



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA DO EXERCÍCIO

**“EFEITO DA MODALIDADE DO TREINAMENTO
AERÓBIO SOBRE A INTERAÇÃO ENTRE O
REFLEXO CARDIOPULMONAR E A RESPOSTA
BARORREFLEXA EM RATOS ESPONTANEAMENTE
HIPERTENSOS”**

ÉLIDA MERCÊS RAIMUNDO FERNANDES

**OURO PRETO
2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLÓGIA DO EXERCÍCIO

“EFEITO DA MODALIDADE DO TREINAMENTO AERÓBIO SOBRE A INTERAÇÃO ENTRE O REFLEXO CARDIOPULMONAR E A RESPOSTA BARORREFLEXA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS”

ÉLIDA MERCÊS RAIMUNDO FERNANDES

ORIENTAÇÃO: PROF(A) Lenice Kappes Becker

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de Concentração: Bioquímica Estrutural e Fisiológica.

F363e

Fernandes, Élide Mercês Raimundo.

Efeito da modalidade do treinamento aeróbio sobre a interação entre o reflexo cardiopulmonar e a resposta barorreflexa em ratos espontaneamente hipertensos [manuscrito] / Élide Mercês Raimundo Fernandes. - 2015.
50f.: il.: color.

Orientadora: Profa. Dra. Lenice Becker.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Fisiologia do Exercício. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Sistema cardiopulmonar. 2. Barorreflexo. 3. Exercícios aeróbicos. I. Becker, Lenice. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

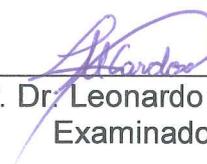
CDU: 612.17:611.24

Ata da Banca Examinadora de Defesa de Tese Intitulada:

“Efeito da modalidade do treinamento aeróbio sobre a interação entre o reflexo cardiopulmonar e a resposta barorreflexa em ratos espontaneamente hipertensos”.

Aos vinte e cinco do mês de Novembro de 2015, às 10:00h, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Tese da aluna **Élida Mercês Raimundo Fernandes**. A defesa da tese iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por *aprovada* a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

Membros da Banca Examinadora:



Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso
Examinador (UFOP)



Prof.ª Dr.ª Maria José Campagnole Santos
Examinadora (UFMG)

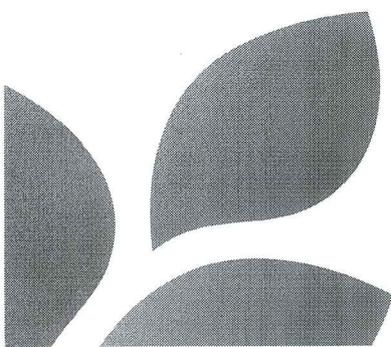


Prof.ª Dr.ª Lenice Kappes Becker
Presidente (UFOP)

DATA DA DEFESA: 25/11/2015

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

NUPEB – ICEB II – sala 49 | Universidade Federal de Ouro Preto
Campus Universitário Morro do Cruzeiro | CEP 35.400-000 – Ouro Preto – MG – Brasil
Tel: 55 (31) 3559 1680 | E-mail: cbiol@nupeb.ufop.br | www.nupeb.ufop.br/cbiol



Apoio Financeiro

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício do Centro Desportivo da UFOP da Universidade de Ouro Preto, com auxílio da CAPES, PROP- UFOP.

DEDICATÓRIA

A Deus por sua infinita bondade e misericórdia em minha vida. Dedico este trabalho a meu pai **José Raimundo** exemplo de força, dignidade e sabedoria. A minha mãe **Lourdes** que com toda simplicidade me ensinou os reais valores da vida (ser humilde e respeitar o próximo). Dedico essa vitória ainda a meu marido **Anísio** que esteve sempre ao meu lado me apoiando para que eu continuasse em busca dos meus sonhos.

Agradecimentos Pessoais

Aos meus pais José Raimundo e Lourdes, pela dedicação, carinho, afeto e exemplo de Fé. Obrigada por estarem sempre presentes em minha vida. Vocês são meu maior incentivo para continuar a lutar.

Ao meu marido Anísio por toda paciência, carinho, apoio pela compreensão dos momentos que estive ausente para a dedicação desta pesquisa. Obrigada por todo amor e exemplo de sabedoria. Sem você tudo seria mais difícil.

A minha tia Elizabete por todo carinho, minha segunda mãe, esteve presente durante todos os momentos dessa conquista. Obrigada pelo incentivo.

Ao tio Paulinho, pela realização das minhas ferramentas de trabalho, sempre com toda boa vontade em ajudar.

Às avós Adésia e Amélia, como é bom estar pertinho de vocês, obrigada pelas orações e força.

Ao primo Adriano (Engonos) o que seria de mim sem você, obrigado pelo apoio de sempre.

A prima Tatiana Marins, obrigada pela ajuda e palavras de fé.

A Elis Maria e ao Pedrinho, obrigada pela torcida.

Tia Valéria, Regina, Preta, Luzia, Nádia, Valdete e ao Jorge Elias Bispo obrigada pelo carinho e incentivo.

Aos primos Pauliane, Francis, Renata, Débora, Alex, Silvio, Carol, Karen e os demais obrigada pela torcida.

As amigas Leonelle, Alessandra, Gleivan, Marlene, Vívian e Natália que mesmo distantes se fazem presentes em minha vida.

À querida 071 em especial (Laís, Camilla Ramos, Amanda, Arthur, Camila Serva, Lidiane, Fernanda Camine, Fernanda Tanaka, Tatiane e Luciana), pela eterna amizade durante todos os esses anos, não vivo sem vocês.

A Tatiane Valente! Como seria se você não estivesse ao meu lado durante esses dois anos? Obrigada por todo apoio. Estou na torcida por você.

Mila obrigada pela ajuda nos registros, sem você aos sábados a tarde nada seria possível.

Nádia, Mariane, Angélica, Jacus e Samara obrigada por todo apoio e convivência.

A família Fernandes pela torcida e paciência.

Agradecimentos acadêmicos

A Universidade Federal de Ouro Preto pela formação acadêmica.

A Universidade Federal de Minas Gerais pela contribuição na pesquisa.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

Aos amigos do LABFE

Ao Jacus, agradeço imensamente pela ajuda, amizade e confiança.

A Nádia pelo apoio durante os momentos de desespero obrigada pela amizade e ao Breno pelo apoio e paciência de sempre.

Mari querida obrigada por tudo sua amizade foi fundamental. Estou na torcida por você.

Angel, obrigada, sua bondade encanta. Jamais me esquecerei do seu apoio.

Samara, obrigada pela torcida.

Priscila Nutri, obrigada pelo carinho.

Aos amigos do CCA em especial (Lílian, Érika, Hugo, Cássia, Antônio, Mácio e Kellinha) muito obrigada.

Ao Profº Marcelo e ao Jair pela gentil concessão dos animais.

Ao laboratório LFEC por todo apoio em especial Renato e Paula.

A todos os laboratórios do NUPEB.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para realização desta etapa, seja com uma simples palavra de apoio, quanto com ensinamentos.

Muito Obrigada a todos!!!!

Agradecimento Especial

A minha orientadora, **Profª Dª Lenice Kappes Becker**, obrigada por todos os ensinamentos transmitidos no decorrer dessa trajetória, pelos conselhos e por nunca desisti de mim. Obrigada por aceitar minha orientação sem nem ao menos me conhecer. Você é exemplo de determinação, competência e dedicação à docência. Agradeço imensamente pela oportunidade.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO

2- OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

2.2 - Estratégias Experimentais

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Modelo animal

3.2 - Preparo de drogas/substâncias utilizadas

3.3 - Delineamento experimental

3.4 – Treinamento Físico

3.4.1 - Adaptação ao meio - natação

3.4.2 - Seleção dos animais corredores e adaptação à esteira

3.4.3 - Avaliação do tempo total de exercício

3.4.4 - Protocolo Progressivo – corrida

3.4.5 - Protocolo Progressivo – natação

3.4.6 - Protocolo Experimental de Treinamento Físico

3.5 - Avaliação Indireta da PA Através de Pletismografia de Cauda

3.6 - Canulação de Veia e Artéria Femoral

3.7 - Cuidados Pós-Operatórios

3.8 - Registros dos Parâmetros Cardiovasculares

3.9 - Ativação do Reflexo Cardiopulmonar através da expansão aguda de volume

3.10 - Ativação do Barorreflexo

3.11 - Protocolos Experimentais

3.12 – Análises Estatísticas

4 - RESULTADOS

4.1 - Efeitos do Treinamento Físico Sobre o Tempo até a Exaustão

4.2 - Medidas de Pressão Arterial Máxima Mensurada pela Pletismografia de cauda

4.3 – Medidas de Pressão Arterial Média

4.4 - Frequência Cardíaca Basal

4.5 – Índice Barorreflexo

4.5 - Resposta do Reflexo Cardiopulmonar

4.6 – Índice Barorreflexo Após a Ativação do Reflexo cardiopulmonar

4.7 - Representação do Índice Barorreflexo Antes e Após a Estimulação do Reflexo Cardiopulmonar

5 - DISCUSSÃO

6- CONCLUSÃO

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Figura ilustrativa do delineamento experimental.

Figura 02: Figura ilustrativa do protocolo de treinamento físico utilizado ao longo das oito semanas de experimento para os grupos esteira e piscina.

Figura 03: Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.

Figura 04: Figura representativa do registro da pressão arterial basal. Em vermelho estão representados os valores de pressão arterial, em azul os valores de pressão arterial média (mmHg) e em verde os valores de frequência cardíaca em (bpm).

Figura 05: Descrição das fórmulas utilizadas para conversão da FC (bpm) em IP (ms) e obtenção do Índice de Sensibilidade do Barorreflexo (ISB).

Figura 06: Escala temporal do protocolo experimental para a avaliação da sensibilidade barorreflexa e do reflexo cardiopulmonar sobre os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC). Os animais foram submetidos à microinjeção endovenosas de fenilefrina (8 μ g/Kg) e de salina (0,9%). Os experimentos iniciaram somente após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por no mínimo 10 min.

Figura 07: Figura representativa do registro da pressão arterial (PA). A primeira curva representa a Índice Barorreflexo após a injeção de fenilefrina, já a segunda curva, representa à primeira resposta do reflexo cardiopulmonar a injeção endovenosa de salina (1,25 mL/Kg).

Figura 08: Tempo até a exaustão dos animais (Sedentário n=9; grupo corrida, n=9; grupo natação, n=7) submetidos a oito semanas de experimento. Os

dados estão expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo teste t Student não pareado. * $p < 0,0008$ em comparação com o grupo sedentário.

Figura 09: Valores de PA Max (mmHg) no grupo sedentário (n=15), corrida (n=18) e natação (n=20). * $p < 0,0005$ em relação ao grupo sedentário. Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way.

Figura 10: Níveis de pressão arterial média (mmHg) após oito semanas de experimentação em ratos sedentários (n=6) e treinados (corrida, n=7; natação, n=7). * $p < 0,02$ em comparação ao sedentário. As análises dos dados foram expressas em média \pm EPM e analisadas pelo ANOVA one way.

Figura 11: Níveis de frequência cardíaca (bpm) após oito semanas de experimento em ratos sedentários (n=6) e treinados (corrida, n=7; natação, n=7). * $p < 0,02$ em comparação ao sedentário. Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way.

Figura 12: Índice Barorreflexo em animais sedentários (n=5) e treinados (corrida, n=6; natação, n=6) após a infusão com fenilefrina. * $p < 0,01$ em comparação ao sedentário. Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way.

Figura 13: Bradicardias decorrentes da ativação do reflexo cardiopulmonar nos grupos corrida (n=6), natação (n=6) e sedentário (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way. (* $p < 0,0002$) em comparação com o grupo sedentário; # em comparação com o grupo corrida.

Figura 14: Índice Barorreflexo em animais treinados (corrida, n=7; natação, n=5) e sedentários (n=7) após a infusão com fenilefrina posterior à sensibilização do reflexo cardiopulmonar. (* $p < 0,01$) em relação ao grupo

sedentário, # em comparação com o grupo natação. Os dados estão expressos como média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one-way ($p < 0,05$).

Figura 15: Bradicardia (ms/mmHg) reflexa, antes e após a estimulação do reflexo Cardiopulmonar. * $p < 0,01$ em comparação ao grupo sedentário, # em comparação ao grupo corrida, † $p < 0,0003$ em comparação com o mesmo grupo (sedentário e corrida antes e depois da estimulação do reflexo cardiopulmonar). ANOVA one Way e test “t” de Student para observações não pareadas em comparação com o mesmo grupo.

LISTA DE ABREVIATURAS

bpm	Batimentos por minuto
TTE	Tempo total de exaustão
DCV	Doenças cardiovasculares
PA	Pressão arterial
PAM	Pressão arterial média
PA Máx	Pressão arterial máxima
PAP	Pressão arterial pulsátil
EPM	Erro padrão da Média
FC	Frequência cardíaca
ISB	Índice de sensibilidade do barorreflexo
mmHg	Milímetro de mercúrio
ms	Milissegundos
µg	Micrograma
SRB	Sensibilidade barorreflexa
SRC	Sensibilidade do reflexo cardiopulmonar
PNA	Peptídeo Natriurético Atrial
SHR	Rato espontaneamente hipertenso
Δ	Delta
ΔIP	Variações de intervalo de pulso
Δ PAM	Variações da PAM

RESUMO:

O controle reflexo da pressão arterial está comprometido na hipertensão arterial (HA), sendo que o treinamento físico é uma medida não farmacológica de restauração da sensibilidade e atividade do reflexo cardiopulmonar e do barorreflexo na HA. O objetivo do nosso estudo foi comparar o efeito do exercício físico realizado através da natação ou corrida sobre a resposta barorreflexa e do reflexo cardiopulmonar de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Ratos SHR foram divididos em três grupos, corrida, natação e sedentário. Os animais foram submetidos a oito semanas de treinamento físico. Ao final do treinamento a artéria e veia femoral foram canuladas para registro da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca (FC). Infusão de fenilefrina (8µg/Kg) foi utilizada para avaliação da resposta barorreflexa antes e depois da ativação do reflexo cardiopulmonar. Para avaliação do reflexo cardiopulmonar foi utilizada a expansão aguda de volume através de solução de salina 0,9% (7,5 mL/kg). Os resultados mostraram que o treinamento físico reduziu a pressão arterial nos grupos natação (142±6,7 mmHg) e corrida (144± 2,2 mmHg) em comparação aos sedentários (163±4,9mmHg). Reduziu ainda a FC dos grupos natação (317,3±28,2bpm) e corrida (313,2±24,8bpm) em comparação com os sedentários (399,4±11,3bpm). A resposta barorreflexa foi maior para os grupos treinados natação (-0,81±0,14 ms/mmHg) e corrida (-0,91±0,07ms/mmHg) em comparação aos sedentários (-0,44±0,03ms/mmHg) e a resposta do reflexo cardiopulmonar foi maior para o grupo treinado na natação (-105,8±8,7bpm) em comparação ao grupo corrida (-68±5,2 bpm) e sedentário (49,8±7,2bpm). Após a ativação do reflexo cardiopulmonar, a resposta barorreflexa foi suprimida apenas no grupo natação (-0,7±0,15) quando comparada ao grupo esteira (-1,5±0,17ms/mmHg) e sedentário (-0,8±0,2 ms/mmHg). Esses dados sugerem que o exercício físico (corrida e natação) promove adaptações autonômicas e redução da PA em ratos SHR. Adicionalmente, o treinamento através da natação aumenta a resposta do reflexo cardiopulmonar sugerindo que o

exercício físico sob imersão seja o tipo de treinamento mais indicado para sensibilizar o reflexo cardiopulmonar e modular a resposta barorreflexa.

Abstract

The reflex control of blood pressure is compromised in hypertension (HBP), and physical training is a non-pharmacological treatment to restore the sensitivity and activity of the cardiopulmonary reflex and baroreflex in HBP. The aim of our study was to evaluate the effect of physical exercise performed by swimming and running on the baroreflex response and cardiopulmonary reflex of spontaneously hypertensive rats (SHR). SHR rats were divided into three groups: running, swimming and sedentary. The animals were submitted to eight weeks of training. By the end of the training time, the femoral artery and vein were cannulated to record the mean arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR). Infusion of phenylephrine (8mg / kg) was used to evaluate the baroreflex response before and after the cardiopulmonary reflex activation. To evaluate the cardiopulmonary reflex was used in acute volume expansion through 0.9% saline solution (7.5 ml / kg). The results showed that physical training has changed the blood pressure in the swimming groups (142 ± 6.7 mmHg) and running (144 ± 2.2 mmHg) compared to sedentary (163 ± 4.9 mmHg). Also reduced the FC swimming groups (317.3 ± 28.2 bpm) and race (313.2 ± 24.8 bpm) compared to sedentary (399.4 ± 11.3 bpm). The baroreflex response was greater for swimming groups (-0.81 ± 0.14 ms / mmHg) and running (-0.91 ± 0.07 ms / mmHg) compared to sedentary (-0.44 ± 0.03 ms / mmHg) and the response of cardiopulmonary reflex was higher for the group trained in swimming (-105.8 ± 8.7 bpm) compared to running group (-68 ± 5.2 bpm) and sedentary (49.8 ± 7.2 bpm). After activating the cardiopulmonary reflex, the baroreflex response was suppressed only in the swimming group (-0.7 ± 0.15) compared to the treadmill (running) group (-1.5 ± 0.17 ms / mmHg) and sedentary (-0.8 ± 0.2 ms / mmHg). These data suggest that physical exercise (running and swimming) promotes autonomic adaptations and reduction on BP in SHR rats. In addition, training through swimming increases the response of cardiopulmonary reflex suggesting that physical exercise in immersion is the most appropriate type of training to increase the sensitivity of the cardiopulmonary reflex and inflect baroreflex response.

1 - INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo moderno e são responsáveis por cerca de 17 milhões de óbitos ocorridos por ano (Neumann *et al.*, 2007). No Brasil, as DCV são responsáveis por aproximadamente 20% das mortes de indivíduos acima de 30 anos, conforme levantamentos feitos pelo ministério da saúde até o ano de 2009 (Mansur e Favarato, 2012).

Múltiplos fatores contribuem para gênese e podem aumentar o risco das doenças cardiovasculares como a obesidade, história familiar pregressa, tabagismo, dislipidemias, sedentarismo, diabetes mellitus e em grande prevalência a hipertensão arterial (Pereira, 2010).

Em relação à hipertensão arterial, diversos estudos populacionais vêm demonstrando que o aumento da pressão arterial contribui com 54% das mortes por acidentes vasculares cerebrais e 47% por doenças cardiovasculares (Guimaraes Filho *et al.*, 2015). Estudos apontam ainda que a mortalidade por doenças cardiovasculares aumenta progressivamente com a elevação da pressão arterial acima de 115/75 mmHg (V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2007).

Dessa maneira, sabendo que a hipertensão arterial é um fator determinante para o aparecimento de doenças de diversos sistemas, como o sistema cardiovascular, torna-se necessário entender a fisiopatologia da hipertensão arterial e os mecanismos envolvidos no controle da pressão arterial. Neste sentido, é fundamental entender que o controle fisiológico da pressão arterial ocorre por mecanismos de retroalimentação que operam a curto e a longo prazo. Os mecanismos de controle a curto prazo são realizados pelo barorreflexo, reflexo cardiopulmonar e pelo quimiorreflexo (Campagnole-Santos *et al.*, 2001).

Em resposta a hipertensão arterial, os mecanismos reguladores da pressão arterial a curto prazo, sofrem alterações. Estas alterações incluem modificações nos barorreceptores arteriais e atenuação na sensibilidade

dos reflexos operantes (Campagnole-Santos *et. al.*, 2001). Em virtude disso, indivíduos hipertensos apresentam riscos aumentados de sofrerem mortes súbitas e lesões em órgãos alvo (Lanfranchi e Somers, 2002).

Para entender o papel das vias neurogênicas na hipertensão arterial, (Cowley, Liard e Guyton, 1973) avaliaram o papel dos barorreceptores sino aórticos na regulação da pressão arterial. Estudos com cães permitiram verificar que após a retirada do sistema de barorreceptores, a característica mais proeminente verificada foi o aumento da variabilidade da pressão sanguínea arterial e não da pressão sanguínea basal, demonstrando que o principal papel atribuído aos barorreceptores é manter a pressão do sangue dentro de uma faixa de normalidade ao longo do dia.

O barorreflexo arterial, cujos receptores são encontrados no arco aórtico e no seio carotídeo, tem sua função associada ao tamponamento das variações da pressão arterial e isto confere uma maior proteção cardiovascular. Este mecanorreceptor responde a variações tanto de aumento quanto de redução de pressão arterial. Este fenômeno ocorre em virtude de sensores que são ativados pela deformação dos vasos da aorta e carótida em função da onda exercida pela pressão arterial (Lanfranchi e Somers, 2002).

O controle reflexo da circulação depende não somente dos barorreceptores arteriais, mas ainda de receptores de estiramento localizados na região cardiopulmonar (Uggere *et al.*, 2000). Diante disso, outros mecanorreceptores de grande importância no controle do sistema cardiovascular são os receptores cardiopulmonares cujos reflexos envolvidos são conhecidos como reflexos cardiopulmonares. As terminações nervosas destes receptores estão localizadas nos grandes vasos pulmonares e nas câmaras cardíacas. A ativação destes reflexos pode ser realizada através de alterações da pressão de enchimento cardíaco ou por agentes químicos. Esta ativação resulta em aumento da atividade eferente parassimpática e redução da atividade eferente

simpática permitindo uma maior resposta bradicárdica e hipotensora cardíaca (Uggere *et al.*, 2000).

As interações entre atividade do barorreflexo arterial e do reflexo cardiopulmonar ainda não são bem compreendidas. Postula-se que a estimulação do reflexo cardiopulmonar exerça influências sobre atividade tônica do barorreflexo arterial (Kashihara *et al.*, 2003).

A modulação do barorreflexo pelo reflexo cardiopulmonar pode ser observada no controle na atividade simpática e ainda no controle sistêmico da pressão arterial (Hainsworth, 1991). Estudos em humanos mostram que o estímulo do reflexo cardiopulmonar tanto através do tilt teste ou ainda por infusão com solução salina diminui o ganho simpático do barorreflexo (Charkoudian *et al.*, 2004). A estimulação do reflexo cardiopulmonar através da imersão em cães acordados mostrou inibição direta da atividade simpática do barorreflexo arterial e não houve recolocamento do barorreflexo (Miki *et al.*, 2009).

Fernandes *et al.*, 2010 avaliaram a participação do sistema nervoso autonômico no reflexo cardiopulmonar após remoção seletiva de barorreceptores aórticos e carotídeos em ratos machos Wistar. Este estudo demonstrou que a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar foi comprometida após a desnervação indicando uma relação importante entre os dois reflexos.

Em 2003 Kashihara mostraram em coelhos que a ativação do reflexo cardiopulmonar após a estimulação venosa por fenilbiguanida reduz o ganho do barorreflexo arterial. Diante desses resultados torna-se evidente a relação entre o reflexo cardiopulmonar e o barorreflexo.

Estudos clínicos e experimentais mostraram associação do exercício físico com a melhora da resposta dos reflexos cardiovasculares. Observa-se que durante a prática regular de exercícios, alguns ajustes hemodinâmicos e no sistema cardiovascular são necessários para atender as demandas metabólicas do músculo esquelético em movimento (Monteiro *et al.*, 2004).

Estudos realizados por Silva *et al.*, (1997) avaliaram o efeito do exercício agudo e crônico sobre o barorreflexo arterial e cardiopulmonar em ratos SHR. Neste estudo evidenciou-se que o exercício crônico aumentou a bradicardia barorreflexa nos animais SHR, atenuou significativamente a hipertensão arterial, e melhorou a resposta dos receptores aferentes cardiopulmonares.

Dentre os diferentes tipos de treinamento físico o realizado no ambiente aquático inicialmente era empregado apenas no processo de reabilitação. Além de ser utilizado como forma de treinamento a natação apresenta algumas vantagens como o aproveitamento das propriedades físicas da água possibilitando o melhor rendimento e oferecendo menores riscos, como menor probabilidade de quedas e por ser de baixo impacto (Alves, *et al.*, 2004).

Durante a imersão em água, o eixo cardio renal é estimulado pelo aumento do retorno venoso em resposta ao aumento do volume de sangue, tal esforço induz respostas neuro-hormonais e inibe a atividade simpática (Pechter *et al.*, 2003).

Estudos recentes realizados em nosso laboratório sugeriram que o ambiente em que o exercício físico é realizado pode influenciar na sensibilidade do reflexo cardiopulmonar. Totou *et al.*; 2015 utilizando animais SHR, mostraram através de estimulação química com fenilbiguanida e mecânica através da expansão venosa de volume, que o exercício físico através da natação induz aumento maior da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar em comparação com os ratos treinados através da corrida.

Outro estudo realizando expansão gástrica de volume mostrou o mesmo comportamento, ou seja, o grupo treinado através da natação apresentou maior diurese após a expansão aguda de volume em comparação com o grupo treinado através da corrida, indicando melhor correção de volume, possivelmente por uma maior atividade do eixo - cardio renal estimulado pelo reflexo cardiopulmonar (Fabri *et al.*, 2010). Com exceção de alguns estudos, poucos são os dados abordando a

relação entre o controle barorreflexo e o reflexo cardiopulmonar e ainda as alterações dependentes do tipo de exercício, corrida ou natação, sobre estes reflexos.

Considerando que o tipo de treinamento físico realizado (natação ou corrida) pode influenciar as respostas reflexas e considerando a relação entre o barorreflexo e o reflexo cardiopulmonar, a hipótese do presente estudo foi avaliar se a natação pode ser um melhor meio de treinamento quando comparado com a corrida sobre as respostas do reflexo cardiopulmonar e barorreflexo em ratos SHR.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

Avaliar o efeito do exercício físico realizado através da natação ou corrida sobre o índice Barorreflexo e o reflexo cardiopulmonar e a interação entre eles em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

2.2 - Estratégias Experimentais

- Avaliar os níveis de PA Máx, PAM E FC em ratos SHR, submetidos ao exercício físico através da natação ou corrida;
- Analisar o índice Barorreflexo em ratos SHR submetidos ao exercício físico através da natação ou corrida;
- Estudar a resposta do reflexo cardiopulmonar nos ratos SHR submetidos ao treinamento físico através da natação ou corrida;
- Verificar as interações existentes entre o reflexo cardiopulmonar e o Índice Barorreflexo em ratos SHR submetidos aos diferentes tipos de exercício.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Modelo Animal

Neste trabalho foram utilizados ratos machos espontaneamente hipertensos (SHR), com aproximadamente, 200 e 350 g e idade entre 16 a 20 semanas, gentilmente cedidos pelo Laboratório de Nutrição Experimental, da Escola de Nutrição, da Universidade Federal de Ouro Preto. Os animais foram alojados em caixas plásticas coletivas, com dimensões de 41x34x17 cm sendo no máximo 4 animais por caixa. Os animais foram mantidos no Centro de Ciências Animal da Universidade Federal de Ouro Preto (CCA, UFOP) durante o período de treinamento físico e posteriormente, foram encaminhados ao laboratório de Fisiologia do Exercício para serem submetidos aos procedimentos cirúrgicos a serem descritos a seguir. Ressalta-se que após o primeiro procedimento cirúrgico todos os animais foram acondicionados em gaiolas individuais. Em ambos os locais os animais foram mantidos em temperatura controlada (22 – 24 °C) ciclo claro e escuro de 12 horas e água e ração *ad libitum*.

Todos os procedimentos foram devidamente aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP nº 2014/04.

3.2 - Preparo de drogas/substâncias utilizadas

PBS (Salina tamponada com fosfato; pH 7,2): solução preparada pela diluição de 8,18g de NaCl P.A., 1,98 g de Na₂HPO₄.7H₂O P.A. e 0,26 g de NaH₂PO₄.H₂O P.A. (Synth, LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP) em água ultra-purificada (Milli – Q®) q.s.p. 1000,0 mL. Ajustou-se o pH da solução para 7,2 com soluções de HCl ou NaOH, conforme necessidade. A solução foi esterilizada por autoclave 120°C e 1,0 Kg/cm² durante 15 minutos.

Solução salina: Solução Salina 0,9%: A solução veículo foi preparada dissolvendo-se 9,0 g de NaCl em q.s.p. 1000,0 mL de água destilada.

Anestésico (Solução de Ketamina + Xilazina): solução preparada pela adição de 2 mL de Xilazina 2% (p/v) a 10 mL de Ketamina 10% (p/v). Utilizada da seguinte forma: dose (ketamina: 80mg/kg; Xilazina: 7mg/kg) e volume (0,1mL/100g de animal; i.m.).

Antibiótico (Pentabiótico Veterinário): Utilizado na prevenção de infecções, na seguinte dose: 48.000UI de penicilina, 20mg de estreptomicina e 20mg de diidroestreptomicina/kg. Volume injetado: 0,1 mL/100g de animal;

Fenilefrina: Agente vasopressor utilizado como agonista α adrenérgico. A solução estoque foi preparada utilizando-se 0,05g cloridrato de fenilefrina (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA) diluída em 1,0 mL salina e armazenada a - 20°C até o momento do uso. A solução de uso era preparada minutos antes de iniciar os experimentos, 5,0 μ L da solução em estoque eram dissolvidas em 50 mL de salina.

3.3 - Delineamento Experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais: Natação, corrida e sedentário.

Todos os grupos em treinamento seguiram o protocolo por um período de oito semanas, sendo a primeira semana referente à adaptação. A cada 15 dias eram aferidos a pressão arterial pela pletismografia de cauda e os animais dos três grupos foram submetidos ao protocolo de exaustão antes e após as oito semanas de treinamento físico. Após as oito semanas os animais foram utilizados para experimentação e registro da PAM e FC.

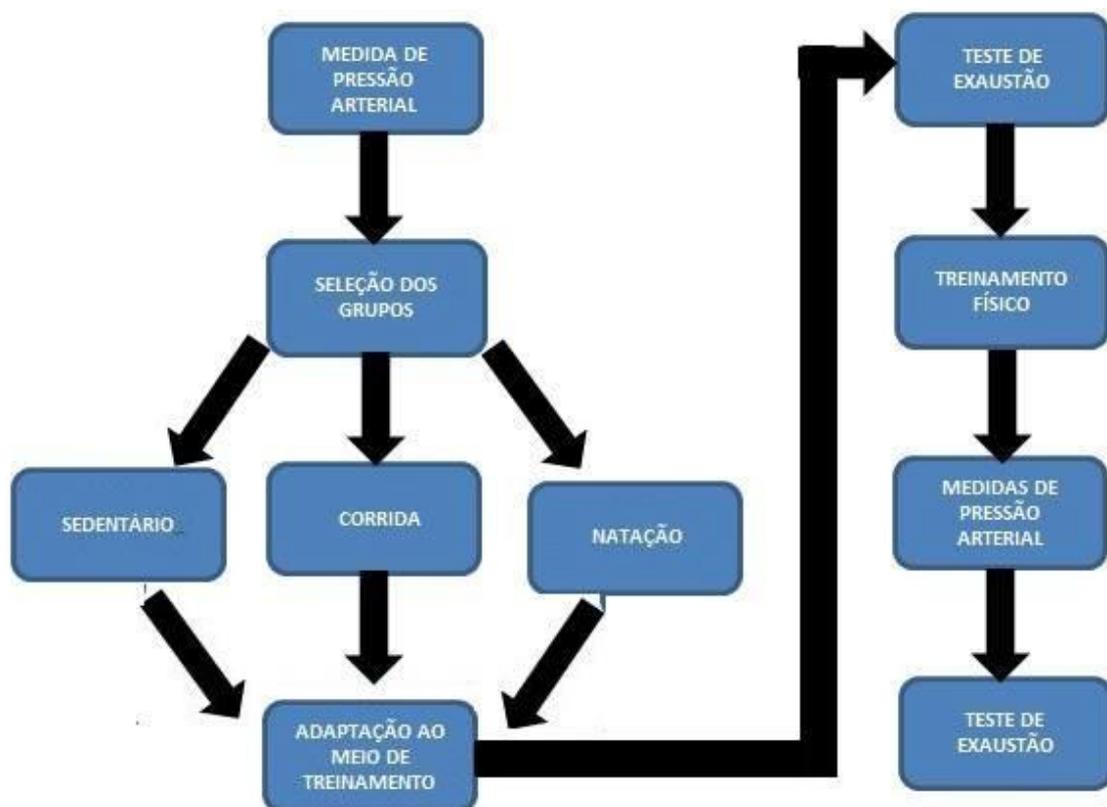


Figura 01: Figura ilustrativa do delineamento experimental

3.4 – Treinamentos Físico

3.4.1 - Adaptação ao Meio - Natação

Os ratos foram adaptados ao meio líquido e as adaptações destes animais ocorreram em cinco dias ininterruptos em piscina coletivas medindo 60 cm de diâmetro por 120 cm de profundidade e com temperatura a $30 \pm 2^\circ \text{C}$ medida através de um termostato. Esta adaptação foi realizada com o propósito de reduzir o estresse do animal e com isso permitir melhores adaptações fisiológicas decorrentes ao longo do treinamento. Os ratos foram imersos em água sendo que o primeiro dia a adaptação durou 15 minutos e ao final do 5º dia atingiu 60 minutos. No 8º dia os animais foram submetidos ao teste de carga máxima (Gobatto *et al.*, 2001).

3.4.2 - Seleção dos animais Corredores e Adaptação à Esteira

Para o protocolo em esteira rolante houve a necessidade de realização da seleção prévia dos animais corredores. Esta seleção ocorreu em um período de um dia, nos quais foram escolhidos os ratos que apresentaram resposta positiva ao estímulo de corrida. Após a seleção, os animais foram submetidos a uma adaptação ao exercício em esteira rolante, com velocidades de (14 m/min) e durações de 15 a 60 minutos progressivos. Esta adaptação assim como para os animais da natação teve o objetivo de reduzir o estresse animal (Pilis *et al.*, 1993; Almeida *et al.*, 2012).

3.4.3 - Avaliação do Tempo Total de Exercício

Uma das características frequentes na fisiologia do exercício é determinar a máxima intensidade do esforço para verificação de respostas fisiológicas ao exercício. Dentre as possibilidades de variáveis que podem ser utilizadas destaca-se em nosso estudo o tempo total de exercício.

O protocolo experimental foi realizado em condições ambientais próximas as verificadas durante todo o período de adaptação, tanto para o grupo natação quanto para a esteira. Em ambos os grupos foi realizado um teste de exaustão tanto no início quanto no fim das oito semanas de treinamento. Este procedimento foi realizado até a exaustão voluntária dos animais.

A seguir estão escritas as intensidades impostas aos animais com seus respectivos critérios de exaustão adotados.

3.4.4 - Protocolo Progressivo - Corrida

Para o protocolo realizado em esteira rolante, o aumento da intensidade foi executado por modificações na velocidade imposta para a corrida, sendo a velocidade inicial 8m/min acrescida em 2 m/min a cada 3 minutos. O critério de exaustão adotado na avaliação realizada foi a não manutenção da corrida (Almeida *et al.*, 2012).

3.4.5 - Protocolo Progressivo - Natação

Os ratos foram submetidos individualmente ao protocolo progressivo, suportando cargas equivalentes a 2% do peso corporal a cada 3 minutos, atadas a cauda. Os animais realizaram esforços em tanque profundo e o critério de exaustão adotado foi a não manutenção do nado em superfície e a perda dos movimentos simétricos responsáveis pelo deslocamento do rato ao fundo do tanque (Gobatto *et al.*, 2001).

3.4.6 - Protocolo Experimental de Treinamento Físico

Os animais do grupo corrida mantiveram a velocidade de execução inicial a 18m/min da primeira a terceira semana correndo por 60 minutos. A partir da 4ª semana a velocidade atingiu 20 m/min, 5ª e 6ª semana 22 m/min,

7ª e 8ª semana 24m/min, sendo que o tempo de treinamento foi sempre mantido há 60 minutos (Pilis *et al.*, 1993; Almeida *et al.*, 2012).

Para os animais da natação, durante a 1ª, 2ª e 3ª semana os animais nadaram sem incremento de peso na cauda por 60 minutos. A partir da 4ª semana de treinamento, foi adicionado 2% do peso corporal a cauda, na 5ª e 6ª semana 4% do peso corporal e na 7ª e 8ª semana 6% do peso corporais sendo todos estes treinamentos realizados 60 minutos por dia durante cinco dias da semana (Gobatto *et al.*, 2001).

Os animais sedentários passaram pelo mesmo tipo de estresse do ambiente e foram adaptados para que pudesse ser realizado, o teste de carga máxima, tanto para o grupo sedentário referente aos animais da natação quanto para o grupo sedentário referente aos animais corredores.

Protocolo de Treinamento Físico:

	Grupo	Corrida Velocidade (m/min)	Natação Incremento de peso na cauda (%)
Semana	1ª	18	-
	2ª	18	-
	3ª	18	-
	4ª	20	2
	5ª	22	4
	6ª	22	4
	7ª	24	6
	8ª	24	6

Figura 02: Figura ilustrativa do protocolo de treinamento físico utilizado ao longo das oito semanas de experimento para os grupos esteira e piscina.

3.5 - Avaliação Indireta da PA Através de Pletismografia de Cauda

Com o objetivo de avaliar o comportamento da PA ao longo do período de treinamento foi realizada a avaliação da PA pela pletismografia de cauda. Iniciou-se a medida após a primeira semana de adaptação, tanto para os animais sedentários quanto para os treinados. A medida de PA foi realizada a cada 15 dias totalizando quatro aferições durante todo o período de experimento.



Figura 03: Foto ilustrativa do sistema de pletismografia de cauda utilizado.

3.6 - Canulação de Veia e Artéria Femoral

Um dia antes dos experimentos, realizou-se a canulação da artéria e veia femoral. As cânulas utilizadas foram confeccionadas com tubos de polietileno PE-10 (Clay Adams, Parsipanny, NJ, EUA) com comprimento de 1,5 a 2 cm soldado com outro tubo de polietileno PE-50, com comprimento médio de 15 cm. Previamente à canulação, as cânulas de polietileno foram preenchidas com solução fisiológica e em seguida tiveram uma das suas extremidades livres obstruídas com um pino metálico.

Após ser realizada a anestesia com uma mistura de Ketamina e xilazina (50 e 10 mg/kg, i.p., respectivamente), uma das cânulas foi dirigida para a aorta abdominal, tendo-se como acesso a artéria femoral, ao passo que a extremidade da outra cânula foi acomodada no interior da veia femoral. Uma vez implantadas, as cânulas foram posicionadas no subcutâneo do animal e exteriorizadas na região Inter escapular e então, fixadas por meio de fios de sutura. A cânula posicionada na artéria foi utilizada para registro da pressão arterial (PA) e da frequência cardíaca (FC). A cânula venosa, por sua vez, foi utilizada para a administração sistêmica de drogas.

3.7- Cuidados Pós-Operatórios:

Após as cirurgias, os animais receberam injeção de penicilina (Pentabiótico Veterinário - Fort Dodge, São Paulo, Brasil) para prevenção de infecções e inflamações. Os ratos foram alocados em gaiolas individuais e mantidos sobre manta térmica até a passagem completa do efeito do anestésico, a fim de evitar hipotermia. Posteriormente, os animais foram mantidos na sala de experimentos sob condições de temperatura, luminosidade e níveis de ruído controlados com água ad libitum.

3.8 - Registro dos Parâmetros Cardiovasculares

Para obtenção do registro dos parâmetros cardiovasculares, a cânula inserida na artéria femoral dos ratos foi conectada a um transdutor de pressão, que ligado a um sistema de aquisição de dados Power Lab 4/20 (ADINSTRUMENTS) possibilitou o registro da pressão arterial pulsátil (PAP). As oscilações de pressão captadas foram amplificadas e convertidas em sinais enviados através de uma placa de conversão analógico/digital. O software de leitura Chart 7 for Windows realizou uma coleta contínua da PAP, calculando a partir desta, os valores de C e PAM.

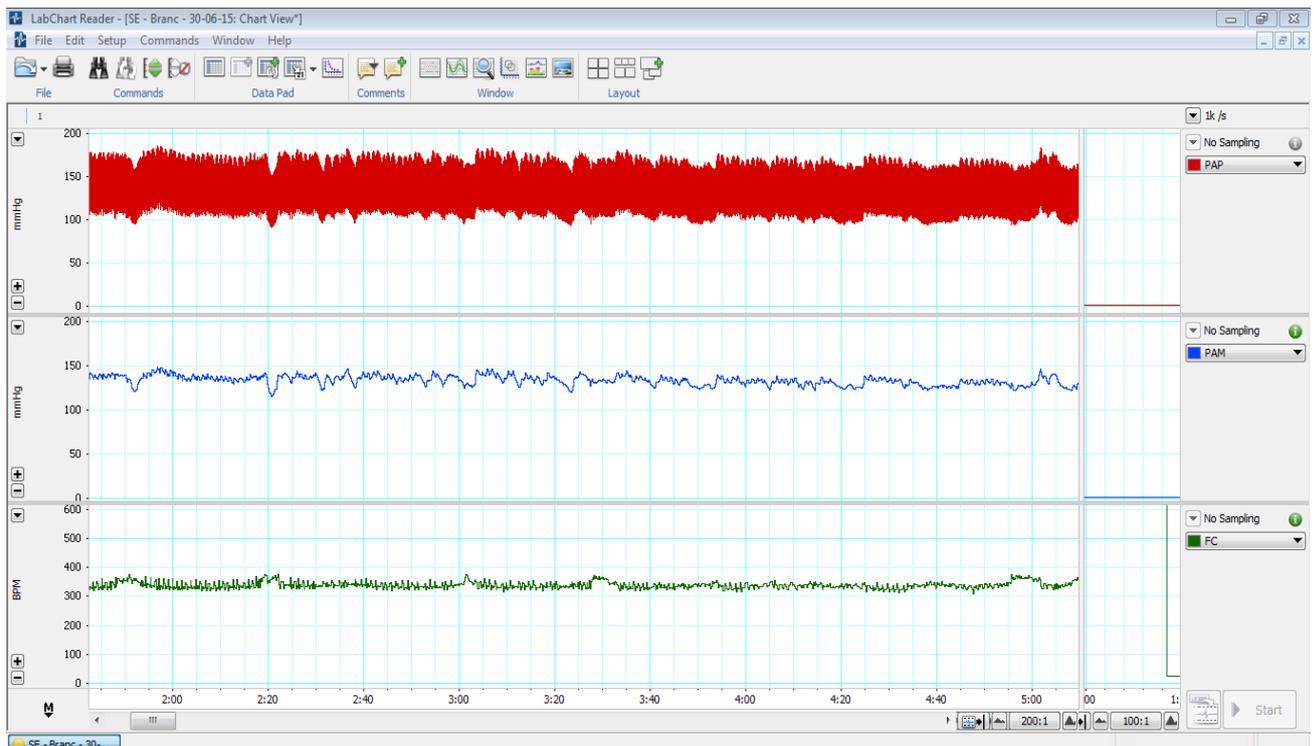


Figura 04: Figura representativa do registro da pressão arterial basal. Em vermelho estão representados os valores de pressão arterial, em azul os valores de pressão arterial média (em mmHg) e em verde os valores de frequência cardíaca em (em bpm).

3.9 - Avaliação da Resposta do Reflexo Cardiopulmonar Através da Expansão Aguda de Volume

Para ativação da resposta do reflexo cardiopulmonar foram utilizadas injeções endovenosas de salina nos volumes de 1,25; 2,5; 3,75; 5,0 e 7,5 (mL/Kg) a cada 3 minutos (Zheng *et al.*, 2006). Para avaliação do reflexo cardiopulmonar utilizou-se a resposta bradicárdica a primeira injeção de salina (1,25 mL/kg).

3.10- Avaliação do Índice Barorreflexo

A resposta bradicárdica a fenilefrina foi avaliada antes e depois da expansão venosa. Foram utilizadas injeções endovenosas (8µg/Kg) de fenilefrina (Braga *et al.*, 2008). Um intervalo mínimo de aproximadamente um cinco minutos era mantido após as injeções, para permitir que a PAM e FC retornassem aos valores basais.

O pico das alterações na FC ocorria durante os primeiros 5 - 10 segundos e correspondiam à máxima alteração na PAM produzida pela fenilefrina. A FC foi convertida em intervalo de pulso (IP, ms) através da fórmula: $60.000/FC$, onde o 60 000 é utilizado como fator de conversão de minutos para milissegundos (Alzamora, Santos e Campagnole-Santos, 2006) .

FC foi convertida em intervalo de pulso

$$\Delta IP (ms) = \frac{60\ 000}{FC_p} - \frac{60\ 000}{FC_b}$$

Índice de Sensibilidade do Barorreflexo

$$ISB = \frac{\Delta IP}{\Delta PAM}$$

Figura 05: Descrição das fórmulas utilizadas para conversão da FC (bpm) em IP (ms) e obtenção do Índice de Sensibilidade do Barorreflexo (ISB).

Protocolo Experimental:



Figura 06: Escala temporal do protocolo experimental para a avaliação do Índice Barorreflexo e do reflexo cardiopulmonar sobre os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC). Os animais foram submetidos à microinjeção endovenosa de fenilefrina ($8\mu\text{g}/\text{Kg}$) e de salina (0,9%). Os experimentos iniciaram somente após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por no mínimo 10 min.

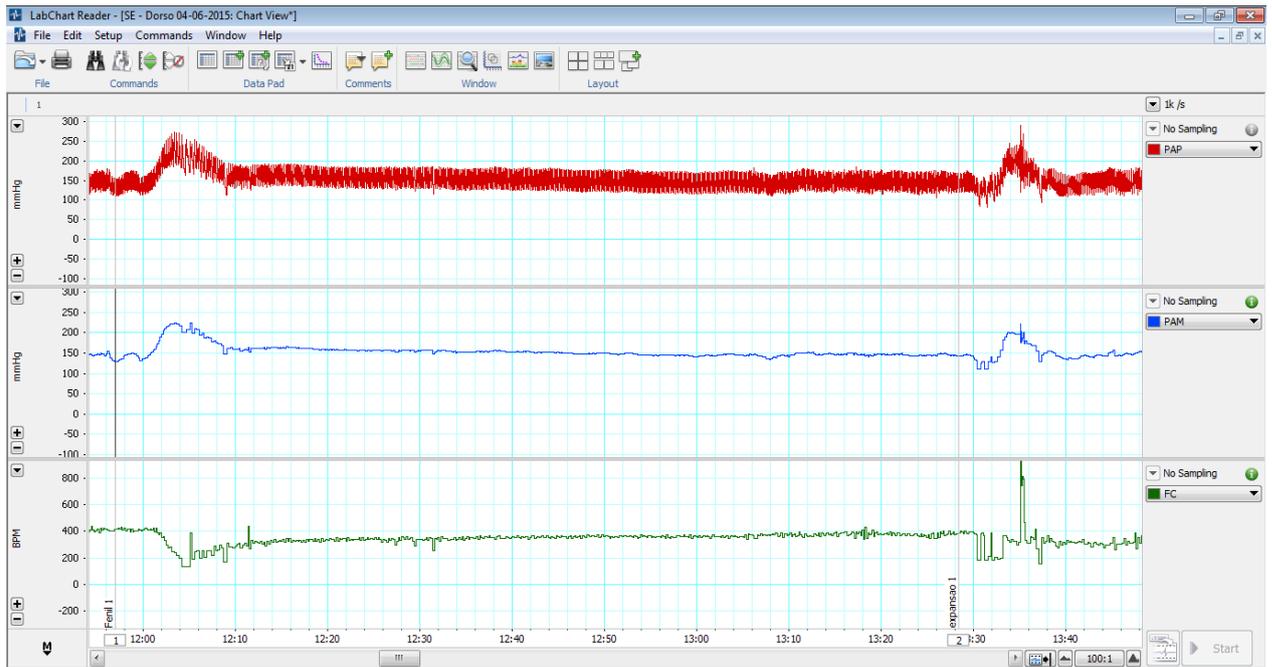


Figura 07: Figura representativa do registro da pressão arterial (PA). A primeira curva representa a Índice Barorreflexo após a injeção de fenilefrina, já a segunda curva, representa à primeira resposta do reflexo cardiopulmonar a injeção endovenosa de salina (1,25 mL/Kg).

Análises Estatísticas

Os dados experimentais foram expressos utilizando a média \pm erro padrão da média (Média \pm EPM) e a análise estatística foi realizada através do GraphPad Prism 6. O estudo seguiu uma distribuição normal que foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizada análise de variância (ANOVA) one-way. Utilizou-se o teste "t" Student para as comparações entre dois grupos. Foi estabelecido o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4 - RESULTADOS

Efeitos do Treinamento Físico Sobre o Tempo Até a Exaustão

Decorridas as oito semanas de treinamento físico observamos inicialmente que os animais dos três grupos avaliados (sedentário, corrida ou natação) apresentaram diferentes comportamentos em relação ao tempo de exaustão. Os grupos treinados aumentaram o tempo total até a exaustão em comparação com o grupo sedentário. Desta forma, natação (6 ± 2 min), esteira (8 ± 1 min), sedentário (-1 ± 3 min). Diante destes resultados observa-se que o tempo até a exaustão aumentou significativamente para os grupos treinados após as oito semanas de experimento. Já o grupo sedentário houve redução no tempo até a exaustão após este período.

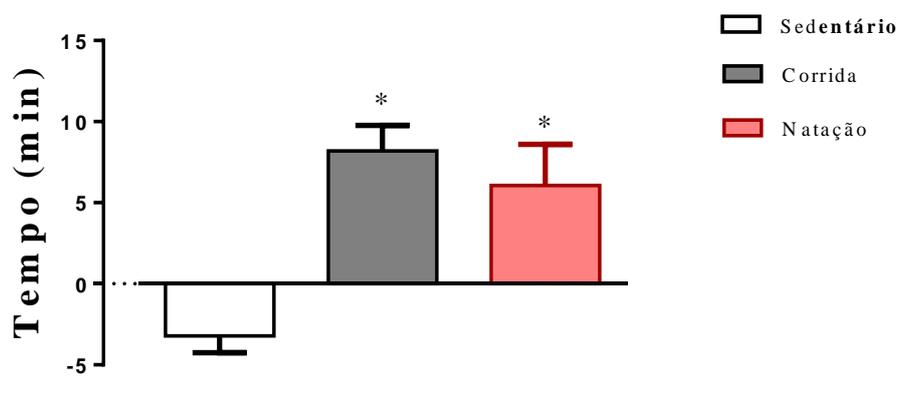


Figura 08: Tempo até a exaustão dos animais (Sedentário n=9; grupo corrida, n=9; grupo natação, n=7) submetidos a oito semanas de experimento. Os dados estão expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo teste t Student não pareado. * $p < 0,0008$ em comparação com o grupo sedentário.

Medidas de Pressão Arterial Máxima Mensurada pela Pletismografia de Cauda

A figura 9 mostra os níveis de pressão arterial máxima (PA Máx) mensurada pelo método de pletismografia de cauda realizado a cada 15 dias entre os grupos (sedentário, corrida e natação). Observamos que os valores de PA Máx foram menores para os grupos corrida ($201,0 \pm 10,9$ mmHg) e natação ($201,9 \pm 6,7$ mmHg) em relação ao sedentário ($256,4 \pm 8,8$ mmHg) após oito semanas de experimento.

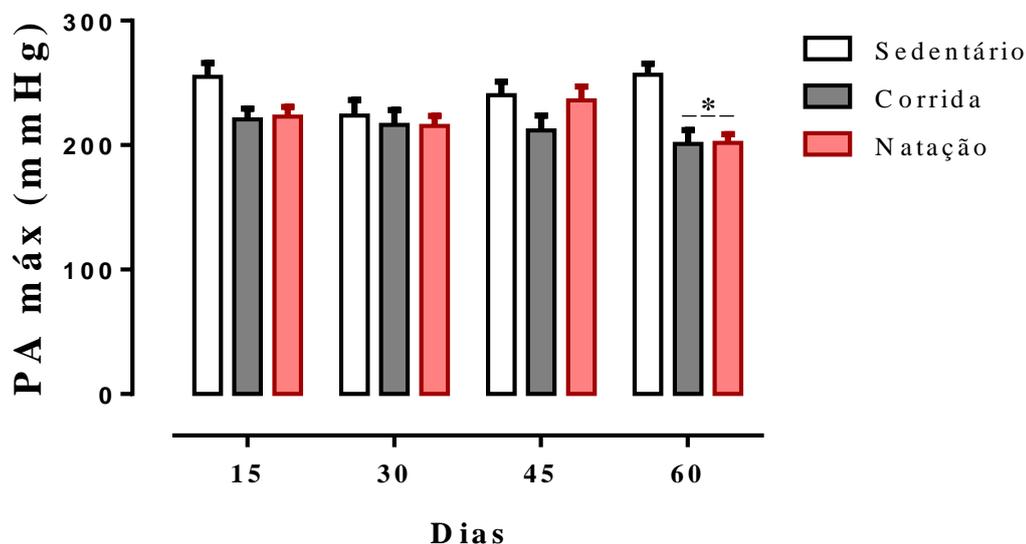


Figura 09: Valores de PA Max (mmHg) no grupo sedentário (n=15), corrida (n=18) e natação (n=20). * $p < 0,0005$ em relação ao grupo sedentário. Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way.

Pressão Arterial Média

O treinamento físico promoveu alterações nos níveis da pressão arterial média de forma significativa nos animais do grupo corrida ($144,3 \pm 2,2$ mmHg) e natação ($142,6 \pm 6,7$ mmHg) em comparação com o sedentário ($163 \pm 4,9$ mmHg) conforme ilustrado na figura abaixo.

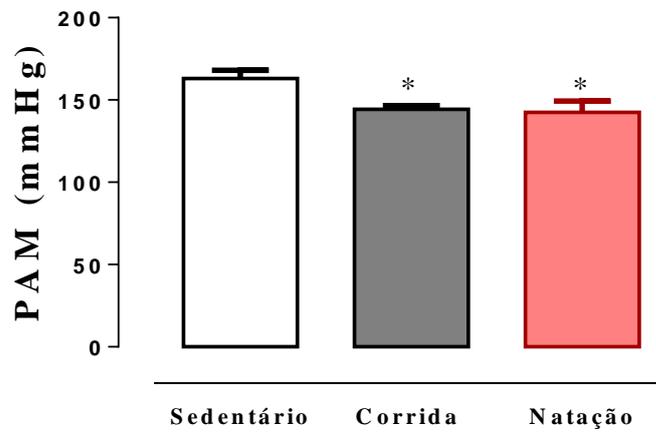


Figura 10: Níveis de pressão arterial média (mmHg) após oito semanas de experimentação em ratos sedentários (n=6) e treinados (corrida, n=7; natação, n=7). * $p < 0,02$ em comparação ao sedentário. As análises dos dados foram expressas em média \pm EPM e analisadas pelo ANOVA one way.

Frequência Cardíaca Basal

O exercício reduziu significativamente os níveis basais de frequência cardíaca dos grupos corrida ($313,2 \pm 24,8$ bpm) e natação ($317,3 \pm 28,2$ bpm) quando comparado ao sedentário ($399,4 \pm 11,3$ bpm) conforme ilustrado na figura abaixo.

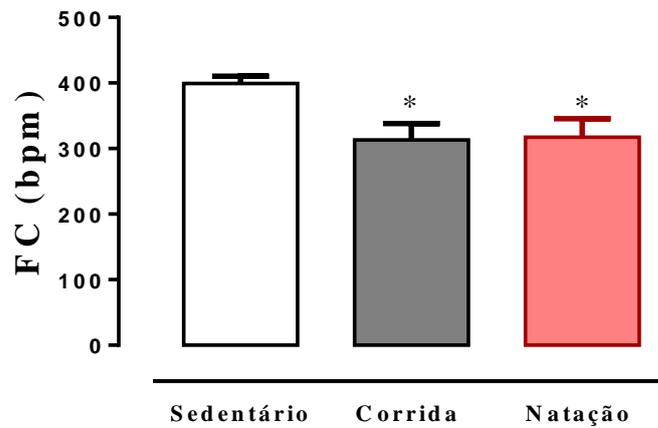


Figura 11: Níveis de frequência cardíaca (bpm) após oito semanas de experimento em ratos sedentários ($n=6$) e treinados (corrida, $n=7$; natação, $n=7$). * $p < 0,02$ em comparação ao sedentário. Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way.

Índice Barorreflexo

A Figura 12 mostra o Índice Barorreflexo produzida por alterações na PA após a estimulação por injeção endovenosa de fenilefrina em animais treinados comparada aos sedentários. A resposta bradicárdica foi significativamente maior nos animais treinados corrida ($-0,91 \pm 0,07$ ms/mmHg) e natação ($-0,81 \pm 0,14$ ms/mmHg) em comparação com o grupo sedentário ($-0,44 \pm 0,03$ ms/mmHg).

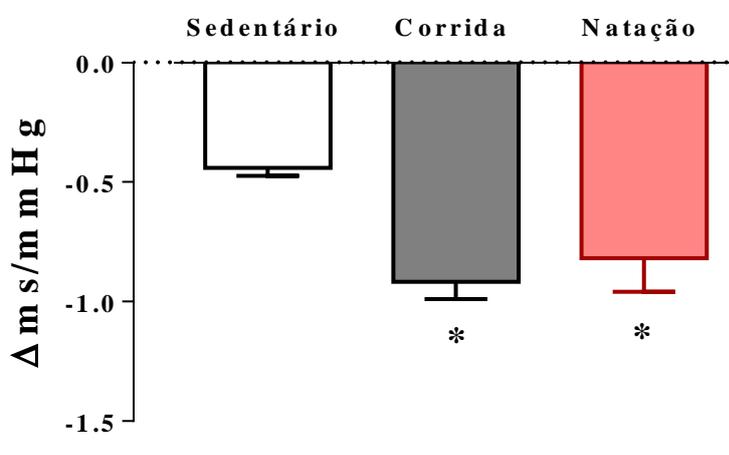


Figura 12: Índice Barorreflexo em animais sedentários (n=5) e treinados (corrida, n=6; natação, n=6) após a injeção com fenilefrina. * $p < 0,01$ em comparação ao sedentário. Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way.

Resposta do Reflexo Cardiopulmonar

A Figura 13 mostra a resposta bradicárdica induzida pela primeira dose de salina 1,25 %/kg em ratos treinados em corrida ($-68 \pm 5,2$ bpm), natação ($-105,8 \pm 8,7$ bpm) e sedentários ($49,8 \pm 7,2$ bpm).

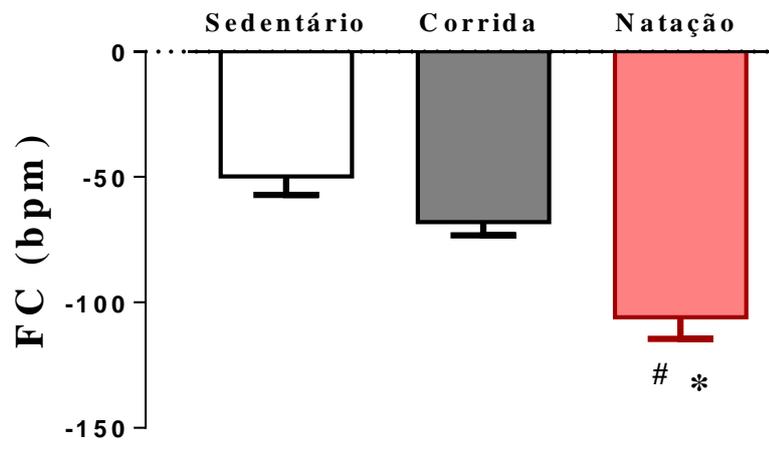


Figura 13: Bradicardias decorrentes da ativação do reflexo cardiopulmonar nos grupos corrida (n=6), natação (n=6) e sedentário (n=5). Os dados são expressos em média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one way. (* $p < 0,0002$) em comparação com o grupo sedentário; # em comparação ao grupo corrida.

Índice Barorreflexo Após a Ativação do Reflexo Cardiopulmonar

A Figura 14 mostra o Índice Barorreflexo após a estimulação do reflexo cardiopulmonar. Observamos diferença significativa do grupo corrida ($-1,5 \pm 0,17$ ms/mmHg) quando comparado aos grupos natação ($-0,7 \pm 0,15$ ms/mmHg) e sedentário ($-0,8 \pm 0,2$ ms/mmHg).

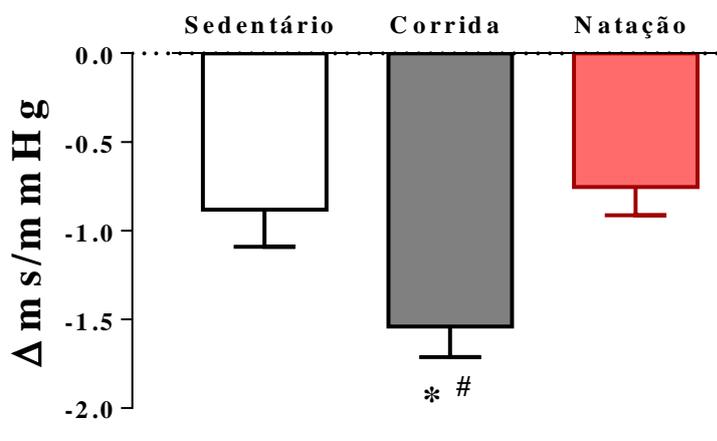


Figura 14: Índice Barorreflexo em animais treinados (corrida, $n=7$; natação, $n=5$) e sedentários ($n=7$) após a injeção com fenilefrina posterior à sensibilização do reflexo cardiopulmonar. (* $p<0,01$) em relação ao grupo sedentário, # em comparação com o grupo natação. Os dados estão expressos como média \pm EPM e foram analisados pelo ANOVA one-way ($p<0,05$).

Representação do Índice Barorreflexo Antes e Após a Estimulação do Reflexo Cardiopulmonar

A Figura 15 evidencia os diferentes perfis do estímulo barorreflexo antes e após a sensibilização do Reflexo Cardiopulmonar.

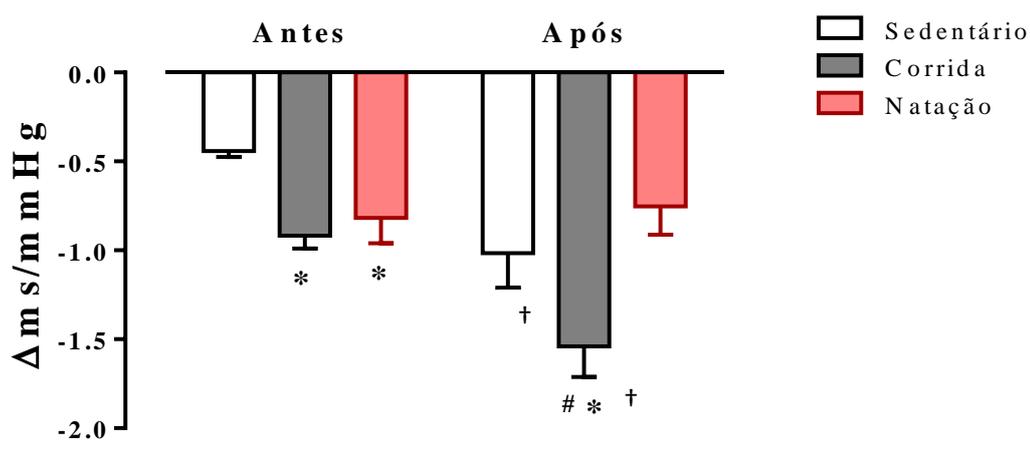


Figura 15: Índice Barorreflexo (ms /mmHg), antes e após a estimulação do Reflexo Cardiopulmonar. * $p < 0,01$ em comparação ao grupo sedentário, # em comparação ao grupo corrida, † $p < 0,0003$ em comparação com o mesmo grupo (sedentário e corrida antes e depois da estimulação do reflexo cardiopulmonar). ANOVA one Way e test “t” de Student para observações não pareadas em comparação com o mesmo grupo.

5 - DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo mostram que o treinamento físico tanto através da natação quanto corrida é eficiente para melhorar a sensibilidade barorreflexa. Porém, para o reflexo cardiopulmonar observamos que após a expansão aguda de volume, os animais treinados através da natação apresentam maiores respostas em comparação com os animais treinados em corrida. Um dado interessante foi que a melhora da resposta barorreflexa após a estimulação do reflexo cardiopulmonar, foi suprimida para os animais treinados através da natação e de forma surpreendente este comportamento não foi observado nos outros grupos, sedentários e treinado através da corrida.

Nosso estudo mostrou ainda, que o protocolo de treinamento utilizado foi eficiente, uma vez que o tempo total de exercício foi maior após oito semanas de treinamento para os grupos corrida e natação em comparação aos animais sedentários. Os protocolos utilizados para ambos os grupos foram baseados em estudos anteriores Bertagnolli *et al.*,(2008) ; Endlich *et al.*, (2011) e Totou *et al.*, (2015), nos quais foi demonstrado que o treinamento físico através da corrida e natação melhorou consideravelmente a pressão arterial de ratos SHR.

Outra observação bastante relevante do nosso estudo que confirma o efeito do treinamento físico nos diferentes meios avaliados são os dados de FC. Os grupos treinados apresentam valores menores de FC em comparação com o grupo sedentário. A bradicardia de repouso é utilizada como um marcador de adaptação ao treinamento físico, em ratos normotensos e ratos SHR (Brum *et al.*, 2000).

O presente estudo não pode garantir que a intensidade de treinamento foi a mesma para os dois grupos, porém os valores do tempo total de exercício (TTE) e o comportamento bradicárdico foram equivalentes para ambos os grupos treinados quando comparados aos sedentários. Diante destes dados podemos inferir que as adaptações fisiológicas foram iguais. Os dois protocolos utilizados no presente estudo foram aplicados de forma que as sessões de

treinamento foram realizadas em zonas aeróbicas. Estudos realizados por Golbart *et al.*, (2012), mostraram que ratos Wistar sedentários submetidos a natação atingem o limiar anaeróbico com uma carga equivalente a 6% do peso corporal. Por outro lado ratos SHR (Almeida *et al.*, 2012) apresentaram através de testes progressivos, o limiar anaeróbico na corrida em 25 m/min.

Utilizamos a pletismografia de cauda para avaliar o comportamento pressão arterial ao longo do treinamento físico. Observamos que os animais treinados obtiveram valores menores de pressão arterial máxima a partir de 15 dias de treinamento, entretanto, os valores só foram significativamente diferentes após 60 dias de treinamento. Em relação aos dados de medida direta da pressão arterial observamos como descrito na literatura que o treinamento físico tanto por corrida como por natação diminui a pressão arterial. Silva *et al.*, (1997) mostraram, por exemplo, o efeito hipotensor do treinamento físico agudo em ratos SHR e a atenuação da hipertensão arterial após treinamentos crônicos em ratos SHR.

A resposta do reflexo cardiopulmonar do grupo natação a infusão de salina foi maior em comparação com o grupo sedentário e o corrida. Os dados do presente estudo estão de acordo com os dados anteriores do laboratório que mostram a maior resposta do reflexo cardiopulmonar em ratos SHR treinados (Totou *et al.*, 2015) e em ratos normotensos. (Fabri *et al.*, 2010). Totou *et al.*, 2015 mostrou maior resposta bradicárdica à fenilbiguanida e maior diurese após expansão aguda de volume em ratos SHR treinados através da natação. Fabri *et al.*, 2010 mostrou após expansão aguda de volume via gavagem, maior produção de urina em ratos normotensos treinados através da natação. Diferenças fisiológicas são evidenciadas entre os tipos de exercício. Estudo mostra que a biodisponibilidade e a concentração endógena de peptídeo natriurético atrial (PNA) são diferentes entre ratos SHR treinados através da natação e corrida. Ratos treinados através da natação apresentam maior expressão gênica e maiores níveis de PNA em comparação com ratos SHR treinados em corrida (Endlich *et al.*, 2011). Além disso, a melhora da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar através do exercício físico foi

observada em outros modelos como coelhos com insuficiência cardíaca (Zucker *et al.*; 2014).

Dados na literatura mostram uma estreita relação entre o reflexo cardiopulmonar e o barorreflexo em diversos modelos como em humanos, coelhos e ratos (Charkoudian *et al.*, 2004; Miki *et al.*, 2009; Fernandes *et al.*, 2010). Observou-se que o reflexo cardiopulmonar pode modular a resposta barorreflexa através da atividade simpática e controle da pressão arterial sistêmica (Hainsworth, 1991). O carregamento agudo dos receptores cardiopulmonares através do *tilt* teste, ou por meio da expansão aguda de volume com salina, diminuiu o ganho simpático do barorreflexo em humanos (Chapleau, Hajduczuk e Abboud, 1988). O carregamento crônico dos receptores cardiopulmonares pela expansão de volume ou através do aumento do volume extracelular, também mostrou modulação da atividade simpática do barorreflexo (Gauer e Henry, 1976; P. Person, 1988; Thorén e Göteborg, 2015). A relação entre o reflexo cardiopulmonar e o barorreflexo foi avaliada em cães submetidos à imersão, a ativação do reflexo cardiopulmonar pela imersão também produziu diminuição do ganho simpático do barorreflexo, induzindo a uma condição instável da atividade barorreflexa mediante alterações da pressão arterial (Miki *et al.*, 2009).

Durante o exercício a ativação do reflexo cardiopulmonar também contribui com a modulação da atividade simpática. A atividade nervosa simpática da musculatura esquelética é diminuída, quando há ativação do reflexo cardiopulmonar através do aumento da rotação por minuto (RPM) do exercício em ciclo ergômetro (Katayama *et al.*, 2014). As alterações produzidas pelo exercício físico no volume sanguíneo central estimulam o reflexo cardiopulmonar, o qual modula a resposta da pressão arterial durante o exercício bem como a faixa de operação do barorreflexo (Volianitis *et al.*, 2004; Ogoh *et al.*, 2006; Ogoh *et al.*, 2007).

Considerando a relação entre estes reflexos cardiovasculares nosso objetivo foi observar o efeito de duas modalidades de treinamento aeróbio sobre a resposta barorreflexa. Era uma hipótese que o grupo natação teria

respostas barorreflexas diferenciadas em relação ao grupo corrida devido a maior responsividade do reflexo cardiopulmonar. Não observamos diferença na resposta barorreflexa entre os grupos antes da ativação do reflexo cardiopulmonar. As duas modalidades se mostraram eficientes para melhorar a resposta barorreflexa em ratos SHR. A melhora da sensibilidade barorreflexa em animais SHR já foi descrito por (Krieger, Brum e Negrao, 1999). Em pacientes hipertensos o treinamento físico restaura a sensibilidade barorreflexa (Laterza *et al.*, 2007). Os possíveis mecanismos envolvidos na melhora da sensibilidade barorreflexa após treinamento físico são a melhora do tônus vagal e o aumento da complacência arterial (Mccarthy *et al.*, 1997; Nualnim *et al.*, 2012).

Após a estimulação do reflexo cardiopulmonar observamos que o grupo natação houve uma diminuição da resposta barorreflexa em comparação com a resposta antes da ativação do reflexo cardiopulmonar, indicando que possivelmente houve uma alteração do reflexo cardiopulmonar pode contribuir para a resposta barorreflexa. Como descrito anteriormente, a literatura mostra que a ativação do reflexo cardiopulmonar inibe a atividade simpática barorreflexa (Volianitis *et al.*, 2004; Ogoh *et al.*, 2006; Ogoh *et al.*, 2007). Os animais treinados através da natação possuem maior responsividade do reflexo cardiopulmonar logo ocorre maior atenuação da atividade simpática barorreflexa.

O controle da pressão arterial durante o exercício se dá por mecanismos neurais de origem central e através do reflexo pressor do exercício. Sabe-se que na hipertensão arterial a atividade desses reflexos está comprometida e ainda há um aumento da atividade ergo reflexa (Fadel e Raven, 2012; Raven e Chapleau, 2014) o que compromete a realização do exercício devido aos aumentos exacerbados de PA e FC. Os dados do presente estudo mostram que a modalidade de treinamento pode modular de maneira diferenciada o barorreflexo e o reflexo cardiopulmonar. Pesquisas futuras devem ser realizadas com o objetivo de identificar as relações entre os meios de treinamento e resposta do reflexo pressor do exercício em

hipertensos treinados ou não. O objetivo final é desenvolver um programa de treinamento físico que possa reverter às perdas de controle reflexos e ainda contribuir com as respostas cardiovasculares durante o exercício em hipertensos.

6 – CONCLUSÃO

O treinamento físico através da natação e corrida foi eficiente para reduzir a pressão arterial e melhorar o barorreflexo de ratos SHR, no entanto a natação mostra-se um método mais eficiente para sensibilizar o reflexo cardiopulmonar. Há potencialização da resposta barorreflexa após teste do reflexo cardiopulmonar, no entanto, está ausente em ratos SHR submetidos a treinamento aeróbio por natação.

7- REFERÊNCIAS

ALMEIDA JA, PETRIZ BDE A, DA COSTA GOMES CP, PEREIRA RW, FRANCO OL. Assessment of maximal lactate steady state during treadmill exercise in SH. BMC Res Notes. 2012; 30: 655-661;

ALVES, R. V. et al. MOTA, J.; COSTA, M. D. C. A. A., JOÃO GUILHERME BEZERRA. Aptidão física relacionada a saúde de idosos: influência da hidroginástica. Rev Bras Med Esporte. 2004. 10: 31-37;

ALZAMORA, A. C.; SANTOS, R. A. S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J. Baroreflex modulation by angiotensins at the rat rostral and caudal ventrolateral medulla. 2006; 04: 01;

BERTAGNOLLI M, SCHENKEL PC, CAMPOS C, MOSTARDA CT, CASARINI DE, BELLÓ-KLEIN A, IRIGOYEN MC, RIGATTO K. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. Am J Hypertens. 2008; 21: 1188-1193;

BRAGA, V. A; BRAGA VA¹, BURMEISTER MA, SHARMA RV, DAVISSON RL. Cardiovascular responses to peripheral chemoreflex activation and comparison of different methods to evaluate baroreflex gain in conscious mice using telemetry. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008; 295:1168-74;

BRUM PC, SILVA GJ, MOREIRA ED, IDA F, NEGRÃO CE, KRIEGER EM. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. Hypertens. 2000; 36: 1018-1022;

CAMPAGNOLE-SANTOS MJ, ALZAMORA. A. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. Revista Brasileira de Hipertensão.2001; 8: 30-40.

CHAPLEAU, M. W.; HAJDUCZOK, G.; ABOUD, F. M. Mechanisms of resetting of arterial baroreceptors: an overview. Am J Med Sci,1988; 295: 327-34;

CHARKOUDIAN N, MARTIN EA, DINENNO FA, EISENACH JH, DIETZ NM, JOYNER MJ. Influence of increased central venous pressure on baroreflex

control of sympathetic activity in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004; 287: 1658-62;

COWLEY, A. W., JR.; LIARD, J. F.; GUYTON, A. C. Role of baroreceptor reflex in daily control of arterial blood pressure and other variables in dogs. *Circ Res*, 1973; 32: 564-76;

Endlich PW, Firmes LB, Gonçalves WL, Gouvea SA, Moysés MR, Bissoli NS, Reis AM, Abreu GR. Involvement of the atrial natriuretic peptide in the reduction of arterial pressure induced by swimming but not by running training in hypertensive rats. *Peptides*. 2011; 32: 1706-1712;

FABRI T, MACHADO KB, REZENDE R, MERCÊS L, CAMPAGNOLE-SANTOS MJ, ROCHA-VIEIRA E, BECKER LK. Aquatic and land exercise training affects renal function in rats under isosmotic volume expansion. *JEPonline*. 2010; 13: 42-51;

FADEL, P. J.; RAVEN, P. B. Human investigations into the arterial and cardiopulmonary baroreflexes during exercise. *Exp Physiol*, 2012; 97: 39-50;

FERNANDES TL, PIRATELLO AC, FARAH V, FIORINO P, MOREIRA ED, IRIGOYEN MC, KRIEGER EM. Effect of carotid and aortic baroreceptors on cardiopulmonary reflex: the role of autonomic function. *Braz J Med Biol Res*, 2010; 43: 681-6;

GAUER, O. H.; HENRY, J. P. Neurohormonal control of plasma volume. *Int Rev Physiol*, 1976; 9: 145-90;

GOBATTO CA, DE MELLO MA, SIBUYA CY, DE AZEVEDO JR, DOS SANTOS LA, KOKUBUN E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2001; 130:21-27;

GUIMARÃES FILHO GC, SOUSA AL, JARDIM TDE S, SOUZA WS, JARDIM PC. Progression of blood pressure and cardiovascular outcomes in

hypertensive patients in a reference center. *Arq Bras Cardiol*,2015; 104: 292-8;

HAINSWORTH, R. Reflexes from the heart. *Physiol Rev*,1991; 71: 617-58;

KASHIHARA K, KAWADA T, YANAGIYA Y, UEMURA K, INAGAKI M, TAKAKI H, SUGIMACHI M, SUNAGAWA K. Bezold-Jarisch reflex attenuates dynamic gain of baroreflex neural arc. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003; 285: H833-40;

KATAYAMA, K., ISHIDA, K., SAITO, M., KOIKE, T., HIRASAWA, A., & OGOH, S. Enhanced muscle pump during mild dynamic leg exercise inhibits sympathetic vasomotor outflow. *Physiological reports*, 2014; 2(7): 12070;

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

LANFRANCHI, P. A.; SOMERS, V. K. Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2002; 283: 815-26;

Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, Krieger EM, Negrão CE, Rondon MU. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension*,2007; 49 : 1298-306;

MANSUR, A. D. P., & FAVARATO, D.. Mortality due to cardiovascular diseases in Brazil and in the metropolitan region of São Paulo. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 2012; 99(2): 755-761;

MCCARTHY JP, BAMMAN MM, YELLE JM, LEBLANC AD, ROWE RM, GREENISEN MC, LEE SM, SPECTOR ER, FORTNEY SM. Resistance exercise training and the orthostatic response. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*,1997; 76: 32-40;

MIKI K, YOSHIMOTO M, HAYASHIDA Y, SHIRAKI K. Role of cardiopulmonary and carotid sinus baroreceptors in regulating renal sympathetic nerve activity during water immersion in conscious dogs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*,2009 ;296: 1807-12;

MF MONTEIRO, DC SOBRAL FILHO. Exercício físico e o controle da pressão arterial. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*,2004; 10: 513-516;

AICP NEUMANN, IS MARTINS. [Dietary patterns associated with risk factors for cardiovascular disease in a Brazilian city]. *Rev Panam Salud Publica*, 2007; 22:329-39;

NUALNIM, N., PARKHURST, K., DHINDSA, M., TARUMI, T., VAVREK, J., & TANAKA, H.. Effects of swimming training on blood pressure and vascular function in adults > 50 years of age. *The American journal of cardiology*, 2012; 109(7), 1005-1010;

TOTOU, N. L., SÁ, R. W., ALZAMORA, A. C., CARDOSO, L. M., & BECKER, L. K. Cardiopulmonary reflex and blood pressure response after swimming and treadmill exercise in hypertensive rats. *Journal of Exercise Physiology Online*, 2015; 18(5):86-96;

Ogoh S, Brothers RM, Barnes Q, Eubank WL, Hawkins MN, Purkayastha S, O-Yurvati A, Raven PB. Effects of changes in central blood volume on carotid-vasomotor baroreflex sensitivity at rest and during exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101: 68-75;

Ogoh S, Fisher JP, Fadel PJ, Raven PB. Increases in central blood volume modulate carotid baroreflex resetting during dynamic exercise in humans. *J Physiol*, 2007; 581: 405-18;

Pechter U, Ots M, Mesikepp S, Zilmer K, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer M, Maaros J. Beneficial effects of water-based exercise in patients with chronic kidney disease. *Int J Rehabil Res*, 2003; 26: 153-6;

PEREIRA, R. G. A. Exercícios Físicos na Melhora da Sensibilidade Barorreflexa Arterial: uma revisão. 2010; 36: 06-15;

PILIS, W. X. L., ZARZECZNY, R., LANGFORT, J. Z., KACIUBA-UŚCIŁKO, H., NAZAR, K., & WOJTYNA, J. Anaerobic threshold in rats. *Comparative biochemistry and physiology. Comparative physiology*, (1993) 106(2), 285-289;

RAVEN, P. B.; CHAPLEAU, M. W. Blood pressure regulation XI: overview and future research directions. *Eur J Appl Physiol*, 2014 ; 114: 579-86;

SILVA, G. J. J., BRUM, P. C., NEGRÃO, C. E., & KRIEGER, E. M. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1997; 30(3): 714-719;

THORÉN, P.; GÖTEBORG, U. O. Role of cardiac vagal c-fibers in cardiovascular control. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1979; 86:1-94;

UGGERE TA, ABREU GR, SAMPAIO KN, CABRAL AM, BISSOLI NS. The cardiopulmonary reflexes of spontaneously hypertensive rats are normalized after regression of left ventricular hypertrophy and hypertension. *Braz J Med Biol Res*, 2000;33: 589-594;

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, & SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. V Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. *Rev. bras. hipertens*, 2006; 13(4), 260-312;

VOLIANITIS S, YOSHIGA CC, VOGELSANG T, SECHER NH. Arterial blood pressure and carotid baroreflex function during arm and combined arm and leg exercise in humans. *Acta Physiol Scand*, 2004; 3 : 289-95;

ZHENG H, LI YF, ZUCKER IH, PATEL KP. Exercise training improves renal excretory responses to acute volume expansion in rats with heart failure. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006; 291:1148-1156;

ZUCKER, I. H.; XIAO, L.; HAACK, K. K. The Central RAS and Sympathetic Nerve Activity in Chronic Heart Failure. *Clin Sci (Lond)*, 2014; 126: 695-706;

