intervenção terapêutica de drogas. Porém, os classificados nos estágios I e II são considerados hipertensos e como tal devem ser tratados (CHOBANIAN et al., 2003).

Contabilizando os indivíduos hipertensos, dados indicam que a incidência da hipertensão chega a 15-20% da população adulta, atingindo cerca de 50% da população idosa entre 60 e 69 anos e 75% em indivíduos acima de 70 anos (CHOBANIAN et al., 2003; MANCIA; GRASSI, 1998; MUNTNER et al., 2002) e está vinculada com altas taxas de morbimortalidade (RIBEIRO, 1996). Esses dados são alarmantes, pois com a previsão para 2025 de um bilhão de habitantes no mundo, uma em cada três pessoas será hipertensa. Atualmente, no Brasil 30% da mortalidade está vinculada a hipertensão e pode ser contabilizada como 11% das causas de internações hospitalares (DATASUS do Ministério da Saúde, 2015).

Adicionalmente, de acordo com sua etiologia, a hipertensão pode ser classificada em: primária (ou essencial) ou secundária. Na hipertensão primária (90-95% dos casos em adultos) é considerada multifatorial podendo estar associada a diversos fatores como à predisposição hereditária, idade, obesidade, inatividade física e hábitos inadequados (tabagismo, ingestão excessiva de sal e bebidas alcoólicas), ou seja, a causa não é identificada pontualmente e a elevação da pressão se desenvolve gradativamente durante anos. Já, na secundária a causa é identificada pela prevalência de alguma doença ou condição pré-existente (FOLKOW, 1982; RIBEIRO, 1996).

Independente dos tipos de hipertensão (primária ou secundária) e do estágio de gravidade, as internações e tratamentos geram altos custos para indivíduos e sistemas públicos (DATASUS do Ministério da Saúde, 2015). Além disso, em muitos casos a hipertensão é refratária a diferentes tratamentos medicamentosos (TOWNSEND, 2014), o que nos leva a reconhecer a importância de se estudar mecanismos alternativos e/ou diferentes estratégias para a prevenção, retardo e tratamento da hipertensão arterial.

1.2 Hipertensão primária X treinamento aeróbio X controle autonômico

A hipertensão primária, foco de nosso estudo, pode ser condicionada por diversos fatores como o desequilíbrio do controle autonômico da circulação, com predomínio do simpático e aumento das catecolaminas circulantes (adrenalina e noradrenalina, cuja liberação é intensificada pela própria hipertonia simpática), hiperativação do sistema renina-angiotensina plasmático e tecidual, aumento dos níveis plasmáticos de vasopressina, desequilíbrio entre fatores relaxantes e contráteis derivados do

endotélio com predomínio destes últimos, aumento da resistência à insulina, alterações estruturais em vasos de resistência (pelo aumento da espessura e da razão parede/luz de artérias/arteríolas) e em capilares (rarefação) nos diferentes tecidos, maior sensibilidade ao sal, aumento da volemia, entre outros fatores (AMARAL; MICHELINI, 2011; CHOBANIAN et al., 2003; MICHELINI, 2004, 2008). Dentre os fatores mencionados, destacamos o desequilíbrio do sistema nervoso autônomo (PATON; RAIZADA, 2010), o qual é responsável pela regulação momento a momento da PA, através da inervação ao coração (eferentes das divisões simpática e parassimpática) e aos vasos de resistência e de capacitância (eferentes simpáticos; MICHELINI, 2008).

Dados da literatura têm comprovado que a prática regular de exercícios aeróbios (treinamento físico) reduz o risco de incidência de doenças cardiovasculares, como a hipertensão, a obesidade, o diabetes, doenças coronarianas entre outras, reduzindo a morbimortalidade, com importantes efeitos benéficos aos pacientes (CHOBANIAN et al., 2003; MCARDLE; KATCK; KATCH, 2002; PESCATELLO et al., 2004; RIBEIRO; ZANELLA; KOHLMANN JÚNIOR, 1996).

Os principais benefícios da prática regular da atividade aeróbia moderada em hipertensos são a redução parcial da PA, da frequência cardíaca (FC) e da atividade simpática periférica, mas os mecanismos que condicionam estes efeitos ainda não estão suficientemente elucidados. A redução da PA tem sido associada a fatores como a redução da atividade vasomotora simpática (CERONI et al., 2009; MUELLER, 2010), redução da resistência à insulina (CHEN et al., 2010), redução do volume plasmático e do débito cardíaco (VÉRAS-SILVA et al., 1997), menor reatividade vascular (PASQUALINI et al., 2010), redução da resistência muscular esquelética e da resistência periférica total (AMARAL; MICHELINI, 2011; AMARAL; ZORN; MICHELINI, 2000; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003); redução da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona e redução do estresse oxidativo (CHAAR, 2012; CHAAR et al., 2015; FÉLIX; MICHELINI, 2007; MASSON et al., 2014; PIALOUX et al., 2009), alteração do balanço entre fatores relaxantes e contráteis derivados do endotélio, com predomínio dos primeiros (LAUGHLIN et al., 2001), indução de genes anti-apoptóticos (WATSON et al., 2007) bem como, manutenção da integridade de barreira hematoencefálica em SHR (BUTTLER, 2016).

Entre os fatores que condicionam a redução parcial da PA e a queda da FC, grande importância tem sido dada à alteração do balanço autonômico ao coração e vasos

(MICHELINI, 2007a, b). A atividade autonômica periférica é gerada pela **alça primária** ou **bulbar** de controle cardiovascular, responsável pelo controle reflexo da circulação. Esta alça engloba os barorreceptores arteriais, vias aferentes aos centros de integração, o núcleo do trato solitário (NTS, a primeira estação sináptica no bulbo dorsal), o núcleo dorsal motor do vago (DMV) e os núcleos ambíguo (NA), rostroventrolateral caudal (CVLM) e rostroventrolateral rostral (RVLM) de localização ventral, as vias eferentes, vagal e simpática, e os efetores cardiovasculares (coração, vasos de resistência e de capacitância) (MICHELINI, 2008). Uma vez ativados pela elevação da PA, os barorreceptores excitam neurônios de segunda ordem do NTS (glutamatérgicos) que se projetam e excitam o DMV e o NA onde se situam os corpos celulares dos pré-ganglionares do parassimpático (colinérgicos) que se projetam aos pós-ganglionares localizados intramuralmente no coração. Neurônios de segunda ordem do NTS também se projetam e excitam o CVLM (neurônios GABAérgicos) que por sua vez se projetam ao RVLM, inibindo os neurônios pré-motores simpáticos (adrenérgicos e glutamatérgicos) aí localizados e que se projetam através medula espinhal e fazem sinapse com os neurônios pré-ganglionares (colinérgicos) na coluna intermediolateral da medula (IML) onde contatam os pós-ganglionares simpáticos (noradrenérgicos) que inervam coração, vasos de resistência e de capacitância. Desta forma a ativação dos barorreceptores pela elevação da PA resulta em aumento do tônus vagal e redução do tônus simpático, que são acompanhados de intensa bradicardia, redução da contratilidade cardíaca, vasodilatação arterial e venosa, as quais resultam em aumento da capacitância venosa, redução do débito cardíaco e da resistência periférica, determinando reflexamente o retorno da PA aos níveis basais. Respostas reflexas opostas são determinadas pela queda transitória da PA, com consequente desativação dos barorreceptores arteriais (MICHELINI, 2008).

Alça de controle bulbar da circulação é continuamente modulada por outra alça, a **alça secundária** ou **suprabulbar** de modulação, integrada por estruturas bulbares e hipotalâmicas. As informações aferentes carreadas pelos barorreceptores ao NTS projetam-se, via projeções noradrenérgicas ascendentes, a neurônios parvocelulares do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo. Estes neurônios que são prioritariamente ocitocinérgicos e vasopressinérgicos projetam-se diretamente às áreas bulbares de integração cardiovascular (NTS, DMV, NA, RVLM) além da IML, fornecendo a base anatômica para um pronto circuito de modulação, responsável pelos ajustes finos no funcionamento da alça primária em diferentes situações como

a hipertensão, o exercício físico, o sono, a reação de stress, entre outras (DAMPNEY, 1994). Por exemplo, durante o exercício dinâmico há aumento moderado e mantido da PA, que não é acompanhado de bradicardia reflexa como o esperado pela integração primária do reflexo barorreceptor, mas de intensa taquicardia, responsável por aumentar o débito cardíaco, garantindo o aporte sanguíneo necessário para manter o desempenho físico. Trabalhos anteriores de nosso e outros laboratórios foram fundamentais em demonstrar haver adaptação do reflexo barorreceptor para níveis mais elevados de PA e FC durante o exercício dinâmico de forma a ocluir a bradicardia reflexa durante elevações da PA, favorecendo o aparecimento da resposta taquicárdica (DI CARLO; BISHOP, 1992; MICHELINI, 1994; MICHELINI; MORRIS, 1999; NEGRÃO et al., 1992; RAVEN, 2006). Demonstramos também que este ajuste na alça primária de controle cardiovascular era mediado pela ativação de projeções vasopressinérgicas descendentes do PVN ao NTS/DMV que promoviam durante exercício um deslocamento à direita e para cima da faixa de funcionamento do reflexo barorreceptor sem alterar sua sensibilidade, promovendo uma adaptação parcial do reflexo, o qual passa a atuar, durante o exercício, em níveis mais elevados de PA e FC (MICHELINI; BONAGAMBA, 1988; MICHELINI; MORRIS, 1999; MICHELINI, 2007 a, b; MICHELINI et al., 2015). Inclusive, Raven e colabs (2006) comprovaram que o deslocamento da faixa operacional do barorreceptor era proporcional às diferentes intensidades de exercício.

Além disto, partindo da informação de que o treinamento aeróbio de intensidade baixa à moderada (T) aumentava a sinalização aferente carregada pelos barorreceptores (aumento da despolarização do nervo depressor aórtico em WKY e SHR, BRUM et al., 2000), trabalhos de nosso laboratório têm demonstrado que: 1) o aumento da sinalização aferente ao NTS nos ratos treinados reflete-se no aumento da sinalização noradrenérgica ascendente do NTS a neurônios pré-autonômicos do PVN (HIGA-TANIGUCHI et al., 2007), 2) o T induz remodelamento neuronal com aumento da ramificação dendrítica, e, aumento da excitabilidade de neurônios pré-autonômicos do PVN (CAVALLERI et al., 2011; JACKSON et al., 2005; MICHELINI; STERN, 2009), 3) o T facilita o controle cardiovascular por neurônios pré-autonômicos do PVN (ocitocinérgicos e vasopressinérgicos) que se projetam ao NTS e outras áreas bulbares (MARTINS et al., 2005; MICHELINI, 2007a, b), aumentando a atividade vagal ao coração e reduzindo a atividade simpática periférica (CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; FÉLIX; MICHELINI, 2009; HIGA-TANIGUCHI et al., 2002), 4) o

T também reduz a expressão e a atividade do sistema renina-angiotensina em áreas centrais de controle autonômico, reduzindo a excitabilidade neuronal e a hiperatividade simpática (CHAAR et al., 2015; FÉLIX; MICHELINI, 2007), 5) há nos ratos treinados alteração do balanço autonômico, o que contribui para a bradicardia de repouso nos normotensos e hipertensos e para a redução parcial dos níveis basais de PA nos hipertensos (CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; MICHELINI; STERN, 2009).

Recentemente analisamos também os efeitos do T sobre a atividade gabaérgica inibitória em áreas de controle autonômico observando aumento das expressões gênica e protéica de GAD65 e GAD67 (Decarboxilases do ácido glutâmico, isoformas responsáveis pela síntese neuronal de GABA) no PVN, NTS e RVLM de SHR e WKY, evidenciando uma inibição dessas áreas, a qual era acompanhada de redução da FC basal nos grupos treinados (RUGGERI, 2011). Importante foi a observação de que o aumento no conteúdo de GABA no PVN induzido pelo T correlacionava-se negativamente com a redução da FC basal (RUGGERI, 2011), ou seja, o aumento da inibição gabaérgica nesta importante área de modulação suprabulbar facilitava a inibição da atividade simpática (PATEL; ZHENG, 2012), contribuindo de forma significativa para a instalação de bradicardia de repouso nos SHR e WKY treinados. Estas observações, feitas em SHR (o melhor modelo experimental da hipertensão primária no homem) e seus controles normotensos, confirmam que o T melhora de forma significativa o balanço simpato-vagal ao coração por reduzir a atividade simpática periférica, mas reduzindo apenas parcialmente a PA de hipertensos (redução média de 7% a 8%). Excetuando-se as observações de nosso laboratório de que o treinamento aeróbio aumenta a expressão/atividade de neurônios pré-autonômicos ocitocinérgicos do PVN que se projetam ao complexo solitário-vagal, os quais aumentam o controle vagal ao coração de indivíduos treinados por facilitar a resposta bradicárdica e induzir a bradicardia de repouso (BRAGA et al., 2000; CAVALLERI et al., 2011; HIGA et al., 2002; HIGA-TANIGUCHI et al.; 2007), praticamente não há informações sobre os efeitos do treinamento nos neurônios pré-ganglionares parassimpáticos do DMV e NA, os quais se projetam diretamente ao coração e regulam a FC. Na realidade, a grande maioria dos trabalhos objetivando o estudo dos efeitos do treinamento sobre a melhora do controle autonômico em doenças cardiovasculares têm se restringido a seus efeitos sobre a hiperatividade simpática (AGARWAL et al., 2011; CERONI et al., 2009; CHOBANIAN et al., 2003;

NEGRÃO et al., 2015; PAN et al., 2007; PATEL; ZHENG, 2012; PESCATELLO et al., 2004; ZUCKER et al., 2009) com pouca ou nenhuma atenção os efeitos do treinamento sobre a atividade parassimpática ao coração.

1.3 Treinamento físico em hipertensos jovens

A grande maioria dos estudos objetivando a análise dos mecanismos determinantes dos efeitos benéficos do treinamento sobre o controle autonômico da circulação em hipertensos foram iniciados quando os animais já se encontravam na fase crônica da hipertensão arterial (3 ou mais meses de idade). Comprovam, sem dúvida, a eficácia do T em reverter/corrigir alguns dos déficits funcionais apresentados pelos hipertensos, mas o início do T na fase mantida da hipertensão não resulta em ganho expressivo no controle pressórico. Demonstramos também que o T por 8 ou 12 semanas de SHR iniciado aos 3-4 meses de idade melhora parcialmente o controle autonômico, induzindo apenas redução parcial da hipertonia simpática (CHAAR et al., 2015; MASSON et al., 2014). Sendo a hipertensão uma doença crônica que necessita de terapia continuada, e, uma vez estabelecida não apresenta cura, torna-se importante a busca por condutas alternativas que corrijam o controle autonômico, reduzam acentuadamente os níveis pressóricos e/ou retardem seu aparecimento.

Considerando-se as constatações acima, é nossa hipótese de trabalho que o T de SHR iniciado ainda na fase pré-hipertensiva (~4 semanas de idade) possa não só reduzir a atividade simpática, mas também aumentar a modulação parassimpática ao coração, corrigindo mais efetivamente muitos dos déficits funcionais desencadeados pela hipertensão, além de impedir e/ou retardar o aparecimento dos mesmos. Estas adaptações contribuiriam para um controle mais eficaz dos níveis pressóricos e, portanto, para a melhoria da qualidade de vida dos hipertensos. A importância de se avaliar nos SHR os efeitos do treinamento sobre a expressão/atividade das eferências vagais ao coração reside na observação de Corbett et al. (2007) sobre a perda de neurônios pré-ganglionares parassimpáticos que se projetam ao coração induzida pelo desenvolvimento/envelhecimento dos SHR.

Muito pouco se sabe sobre alterações funcionais e possíveis mecanismos desencadeados pelo T iniciado na fase pré-hipertensiva. Neste trabalho objetivamos analisar, em SHR jovens e seus controles normotensos (WKY), os efeitos do exercício repetitivo sobre os parâmetros hemodinâmicos, o funcionamento dos barorreceptores

arteriais, o tônus simpático e parassimpático ao coração e suas variabilidades, bem como sobre a expressão/atividade dos neurônios pré-ganglionares parassimpáticos que expressam a Colina acetiltransferase (ChAT, enzima presente no neurônio, responsável pela síntese final do neurotransmissor/mediador colinérgico, a Acetilcolina) no NA e DMV, áreas autonômicas em que se situam seus corpos celulares e que integram a alça bulbar de controle cardiovascular. Além disso, como experimentos recentes de nosso laboratório têm indicado que efeitos do T sobre parâmetros funcionais e mesmo sobre a expressão/atividade de diferentes neurotransmissores (GABA, Glutamato, BDNF, ocitocina, etc), bem como componentes do sistema renina-angiotensina em áreas centrais de controle cardiovascular têm decurso temporal específico, apresentando muitas vezes respostas bastante precoces (CHAAR, 2012; MASSON et al., 2014; RUGGERI, 2011; SILVA JÚNIOR, 2010; SILVA JÚNIOR et al., 2015; ZAMPIERI, 2010), pretendemos também estudar nos SHR e WKY jovens os efeitos sequenciais induzidos pelo treinamento sobre os parâmetros acima enunciados.

Além disto, considerando-se observações anteriores de nosso laboratório obtidas em SHR adultos de que os efeitos cardiovasculares induzidos pelo treinamento são mediados pela informação aferente carreada pelos barorreceptores e quimiorreceptores arteriais (CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; CRUZ et al., 2013), pretendemos também investigar a participação desses receptores na mediação das respostas cardiovasculares e na expressão dos neurônios pré-ganglionares ChAT-positivos nos SHR jovens submetidos ao treinamento.

1.4 Escolha da Acetilcolina (*ChAT*) como marcador de neurônio colinérgico

A escolha da ChAT como marcador dos neurônios colinérgicos deveu-se ao fato de que a Acetilcolina é formada dentro das terminações nervosas pela ação da ChAT a partir da colina, captada pelos neurônios pré-sinápticos através de transportadores específicos. Nos neurônios, a colina é acetilada pela ChAT, a qual transfere o grupo acetil da acetil-coenzima A. A velocidade de síntese desse neurotransmissor é determinada pelo transportador de colina, que regula a quantidade da Ach liberada. A Ach, armazenada em vesículas sinápticas, é liberada por exocitose, após influxo de Ca^{2+} desencadeado pelo impulso elétrico. A ACh liberada difunde-se pela fenda

sináptica e se combina com seus receptores na célula pós-sináptica, enquanto o excedente é rapidamente degradado pela acetilcolinesterase, formando acetil-CoA e colina, a qual é recaptada pelo transportador, ficando disponível para nova formação de acetilcolina (Figura 1; HANG, et al., 2007). Desta forma, optamos por quantificar o conteúdo de ChAT intraneuronal como um marcador dos efeitos do treinamento sobre a densidade de neurônios colinérgicos e conseqüentemente sobre a atividade vagal cardíaca.

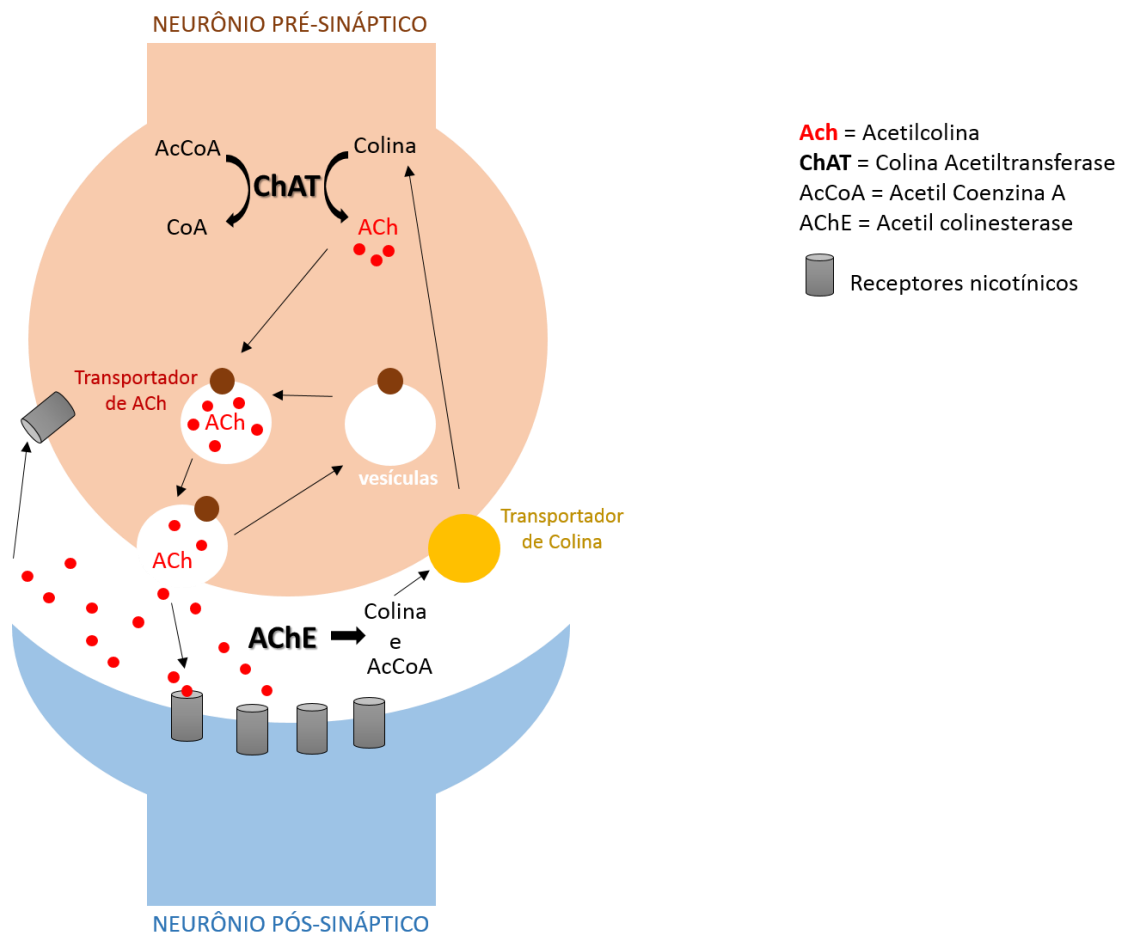


Figura 1 - Esquema da síntese e degradação da Acetilcolina.
Adaptado de Hang. et al., 2007.

2 OBJETIVOS

A fim de identificarmos mecanismos que condicionam o possível maior efeito protetor do exercício iniciado precocemente, foram objetivos deste projeto, utilizando-se SHR e WKY de 4 semanas de idade, estudar os efeitos sequenciais do T (e do sedentarismo, S) sobre o controle autonômico do sistema cardiovascular e suas repercussões funcionais, associando-as temporalmente às alterações plásticas/funcionais de neurônios colinérgicos do DMV e NA.

Os objetivos específicos deste trabalho foram analisar e comparar em hipertensos e normotensos jovens os efeitos temporais desencadeados pelo T ou S sobre:

- O desempenho em esteira (testes de esforço máximo);
- A hemodinâmica basal (valores de repouso da PA e FC);
- A variabilidade da FC e da PA e seus componentes espectrais de alta e baixa frequência, indicativos, respectivamente, da variabilidade do tônus vagal ao coração e do tônus simpático ao coração e vasos (análise espectral em séries temporais de FC e PA);
 - Os tônus simpático e vagal ao coração, a FC intrínseca de marcapasso (duplo bloqueio pela administração *iv.* de Atropina e Atenolol), bem como os efeitos simpático e vagal ao coração;
 - A sensibilidade do reflexo barorreceptor (administração *iv.* de fenilefrina e nitroprussiato de sódio);
 - A quantificação de densidade e volume de neurônios *ChAT*-positivos (expressão da proteína *ChAT* pelas técnicas de Peroxidase e estereologia), analisando efeitos da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre a expressão/atividade desses neurônios no DMV e NA;
 - Os efeitos em SHR da desnervação sinoaórtica (SAD, pela remoção dos aferentes dos baros e quimiorreceptores aórticos e carotídeos) sobre os parâmetros acima mencionados;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais Experimentais

Utilizamos ratos (*Rattus norvegicus*) jovens, com 21 dias de idade (50-70 g), pertencentes à linhagem Wistar-Kyoto (WKY, normotensos) e a linhagem *Spontaneously Hypertensive Rat* (SHR, espontaneamente hipertensos). Estes foram provenientes do Biotério Central do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB/USP) e alojados no Biotério de Manutenção do Departamento de Fisiologia e Biofísica (3-4 ratos/caixa; temperatura 22 °C – 25 °C; ciclo claro-escuro 12 / 12 h; dieta *ad libitum*). Alterações do peso corporal foram obtidas semanalmente (utilização da Balança Filizzola). Os procedimentos cirúrgicos e protocolos experimentais foram desenvolvidos no próprio Biotério de Manutenção e no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e estavam de acordo protocolo aprovado pelo Comitê de Bioética do ICB, em 8 de maio de 2012 (protocolo registrado sob n°056 na folha 128 do livro 2 para uso de animais em experimentação, com vencimento em 08 de maio de 2016) e prorrogado até 30 de abril de 2017 (Of.CEUA.043.16).

3.2 Protocolos de Treinamento Físico e Sedentarismo

Os animais foram alocados em protocolos de T ou sedentarismo (S, Figura 2). T foi realizado em esteira ergométrica (Inbramed, Millenium) adaptada para ratos. No início dos experimentos (quando completaram 21 dias de idade) os ratos passaram por adaptação, durante 1 semana (adaptação ao espaço e à corrida na esteira; 2 x / dia, ~10 sessões, 10 min, a 0,4-0,7 Km/h, 0% de inclinação). No final deste período, os animais inaptos para corrida foram excluídos do estudo e somente os aptos foram submetidos ao teste máximo de esforço em esteira e, posteriormente, aos protocolos.

O teste de esforço máximo foi mensurado de forma indireta e individual, considerando-se o desempenho físico de cada rato (início a 0,3 Km/h, acréscimos de 0,3 Km/h a cada 3 min até a exaustão). O teste de esforço máximo foi realizado em 3 momentos durante os protocolos experimentais (semanas 0, 4 e 8, setas vermelhas na Figura 2). O primeiro teste, na semana 0, foi utilizado para determinar a capacidade aeróbia máxima de cada animal, o que possibilitou alocar animais com igual desempenho aos grupos experimentais (S e T) e para se determinar a velocidade do

treinamento físico. O segundo teste (4ª. semana) foi usado para ajustar a velocidade de treino às novas capacidades máximas. No final do experimento (8ª semana), o teste foi realizado para possibilitar a comparação do desempenho entre os grupos e para avaliar a eficácia do treinamento nos grupos normotensos e hipertensos.

O protocolo de T adotado foi o aeróbio de intensidade baixa a moderada (50–60% da velocidade máxima atingida no teste de esforço) realizado durante 1 h/dia, 5 dias/semana, por 8 semanas, conforme descrito anteriormente (BUTTLER, 2016; CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; CRUZ, et al. 2013; JORDÃO et al., 2011; MASSON, et al. 2014; ZAMPIERI, 2011). A intensidade do exercício foi aumentada gradativamente pela combinação da velocidade e duração do exercício até atingir a intensidade mencionada.

Cabe destacar que Ferreira e colaboradores (2007) já haviam comprovado que o treinamento a 60% da velocidade máxima obtida no teste de esforço em esteira melhora a capacidade aeróbia do animal mantendo o predomínio do metabolismo aeróbio, ou seja, a glicólise tecidual não ultrapassa a utilização do piruvato mitocondrial, sendo o lactato produzido completamente removido (manutenção do lactato sanguíneo a 3 nmol/L). Portanto, a intensidade do treinamento em nosso estudo (50-60% da capacidade máxima) utiliza primordialmente vias aeróbias para promoção de energia durante a realização do exercício físico. Os grupos S foram mantidos sedentários por período equivalente de tempo e colocados apenas 1 X semana na esteira (0,4-0,7 km/h, 5-10 min), o que mantém a habilidade de andar/correr em esteira nos grupos S, mas não se constitui em treinamento.



Figura 2 - Desenho experimental dos protocolos de treinamento físico e sedentarismo, com adaptação de 1 semana, seguido de 8 semanas dos protocolos. Setas vermelhas indicam testes máximos.

3.3 Grupos experimentais

Os animais WKY e SHR foram subdivididos em treinados (T) e sedentários (S), e alocados aos subgrupos de acordo com a semana em que foram eutanasiados, como mostrado na Tabela 2. É importante ressaltar que cada subgrupo experimental foi composto de 12-14 ratos.

Tabela 2 - Grupos experimentais divididos por linhagem (SHR e WKY), condição (T ou S) e tempo (semanas 0, 1, 2, 4, 8).

WKY		SHR	
S ₀		S ₀	
S ₁	T ₁	S ₁	T ₁
S ₂	T ₂	S ₂	T ₂
S ₄	T ₄	S ₄	T ₄
S ₈	T ₈	S ₈	T ₈

Além desses grupos, para avaliar papel desempenhado pelos barorreceptores arteriais nas alterações hemodinâmicas e funcionais de ratos jovens SHR, utilizamos 24 ratos para realizar a cirurgia fictícia (SHAM) ou a remoção dos barorreceptores (desnervação sinoaórtica, SAD) e formamos os grupos (4-6 animais por grupo) que foram submetidos aos protocolos de 8 semanas (mencionados na Tabela 3).

Tabela 3 - Grupos experimentais divididos por linhagem (SHR e WKY) e condição (T ou S).

SHAM	SAD
S ₈	S ₈
T ₈	T ₈

3.4 Canulação Arterial e Registro Direto da PA e FC

A cateterização crônica de artéria e veia periféricas permitiu o registro direto dos parâmetros hemodinâmicos (PA e FC) e a administração de drogas nos diferentes tempos experimentais. A implantação das cânulas foi feita 1- 2 h após a última sessão de exercício de forma que os parâmetros hemodinâmicos foram obtidos 24h após a canulação, com novo registro após 24 h, seguido de coleta dos tecidos, para que

parâmetros e a expressão protéica pudessem ser estudados sempre ao mesmo tempo, ou seja, 24 h e 48 h após a última sessão de T.

As cânulas, para implantação crônica das artéria e veia, foram confeccionadas com tubos de Tygon (Critchley, Austrália), sendo a parte proximal a ser introduzida na luz vascular mais fina (diâmetro interno: externo = 0.28:0.61 mm) com 2 a 3 cm de extensão, a qual foi soldada, por aquecimento, à parte distal de maior calibre (diâmetro interno: externo = 0.50:1.50 mm) com aproximadamente 10 cm de comprimento. A soldagem foi realizada sob calor, com auxílio de um guia de aço de 0.35 mm de diâmetro para preservação da luz interna do cateter.

No dia da cirurgia, as cânulas foram preenchidas com solução salina heparinizada (0,1:1 ml, 20 µL/mL) e mantidas ocluídas com pino de metal. Para canulação da artéria carótida e veia jugular, os ratos foram anestesiados (cloridrato de cetamina 10%, 100 mg/Kg e cloridrato de xylasina 2%, 20 mg/Kg) e mantidos em mesa cirúrgica aquecida (37 °C). Na sequência, foi realizada uma incisão na região ventral do pescoço para localização e isolamento da carótida e jugular esquerdas, onde as partes finas foram inseridas em direção rostral e as extremidades mais grossas exteriorizadas através do espaço subcutâneo na região cervical e fixadas com fio de algodão. Após realização dos procedimentos cirúrgicos os animais receberam doses adequadas de analgésico (2 mg/Kg cetoprofeno – Merial, SC) e antibiótico (24.000 UI/Kg pentabiótico Veterinário – Fort Dodge, SC) e mantidos, após recuperação cirúrgica, em gaiolas individuais.

A cânula arterial, exteriorizada na parte posterior da região cervical, foi conectada a um transdutor de pressão (Modelo CDX III, Cobe Labs, Lakewood, CO, USA), acoplado a um amplificador (ML224 Quad Bridge Amp, ADInstruments, New South Wales, Austrália) e ao sistema de aquisição de dados digital (PowerLab, ADInstruments, New South Wales, Austrália) para registro da PA pulsátil e média, e derivação da FC. Os registros da PA e FC (valores basais) foram feitos a 2000 Hz, durante 30-40 min com ratos conscientes e após o cessar da atividade exploratória dos animais.

3.5 Teste da sensibilidade dos barorreceptores

Após o registro basal dos parâmetros cardiovasculares, foram administradas doses crescentes de fenilefrina (0,025- 25,6 µg/Kg *iv*) e nitroprussiato de sódio (0,2- 51,2 µg/Kg *iv*), para a determinação da atividade barorreflexa. Entre as diferentes doses aguardamos o tempo suficiente para o retorno da PA e FC a seus valores basais (CERONI et al., 2009).

O controle do reflexo barorreceptor da FC, determinado para cada rato, foi estimado pela equação logística sigmoidal, que foi feita com os pontos plotados de cada resposta às drogas infundidas (HIGA-TANIGUCHI et al., 2002). A equação que liga respostas de FC a alterações de PA foi: $FC = P1 + P2 / [1 + e^{P3(BP-P4)}]$, onde P1 = platô inferior de FC, P2 = range da FC, P3 = o coeficiente de curvatura e P4 = BP₅₀ (o valor da pressão arterial em metade da faixa de FC). O ganho médio de função dos barorreceptores (BrS) foi calculada como $BrS = - (P2 \times P3) / 4$. Os valores obtidos em cada curva sigmoidal, determinaram a curva sigmoidal média para cada grupo experimental (com n= 4-8 ratos/subgrupo).

Teste da sensibilidade dos barorreceptores foi também utilizado nos animais SAD (e seus controles) para se comprovar a eficiência da desnervação sinoaórtica.

3.6 Análise espectral da PA e FC

Aquisição contínua dos sinais em 2000 Hz permitiu o cálculo acurado dos valores basais de PA pulsátil e do intervalo de pulso (IP, indicativo da variabilidade da FC) dos diversos grupos experimentais, bem como o cálculo de suas variabilidades em séries temporais estacionárias de PA sistólica (PAS) e de IP, com a análise espectral sendo processada em registros contínuos de 5 min (AKSELROD et al., 1981; SOARES et al., 2004). Nestas séries foram também calculados os componentes espectrais da PAS e IP no domínio da frequência: de muito baixa frequência (*very low frequency*, VLF, <0.20 Hz) que correspondem a alterações circadianas/hormonais; de baixa frequência (*low frequency*, LF, 0.20-0.75 Hz, indicativa da variabilidade simpática ao coração ou vasos) e de alta frequência (*high frequency*, HF, > 0.75 Hz, indicativa da variabilidade do parassimpático ao coração no caso de séries temporais de IP, e, das alterações circulatórias acopladas à respiração no caso de séries temporais de PAS).

A sensibilidade do barorreflexo espontâneo (α index = LF da variabilidade da IP / LF da PAS) também foi analisada. Estas análises foram realizadas por transformação rápida de *Fourier*, usando o 6.0 *software* Matlab (Matworks, Natick, MA, EUA) como descrito anteriormente (CERONI et al., 2009). Esta análise foi realizada utilizando-se o LabChart 7.0 (ADInstruments) para obtenção dos registros e o MatLab (MatLAB R2012a, MathWorks, Natick, MA, USA) para a técnica de análise espectral, conforme descrito por Soares e colabs (2004).

3.7 Bloqueios Simpático e Vagal

Em parte dos ratos analisados nas semanas 0, 2 e 8 dos protocolos S e T, avaliamos a FC intrínseca de marcapasso, o tônus autonômico e os efeitos simpático e vagal ao coração. Para isso, 24 h após canulação, os ratos foram conectados no sistema de registro de PA e FC para registro de 40 min de basal, seguido da infusão de atenolol ((4-[2'-Hidroxy-3'- (isopopylamino) propoxy]-phenylacetamide), 4 mg/Kg *i.v.*, Sigma, Cat: A-7655) e atropina (sulfato de atropina, 2 mg/Kg *i.v.*, Sigma, Cat: A-0257) (ICHIGE et al., 2016), para os bloqueios simpático (β - bloqueador seletivo) e vagal (antagonista muscarínico), respectivamente. A infusão das 2 drogas foi feita em 2 dias, para que se invertesse a ordem da infusão. Além disso, foram determinados e seguidos alguns detalhes: 1) sempre após a infusão de uma das drogas era feita a infusão de salina, suficiente para a lavagem da cânula (evitar resquício de droga); 2) a segunda droga era aplicada 15 min após a primeira (tempo de meia-vida das drogas é de aproximadamente 30 min), para se garantir o duplo bloqueio (NEGRÃO et al., 1992).

A FC de repouso foi calculada pela média entre as FC repouso dos 2 dias experimentais de registro; a FC intrínseca de marcapasso foi calculada pela média das FC, obtidas nos 2 dias experimentais após o duplo bloqueio; o tônus vagal foi calculado pela diferença entre FC após a infusão de atenolol menos FC intrínseca e o tônus simpático pela diferença entre FC após a infusão de atropina menos FC intrínseca de marcapasso. O efeito vagal foi calculado pela diferença entre FC basal (do dia) e a FC máxima após a infusão de atropina e o efeito simpático foi calculado pela diferença entre FC basal (do dia) e a FC mínima após a infusão de atenolol (NEGRÃO et al., 1992).

3.8 Desnervação sinoaórtica (SAD) e cirurgia fictícia (SHAM)

Para avaliar papel desempenhado pelos barorreceptores arteriais nas alterações hemodinâmicas e funcionais e em neurônios colinérgicos nas áreas bulbares do DMV e NA em ratos jovens SHR submetidos ao treinamento aeróbio ou sedentarismo, utilizamos 4-6 ratos para realizar a remoção dos barorreceptores, pela técnica de desnervação sinoaórtica (SAD) adaptada de Krieger, 1964.

Os ratos iniciaram os protocolos de S e T (descrito no item 3.2) e após a 4ª. semana foram submetidos a cirurgia SAD ou cirurgia fictícia (SHAM). Em seguida ficaram uma semana de recuperação e depois retomaram os protocolos (com mais 4 semanas; Figura 3). O 2º. teste máximo destes grupos foi realizado após uma semana de recuperação cirúrgica. Portanto, os grupos SAD e SHAM foram analisados somente na 8ª. semana de protocolos, quando completaram 13 semanas de idade.

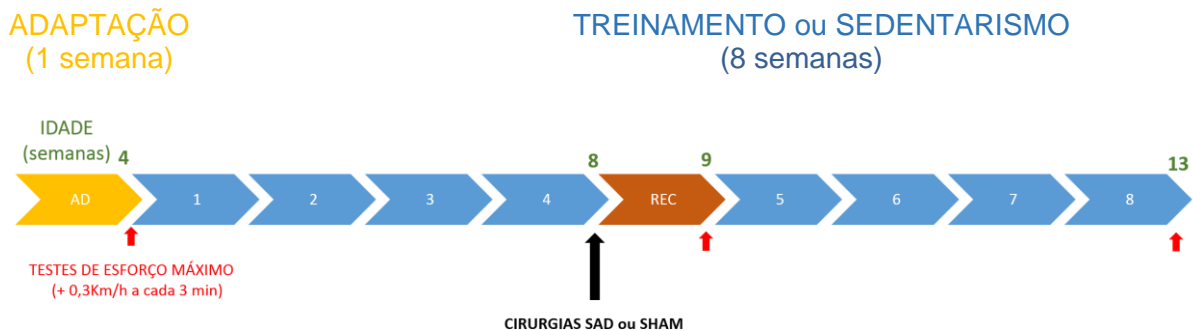


Figura 3 - Desenho experimental dos grupos SAD e SHAM, com adaptação inicial de 1 semana (AD, em laranja), com protocolos de treinamento físico e sedentarismo de 8 semanas (em azul), com cirurgias SAD ou SHAM (seta em preto), com semana de recuperação (REC, em marrom) e momentos dos testes máximos (setas vermelhas). Em verde está destacada a idade dos animais ao decorrer dos protocolos.

Para a cirurgia, os animais foram anestesiados com solução de Cloridrato de Cetamina (100 mg/kg) e Cloridrato de Xylasina (20 mg/Kg), colocados em decúbito dorsal, realizando-se uma incisão mediana na região cervical e separação da musculatura pré-traqueal. A seguir, foi exposto o tronco vâsculo-nervoso que compreende a artéria carótida comum, o nervo vago, o tronco simpático e o nervo depressor aórtico. O nervo depressor aórtico foi então isolado e seccionado em dois pontos: o primeiro ao longo do seu trajeto junto ao nervo vago, e o segundo logo após a sua inserção ao nervo laríngeo superior. Foi realizada a secção do nervo de “Hering”, com origem no corpúsculo carotídeo e sua sequência junto ao nervo glossofaríngeo

(Figura 4). O processo de desnervação sino-aórtica foi realizado bilateralmente. A pele foi suturada com fios de polipropileno (5-0). De forma diferenciada, os SHAM não tiveram as secções dos nervos, mas passaram pelos demais procedimentos cirúrgicos descritos.

Foram realizados os procedimentos de assepsia com solução de iodo a 2% e tratados com analgésicos (cetoprofeno 2 mg/Kg) e antibiótico (Pentabiótico veterinário 24000 UI/Kg) e foram alojados em caixas individuais para a recuperação (com duração de uma semana).

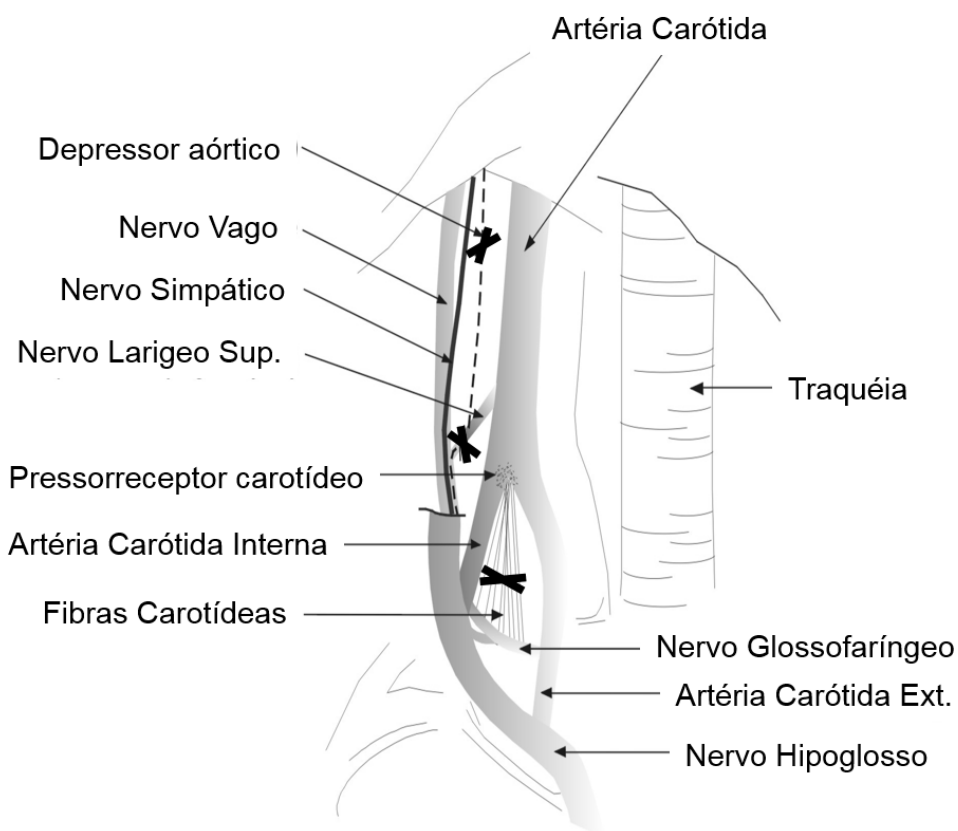


Figura 4 – Ilustração esquemática da cirurgia SAD, com destaque das três secções realizadas (destacadas com "X" preto). Adaptada de Ceroni (2004).

Nesses grupos SAD e SHAM foram avaliados os seguintes parâmetros: peso, desempenho em esteira, dados hemodinâmicos basais (PA e FC), análise espectral e sensibilidade baroreflexa (comprovar a efetividade da remoção da aferência dos barorreceptores). Os dados referentes a quantificação e volume dos neurônios positivos para CHAT, nas áreas NA e DMV, ainda estão em processamento e serão incluídas na publicação final.

3.9 Obtenção e processamento do tecido encefálico para Imunohistoquímica

A técnica de imunohistoquímica foi aplicada aos grupos das semanas 0, 2 e 8 e utilizada para se verificar a marcação da *ChAT* nas áreas autonômicas estudadas, e, analisar as possíveis alterações de plasticidade neuronal induzida pela hipertensão e pelo treinamento. Utilizamos essa técnica para a visualização, contagem da quantidade de neurônios positivos para *ChAT* e para a determinação do volume desses neurônios, indicativo de sua maior ou menor atividade.

Foram utilizados 3-5 animais/subgrupo, os quais foram anestesiados profundamente (300 mg/Kg de Cloridrato de Cetamina; Ketalar, Parke-Davis; e 60 mg/Kg de Cloridrato de Xylasina, Rompum, Bayer) e perfundidos, via ventrículo esquerdo (300 ml de solução resfriada de Dubecco's Modified Eagle's Medium, DMEM, Cat. No. D-8900, Sigma, 40 ml/min), imediatamente após a parada respiratória. Os encéfalos foram a seguir fixados com paraformaldeído 4% (Sigma) em tampão fosfato a 0,01 M, e em seguida os ratos foram decapitados. Os encéfalos foram removidos e pós-fixados por 48 h (paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4) e crioprotetidos em sacarose (soluções de 20% e 30% em PBS, 24 h em cada solução à temperatura ambiente). Estes encéfalos foram armazenados em geladeira (~4 °C) até o processamento dos tecidos pela técnica de imunohistoquímica.

Blocos do tronco encefálico foram colocados no pedestal do criostato (Leica, CM3050, Germany), e incluídos em gel (Tissue Freezing Medium-TBS). Cortes sequenciais de 30 µm abrangendo toda a extensão do tronco encefálico foram obtidos: de aproximadamente -16.00 mm a -11.50 mm em relação ao Bregma, Figura 5 (PAXINOS; WATSON, 2009). Os cortes coronais foram coletados sequencialmente em 6 poços de placa de cultura (Falcon 3047), contendo PBS a 0,01 M (pH 7,4). Posteriormente, foram lavados e armazenados em solução *anti-freezing* (150 g de sacarose, 500 ml de PBS 0,05 M e pH = 7,4, 300 ml de etilenoglicerol), no congelador a -20 °C.

Os cortes foram coletados sequencialmente em 6 poços. Para a montagem das lâminas e aplicação da técnica da peroxidase, utilizamos apenas 2 poços, de forma que os cortes sequenciais apresentavam uma distância de 90 µm entre eles, o que nos levou aplicar sobre o cálculo do número total de neurônios *CHAT* positivos uma fração de 1/3 (descrito a seguir no item 3.10.1).

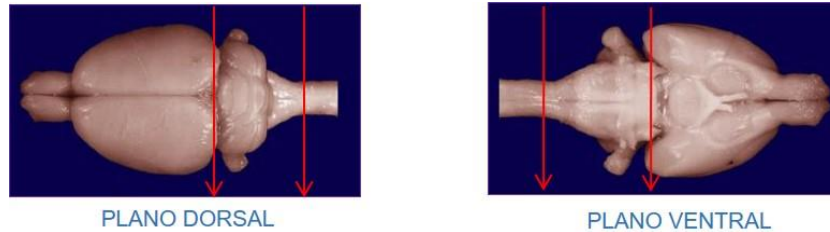


Figura 5 - Encéfalo vista dorsal (painel esquerdo) e ventral (painel direito), com destaque (entre setas vermelhas) da área aonde se encontra o tronco encefálico, onde foram realizadas as fatias (“slices”) coronais no sentido caudal-rostral.

3.9.1 Técnica da Peroxidase

A reação de peroxidase foi desenvolvida durante uma semana. No primeiro dia os cortes foram retirados da geladeira, deixados 20 min na temperatura ambiente e depois foram lavados com KPBS (0,02 M) durante 30 min. Na sequência, iniciamos o pré-tratamento com Peróxido de Hidrogênio 1% (H₂O₂) e Álcool Metílico 10% em KPBS (0,02 M), deixando os cortes nessa solução durante 20 min, sendo a seguir lavados com KPBS (0,02 M, aproximadamente 30 min), até que fosse retirada toda a solução anterior. Depois, então, início à pré-incubação em Soro Donkey 2% em KPBS (0,02 M) durante 1 h e posteriormente à incubação com o anti-corpo primário (anti-Choline Acetyltransferase, Polyclonal Antibody, Cat.#AB144P, 1:800) com Soro Donkey 2% e Triton 0,3% em KPBS (0,02 M), solução em que os cortes permaneceram 3 h à temperatura ambiente e 48 h na geladeira (4 °C) sob leve agitação.

No segundo dia de reação, após incubação do anticorpo primário, os cortes foram deixados 20 min à temperatura ambiente e depois lavados com KPBS (0,02 M) durante 30 min. Posteriormente, fizemos a incubação com anticorpo secundário Donkey anti-Goat (Jackson, Biotin SP- Anti-Goat IGH (H+L), Cat.705-065-003, 1:2000) com Triton 0,3% em KPBS (0,02 M), durante 1h e 30 min à temperatura ambiente. No momento em que foram colocados no anticorpo secundário, já preparamos solução do complexo avidina-biotina (Kit Elite, da Vector; 1:200 de A e 1:200 de B) com Triton 0,3% em KPBS (0,02 M), sob agitação durante 1h e 30 min. Após a incubação com o anti-corpo secundário, lavamos os cortes com KPBS (0,02 M) durante 30 min e colocamos os mesmos na solução do Kit ABC para a ligação da peroxidase ao complexo antígeno-anticorpo (durante 1h e 30 min). Depois lavamos com KPBS (0,2 M) durante outros 30 min.

Em seguida os cortes foram mergulhados em solução contendo: 100 ml de solução de PBS 0,1 M; 50 mg do cromógeno 3'3 diaminobenzina (DAB); 0,6 mg de Glicose Oxidase; 40 mg de Cloreto de Amônia. Após 5 min foi adicionada nessa solução a Beta D-Glicose (10%). Os cortes ficaram nessa solução durante aproximadamente 8-10 min, e para se interromper a reação foram colocados em KPBS (0,02 M). Terminada a reação da peroxidase, os cortes foram lavados com KPBS (0,02 M) durante 30 min e armazenados na geladeira na mesma solução até a montagem das lâminas. Para tanto, os cortes foram alinhados na sequência caudal-rostral, utilizando-se referências anatômicas do Atlas de Paxinos e Watson (2009). Após a finalização da montagem, as lâminas secaram durante 24 h.

No 3º. dia de reação, as lâminas com os cortes foram passadas na seguinte sequência de soluções: H₂O destilada (2 a 3 min), Álcool 50% (3 min) Álcool 70% (3 min), Álcool 95% I (3 min), Álcool 95% II (3 min), Álcool 100% I (3 min), Álcool 100% II (3 min), Xilol I (5 min) e Xilol II (no mínimo 30 min). A seguir as lâminas foram cobertas com D.P.X (Sigma, Cat: 317616, de 100 ml) e deixadas na temperatura ambiente para a secagem. Já secas, as lâminas foram raspadas e limpas, para posterior análise no microscópio.

3.10 Técnica da Estereologia

Como descrevemos anteriormente, os troncos encefálicos foram seccionados serialmente em cortes coronais (30 µm), perpendiculares ao eixo rostro-caudal, gerando secções sucessivas que continham toda a extensão dos núcleos dorsal motor do vago (DMV) e do núcleo ambíguo (NA). Novamente utilizando-se o Atlas de Paxinos e Watson (2009), as lâminas foram analisadas ao microscópio ótico (Leica DM750, Leica Microsystems, Switzerland) para a identificação do NA e DMV e suas sub-regiões. O DMV foi analisado em 3 regiões: a caudal (entre -14,76 e -14,40 mm), a intermediária (entre -14,40 e -13,68 mm) e rostral (entre -13,68 a -13,20 mm, todos em relação ao Bregma; e esta parte rostral estando próxima ao NTS medial), como indicado na Figura 6. Já o NA foi analisado, segundo sub-divisão do próprio Atlas, em 4 sub-regiões: NA retro-ambíguo (-14,28 a -15,72 mm), a “*loose part*” do NA (-13,56 a -14,16 mm), o NA sub-compacto (-12,96 a -13,44 mm) e o NA compacto (-12,00 a -12,84 mm, todos em relação ao Bregma) como apresentado na Figura 7.

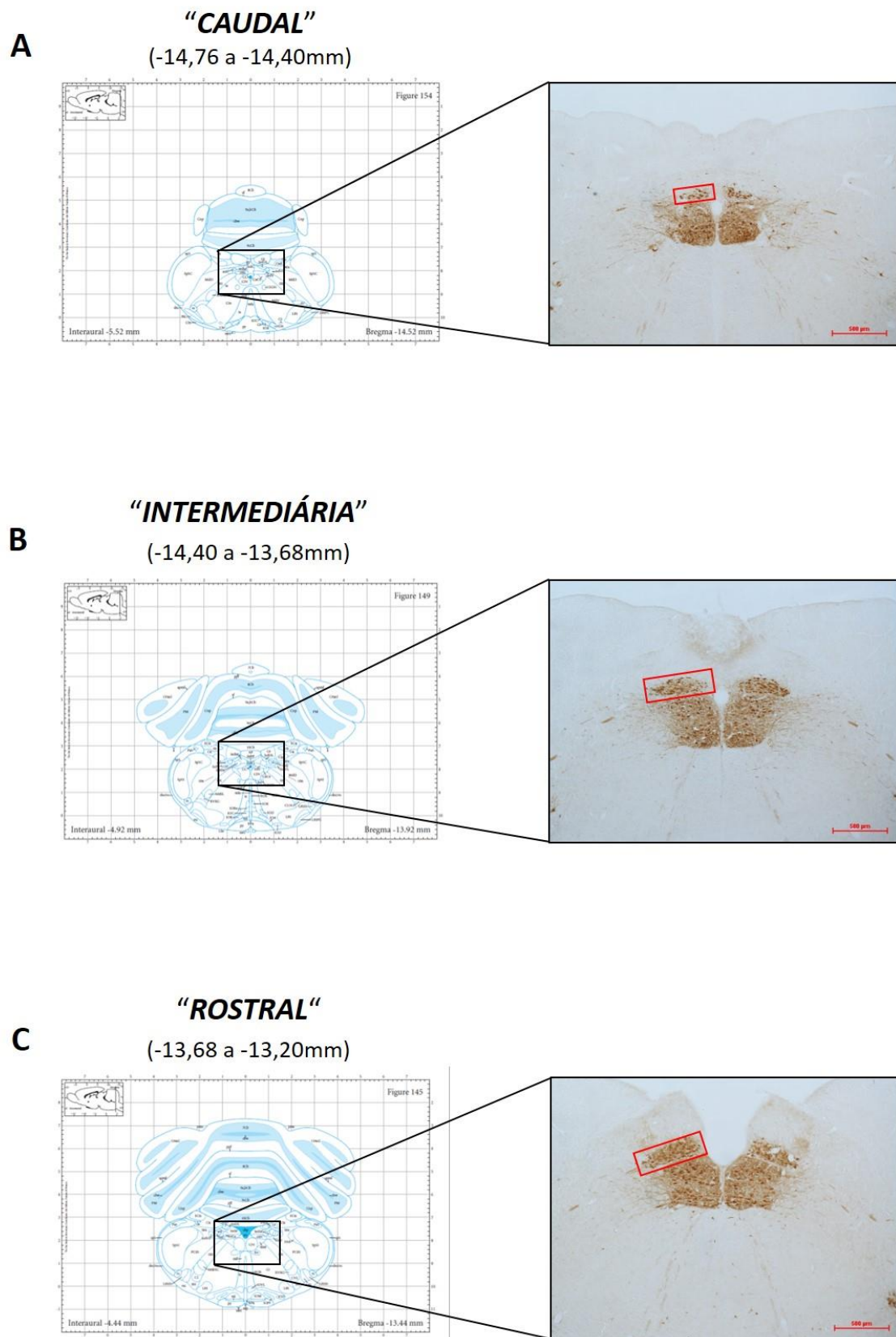


Figura 6 - Esquema representativo das subáreas do Núcleo Dorso Motor do Vago (DMV), com áreas caudal (painel A), intermediária (painel B) e rostral (painel C) são representadas por imagens do Atlas de Paxinos e Watson (2009) e com suas referências anatômicas (lado esquerdo), e estão acompanhadas de suas fotomicrografias (40 X, lado direito, escala de 500 µm) com neurônios positivos para ChAT. Retângulos vermelhos indicam áreas de interesse.

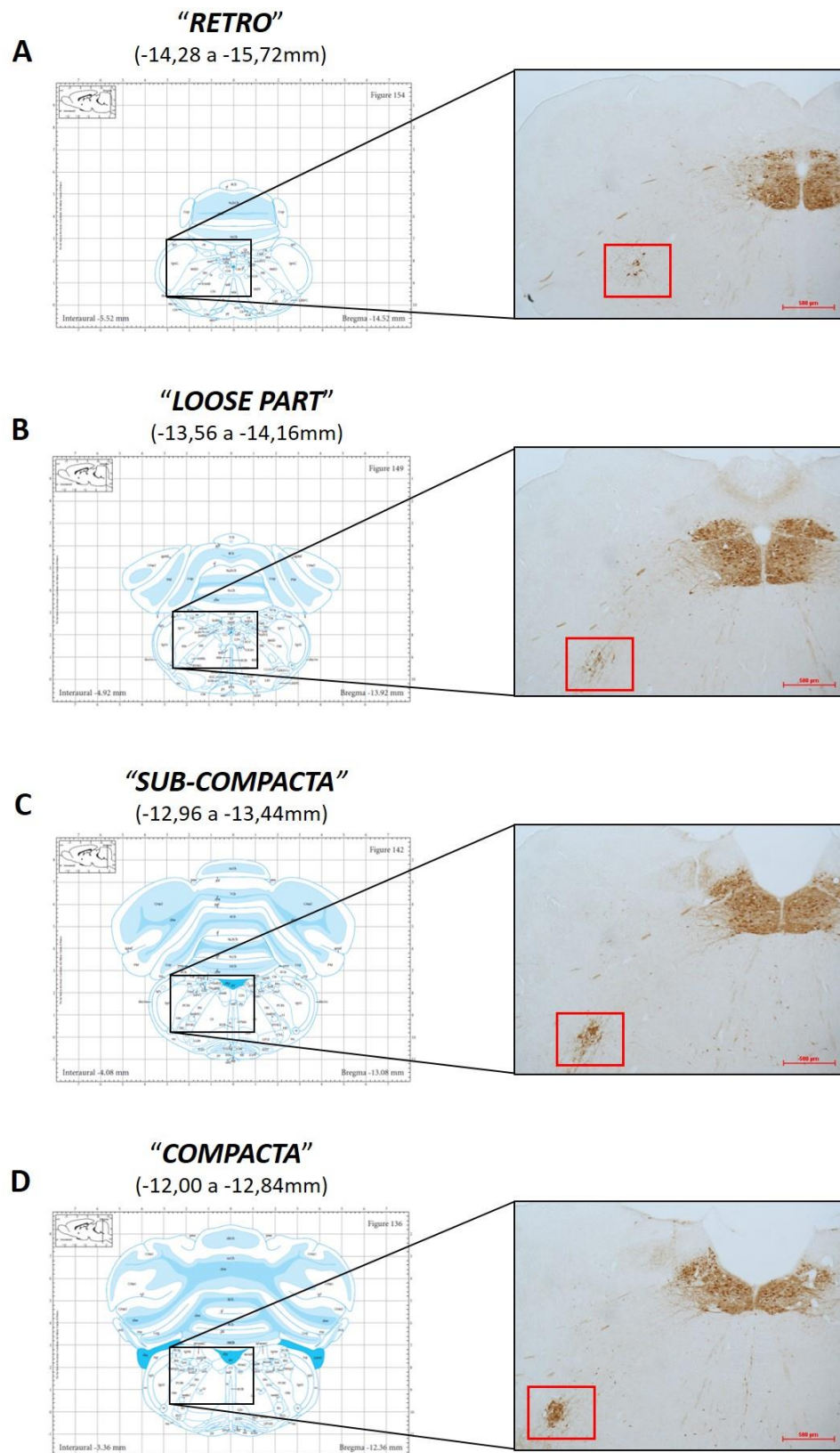


Figura 7 - Esquema representativo das subáreas do Núcleo Ambíguo (NA): áreas retro (painel A), loose (painel B), subcompacta (painel C) e compacta (painel D) são representadas por imagens do Atlas de Paxinos e Watson (2009) e com suas referências anatômicas (lado esquerdo), e estão acompanhadas de suas fotomicrografias (40 X, lado direito, escala de 500 µm) com neurônios positivos para ChAT. Retângulos vermelhos indicam áreas de interesse.

As secções obtidas, foram seleccionadas por meio de amostragem sistemática e uniformemente aleatória (SURS) (GUNDERSEN et al., 1999) e uma fração de secção (retângulo vermelho-verde) foi analisada. Assim, ao serem observadas ao microscópio de luz (Leica DM 6000) foi possível realizar análises estereológicas com auxílio do *software* estereológico NewCAST Visiopharm (versão 3.2.4.0), como exemplificado na Figura 8.

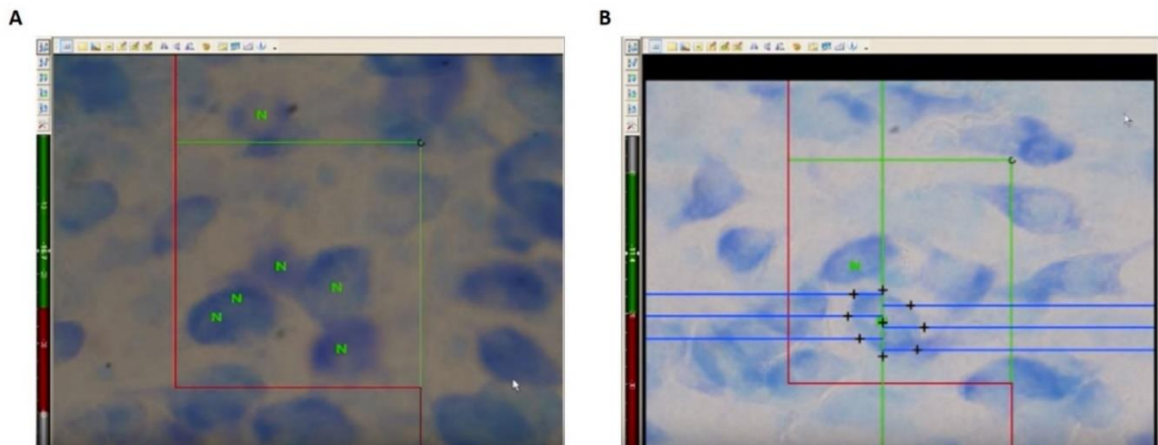


Figura 8 - Imagem representativa do uso do *software* estereológico NewCAST Visiopharm para contagem de todos os neurônios positivos para ChAT que tocam a linhas verdes (identificados por símbolos verdes no painel A) e quantificação do volume dos neurônios (estimado na área neuronal delimitada, painel B).

Esta análise permitiu o cálculo do número total e do volume de neurônios positivos para CHAT, como mostrado nos itens 3.10.1 e 3.10.2.

3.10.1 Cálculo do número total de neurônios ChAT positivos no DMV e NA.

O número total de neurônios (N) foi estimado por meio do “*optical fractionator*” multiplicando-se a somatória da quantificação pelo inverso das frações de amostragem dos mesmos (ANDERSEN et al., 2004; GUNDERSEN, 2002; GUNDERSEN et al., 1988). A seguinte fórmula foi utilizada:

$$N := \sum Q^- \cdot \frac{1}{ssf} \cdot \frac{1}{asf} \cdot \frac{1}{hsf}$$

Onde:

ssf é a fração das secções histológicas amostradas;

asf é a fração das áreas das secções histológicas amostradas;

hsf é a fração da espessura do corte efetivamente utilizada para contagem;

Q é o número de neurônios amostrados em *disectors* ópticos;

3.10.2 Cálculo do volume dos neurônios ChAT positivos no DMV e NA

O volume de cada neurônio foi estimado localmente pelo método do *rotator* planar. Este método permite estimar o volume médio e sua distribuição volumétrica independentemente da sua forma, distribuição ou orientação (VEDEL JENSEN; GUNDERSEN, 1993; TANDRUP et al., 1997). A seguinte fórmula foi utilizada para a estimativa do volume neuronal:

$$\bar{v}_N := \pi \cdot t \cdot \sum_i l_i^2$$

onde, l_i^2 é uma distância medida a partir de um ponto fixo da célula ou fora dela, até uma borda arbitrariamente escolhida na mesma. O procedimento foi realizado com o auxílio do *software* estereológico NewCAST Visiopharm (versão 3.2.4.0).

3.11 Análise estatística

Os resultados são apresentados como média \pm EPM. O desempenho em esteira foi analisado pela ANOVA de 3 fatores (grupo e condição, com medidas repetidas no fator tempo). Para comparação dos efeitos do T e S sobre os valores de PA e FC, sobre sua variabilidade e componentes espectrais, sobre os parâmetros da barocurva, sobre tónus e efeitos e sobre o conteúdo protéico no DMV e NA de SHR e WKY nos diferentes tempos experimentais utilizamos o ANOVA fatorial ou o a ANOVA de 2 fatores, conforme apropriado. O teste *post hoc* foi o de Fisher LSD (*software* STATISTIC 7.0, Stat Soft Inc.). O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Alterações temporais do peso corporal dos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo

Os ratos foram pesados semanalmente durante os protocolos de sedentarismo (S) e treinamento (T) e antes da cirurgia para a canulação. Estes dados foram importantes para acompanhar crescimento e higidez dos animais. Apresentamos a seguir (Tabela 4, Figura 9) os pesos corporais obtidos nas semanas 0, 1, 2, 4 e 8, os quais foram obtidos nos dias das canulações.

Tabela 4 - Pesos corporais (g) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S), obtidos nos dias de canulação arterial nos diferentes tempos experimentais

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	65 ± 4		58 ± 1	
1	89 ± 6*	89 ± 5*	89 ± 6*	86 ± 5*
2	111 ± 8*	103 ± 4*	122 ± 5*	122 ± 3*
4	184 ± 9*	181 ± 10*	176 ± 7*	184 ± 8*
8	245 ± 11*	249 ± 6*	241 ± 10*	245 ± 4*

Valores são médias ± EPM. n= 7-13 Significâncias (p<0,05): * vs S₀ (semana 0, controle).

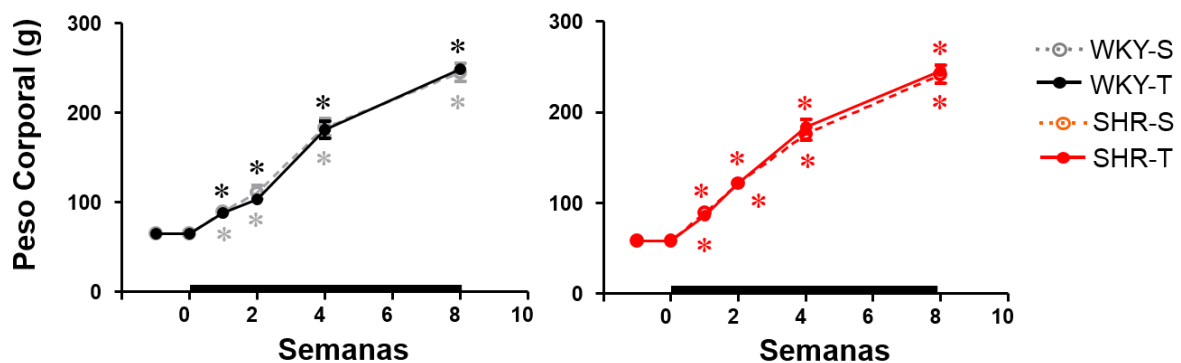


Figura 9 - Pesos corporais (g) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S), obtidos nos dias de canulação arterial nos diferentes tempos experimentais. Barra preta indica o período experimental. Significâncias (p<0,05): * vs S₀ (semana 0, controle).

A partir de 21 dias de idade (45-55 g) os ratos foram adaptados à esteira durante 5 dias, 2 X ao dia, com velocidade entre 0,2 e 0,7 km/h. Os WKY-S₀ e SHR-S₀ (semana 0, grupos controle) com 30 dias apresentavam peso corporal inicial de 65 ± 4 e 58 ± 1

g, respectivamente. O ganho de peso corporal (aproximadamente 170 a 190 g durante as 8 semanas) foi gradual e similar em ambas as linhagens incluídas nos protocolos de treinamento e sedentarismo. Ao final dos protocolos, a comparação dos diferentes grupos mostrava pesos equivalentes (Figura 10).

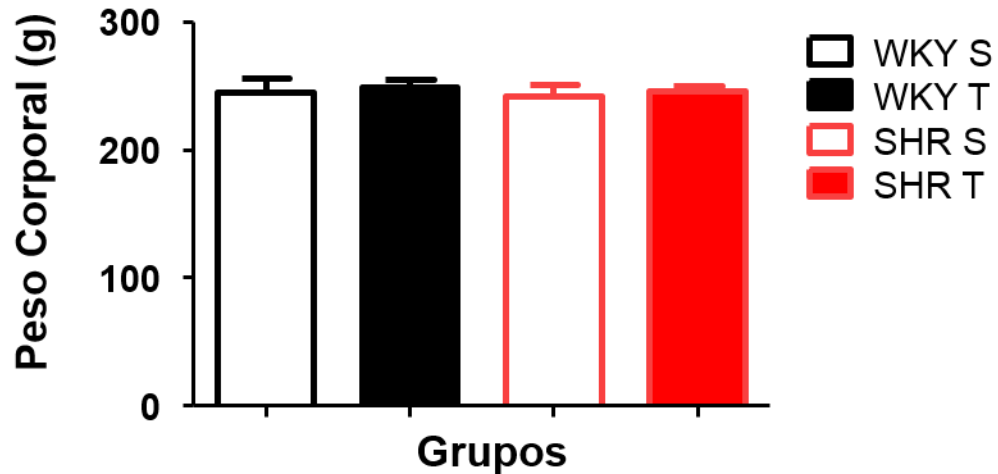


Figura 10 - Pesos corporais (g) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S) ao final das 8 semanas de protocolos.

4.2 Avaliação do desempenho em esteira dos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo

Os dados relativos ao desempenho na esteira (em Km/h) nos grupos WKY e SHR, S e T, foram obtidos através dos testes máximos aplicados nas semanas 0, 4 e 8. Estes valores estão apresentados na Tabela 5 e Figura 11.

Tabela 5 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	0,68 ± 0,02		1,51 ± 0,03‡	
4	0,78 ± 0,05	1,13 ± 0,06*†	1,61 ± 0,08‡	2,15 ± 0,06*†‡
8	0,95 ± 0,03	1,36 ± 0,04*†	1,57 ± 0,12‡	2,86 ± 0,08*†‡
% ganho	40	100	4	89

Valores são médias ± EPM. n≈146 na semana 0, n≈32 na semana 4 e n≈22 na semana 8. Significâncias (p<0,05): * vs S0 (semana 0, controle). † vs semana 0, ‡ vs WKY.

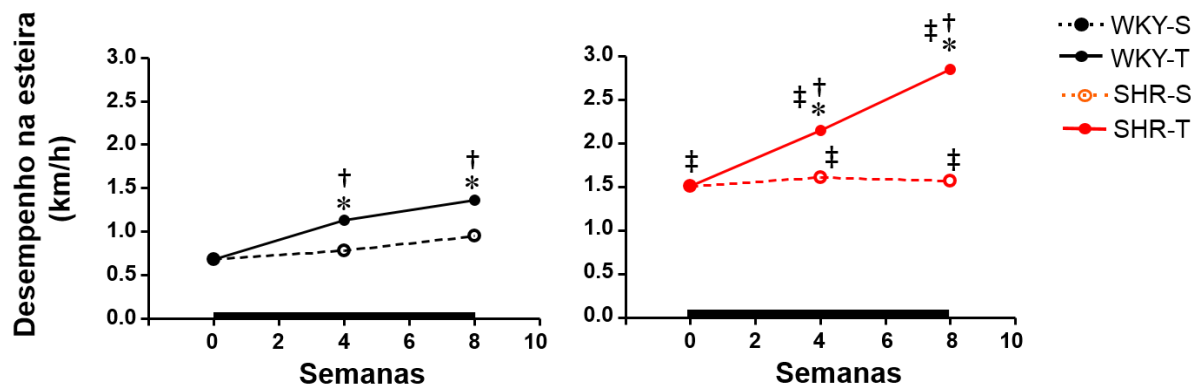


Figura 11 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S). Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($p < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

SHR jovens exibiram desde o início e durante os protocolos um melhor desempenho na esteira, quando comparados aos WKY (Figura 11). O treinamento aeróbio aumentou o desempenho em ambos os grupos, com alterações significantes a partir da 4^a.semana e aumento adicional na 8^a.semana do treinamento. Da semana 0 para a 8^a.semana, os SHR-T₈ e WKY-T₈ apresentaram ganho similar de desempenho, com +89% e +100% vs. SHR-S₀ e WKY-S₀, respectivamente. Não houve alteração de desempenho nos grupos sedentários, de forma que na 8^a. semana experimental os grupos treinados atingiam velocidades significativamente maiores que os respectivos sedentários (Tabela 5, Figura 11).

4.3 Evolução temporal de parâmetros hemodinâmicos dos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo

A evolução temporal da frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PAM) nos grupos WKY e SHR submetidos aos protocolos S e T são apresentados na Tabela 6 e comparados na Figura 12.

Tabela 6 - Valores da PAM (mmHg) e FC (b/min) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).

Semana	WKY				SHR			
	PAM (mmHg)		FC (b/min)		PAM (mmHg)		FC (b/min)	
	S	T	S	T	S	T	S	T
0	102±5		372±8		110±6		479±9‡	
1	102±6	100±9	384±7	320±0*	122±4	105±4	396±9*	415±14*
2	108±4	101±9	389±9	340±7*	130±2*‡	124±4*	390±8*	391±4*
4	115±10*	116±2*	327±7*	292±15*	148±3*‡	138±2*†	372±9*‡	327±6*†
8	118±3*	117±3*	321±6*	309±8*†	173±2*‡	160±3*†	383±9*‡	339±4*†

Valores são médias ± EPM. N= 6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Na semana 0, WKY e SHR (30 dias de idade) apresentaram níveis semelhantes de PAM (~106 ± 5 mmHg) e elevada FC basal, a qual era significativamente maior nos SHR vs WKY (479 ± 9 vs. 372 ± 8 b/min, respectivamente, P<0.05). Nos SHR-S, a PAM aumentou progressivamente da semana 0 para a semana 8, com elevação significativa na 2^a. semana, atingindo valores de 173 ± 2 mmHg aos 3 meses de idade, ou seja, na 8^a. semana experimental, uma elevação de 63 mmHg (Figura 12A). Interessante observar-se que o treinamento aeróbio atrasou a elevação da PAM (significativamente aumentada somente a partir de T₄) e reduziu significativamente sua magnitude (160 ± 3 mmHg em T₈, uma redução de 13 mmHg quando comparado ao S₈, Figura 12A e 13). Com o avançar da idade, houve redução da FC de repouso em ambos os grupos, mas a redução induzida pelo treinamento nos SHR foi de maior magnitude atingindo entre T₄ e T₈ valores similares aos dos grupos WKY. Nos WKY o treinamento causou menor redução da FC basal, mas significativa já a partir de T₁ (Figura 12B). No final dos protocolos, ambos os grupos apresentaram bradicardia de repouso (-44 e -12 b/min para os SHR e WKY, respectivamente, Figuras 12B e 14), um importante marcador de treinabilidade.

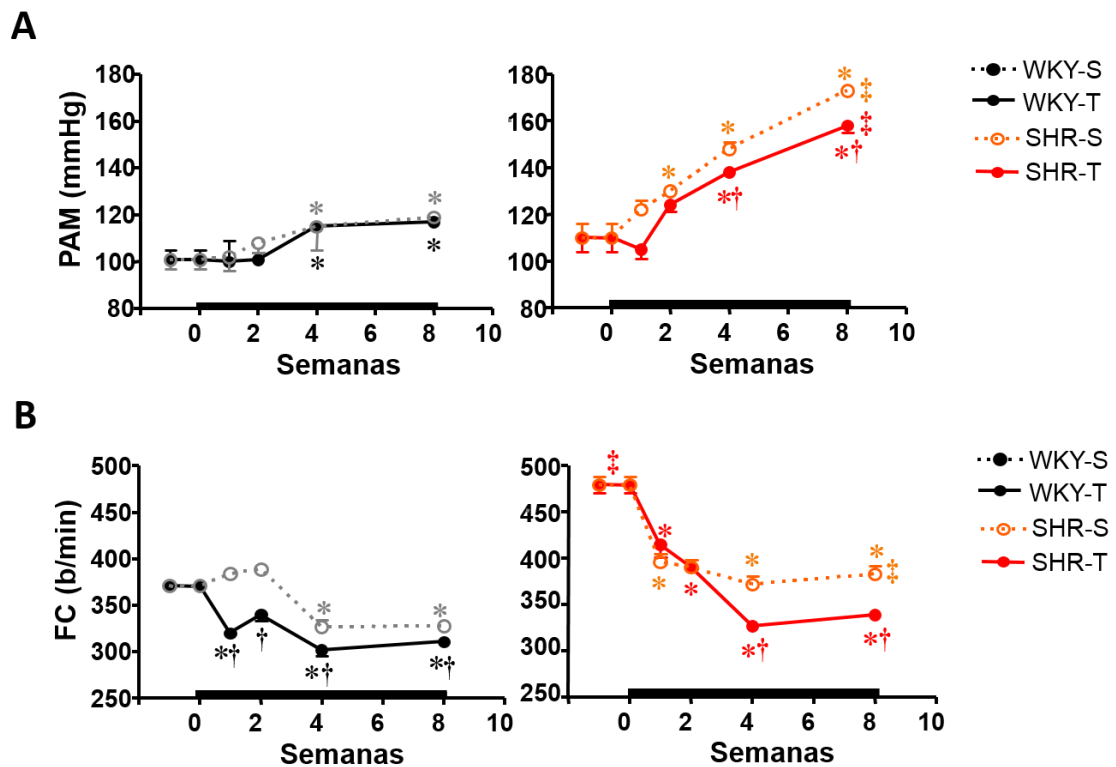


Figura 12 - Evolução temporal da pressão arterial (PAM, mmHg, painel A) e frequência cardíaca (FC, em b/min, painel B) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), treinados (T) e sedentários (S) durante as 8 semanas experimentais. Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($p < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Durante as 8 semanas experimentais os WKY-S apresentaram pequeno aumento da PAM, significativo a partir de T₄ (115 ± 10 mmHg, Figura 12A). Nos WKY jovens o treinamento não alterou os valores de PAM, determinando apenas a redução da FC de repouso entre a 1^a. e 4^a. semanas (292 ± 15 b/min na T₄), com manutenção destes valores até T₈ (Figura 12B).

A comparação dos valores basais da PA e FC ao final dos protocolos é apresentada nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

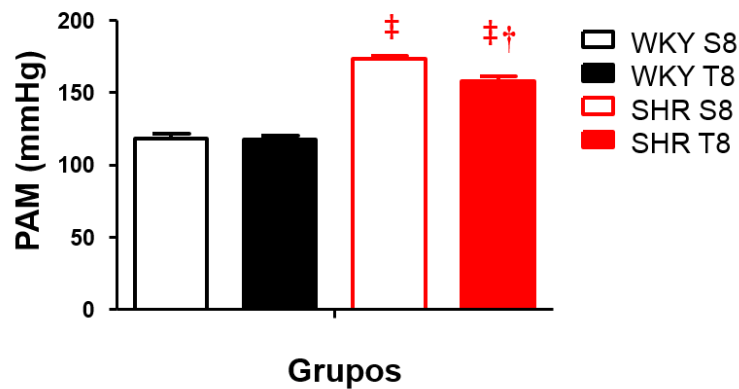


Figura 13 - Pressão arterial média (PAM, em mmHg) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) na 8ª. semana experimental ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S). Significâncias ($p < 0,05$): † vs S, ‡ vs WKY.

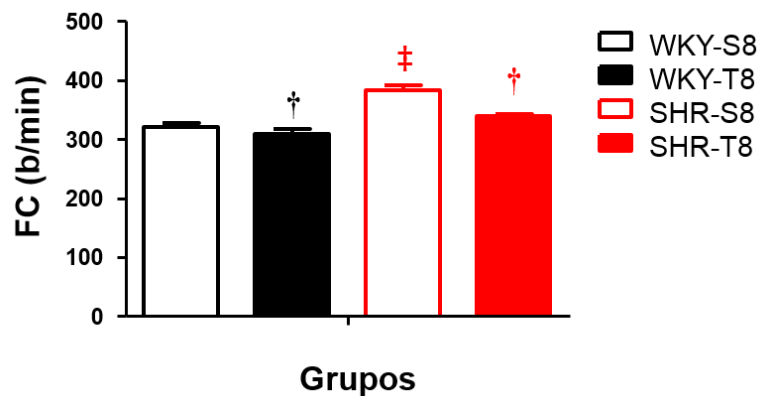


Figura 14 - Frequência cardíaca basal (FC, em b/min) de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) na 8ª. semana experimental ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S). Significâncias ($p < 0,05$): † vs S, ‡ vs WKY.

4.4 Análise espectral em séries temporais da pressão arterial sistólica e intervalo de pulso de SHR e WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento ou sedentarismo

Os registros sequenciais da PA e FC (repouso de ~40 min) permitiram a análise da variabilidade destes parâmetros pela técnica da análise espectral. Escolhemos para a análise trechos de 5 min de registro em que o sinal apresentasse maior estacionariedade (períodos em que a variância e a estrutura da onda de pulso são mais constantes). Sequencias temporais de PAS e IP foram utilizados para os cálculos da variabilidade da PAS e seus componentes espectrais (Tabelas 7 a 10), e da variabilidade do IP e seus componentes espectrais (Tabelas 11 a 14). Os resultados quantitativos da variabilidade da PAS (mmHg^2) e seus componentes LF, HF e VLF,

são respectivamente apresentados nas Tabelas de 7 a 10 e comparados nas Figuras 15 e 16.

Tabela 7 - Valores de variabilidade da pressão arterial sistólica (Var-PAS, em mmHg²) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	16,75±1,86		32,68±6,34‡	
1	16,16±2,47	15,13±1,73	40,15±6,64‡	31,84±7,63‡
2	18,06±2,72	17,08±1,49	35,02±7,18‡	34,52±3,98‡
4	22,36±3,60	20,06±2,38	46,05±8,39‡	39,66±6,52‡
8	22,90±2,47	19,98±1,82	78,12±6,61‡*	51,21±6,34‡*†

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

No início dos protocolos, os SHR já apresentavam elevada variabilidade da PA quando comparado aos WKY (SHR com 32,68 ± 6,34 mmHg² e WKY com 16,75 ± 1,86 mmHg², Figura 15A). Notamos haver aumento idade-dependente da variabilidade nos SHR-S, chegando a 78,12 ± 6,61 mmHg² na 8^a.semana (uma elevação de 139% vs S₀) e que o treinamento amenizou este aumento ao longo de todo o protocolo, pois os SHR-T₈ apresentavam valores 34% menores que os SHR-S₈ (Figura 16A). Embora reduzida a variabilidade da PAS nos SHR-T, estes valores apresentavam-se mais elevados que os respectivos grupos WKY (S e T, Figura 15A). Em oposição aos SHR, os WKY-S e T não sofreram alterações durante os protocolos experimentais.

Tabela 8 - Valores do componente LF da pressão arterial sistólica (LF- PAS, em mmHg²) em ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	1,74±0,30		6,35±1,01‡	
1	1,69±0,51	1,00±0,33	6,06±1,27‡	4,23±0,36‡
2	2,16±0,44	1,73±0,17	5,54±0,87‡	5,27±1,45‡
4	2,22±0,62	1,92±0,39	9,39±2,38‡	5,86±1,56‡†
8	2,64±0,42	1,99±0,23	12,67±1,49‡*	8,39±1,84‡†

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05):* vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

De forma semelhante à variabilidade da PAS, o componente LF-PAS também estava aumentado nos SHR no início dos protocolos experimentais (SHR= $6,35 \pm 1,01$ mmHg² vs. WKY= $1,74 \pm 0,30$ mmHg², Tabela 8, Figura 15B). Ao longo das 8 semanas experimentais, os SHR-S também apresentaram aumento do LF, chegando a elevação de 100% (vs S₀) na 8^a. semana de sedentarismo. Este aumento foi completamente bloqueado pelo treinamento nos SHR-T, cujos valores mantiveram-se em níveis similares aos valores iniciais (Figura 15B) e 34% abaixo em relação aos SHR-S₈ (Figura 16B). Por outro lado, o LF-PAS dos WKY-S, assim como dos WKY-T não sofreram nenhuma alteração durante as 8 semanas experimentais.

Tabela 9 - Valores do componente HF da pressão arterial sistólica (HF-PAS, em mmHg²) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	1,63±0,18		3,54±0,42‡	
1	1,71±0,17	2,00±0,69	2,04±0,31	2,42±0,22
2	1,46±0,18	2,15±0,38	2,19±0,33	3,34±0,99
4	1,52±0,25	2,32±0,87	2,28±0,12	4,13±1,09
8	1,67±0,28	2,12±1,05	5,40±1,00‡	7,00±1,02*‡‡

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Ao analisarmos o componente HF-PAS observamos que os SHR vs WKY apresentavam valores elevados deste parâmetro no início dos protocolos experimentais (SHR= $3,54 \pm 0,42$ mmHg vs. WKY= $1,63 \pm 0,18$ mmHg, Figura 15C), apresentando elevação adicional de 98% na 8^a.semana apenas nos SHR-T (um aumento de 98% S₀ e de 30% vs S₈). No final dos protocolos (Figura 16C), os SHR-S e T estavam com valores significativamente aumentados em relação aos WKY correspondentes. Paralelamente, os WKY-S e WKY-T não apresentaram mudanças ao longo do experimento (Figura 15C).

Tabela 10 - Valores do componente VLF da pressão arterial sistólica da (VLF- PAS, em mmHg²) dos ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	8,61±1,38		14,49±2,82	
1	8,80±1,98	7,82±1,48	24,27±6,39‡	11,25±3,86†
2	9,42±1,48	8,06±1,44	19,75±3,89‡	16,99±2,70
4	12,39±3,17	10,81±1,55	21,03±5,07	17,62±3,38
8	13,06±2,51	9,90±0,84	37,22±8,31*‡	22,90±3,03††

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05):* vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

No início dos protocolos, de acordo com estatística, o componente da VLF da PAS não era significativamente diferente entre os grupos SHR e WKY (14,49 ± 2,82 vs. 8,61 ± 1,38 mmHg, respectivamente; Figura 15D). Os SHR-S apresentaram aumento acentuado entre as semanas 0 e 8, com 37,22 ± 8,31 (vs S₀), enquanto os SHR-T não sofreram nenhuma alteração. No final dos protocolos (Figura 16D), o VLF nos SHR-T estava reduzido em aproximadamente 39% da quando comparado aos SHR-S de mesma idade (22,90 ± 3,03 vs 37,22 ± 8,31mmHg², respectivamente). Nos WKY não houve alterações significativas do VLF-PAS em ambos os protocolos (Figura 15D).

Adicionalmente, ao compararmos S e T ao final dos protocolos, observamos que a hipertensão arterial foi acompanhada de aumento da variabilidade da PAS, justificado pelos aumentos excessivos do LF, HF e VLF em SHR-S₈ e menor ou nenhuma elevação desses parâmetros nos treinados (Figura 16), o que amenizou a elevação da Var-PAS. Nos WKY, não notamos alterações significantes nos componentes espectrais, bem como na variabilidade da PAS (Figura 16).

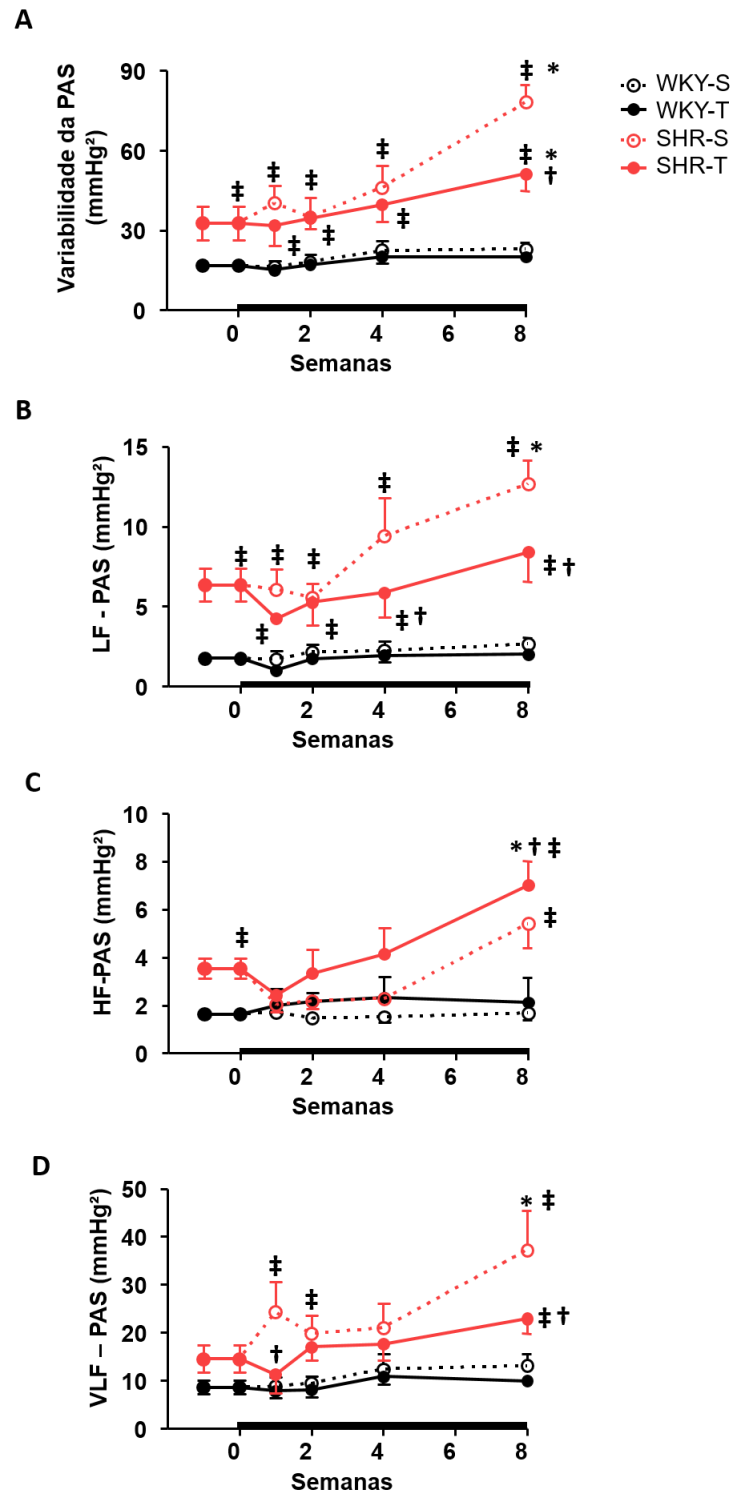


Figura 15 - Alterações temporais na variabilidade da PAS (A) e seus componentes LF, HF e VLF (mmHg²; painel B a D) em WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). Linha preta indica o período experimental. $n = 8-12$ ratos por grupo. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

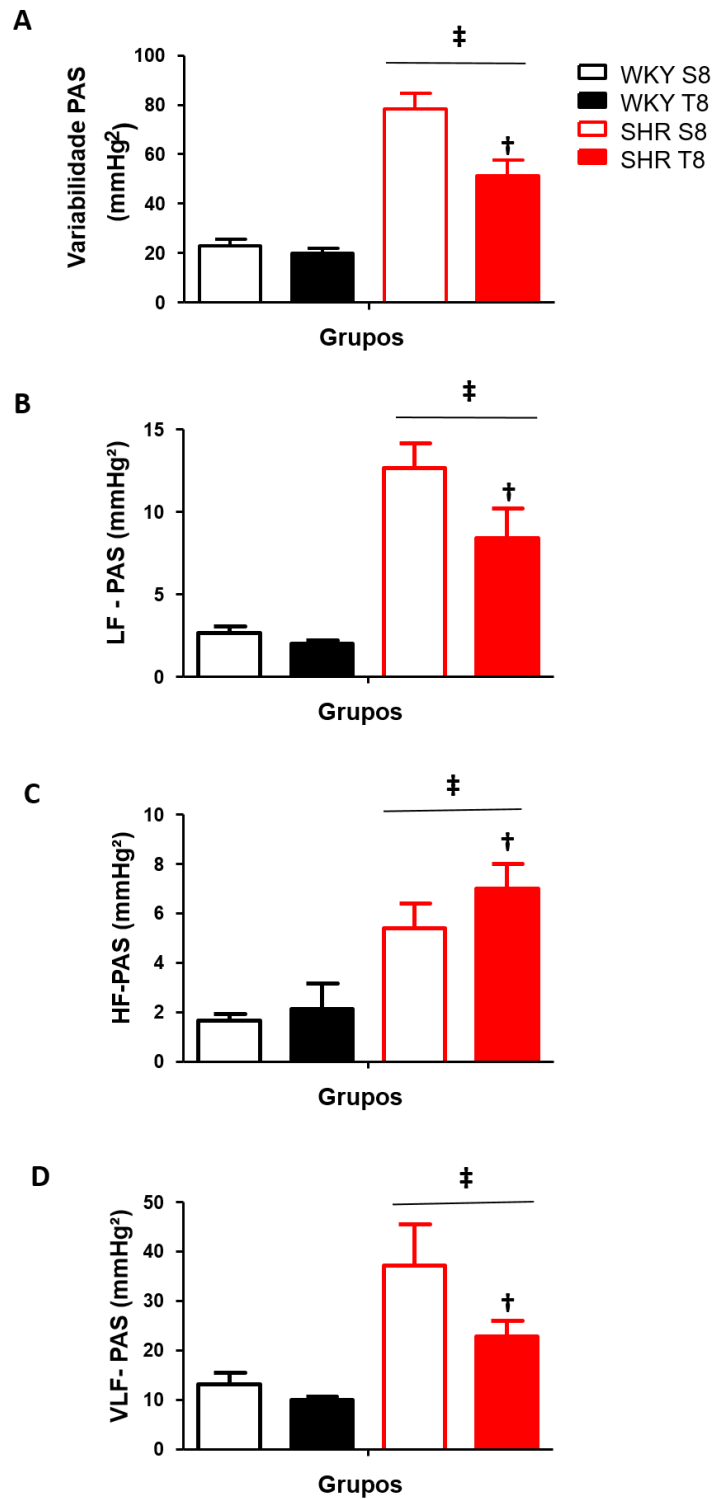


Figure 16 - Comparação da variabilidade da PAS (A) e seus componentes LF, HF e VLF (mmHg²; painel B a D) em WKY e SHR jovens ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T). $n = 8-12$ ratos por grupo. Significâncias ($P < 0,05$): † vs S, ‡ vs WKY.

Paralelamente à análise da variabilidade da PAS, também avaliamos a variabilidade do IP (Var - IP) e seus componentes espectrais (todos em ms^2 , Tabelas 11 a 14, Figuras 17 e 18).

Tabela 11 - Valores referentes à variabilidade do intervalo de pulso (Var-IP, ms^2) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	18,82±3,00		12,25±1,72	
1	21,93±3,30	38,73±6,58*	19,37±4,05	8,42±1,62‡
2	21,68±3,68	21,97±2,22	18,57±2,05	18,12±2,25
4	30,03±9,10	31,03±8,96	18,01±4,40	23,89±3,39
8	29,86±5,03	42,18±8,53*	20,45±3,01	35,48±6,26*†

Valores são médias \pm EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias ($p<0,05$):* vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

A variabilidade do IP (Tabela 11, Figura 17A) não diferia entre SHR e WKY no início dos protocolos ($12,25 \pm 1,72$ vs $18,82 \pm 3,00 \text{ ms}^2$) e praticamente se manteve inalterada com o avanço da idade, como visto nos WKY-S e SHR-S. O treinamento melhorou a variabilidade do IP em ambos os grupos sendo significativamente aumentada em 124% WKY e 190% nos SHR entre as semanas 0 e 8 (Figura 17A). Ao final dos protocolos, a variabilidade aumentada da FC nos hipertensos (+73% nos SHR-T₈ vs. SHR-S₈) mostrava-se em patamares semelhantes aos dos normotensos entre as semanas 4 e 8 (Figura 18A).

Ao avaliarmos o componente LF-IP (Tabela 12, Figura 17B), notamos que SHR e WKY no início dos protocolos também apresentam valores similares. Porém, os SHR mantidos sedentários apresentaram elevação da atividade simpática para o coração durante as 8 semanas, com elevação de 45% nos SHR-S₈ vs semana 0. Por outro lado, o treinamento foi efetivo em impedir esta alteração. Nenhuma alteração foi observada nos grupos WKY-S e WKY-T. Observamos também que o treinamento ao evitar a elevação do LF-PI nos SHR- T, manteve a atividade simpática cardíaca em níveis similares à dos grupos normotensos.

Tabela 12 - Valores em unidades normalizadas (nu) do componente LF do intervalo de pulso (LF- IP) para os ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	15,88±2,92		18,23±1,75	
1	13,54±2,20	13,16±3,23	18,90±5,00	13,43±1,69
2	13,00±2,47	11,89±1,82	17,28±2,12	14,46±1,89
4	14,05±1,54	13,47±2,24	18,40±2,79	14,80±1,98
8	15,65±1,81	16,50±2,41	23,54±3,13‡	16,24±1,36†

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05): † vs S, ‡ vs WKY.

Quanto ao componente HF-IP (Tabela 13, Figura 17C), notamos não haver diferenças significantes entre WKY e SHR na semana 0 (81,32 ± 3,09 vs. 75,51 ± 2,34 nu). Os WKY-T e WKY-S não apresentaram alterações relevantes durante os protocolos experimentais, mas o treinamento determinou aumento do HF nos SHR já a partir da 1ª. semana (+13% vs SHR-S₀), valor que se manteve até a 8ª. semana experimental (Tabela 13, Figuras 17C e 18C). Nenhuma alteração foi observada nos WKY-S e WKY-T.

Tabela 13 - Valores em unidades normalizadas (nu) do componente HF do intervalo de pulso (HF-IP) para os ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	81,32±3,09		75,51±2,34	
1	84,99±2,12	86,08±3,42	79,40±5,45	85,54±1,64*
2	86,24±2,16	87,61±1,90	80,66±2,18	84,29±2,15*
4	85,36±1,60	84,56±2,52	80,57±3,04	84,06±2,08*
8	83,51±1,80	84,17±2,33	77,54±3,22	83,13±1,46*

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05): * vs S₀

Embora não significantes, o ligeiro aumento de LF e a pequena queda de HF observadas nos SHR-S determinaram, na semana 0, redução significativa da razão LF/HF nos SHR-S₀ quando comparados aos WKY-S₀ (0,30 ± 0,04 vs. 0,18 ± 0,04, Tabela 14, Figura 17D). Não houve nos WKY sedentários e treinados alterações significantes da razão LF/HF. Os SHR mantidos sedentários apresentaram durante as 8 semanas experimentais ligeira flutuação dos valores da razão LF/HF, mas valores significantemente mais elevados que o dos WKY na semana 8. O treinamento

determinou nos SHR importante redução da balanço simpato-vagal ao coração já a partir da 1ª.semana, a qual se manteve em valores aproximados até o final do protocolo, chegando a 33% de queda na 8ª.semana de treinamento (Tabela 13, Figuras 17D e 18D).

Tabela 14 - Valores da razão LF/ HF do intervalo de pulso (IP) de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	0,18±0,04		0,30±0,04‡	
1	0,16±0,03	0,16±0,04	0,27±0,08	0,16±0,02*
2	0,16±0,04	0,13±0,01	0,22±0,03	0,16±0,03*
4	0,17±0,02	0,16±0,03	0,23±0,04	0,18±0,03*
8	0,19±0,03	0,18±0,03	0,34±0,07‡	0,20±0,02*†

Valores são médias ± EPM. n=3-5 para cada subgrupo. Significâncias (p<0,05): * vs semana 0, † vs S; ‡ vs WKY.

A comparação ao final dos protocolos da variabilidade do IP (representativa da variabilidade da FC) e de seus componentes espectrais (Figura 18) mostrou que a maior variabilidade da FC induzida pelo treinamento nos SHR era devida ao aumento precoce da atividade vagal (HF-IP aumentado em T₁) e à redução mais tardia da atividade simpática (LF-IP reduzida em T₈), os quais determinavam desde a 1ª. semana de treinamento redução significativa do balanço simpato-vagal ao coração. Alterações qualitativamente similares, mas que não atingiram níveis de significância, foram observadas nos WKY treinados quando comparados a seus controles normotensos. Coerentemente, ao final dos protocolos, observamos aumento significativo da variabilidade da FC nos SHR, determinada pela redução do balanço simpato-vagal, o qual nesta fase experimental era devido principalmente à redução da variabilidade do componente simpático ao coração (Figura 18).

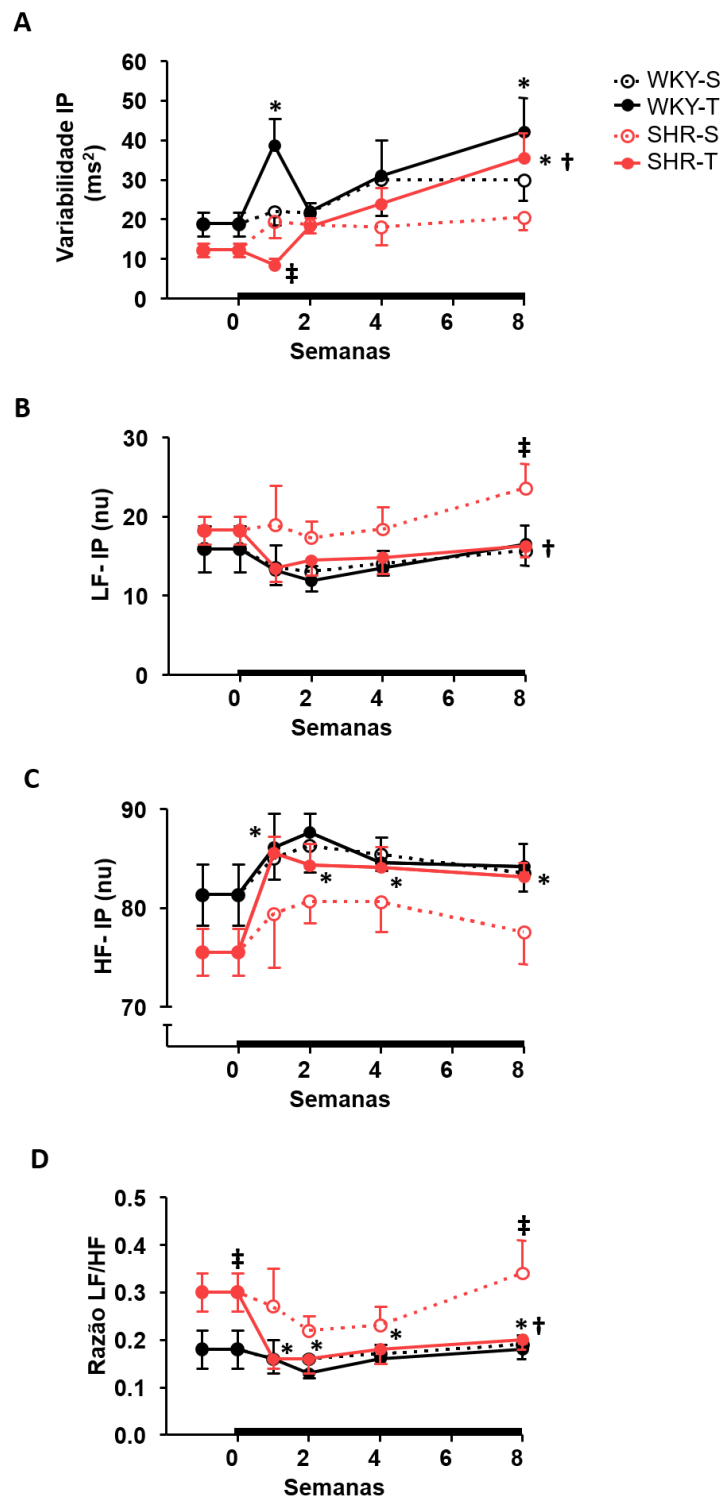


Figure 17 - Alterações temporais na variabilidade do IP (ms², painel A), seus componentes LF e HF (painéis de B e C) e índice LF/HF (painel D) em WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). Linha preta indica o período experimental. \bar{n} = 8-12 ratos por grupo. Significâncias (P<0,05): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

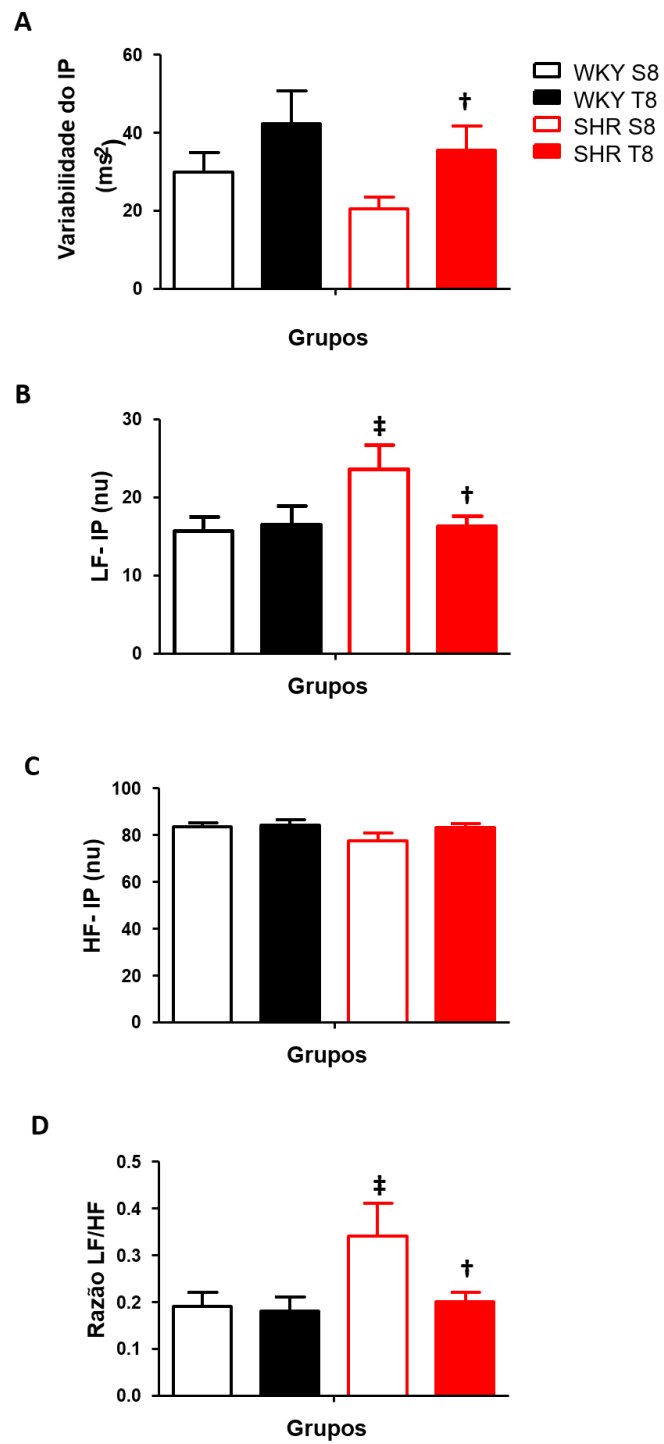


Figura 18 - Comparação da variabilidade da FC (ms², painel A), e de seus componentes LF e HF (painéis de B e C) e LF/HF index (painel D) em WKY e SHR jovens ao final dos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). $n = 8-12$ ratos por grupo. Significâncias ($P < 0,05$): † vs S, ‡ vs WKY.

Avaliamos também o índice do barorreflexo espontâneo, calculado através do alpha-LF (Tabela 15, Figura 19A) e do alpha-HF (Tabela 16, Figura 19B). Sendo alpha-LF = LF-IP)/LF-PAS e alpha-HF = HF-IP/HF-PAS.

Tabela 15 - Valores referentes ao índice do barorreflexo espontâneo ($\text{ms}^2/\text{mmHg}^2$) calculados pelo alpha-LF de ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	0,89±0,16		0,38±0,05‡	
1	0,95±0,19	1,50±0,49*†	0,39±0,09‡	0,50±0,09‡
2	0,87±0,16	0,82±0,09	0,37±0,04‡	0,40±0,04
4	0,90±0,26	0,76±0,13	0,31±0,05‡	0,40±0,04‡
8	0,89±0,16	1,07±0,13	0,34±0,03‡	0,40±0,04‡

Valores são médias ± EPM. n=6-12 para cada subgrupo. Significâncias ($p<0,05$): * vs semana 0, ‡ vs WKY.

Tabela 16 - Valores referentes ao índice do barorreflexo espontâneo ($\text{ms}^2/\text{mmHg}^2$) calculados pelo alpha-HF em ratos normotensos (WKY) e hipertensos (SHR), submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Semanas	WKY		SHR	
	S	T	S	T
0	1,94±0,20		0,88±0,12‡	
1	1,93±0,23	2,25±0,26	1,27±0,11	1,15±0,10‡
2	1,94±0,35	1,82±0,17	1,38±0,18	1,58±0,19*
4	2,00±0,31	2,60±0,39*	1,27±0,08	1,32±0,10‡
8	2,14±0,14	2,78±0,35*†	1,27±0,09‡	1,34±0,17‡

Valores são médias ± EPM. n= 6-12 para cada subgrupo. Significâncias ($p<0,05$): * vs semana 0, ‡ vs WKY.

Para ambos os índices, SHR jovens ainda na fase pré-hipertensiva, quando comparados a seus controles temporais, já apresentavam reduzida sensibilidade barorreflexa (redução média de 55%), com alpha-LF e alpha-HF de $0,38 \pm 0,05$ e de $0,88 \pm 0,12 \text{ ms}^2/\text{mmHg}^2$ vs. $0,89 \pm 0,16$ e $1,94 \pm 0,20 \text{ ms}^2/\text{mmHg}^2$ nos WKY, respectivamente (Tabelas 15 e 16). WKY e SHR mantidos sedentários não apresentaram alterações dos índices alpha-HF e alpha-LF durante as 8 semanas experimentais. Houve nos SHR-T aumento transitório do alpha-HF na 2ª. semana de treinamento (vs semana 0), o qual voltava aos valores basais nas demais semanas experimentais. Os WKY-T também apresentaram elevação transitória do alpha-LF na semana 1, com volta aos valores basais nas demais semanas, com aumento

significativo do alpha-HF nos WKY-T entre a 4^a. e 8^a. semanas experimentais (elevação de 45%, vs WKY-S₀, Tabelas 15 e 16, Figura 19).

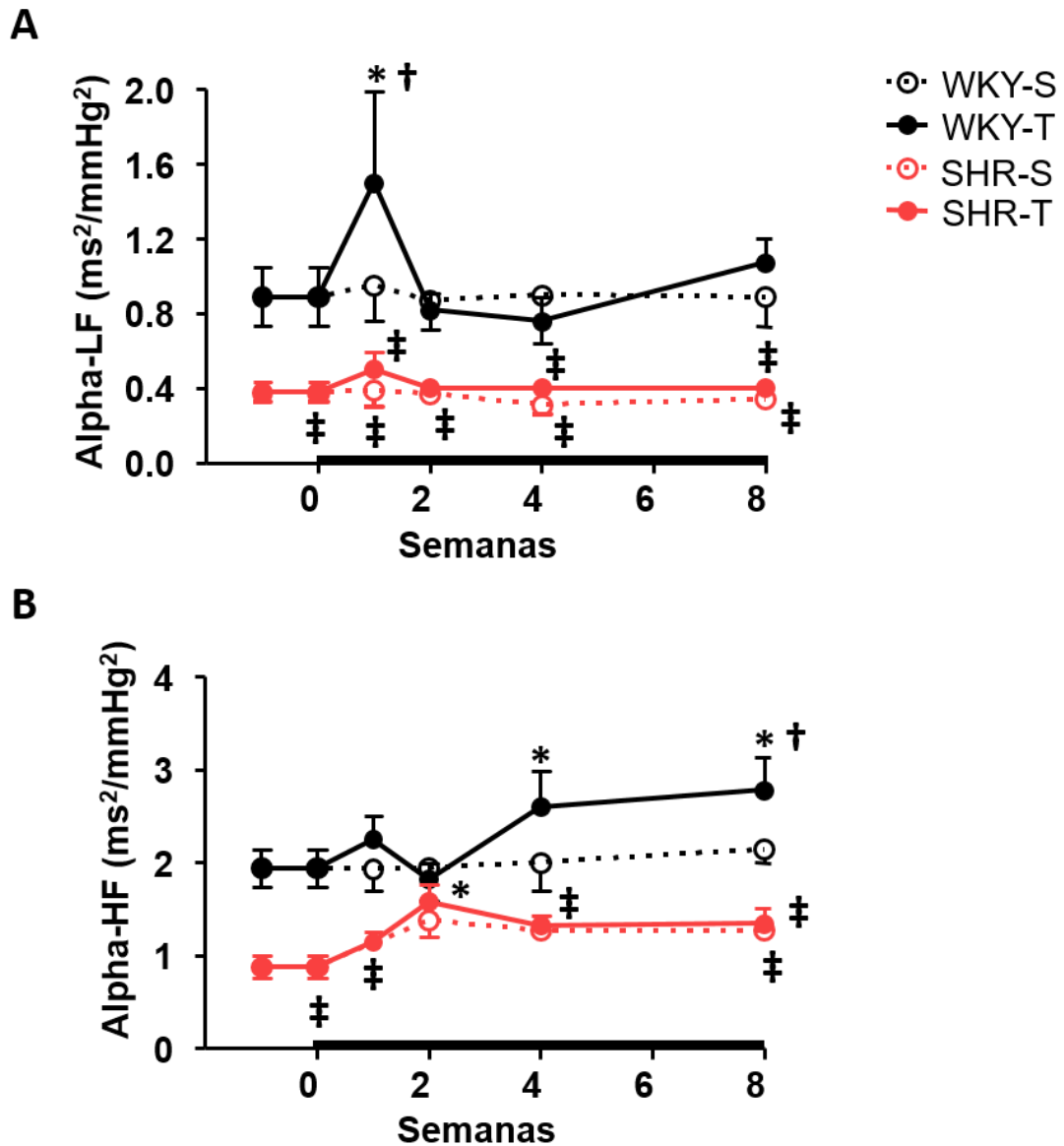


Figura 19 - Alterações temporais do Alpha-LF (em ms^2/mmHg , painel A) e Alpha-HF (em ms^2/mmHg , painel B) em hipertensos (SHR) e normotensos (WKY) sedentários (S) e treinados (T). Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($p < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Ao final dos protocolos notamos que apesar do treinamento promover a bradicardia de repouso (Tabela 6 e Figura 12B) e a redução parcial da PAM nos SHR (Tabela 6 e Figura 12A), ele não foi efetivo em aumentar a reduzida sensibilidade barorreflexa espontânea que caracteriza o SHR sedentário. O treinamento também

não alterou significativamente o ganho reflexo dos WKY-T quando comparados aos WKY-S (Tabelas 15 e 16, Figura 20).

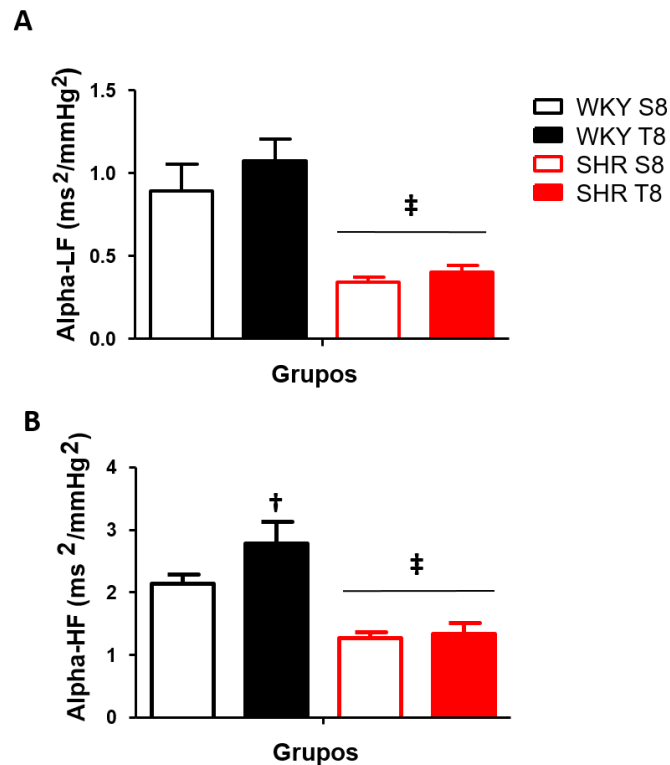


Figura 20 - Comparação do Alpha-LF (em ms²/mmHg, painel A) e Alpha-HF (em ms²/mmHg, painel B) entre normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T). Significâncias ($p < 0,05$): † vs S, ‡ vs WKY

4.5 Alterações sequenciais do barorreflexo estimulado nos SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo

Além do barorreflexo espontâneo, avaliamos também a sensibilidade barorreflexa durante alterações transitórias da PA induzidas por doses crescentes de fenilefrina e nitroprussiato de sódio. As Tabelas 17 e 18 mostram os valores dos parâmetros das barocurvas médias para cada tempo experimental, nos grupos WKY e SHR, submetidos aos protocolos S e T. As representações gráficas das curvas são apresentadas na Figura 21.

Tabela 17 - Parâmetros das barocurvas em WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Grupos	PAM	FC	Platô Inferior	Intervalo operacional	Ganho	BP50
S₀	102±6	327±9	266±22	190±24	-4,15±0,86	91±5
S₁+S₂	111±4	354±14	297±11	171±13	-3,20±0,41	104±5*
S₄	117±5*	283±18	217±21*	190±13	-3,45±0,76	110±5*
S₈	127±4*	285±2	234±12	182±11	-3,25±0,55	125±3*
T₁+T₂	112±3	323±11	251±14†	191±13	-3,08±0,27	107±5*
T₄	122±6*	293±17	213±21*	190±12	-2,64±0,24*	115±5*
T₈	127±2*	324±11	239±22	231±23†	-2,92±0,23	121±5*

Valores são médias ± EPM. $n = 4-8$ ratos por grupo. PAM e FC, valores médios da PAM (mmHg) e FC (b/min) basais durante o teste barorreflexo; Platô inferior, indicativo da bradicardia reflexa máxima (b/min); Intervalo operacional, intervalo de funcionamento do barorreflexo; Ganho, sensibilidade do reflexo no ponto médio; BP50, PA correspondente a 50% do intervalo operacional (mmHg). Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S.

Tabela 18 - Parâmetros das barocurvas em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Grupos	PAM	FC	Platô Inferior	Intervalo operacional	Ganho	BP50
S₀	118±7‡	435±25	368±22‡	158±22	-3,32±0,51	110±6‡
S₁+S₂	128±4‡	381±13*	346±10‡	144±15	-3,25±0,24	120±3‡
S₄	149±7*‡	353±8*‡	328±8‡	115±18‡	-2,87±0,31	133±8*‡
S₈	171±4*‡	353±13*‡	322±13*‡	109±9*‡	-1,78±0,19*‡	159±4*‡
T₁+T₂	128±3‡	396±12‡	329±9‡	163±14	-4,21±0,73‡	121±3‡
T₄	147±2*‡	351±19*‡	293±14*‡	149±7	-2,68±0,26	139±4*‡
T₈	176±2*‡	338±10*	294±8*‡	161±10‡†	-2,87±0,35†	156±4*‡

Valores são médias ± EPM. $n = 4-8$ ratos por grupo. PAM e FC, valores médios da PAM (mmHg) e FC (b/min) basais durante o teste barorreflexo; Platô inferior, indicativo da bradicardia reflexa máxima (b/min); Intervalo operacional, intervalo de funcionamento do barorreflexo; Ganho, sensibilidade do reflexo no ponto médio; BP50, PA correspondente a 50% do intervalo operacional (mmHg). Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

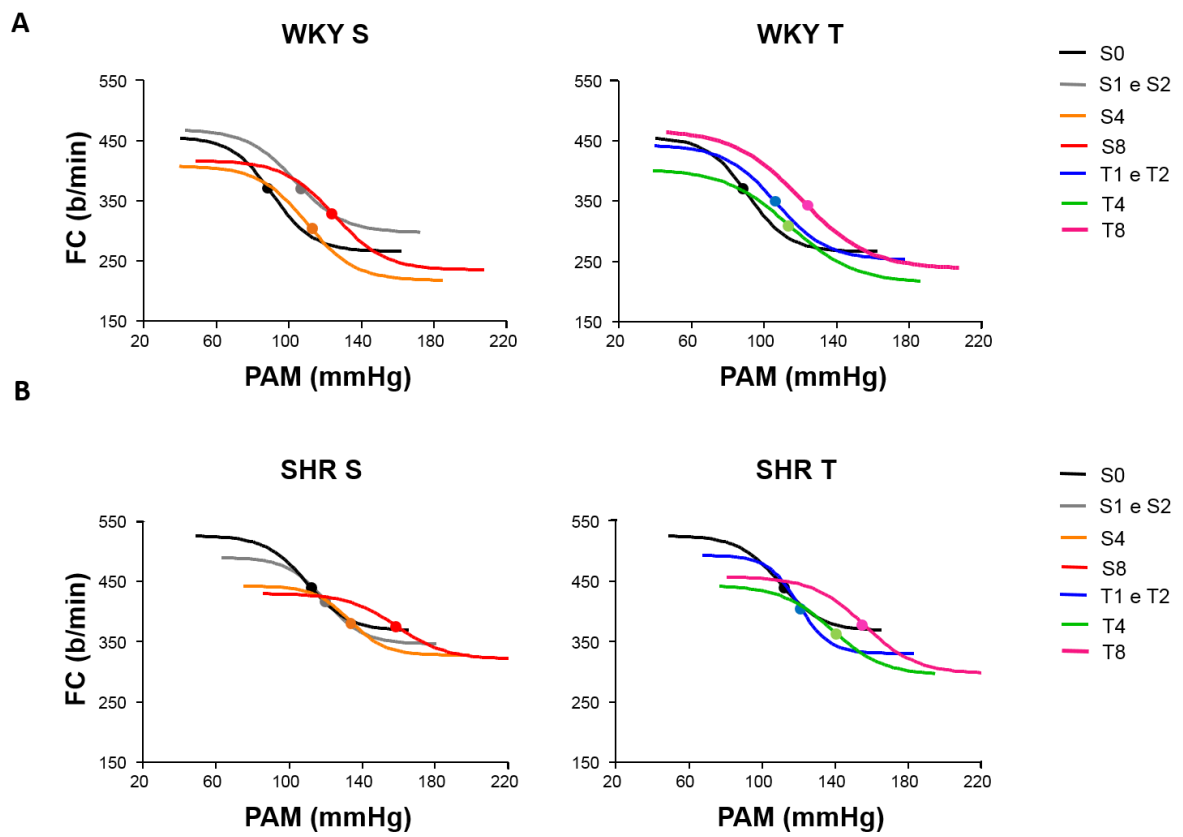


Figure 21 - Alterações temporais nas barocurvas de WKY (painel A) e SHR (painel B) jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). $n = 4-8$ ratos por grupo. Significâncias ($P < 0,05$): são indicadas nas Tabelas 17 e 18.

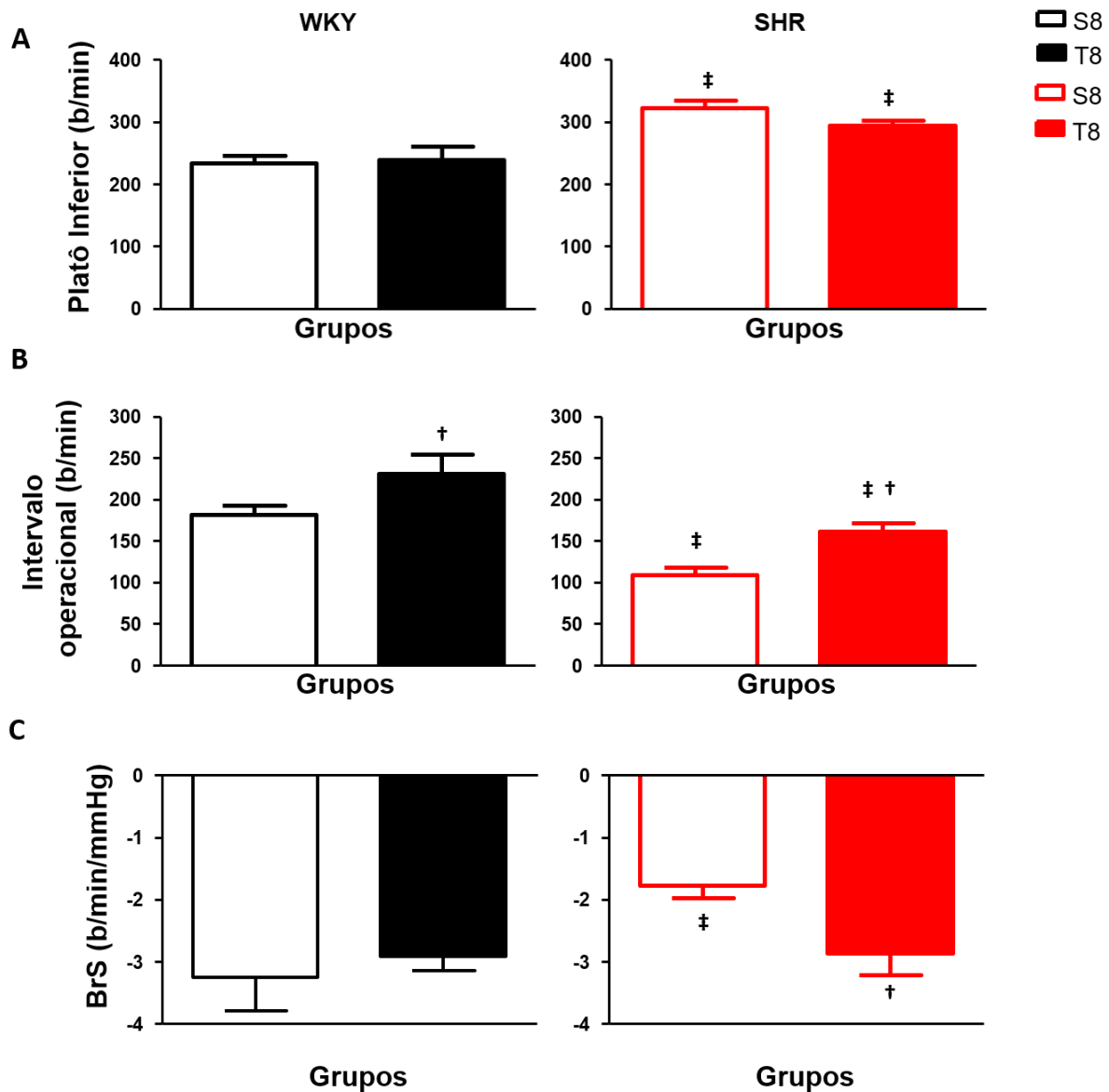


Figure 22 – Comparação dos parâmetros das barocurvas de normotensos (WKY) e hipertensos (SHR) sedentários (S) e treinados (T) ao final das 8 semanas experimentais. São comparados o platô inferior (painel A), a faixa operacional do reflexo (painel B) e a sensibilidade barorreflexa (BrS = ganho, painel C) do controle reflexo da frequência cardíaca determinada pela ativação/desativação dos barorreceptores. $n = 4-8$ ratos em cada subgrupo. Significância ($P < 0,05$): † vs S, ‡ vs WKY.

As barocurvas expostas na Figura 21 e seus parâmetros (Tabela 17 e 18) ilustram os efeitos da hipertensão e do treinamento físico sobre o controle reflexo da frequência cardíaca em ratos WKY e SHR. Nos WKY-S houve, a partir da semana 2, deslocamento de funcionamento dos barorreceptores para valores mais elevados de pressão, a qual foi proporcional ao aumento idade-dependente da PAM. Neste grupo, o treinamento determinou a redução o platô inferior a partir de T₁-T₂, com aumento do

intervalo operacional em T_8 , sem no entanto, alterar a sensibilidade barorreflexa (Figura 21A).

Na fase pré-hipertensiva (S_0) os SHR apresentam função barorreflexa normal (faixa operacional = 158 ± 22 b/min; ganho ou sensibilidade baroreflexa, $BrS = -3,32 \pm 0,51$ b/min/mmHg, Tabela 18 e Figura 21B), mas deslocada para valores mais altos de PAM e FC, de acordo com os elevados valores de PA observados nestes animais (valores basais na Tabela 6 e valores durante a estimulação dos barorreceptores nas Tabelas 17 e 18). Na primeira semana a faixa operacional e a sensibilidade dos SHR-S não se alteraram (Figura 21B), mas a função barorreflexa estava deslocada para níveis mais baixos de FC, de acordo com a redução da FC basal observada entre as semanas 0 e 1 (S_0 - S_1). O estabelecimento da hipertensão (significativo a partir da 2^a. semana) reduziu o controle barorreflexo da FC, como indicado tanto pela redução da faixa operacional (em quase 50 b/min), quanto pela diminuição da sensibilidade barorreflexa (BrS , Figuras 21B). Após 8 semanas de sedentarismo os SHR (3 meses de idade) apresentavam hipertensão característica e estável, e importante depressão do controle reflexo da FC (faixa operacional = 109 ± 9 b/min; $BrS = -1,78 \pm 0,19$ b/min/mmHg, Figuras 21B, 22B e 22C). Interessantemente, o treinamento aeróbio de baixa à moderada intensidade foi capaz de abolir a disfunção barorreflexa desde a 1^a-2^a.semanas, por causar deslocamento o platô inferior para valores mais baixos de FC e aumentar a faixa operacional do reflexo, a qual foi mantida em valores elevados durante as 8 semanas de treinamento (em torno de 145 -160 b/min/mmHg, Figura 21B). Estas respostas adaptativas ao treinamento determinaram aumento significativo da BrS já a partir de T_1 - T_2 ($-4,14 \pm 0,73$ b/min/mmHg, Tabela 18), com aumento significativo da sensibilidade barorreflexa nos SHR- T_8 quando comparados com SHR- S_8 , seus controles temporais (Figura 22B e 22C). De forma semelhante aos SHR-S, os SHR-T também apresentaram deslocamento da barocurva para níveis inferiores de FC, proporcionais à redução da FC basal com o avançar da idade (Figura 22B). Ao final dos protocolos (Figuras 22), a comparação das curvas de função barorreflexa entre SHR- T_8 e SHR- S_8 indica notável melhora do controle reflexo da FC nos SHR treinados, mesmo na persistência de valores elevados da PAM (176 ± 2 mmHg).

4.6 Alterações sequenciais do tônus e efeito simpático e vagal em SHR e WKY submetidos ao treinamento ou sedentarismo

Além da variabilidade da PAS e do IP e do funcionamento baroreflexo, avaliamos também em ambos os grupos nas semanas 0, 2 e 8 os tônus e o efeitos simpático e vagal ao coração, bem como a frequência intrínseca de marcapasso (FIM) após o duplo bloqueio.

Os dados de FC de repouso, FC intrínseca, FC após Atropina e FC após Atenolol dos animais WKY e SHR estão expostos nas Tabelas 19 e 20. A partir desses valores obtivemos os tônus e efeitos simpáticos e vagais, bem como as razões tônus simpático/tônus vagal e razões efeito simpático/efeito vagal, os quais são apresentados nas Tabelas 21 e 22 e Figuras 23 e 24.

Tabela 19 - Alterações de frequência cardíaca induzidas por atropina e atenolol em WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

WKY				
Grupos	FC repouso (b/min)	FC após Atropina (b/min)	FC após Atenolol (b/min)	FC intrínseca (b/min)
S0	348±6	386±15	312±5	352±5
S2	328±7	434±10	287±4	359±9
S8	307±6*	401±24	281±18*	339±4
T2	321±11*	442±12*	305±11	370±4
T8	288±7*	396±10	268±7†	325±7*

Valores são médias ± EPM. $n = 4-6$ ratos por grupo. FC, frequência cardíaca; FC intrínseca, frequência intrínseca de marcapasso após duplo bloqueio. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S.

Tabela 20 - Alterações de frequência cardíaca induzidas por atropina e atenolol em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

SHR				
Grupos	FC repouso (b/min)	FC após Atropina (b/min)	FC após Atenolol (b/min)	FC intrínseca (b/min)
S0	394±9‡	485±15‡	348±3	388±10‡
S2	353±5*‡	484±17‡	308±14	374±8
S8	372±3*‡	478±26‡	305±7‡	372±3‡
T2	338±11*	489±26	310±8	385±7
T8	322±6*‡†	439±11	319±3	371±7‡

Valores são médias ± EPM. $n = 4-6$ ratos por grupo. FC, frequência cardíaca; FC intrínseca, frequência intrínseca de marcapasso após duplo bloqueio. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Tabela 21 - Alterações do tônus e efeito simpático e vagal em WKY jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Grupos	T S (b/min)	T V (b/min)	Ef S (b/min)	Ef V (b/min)	Razão T S / T V	Razão Ef S / Ef V
S0	35±14	40±2	36±7	41±8	0,91±0,29	0,72±0,09
S2	75±12*	72±9*	42±4	106±5*	0,84±0,08	0,39±0,03*
S8	62±17	58±12	29±3	94±13*	1,10±0,43	0,39±0,09*
T2	72±10	65±7*	16±2*†	121±14*	1,13±0,12	0,14±0,03*†
T8	71±5	64±3*	23±1	108±10*	1,09±0,08	0,19±0,04*†

Valores são médias ± EPM. $n = 4-6$ ratos por grupo. T S, Tônus Simpático; T V, Tônus Vagal; Ef S, Efeito Simpático; Ef V, Efeito Vagal. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S.

Tabela 22 - Alterações do tônus e efeito simpático e vagal em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) nos diferentes tempos experimentais.

Grupos	T S (b/min)	T V (b/min)	Ef S (b/min)	Ef V (b/min)	Razão T S / T V	Razão Ef S/Ef V
S0	91±6‡	40±11	46±6	90±1‡	2,23±0,21‡	0,50±0,06‡
S2	110±14	78±8*	51±7	120±8*	1,40±0,16*	0,38±0,03
S8	119±19‡	67±7*	66±10*‡	97±9	1,92±0,42‡	0,72±0,04*‡
T2	104±17	75±3*	19±4*†	151±9‡	1,37±0,15*	0,12±0,02*†
T8	68±8†	52±4	3±3*††	123±5*	1,33±0,17†*	0,03±0,02*††

Valores são médias ± EPM. $n = 4-6$ ratos por grupo. T S, Tônus Simpático; T V, Tônus Vagal; Ef S, Efeito Simpático; Ef V, Efeito Vagal. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Durante o desenvolvimento dos WKY, houve de S₀ para S₂ (ou seja, entre a 4^a. e 6^a. semanas de idade) aumentos tanto do tônus vagal como do tônus simpático ao coração, sem alterações marcantes entre S₂ e S₈ (este correspondente a 12 semanas de idade). O treinamento não alterou significativamente a magnitude dos tônus vagal e simpático dos WKY nem a razão entre ambos (TS/TV), apenas determinando redução da FIM nos WKY-T₈ (Tabela 19 e 21 e Figura 23A). A comparação dos efeitos simpático e vagal durante o desenvolvimento dos WKY-S indicou entre S₀ e S₂ um aumento significativo do efeito vagal, mantido até S₈, com pequena redução do efeito simpático em S₈, o que determinou queda significativa da razão Ef S/Ef V nas semanas 2 e 8 quando comparadas à semana 0 (Tabela 21). Neste grupo o treinamento não modificou o efeito vagal, causando apenas pequena redução adicional no efeito simpático em T₂ e T₈, com queda ainda mais intensa da razão Ef S/Ef V (Figura 23B, Tabela 21).

Os SHR com 1 mês de idade (S_0) já apresentavam intensa hipertonia simpática $TS = 91 \pm 6$ vs 35 ± 14 b/min nos WKY- S_0) que se manteve praticamente inalterada durante as 8 semanas experimentais. Por outro lado, o tônus vagal na semana 0 não diferia entre SHR e WKY, mas aumentou entre S_0 e S_2 , apresentando pequena queda em S_8 (Figura 24A). Houve nos SHR-S entre as semanas experimentais 0 e 8 pequena redução da razão TS/TV (Tabela 22, Figura 24A). O treinamento não alterou a magnitude dos tônus vagal dos SHR, mas reduziu o tônus simpático em T_8 , determinando redução significativa da razão TS/TV nos SHR- T_8 vs SHR- S_8 (Tabela 22, Figura 24A). A comparação dos efeitos simpático e vagal durante o desenvolvimento dos SHR-S indicou entre S_0 e S_2 um aumento significativo do efeito vagal, que, no entanto, foi novamente reduzido em S_8 (12 semanas de idade) com simultâneo aumento do efeito simpático, quando se dá o estabelecimento da fase crônica da hipertensão espontânea (Figura 24B). Nesta fase (semana 8) observamos nos SHR-S aumento significativo da razão Ef S/Ef V (Tabela 22). Nos SHR o treinamento facilitou sobremaneira o aumento do efeito vagal em T_2 e T_8 , com marcante redução do efeito simpático em ambos os tempos, determinando intensa redução da razão Ef S/Ef V nas mesmas semanas de treinamento (Tabela 22, Figura 24B).

Uma observação interessante foi a de que em todos os ratos WKY, sedentários ou treinados, a FC de repouso (indicada pelas setas pretas na Figura 23A) situava-se na faixa de FC controlada pelo vago, ou seja, todos os animais eram vagotônicos. Por outro lado, os SHR sedentários com 1 ou 3 meses de idade (semanas experimentais 0 e 8) apresentavam FC de repouso operando na faixa de FC controlada pelo simpático, mostrando serem simpatotônicos (indicada pelas setas vasadas na Figura 24A). Digno de nota foi o efeito do treinamento em reverter este padrão dos SHR, uma vez que após 2 e 8 semanas de treinamento a FC basal passou a operar na faixa do vago, indicando que, mesmo hipertensos, os SHR treinados tornaram-se vagotônicos (Figura 24A).

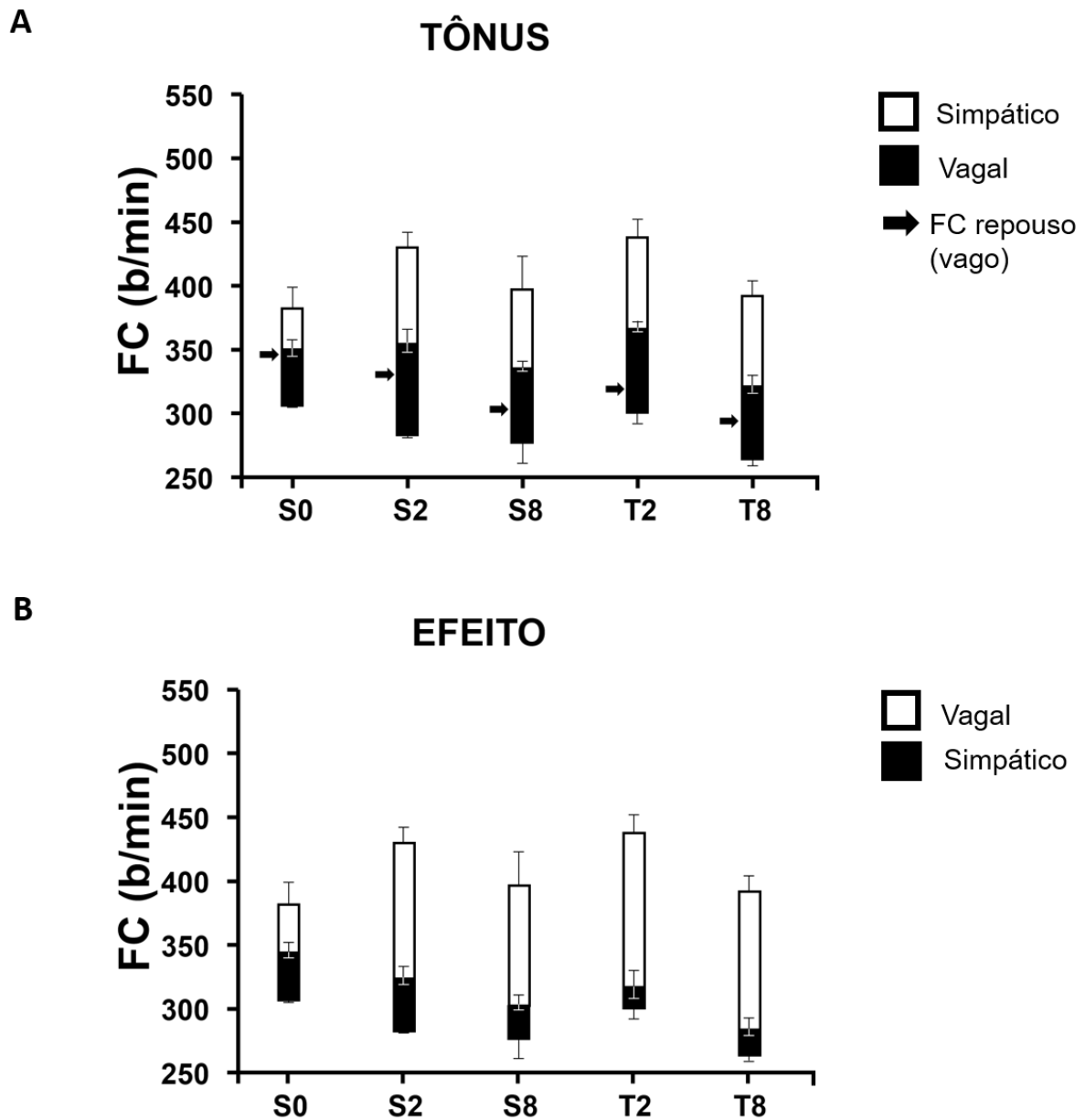


Figura 23 - Comparação dos efeitos sequenciais da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre o tônus (painel A) e o efeito (painel B) vagal e simpático de WKY jovens nas semanas 0, 2 e 8 dos protocolos experimentais. As setas no painel A representam a Frequência Cardíaca (FC) de repouso. Significâncias ($p < 0,05$): indicadas nas Tabelas 19 e 21.

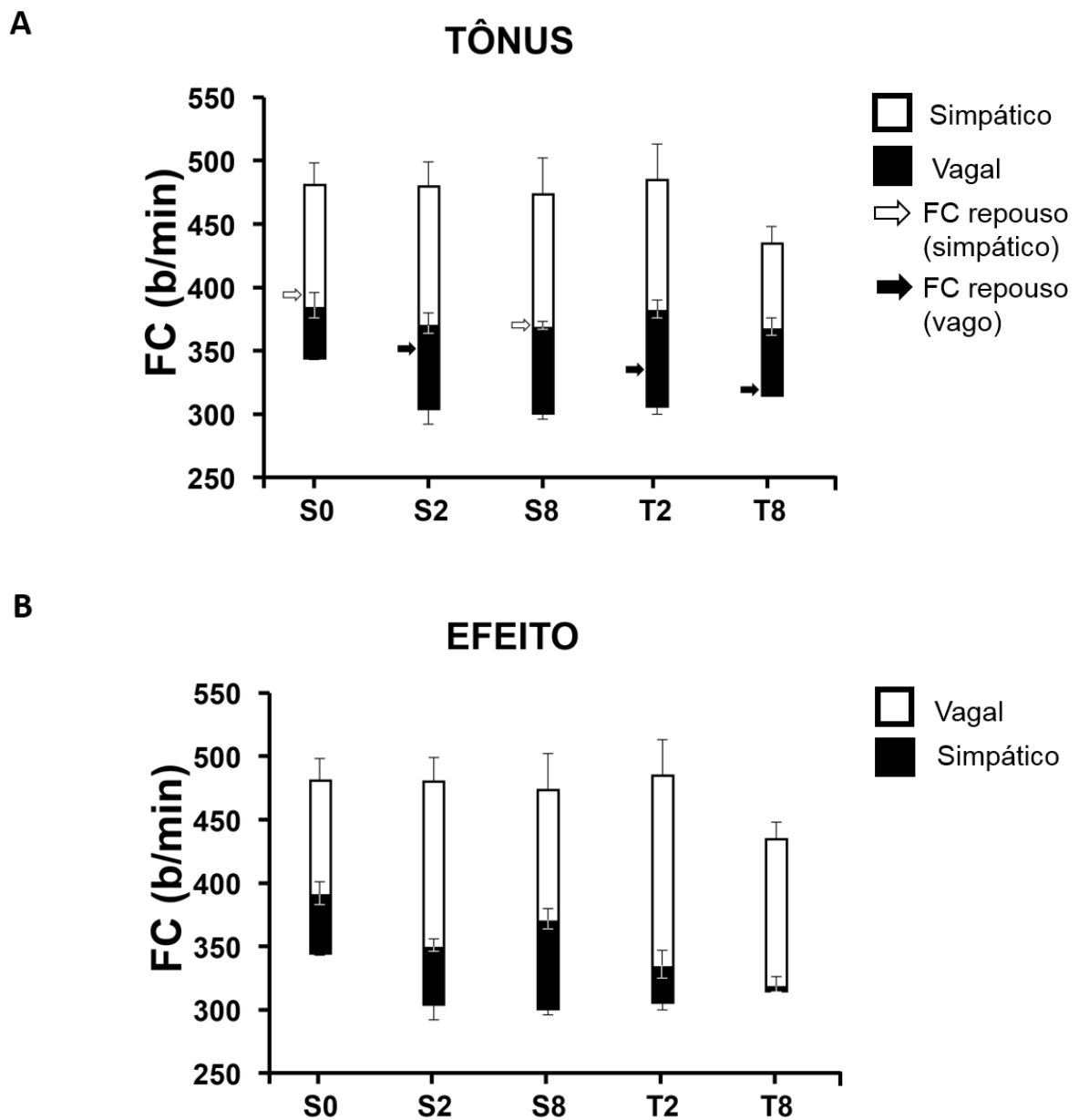


Figura 24 - Comparação dos efeitos sequenciais da hipertensão e do treinamento aeróbio sobre o tônus (painel A) e o efeito (painel B) vagal e simpático de SHR jovens nas semanas 0, 2 e 8 dos protocolos experimentais. As setas no painel A representam a Frequência Cardíaca (FC) de repouso. Significâncias ($p < 0,05$): indicadas nas Tabelas 20 e 22.

4.7 Efeitos do sedentarismo e treinamento sobre a expressão de neurônios pré-ganglionares vagais em SHR e WKY jovens

Para quantificarmos os efeitos da hipertensão e do treinamento sobre a expressão de dos pré-ganglionares vagais nos núcleos DMV e NA, utilizamos a técnica de peroxidase para a colina acetiltransferase (*ChAT*, para a marcação dos neurônios colinérgicos) e a análise desses neurônios pela estereologia. Esta técnica possibilitando a contagem neuronal em cortes sequenciais e a determinação do volume dos corpos celulares nos permitiu uma análise detalhada da morfologia e plasticidade desses neurônios nas semanas 0, 2 e 8 dos protocolos experimentais.

Nas tabelas 23 e 24 e Figuras 25 e 26 estão expostos os dados de quantificação dos neurônios estimados e seus volumes (em μm^3) ao longo do DMV (painéis A, Figuras 25 e 26) em suas subáreas caudal (painéis B, Figuras 25 e 26), intermediária (painéis C, Figura 25 e 26) e rostral (painéis D, Figura 25 e 26), pertencentes aos grupos WKY e SHR submetidos aos protocolos de treinamento ou sedentarismo.

Tabela 23 - Efeitos do sedentarismo (S) e treinamento (T) sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no DMV e suas subáreas caudal, intermediária e rostral em WKY nas semanas experimentais 0, 2 e 8.

	Quantidade de neurônios		Volume (μm^3)	
	S	T	S	T
DMV Caudal				
0	1174±112		3728±172	
2	1913±295*	1580±84	2749±69	2327±201*
8	1681±168	2092±104*	2518±51*	2711±536
DMV Intermediária				
0	5064±229		4086±230	
2	3342±182*	4793±167†	2546±265*	2115±28*
8	4566±238	4700±309	2718±271*	2473±558*
DMV Rostral				
0	2770±385		3645±270	
2	2702±307	2120±192	2938±384	2100±77*†
8	3058±465	4579±700*†	2261±64*	2170±416*
Total				
0	9008±377		3820±132	
2	8885±621	8492±124	2744±203*	2102±110*
8	9423±862	10777±610*	2499±73*	2451±488*

Valores são médias \pm EPM. n= 4 ratos/grupo. Significâncias (P<0,05): * vs semana 0, † vs sedentários.

Tabela 24 - Efeitos do sedentarismo (S) e treinamento (T) sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no DMV e suas subáreas caudal, intermediária e rostral em SHR nas semanas experimentais 0, 2 e 8.

	Quantidade de neurônios		Volume (μm^3)	
	S	T	S	T
DMV Caudal				
0	1626±324		3119±547	
2	1327±225	1444±71	2751±349	2850±246
8	1825±124	2625±434*†	2983±354	2842±168
DMV Intermediária				
0	3033±358‡		3147±480	
2	3206±253	3881±122*‡	2179±179*	2052±55*
8	3417±218‡	2970±40‡	3060±416	2415±213
DMV rostral				
0	3651±282		2441±220‡	
2	3938±233‡	3235±211‡	1780±155‡	1757±26
8	3050±120	2391±101*‡	2107±221	2152±258
Total				
0	8310±305		2902±405‡	
2	8350±383	8550±231	2411±150	2219±79
8	8291±131	7957±562‡	2490±196	2404±220

Valores são médias \pm EPM. n= 4 ratos/grupo. Significâncias (P<0,05): * vs semana 0, † vs sedentários, ‡ vs WKY.

Como observado nas Tabelas 23 e 24 e Figura 25A, no início dos protocolos, o número de neurônios ChAT positivos de todo o DMV nos grupos WKY e SHR eram semelhantes (\approx 8659). Durante os protocolos de treinamento ou sedentarismo esses números praticamente não se alteraram nos SHR-S, SHR-T e nos WKY-S, mas nos WKY-T houve entre as semanas 0 e 8 aumento de 20% na densidade dos neurônios ChAT positivos, um valor 35% mais elevado quando os WKY-T₈ são comparados com os SHR-T₈ (Figura 25A). Este aumento na densidade neuronal no DMV de WKY-T era devido principalmente à alteração observada na parte rostral do núcleo, local em que o treinamento determinou aumento de 65% do número de neurônios ChAT positivos (Tabela 23, Figura 25D).

Observamos também que a hipertensão determinava importante redução no número de neurônios ChAT positivos no DMV intermediário dos SHR-S₀ (-40% quando comparado à densidade neuronal observada na mesma área dos WKY-S₀, Tabelas 23 e 24, Figura 25C), mas que o treinamento determinava, pelo menos na 2ª. semana experimental, aumento significativo de sua densidade. Este aumento não foi, no entanto, suficiente para igualar o número dos neurônios ChAT positivos aos apresentados no DMV intermediário pelos WKY-S e T. O treinamento também

determinou aumento significativo da densidade de neuronal no DMV caudal de SHR-T₈ (vs SHR-S₀ e vs SHR-S₈, Figura 25B).

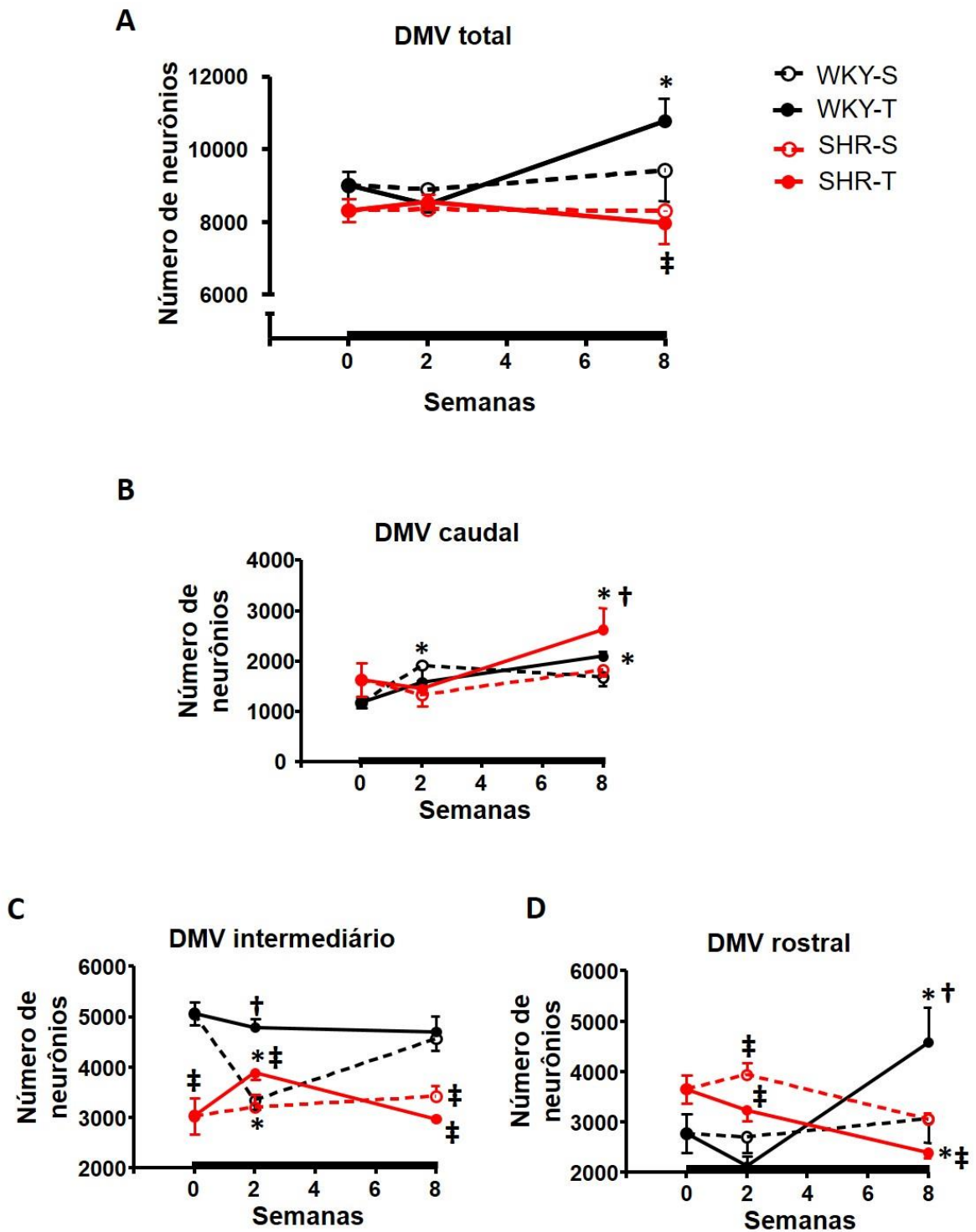


Figura 25 - Quantificação do número de neurônios ChAT positivos no núcleo dorsal motor do vago (DMV, painel A) e nas suas porções caudal (painel B), intermediária (painel C) e rostral (painel D), nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

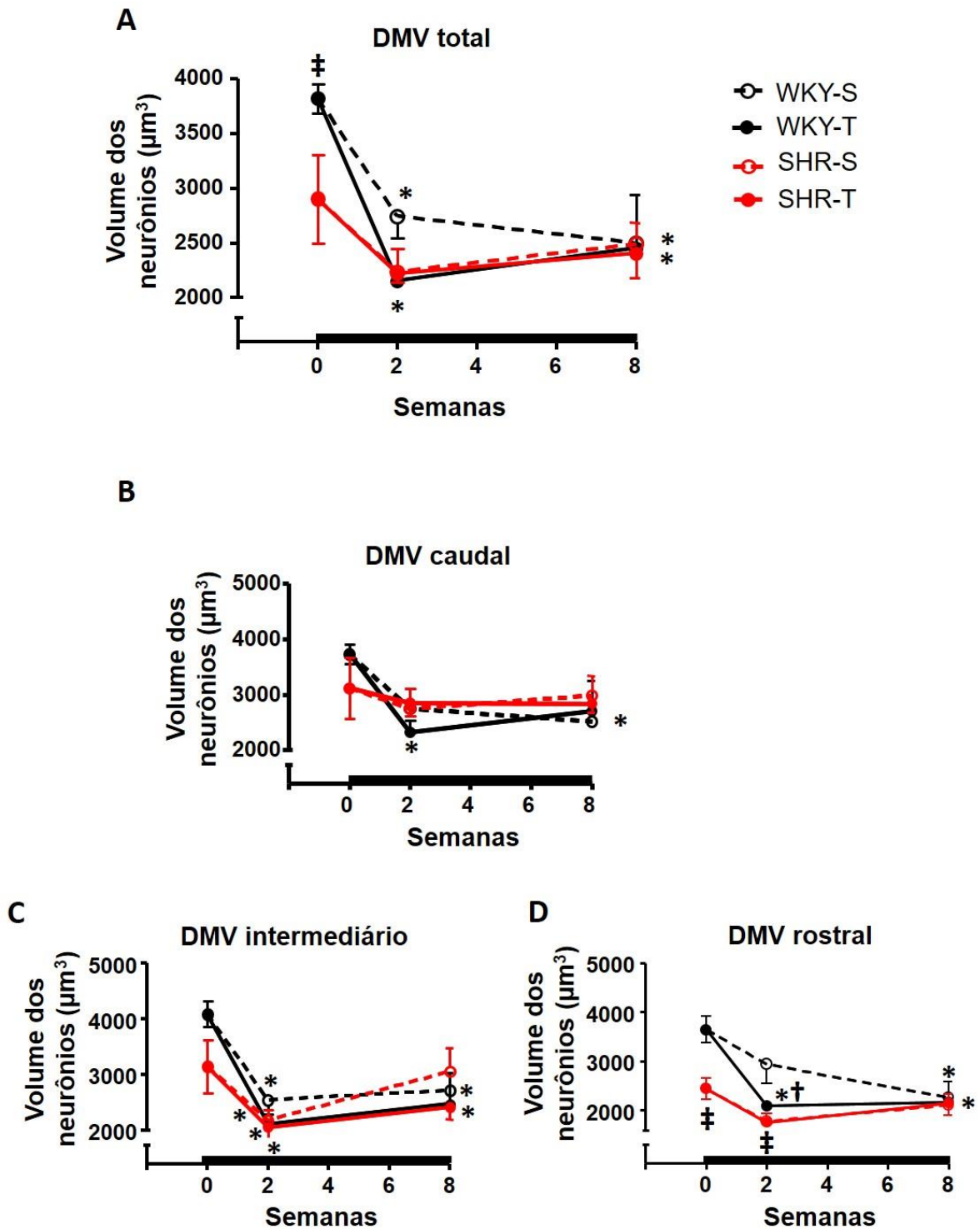


Figura 26 - Quantificação do volume de neurônios (em μm^3) ChAT positivos no núcleo dorsal motor do vago (DMV, painel A) e nas suas porções caudal (painel B), intermediária (painel C) e rostral (painel D), nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

Considerando o DMV como um todo, a análise do volume neuronal neste núcleo mostrou redução significativa de volume nos SHR quando comparados aos WKY (Figura 26A). Esta adaptação à hipertensão era devida à marcante redução do volume celular apresentado pelos neurônios ChAT positivos localizados no DMV rostral (Figura 26D). Observamos ainda que todos os grupos WKY e SHR, sedentários e treinados mostraram importante redução de volume entre as semanas 0 e 2, com manutenção desta alteração até o final dos protocolos experimentais, alteração esta que foi observada em praticamente todas as subáreas do DMV (Tabelas 23 e 24 e Figura 26).

Analisamos também nos grupos SHR e WKY os efeitos do treinamento aeróbio ou sedentarismo sobre os neurônios pré-ganglionares ChAT positivos do NA, outra importante área bulbar que inerva o coração. A Figura 27 ilustra para um rato de cada subgrupo os efeitos da hipertensão, treinamento e sedentarismo sobre a densidade/morfologia de neurônios ChAT positivos no subnúcleo compacto do NA. Dados quantitativos de densidade de neurônios e seus volumes neste e outros subgrupos do NA de WKY e SHR submetidos aos protocolos de treinamento ou sedentarismo são apresentados nas Tabelas 25 e 26 e Figuras 28 e 29.

Nossa primeira observação foi a de que os neurônios do NA (Figura 27) são bem menos numerosos que os do DMV, mas exibem corpos celulares mais volumosos. Como pode ser observado os neurônios do NA de WKY e SHR responderam de forma diferencial ao aumento da idade, hipertensão e treinamento (Tabelas 25 e 26). Na fase pré-hipertensiva (1 mês de idade) os SHR quando comparados aos WKY pareados por idade apresentam no NA o mesmo número total de neurônios, mas menor volume em seus corpos celulares (Figuras 28 e 29). De 1 a 3 meses de idade há nos WKY-S marcante aumento de ambos – densidade neuronal e volume celular, um efeito que foi completamente bloqueado nos hipertensos sedentários. Enquanto a redução do volume do corpo celular induzida pela hipertensão foi observada em praticamente todos os subnúcleos de NA, a redução da densidade neuronal nos SHR-S foi observada apenas nos subnúcleos “retro” ambíguo e “loose” (Tabelas 25 e 26 e Figuras 28 e 29). Nos SHR o treinamento não modificou o número total de neurônios, mas determinou aumento significativo do volume do corpo celular em todos os subnúcleos analisados (Tabela 26, Figuras 29B, C, D e E), de forma que o volume celular médio de todo o NA nos SHR-T encontrava-se aumentado em cerca de 40% quando comparado aos SHR-S no final dos protocolos

(Figura 26A). O treinamento também não modificou a densidade neuronal dos WKY, determinado efeitos de menor intensidade no volume neuronal (Figuras 26A a E).

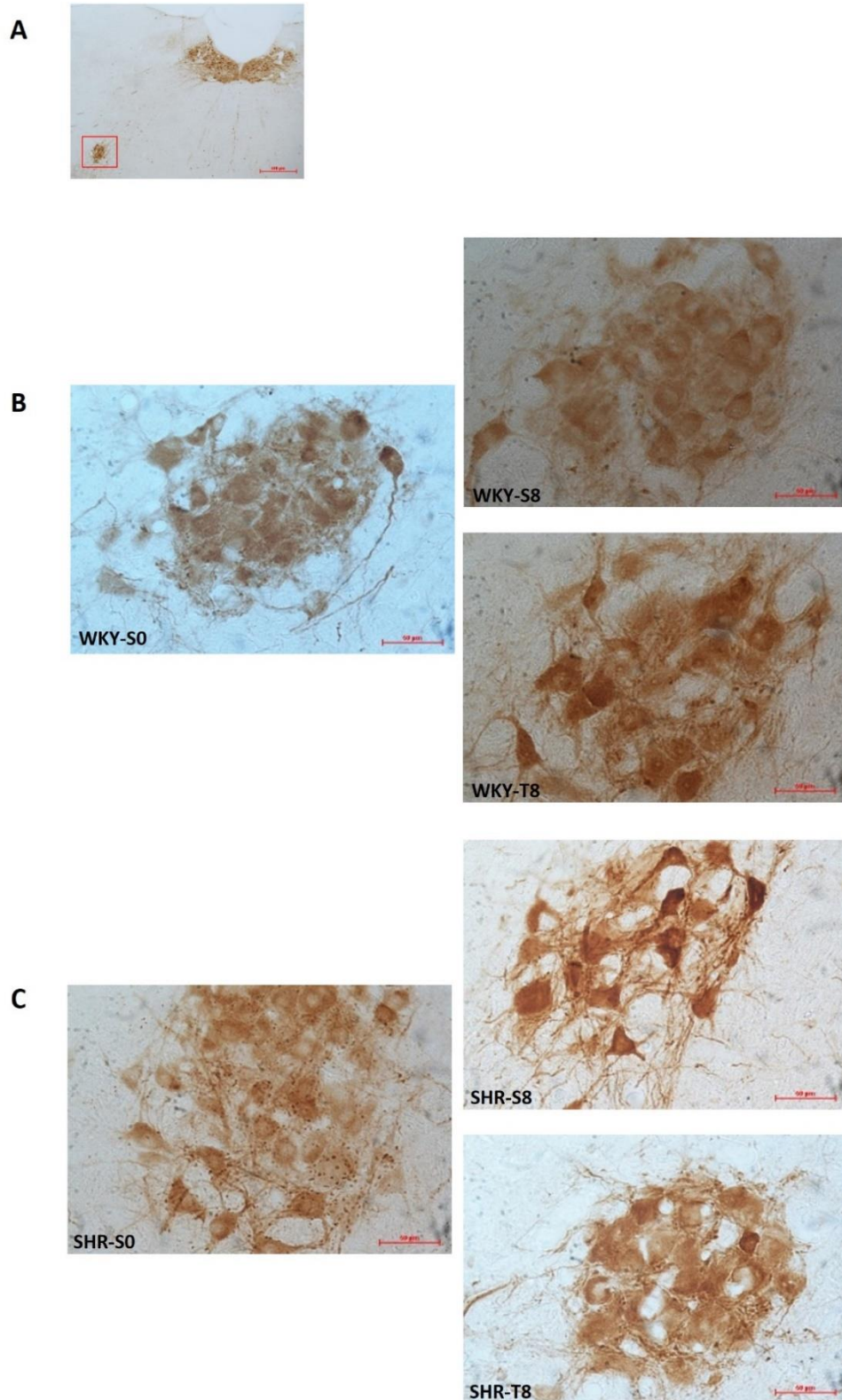


Figura 27 - Fotomicrografias ilustrando a localização de neurônios positivos para ChAT na porção compacta do NA (painel A, aumento de 40X) e comparando nesta mesma área os efeitos do treinamento (T) ou sedentarismo (S) em ratos normotensos (WKY, painel B, aumento de 400 X) e hipertensos (SHR, painel C, aumento de 400 X). S0 e S8 representam os sedentários nas semanas 0 e 8; T8, indica os treinados na semana 8; Escalas em B e C correspondem a 50 µm.

Tabela 25 - Efeitos do treinamento sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios CHAT positivos no NA como um todo e em suas subáreas retro, loose, subcompacta e compacta em WKY submetidos aos protocolos sedentarismo (S) ou treinamento (T).

	Quantidade de neurônios		Volume (μm^3)	
	S	T	S	T
NA Retro				
0	324±94		7694±349	
2	1070±366*	1631±47*†	10020±519*	12271±495*†
8	1514±102*	1247±203*	12705±639*	14054±388*†
NA Loose				
0	627±49		8490±676	
2	1391±139*	1144±40*	12283±877*	13138±274*
8	1373±115*	1222±170*	11637±349*	14236±717*
NA Subcomp				
0	746±200		8662±332	
2	829±71	684±29	11791±919*	13512±410*†
8	670±54	720±200	13125±190*	14080±990*
NA Comp				
0	1037±140		7846±483	
2	1274±138	675±67†	11532±208*	13064±564*†
8	666±61	1377±239†	13805±469*	14337±236*
Total				
0	2735±174		8173±343	
2	4356±94*	4134±98*	11569±615*	12996±250*†
8	4223±120*	4566±326*†	12818±379*	14177±481*†

Valores são médias \pm EPM. n= 4 ratos/grupo. Significâncias (P<0,05): * vs semana 0, † vs sedentários.

Tabela 26 - Efeitos do treinamento sobre a quantidade estimada e volume (em μm^3) de neurônios ChAT positivos no NA como um todo e em suas subáreas retro, loose, subcompacta e compacta em SHR submetidos aos protocolos sedentarismo (S) ou treinamento (T)

	Quantidade de neurônios		Volume (μm^3)	
	S	T	S	T
NA Retro				
0	375±103		6964±213	
2	425±37‡	392±28‡	6770±354‡	9412±252*†‡
8	683±95‡	435±19‡	6217±270‡	8492±492*†‡
NA Loose				
0	950±108		7832±478	
2	933±43‡	758±58‡	7602±627‡	9280±294*†‡
8	792±120‡	946±68	7028±564‡	9953±363*†‡
NA Subcomp				
0	675±175		6095±683‡	
2	650±78	417±32	5822±461‡	8204±172*†‡
8	333±24	495±41	6256±297‡	8392±338*†‡
NA Comp				
0	1192±26		5086±414‡	
2	950±166	1383±93‡	6030±690‡	7190±252*‡
8	1256±51‡	1025±29	6762±553*‡	9891±78*†‡
Total				
0	3192±424		6495±276‡	
2	2958±195‡	2950±124‡	6455±442‡	8522±187*†‡
8	2750±327‡	2900±117‡	6629±323‡	9182±268*†‡

Valores são médias \pm EPM. n= 4 ratos/grupo. Significâncias (P<0,05): * vs semana 0, † vs sedentários, ‡ vs WKY.

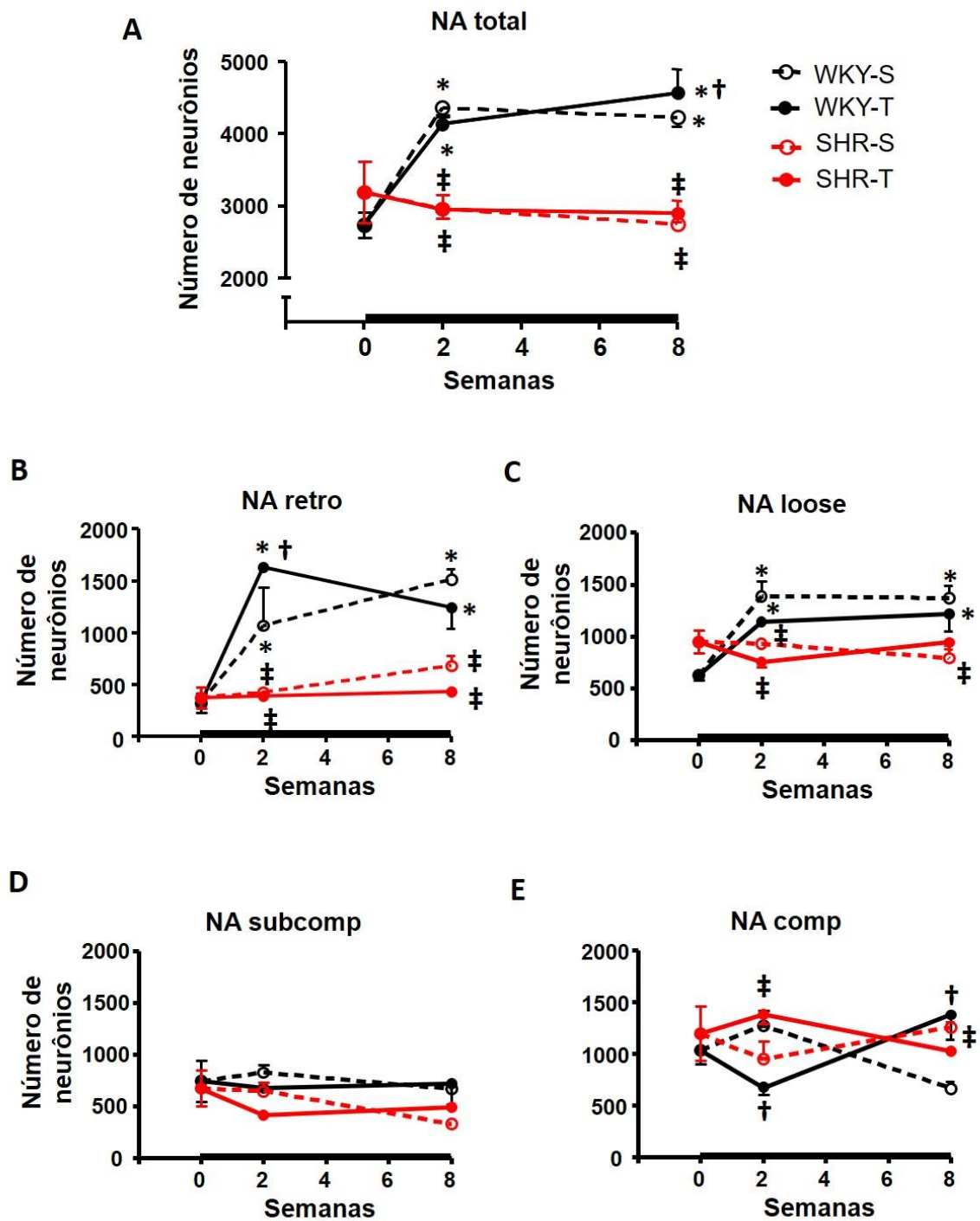


Figura 28 - Quantificação do número total de neurônios ChAT positivos no núcleo ambíguo (NA, painel A) e nos subnúcleos retroambíguo (painel B), NA “loose” (painel C), NA subcompacto (painel D) e NA compacto (painel E), nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY.

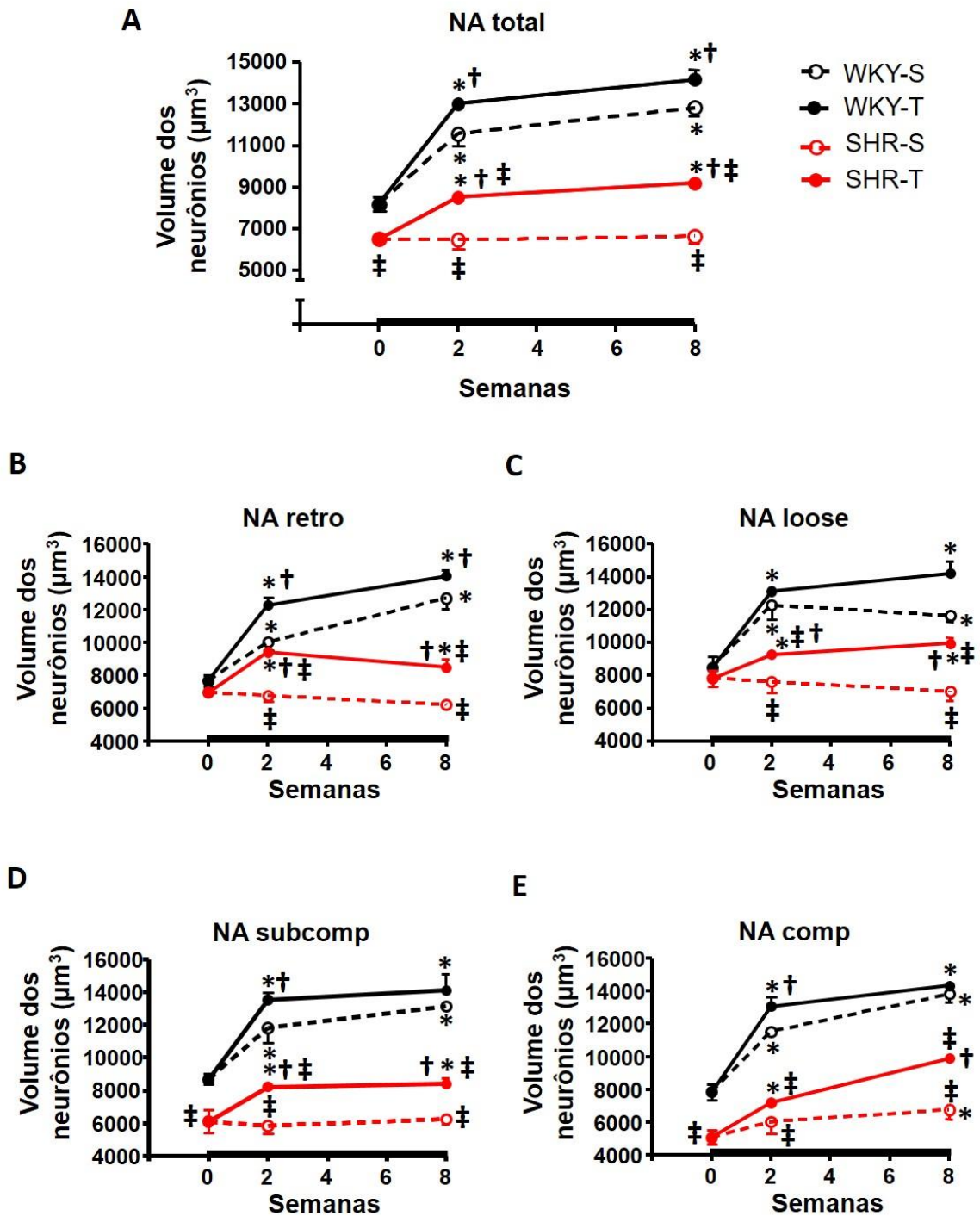


Figura 29 - Quantificação do volume médio de neurônios (em μm^3) ChAT positivos no núcleo ambíguo como um todo (NA, painel A) e nos subnúcleos retroambíguo (painel B), NA "loose" (painel C), NA subcompacto (painel D) e NA compacto (painel E), nas semanas 0, 2 e 8 de WKY e SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S). Barra preta indica o período experimental. Significâncias ($P < 0,05$): * vs semana 0, † vs S, ‡ vs WKY

4.8 Efeitos da desnervação sinoaórtica (SAD) em SHR jovens submetidos aos protocolos de treinamento ou sedentarismo

Para se avaliar se as aferências dos barorreceptores e quimiorreceptores periféricos aos centros de integração da regulação reflexa do sistema cardiovascular participam dos ajustes cardiovasculares induzidos pela hipertensão e pelo treinamento, SHR jovens alocados aos protocolos de T e S, foram submetidos à SAD ou à cirurgia fictícia (SHAM) realizadas na 4^a. semana dos protocolos e analisados ao final dos mesmos ou seja na 8^a. semana de T ou S. Avaliamos nos SHAM-S, SHAM-T, SAD-S e SAD-T os efeitos da SAD associada à hipertensão e ao treinamento sobre o peso dos animais, o desempenho em esteira, os dados hemodinâmicos, o funcionamento do barorreflexo, bem como a variabilidade da PA e FC e seus componentes espectrais.

4.8.1 Peso dos animais

No início dos protocolos (21 dias) os ratos apresentaram peso corporal de aproximadamente 50 g com ganho ponderal similar nos 4 grupos durante o decorrer dos protocolos, atingindo ~265 g na semana 8 (Tabela 27 e Figura 30).

Tabela 27 - Pesos corporais (g) de SHR SHAM e SAD, obtidos ao final dos protocolos de treinamento (T) ou sedentarismo (S) em SAD e SHAM

SHAM		SAD	
S	T	S	T
266±13	260±10	263±8	268±6

Valores são médias ± EPM. n= 4-6/grupo.

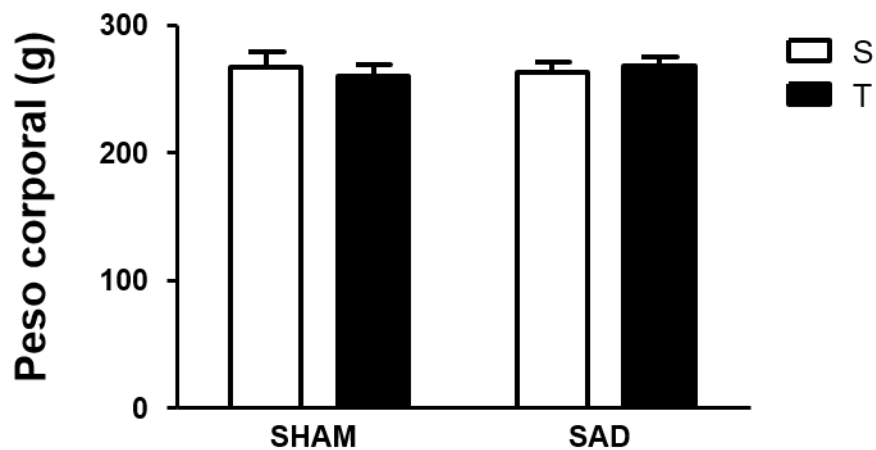


Figura 30 – Comparação dos pesos corporais (g) dos SHR SHAM e SAD, treinados (T) e sedentários (S), obtidos nos dias de canulação arterial ao final das 8 semanas experimentais.

4.8.2 Avaliação do desempenho em esteira

O desempenho em esteira avaliado pelo teste de esforço máximo (em Km/h) de SHR submetidos à SAD ou SHAM e aos protocolos T e S foi obtido nas semanas 0, 4 e 8. Os resultados são apresentados na Tabela 28 e Figura 31.

Tabela 28 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de SHR dos grupos SHAM e SAD ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).

Semanas	SHAM		SAD	
	S	T	S	T
0	1,63±0,07	-	1,63±0,07	-
4	1,50±0,00*	2,22±0,22* +	1,50±0,16	1,85±0,12*+Δ
8	0,83±0,23*	2,70±0,28*+	1,26±0,11*	1,90±0,10*+Δ
% ganho	-49	67	-23	16

Valores são médias ± EPM. n= 4-6 ratos/grupo. Significâncias ($p < 0,05$): * vs S₀, + vs S, Δ vs SHAM

Os SHR-SHAM mantidos sedentários exibiram perda de desempenho já a partir da semana 4 (2º teste máximo, vs S₀), com perda ainda maior em S₈; por outro lado o treinamento neste grupo determinou importante ganho no desempenho desde T₄, atingindo 2,70 ± 0,28 Km/h em T₈, um incremento de 67% quando comparados com S₀. Já os SHR-SAD mantidos sedentários também exibiram perda de desempenho ao longo dos experimentos enquanto que os treinados melhoraram seu desempenho em

apenas 17% (vs S₀), um ganho significativamente menor que o observado no grupo intacto treinado (Tabela 28 e Figura 30).

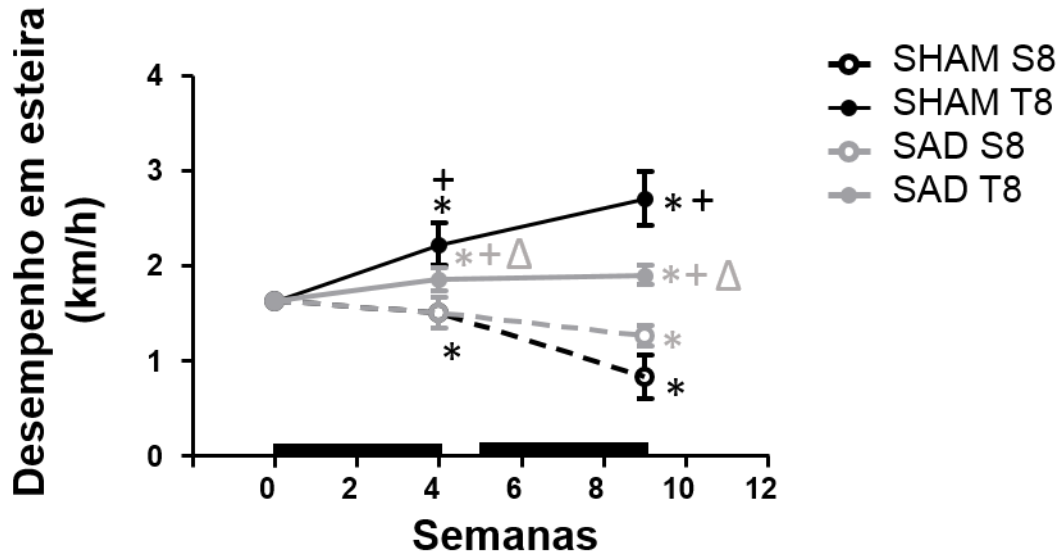


Figura 31 - Evolução temporal no desempenho em esteira (velocidade máxima alcançada nos testes de esforço, em Km/h) de SHR dos grupos SHAM e SAD ao longo dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S). Barras pretas indicam os 2 períodos do treinamento de 4 semanas cada, separados por 1 semana, período em que os ratos recuperaram da cirurgia SAD ou SHAM. Significâncias ($p < 0,05$): * vs S₀, + vs S, Δ vs SHAM.

4.8.3 Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos

Os valores de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) dos SHR submetidos à cirurgia SHAM ou SAD obtidos ao final dos protocolos S e T são apresentados na Tabela 29 e Figuras 32 e 33.

Tabela 29 - Valores da PAM (mmHg) e FC (b/min) de SHR submetidos à SHAM ou SAD ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).

SHAM				SAD			
PAM (mmHg)		FC (b/min)		PAM (mmHg)		FC (b/min)	
S	T	S	T	S	T	S	T
166±3	161±6	362±4	328±6+	164±5	161±6	351±5Δ	363±6+Δ

Valores são médias ± EPM. n= 4-6 ratos/grupo. Significâncias ($p < 0,05$): + vs S, Δ vs SHAM.

Observamos ligeira queda da PAM nos SHR treinados, mas os valores não atingiram níveis de significância, talvez pelo reduzido n . Por outro lado, o treinamento foi acompanhado nos SHR-SHAM de redução significativa da FC de repouso de 362

± 4 para 328 ± 6 b/min, (bradicardia de repouso, uma queda de 9%), a qual foi completamente bloqueada e revertida para taquicardia nos SHR-SAD (de 351 ± 6 para 363 ± 6 b/min, Tabela 29, Figuras 32 e 33).

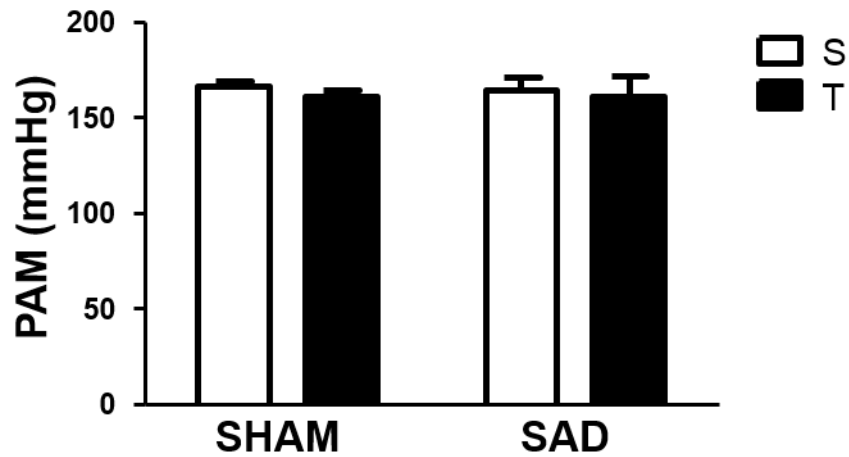


Figura 32 - Comparação dos valores de Pressão arterial média (PAM, em mmHg) de SHR submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ou SAD ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S).

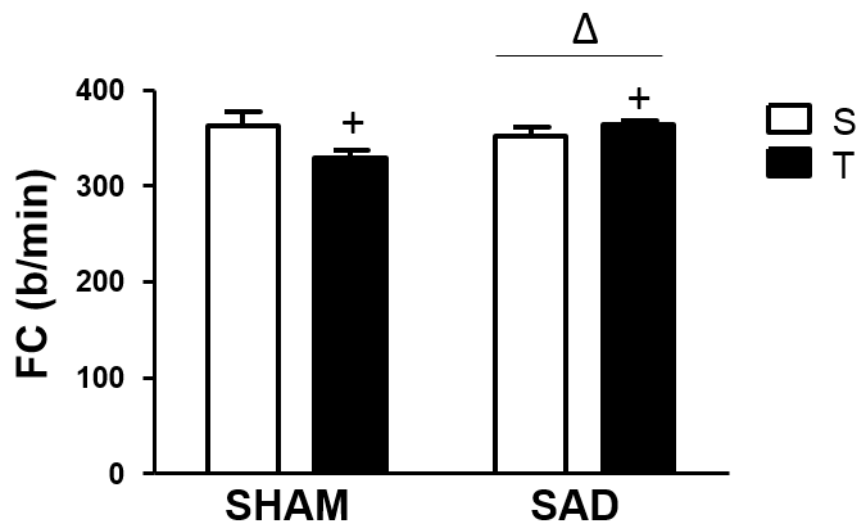


Figura 33 - Comparação dos valores de frequência cardíaca (FC, b/min) de SHR submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ou SAD ao final dos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S). Significâncias ($p < 0,05$): + vs S, Δ vs SHAM.

4.8.4 Avaliação do controle barorreflexo

Nos SHR jovens submetidos à SAD ou SHAM também foram avaliados o controle barorreflexo não só para se comparar com dados anteriores, mas também

para comprovar a eficácia da remoção da aferências periféricas. Nos SHR-SHAM sedentários e treinados que apresentaram respostas bradicárdicas e taquicárdicas proporcionais às alterações pressóricas induzidas pela fenilefrina e nitroprussiato de sódio, foi possível obter-se as barocurvas (Tabela 30 e Figura 34). Nos SHR-SAD sedentários e treinados as respostas pressóricas não foram acompanhadas de respostas proporcionais de bradicardia e/ou taquicardia reflexas, impossibilitando a obtenção das barocurvas. Nestes animais o funcionamento do barorreflexo foi avaliado apenas pelo índice de sensibilidade, obtido pela razão da alteração da FC/alteração da PAM (Tabela 31 e Figura 35).

Tabela 30 - Parâmetros das barocurvas em SHR jovens submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).

Grupos	PAM	FC	Platô Inferior	Intervalo operacional	Ganho	BP50
SHAM S₈	166±6	362±16	315±6	163±4	-2.42±0.47	149±3
SHAM T₈	178±4+	335±4+	286±7+	153±15	-2.71±0.31	156±8

Valores são médias ± EPM. n= 4-6 ratos/grupo. PAM e FC, valores médios da PAM (mmHg) e FC (b/min) basais durante o teste barorreflexo; Platô inferior, indicativo da bradicardia reflexa máxima; Intervalo operacional, intervalo operacional de funcionamento do barorreflexo; Ganho, sensibilidade do reflexo no ponto médio; BP50, PA correspondente a 50% do range. Significâncias (p<0,05): + vs S

Mesmo durante o teste de funcionamento do barorreflexo (administração de doses crescentes de fenilefrina e nitroprussiato de sódio), observamos nos SHR-SHAM treinados a manutenção da bradicardia de repouso, que, no entanto, foi acompanhada de pequena elevação da PAM basal. O treinamento não alterou o intervalo operacional do reflexo mas determinou deslocamento de sua faixa de funcionamento para níveis inferiores de FC, com queda significativa do platô inferior (Tabela 30, Figura 34). Houve também aumento de 12% no ganho do barorreflexo (de $-2,42 \pm 0,47$ para $2,71 \pm 0,31$ b/min/mmHg, $P>0,05$).

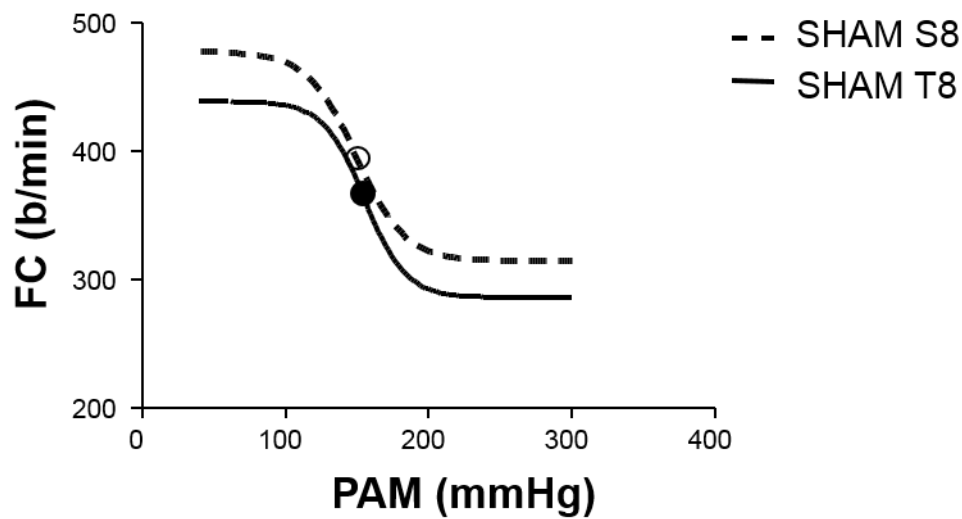


Figura 34 - Comparação dos efeitos do treinamento sobre barocurvas em SHR jovens submetidos a cirurgia fictícia (SHAM) ao final das 8 semanas experimentais. Significâncias ($p < 0,05$) são indicadas na Tabela 26.

Para efeito de comparação do barorreflexo entre os grupos SHAM e SAD, calculamos também o índice de sensibilidade nos SHR-SHAM, cujos valores são apresentados juntamente com os do grupo SHR-SAD na Tabela 31 e Figura 35. A comparação desses índices confirmou a eficácia da SAD nos ratos sedentários e treinados, uma vez que houve intensa redução da sensibilidade barorreflexa (Tabela 31). O efeito do treinamento em aumentar a sensibilidade barorreflexa nos SHR-SHAM também foi demonstrado pelo aumento significativo da sensibilidade barorreflexa (de $1,78 \pm 0,19$ para $-2,87 \pm 0,35$ b/min/mmHg a qual foi completamente bloqueada pela SAD (de $-0,93 \pm 0,17$ para $-0,88 \pm 0,15$ b/min/mmHg, Tabela 31, Figura 35).

Interessante foi a observação de que diferencialmente dos efeitos da SAD em SHR adultos sedentários (nos quais há intensa e similar depressão da bradicardia e taquicardia reflexas: $-0,12 \pm 0,11$ e $-0,26 \pm 0,10$ b/min/mmHg, respectivamente; CAVALLERI et al., 2011), a SAD nos SHR jovens deprimiu relativamente menos o controle reflexo da FC, preservando proporcionalmente mais a taquicardia reflexa do que a bradicardia reflexa ($-0,48 \pm 0,04$ e $-1,38 \pm 0,17$ b/min/mmHg para a bradicardia e taquicardia reflexas, respectivamente, Tabela 32). Estes valores de bradicardia e taquicardia reflexas nos SHR-SAD jovens são 4- e 11-vezes maiores do que os observados nos SHR-SAD adultos. Observamos também que em presença da SAD o

treinamento não alterou nem a bradicardia, nem a taquicardia reflexa (Tabela 32 e Figura 36), indicando a importante participação da informação aferente carregada pelos barorreceptores e quimiorreceptores periféricos na mediação dos ajustes cardiovasculares induzidos pelo treinamento aeróbio.

Tabela 31 - Índice de sensibilidade baroreflexa de SHR jovens submetidos à cirurgia fictícia (SHAM) ou SAD ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).

SHAM		SAD	
S	T	S	T
-1,78±0,19	-2,87±0,35+	-0,93±0,17Δ	-0,88±0,15Δ

Valores são médias±EPM. n=4-6 ratos/grupo. Significâncias (p<0,05): + vs S, Δ vs SHAM.

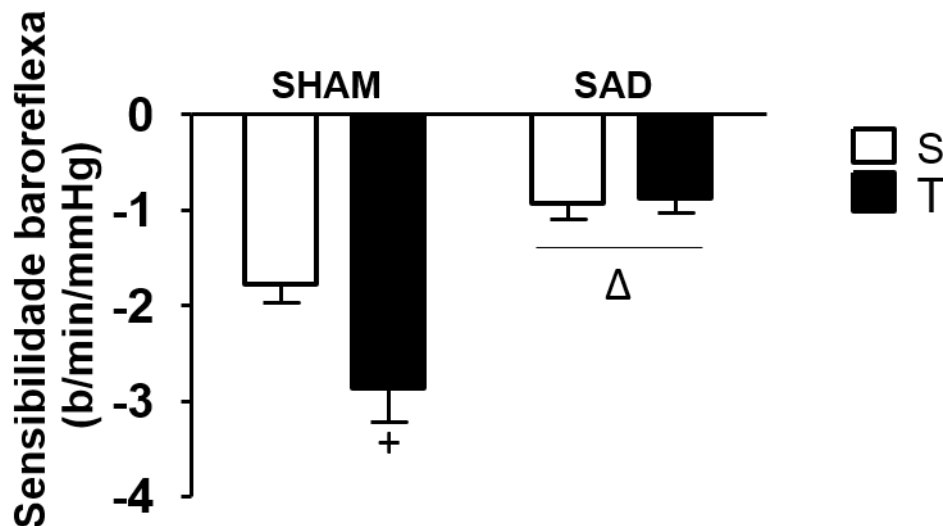


Figura 35 - Comparação do índice de sensibilidade baroreflexa de SHR jovens submetidos à SHAM ou SAD ao final das 8 semanas de sedentarismo (S) ou treinamento (T). n= 4-6 ratos/grupo. Significâncias (p<0,05): + vs S, Δ vs SHAM.

Tabela 32 - Índice de sensibilidade da bradicardia e taquicardia reflexas (em b/min/mmHg) de SHR jovens submetidos à SAD ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).

Bradicardia Reflexa		Taquicardia Reflexa	
S	T	S	T
-0,48±0,04	-0,46±0,09	-1,38±0,17	-1,31±0,12

Valores são médias ± EPM. n= 4-6 ratos/grupo.

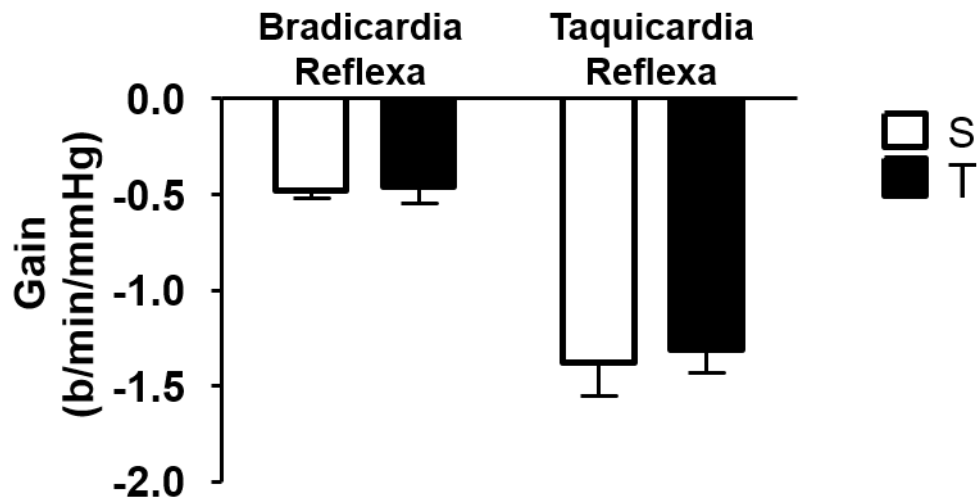


Figura 36 - Comparação dos índices de bradicardia e taquicardia reflexas em de SHR juvenis submetidos a SAD ao final dos protocolos de sedentarismo (S) ou treinamento (T).

4.8.5 Avaliação da variabilidade da PAS e IP e seus componentes espectrais

Além da função baroreflexa dos SHR juvenis, avaliamos também os efeitos da SAD e do treinamento sobre a variabilidade da PAS (Var-PAS) e da frequência cardíaca (Var-IP) e seus componentes espectrais. Estes dados estão apresentados nas Tabelas 33 (Var-PAS) e 34 (Var-IP).

Tabela 33 - Variabilidade da pressão arterial sistólica (Var-PAS) e seus componentes espectrais em SHR juvenis submetidos à SAD ou SHAM e aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S)

Semanas	SHAM		SAD	
	S	T	S	T
Var PAS (mmHg ²)	78,12±6,08	51,21±6,34+	96,43±28,14	34,47±5,10+Δ
LF(mmHg ²)	12,67±1,49	8,39±1,74+	14,49±2,12	7,00±1,18+
HF(mmHg ²)	5,40±1,00	7,00±1,02	5,53±1,47	6,75±1,33
VLF(mmHg ²)	37,22±8,31	22,90±3,18+	24,29±7,07	22,91±8,53
Alpha- LF	0,34±0,03	0,40±0,04	0,32±0,03	0,38±0,04
Alpha- HF	1,25±0,08	1,34±0,17	1,28±0,16	1,28±0,16

Valores são médias ± EPM. n= 4-6 ratos/grupo. Var PAS, variabilidade da pressão arterial sistólica; e seus componentes LF, componente de baixa frequência; HF, componente de alta frequência e VLF, componente de muito baixa frequência. Alpha-LF e Alpha-HF representam a sensibilidade espontânea do barorreflexo calculada para o LF e HF em ms²/mmHg². Significâncias (p<0,05): + vs S, Δ vs SHAM.

Tabela 34 - Variabilidade da frequência cardíaca (Var-IP) e seus componentes espectrais em SHR jovens submetidos à SAD ou SHAM e aos protocolos de treinamento (T) e sedentarismo (S)

Semanas	SHAM		SAD	
	S	T	S	T
Var-IP (ms ²)	20,45±3,01	35,48±6,26+	25,21±7,41	19,75±2,84Δ
LF (nu)	23,54±3,13	16,24±1,36+	20,83±3,52	16,48±1,30
HF (nu)	77,52±3,22	83,13±1,52+	78,22±3,46	82,76±4,52
LF/HF	0,34±0,07	0,20±0,02+	0,27±0,06	0,20±0,02

Valores são médias ± EPM. n= 4-6 ratos/grupo. Valores da Var-IP em ms²; LF, componente de baixa frequência; HF, componente de alta frequência em unidades normalizadas e razão LF/HF. Significâncias (p<0,05): + vs S, Δ vs SHAM

À semelhança do observado anteriormente, nos SHR-SHAM o treinamento reduziu significativamente a variabilidade da PAS (-35%), o simpático vasomotor (-34%) e o componente hormonal na manutenção da PA (-39%). Houve ligeiros aumentos, mas não significativos, do retorno venoso acoplado à respiração (HF-PAS), do Alpha-LF e Alpha-HF (Tabela 33). Como esperado, a SAD aumentou significativamente a Var-PAS (+19%), com pequeno aumento adicional da variabilidade do simpático vasomotor (+14%, P>0,05), sem alterar os demais parâmetros (Tabela 33).

O treinamento nos SHR-SHAM aumentou a Var-IP (Var-FC, em +73%) com redução do simpático cardíaco LF-PI (-31%) e pequeno aumento do controle parassimpático ao coração (+7%), o que determinou redução significativa da razão LF/HF (-41%, Tabela 34). Já a SAD não alterou significativamente esses parâmetros, mas bloqueou completamente os efeitos do treinamento sobre os mesmos (Tabela 34).

Interessante foi a observação de que mesmo não modificando o controle reflexo da circulação o treinamento determinou nos SHR-SAD reduções significativas da Var-PAS e do simpático vasomotor que foram inclusive maiores que as observadas nos SHR-SHAM (-65% e -52%, para Var-PAS e LF-PAS respectivamente, Tabela 33 e Figura 37), sem alterações no HF-PAS, VLF-PAS assim como na Var-FC e seus componentes espectrais. A Figura 37 compara os efeitos do treinamento sobre a Var-PAS nos SHR submetidos à cirurgia fictícia ou SAD indicando nitidamente que mesmo na ausência das aferências periféricas dos baro- e quimiorreceptores o treinamento foi efetivo em reduzir a variabilidade da pressão arterial por reduzir a atividade simpática vasomotora, sugerindo a potencialidade do treinamento em modificar outros mecanismos de controle da pressão arterial. Por outro lado, na ausência dessas

aferências, o treinamento não modificou o controle simpático/parassimpático ao coração, indicando serem os baro- e quimiorreceptores essenciais para o controle autonômico do coração.

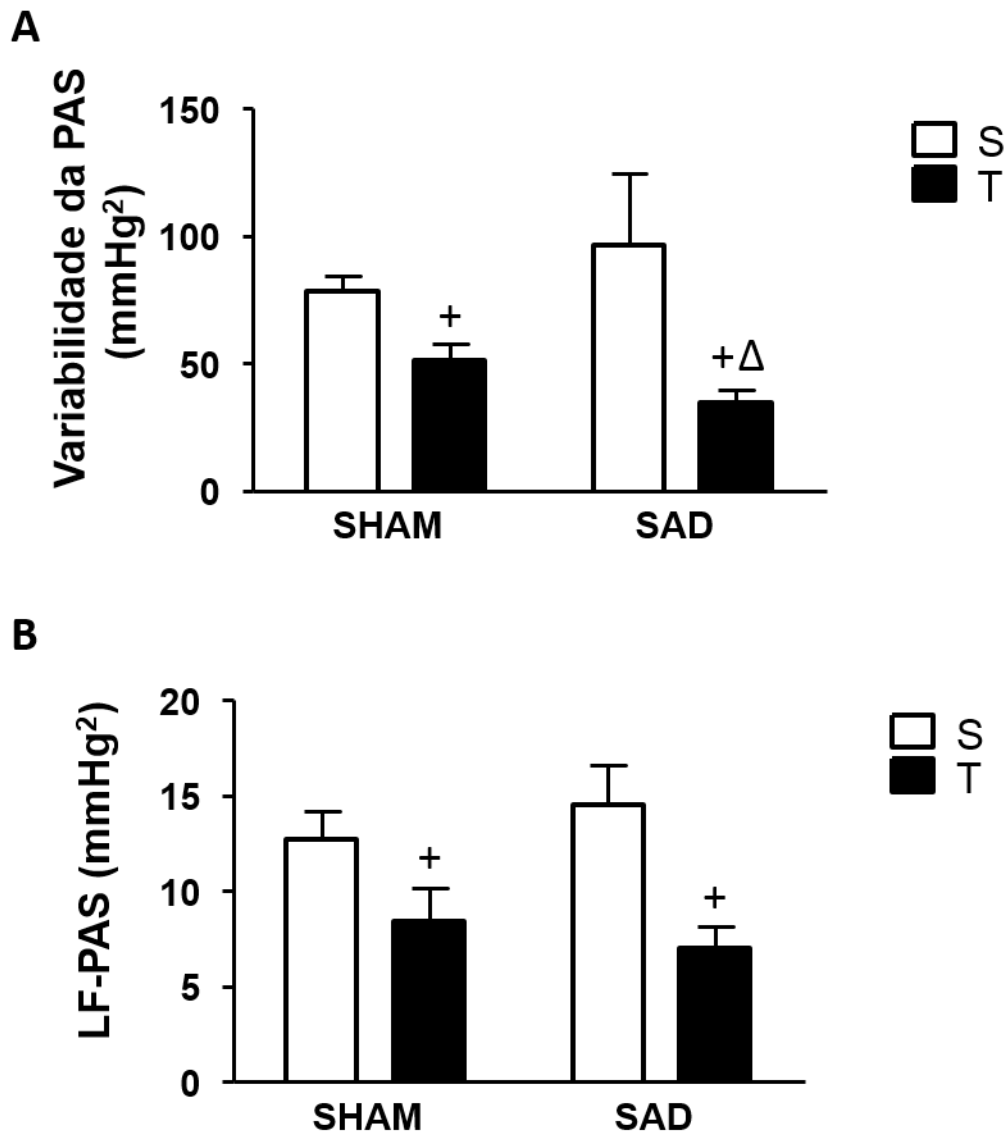


Figura 37 - Comparação dos efeitos da desnervação sinoaórtica (SAD) e do treinamento (T) sobre a variabilidade da pressão arterial sistólica (Var-PAS, em A) e seu componente simpático vasomotor (LF-PAS, em B) em SHR jovens ao final dos protocolos experimentais. SHAM, grupo submetido à cirurgia fictícia; S, ratos submetidos ao sedentarismo. Valores são médias \pm EPM. $n = 4-6$ ratos/grupo. Significâncias ($p < 0,05$): + vs S, Δ vs SHAM.

5 DISCUSSÃO

Várias observações originais foram obtidas no presente trabalho. Observamos que o treinamento aeróbio de baixa a moderada intensidade iniciado na fase em que os SHR ainda não apresentavam a elevação da PA, foi muito efetivo em:

- atrasar em 2 semanas o aparecimento da hipertensão determinada geneticamente, reduzindo marcadamente sua magnitude;
- impedir o intenso e progressivo aumento do simpático vasomotor, reduzindo acentuadamente sua atividade, a qual já se encontrava significativamente elevada na fase pré-hipertensiva;
- manter a variabilidade da PAS bem como as oscilações atribuídas a flutuações hormonais (componente VLF-PAS) nos mesmos patamares apresentados quando do início do treinamento aeróbio, bloqueando os respectivos aumentos hipertensão-dependentes;
- contrapor-se parcialmente à perda do controle vagal induzida nos SHR pelo estabelecimento da hipertensão, facilitando a expressão de neurônios pré-ganglionares do NA;
- aumentar precocemente a atividade vagal (T_1), reduzindo mais tardiamente a atividade simpática (T_8), com redução marcante do balanço simpato-vagal ao coração, normalizando-o durante todo o protocolo de treinamento;
- melhorar substancialmente o controle reflexo da frequência cardíaca, normalizando a sensibilidade dos barorreceptores nos SHR treinados;
- favorecer o efeito vagal sobre o coração mantendo vagotônicos os hipertensos treinados mesmo frente à elevação da PA determinada geneticamente.

Além disto, a análise simultânea da evolução temporal dos parâmetros funcionais e da expressão dos neurônios ChAT positivos em WKY sedentários nos revelou que redução da frequência cardíaca idade-dependente coincide com o aumento da densidade de neurônios nos subnúcleos “loose” e “retroambíguo” do NA e que contrariamente ao estabelecido na literatura (CORBETT et al., 2007), a instalação da hipertensão espontânea não induz redução da densidade dos neurônios pré-ganglionares vagais que se projetam ao coração, mas sim impede o aumento progressivo dos mesmos observado no WKY sedentários pareados por idade.

Nossos dados confirmaram para os ratos jovens observações anteriores do laboratório de que os SHR apresentam melhor desempenho em esteira quando comparado a seus controles normotensos (CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; FÉLIX; MICHELINI, 2007; HIGA-TANIGUCHI et al., 2009; JORDÃO et al., 2011). Este fato pode estar relacionado aos fatores comportamentais ligados à ansiedade e locomoção nos SHR (KULIKOV et al., 1997; RAMOS et al., 1997). Adicionalmente, o treinamento aeróbio de intensidade baixa à moderada determinou ganhos de desempenho semelhantes nos SHR e WKY, comprovando que a mesma intensidade de treino foi aplicada nos dois grupos e que os efeitos observados apenas nos SHR como a redução do controle simpático ao coração e vasos, redução da variabilidade e dos níveis basais da PA, melhora do controle barorreflexo, aumento da modulação vagal ao coração, assim como a volta e a manutenção da frequência cardíaca basal na faixa de frequência controlada pelo parassimpático, foram respostas específicas dos SHR ao treinamento aeróbio.

Quanto ao ganho ponderal durante o desenvolvimento, ele foi semelhante em todos os grupos, normotensos e hipertensos, sedentários e treinados, um achado equivalente ao observado anteriormente no rato (HIGA-TANIGUCHI et al., 2007) e mesmo no homem (CHOBANIAN et al., 2003; PESCATELLO et al., 2004). De fato, tem-se demonstrado que o treinamento pode ou não interferir com o ganho de peso durante o desenvolvimento, dependendo de seus efeitos relativos sobre a massa gorda (geralmente diminuição da gordura) e a massa magra (geralmente aumento da massa muscular).

Confirmamos que o estabelecimento da hipertensão nos SHR é bastante precoce, com elevação significativa da PA entre a 1ª. e 2ª. semanas experimentais, correspondente a 5-6 semanas de idade, mostrando adicionalmente que o treinamento aeróbio, iniciado na fase pré-hipertensiva, não bloqueou a elevação da PA determinada geneticamente, mas atrasou em 2 semanas seu aparecimento além de reduzir marcadamente os níveis pressóricos. Estudos anteriores de nosso laboratório com SHR e WKY adultos em que o treinamento fora iniciado na fase crônica da hipertensão já haviam demonstrado queda parcial da pressão apenas nos SHR treinados (AMARAL et al., 2000, 2001; CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; FÉLIX; MICHELINI, 2007; HIGA-TANIGUCHI et al., 2009; MELO et al., 2003; RUGGERI, 2011). Interessante foi nossa constatação de que a queda da PA induzida pelo treinamento foi mais intensa nos SHR jovens (~13 mmHg) que a observada em SHR adultos (queda

média de 6-8 mmHg; AMARAL et al., 2000, 2001; CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009; FÉLIX; MICHELINI, 2007; HIGA-TANIGUCHI et al., 2009; MELO et al., 2003; RUGGERI, 2011) submetidos a protocolo similar de exercício aeróbio, mostrando que treinamento de mesma intensidade e duração, mas iniciado na fase pré-hipertensiva atrasa a instalação da hipertensão, reduz proporcionalmente mais os níveis pressóricos, além da queda da PA ocorrer precocemente nos SHR treinados. Adicionalmente, a análise da variabilidade da PAS mostrou que ao início dos protocolos e ainda na fase pré-hipertensiva os SHR, quando comparados aos WKY pareados por idade, exibiam igual modulação hormonal (VLF-PAS) mas maior atividade simpática vasomotora (LF-PAS) o que determinava elevada variabilidade da PA. Importante ressaltar que tanto o aumento da PA induzida por idade nos SHR-S, quanto seu menor aumento no SHR-T ocorriam simultaneamente com o aumento gradual da variabilidade da PAS, do LF-PAS e do VLF-PAS nos SHR-S ou com a inalteração dos mesmos nos SHR-T que respondiam apenas com pequena elevação do HF-PAS, indicativa de flutuações do retorno venoso associadas à respiração na 8ª. semana experimental. Portanto, enquanto o aumento da variabilidade da PAS nos SHR sedentários foi devido ao aumento acentuado tanto da modulação simpática vasomotora, quanto da modulação hormonal, as quais aumentaram simultânea e proporcionalmente ao estabelecimento da hipertensão, a reduzida variabilidade da PAS nos SHR-T foi devida ao bloqueio dessas alterações determinado pelo treinamento. De fato, várias revisões da literatura confirmam a hiperatividade simpática periférica e elevação do perfil hormonal (hiperativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona plasmático e tecidual, altos níveis de adrenalina, noradrenalina e vasopressina plasmáticas), tanto na hipertensão humana quanto na hipertensão experimental (CHOBANIAN et al., 2003; ESLER, 2000; PAUL et al., 2006; SILVA JÚNIOR et al., 2015). Também o efeito do treinamento em reduzir a atividade simpática vasomotora e normalizar níveis plasmáticos de hormônios já havia sido confirmado anteriormente em indivíduos e animais hipertensos (CHAAR et al., 2015; CERONI et al., 2009; PESCATELLO et al., 2004; PINHEIRO, 2015).

Deve-se ter presente que o treinamento aeróbio além dos ajustes autonômicos, também causa nos hipertensos importantes adaptações periféricas como por exemplo normalização da elevada razão parede/luz de artérias/arteríolas da musculatura locomotora, miocárdio e diafragma (AMARAL et al., 2000; MELO et al., 2003), determinando redução da resistência periférica, além de se opor à rarefação capilar

aumentando angiogênese capilar e a condutância vascular dos tecidos exercitados (AMARAL et al., 2000; 2001; AMARAL; MICHELINI, 2011). No caso dos SHR jovens, as alterações deletérias da hipertensão ainda não se estabeleceram completamente, facilitando sua reversão pelo treinamento. Portanto, a possível normalização da razão parede/luz de arteríolas nos SHR jovens deve também ter contribuído para maior redução da PA observada nesses animais, quando comparados aos SHR adultos.

A comparação da magnitude relativa dos efeitos do exercício repetitivo sobre a variabilidade da PAS e a atividade simpática vasomotora entre SHR jovens e adultos submetidos a protocolo de treinamento aeróbico similar (dados do presente trabalho vs. nosso trabalho anterior – MASSON et al., 2014) mostrou que enquanto o treinamento iniciado na fase crônica da hipertensão reduzia a variabilidade da PAS e o simpático vasomotor em cerca de 32% e 28%, respectivamente, quando iniciado na fase pré-hipertensiva essas respostas foram proporcionalmente maiores, 52% e 34%, respectivamente. Portanto, o treinamento iniciado na fase de pré-hipertensiva e continuado durante o estabelecimento da hipertensão não só atrasa a instalação e reduz a magnitude da hipertensão, como também reduz acentuadamente a variabilidade da PA, o que é de grande valor prognóstico uma vez que aumentos desta variabilidade induzem a perda de capilarização tecidual e condicionam o aparecimento de lesões de órgãos-alvo (CHOBANIAN et al., 2003) enquanto que sua redução se opõe ao aparecimento dessas lesões. É também importante observar-se que a normalização da variabilidade da PA ocorreu mesmo na persistência de valores ainda elevados de pressão, indicando uma redução acentuada de fatores de risco nos hipertensos.

Observamos também em ambos os grupos entre a 1ª. e a 2ª. semanas experimentais, quando os ratos tinham entre 5 e 6 semanas de idade, redução da FC basal, redução esta que foi potencializada pela instalação da bradicardia de repouso, subsequente ao treinamento. Estas alterações aconteceram simultaneamente a alterações na expressão dos neurônios pré-ganglionares ChAT positivos do NA: houve nos WKY-S aumento idade-dependente da densidade neuronal nos subnúcleos “loose” e “retroambíguo”, efeito este bloqueado nos SHR-S. Por outro lado, o treinamento determinou aumentos significativos no volume do corpo celular em todos os subnúcleos do NA dos SHR-T, mas apenas no “retroambíguo” dos WKY-T que foi, inclusive de menor intensidade que o observado nos SHR-T. Recentemente já havíamos demonstrado que o treinamento aeróbico aumentava a expressão de

neurônios ChAT positivos no NA ratos infartados (ICHIGE et al., 2016). Nossos dados, indicando que o exercício repetitivo também aumenta a expressão de neurônios no NA de ratos hipertensos vem confirmar e expandir nossas observações sobre a potencialidade do treinamento em preservar a inervação parassimpática ao coração. Deve-se ressaltar que o aumento da expressão dos neurônios ChAT positivos, associado à sua maior estimulação (sugerida pelo aumento significativo do efeito vagal observado nos WKY-S₂₋₈ e WKY-T₂₋₈ vs. WKY-S₀, assim como nos SHR-T₂₋₈ vs. WKY-T₂₋₈ e SHR-S₀) explicam tanto a redução idade-dependente da FC basal quanto a instalação da intensa bradicardia de repouso nos SHR-T (-44 b/min), igualando sua frequência àquela apresentada pelos grupos normotensos. Com efeito nos WKY sedentários e treinados, assim como nos SHR treinados, a frequência cardíaca de repouso situava-se na faixa correspondente ao tônus parassimpático, ou seja, os ratos eram vagotônicos (Figuras 23 e 24).

Trabalho recente de Gourine et al. (2016) revisando vários estudos da literatura têm confirmado nossas como também observações funcionais e neuroanatômicas anteriores de que os neurônios pré-autonômicos vagais do NA que se projetam ao coração inervam essencialmente os nodos SA e AV e controlam a frequência cardíaca, sendo intensamente modulados pela sinalização aferente carregada pelos barorreceptores e quimiorreceptores periféricos (CIRIELLO; CALARESU, 1982; GEIS; WURSTER, 1980a,b; MCALLEN; SPYER, 1976; 1978a,b), enquanto que os neurônios pré-autonômicos vagais do DMV que se projetam ao coração são primariamente responsáveis pela modulação parassimpática da excitabilidade e inotropismo ventricular (CIRIELLO; CALARESU, 1980; FORD et al., 1990; NOSAKA et al., 1982). Deve-se ressaltar que embora durante muitos anos a inervação parassimpática em mamíferos tenha sido considerada como restrita aos nodos SA e AV e aos átrios, trabalhos recentes têm confirmado inervação parassimpática a gânglios ventriculares e seu efeito em modular negativamente o inotropismo ventricular (COOTE, 2013; MASTITSKAYA et al., 2012). Coerente com estas observações, nossa análise sobre os efeitos do treinamento aeróbio de baixa a moderada intensidade sobre a expressão dos neurônios ChAT positivos no DMV de ratos normotensos e hipertensos não mostrou alterações significativas, uma vez que o treinamento assim como a estimulação barorreflexa e os bloqueios simpático e vagal alteraram essencialmente a frequência cardíaca, comandada pelos neurônios situados no NA.

Ao analisarmos o tônus autonômico ao coração, observamos que com 4 semanas de idade os SHR exibiam igual tônus parassimpático, mas já apresentavam elevado tônus simpático cardíaco, que era cerca de 2,6 vezes mais elevado que o observado nos WKY pareados por idade. Nesta fase do desenvolvimento os SHR já apresentaram maior razão TS/TV, indicando elevado tônus simpático em detrimento ao controle vagal ao coração, o que resultou em frequência cardíaca basal exageradamente elevada nos SHR-S₀ (479 ± 9 b/min, uma elevação de mais de 100 b/min quando comparado aos WKY-S₀). O elevado tônus simpático ao coração juntamente com o simpático vasomotor aumentado confirmam que os SHR, mesmo na fase pré-hipertensiva, apresentam hipertonia simpática geneticamente determinada. Coerente com esta condição, nossa quantificação do tônus autonômico ao coração pela técnica do duplo bloqueio confirmou a elevada frequência cardíaca de repouso dos SHR jovens, a qual, determinamos, era comandada por atividade simpática aumentada uma vez que a frequência cardíaca basal nesta fase foi superior à frequência intrínseca de marcapasso, situando-se no intervalo de frequência comandado pelo simpático – eram, portanto simpatotônicos. Por outro lado, a frequência cardíaca basal dos WKY pareados por idade era inferior à respectiva frequência intrínseca de marcapasso, situando-se no intervalo de frequências controlado pelo vago, ou seja, eram vagotônicos. Portanto nossas observações com os WKY jovens reproduziram observações anteriores em ratos Wistar adultos (NEGRÃO et al., 1992a), indicando que os ratos normotensos permanecem vagotônicos por grande parte de suas vidas.

Nossos dados foram ainda originais ao demonstrar em ambos os grupos sedentários a sequência temporal de alteração do tônus autonômico ao coração durante o desenvolvimento: houve aumentos tanto do tônus simpático quanto do vagal, mas com aumento proporcionalmente maior do simpático nos SHR-S, condizente com a instalação da hipertensão e a hipertonia simpática apresentada desde a fase pré-hipertensiva. Aumento do tônus simpático ao coração em SHR na fase crônica da hipertensão já havia sido demonstrada (KRIEGER et al., 2001), mas não a sequência temporal com que ela se verifica. Também não há relatos na literatura sobre a alteração sequencial do tônus vagal ao coração durante o desenvolvimento. Nossos dados mostraram que o desenvolvimento nos normotensos sedentários e treinados é acompanhado por aumentos significativos do tônus vagal desde a 2^a. semana experimental determinados pela maior expressão de neurônios pré-ganglionares no

NA, uma resposta também observada nos SHR treinados, cuja expressão dos neurônios ChAT positivos foi também aumentada pelo treinamento. Observamos ainda que o treinamento reduziu marcadamente o tônus simpático dos SHR após 8 semanas de treinamento. Negrão e colabs. (1992a) e Gava e colabs. (1995) já haviam demonstrado redução do tônus simpático em SHR adultos treinados por 13 semanas, mas sem indicar a sequência temporal deste efeito. Estas respostas determinaram na 8ª. semana experimental normalização da razão TS/TV, quando o balanço simpato-vagal ao coração, independente da elevação verificada nos níveis pressóricos, era semelhante ao observado nos grupos WKY.

O teste do duplo bloqueio nos permitiu também avaliar os efeitos da hipertensão e do treinamento sobre a frequência intrínseca de marcapasso. Constatamos que a hipertensão cursa com aumento da frequência intrínseca de marcapasso, presente desde a fase pré-hipertensiva, a qual juntamente ao aumento do tônus simpático, explicariam a elevada frequência cardíaca dos SHR quando comparados aos WKY. Por outro lado, o treinamento não modificou a frequência intrínseca de marcapasso nos SHR, mas determinou sua redução nos WKY treinados. Redução da frequência intrínseca de marcapasso após treinamento tem sido descrita no homem e em animais de experimentação (BOYETT et al., 2013; D'SOUZA et al., 2015; NEGÃO et al., 1992a;). Boyett e colabs. (2013) e D' Souza e colabs. (2015) têm atribuído este efeito à '*downregulation*' da corrente I_f de marcapasso, a qual reduziria a frequência de disparos do nodo sino-atrial. A maioria desses estudos foi realizada em indivíduos (usualmente atletas) e animais normotensos. Nossos dados com os WKY treinados, mostrando pequena redução da frequência intrínseca de marcapasso, mas não alteração do tônus vagal, sugerem que nesta linhagem, diferencialmente dos SHR, a bradicardia de repouso seja devida à alteração da frequência intrínseca de marcapasso. Portanto, mecanismos diferentes explicariam a instalação da bradicardia de repouso em normotensos e hipertensos.

Paralelamente à avaliação do tônus autonômico, analisamos também sua variabilidade da atividade simpática e vagal ao coração, quantificadas pela análise espectral em séries temporais de intervalo de pulso em todos os grupos experimentais. Interessante notar que apesar do elevado tônus simpático no início dos protocolos, sua variabilidade, assim como a do componente parassimpático, não diferiam entre SHR e WKY jovens sedentários. Por outro lado, o sedentarismo aumentou nos SHR a variabilidade simpática enquanto que o treinamento a aboliu, aumentando

adicionalmente a variabilidade do parassimpático. Desta forma, a redução do tônus e da modulação simpática associada ao aumento do tônus e da modulação vagal induzidos pelo treinamento impediram a instalação de efeitos deletérios ao coração, determinando nos hipertensos treinados importante redução da atividade simpática, com aumento do controle vagal ao coração, mesmo na persistência da hipertensão arterial.

A relação entre tônus e atividade (ou variabilidade) simpática e vagal foi também confirmada pelo cálculo dos efeitos simpático e vagal ao coração que indicam respectivamente o quanto o vago atua para reduzir a FC basal de seu valor máximo a seu valor de repouso (FC após atropina menos FC basal) e o quanto o simpático atua para elevar a FC basal de seu valor mínimo ao seu valor de repouso (FC após atenolol menos FC basal). Uma observação original foi a de que frente ao elevado tônus simpático apresentado pelos SHR jovens, há um aumento compensatório da faixa de frequência cardíaca capaz de ser modificada pelo vago (elevado efeito vagal nos SHR-S₀). Esta resposta compensatória não foi observada nos WKY jovens em que tônus e efeito vagal e simpático foram equivalentes na semana 0. Constatamos também não haver na fase crônica da hipertensão (SHR-S₈ vs. SHR-S₀) alteração do efeito vagal o qual era similar ao observado nos WKY pareados por idade, mas aumento significativo do efeito simpático quando comparado aos SHR-S₀ ou aos WKY pareados por idade. Além disto, o treinamento não alterou os efeitos vagal e simpático nos WKY, mas nos SHR aumentou significativamente o efeito vagal e praticamente anulou o efeito simpático na fase crônica da hipertensão. Aumento da atividade vagal e redução da atividade simpática após treinamento crônico já haviam sido relatadas no homem e em animais de experimentação (COOTE; WHITE, 2015; NEGRÃO et al., 1992b). A originalidade de nossos dados foi demonstrarmos a potencialização destas respostas em hipertensos assim como a prontidão com que elas se verificam, ou seja, elevação marcante do efeito vagal com simultânea redução do efeito simpático foram observados com apenas 2 semanas de treinamento, os quais foram ainda mais intensos após as 8 semanas experimentais. Estas alterações no controle autonômico ao coração explicam a instalação da intensa bradicardia de repouso nos SHR treinados.

A potencialização do tônus vagal após treinamento nos SHR foi ainda confirmada pelo teste de funcionamento do barorreflexo. Nossos dados nos SHR treinados, mostrando o deslocamento gradual para baixo do platô inferior (indicativo da

bradicardia reflexa máxima determinada pela ativação vagal) da curva logística que descreve o funcionamento dos barorreceptores, reforça o aumento significativo do tônus vagal induzido pelo treinamento. Este efeito já estava presente entre as semanas 1 e 2 do treinamento, atingindo seu efeito máximo em T₄, o qual era mantido até T₈. O deslocamento do platô inferior foi acompanhado do deslocamento de toda a faixa de funcionamento dos barorreceptores para níveis inferiores de FC, o que também confirma o aumento do tônus vagal, além da redução do elevado tônus simpático observado nos SHR de 1 mês de idade. Estas alterações nos SHR-T foram ainda acompanhadas de aumento da sensibilidade do reflexo barorreceptor cardíaco, a qual se mostrava elevada a partir de T₁-T₂. Em trabalhos recentes de nosso laboratório com SHR adultos (MASSON et al., 2014; 2015) nos quais o treinamento fora iniciado após o estabelecimento da fase crônica da hipertensão já havíamos demonstrado a sequência temporal de alteração do funcionamento do barorreflexo, ressaltando a rapidez com que o reflexo se adapta ao treinamento, ou seja, redução do platô inferior e aumento da sensibilidade barorreflexa entre 1 e 2 semanas. Os dados agora obtidos com o treinamento iniciado ainda na fase pré-hipertensiva, mostrando os mesmos efeitos e a mesma sequência temporal estendem nossas observações confirmando tratar-se de um efeito benéfico e generalizado do treinamento em corrigir os déficits de funcionamento do reflexo barorreceptor cardíaco (redução do ganho e da faixa operacional do reflexo) induzidos pela hipertensão incipiente e/ou mantida. Interessante observar-se que as correções dos déficits funcionais se verificavam mesmo na presença de níveis ainda elevados de pressão (determinados geneticamente) como demonstrado pelo deslocamento da faixa de funcionamento do barorreflexo para níveis mais elevados de PAM (elevação do BP50 nos SHR T₄ e T₈, vs. semana 0). Nos WKY submetidos as mesmas condições experimentais não observamos alterações chamativas do funcionamento do reflexo barorreceptor, mas apenas deslocamento de sua faixa de funcionamento para níveis inferiores de FC, proporcionais à redução idade-dependente da FC de repouso.

Portanto, em nosso estudo, com SHR jovens confirmamos o efeito do treinamento aeróbio em reduzir a atividade simpática ao coração e vasos, mostrando a maior eficiência do destes efeitos quando o treinamento é iniciado na fase pré-hipertensiva. Adicionalmente mostramos ainda a potencialidade do treinamento em aumentar a atividade vagal ao coração, conforme confirmado por vários dados funcionais como o deslocamento do platô inferior do barorreflexo para níveis mais baixos de FC, o intenso

aumento do efeito vagal, a elevada modulação vagal, a normalização da razão TS/TV, além de comprovar o aumento na expressão de neurônios ChAT positivos no NA. Além disto, esta observação vem se somar à nossa observação anterior sobre a potencialidade do treinamento em aumentar em ratos infartados a expressão de neurônios pré-ganglionares parassimpáticos no NA (ICHIGE et al., 2016). Em conjunto estas observações ressaltam a importância do exercício em desencadear efeitos benéficos ao funcionamento cardíaco e que a preservação da atividade parassimpática é essencial para a melhora da função cardíaca em doenças cardiovasculares. La Rovere e colabs. (1998) já haviam descrito que a preservação da atividade vagal cardíaca após infarto do miocárdio tinha importante valor prognóstico. De fato, estudos anteriores têm mostrado que a estimulação direta do vago em ratos (LI et al., 2004), cães (ZHANG et al., 2009) e no homem (DE FERRARI et al., 2011; SCHWARTZ et al., 2008) assim como sua ativação por drogas colinérgicas em ratos (LATARO et al., 2013; SABINO et al., 2013) são benéficas no tratamento da insuficiência cardíaca. Trabalhos anteriores de nosso laboratório já haviam demonstrado a especificidade do treinamento aeróbio em melhorar o controle autonômico modificando a integração central a nível do NTS (BRAGA et al., 2000; DUFLOTH et al., 1997; HIGA et al., 2002; HIGA-TANIGUCHI et al., 2009; MICHELINI; BONAGAMBA, 1988; MICHELINI, 2007a,b; MICHELINI; STERN, 2009). Os dados do presente trabalho vêm mostrar que além de facilitar a integração no NTS, o treinamento aeróbio também modifica a expressão/funcionamento dos neurônios pré-ganglionares parassimpáticos que se projetam ao coração, colocando estes neurônios no circuito bulbar/suprabulbar que modulado pelo treinamento e cujo aumento da expressão/atividade é responsável pelos efeitos benéficos observados nos hipertensos treinados.

Como em trabalhos anteriores havíamos observado que a informação aferente carregada pelos barorreceptores e quimiorreceptores arteriais era um importante mecanismo de modulação das respostas cardiovasculares ao treinamento (CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009), procuramos também identificar se a remoção desses receptores também alterava os efeitos benéficos do treinamento nos SHR jovens. O bloqueio da bradicardia de repouso nos SHR-SAD treinados confirmou a importância desses receptores em mediar os efeitos do treinamento também nos SHR jovens, mas em oposição ao esperado, o treinamento ainda foi eficaz em reduzir a variabilidade da PAS e o componente vasomotor nos ratos desnervados. Deve-se notar que os receptores cardiopulmonares (TAKESHITA et al., 1986), assim como os

mecanorreceptores e quimiorreceptores musculares esqueléticos são mantidos intactos nos animais submetidos à desnervação sinoaórtica e que sua sinalização aferente durante exercício repetitivo pode continuar ativando áreas de integração central de controle autonômico (MICHELINI; STERN, 2009). Estamos no momento analisando os efeitos da desnervação sinoaórtica sobre a expressão de neurônios ChAT positivos no NA, dados que nos auxiliarão na interpretação desses resultados. Por outro lado, houve bloqueio completo do simpático cardíaco nos ratos desnervados, indicando que o balanço simpato-vagal ao coração, assim como a variabilidade de frequência cardíaca estão na dependência direta dos barorreceptores e quimiorreceptores arteriais, uma vez que a remoção dos mesmos bloqueou os efeitos induzidos pelo treinamento e observados no grupo SHR-SHAM.

Outra observação interessante foi a de que a desnervação sinoaórtica determinou nos SHR jovens menor prejuízo do barorreflexo do que o observado nos SHR adultos (CAVALLERI et al., 2011; CERONI et al., 2009). Enquanto os dados de Ceroni e colabs. (2004) e Cavalleri e colabs. (2011) mostravam ausência completa da bradicardia e taquicardia reflexas, nossos resultados indicaram depressão significativa, mas não a completa ausência das respostas reflexas. Além disto, a taquicardia reflexa foi melhor preservada que a bradicardia reflexa. Desconhecemos a explicação para este fenômeno que deverá ser melhor investigado em trabalhos posteriores.

6 CONCLUSÃO

Nossos dados indicam que o treinamento aeróbio de baixa a moderada intensidade, iniciado precocemente ainda na fase pré-hipertensiva, normaliza a sensibilidade barorreflexa, melhora substancialmente o controle autonômico do coração aumentando a expressão/atividade de neurônios pré-ganglionares parassimpáticos localizados no núcleo ambiguo, os quais controlam essencialmente a frequência cardíaca. Estas adaptações aumentam a atividade vagal simultaneamente à redução da elevada atividade simpática determinada geneticamente e observada nos SHR mesmo antes da instalação da hipertensão. Em conjunto estes efeitos determinam a instalação da bradicardia de repouso, com completa normalização da frequência cardíaca nos SHR jovens treinados, além de contribuir para retardar o aparecimento da hipertensão e determinar uma redução de maior magnitude nos níveis tensionais do que aquela observada quando treinamento similar é iniciado após o estabelecimento da fase crônica da hipertensão. Como sabemos, cada mmHg de redução da pressão arterial representa um grande ganho para evitar fatores de risco que levam à morbimortalidade.

Além disso, nossos dados mostraram que as informações aferentes carreadas pelos barorreceptores e quimiorreceptores periféricos constituem importantes fatores em desencadear nos SHR jovens os efeitos benéficos do treinamento aeróbio sobre o controle autonômico da circulação.

REFERÊNCIAS*

- AGARWAL, D.; WELSCH, M. A.; KELLER, J. N.; FRANCIS, J. Chronic exercise modulates RAS components and improves balance between pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain of SHR. **Basic Res. Cardiol.**, v. 106, n. 6, p.1069–1085, 2011.
- AKSELROD, S.; GORDON, D.; UBEL, F. A.; SHANNON, D. C.; BERGER, A. C.; COHEN, R. J. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**. v. 213, n. 4504, p. 220-222, 1981.
- 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, n. 11, p. 1563-1572, 2000.
- AMARAL, S. L.; SILVEIRA, N. P.; ZORN, T. M.; MICHELINI, L. C. Exercise training causes skeletal muscle venular growth and alters hemodynamic responses in spontaneously hypertensive rats. **J. Hypertens.**, v. 19, n. 5, p. 931-940, 2001.
- AMARAL, S. L.; MICHELINI, L. C. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 44, n. 9, p. 814–826, 2011.
- ANDERSEN, B. B.; FABRICIUS, K.; GUNDERSEN, H. J.; JELSING, J.; STARK, A. K. No change in neuron numbers in the dentate nucleus of patients with schizophrenia estimated with a new stereological method--the smooth fractionator. **J. Anat.** v. 205, n. 4, p. 313–321, 2004.
- BOYETT, M. R.; D'SOUZA, A.; ZHANG, H.; MORRIS, G. M.; DOBRZYNSKI, H.; MONFREDI, O. Viewpoint: is the resting bradycardia in athletes the result of remodeling of the sinoatrial node rather than high vagal tone?. **J. Appl. Physiol.** .v. 114, n. 9, p.1351-1355, 2013.
- BRAGA, D. C.; MORI, E.; HIGA, K. T.; MORRIS, M.; MICHELINI, L. C. Central oxytocin modulates exercise-induced tachycardia. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 278, n. 6, p. R1474-R1482, 2000.
- BRUM, P. C.; DA SILVA, G. J.; MOREIRA, E. D.; IDA, F.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, E. M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, v. 36, n. 6, p. 1018-1022, 2000.
- BUTTLER, L. **A disfunção da barreira hematoencefálica em SHR é normalizada pelo treinamento aeróbio de baixa a moderada intensidade.** 2016. 108 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração, Rio de Janeiro, 2002.

CAVALLERI, M. T.; BURGI, K.; CRUZ, J. C.; JORDÃO, M. T.; CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Afferent signaling drives oxytocinergic preautonomic neurons and mediates training-induced plasticity. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 301, n. 4, p. R958-R966, 2011.

CERONI, A. **Influência da Enzima Conversora da Angiotensina no Controle Reflexo da Pressão Arterial em Camundongos Geneticamente Modificados para Enzima Conversora da Angiotensina**. 2004. 110 f. Dissertação (Doutorado em Medicina) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2004.

CERONI, A.; CHAAR L. J.; BOMBEIN, R. L.; MICHELINI, L. C. Chronic absence of baroreceptor inputs prevents training-induced cardiovascular adjustments in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Exp. Physiol.**, v. 94, n. 6, p. 630–640, 2009.

CHAAR, L. J. **Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre o sistema renina-angiotensina em núcleos autonômicos de ratos normotensos e hipertensos**. 2012. 89f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2012.

CHAAR, L. J.; ALVES, T. P.; BATISTA JUNIOR, A. M.; MICHELINI, L. C. Early Training-Induced Reduction of Angiotensinogen in Autonomic Areas-The Main Effect of Exercise on Brain Renin-Angiotensin System in Hypertensive Rats. **PLoS One**. v.10, n. 9, p. e0137395, 2015.

CHEN, Y. L.; LIU, Y. F.; HUANG, C. Y.; LEE, S. D.; CHAN, Y. S.; CHEN, C. C. HARRIS, B.; KUO, C. H. Normalization effect of sports training on blood pressure in hypertensives. **J. Sports Sci.**, v. 28, n. 4, p. 361–367, 2010.

CHOBANIAN, A. V.; BAKRIS, G. L.; BLACK, H. R.; CUSHMAN, W. C.; GREEN, L. A.; IZZO, J. L. JR.; JONES, D. W.; MATERSON, B. J.; OPARIL, S.; WRIGHT, J. T. JR.; ROCCELLA, E. J. Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p. 1206–1252, 2003.

CIRIELLO, J.; CALARESU, F. R. Distribution of vagal cardioinhibitory neurons in the medulla of the cat. **Am. J. Physiol.**, v. 238, n. 1, p. R57-R64, 1980.

CIRIELLO, J.; CALARESU, F. R. Medullary origin of vagal preganglionic axons to the heart of the cat. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 5, n. 1, p. 9-22, 1982.

COOTE, J. H. Myths and realities of the cardiac vagus. **J. Physiol.**, v. 591, n. 17, p. 4073-4085, 2013.

COOTE, J. H.; WHITE, M. J. CrossTalk proposal: bradycardia in the trained athlete is attributable to high vagal tone. **J Physiol**. v. 593, n. 8, p.1745-1747, 2015.

CORBETT, E. K.; MARY, D. A.; MCWILLIAM, P. N.; BATTEN, T. F. Age-related loss of cardiac vagal preganglionin neurons in spontaneously hypertensive rats. **Exp. Physiol**. v. 92, n. 6, p.1005-1013, 2007.

CRUZ, J. C.; CAVALLERI, M. T.; CERONI, A.; MICHELINI, L. C. Peripheral chemoreceptors mediate training-induced plasticity in paraventricular nucleus pre-autonomic oxytocinergic neurons. **Exp Physiol.** v. 98, n. 2, p. 386-396, 2013.

DAMPNEY, R. A. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. **Physiol. Rev.**, v. 74, n. 2, p. 323-364, 1994.

DATASUS. Ministério da Saúde. Disponível em <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php>>. Acesso: 10 jan. 2015.

DE FERRARI, G. M.; CRIJNS, H. J.; BORGGREFE, M.; MILASINOVIC, G.; SMID, J.; ZABEL, M.; GAVAZZI, A.; SANZO, A.; DENNERT, R.; KUSCHYK, J.; RASPOPOVIC, S.; KLEIN, H.; SWEDBERG, K.; SCHWARTZ, P. J. Chronic vagus nerve stimulation: a new and promising therapeutic approach for chronic heart failure. **Eur. Heart J.**, v. 32, n. 7, p. 847-855, 2011.

DI CARLO, S. E.; BISHOP, V. S. Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. **Am. J. Physiol.**, v. 262, n. 1, pt.2, p. H303-H307, 1992.

DUFLOTH, D. L.; MORRIS, M.; MICHELINI, L. C. Modulation of exercise tachycardia by vasopressin in the nucleus tractus solitarius. **Am. J. Physiol.**, v. 273, n. 4, pt. 2, p. R1271-R1282, 1997.

D'SOUZA, A.; SHARMA, S.; BOYETT, M. R. CrossTalk opposing view: bradycardia in the trained athlete is attributable to a downregulation of a pacemaker channel in the sinus node. **J. Physiol.**, v. 593, n. 8, p. 1749-1751, 2015.

ESLER, M. The sympathetic system and hypertension. **Am. J. Hypertens.**, v. 13, n. 6, pt. 2, p. 99S-105S, 2000.

FÉLIX, J. V.; MICHELINI, L. C. Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii. **Hypertension**, v. 50, n. 4, p. 780-785, 2007.

FERREIRA, J. C.; ROLIM, N. P.; BARTHOLOMEU, J. B.; GOBATTO, C. A.; KOKUBUN, E.; BRUM, P. C. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 34, n. 8, p. 760-765, 2007.

FOLKOW, B. Physiological aspects of primary hypertension. **Physiol. Rev.**, v. 62, n. 2, p. 347-504, 1982.

FORD, T. W.; BENNETT, J. A.; KIDD, C.; MCWILLIAM, P. N. Neurones in the dorsal motor vagal nucleus of the cat with non-myelinated axons projecting to the heart and lungs. **Exp. Physiol.**, v. 75, n. 4, p. 459-473, 1990.

GAVA, N. S.; VÉRAS-SILVA, A. S.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, E. M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**. v. 26, n. 6, pt. 2, p.1129-1133, 1995.

GEIS, G. S.; WURSTER, R. D. Cardiac responses during stimulation of the dorsal motor nucleus and nucleus ambiguus in the cat. **Circ. Res.**, v. 46, n. 5, p. 606-611, 1980a.

GEIS, G. S.; WURSTER, R. D. Horseradish peroxidase localization of cardiac vagal preganglionic somata. **Brain Res.**, v. 182, n. 1, p. 19-30, 1980b.

GOURINE, A. V.; MACHHADA, A.; TRAPP, S.; SPYER, K. M. Cardiac vagal preganglionic neurones: An update. **Auton. Neurosci.**, v. 199, p. 24-28, 2016.

GUNDERSEN, H. J.; BAGGER, P.; BENDTSEN, T. F.; EVANS, S. M.; KORBO, L.; MARCUSSEN, N.; MOLLER, A.; NIELSEN, K.; NYENGAARD, J. R.; PAKKENBERG, B.; SPRENSSEN, F. B.; VESTERBY, A.; WEST, M. J. The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. **APIMS**, v. 96, n. 10, p. 857-881, 1988.

GUNDERSEN, H. J.; JENSEN, E. B.; KIEU, K.; NIELSEN, J. The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered. **J. Microsc.**, v. 193, pt. 3, p. 199-211, 1999.

GUNDERSEN, H. J. The smooth fractionator. **J. Microsc.**, v. 207, pt. 3, p. 191-210, 2002.

HANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Mediadores e sistema nervoso autônomo. In: _____ **Farmacologia**. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap. 9, p. 131-143.

HANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Transmissão colinérgica. In: _____ **Farmacologia**. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap. 10, p. 144-167.

HIGA, K. T.; MORI, E.; VIANA, F. F.; MORRIS, M.; MICHELINI, L. C. Baroreflex control of heart rate by oxytocin in the solitarii vagal complex. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 282, n. 2, p. R537-545, 2002.

HIGA-TANIGUCHI, K. T.; SILVA, F. C.; SILVA, H. M.; MICHELINI, L. C.; STERN, J. E. Exercise training-induced remodeling of paraventricular nucleus (nor)adrenergic innervation in normotensive and hypertensive rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 292, n. 4, p. 1717-1727, 2007.

HIGA-TANIGUCHI, K. T.; FÉLIX, J. V.; MICHELINI, L. C. Brainstem oxytocinergic modulation of heart rate control in rats: effects of hypertension and exercise training. **Exp. Physiol.**, v. 94, n. 11, p. 1103-1113, 2009.

HUANG, Y.; CAI, X.; ZHANG, J.; MAI, W.; WANG, S.; HU, Y.; REN, H.; XU, D. Prehypertension and Incidence of ESRD: a systematic review and meta-analysis. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 63, n. 1, p. 76-83, 2014.

ICHIGE, M. H.; SANTOS, C. R.; JORDÃO, C. P.; CERONI, A.; NEGRÃO, C. E.; MICHELINI, L. C. Exercise training preserves vagal preganglionic neurones and restores parasympathetic tonus in heart failure. **J. Physiol.**; 2016 [IN PRESS].

JACKSON, K.; SILVA, H. M.; ZANG, W.; MICHELINI, L. C.; STERN, J. Exercise training differentially affects intrinsic excitability of autonomic and neuroendocrine neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. **J. Neurophysiol.**, v. 94, n. 5, p. 3211-3220, 2005.

JORDÃO, M. T.; LADD, F. V.; COPPI, A. A.; CHOPARD, R. P.; MICHELINI, L. C. Exercise training restores hypertension-induced changes in the elastic tissue of the thoracic aorta. **J. Vasc. Res.**, v. 48, n. 6, p. 513-524, 2011.

KRIEGER, E. M.; DA SILVA, G. J.; NEGRÃO, C. E. Effects of exercise training on baroreflex control of the cardiovascular system. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 940, p. 338-347, 2001.

KRIEGER, E. M. Neurogenic hypertension in rat. **Circ. Res.**, v.15, p. 511-521, 1964.

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

LA ROVERE, M. T.; BIGGER, J. T. JR.; MARCUS, F. I.; MORTARA, A.; SCHWARTZ, P. J. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of totalcardiac mortality after myocardial infarction. **Lancet.** v. 351, n. 9101, p. 478-484, 1998.

LATARO, R. M.; SILVA, C. A.; FAZAN, R. JR.; ROSSI, M. A.; PRADO, C. M.; GODINHO, R. O.; SALGADO, H. C. Increase in parasympathetic tone by pyridostigmine prevents ventricular dysfunction during onset of heart failure. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 305, n. 8, p. 908-916, 2013.

LAUGHLIN, M. H.; SCHRAGE, W. G.; MCALLISTER, R. M.; GARVERICK, H. A.; JONES, A. W. Interaction of gender and exercise training: vasomotor reactivity of porcine skeletal muscle arteries. **J. Appl. Physiol.**, v. 90, n. 1, p. 216-227, 2001.

LI, M.; ZHENG, C.; SATO, T.; KAWADA, T.; SUGIMACHI, M.; SUNAGAWA, K. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. **Circulation.** v. 109, n. 1, p. 120- 124. 2004.

MANCIA, G.; GRASSI, G. Antihypertensive treatment: past, present and future. **J. Hypertens. Suppl.**, v. 16, n. 1, p. S1-S7, 1998.

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, n. 4, p. 1004-1009, 2005.

MASSON, G. S.; COSTA, T. S.; YSHII, L.; FERNANDES, D. C.; SOARES, P. P.; LAURINDO, F. R.; SCAVONE, C.; MICHELINI, L. C. Time-dependent effects of training on cardiovascular control in spontaneously hypertensive rats: role for brain oxidative stress and inflammation and baroreflex sensitivity. **PLoS One.**, v. 9, n. 5, p. e94927, 2014.

MASSON, G. S.; NAIR, A. R.; SILVA SOARES, P. P.; MICHELINI, L. C.; FRANCIS, J. Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 309, n. 7, p. H1115-H1122, 2015.

MASTITSKAYA, S.; MARINA, N.; GOURINE, A.; GILBEY, M. P.; SPYER, K. M.; TESCHEMACHER, A. G.; KASPAROV, S.; TRAPP, S.; ACKLAND, G. L.; GOURINE, A. V. Cardioprotection evoked by remote ischaemic preconditioning is critically dependent on the activity of vagal pre-ganglionic neurones. **Cardiovasc. Res.**, v. 95, n. 4, p. 487-494, 2012.

MCALLEN, R. M.; SPYER, K. M. The location of cardiac vagal preganglionic motoneurons in the medulla of the cat. **J. Physiol.**, v. 258, n. 1, p.187-204, 1976.

MCALLEN, R. M.; SPYER, K. M. The baroreceptor input to cardiac vagal motoneurons. **J. Physiol.**, v. 282, p. 365-374, 1978a.

MCALLEN, R. M.; SPYER, K. M. Two types of vagal preganglionic motoneurons projecting to the heart and lungs. **J. Physiol.**, v. 282, p. 353-364, 1978b.

MCARDLE, W. D.; KATCK, F. I.; KATCH, V. L. Exercício, Envelhecimento e Saúde Cardiovascular. In:_____ **Fundamentos da Fisiologia do Exercício**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 562-595.

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

MICHELINI, L. C.; BONAGAMBA, L. G. Baroreceptor reflex modulation by vasopressin microinjected into the nucleus tractus solitarii of conscious rats. **Hypertension**, v. 11 , n.2, pt. 2, p. 175-179, 1988.

MICHELINI, L. C. Vasopressin in the nucleus tractus solitarius: a modulator of baroreceptor reflex control of heart rate. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 27, n. 4, p. 1017-1032, 1994.

MICHELINI, L. C. Conceitos básicos sobre a pressão arterial. In: MION JR. D, OIGMAN W, NOBRE F. (Ed.). **MAPA – Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial**, 3ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2004, p. 1-9.

MICHELINI, L. C. The NTS and integration of cardiovascular control during exercise in normotensive and hypertensive individuals. **Curr. Hypertens. Rep.**, v. 9, n. 3, p. 214-221, 2007a.

MICHELINI, L. C. Differential effects of vasopressinergic and oxytocinergic preautonomic neurons on circulatory control: Reflex mechanisms and changes during exercise. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol**, v. 34, n. 4, p. 369-376, 2007b.

MICHELINI, L. C. Regulação da pressão arterial: mecanismos neuro-hormonais. In: AIRES, M. M (Ed). **Fisiologia**. 3^a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, p. 571-593.

MICHELINI, L. C. Regulação a longo-prazo da pressão arterial. In: AYRES, M. M (Ed). **Fisiologia**. 3^a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, p. 594-604.

MICHELINI, L. C.; STERN, J. E. Neuronal plasticity in central autonomic networks: Role in cardiovascular control during exercise. **Exp. Physiol.**, v. 94, n. 9, p. 947-960, 2009.

MICHELINI, L. C.; FELIX, J. V. C.; MARTINS, A. S.; SILVA, H. M. V. Opposite effects of hypertension and exercise training on central vasopressinergic system. **FASEB**, v. 20, p. A1414, 2006.

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

MICHELINI, L. C.; O'LEARY, D. S.; RAVEN, P.B.; NÓBREGA, A. C. Neural control of circulation and exercise: a translational approach disclosing interactions between central command, arterial baroreflex, and muscle metaboreflex. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 309, n. 3, p. H381-H392, 2015.

MUELLER, P. J. Physical (in)activity-dependent alterations at the rostral ventrolateral medulla: influence on sympathetic nervous system regulation. **Am. J. Physiol. Regul. Integ. Comp. Physiol.**, v. 298, n. 6, p. R1468–1474, 2010.

MUNTNER, P.; HE, J.; ROCCELLA, E. J.; WHELTON, P. K. The impact of JNC-VI guidelines on treatment recommendations in the US population. **Hypertension**, v. 39, n. 4, p. 897–902, 2002.

NEGRÃO, C. E.; MOREIRA, E. D.; SANTOS, M. C.; FARAH, V. M.; KIEGER, E. M. Vagal function impairment after exercise training. **J. Appl. Physiol.**, v. 72, n. 5, p. 1749-1753, 1992a.

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, 1992b.

NEGRÃO, C. E.; MIDDLEKAUFF, H. R.; GOMES-SANTOS, I. L.; ANTUNES-CORREA, L. M. Effects of exercise training on neurovascular control and skeletal myopathy in systolic heart failure. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 308, n. 8, p. H792-H802, 2015.

NOSAKA, S.; YASUNAGA, K.; TAMAI, S. Vagal cardiac preganglionic neurons: distribution, cell types, and reflex discharges. **Am. J. Physiol.**, v. 243, n. 1, p. R92-R98, 1982.

PAN, Y. X.; GAO, L.; WANG, W. Z.; ZHENG, H.; LIU, D.; PATEL, K. P.; ZUCKER, I. H.; WANG, W. Exercise training prevents arterial baroreflex dysfunction in rats treated with central angiotensin II. **Hypertension**, v. 49, N. 3, p. 519–527, 2007.

PASQUALINI, L.; SCHILLACI, G.; INNOCENTE, S.; PUCCI, G.; COSCIA, F.; SIEPI, D.; LUPATTELLI, G.; CIUFFETTI, G.; MANNARINO, E. Lifestyle intervention improves microvascular reactivity and increases serum adiponectin in overweight hypertensive patients. **Nutr. Met. Cardiovasc. Dis.**, v. 20, n.2, p. 87-92, 2010.

PATEL, K. P.; ZHENG, H. Central neural control of sympathetic nerve activity in heart failure following exercise training. **Am J. Physiol Heart Circ Physiol**. v. 302, n. 3, p. H527-H537, 2012.

PATON, J. F.; RAIZADA, M. K. Neurogenic hypertension. **Exp. Physiol.**, v. 95, n. 5, p. 569-571, 2010.

PAUL, M.; POYAN MEHR, A.; KREUTZ, R. Physiology of local renin-angiotensin systems. **Physiol. Rev.**, v.86, n. 3, p. 747-803, 2006.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates** (Compact 6th ed). London : Academic, 2009.

PESCATELLO, L. S.; FRANKLIN, B. A.; FAGARD, R.; FARQUHAR, W. B.; KELLEY, G. A.; RAY, C. A. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 36, n. 3, p. 533–553, 2004.

PIALOUX, V.; BROWN, A. D.; LEIGH, R.; FRIEDENREICH, C. M.; POULIN, M. J. Effect of cardiorespiratory fitness on vascular regulation and oxidative stress in postmenopausal woman. **Hypertension**. v. 54, n. 5, p. 1014-1020, 2009.

PINHEIRO, R. H. O. **Evolução temporal da pressão arterial e de alterações vasculares em SHR jovens durante o estabelecimento da hipertensão: o efeito do treinamento**. 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

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

RAVEN, P. B.; FADEL, P. J.; OGOH, S. Arterial baroreflex ressting during exercise: a current perspective. **Exp. Physiol.**, v. 91, n. 1, p. 37-49, 2006.

RIBEIRO, A. B. Conceito, Determinação e Classificação da Hipertensão Arterial. In: ____ **Atualização em hipertensão arterial: clínica, diagnóstico e terapêutica**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996, p. 1-7.

RIBEIRO, A. B.; ZANELLA, M. T; KOHLMANN JÚNIOR, O. Tratamento da Hipertensão Arterial. In: RIBEIRO, A. B. **Atualização em hipertensão arterial: clínica, diagnóstico e terapêutica**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996, p. 193-223.

RUGGERI, A. **Evolução temporal dos efeitos do treinamento aeróbio sobre o conteúdo de ácido γ -aminobutírico e glutamato em áreas de controle autonômico de ratos normotensos e hipertensos.** 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SABINO, J. P.; DA SILVA, C. A.; DE MELO, R. F.; FAZAN, R. JR.; SALGADO, H. C. The treatment with pyridostigmine improves the cardiocirculatory function in rats with chronic heart failure. **Auton. Neurosci.**, v. 173, n. 1-2, p. 58-64, 2013.

SCHWARTZ, P. J.; DE FERRARI, G. M.; SANZO, A.; LANDOLINA, M.; RORDORF, R.; RAINERI, C.; CAMPANA, C.; REVERA, M.; AJMONE-MARSAN, N.; TAVAZZI, L.; ODERO, A. Long term vagal stimulation in patients with advanced heart failure. First experience in man. **Eur. J. Heart. Fail.**, v. 10, n. 9, p. 884-891, 2008.

SILVA JÚNIOR, S. D.; ZAMPIERI, T. T.; RUGGERI, A.; CERONI, A.; ARAGÃO, D. S.; FERNANDES, F. B.; CASARINI, D. E.; MICHELINI, L. C. Downregulation of the vascular renin-angiotensin system by aerobic training - focus on the balance between vasoconstrictor and vasodilator axes. **Circ. J.**, v. 79, n. 6, p. 1372-1380, 2015.

SILVA JÚNIOR, S. D. **Efeitos sequenciais do treinamento aeróbio sobre a expressão de Ang I, Ang II e Ang (1-7) em diferentes seguimentos arteriais de ratos SHR e WKY.** 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SOARES, P. P.; DA NÓBREGA, A. C.; USHIZIMA, M. R.; IRIGOYEN, M. C. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **Auton. Neurosci.**, v. 103, n. 1, pt. 2, p. 24-31, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA/ SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO/ SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 95, supl. 1, p. 1-51, 2010.

TAKESHITA, A.; JINGU, S.; IMAIZUMI, T.; KUNIHICO, Y.; KOYANAGI, S.; NAKAMURA, M. Augmented cardiopulmonary baroreflex control of forearm vascular resistance in young athletes. **Circ. Res.**, v. 59, n. 1, p. 43-48, 1986.

TANDRUP, T.; GUNDERSEN, H. J.; JENSEN, E. B. The optical rotator. **J. Microsc.** v. 186, pt. 2, p. 108-120, 1997.

TOWNSEND, R. R. Pathogenesis of drug-resistant hypertension. **Semin Nephrol.**, v. 34, n. 5, p. 506-513, 2014.

VASAN, R.S.; LARSON, M.G; LEIP, E.P.; EVANS, J.C.; O'DONNELL, C.J.; KANNEL, W.B.; LEVY D. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 345, n. 18, p. 1291-1297, 2001.

VEDEL JENSEN, E.B.; GUNDERSEN, H.J.G. The rotator. **Journal of Microscopy**, v. 170, p. 35-44, 1993.

VÉRAS-SILVA, A. S.; MATTOS, K. C.; GAVA, N. S.; BRUM, P. C.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, E. M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol.**, v. 273, n. 6, pt. 2, p. H2627–H2631, 1997.

WATSON, P. A.; REUSCH, J. E.; MCCUNE, S. A.; LEINWAND, L. A.; LUCKEY, S. W.; KONHILAS, J. P.; BROWN, D. A.; CHICCO, A. J.; SPARAGNA, G. C.; LONG, C. S.; MOORE, R. L. Restoration of CREB function is linked to completion and stabilization of adaptative cardiac hypertrophy in response to exercise. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 293, n. 1, p. H246-H259, 2007.

ZAMPIERI, T. T. **Efeitos sequenciais do treinamento físico sobre a plasticidade de vias ocitocinérgicas centrais em ratos normotensos e hipertensos**. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ZHANG, Y.; POPOVIC, Z. B.; BIBEVSKI, S.; FAKHRY, I.; SICA, D. A.; VAN WAGONER, D. R.; MAZGALEV, T. N. Chronic vagus nerve stimulation improves autonomic control and attenuates systemic inflammation and heart failure progression in a canine high-rate pacing model. **Circ. Heart. Fail.**, v. 2, n. 6, p. 692-699, 2009.

ZUCKER, I. H.; SCHULTZ, H. D.; PATEL, K. P.; WANG, W.; GAO, L. Regulation of central angiotensin type 1 receptors and sympathetic outflow in heart failure. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 297, n. 5, p. H1557- H1566, 2009.