

# **Efeitos de uma única sessão de exercício resistido na contratilidade miocárdica e na reatividade vascular de ratos espontaneamente hipertensos.**

**Juliana Hott de Fúcio Lizardo**

**Tese de Doutorado em Ciências Fisiológicas**

**Universidade Federal do Espírito Santo**

**Vitória, dezembro de 2008**

**Efeitos de uma única sessão de exercício resistido na  
contratilidade miocárdica e na reatividade vascular de  
ratos espontaneamente hipertensos.**

**Juliana Hott de Fúcio Lizardo**

**Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da  
Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau  
de Doutor em Ciências Fisiológicas – Fisiologia Cardiovascular.**

**Aprovada em 18/12/2008 por:**

---

Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo – Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ivanita Stefanon - Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silvana dos Santos Meyrelles - Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luciana Venturini Rossoni – Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. Herbert Gustavo Simões – Universidade Católica de Brasília

**Universidade Federal do Espírito Santo**

**Vitória, dezembro de 2008**

---

Lizardo, Juliana Hott de Fúcio, 1979

Efeitos de uma única sessão de exercício resistido na contratilidade miocárdica e na reatividade vascular de ratos espontaneamente hipertensos. [Vitória] 2008

13, 122 p., 29,7 cm (UFES, D. Sc., Ciências Fisiológicas, 2008)

Tese, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF.

---

***“O temor a Deus é o princípio do saber”.*** (Provérbios 1:7)

Dedico esse trabalho aos dois grandes homens da minha vida,  
meu marido Wander e meu filho Filipe.

## AGRADECIMENTOS

Ao único Deus, criador da Terra e de todo o ser vivente, quem dá a sabedoria e o conhecimento e tem o domínio sobre todas as coisas;

Ao meu marido Wander, amor da minha vida, companhia que constrói, que ensina, que motiva e que proporciona os melhores momentos da minha vida. A você todo o meu amor hoje e sempre;

Ao meu filho Filipe, que refez o meu conceito de amor e doação e me desperta a cada momento para o melhor dessa vida tão fugaz;

À minha querida mãe por me despertar o interesse pelo conhecimento e pelo apoio incondicional;

À minha amiga Edna pelo socorro nos momentos nos momentos difíceis, pelas palavras de sabedoria e de incentivo, pela companhia e disposição.

Ao meu querido e admirável orientador Dalton, sempre pronto a acreditar, motivar, simplificar, ensinar, apoiar e confiar. Obrigada por toda atenção, paciência e carinho presentes desde o primeiro momento.

À Ivanita pelos ricos momentos de aprendizagem, pelos valiosos conselhos e pela grande atenção científica e burocrática;

Aos colegas do LEMC, em especial os que ajudaram na coleta de dados;

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

**Lista de Siglas e Abreviaturas**

**Resumo**

**Abstract**

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1.1. Exercício resistido</b> .....	15
<b>1.2. O endotélio vascular</b> .....	16
<b>1.2.1. Fatores reguladores do tônus vascular</b> .....	17
1.2.1.1. Óxido nítrico .....	17
1.2.1.2. Prostanóides .....	19
1.2.1.3. Sistema renina-angiotensina e Espécies reativas de oxigênio	22
1.2.1.4. Endotelina e Fator hiperpolarizante derivado do endotélio	23
<b>1.2.2. Alterações vasculares decorrentes da hipertensão arterial</b> .....	24
<b>1.3. O músculo cardíaco</b> .....	27
<b>1.3.1. O coração como bomba</b> .....	29
<b>1.3.2. Alterações cardíacas decorrentes hipertensão arterial</b> .....	33
<b>1.4. Adaptações cardiovasculares promovidas pelo exercício resistido crônico</b> ..	35
<b>1.4.1. Pressão arterial e função vascular</b> .....	35
<b>1.4.2. Função cardíaca</b> .....	37
<b>1.5. Adaptações cardiovasculares promovidas pelo exercício resistido agudo</b> ...	38
<b>1.5.1. Pressão arterial</b> .....	38
<b>1.5.2. Função vascular</b> .....	39
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	40
<b>2.1. Objetivo geral</b> .....	40
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	40
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	41
<b>3.1. Animais</b> .....	41
<b>3.2. Grupos experimentais</b> .....	41
<b>3.3. Exercício físico resistido</b> .....	41

3.3.1. Teste de 1 RM .....	42
<b>3.4. Mensurações experimentais .....</b>	<b>43</b>
<b>3.4.1. Pressão arterial e frequência cardíaca .....</b>	<b>43</b>
<b>3.4.2. Avaliação da reatividade vascular da artéria caudal <i>in vitro</i>.....</b>	<b>44</b>
3.4.2.1. Obtenção do leito vascular caudal – procedimento cirúrgico.....	44
3.4.2.2. Avaliação da resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina .....	46
3.4.2.3. Avaliação da participação do óxido nítrico na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina .....	46
3.4.2.4. Avaliação da participação dos prostanóides derivados da ciclooxigenase na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina ..	46
3.4.2.5. Avaliação da modulação do endotélio na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina .....	46
3.4.2.6. Avaliação do relaxamento dependente do endotélio .....	47
3.4.2.7. Avaliação do relaxamento independente do endotélio .....	47
<b>3.4.3. Avaliação da reatividade vascular da artéria aorta <i>in vitro</i>.....</b>	<b>47</b>
3.4.3.1. Preparação dos anéis isolados de aorta .....	47
3.4.3.2. Avaliação do relaxamento dependente do endotélio .....	49
3.4.3.3. Avaliação da resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina .....	49
3.4.3.4. Avaliação da participação do óxido nítrico na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina .....	50
3.4.3.5. Avaliação da participação dos prostanóides derivados da enzima ciclooxigenase na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina .....	50
3.4.3.6. Avaliação da participação da adenosina na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina .....	50
3.4.3.7. Avaliação da participação do endotélio na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina .....	50
<b>3.4.4. Parâmetros avaliados nas curvas dose-resposta e concentração-resposta .....</b>	<b>51</b>

<b>3.4.5. Avaliação da contratilidade do músculo papilar isolado</b> .....	51
3.4.5.1. Protocolos experimentais .....	52
3.4.5.1.1. Curva de potenciação pós-pausa .....	52
3.4.5.1.2. Curva concentração-resposta de cálcio extracelular.	53
3.4.5.1.3. Curva concentração-resposta ao isoproterenol .....	53
3.4.5.1.4. Contração tetânica .....	54
3.4.5.1.5. Contração pós-pausa – PRC .....	54
<b>3.4.6. Avaliação da contratilidade do coração isolado</b> .	55
3.4.6.1. Protocolos experimentais .....	56
3.4.6.1.1. Avaliação da auto-regulação heterométrica .....	56
3.4.6.1.2. Avaliação da regulação homeométrica pelo aumento na concentração extracelular de cálcio .....	58
3.4.6.1.3. Avaliação da regulação homeométrica por uma dose <i>in bolus</i> de isoproterenol .....	59
<b>3.5. Apresentação dos dados e análise estatística</b> .....	59
<b>4. RESULTADOS</b> .....	60
<b>4.1. Pressão arterial e frequência cardíaca</b> .....	60
<b>4.2. Reatividade da artéria caudal</b> .....	61
<b>4.3. Reatividade da artéria aorta</b> .....	64
<b>4.4. Contratilidade do músculo papilar isolado</b> .....	66
<b>4.5. Contratilidade do coração isolado</b> .....	70
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	74
<b>5.1. Pressão arterial</b> .....	74
<b>5.2. Reatividade da artéria aorta e caudal</b> .....	76
<b>5.3. Contratilidade miocárdica</b> .....	81
<b>5.4. Considerações experimentais e perspectivas</b> .....	86
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	88
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	89

### Lista de siglas e abreviaturas

- AA – ácido araquidônico
- AC – adenilato ciclase
- ACh – acetilcolina
- ACMS – American College of Sports Medicine
- AMP<sub>c</sub> – 3'5'-monofosfato cíclico de adenosina
- Ang – angiotensina
- ANS – atividade nervosa simpática
- BH<sub>4</sub> – tetrahydrobiopterina
- Ca<sup>+2</sup> – cálcio
- CaM - calmodulina
- CHAPS – 3-3[(3-cloroamidopropil) dimetilamônio]-l-propanolsulfonato
- Ct - controle
- COX – ciclooxigenase
- CVM – contração voluntária máxima
- dAUC – diferença da área abaixo da curva
- DC - débito cardíaco
- dP/dt – derivada de pressão/derivada de tempo
- dP/dt- – primeira derivada temporal negativa da pressão sistólica
- dP/dt+ – primeira derivada temporal positiva da pressão sistólica
- ECA – enzima conversora de angiotensina
- EC<sub>50</sub> – sensibilidade
- EDHF – fator hiperpolarizante derivado do endotélio
- eNOS – óxido nítrico sintase endotelial
- EPM – erro padrão da média
- ER – exercício resistido
- ET - endotelinas
- Ex - exercício
- FAD – flavina adenina dinucleotídeo
- FC – frequência cardíaca
- FE – fenilefrina
- FMN – flavina adenina mononucleotídeo

GC – guanilato ciclase  
GMPc – 3'5'-monofosfato cíclico de guanosina  
GTP – 5'-trifosfato de guanosina  
HA – hipertensão arterial  
HDL – lipoproteína de alta densidade  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – peróxido de hidrogênio  
HPE – hipotensão pós-exercício  
HV – hipertrofia ventricular  
HVE – hipertrofia ventricular esquerda  
IC – insuficiência cardíaca  
ICAM - molécula de adesão intracelular  
INDO – indometacina  
iNOS – óxido nítrico sintase induzível  
KCl – cloreto de potássio  
LDL – lipoproteína de baixa densidade  
L-NAME – N<sup>o</sup>-nitro-L-arginina metil éster  
L-NMMA – N<sup>o</sup>-monomethyl-L-arginine  
MLCK – cadeia rápida da miosina  
MLC<sub>20</sub> – cadeia rápida da miosina  
MLV – músculo liso vascular  
NO – óxido nítrico  
nNOS – óxido nítrico sintase neuronal  
NOS – óxido nítrico sintase  
NPS – nitroprussiato de sódio  
O<sub>2</sub><sup>-</sup> - ânion superóxido  
OH<sup>-</sup> - íon hidroxil  
ONOO<sup>-</sup> - peroxinitrito  
PA – pressão arterial  
PAD – pressão arterial diastólica  
PAS – pressão arterial sistólica  
PCR – proteína C reativa  
PD – pressão diastólica  
PG – prostaglandina

PGI<sub>2</sub> – prostaciclina

PKG – proteína quinase dependente de GMPc

PKA – proteína quinase A

PRC – contração pós-pausa

PSIVE – pressão sistólica isovolumétrica do ventrículo esquerdo

1RM – uma repetição máxima

R<sub>máx</sub> – resposta máxima

ROS – espécies reativas de oxigênio

RS – retículo sarcoplasmático

RVP – resistência vascular periférica

RYR<sub>2</sub> – receptores de rianodina do retículo sarcoplasmático

SERCA – bomba de Ca<sup>+2</sup> do retículo sarcoplasmático

SHR – ratos espontaneamente hipertensos

8-SPT – 8-sulfophenyltheophylline

SRA – renina-angiotensina

TnI – troponina

TX – tromboxano

VCAM – molécula de adesão vascular

VE – ventrículo esquerdo

## Resumo

O exercício físico realizado de forma crônica é capaz de promover importantes adaptações benéficas no sistema cardiovascular. Dentre elas podemos destacar redução da pressão arterial (PA) de repouso e melhora na função ventricular e vascular. Recentemente, atenção tem sido dada também ao exercício físico realizado de forma aguda. Após uma única sessão de exercício aeróbio ocorre importante redução da PA de repouso e redução da reatividade vascular. No entanto, os efeitos cardíacos e vasculares de uma única sessão de exercício resistido (ER) são desconhecidos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a PA, a contratilidade miocárdica e a reatividade vascular após uma única sessão de ER. Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos (SHR) com 3 meses de idade (250 – 300g). A PA de repouso e após o exercício foi mensurada de forma direta nos animais acordados. *In vitro*, foram avaliadas as respostas vasculares das artérias aorta e caudal, a contratilidade de músculos papilares do ventrículo esquerdo (VE) e a contratilidade do coração isolado pela técnica de Langendorff após o ER agudo. Tais respostas foram avaliadas em 2 grupos experimentais: controle (Ct) e exercício (Ex). Os animais foram exercitados em aparato de agachamento conforme descrito por Tamaki e cols. (1992). Uma única sessão de ER promoveu importante queda a PA sistólica e diastólica quando comparado à condição pré-exercício ( $\Delta$  -  $79 \pm 1,8$ ; -  $23 \pm 2,3$  mmHg, respectivamente;  $P < 0,05$ ). Na artéria caudal o relaxamento induzido pela acetilcolina (ACh), avaliado pela sensibilidade ( $EC_{50}$ ) da curva dose-resposta, foi aumentado nos animais Ex ( $EC_{50} = 9,8 \pm 0,06$  log M,  $P < 0,05$ ) quando comparado aos animais Ct ( $EC_{50} = 8,7 \pm 0,1$  log M). A resposta máxima ( $R_{m\acute{a}x}$ ) à fenilefrina (FE) diminuiu na condição exercício (Ex:  $276 \pm 22$  mm Hg vs. Ct:  $439 \pm 18$  mm Hg,  $P < 0,05$ ). Tal resposta foi abolida após dano endotelial, assim como após a administração de L-NAME e indometacina. Na artéria aorta, o exercício reduziu o  $EC_{50}$  (Ex=  $-5,9 \pm 0,07$  vs. Ct=  $-5,3 \pm 0,06$  log M;  $P < 0,0001$ ) e a  $R_{m\acute{a}x}$  à ACh (Ex=  $53 \pm 1,6$  % vs. Ct=  $73 \pm 1,5$  %;  $P < 0,0001$ ). Tais respostas foram abolidas na presença de 8-SPT, antagonista dos receptores de adenosina ( $EC_{50}$ : Ex=  $-5,9 \pm 0,07$  vs. Ct=  $-5,3 \pm 0,06$  log M;  $P < 0,0001$ .  $R_{m\acute{a}x}$ : Ex=  $53 \pm 1,6$  vs. Ct=  $73 \pm 1,5$  %;  $P < 0,0001$ ). A  $R_{m\acute{a}x}$  à FE foi reduzida na condição Ex ( $95 \pm 7,9$  %;  $P < 0,008$ ) quando comparada à condição Ct ( $120 \pm 4,2$  %). Tal redução foi abolida após lesão endotelial e após administração de L-NAME (Ex=  $148 \pm 5,1$  g). O exercício aumentou a força desenvolvida por músculos papilares isolados (Ex:  $1,0 \pm 0,1$  vs. Ct:  $0,63 \pm 0,2$  g/mg,  $P < 0,05$ ). Nessa preparação, a contração pós-pausa (PRC) foi maior nos animais exercitados ( $4,1 \pm 0,4$  % g/mg,  $P < 0,05$ ) quando comparada aos animais controles ( $1,7 \pm 0,2$  % g/mg,  $P < 0,05$ ). Além disso, papilares de animais exercitados desenvolveram maior força mediante concentrações crescentes de isoproterenol que animais controles ( $P < 0,05$ ). Entretanto, a atividade da maquinaria contrátil avaliada pela força tetânica não foi alterada após o exercício (Ex:  $0,24 \pm 0,05$  vs. Ct:  $0,28 \pm 0,05$  g/mg,  $P > 0,05$ ). Na avaliação da contratilidade do coração isolado, os resultados obtidos demonstraram que o exercício agudo aumentou a pressão sistólica isovolumétrica do VE (PSIVE) em condições basais ( $\Delta$  +39 mmHg;  $P < 0,05$ ). Os animais exercitados apresentaram maior resposta à avaliação da regulação heterométrica pela curva de Frank-Starling no coração isolado ( $P < 0,05$ ). Mediante intervenção inotrópica ao cálcio e isoproterenol, a PSIVE foi maior nos animais exercitados que animais controles ( $P < 0,05$ ). Os resultados obtidos mostraram que uma única sessão de exercício resistido reduz a PA de repouso, melhora a função endotelial e aumenta a contratilidade miocárdica de ratos hipertensos.

### Abstract

The regular exercise elicits beneficial adaptations in the cardiovascular system, for example reducing resting arterial pressure (AP) and improving vascular and ventricular function. Recently, we investigated the effects of acute exercise after a single bout. After a single endurance exercise session a decrease of resting AP and of vascular reactivity occurs. However, the underlying mechanisms of cardiac and vascular effects evoked by a single resistance exercise (RE) session are unknown. Therefore, the aim of the present study was evaluate the AP, myocardial contractility and vascular reactivity after a single RE session. Spontaneously hypertensive rats (SHR) with 3 months of age weighting 250-300 g were used. The AP was measured in conscious animals. *In vitro*, we evaluated the tail and aortic vascular contractile responses, the contractility of papillary muscles of left ventricle (LV) and of the isolated heart perfused by the Langendorff technique after an acute RE, in 2 experimental groups: control (Ct) and exercise (Ex). The animals were exercised in an apparatus described previously by Tamaki e cols. (1992). A single RE session caused pronounced decrease of systolic and diastolic AP when compared to pre-exercise conditions ( $\Delta$  -  $79 \pm 1.8$ ; -  $23 \pm 2.3$  mmHg, respectively;  $P < 0.05$ ). In the tail artery, the vasodilator response induced by acetylcholine increased the sensitivity ( $EC_{50}$ ) of dose-response curve in Ex animals ( $EC_{50} = 9.8 \pm 0.06$  log M,  $P < 0.05$ ) when compared to Ct animals ( $EC_{50} = 8.7 \pm 0.1$  log M). The maximal response ( $R_{max}$ ) to phenylephrine decreased after the exercise session (Ex:  $276 \pm 22$  mm Hg vs. Ct:  $439 \pm 18$  mm Hg,  $P < 0.05$ ). This response was abolished after endothelial damage, as well as after L-NAME and indomethacin administration. In aortic rings, the exercise decrease the  $EC_{50}$  (Ex=  $-5.9 \pm 0.07$  vs. Ct=  $-5.3 \pm 0.06$  log M;  $P < 0.0001$ ) and the  $R_{max}$  to ACh (Ex=  $53 \pm 1.6$  % vs. Ct=  $73 \pm 1.5$  %;  $P < 0.0001$ ). These responses were abolished in presence of an adenosine receptor antagonist ( $EC_{50}$ : Ex=  $-5.9 \pm 0.07$  vs. Ct=  $-5.3 \pm 0.06$  log M;  $P < 0.0001$ .  $R_{max}$ : Ex=  $53 \pm 1.6$  vs. Ct=  $73 \pm 1.5$  %;  $P < 0.0001$ ). The  $R_{max}$  to FE was reduced after exercise ( $95 \pm 7.9$  % vs. Ct  $120 \pm 4.2$  %;  $P < 0,008$ ). This reduction was abolished after endothelial damage and after L-NAME administration. The exercise increased the force development of isolated papillary muscles (Ex:  $1.0 \pm 0.1$  vs. Ct:  $0.63 \pm 0.2$  g/mg,  $P < 0.05$ ). In this preparation, the post-rest contraction (PRC) was greater in exercised animals ( $4.1 \pm 0.4$ % g/mg vs. Ct:  $1.7 \pm 0.2$ % g/mg,  $P < 0.05$ ). Moreover, papillary muscles of exercised animals developed greater force with increasing isoproterenol concentrations ( $P < 0.05$ ). However, the contractile machinery activity evaluated by tetanic contraction was not altered after exercise (Ex:  $0.24 \pm 0.05$  vs. Ct:  $0.28 \pm 0.05$  g/mg,  $P > 0.05$ ). In the isolated perfused heart the exercise increased the left ventricle isovolumetric systolic pressure (LVISP) in baseline conditions ( $\Delta$  +39 mmHg;  $P < 0.05$ ). Exercised rats presented a greater response to the Frank-Starling mechanism with the progressive increase of diastolic pressure ( $P < 0.05$ ). Under positive inotropic intervention to calcium and isoproterenol the LVISP was greater in Ex animals ( $P < 0.05$ ). The results obtained in the present study showed that a single RE session decrease the resting AP, improves the endothelial function and increases myocardial contractility in SHR.

## 1. INTRODUÇÃO

O exercício físico é capaz de promover importantes benefícios no estado geral de saúde, atuando na prevenção, no controle e no tratamento de diversas morbidades (Pate e cols. 1995). Dentre esses benefícios podemos destacar a redução dos valores pressóricos de repouso, redução do LDL colesterol e aumento do HDL, aumento da densidade óssea, melhora na função ventricular, melhora no metabolismo da glicose e aumento no metabolismo basal (Pate e cols. 1995, Fletcher e cols. 1996). A natureza e a magnitude dessas adaptações estão relacionadas com tipo de exercício realizado (Tabela 1).

Tradicionalmente, os programas de exercício para promoção de saúde eram compostos, essencialmente, de exercícios dinâmicos para os membros inferiores, como caminhada, corrida e pedalagem. Acreditava-se que os efeitos do exercício resistido (musculação) eram limitados ao aumento da massa muscular (hipertrofia). Antes de 1990, o exercício resistido (ER) não era recomendado pelo “American College of Sports Medicine” (ACSM) e pelo “American Heart Association” para promoção de saúde e reabilitação (O’Connell e cols. 1986). Entretanto, nos últimos anos tem aumentado o número de estudos sobre os benefícios promovidos pelo exercício resistido nos diversos sistemas orgânicos (Pollock e cols. 2000). Dessa forma, a partir de 1990, o ACSM recomenda o ER como importante componente de um programa de exercício para adultos de todas as idades (American College of Sports Medicine position stand, 1990).

Os fatores de risco para doenças cardiovasculares estão associados com disfunção na estrutura cardiovascular, na complacência arterial e na função endotelial (Klein e cols. 2004). A alta prevalência de obesidade, hipertensão arterial, dislipidemias, diabetes tipo 2 e resistência à insulina está associada aos efeitos metabólicos da redução da massa muscular que ocorre em função da idade ou diminuição da atividade física (Klein e cols. 2004). Considerando que o músculo esquelético é o primeiro local para metabolização da glicose e triglicérides, esse tecido é um importante determinante da frequência metabólica de repouso (Nilsson-Ehle e cols. 1980, Dent e cols. 1990). Dessa forma, o aumento da massa muscular desencadeada pela prática regular do ER pode reduzir substancialmente diversos fatores de risco para doenças cardiovasculares (Wilson e cols. 1998). Importantes estudos têm demonstrado que a força muscular é inversamente associada com todas as causas de mortalidade cardiovascular e com a prevalência da síndrome metabólica (Fitzgerald e cols. 2004). Isso ocorre independentemente do nível de aptidão cardiorrespiratória. Atualmente, portanto, recomenda-se a adoção do ER associado ao exercício de resistência aeróbia quando

se tem por objetivo a promoção de saúde e prevenção de doenças cardiovasculares (Braith & Stewart 2006).

**Tabela 1. Comparação dos efeitos do treinamento aeróbio e resistido.**

VARIÁVEL	EXERCÍCIO AERÓBIO	EXERCÍCIO RESISTIDO
<b>Densidade mineral óssea</b>	+	+++
<b>Composição corporal</b>		
Massa magra	NS	++
Massa gorda	--	-
<b>Força</b>	-	+++
<b>Metabolismo da glicose</b>		
Níveis basais de insulina	-	-
Sensibilidade à insulina	++	++
<b>Lipídeos séricos</b>		
HDL	+	+
LDL	-	-
<b>FC repouso</b>	--	NS
<b>PA repouso</b>		
Sistólica	--	-
Diastólica	--	-
<b>Metabolismo basal</b>	+	++

+: aumento, -: redução, NS: alteração não-significativa, HDL: lipoproteína de alta densidade, LDL: lipoproteína de baixa densidade, FC: frequência cardíaca, PA: pressão arterial. Tabela adaptada de Braith & Stewart (2006).

### 1.1. Exercício resistido

O ER é conhecido popularmente por musculação, exercício localizado, exercício de força ou levantamento de pesos. Ele é caracterizado pela contração muscular de determinado segmento corporal contra determinada força contrária. O objetivo da realização desse tipo de exercício é o aumento de força e resistência muscular. O ER pode ser realizado através de equipamentos de levantamento de peso, pesos livres, elásticos e até mesmo do próprio peso corporal. Geralmente o ER é composto de séries separadas por intervalos de variável duração.

As séries são seqüências contínuas de repetições de movimentos. De acordo com suas características mecânicas, o ER pode ser classificado como dinâmico ou estático. No exercício dinâmico ou isotônico, a tensão muscular é mediada pelo movimento articular. Entretanto, a contração estática ou isométrica produz tensão muscular sem movimento articular. Na prática diária o ER é caracterizado pela combinação de ambas as formas, às quais variam de acordo com a magnitude de esforço requerido para levantar o peso (Fleck & Kraemer 1997, Kraemer e cols. 2002).

No início do movimento existe uma contração estática até a força muscular exceder o peso do objeto a ser levantado. Esse movimento é seguido pela contração dinâmica (encurtamento) para levantar o peso e em seguida ocorre uma contração excêntrica para abaixar o peso.

A intensidade do ER é extremamente importante, pois exerce direta influência nas respostas e adaptações musculares e cardiovasculares (Franklin e cols. 1991). Esse parâmetro é determinado pela porcentagem de uma contração voluntária máxima (CVM) ou uma repetição máxima (1RM). A CVM ou 1RM é o peso máximo levantado apenas uma vez pelo indivíduo. Dessa forma, exercícios de baixa intensidade permitem a execução de altos números de repetições, enquanto o exercício de alta intensidade permite reduzido número de repetições. Exercício de baixa intensidade é predominantemente dinâmico e promove adaptações benéficas principalmente na resistência muscular esquelética. Dessa forma, esse tipo de exercício é conhecido exercício de resistência muscular. Em contrapartida, exercícios de alta intensidade são predominantemente estáticos e promovem, principalmente, aumento da força muscular esquelética. Portanto, são chamados de exercício de força ou exercício de hipertrofia (Kraemer e cols. 2002). A prescrição do ER para prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares deve considerar primeiramente todos esses parâmetros (Pollock e cols. 2000).

Para melhor compreensão das adaptações cardiovasculares promovidas pelo ER é necessário primeiramente revisar a fisiologia do músculo cardíaco e do endotélio vascular.

## **1.2. O endotélio vascular**

Os vasos sanguíneos são formados por 3 camadas ou túnicas altamente diferenciadas. A túnica íntima, em contato com o sangue, é formada pelo endotélio e está separada da camada média por uma lâmina elástica interna. A camada média é formada basicamente por

células musculares lisas. A túnica adventícia reveste o vaso externamente e é formada por fibroblastos, fibras colágenas e terminações nervosas (Burton 1954).

O endotélio é formado por uma camada única e contínua de células epiteliais que separa o sangue da parede vascular e do interstício (Maximow 1924). Dessa forma, as células endoteliais em conjunto formam a túnica íntima de todos os vasos sanguíneos e linfáticos e revestem interiormente o coração (Frontali 1950).

O endotélio vascular não atua apenas como uma barreira celular. Ele desempenha diversas e importantes funções que garantem a homeostase vascular (Furchgott 1983, Bazzoni e Dejana 2004). Atua na conservação do fluxo sanguíneo laminar, preserva a fluidez da membrana plasmática, promove mecanismos anticoagulantes, inibe a proliferação e migração celular. Além disso, modula funções, como inflamação, coagulação e controle de fluxo sanguíneo local. Através do devido balanço entre a liberação de substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras, o endotélio exerce ainda importante função na manutenção do tônus vascular e da homeostase intravascular (Furchgott 1983).

### **1.2.1. Fatores reguladores do tônus vascular**

#### **1.2.1.1. Óxido nítrico**

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, que se difunde facilmente através das membranas celulares e possui potente efeito vasodilatador (Moncada e cols. 1988). O NO é universalmente aceito como um importante regulador do tônus vascular, permeabilidade capilar e adesão plaquetária (Moncada e cols. 1988). É produzido a partir da L-arginina (Fig. 1) pela ação da enzima NO sintase (NOS) (Palmer et al. 1988 a, b). A tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>), calmodulina, flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e flavina adenina mononucleotídeo (FMN) são co-fatores na reação de síntese do NO (Palmer et al. 1988).

Existem pelo menos 3 isoformas da NOS, as quais se diferenciam quanto sua expressão e atividade (Marletta 1993). Duas delas são expressas de forma constitutiva nas células (cNOS) e a outra isoforma é induzida por estímulos inflamatórios. A atividade da cNOS é dependente do complexo cálcio-calmodulina (Marletta 1994), ao contrário da iNOS. Esta última é conhecida como NOS induzível (iNOS) – tipo II. A NOS endotelial (eNOS – tipo III) e a NOS neuronal (nNOS – tipo I) são as isoformas constitutivas. A eNOS é encontrada em células endoteliais (Palmer e cols. 1988) e plaquetas (Radomski e cols. 1990).

A nNOS é expressa em células do sistema nervoso central e periférico e em células epiteliais da traquéia e brônquio (Knowles e cols. 1989). A iNOS é expressa em macrófagos, células endoteliais, neutrófilos e em células musculares lisas durante processo inflamatório (Knowles e Moncada 1994). Dependendo das concentrações de L-arginina, a iNOS é capaz de produzir NO, ânion superóxido ( $O_2^-$ ) ou ainda, ambos. A interação entre NO e  $O_2^-$  forma peroxinitrito ( $ONOO^-$ ). Na ausência L-arginina e  $BH_4$ , as isoformas constitutivas também são capazes de sintetizar  $O_2^-$  e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (Andrey e Mayer 1999).

O NO é produzido em condições fisiológicas pelo endotélio vascular de todos os vasos sanguíneos através do estímulo de diversos agonistas e através do estresse de cisalhamento do fluxo sanguíneo no endotélio da parede vascular. Sendo assim, mudanças na produção desse agente vasoativo podem ser evocadas em função de forças mecânicas atuantes na parede vascular (Furchgott e Zawadzki 1980, Moncada e cols. 1991, Rubanyi e cols. 1993, Hisamoto e cols. 2001).

A meia-vida do NO é de aproximadamente 6 segundos, dessa forma, sua ação é limitada ao local de sua produção (Archers 1993). O aumento dos níveis citosólicos de cálcio ( $Ca^{+2}$ ) é o estímulo inicial para síntese de NO (Lopez-Jaramillo e cols. 1990). O complexo  $Ca^{+2}$ -calmodulina promove aumento na atividade da cNOS com conseqüente formação de NO, o qual se difunde para as células musculares lisas vasculares adjacentes, ativando a enzima guanilato ciclase solúvel (Bredt e Snyder 1990). Esta enzima possui um grupo heme, o qual se une ao NO promovendo alteração conformacional de sua estrutura, o que por sua vez ativa seu centro catalítico e ocorre a conversão de 5'-trifosfato de guanosina (GTP) em 3'5'-monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) (Bredt e Snyder 1990). Nas células musculares lisas, o GMPc ativa a proteína quinase dependente de GMPc (PKG) (Bredt e Snyder 1990), a qual produz a fosforilação de diversas proteínas que agem no sentido de reduzir a concentração de  $Ca^{+2}$  livre intracelular e a sensibilidade da maquinaria contrátil ao  $Ca^{+2}$ , ocorrendo o efeito vasorelaxante (Katsuki e cols. 1977, Rapoport e Murad 1983). Nesse sentido, a PKG ativa canais de  $K^+$  dependentes de  $Ca^{+2}$ , promovendo hiperpolarização da membrana celular e inibição do influxo de  $Ca^{+2}$  através dos canais de  $Ca^{+2}$  voltagem-dependentes. Estes canais podem ser também fosforilados diretamente pela PKG, impedindo o influxo de  $Ca^{+2}$  por eles. A PKG atua também nas proteínas  $Ca^{+2}$ -ATPases da membrana plasmática e do retículo sarcoplasmático (SERCA). A PKG atuando nessas proteínas na membrana plasmática celular promove a saída de  $Ca^{+2}$ , enquanto que sua ação na membrana do retículo desencadeia a recaptação do  $Ca^{+2}$  para seu interior. Além disso, a PKG fosforila o receptor  $IP_3$  na membrana do retículo sarcoplasmático, desencadeando a saída para o

citoplasma e reduzindo assim, sua atividade. Nas proteínas contráteis, a PKG fosforila a proteína quinase da cadeia rápida da miosina (MLCK), o que diminui sua atividade e reduz a fosforilação da cadeia rápida da miosina (MLC<sub>20</sub>), inibindo a contração muscular (Rapoport e Murad 1983, Ignarro 1991).

Além do estresse de cisalhamento, a produção de NO pode ser estimulada também por fatores humorais e fatores de crescimento, incluindo acetilcolina, bradicinina, estrogênio, angiotensina II e substância P, dentre outros. É importante ressaltar que a ação do NO não é apenas dependente da guanilato ciclase solúvel. Ele pode também promover ativação direta de canais de K<sup>+</sup> dependentes de Ca<sup>+2</sup>, inibição da citocromo C oxidase e da enzima conversora de angiotensina (ECA) (Furchgott e Zawadzki 1980, Moncada e cols. 1991, Hisamoto e cols. 2001).

Dessa forma, o NO está envolvido na regulação do tônus vascular e da resistência periférica, contribuindo assim, para a o controle da pressão arterial (PA) (Rees e cols. 1989). O NO participa também na modulação da contratilidade cardíaca (de Belder e cols. 1993), em mecanismos anti-ateroscleróticos, inibe a agregação plaquetária e adesão da parede vascular (Radomski e cols. 1987) e previne a liberação do fator de crescimento derivado de plaquetas (Moncada e cols. 1988), o qual estimula a proliferação de células musculares lisas. Estas ações contribuem para redução da trombose e do recrutamento de leucócitos, além de outras ações vasoprotetoras do NO (Radomski e Moncada 1993).

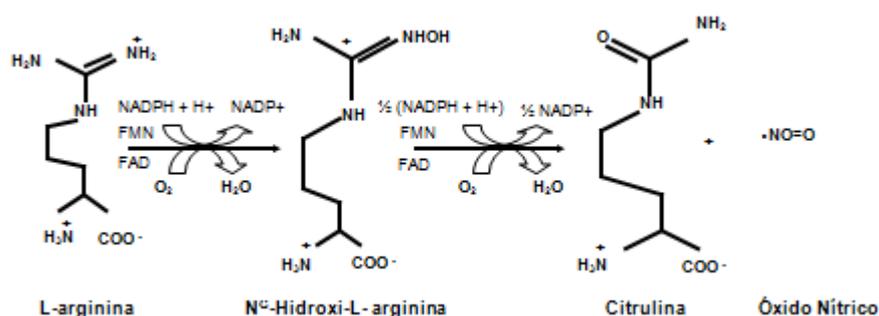


Fig. 1. Reação de síntese do óxido nítrico

#### 1.2.1.2. Prostanóides

Os prostanóides também são fatores implicados na regulação do tônus vascular tanto em condições fisiológicas quanto patológicas (Moncada e Vane 1979). Através de receptores

acoplados à proteína G, os prostanóides estão envolvidos em diversas funções fisiológicas como maturação do óvulo, indução do parto, geração de febre, regulação da agregação plaquetária e relaxamento e contração do músculo liso vascular (MLV) (Horton 1969).

Os prostanóides são eucosanóides (do grego eicosa, vinte, com referência à 20 carbonos na estrutura de sua molécula) sintetizados pela enzima prostaglandina H sintase, também conhecida como ciclooxigenase (COX) (Anggård e Samuelsson 1965). Vale ressaltar que os eucosanóides compreendem também os produtos das enzimas lipoxigenases (leucotrienos, lipoxinas e lipoxenos) e epoxigenas (epoxiácidos) a partir do ácido araquidônico (AA) (Ramwell e cols. 1977). No entanto, na presente revisão serão abordados apenas os produtos da COX. O AA libera fosfolípídeos da membrana através da ação de fosfolipase A<sub>2</sub> (Ramwell e cols. 1977) (Fig.2). Em seguida, a COX transforma o AA em prostaglandina (PG) H<sub>2</sub>. As isomerases existentes em cada tipo celular determinarão a produção de cada um dos prostanóides existentes. No endotélio vascular a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) é o principal prostanóide sintetizado (Herman e cols 1977). Sua produção depende diretamente da atividade da COX e da disponibilidade de AA. A COX forma PGG<sub>2</sub> através da incorporação do O<sub>2</sub> ao AA pela sua atividade catalítica ciclooxigenase. Através de sua atividade catalítica peroxidase, a COX catalisa a redução de PGG<sub>2</sub> a PGH<sub>2</sub> e a partir deste último composto a PGI<sub>2</sub> é formada. A COX possui 2 isoformas, a COX-1 e COX-2 (O'Neill e Ford-Hutchinson 1993). A primeira isoforma está presente de forma constitutiva na maioria das células. A expressão da COX-2 é induzida por diversos fatores como interleucina-1β, lipopolissacarídeos, fator de necrose tumoral-α, interferon-γ e fatores de crescimento. O estresse de cisalhamento na parede do vaso também induz a síntese da COX-2 (Horton 1969).

Após sua produção, os prostanóides são liberados das células através de transportadores e exercem seus efeitos através de receptores na célula do MLV (Nechifor Mungiu 1977). Existem 8 tipos de receptores para prostanóides: TP para tromboxano (TX) A<sub>2</sub>, IP para PGI<sub>2</sub>, FP para PGF<sub>2α</sub>, DP para PGD<sub>2</sub> (Nechifor Mungiu 1977, Narumiya e cols. 1999). Para PGE<sub>2</sub> existem 4 subtipos de receptores EP (EP<sub>1</sub> – EP<sub>4</sub>). Todos esses receptores são agrupados em 3 grupos de acordo com as propriedades a eles atribuídas. IP, EP<sub>2</sub>, DP e EP<sub>4</sub> provocam relaxamento vascular mediante sua ativação. Estão acoplados à proteína G<sub>s</sub> e sua ativação estimula a adenilato ciclase (AC), aumentando assim, o AMP<sub>c</sub> e promovendo o efeito vasorelaxante. Os receptores EP<sub>1</sub>, FP e TP estão acoplados à proteína G<sub>q</sub> e estão envolvidos no aumento do Ca<sup>+2</sup> intracelular promovendo vasoconstrição. O receptor EP<sub>3</sub> está acoplado à proteína G<sub>i</sub> e sua ativação inibe a AC, reduzindo os níveis de AMP<sub>c</sub> e promovendo também vasoconstrição. É importante ressaltar que os receptores TP podem ser

estimulados também por outros prostanóides como  $\text{PGI}_2$ ,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e  $\text{PGE}_2$ . Esses receptores podem ser estimulados ainda por isoprostanos, os quais são isômeros da  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Os isoprostanos são produzidos por radicais livres a partir de ácidos graxos poliinsaturados por mecanismo não enzimático. Além disso, há evidências de que os isoprostanos podem ser sintetizados através de uma via dependente da COX (Narumiya e cols. 1999).

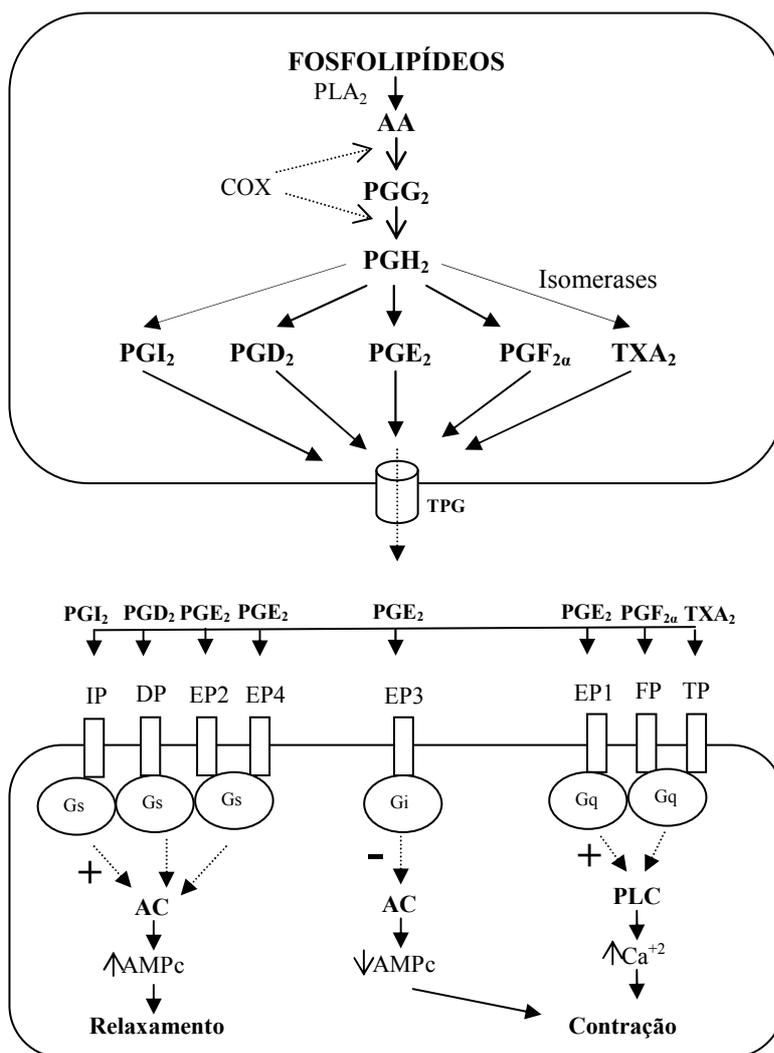


Fig. 2. Síntese e mecanismo de ação de prostanóides. AA: ácido araquidônico, AC: adenilato ciclase,  $\text{PLA}_2$ : fosfolipase  $A_2$ , TPG: transportador de prostaglandinas, PLC: fosfolipase C. Adaptado de Davidge (2001).

Em condições fisiológicas, a síntese de prostanóides vasoconstritores e vasodilatadores gerados pela COX é realizada de forma equilibrada, objetivando a manutenção do tônus vascular. Em algumas situações patológicas, como a hipertensão

arterial (HA), a produção de prostanóides com propriedades contráteis está aumentada (Moncada e Higgs 1987).

### 1.2.1.3. Sistema renina-angiotensina e Espécies reativas de oxigênio

O sistema renina-angiotensina (SRA) é universalmente conhecido como um sistema hormonal presente na corrente sanguínea e nos tecidos que participam da regulação da PA (Klaus 1964). Originalmente foi considerado um sistema circulante, entretanto tem sido demonstrada a existência de um SRA local em diferentes tecidos como cérebro, rim, córtex da adrenal, coração e vasos sanguíneos (Bader e cols. 2001). A angiotensina (Ang) II é o efetor principal do SRA. É sintetizada pela ação das enzimas renina e ECA. Recentemente foi descrita outra isoforma da ECA, a ECA2, a qual vai transformar Ang II em Ang II(1-7) (Donoghue e cols. 2000). Os receptores da Ang II são classificados em 2 subtipos: AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> (Murphy e cols. 1991, Mukoyama e cols. 1993). Em roedores é possível identificar 2 subtipos do receptor AT<sub>1</sub>: AT<sub>1a</sub> e AT<sub>1b</sub> (Iwai & Inagami 1992). A maioria das ações da AngII são mediadas por receptores AT<sub>1</sub>. Dessa forma, através da interação com esses receptores, a AngII media importantes funções renais, cardíacas e vasculares. Dentre elas podemos citar a secreção de vasopressina e aldosterona. Além disso, participa na regulação do tônus vascular, provocando importante resposta vasoconstritora, promove crescimento celular, apoptose, migração celular e tem ação pró-inflamatória. A interação com receptores AT<sub>2</sub> provoca ações distintas e algumas vezes antagônicas àquelas observadas com receptores AT<sub>1</sub> (Touyz e Schiffrin 2000).

As espécies reativas de oxigênio (ROS) também participam da regulação do tônus vascular (Rubanyi e Vanhoutte 1986). Estas são moléculas derivadas do oxigênio e degradadas por enzimas antioxidantes, caracterizadas pela presença de elétrons desemparelhados e são produzidas em todas as células que utilizam oxigênio. As ROS participam de mecanismos de sinalização celular, promovendo ações como contração muscular, expressão gênica e proliferação, migração e morte celular (Taniyama e Griendling 2003). As principais ROS compreendem o O<sub>2</sub><sup>-</sup>, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o íon hidroxil (OH<sup>-</sup>) e o ONOO<sup>-</sup>. O O<sub>2</sub><sup>-</sup> pode prejudicar o relaxamento vascular pela inativação do NO. Dessa forma, ele tem sido implicado na geração da HA e outras doenças cardiovasculares (Kontos e Hess 1983). A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> medeia ações vasodilatadoras e vasoconstritoras, dependendo do território vascular (Wei e Kontos 1990, Gao e Lee 2001). Sua ação vasodilatadora é devida à sua capacidade de

estimular a síntese de NO e de promover a abertura de canais de  $K^+$  (Matoba e cols. 2000, Jaimes e cols. 2001). Dessa forma, a  $H_2O_2$  tem sido descrita como um possível EDHF (Matoba e cols. 2000, Matoba e cols. 2002). O  $ONOO^-$  é o produto da rápida reação do NO com o  $O_2^-$ . O  $ONOO^-$  pode mediar efeitos vasodilatadores e vasoconstritores (Sobey e cols 1997).

Em condições fisiológicas ocorre um equilíbrio entre a formação das ROS e sua degradação por enzimas antioxidantes, evitando assim aumento na disponibilidade de ROS e conseqüentemente estresse oxidativo (Fridovich 1978).

#### 1.2.1.4. Endotelina e Fator hiperpolarizante derivado do endotélio

As endotelinas (ET) são representadas por uma família de peptídeos reguladores com potente ação vasoconstritora sintetizadas por células endoteliais e musculares lisas (Yanagisawa e cols. 1988). Dentre as 3 isoformas da ET (ET-1, ET-2 e ET-3), a ET-1 é a principal sintetizada no músculo liso (Hirata 1989). Seus efeitos são mediados através de 2 subtipos de receptores que se expressam nas células musculares lisas –  $ET_A$  e  $ET_B$ . O receptor  $ET_A$  é expresso em maior magnitude e é responsável pela vasoconstrição e regulação do crescimento celular. Os receptores  $ET_B$  induzem vasodilatação através da síntese de NO e  $PGI_2$  em células endoteliais (Chen e cols. 2003). Os efeitos das ET são mediados pela ativação da fosfolipase C com conseqüente liberação de  $Ca^{+2}$  pelo retículo sarcoplasmático (Resink e cols. 1988). Semelhantemente a outros hormônios, as ET derivam de pré-hormônios polipeptídicos e a última clivagem é realizada pela enzima conversora da endotelina (Van Renterghem e cols. 1988). Dentre os estímulos para a produção de ET estão o estresse de cisalhamento na parede do vaso, hipóxia, trombina, Ang II, vasopressina, noradrenalina e bradicinina (Goto e Warner 1995).

Outro fator que participa do controle do tônus vascular é o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). Esse fator liberado pelo endotélio hiperpolariza e relaxa o MLV (Furchgott 1990). Sua atuação parece ser mais evidente em artérias de resistência e arteríolas (Shimokawa e cols. 1996). Sua ação vasodilatadora é mediada pela ativação de canais de  $K^+$  dependentes de  $Ca^{+2}$ , provocando a hiperpolarização da célula. Diversos agentes vasodilatadores, incluindo o NO, promovem relaxamento vascular através da hiperpolarização do MLV (Furchgott & Vanhoutte). Dessa forma, muitos esforços têm sido feito para identificação do EDHF e até o presente momento não foi possível determinar o

agente responsável pela hiperpolarização e relaxamento do MLV em vasos de pequeno diâmetro (Griffith e cols. 1984, Furchgott 1987). Especula-se que o EDHF pode ser os ácidos epoxieicosatrienóico ou hidroxieicosatetraenóico sintetizados pela epoxigenase e lipoxigenase, respectivamente. Outros possíveis candidatos ao EDHF são o íon  $K^+$  e a  $H_2O_2$  (Bryan e cols. 2005). A participação dos diferentes EDHF no relaxamento vascular dependerá do tipo de vaso e da espécie animal estudada.

Momento a momento o endotélio vascular libera, de forma balanceada, fatores vasodilatadores e vasoconstritores com intuito de manter a homeostase vascular. Alterações nesse balanço podem comprometer a integridade do vaso, ocasionando injúria vascular denominada disfunção endotelial. A disfunção endotelial contribui para gênese e/ou manutenção de patologias vasculares como a HA (Hladovec 1989).

### **1.2.2. Alterações vasculares decorrentes da hipertensão arterial**

A HA continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública no Brasil e no mundo. É caracterizada por valores de pressão arterial  $\geq 140/90$  mmHg com ou sem uso atual de medicamentos anti-hipertensivos (V Diretrizes brasileiras de hipertensão). A tabela 2 mostra a classificação da HA de acordo com as Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. A HA é associada com aumento da incidência de todas as doenças cardiovasculares, como acidente vascular cerebral, doença cardíaca coronariana, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica e insuficiência renal. O “Framingham Heart Study” evidenciou que indivíduos com valores de PA sistólica entre 130 a 139 mmHg e PA diastólica entre 85 a 89 mmHg possui maior chance de eventos cardiovasculares que indivíduos com níveis ótimos de PA (sistólica  $<120$  mmHg e diastólica  $<80$  mmHg) (Vasan e cols. 2001). De acordo com o DATASUS, de janeiro/2006 a março/2006 houve 2.768.540 internações, sendo 9,9% proveniente de doença cardiovascular e 10,5% causadas diretamente pela HA. Das demais internações por problemas cardiovasculares, 80% estavam relacionadas à HA como principal fator de risco. Atualmente o SUS gasta R\$ 1.644,42 para uma internação por infarto do miocárdio, R\$ 622,48 por acidente vascular encefálico, R\$ 745,74 por insuficiência cardíaca e R\$ 216,33 para crise hipertensiva, entre outros gastos, para a recuperação de quadro agudo, por complicação da pressão arterial não-controlada.

Vale ressaltar também que a PA de repouso, história familiar de HA, índice de massa corporal e a prática de exercício físico são importantes preditores para o desenvolvimento futuro de HA (Burt e cols. 1995).

**Tabela 2. Classificação da hipertensão arterial - V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (2006).**

<b>CLASSIFICAÇÃO</b>	<b>PAS (mmHg)</b>	<b>PAD (mmHg)</b>
<b>Ótima</b>	< 120	< 80
<b>Normal</b>	< 130	< 85
<b>Limítrofe</b>	130-139	85-89
<b>Hipertensão Estágio I</b>	140-159	90-99
<b>Hipertensão Estágio II</b>	160-179	100-109
<b>Hipertensão Estágio III</b>	≥ 180	≥ 110
<b>Hipertensão sistólica isolada</b>	≥ 140	< 90

---

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. Retirado de V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial.

O endotélio vascular pode ser considerado o maior órgão-alvo da HA (Rizzoni e cols. 1998). Recentemente cresceram as evidências de que a disfunção endotelial está envolvida tanto na gênese quanto no desenvolvimento da HA, podendo ser a causa e a consequência dessa doença. Observa-se que na HA ocorre um desequilíbrio entre a produção de fatores endoteliais, de modo que os fatores vasoconstritores são produzidos em maior magnitude que os vasodilatadores. Dessa forma, o relaxamento dependente do endotélio está prejudicado em hipertensos (Luscher e cols. 1987, Lee e Webb 1992, Luscher e cols. 1998, Bautista 2003).

Considerando que a HA está associada à importante processo inflamatório da parede vascular, ela deve pode ser considerada uma doença inflamatória (Boos e Lip 2006). A proteína C reativa (PCR) é um importante marcador de disfunção endotelial (Blake e Ridker 2003). Dessa forma, níveis elevados de PCR pode ser um fator preditivo para o desenvolvimento da HA em indivíduos aparentemente normotensos (Sesso e cols. 2003). Isso sugere que a disfunção endotelial pode preceder desenvolvimento subsequente da hipertensão (Sesso e cols. 2003). O aumento da PCR estimula a liberação interleucina-1 $\beta$ , interleucina-6 e

fator de necrose tumoral- $\alpha$  por monócitos ativados, assim como a expressão de ICAM-1 (molécula de adesão intracelular) e VCAM-1 (molécula de adesão vascular) pelas células endoteliais (Ballou e Lozanski 1992). Além disso, a PCR promove importante redução da transcrição de eNOS nas células endoteliais e causa prejuízo funcional do RNA mensageiro da eNOS, reduzindo da liberação basal de NO (NO constitutivo) e estimulado (NO induzível) pelo endotélio (Ikeda e cols. 2003). A diminuição da produção do NO parece ser o fator-chave para a disfunção endotelial observada na HA (Chou e cols. 1998, Dowell e cols. 1999). Em contrapartida, alguns estudos mostram aumento na produção de NO na HA (Briones e cols. 2000, Rossoni e cols. 2002), o que pode ser explicado como mecanismo compensatório frente ao aumento da pressão arterial. Inibidores endógenos da NOS são encontrados no plasma de pacientes hipertensos e um aumento nos seus níveis tem sido associado com aumento do risco cardiovascular (Schulze e cols. 2006). Schlaich e cols. (2004) demonstraram que na HA há deficiência nos transportadores de L-arginina através da membrana celular, reduzindo assim o substrato para eNOS e prejudicando o relaxamento dependente do endotélio. Em aortas de ratos hipertensos há evidências de redução da expressão da guanilato ciclase (GC) com conseqüente diminuição dos níveis de GMPc e da resposta ao NO (Ruetten e cols. 1999). Ainda, em aortas de ratos hipertensos tem sido observado tanto redução na expressão da eNOS (Chou e cols. 1998) quanto aumento de sua expressão (Vaziri e cols. 2000). No que se refere à expressão da iNOS e nNOS, os estudos mostram que está aumentada nos diversos modelos de hipertensão (Boulanger e cols. 1998, Rossoni e cols. 2002)

Atualmente o mecanismo mais aceito para explicar a disfunção endotelial presente na HA é a redução da biodisponibilidade do NO devido a um aumento do seu metabolismo por  $O_2^-$  (Kerr e cols. 1998, Bauersachs e cols. 1998) e pelo aumento da ação de prostanóides vasoconstritores (Dohi e cols. 1996, Zhou e cols. 1999).

O incremento na síntese de prostanóides vasoconstritores derivados da COX também está associado a HA, podendo ser responsável pelo prejuízo no relaxamento dependente do endotélio (Vanhoutte e Boulanger 1995, Taddei e cols. 1997). Esse aumento na produção de prostanóides vasoconstritores pode ser atribuído ao aumento na expressão da COX-1 e COX-2 (Ge e cols. 1995, Henrion e cols. 1997). Além disso, pode ocorrer aumento na sensibilidade aos prostanóides vasoconstritores devido ao aumento na sensibilidade da maquinaria contrátil ao  $Ca^{+2}$  (Ungvari e Koller 2000).

Considerando que a AngII produz vasoconstrição, assim como crescimento, inflamação, migração e fibrose celular, ela pode ter um importante papel no desenvolvimento

da HA e de outras doenças cardiovasculares (Taddei e cols. 1991). Os achados mostram que a AngII tem determinante participação no remodelamento vascular presente na HA (Watanabe e cols. 2005).

Outra condição associada à patogênese da HA é o estresse oxidativo, o qual está presente mediante acúmulo de ROS (Sedeek e cols. 2003). Na HA essencial são observados níveis elevados de  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  (Lacy e cols. 1998). O  $O_2^-$ , por sua vez, reage com o NO e forma  $ONOO^-$ , reduzindo a quantidade e a biodisponibilidade do NO. Esse mecanismo explica a redução do relaxamento dependente do endotélio observado na HA. Os fatores responsáveis pelo estresse oxidativo na hipertensão é redução dos sistemas varredores de ROS e/ou aumento na atividade de suas enzimas geradoras (Vega e cols. 1995, Dhalla e cols. 2000). Alguns fatores envolvidos na produção de ROS são a AngII, fatores de crescimento e citocinas inflamatórias (Thannickal e Fanburg 2000).

Além das alterações funcionais, a hipertensão produz mudanças estruturais e bioquímicas na parede vascular. Em vasos de resistência, o aumento na resistência periférica promove remodelamento vascular com diminuição do diâmetro do vaso e aumento da relação média/lúmen com conseqüente aumento na área de secção transversa da túnica média (Mulvany 2002). Nesse caso, pode ocorrer também aumento na síntese de matriz extracelular, principalmente de colágeno e fibronectina. A atividade das metaloproteinases também pode estar reduzida com a hipertensão, diminuindo assim, a degradação das proteínas da matriz extracelular na túnica média (Touyz 2005).

### **1.3. O músculo cardíaco**

O músculo cardíaco ou miocárdio é o principal constituinte dos átrios e ventrículos. A maioria das células cardíacas é especializada em contrair-se. Estas são chamadas de miócitos e são responsáveis pelo trabalho mecânico de bombear o sangue.

Os miócitos são constituídos, principalmente pelo sarcômero, o qual totaliza 50% da massa celular. Ele se repete de forma organizada na célula e é responsável pelo processo contrátil. De forma semelhante ao músculo esquelético, o músculo cardíaco possui aparência estriada devido ao perfeito alinhamento das unidades repetidas do sarcômero. Este é constituído de miofibrilas dispostas longitudinalmente ao longo do citoplasma, as quais são constituídas por proteínas contráteis, regulatórias e estruturais (Katz 1970).

As proteínas contráteis que compõem o sarcômero são representadas pelo miofilamento fino, composto pela actina e o complexo regulatório troponina-tropomiosina, assim como o miofilamento grosso, constituído pela miosina. A actina possui sítios ativos que se interagem com a miosina. A interação entre estes miofilamentos promove o encurtamento do músculo cardíaco gerando força de contração. Tal evento é a resposta final de uma seqüência de eventos desencadeados pelo estímulo elétrico que gera o potencial de ação cardíaco. A esse processo dá-se o nome de acoplamento excitação-contração.

Através de alterações da permeabilidade do sarcolema aos íons sódio, potássio, cálcio e cloreto decorrentes de mudanças na voltagem celular, o miócito é capaz de gerar potenciais de ação. Dessa forma, o potencial de ação cardíaco tem início com a excitação do sarcolema, o que leva à abertura de canais de  $\text{Ca}^{+2}$  voltagem-dependentes do tipo-L, através dos quais, pequena quantidade de íon entra na célula. No início da contração cardíaca, o  $\text{Ca}^{+2}$  citoplasmático liga-se aos receptores de rianodina do retículo sarcoplasmático ( $\text{RYR}_2$ ), promovendo a liberação de grande quantidade de  $\text{Ca}^{+2}$ , o qual por sua vez ativará os miofilamentos contráteis. Tal resposta é denominada liberação de  $\text{Ca}^{+2}$ - $\text{Ca}^{+2}$  induzida (Fabiato 1985). Para que ocorra a contração cardíaca os íons  $\text{Ca}^{+2}$  devem interagir com os sítios ativos da actina. Estes se encontram bloqueados pela tropomiosina durante o repouso. A tropomiosina liga-se à troponina que, por sua vez, possui três subunidades. Quando a subunidade I da troponina (TnI) interage com a tropomiosina, o sítio ativo da actina é inibido. A subunidade C da troponina (TnC) possui alta afinidade pelo íon  $\text{Ca}^{+2}$ . Em virtude do aumento de sua concentração no citoplasma do miócito, o cálcio se difunde em direção às miofibrilas e se liga ao miofilamento fino com a TnC com conseqüente afastamento da tropomiosina e remoção da inibição da interação entre actina e miosina. Durante a contração, a TnC se liga ao  $\text{Ca}^{+2}$ , a tropomiosina é afastada removendo a inibição à ligação de actina e miosina. Ainda na presença da ligação  $\text{Ca}^{+2}$ -troponina C, uma outra subunidade da troponina encontra-se ligada à tropomiosina, a TnT. A interação entre troponina T e tropomiosina faz com que essa última se desloque expondo o sítio de ligação da actina. É então que a miosina se liga à actina promovendo a contração (Huxley e Hanson 1954, Solaro & Rarick 1998, Moss e cols. 2004).

Durante a diástole a maioria das pontes cruzadas entre os miofilamentos contráteis estão fisicamente bloqueadas pelo próprio filamento fino. Além disso, observa-se a presença de pontes cruzadas ligadas de forma fraca e incapaz de gerar força. Durante a sístole o cálcio liga-se a sítios protéicos regulatórios que permitirão a liberação do estado físico de bloqueio dos miofilamentos contráteis (Solaro e Rarick 1998).

O relaxamento da fibra ocorre pela remoção do cálcio citosólico através 4 sistemas de transporte. O principal é a bomba de  $\text{Ca}^{+2}$  ( $\text{Ca}^{+2}$  ATPase) do retículo sarcoplasmático (SERCA-2a). Ela recapta o  $\text{Ca}^{+2}$  e o re-armazena no seu interior. O bombeamento do  $\text{Ca}^{+2}$  pela SERCA-2a é influenciado pelo estado de fosforilação da fosfolambam, proteína associada à SERCA-2a (Kirchberber e cols. 1975). Quando não fosforilada, a fosfolambam inibe a SERCA-2a. Quando fosforilada a fosfolambam deixa de inibir a SERCA-2a que capta  $\text{Ca}^{+2}$  para o interior do retículo sarcoplasmático (RS) promovendo o relaxamento da fibra (Frank e cols 2003, Yano e cols. 2005). Um segundo sistema de extrusão de cálcio é o trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  que contribui para a remoção do  $\text{Ca}^{+2}$  do citoplasma durante a diástole promovendo a troca de 3 íons  $\text{Na}^+$  entrando para 1 íon  $\text{Ca}^{+2}$  saindo da célula (Wier e cols. 1989). A força que movimenta este trocador advém do gradiente eletroquímico do  $\text{Na}^+$ , mantido pelo bombeamento ativo da  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. Outros dois transportadores de  $\text{Ca}^{+2}$  do citosol menos significativos quantitativamente são a bomba de  $\text{Ca}^{+2}$  do sarcolema e o uniporter mitocondrial de  $\text{Ca}^{+2}$  (Bers 2000).

O acoplamento excitação-contração é uma cascata de transdução de sinais mediados pelo íon cálcio, e este por sua vez, é capaz de auto-regular tais eventos através da ligação a uma proteína que atua como um sensor intracelular de cálcio, a calmodulina (CaM). Esta proteína citosólica modula eventos celulares através da ativação da proteína quinase (CaMKII) ou por ação direta. Esta quinase altera a homeostase do cálcio intracelular através da fosforilação de outras proteínas como os canais de rianodina, os canais de cálcio do tipo L, a SERCA e a fosfolambam (Zhang e cols. 2004, Yang e cols. 2003). A CaM pode também atuar diretamente no acoplamento excitação-contração através da liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático (Xu e Meissner 2004).

Diante do que foi exposto, fica claro que quaisquer alterações miocárdicas que prejudiquem a dinâmica do cálcio ou o funcionamento dos miofilamentos contráteis irão comprometer o desempenho cardíaco.

### **1.3.1. O coração como bomba**

O coração é capaz de ejetar considerável volume sanguíneo através da aorta com o intuito de suprir as necessidades teciduais. Dessa forma, o desempenho do coração como bomba pode ser avaliado diretamente através do débito cardíaco (DC) - volume de sangue

ejetado por minuto pelo coração. O DC depende da pré-carga, pós-carga e da contratilidade do miocárdio.

A lei de Laplace estabelece que no interior de uma estrutura esférica fechada, como o ventrículo, suas paredes sofrem determinada tensão (estresse de parede). Esta, por sua vez, é dependente diretamente da pressão dentro da cavidade e de seu raio interno, e inversamente da espessura da parede ventricular (Jones e cols. 2000). Portanto, a pré-carga é o estresse de parede no final do enchimento diastólico e a pós-carga, o estresse de parede durante a ejeção sistólica (Norton 2001). A partir desse conceito pode-se entender o motivo pelo qual quaisquer alterações na tensão da parede ventricular na diástole e sístole, decorrentes, por exemplo, de um aumento de pressão ou dilatação da câmara, irão influenciar diretamente afetar o DC. É importante destacar que, mediante o aumento do estresse de parede pode ocorrer um remodelamento estrutural compensatório a fim de aumentar a espessura da parede e conseqüentemente reduzir a tensão e demanda energética da câmara (Graham e cols. 1968, Mill e cols. 2004).

A contratilidade miocárdica pode ser definida como estado inotrópico do músculo. Dessa forma, quanto melhor a contratilidade, maior a interação entre os íons cálcio e as proteínas contráteis. Manobras que aumentam o trânsito sarcolemal de cálcio, e, conseqüentemente, sua concentração citosólica, promovem a interação entre os miofilamentos contráteis e geração de força muscular, resultando em aumento da ejeção ventricular. A relação da derivada da pressão desenvolvida pelo ventrículo em função da derivada de tempo ( $dP/dt$ ) é um importante índice de contratilidade cardíaca, pois é influenciado por alterações do estado inotrópico. Dessa forma, em intervenções inotrópicas agudas, esse índice pode demonstrar o grau de contratilidade do músculo e conseqüentemente, o seu desempenho como bomba (Okoshi e cols. 1999).

Além dos fatores citados anteriormente, o DC é regulado também por fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos estão relacionados exclusivamente às propriedades do miocárdio, enquanto os fatores de regulação extrínsecos são representados pelo controle neuro-humoral.

Na preparação de coração isolado é possível estudar os mecanismos intrínsecos de regulação do DC. Estes envolvem tanto a auto-regulação heterométrica, como a auto-regulação homeométrica (Sarnoff e Mitchell 1962). A regulação heterométrica, também denominada de Lei de Frank-Starling do coração, baseia-se na propriedade intrínseca do miocárdio em variar sua força de contração em função da pré-carga a ele imposta (Patterson e Starling 1914, Patterson e cols. 1914, Allen & Kentish 1988, Mill e cols. 1990). Esta

capacidade intrínseca foi inicialmente explicada pela ótima interação dos miofilamentos contráteis proporcionados estiramento das fibras, o que possibilita número maior de ligações cruzadas entre a miosina e a actina (Huxley e Hanson 1954). Em seguida, foi demonstrado aumento na sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio dependente do comprimento muscular em repouso (Jewell 1977; Stefanon e cols. 1990). Babu e Gulati (1988) e Gulati et al. (1992) demonstraram que a troponina C cardíaca torna-se mais sensível ao cálcio quando o músculo é estirado e, esta sensibilidade é progressivamente aumentada em direção ao centro do sarcômero. Achados recentes têm fornecido uma nova hipótese para explicar o aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio e a gênese do aumento da força dependente do estiramento. Esta postula que a sensibilidade ao cálcio, que é a base da relação de Frank-Starling, depende não apenas de alterações no comprimento do sarcômero por si só, mas da redução do espaçamento lateral entre os miofilamentos (Fuchs e Smith 2001). A modulação deste espaçamento lateral é permitida pela presença da titina, uma proteína que liga o miofilamento grosso a linha z do sarcômero, a qual pode ser estirada e promover uma aproximação dos miofilamento e conseqüentemente maior probabilidade de formação de pontes cruzadas (Fukuda e cols. 2005). A relação de Frank-Starling é explicada não só pelo aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao  $Ca^{+2}$ , mas também pelo aumento gradual no transiente de  $Ca^{+2}$  que ocorre após alguns batimentos seguintes ao estiramento do miocárdio. Postula-se que as alterações na força contrátil dependente do estiramento muscular tenham, portanto, dois componentes, um componente rápido e outro componente lento. No componente rápido, imediatamente após o estiramento, a força contrátil é aumentada devido ao aumento da sensibilidade dos miofilamentos ao  $Ca^{+2}$ . Em contrapartida, o componente lento cursa com um incremento lento da força contrátil devido ao aumento gradual do transiente intracelular de  $Ca^{+2}$  (Allen e Kurihara 1982). Sendo assim, mudanças na função cardíaca induzidas por estiramento podem também serem explicadas pela abertura de canais iônicos ativados por estiramento localizados no plasmalema de cardiomiócitos (Tavi e cols. 1998). Esses canais têm sido bem descritos e sua probabilidade de abertura tem sido associada ao estresse mecânico da membrana (Morris 1990). É bem estabelecida a existência de vários tipos de canais ativados por estiramento em cardiomiócitos. Os achados sugerem que a maior parte deles é representada por um canal com considerável permeabilidade a cátions mono e di-valentes (Sachs 1988). A ativação desses canais leva a aumento direto da concentração intracelular de  $Ca^{+2}$  e  $Na^{+}$ . O aumento da concentração citoplasmática de  $Na^{+}$  ativa o trocador  $Na^{+}-Ca^{+2}$  o qual passa a operar no modo reverso, promovendo, assim, acúmulo adicional de  $Ca^{+2}$  na célula. Além disso, o aumento intracelular de  $Ca^{+2}$  leva a maior

recaptação deste íon pelo retículo sarcoplasmático e conseqüentemente maior liberação durante a sistólica (Tavi e cols. 1998, Calaghan e With 2004).

A auto-regulação homeométrica está associada à variações da pressão aórtica e frequência cardíaca. Quando a frequência cardíaca é aumentada, a força de contração ventricular aumenta progressivamente dentro de limites fisiológicos. Esse fenômeno é conhecido como “Efeito Escada”. Essa resposta pode ser devida à repetidas despolarizações do miócito que resultando em maior influxo de cálcio pelos canais voltagem dependentes aumento do sódio citosólico e aumento do cálcio intracelular através do trocador sódio-cálcio (Endoh 2006). Outro fator associado a auto-regulação intrínseca da contratilidade é a variação da pressão aórtica. Quanto maior a pressão aórtica, maior a força desenvolvida pelo ventricular. Tal resposta é denominada efeito Anrep, pois foi demonstrado por Gleb von Anrep em 1912.

O controle extrínseco do DC é realizado pelo sistema nervoso autônomo, o qual representa um importante mecanismo fisiológico de regulação homeométrica (Furchgott e cols. 1959). Esse sistema é composto por fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas, as quais possuem neurotransmissores distintos, o que por sua vez determinará efeitos cardíacos também distintos. A noradrenalina liberada pelos terminais nervosos simpáticos irá interagir com receptores específicos da membrana do miócito (Furchgott 1959). Tais receptores são em sua maioria do tipo  $\beta$  e são classificados em 3 subtipos -  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ . Eles estão acoplados à proteína G estimulatória ( $G_s$ ), a qual promove a elevação intracelular de AMPc. Este promove a ativação da proteína quinase A, a qual realiza diversas fosforilações de proteínas regulatórias envolvidas no acoplamento excitação-contração, incluindo canais de cálcio do tipo L, fosfolambam e proteínas dos miofilamentos (Xiao e cols. 1999). Dessa forma, o estímulo  $\beta$ -adrenérgico aumenta tanto a contratilidade quanto o relaxamento muscular. O aumento do transiente intracelular de cálcio é modulado por fosforilação de canais de cálcio do tipo L. Charnet & cols. (1995) demonstrou que esta regulação depende de proteínas associadas ao canal de cálcio.

Na preparação de coração isolado é possível avaliar o mecanismo fisiológico neuro-humoral de regulação homeométrica do coração através da infusão de fármacos simpatomiméticos e assim, estudar os mecanismos envolvidos na contratilidade cardíaca. O diagrama abaixo sumariza os mecanismos envolvidos na regulação do DC.

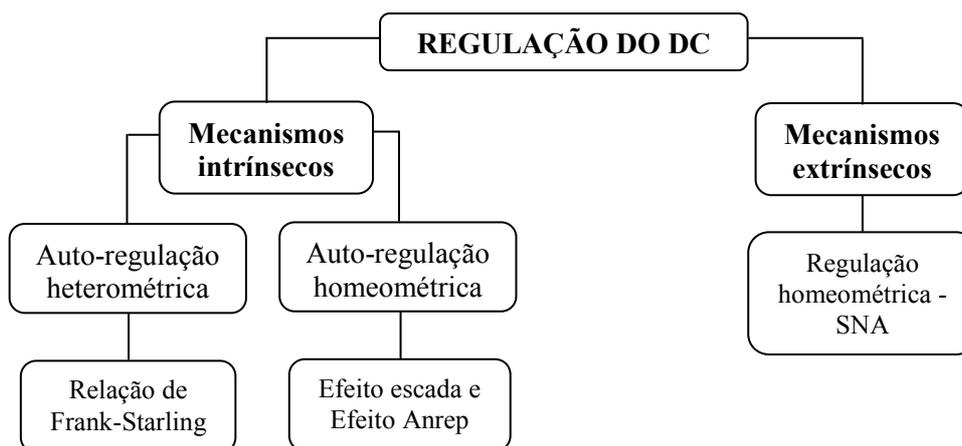


Fig. 3. Mecanismos envolvidos no controle do DC. DC, débito cardíaco; SNA, sistema nervoso autônomo.

### 1.3.2. Alterações cardíacas decorrentes hipertensão arterial

A HA impõe ao miocárdio altas pressões de trabalho mediante o aumento da pós-carga decorrente da elevação na resistência vascular periférica (RVP). Isso promove a instalação diversos mecanismos compensatórios no miócito cardíaco com o intuito de manter a função de bomba cardíaca e reduzir a tensão da parede ventricular mediante alto regime pressórico (Kaito e cols. 1996). Ocorre assim, um estado chamado de “hipertrofia ventricular (HV) compensatória”. A HV esquerda (HVE) ocorre mediante crescimento dos cardiomiócitos, a qual pode ou não ser acompanhada por outras alterações na estrutura celular (Swynghedauw 1999). Em atletas, o crescimento muscular e das demais estruturas cardíacas são proporcionais, ou seja, a homogeneidade tecidual é preservada (Nottin e cols. 2004, Pelà e cols. 2004). É importante ressaltar que a massa miocárdica presente em pessoas treinadas com exercício é semelhante à de pacientes com HA (Shapiro e McKenna 1984). No entanto, no coração hipertenso ocorre heterogeneidade tecidual, com crescimento desproporcional entre miócitos e outra células, resultado em remodelamento patológico do tecido. Tal adaptação aumenta o risco de eventos cardiovasculares como infarto do miocárdio, disfunção ventricular sistólica e/ou diastólica, insuficiência cardíaca (IC) sintomática, arritmias e morte súbita (Cooper e cols. 1990, Koren e cols. 1990).

A HVE observada em hipertensos é devido à hipertrofia e não hiperplasia dos miócitos (Swynghedauw 1999). Isso ocorre pela adição em paralelo de novos sarcômeros aumentando a espessura da parede ventricular. Esse remodelamento resulta em hipertrofia

concêntrica (aumento na razão espessura da parede/dimensão da câmara). De acordo com a lei de Laplace, a tensão em qualquer região do miocárdio é determinada da seguinte forma:  $(\text{pressão} \times \text{raio}) / (2 \times \text{espessura da parede})$ . Dessa forma, um aumento na pressão pode ser compensado por um aumento na espessura da parede. Considerando que o estresse sistólico é o maior determinante do desempenho durante a ejeção, sua normalização ajuda a manter a fração de ejeção dentro de valores normais, mesmo mediante a necessidade de gerar altas pressões (Gunther e Grossman 1994).

A maioria dos mecanismos responsáveis pelo início da hipertrofia cardíaca podem ser classificados como mecanismos biomecânicos ou neuro-humorais (Swynghedauw 1999). O último está associado à liberação de hormônios, citocinas e fatores de crescimento, os quais interagem com receptores de membrana acoplados à proteína G. Os sinais biomecânicos são mediados por receptores internos sensíveis ao estiramento, os quais têm seus mecanismos de ação pouco investigados. Todos esses receptores promovem ativação de circuitos de transdução de sinais que mediam o crescimento cardíaco através de alteração na expressão gênica nuclear e por redução das proteínas de degradação do citoplasma. É interessante ressaltar que poucas horas após sobrecarga pressórica é possível observar aumento de aproximadamente 35% na síntese da cadeia pesada da miosina no coração in vivo.

Os níveis plasmáticos aumentados de endotelina-1, catecolaminas e Ang II na hipertensão são os fatores responsáveis pela ativação dos receptores cardíacos acoplados à proteína G, o que por sua vez dará origem a complexas alterações na reprogramação gênica (Sugden 1999, Swynghedauw 1999). Dentre elas estão a re-expressão de genes cardíacos fetais como os genes que modificam a regulação e composição da unidade motora, genes que modificam o metabolismo e que codificam componentes de vias hormonais (peptídeo natriurético atrial, ECA). Além disso, ocorre também alterações em genes que modificam a homeostase iônica intracelular, como por exemplo, “downregulation” da SERCA-2 e “upregulation” do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ . Ocorre também “downregulation” de receptores adrenérgicos  $\beta_1$  e receptores muscarínicos  $\text{M}_2$  e aumento na razão entre os subtipos de receptores de Ang II  $\text{AT}_2$  e  $\text{AT}_1$ . Para favorecer a economia energética, ocorre aumento na expressão da isoforma lenta da ATPase miosínica quando comparado à isoforma rápida.

É importante ressaltar que pacientes hipertensos com HVE podem permanecer na fase compensatória sem sintomas e com a função cardíaca ao exercício normal ou próxima do normal durante muitos anos. Em contrapartida, outros desenvolvem rapidamente insuficiência cardíaca, a qual pode ser atribuída à disfunção sistólica, disfunção diastólica ou ambas (Devereux e cols. 1994).

## **1.4. Adaptações cardiovasculares promovidas pelo exercício resistido crônico**

### **1.4.1. Pressão arterial e função vascular**

Poucos estudos se destinaram a examinar os efeitos do treinamento com ER sobre a PA de repouso de humanos e animais.

Estudos clínicos controlados randomizados que examinaram os efeitos do treinamento com ER na PA demonstraram resultados conflitantes. Bastante divulgada, a meta-análise realizada por Kelley e Kelley (2000) incluiu 320 indivíduos de ambos os sexos e analisou os efeitos do ER crônico na PA de repouso de indivíduos normotensos e hipertensos. Foi encontrada redução significativa de aproximadamente 3 mmHg na PA sistólica e diastólica. Em outra meta-análise, Cornelissen e Fagard (2005) analisou 90 estudos clínicos controlados randomizados e demonstrou uma redução de 3,2 mmHg ( $P>0,05$ ) na PA sistólica e de 3,5 mmHg ( $P<0,05$ ) na PA diastólica. Apesar de tais reduções parecerem modestas, tem sido estimado que uma queda de apenas 3 mmHg na PA sistólica reduz a doença arterial coronariana em 5-9% e o acidente vascular cerebral em 8-14% (Stamler e cols. 1989, Whelton e cols. 2002).

Os estudos clínicos randomizados e controlados que investigaram os efeitos do treinamento com ER estático (isométrico) na PA de repouso, mostraram reduções mais pronunciadas na PA. Wiley e cols. (1992) registraram redução significativa de aproximadamente 13 mmHg na PA sistólica e 15 mmHg na PA diastólica. Nesse estudo, os indivíduos normotensos realizaram treinamento com “handgrip” 3 vezes semanais durante 8 semanas, a 30% de uma repetição máxima (1RM). Kiveloff e Huber (1971), assim como, Ray e Hume (2000), utilizando semelhante tipo de exercício demonstraram significativa redução na PA sistólica e diastólica apenas em indivíduos hipertensos.

Em animais, o treinamento com ER também reduz a PA de repouso. Recentes achados (de Cássia e cols. 2008) obtidos em nosso laboratório mostrou que o treinamento realizado 5 vezes por semana, a 75% de 1RM durante 8 semanas, promoveu significativa redução da PA sistólica e diastólica de ratos normotensos. No entanto, treinamento realizada a 60% de 1RM não foi capaz de alterar a PA. Utilizando metodologia semelhante, Baraúna e cols. (2005) mostraram que o treinamento promoveu redução significativa apenas na PA diastólica de ratos normotensos.

Considerando que a PA é determinada pelo DC e pela RVP e que após o treinamento não ocorre alterações no DC de repouso, a redução da PA observada após ER crônico pode ser atribuída à redução na RVP. Diversos fatores têm sido implicados na diminuição da RVP após o ER. Embora poucos estudos tenham demonstrado redução na atividade nervosa simpática (ANS) eferente (Ray e Hume 1998, Ray 1999, Ray e Carrasco 2000), diminuição da norepinefrina plasmática tem sido mostrada após o treinamento (Nelson e cols. 1986, Jennings e cols. 1996, Meredith e cols. 1991). Ocorre também atenuação da reatividade vascular à norepinefrina (Wiegman e cols. 1981, Spier e cols. 1999) e endotelina (Jones e cols. 1999, Laughlin e cols. 2001), além de redução dos níveis de endotelina (Maeda e cols. 2001). Outro importante mecanismo de atenuação da RVP após o exercício crônico é a melhora na respostas vasodilatadora do endotélio devido ao aumento na produção de NO (Maeda e cols. 2001). Alguns importantes achados sugerem também que o treinamento com exercícios pode promover remodelamento vascular e angiogênese (Lash e Bohlen 1992, Wijnen e cols. 1991, Huonker e cols. 1996, Dineno e cols. 2001).

Outra importante adaptação promovida pelo treinamento é o aumento na complacência vascular. Isso promove redução das flutuações de pressão na circulação central e contribui para adequada direção do fluxo sanguíneo. Entretanto essa adaptação é bem documentada apenas após o exercício aeróbio crônico (Vaitkevicius e cols. 1993, Cameron e Dart 1994, Tanaka e cols. 1998, Tanaka e cols. 2000). Após o treinamento com ER os resultados demonstram que a complacência vascular está diminuída (Bertovic e cols. 1999, Miyachi e cols. 2003) ou inalterada (Kawano 2006).

A melhora na concentração de lipídeos plasmáticos observada após o ER regular também atua de forma benéfica na função vascular, podendo assim ser outro fator que atua de forma coadjuvante no controle da PA (Kingwell e cols. 1996).

O exercício resistido crônico, assim como o exercício de resistência aeróbia, tem sido associado à melhora na vasodilatação mediada pelo aumento do fluxo sanguíneo e na vasodilatação mediada pela acetilcolina em indivíduos hipertensos e normotensos (Horning e cols. 1996, Katz e cols. 1997, Maiorana e cols. 2000, Green e cols. 2003, McGowan e cols. 2004, McGowan e cols. 2006). Esses efeitos podem ser explicados pelo aumento na síntese de NO mediado pelo aumento na expressão da eNOS (Sessa e cols. 1994).

Em animais, nós desconhecemos investigações que tenham estudado esse aspecto do ER. No entanto, a redução dos níveis pressóricos após esse tipo de exercício, sugere melhora funcional e estrutural do vaso sanguíneo.

### 1.4.2. Função cardíaca

É bem estabelecido que o exercício de resistência aeróbia, como natação, corrida, caminhada e pedalagem, promovem adaptações benéficas na função cardíaca. Dentre elas podemos citar aumento no volume de ejeção e do DC durante o exercício (Sullivan et al. 1988), aumento da massa cardíaca (Shapiro 1984, Wisloff e cols. 2001), assim como redução da frequência cardíaca (FC) de repouso e a esforços submáximos (Crews e cols. 1967, Saltin e cols 1968). Entretanto, no que diz respeito ao impacto do ER na função cardíaca os estudos são em menor número. A hipertrofia ventricular esquerda é uma adaptação compensatória e reversível comumente observada após tanto o treinamento com exercício de resistência aeróbia quanto com ER (Ricci e cols. 1982, Carabelo 2002). No entanto, as características da hipertrofia são distintas entre os tipos de exercício. Enquanto o treinamento aeróbio desencadeia uma hipertrofia do tipo excêntrica devido à sobrecarga de volume, o ER promove hipertrofia ventricular do tipo concêntrica, devido à sobrecarga de pressão, predominantemente (Ricci e cols. 1982, Carabelo 2002). Nesse tipo de hipertrofia, os sarcômeros são aumentados em paralelo, o que acarreta aumento na espessura da parede ventricular. Esta hipertrofia promovida pelo ER é caracterizada, portanto, pelo aumento da razão entre a espessura da parede e do raio do VE e a tensão de parede é normalizada. Tais adaptações cardíacas estão associadas ao aumento do desempenho cardíaco mediante esforços máximos e submáximos (Kanakis e Hickson 1980).

Outra importante adaptação observada após o treinamento com ER, porém mais comumente observada após exercício de resistência aeróbia, é a redução da FC de repouso e a esforços submáximos ER (Kanakis e Hickson 1980, Goldberg e cols. 1994). O mecanismo pelo qual o ER reduz a FC necessita de melhor investigação.

O recente estudo do nosso laboratório (de Cássia e cols. 2008) investigando os efeitos de 8 semanas de treinamento com ER na contratilidade de músculos papilares, demonstrou que o treinamento aumentou a contratilidade desses músculos no ventrículo esquerdo (VE) e que essa resposta foi associada ao aumento na atividade da enzima ATPase miosínica cardíaca.

## **1.5. Adaptações cardiovasculares promovidas pelo exercício resistido agudo**

### **1.5.1. Pressão arterial**

Em 1897, Hill observou que após a realização de um único período de corrida ocorria redução dos valores da PA de repouso em homens. Algum tempo depois, Gordon (1907) observou o efeito hipotensivo do exercício agudo em atletas. Mais tarde, em 1966, Krául e cols. também documentaram redução imediata da PA após um único período de exercício dinâmico. Contudo, tal resposta começou a ser melhor investigada somente a partir do estudo de Fitzgerald (1981), o qual descobriu, coincidentemente, que após um período agudo de exercício aeróbio ocorria diminuição dos valores pressóricos por diversas horas em homens hipertensos. Diante das diversas evidências que vieram surgindo, o termo “hipotensão pós-exercício” (HPE) foi estabelecido por Kenney & Seals (1993), para conceituar a redução dos valores de PA após uma única sessão de exercício físico em relação aos valores pressóricos pré-exercício. A partir de então, diversas investigações têm se destinado ao estudo desse fenômeno. Sabe-se que a HPE pode ter duração de até 22 h pós-exercício e que permanece mesmo durante a realização atividades de vida diária e durante pequenos esforços. Dessa forma, a HPE tem grande importância no tratamento não-farmacológico da PA.

Entretanto, tais achados se referem ao exercício de resistência aeróbia. No que se referem aos efeitos do exercício resistido nos valores de PA pós-exercício, os achados são em menor número. Embora alguns estudos não tenham demonstrando a ocorrência de HPE resistido, outros têm mostrado importante queda da PA de repouso pós-exercício resistido. O'Connor et al. (1993) mostrou que o ER agudo de baixa, moderada e alta intensidade foi capaz de reduzir o estado de ansiedade, porém não influenciou os valores de PA pós-exercício em mulheres. Semelhantemente, Focht & Koltyn (1999), registraram melhora no estado de ansiedade e nenhuma alteração da PA pós-exercício resistido em homens. Utilizando 24 h de monitorização ambulatorial da PA, Roltsch et al. (2001) concluiu que um único período de ER não altera os valores pressóricos de repouso em homens e mulheres, sedentários e treinados. Entretanto, Hardy & Tucker (1998) registraram queda da PA após ER em homens hipertensos. Em homens normotensos, MacDonald et al. (1999) demonstraram que tanto o exercício resistido quanto o exercício de resistência aeróbia foram capazes de promover hipotensão de similar magnitude. Fisher (2001) registrou HPE resistido de similar magnitude em homens e mulheres hipertensas. Estudos mais recentes também têm

documentado redução da PA após ER agudo (Bermudes e cols. 2004, Simao e cols. 2005, Lizardo & Simões 2005, Rezk e cols. 2006).

Em animais, apenas 2 estudos investigaram os efeitos do ER agudo. O primeiro deles foi realizado recentemente em nosso laboratório (Lizardo e cols. 2008) e demonstrou redução significativa da PA em ratos hipertensos após exercício realizado a 75% de 1RM. A segunda investigação se refere ao presente estudo, o qual obteve resultados similares ao anterior, utilizando metodologia semelhante, porém com exercício realizado com menor intensidade, 50% de 1RM. Torna-se claro, portanto, a necessidade de estudos futuros que se destinem a investigar o fenômeno de HPE resistido.

### **1.5.2. Função vascular**

Diversos estudos em animais têm mostrado redução na reatividade vascular e aumento do relaxamento dependente do endotélio após uma única sessão de exercício aeróbio (Patil e cols. 1993, Cheng e cols. 1999, Jen e cols. 2002, Rao e cols. 2002). Tal resposta pode ser mediada, sobretudo pela liberação de substâncias vasodilatadoras endoteliais, principalmente NO (Patil e cols. 1993, Cheng e cols. 1999, Rao e cols. 2002). Após o ER agudo, os achados existentes geralmente são referentes à avaliação da hiperemia reativa após exercício com handgrip (exercício resistido isométrico) em indivíduos hipertensos e portadores de insuficiência cardíaca (Shoemaker e cols. 1997, McGowan e cols. 2006, de Jong e cols. 2006). Tais estudos têm mostrado que a vasodilatação observada após o exercício agudo com handgrip são mediadas pelo NO.

Em animais, nós desconhecemos qualquer estudo sobre a reatividade vascular após uma única sessão de ER. Nosso estudo prévio (Lizardo e cols. 2008) com esse tipo de exercício em animais hipertensos destinou-se à investigação das respostas hemodinâmicas pós-exercício. Além disso, ainda não está descrito na literatura os efeitos cardíacos do ER agudo. Portanto, os primeiros resultados existentes sobre as respostas vasculares e cardíacas após uma única sessão de ER agudo são oriundos do presente estudo.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar a PA, a contratilidade miocárdica e reatividade vascular após uma única sessão de exercício resistido em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

### **2.2. Objetivos específicos**

Avaliar após uma única sessão de exercício resistido em SHR:

2.2.1. Pressão arterial e frequência cardíaca;

2.2.2. Reatividade vascular da artéria aorta, ressaltando a participação de fatores endoteliais do NO, de protanóides e da adenosina;

2.2.3. Reatividade vascular artéria caudal, ressaltando a participação de fatores endoteliais como o NO e protanóides;

2.2.4. Contratilidade de músculos papilares isolados do VE através da análise da atividade funcional do retículo sarcoplasmático, dos canais de cálcio do sarcolema e das proteínas contráteis;

2.2.5. Contratilidade do coração isolado através da avaliação da regulação homeométrica e heterométrica.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Animais**

Foram utilizados ratos SHR, machos, com 250 a 300 g de peso e aproximadamente 12 semanas de idade. Os animais foram cedidos pelo biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo e mantidos em gaiolas, sob condições controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à água e alimentação. Todos os procedimentos experimentais realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola de Medicina Santa Casa de Misericórdia (EMESCAM).

#### **3.2. Grupos experimentais**

Esse estudo foi realizado em 2 grupos experimentais: controle (Ct) e exercício (Ex). Os animais Ct foram submetidos a um período de exercício físico fictício – da mesma forma que os animais do grupo exercício, os animais Ct foram colocados no aparelho de exercício físico e receberam estímulo elétrico na cauda em intervalos de tempo e intensidade semelhantes, entretanto o aparelho não continha pesos e se encontrava na posição de descanso, impossibilitando, dessa forma, a execução do esforço.

#### **3.3. Exercício físico resistido**

Os animais realizaram uma única sessão de exercício físico resistido. Este foi executado através de um aparelho de agachamento conforme descrito por Tamaki & Uchiyama (1992). Os animais foram vestidos com um colete para impedir a flexão do tronco e em seguida colocados no aparelho de agachamento (Fig. 4). Estímulo elétrico (25 V; 0,5 s de duração; 3 s de intervalo) foi dado na cauda do animal através de um eletrodo e como resultado eles estendiam suas pernas repetidamente, levantando assim o peso acoplado ao braço do aparelho. Durante o repouso o braço do aparelho era apoiado num suporte localizado abaixo, assegurando o relaxamento dos membros inferiores do animal. Foram

executadas 10 séries de exercícios a intensidade de 50% de 1RM, sendo cada série composta de 12 a 15 repetições. Entre cada série foi realizada pausa de 30 s, sendo que após as cinco primeiras séries foi permitida pausa de 5 min. Antes da realização da sessão de exercício, os animais foram adaptados ao aparato durante 4 a 5 dias. A adaptação consistia em colocar o animal no aparato e realizar o estímulo elétrico na cauda. É importante salientar que o aparelho se encontrava na posição de descanso, impossibilitando que o animal realizasse o exercício, assegurando assim, que os resultados obtidos fossem oriundos apenas de uma única sessão de exercício.

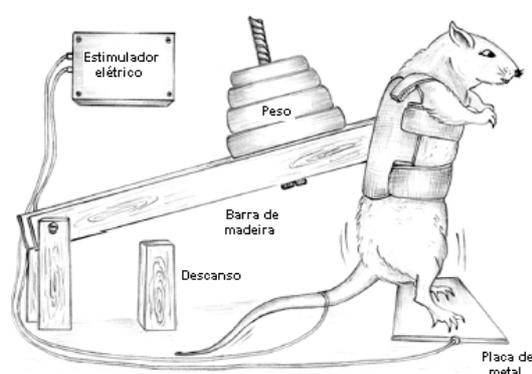


Fig. 1. Aparelho utilizado para realização do exercício resistido. Adaptado por Oliveira e cols. a partir de Tamaki e cols. (1992). Ilustração cedida por Baraúna e cols. (2005).

### 3.3.1. Teste de 1 RM

Antes do início do teste os animais permaneciam no ambiente do laboratório de 30 min a 1 h para devida familiarização. O teste de 1 RM ou teste de carga máxima foi executado aproximadamente 48 horas antes da realização da sessão de exercício resistido após o período de adaptação. Primeiramente o animal era posicionado no aparelho de exercício resistido sem carga e recebia estímulo elétrico para correto posicionamento. Em seguida foi escolhida uma carga inicial (g) abaixo daquela habitualmente levantada pelos animais do nosso laboratório no início do treinamento e executava-se 1 série de 5 repetições. A carga era, então, aumentada progressivamente nas séries subseqüentes, sendo permitida pausa de 2 a 3 minutos entre os aumentos de carga. O valor de 1 RM foi determinado como a maior carga que os animais pudessem levantar apenas uma vez.

### **3.4. Mensurações experimentais**

No dia da realização do experimento os animais foram levados para o laboratório 1 h antes do início das mensurações experimentais com intuito de adaptação ao ambiente. Em seguida foram submetidos à mensuração da PA através de cateter inserido na artéria carótida. Logo após realizaram a única sessão de exercício e foram então divididos em 5 subgrupos para análises experimentais: 1. Os animais foram submetidos à mensuração da PA durante 60 minutos pós-exercício; 2. Os animais foram submetidos à avaliação da reatividade vascular da artéria caudal; 3. Os animais foram submetidos à avaliação da reatividade vascular da artéria aorta; 4. Os animais foram submetidos à avaliação da contratilidade do músculo papilar isolado do VE; 5. Os animais foram submetidos à avaliação da contratilidade do coração isolado pela técnica de Langendorff. A figura 5 sumariza as análises experimentais realizadas.

#### **3.4.1. Pressão arterial e frequência cardíaca**

Os ratos foram anestesiados com injeção intramuscular de ketamina (40 mg/kg) e xilazina (8 mg/kg) e doses suplementares foram administradas quando necessário. Depois de anestesiados, a artéria carótida esquerda foi cuidadosamente dissecada e exposta para evitar danos aos nervos localizados nas proximidades. Um cateter de polietileno (PE 50, Clay-Adams) preenchido com heparina (100 UI/ml) foi inserido na artéria carótida esquerda para registros hemodinâmicos. O cateter foi posicionado subcutaneamente e exteriorizado na face dorsal do pescoço. Em seguida os animais foram colocados em gaiolas individuais e tiveram um tempo de recuperação de 24 horas. No dia seguinte, a PA e FC foram registradas nos animais acordados, continuamente, em tempo real pela conexão do cateter arterial ao transdutor de pressão (TSD104A) acoplado a um pré-amplificador (MP100, Funbec, São Paulo, SP), que por sua vez, conectava-se a um conversor análogo digital (MP100 Biopac Systems, Inc; CA). Durante todos os registros hemodinâmicos cada animal permanecia livre no interior de sua gaiola. As variáveis hemodinâmicas foram mensuradas em todos os animais antes da realização do exercício agudo.

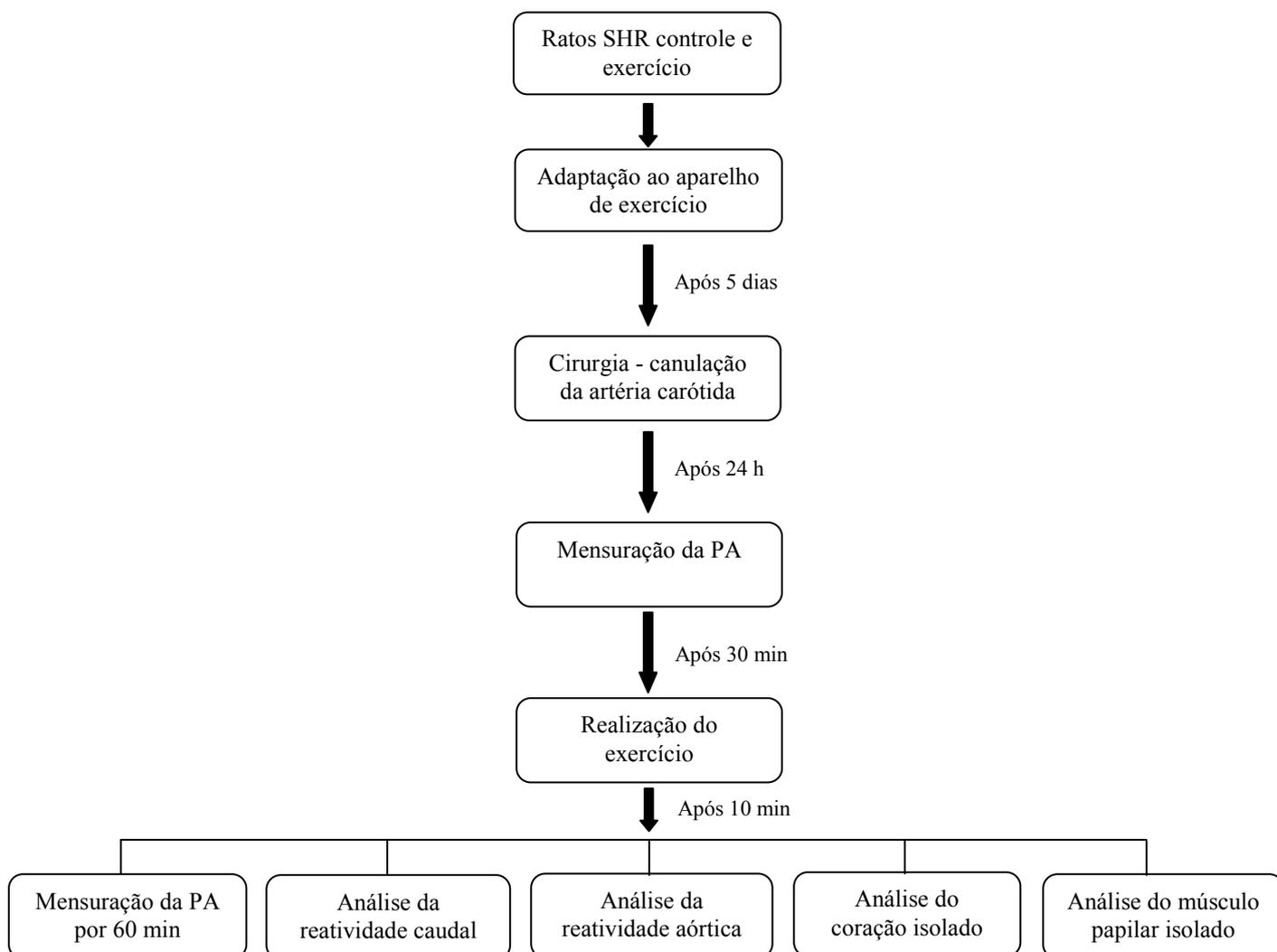


Fig. 5. Diagrama dos procedimentos experimentais realizados.

### 3.4.2. Avaliação da reatividade vascular da artéria caudal *in vitro*

#### 3.4.2.1. Obtenção do leito vascular caudal – procedimento cirúrgico

A técnica de perfusão da artéria caudal descrita por França e cols. (1997) foi utilizada para realização dos estudos *in vitro*. Decorridos 10 min após a realização do exercício ou do exercício fictício, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (65 mg/kg, *ip*) e heparinizados (500 UI, *ip*). Em seguida o animal foi colocado em posição dorsal sobre a mesa cirúrgica para realização de incisão longitudinal na linha mediana da

fáscia caudal, no sentido proximal-distal. Após divulsionar a fáscia lateralmente e isolar a artéria caudal ventral dos tecidos conectivos, a artéria foi canulada próximo a sua base com um cateter de acesso periférico (Safelet intracate 24G X  $\frac{3}{4}$ , NIPRO) previamente preenchido com solução nutritora. Logo após, a cauda foi seccionada na região proximal e acoplada ao sistema de perfusão onde teve sua extremidade distal removida a fim de que o perfusato não fosse drenado pelo sistema venoso. A artéria caudal foi perfundida continuamente com solução Krebs-Henseleit (em mM: NaCl 119; KCl 5,4; MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O 1,2; CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O 1,25; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1; NaHCO<sub>3</sub> 27,2; Glicose 11; EDTA 0,03.) mantida à temperatura de  $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , gaseificada com mistura carbogênica (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>) com pH 7,4. A perfusão do leito caudal foi mantida sob fluxo constante de 2,5 ml/min por meio de uma bomba peristáltica (Milan, Colombo, Paraná, Brasil) e o sistema de perfusão foi conectado a um transdutor de pressão TSD104A - Biopac (conectado a um pré-amplificador DA 100C) que por sua vez estava ligado a um sistema de aquisição de dados (MP 100 Biopac System, Inc; CA). Este sistema era conectado a um computador (PC Pentium), para registros contínuos de pressão de perfusão média (PPM) no leito vascular caudal.

Após esse procedimento, a preparação foi submetida a um período de estabilização por aproximadamente 45 minutos e, a seguir, foram iniciados os protocolos experimentais. Baseando-se na relação: Pressão = Fluxo x Resistência, e sendo o fluxo constante, as variações de pressão registradas indicaram variações da resistência vascular.

Após o período de estabilização foi realizada administração de fenilefrina (FE), agonista  $\alpha_1$ -adrenérgico (1  $\mu\text{g}$ , *in bolus*, em um volume de 100 $\mu\text{l}$ ), a fim de verificar a responsividade vascular. Para descartar a possibilidade de lesão endotelial e do MLV pela técnica de canulação, foi avaliada a integridade funcional do endotélio e do MLV no início do protocolo experimental. Para isso, o leito vascular caudal foi submetido a uma pré-contração através da infusão contínua de FE ( $10^{-7}$  M) e após o platô, 5  $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$  de acetilcolina (ACh) foi administrada *in bolus*. Logo em seguida, a integridade do MLV também foi averiguada através da administração de 0,1  $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ , de nitroprussiato de sódio (NPS) *in bolus*. O endotélio vascular foi considerado intacto quando o relaxamento à ACh foi superior ou igual a 40%. O MLV foi considerado íntegro quando o relaxamento ao NPS foi superior ou igual a 50%.

#### **3.4.2.2. Avaliação da resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina**

Após testar a integridade endotelial e do MLV a curva dose-resposta à FE foi iniciada utilizando doses crescentes deste agonista  $\alpha_1$ -adrenérgico (0,001 - 300 $\mu$ g, *in bolus*, em um volume de 100  $\mu$ l).

#### **3.4.2.3. Avaliação da participação do óxido nítrico na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina**

A participação do NO foi avaliada através de curvas de FE feitas antes e após incubação por 45 min com N<sup>o</sup>-nitro-(l)-arginina metil éster (L-NAME, 10<sup>-4</sup> M), inibidor não-seletivo da NOS.

#### **3.4.2.4. Avaliação da participação dos prostanóides derivados da ciclooxigenase na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina**

A participação dos prostanóides derivados da COX foi avaliada através de curvas de FE feitas antes e após incubação por 45 min com indometacina (INDO, 10<sup>-5</sup> M), inibidor não-seletivo da COX.

#### **3.4.2.5. Avaliação da modulação do endotélio na resposta vasoconstritora mediada pela fenilefrina**

Para avaliar a modulação endotelial sobre a reatividade vascular, foram realizadas curvas dose-resposta à FE antes e após a lesão do endotélio. A lesão endotelial foi realizada com a administração de 3-3[(3-cloroamidopropil) dimetilamônio]-l-propanolsulfonato (CHAPS 8 mg, *in bolus*, em um volume de 80  $\mu$ l). Após um período de 45 min da administração do CHAPS, repetiu-se o teste da integridade endotelial a fim de confirmar se apenas o endotélio havia sido lesado, sem alteração no relaxamento do MLV. Sendo assim, a lesão endotelial foi confirmada pela ausência ou pela presença de relaxamento à ACh (5  $\mu$ g,

em 100  $\mu$ l)  $\leq$  10% nas preparações pré-contraídas com FE ( $10^{-7}$  M). Para descartar possível lesão do MLV pelo CHAPS, foi realizada a administração de dose única de NPS (0,1  $\mu$ g/ $\mu$ l). Por fim, quando a situação basal era restabelecida, doses crescentes de FE (0.001 – 300  $\mu$ g, *in bolus*, em um volume de 100  $\mu$ l) foram administradas.

#### **3.4.2.6. Avaliação do relaxamento dependente do endotélio**

Para avaliar a vasodilatação dependente do endotélio, a arterial caudal foi submetida a uma pré-contracção com solução de Krebs-Henseleit com 65 mM de cloreto de potássio (KCl). Após atingir o platô, foi realizada uma curva de relaxamento concentração-resposta a ACh ( $10^{-10}$  a  $10^{-3}$  M). Cada concentração foi perfundida por um período de 4 minutos.

#### **3.4.2.7. Avaliação do relaxamento independente do endotélio**

Para avaliar a vasodilatação independente do endotélio, a arterial caudal foi submetida a uma pré-contracção com solução de Krebs-Henseleit com 65 mM de KCl. Após atingir o platô, foi realizada uma curva de relaxamento concentração-resposta ao NPS ( $10^{-9}$  a  $10^{-2}$  M). Cada concentração foi perfundida por um período de 3 minutos.

### **3.4.3. Avaliação da reatividade vascular da artéria aorta *in vitro***

#### **3.4.3.1. Preparação dos anéis isolados de aorta**

Dez minutos após a realização de uma única sessão de ER, a aorta torácica descendente foi cuidadosamente retirada e rapidamente colocada em uma placa de Petri imersa em solução de Krebs-Henseleit (em mM: NaCl 118; KCl 4,7;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  2,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1,2;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,17;  $\text{NaHCO}_3$  25; EDTA 0,01 e glicose 11), gaseificada com mistura carbogênica contendo 5% de  $\text{CO}_2$  e 95% de  $\text{O}_2$ , pH = 7,4 e temperatura de 36,5 °C. Em seguida o tecido conjuntivo e adiposo adjacente à artéria foi removido e o vaso foi

cortado em anéis de 4 a 5 mm de comprimento. Para a obtenção do registro de tensão isométrica, cada anel vascular foi colocado em banho, de acordo com o método descrito por Marin e cols. (1998). As cubas continham 5 mL de solução de Krebs-Henseleit, aquecida a 36,5° C, continuamente gaseificada com mistura carbogênica, mantendo o pH estável em 7,4. Dois fios de aço inoxidável, em forma de triângulos, foram passados através do lúmen dos segmentos de forma que fiquem paralelos na luz do vaso. Um fio foi fixado à parede do banho e o outro conectado verticalmente a um transdutor de tensão isométrica. Portanto, qualquer alteração no diâmetro do vaso era captada pelo transdutor de força (TSD125C), o qual se encontrava acoplado a um sistema de aquisição de dados (MP 100, Biopac Systems, Inc. AS) este a um computador (PC Pentium).

Inicialmente foi aplicada aos anéis tensão de repouso de 1 g e então eles foram lavados três vezes e a tensão ajustada caso necessário a cada 15 minutos, durante um período de 45 minutos de estabilização (Fig. 6).

Após a estabilização, foi adicionado KCl 75 mM ao banho para verificar a atividade contrátil do músculo liso vascular induzida por despolarização e assim, avaliar a viabilidade das artérias. Após atingirem uma variação de 1 g de força, os anéis foram lavados três vezes com solução Krebs. Os anéis que não contraíram 1 g foram descartados. 30 minutos após a lavagem, uma nova concentração de KCl 75 mM foi adicionada ao banho e aguardados aproximadamente 30 minutos até que se atingisse um platô no registro da contração. Após o platô, os anéis foram novamente lavados três vezes e submetidos a um período de 30 minutos de estabilização, caso a tensão do anel não retornasse ao basal, ele era submetido a uma nova lavagem. Foi realizada então, avaliação da integridade funcional do endotélio. Os anéis foram pré-contraídos com FE  $10^{-4}$  M ou o quanto fosse necessário para se atingir 50-75% da contração máxima ao segundo KCl. Ao final da contração, quando o platô fosse atingido, uma dose única de ACh  $10^{-5}$  M foi adicionada (Fig. 6 - B, C, D, E, F, G, H, I, J, L). Os anéis que relaxavam menos que 90% do platô eram descartados. Os anéis sem endotélio relaxaram no máximo 10% ou até contraíram.

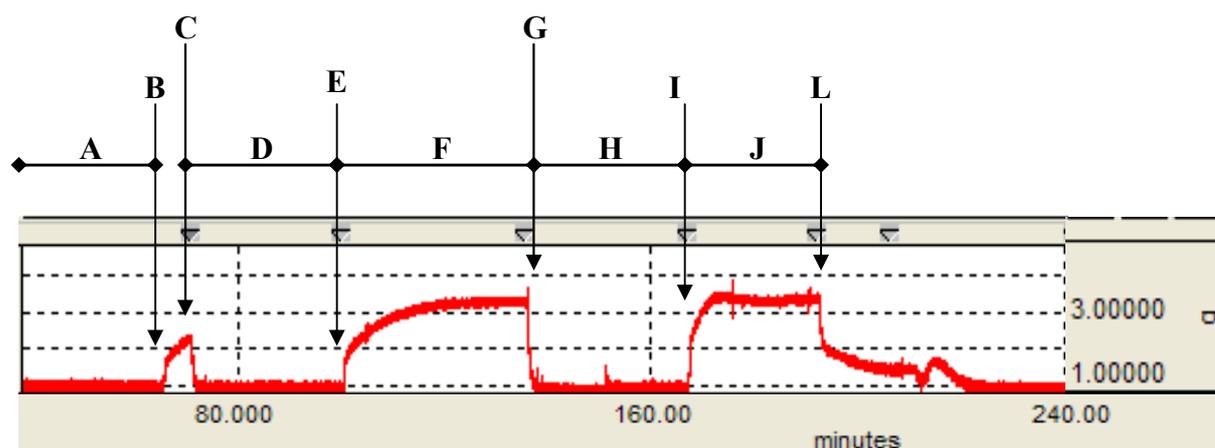


Fig. 6. Registro representando o teste da viabilidade do músculo liso vascular com KCl e avaliação da integridade funcional do endotélio. **Avaliação da viabilidade do músculo liso vascular com KCl:** **A)** Período de estabilização inicial (45 min permanecendo na tensão de 1g); **B)** Adição de KCl (75 mM) ao banho; **C)** Lavagem dos anéis com solução Krebs-Henseleit; **D)** Período de estabilização (30 min); **E)** Adição de KCl (75 mM) ao banho; **F)** Platô da contração induzida pelo KCl (75 mM); **G)** Lavagem dos anéis com solução Krebs-Henseleit; **H)** Período de estabilização (30 min). **Avaliação da integridade funcional do endotélio:** **I)** Pré-contracção com fenilefrina (FE)  $10^{-4}$  M; **J)** Platô da contração induzida pela FE; **L)** Adição de acetilcolina (ACh)  $10^{-5}$  M. O tempo foi registrado em minutos, eixo horizontal (intervalo de 80 min) e a força em gramas (g), eixo vertical. Ilustração cedida por Vargas FM (2007).

### 3.4.3.2. Avaliação do relaxamento dependente do endotélio

Em alguns anéis, foram realizadas curvas concentração-resposta à ACh, com intuito de avaliar o relaxamento dependente do endotélio através da estimulação da síntese de NO. Após o platô da contração promovida pela FE ( $10^{-4}$  M) (Fig. 6J), foram adicionadas concentrações crescentes de ACh na cuba de vidro ( $10^{-10}$  –  $3 \times 10^{-6}$  M).

### 3.4.3.3. Avaliação da resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina

Inicialmente foi aguardado o período de estabilização e em seguida foi verificada a integridade funcional do endotélio. Trinta minutos após esses procedimentos, as aortas foram incubadas com o fármaco de interesse, e, em seguida, foram realizadas curvas concentração-resposta à fenilefrina ( $10^{-10}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M).

#### **3.4.3.4. Avaliação da participação do óxido nítrico na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina**

Para avaliar a participação do NO na reatividade vascular à FE, os anéis foram incubados por 40 minutos com L-NAME (100 $\mu$ M) e em seguida, uma curva concentração-resposta à FE foi realizada ( $10^{-10}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M).

#### **3.4.3.5. Avaliação da participação dos prostanóides derivados da enzima cicloxigenase na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina**

Para avaliar a participação dos prostanóides derivados da COX na reatividade vascular à FE, os anéis foram incubados por 30 minutos com indometacina (10 $\mu$ M) e em seguida, uma curva concentração-resposta à FE foi realizada ( $10^{-10}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M).

#### **3.4.3.6. Avaliação da participação da adenosina na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina**

Para avaliar a participação da adenosina na reatividade vascular à FE, os anéis foram incubados por 30 minutos com um antagonista de receptores de adenosina, 8-sulfophenyltheophylline (8-SPT, 50  $\mu$ M) e em seguida, uma curva concentração-resposta à FE foi realizada ( $10^{-10}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M).

#### **3.4.3.7. Avaliação da participação do endotélio na resposta vasoconstritora promovida pela fenilefrina**

Para realização desse protocolo a remoção do endotélio vascular foi feita mecanicamente com o uso de fios metálicos. Após o período de estabilização, as preparações foram pré-contraídas com fenilefrina e a ausência do endotélio foi confirmada pela incapacidade de a acetilcolina  $10^{-5}$  M induzir relaxamento. Após o teste para a avaliação da

integridade endotelial, a preparação foi lavada e realizada curva concentração-resposta à fenilefrina ( $10^{-10}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M).

#### **3.4.4. Parâmetros avaliados nas curvas dose-resposta e concentração-resposta**

Nas curvas dose-resposta e concentração-resposta foi avaliada a resposta máxima ( $R_{\text{máx}}$ ) promovida pelo fármaco, bem como a sensibilidade ( $EC_{50}$ ), ou seja, a dose ou a concentração do fármaco necessária para promover a metade da  $R_{\text{máx}}$ . A liberação basal de NO e prostanóides derivados da COX foi avaliada através da comparação das áreas sob as curvas dose-resposta à FE obtidas antes e após a administração de L-NAME e antes e após a administração de indometacina, respectivamente (Rossoni e cols. 2002).

#### **3.4.5. Avaliação da contratilidade do músculo papilar isolado**

Dez min após o exercício, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (65 mg/kg, ip), o tórax foi aberto e o coração foi cuidadosamente removido. A aorta foi perfundida e o músculo papilar posterior do VE foi dissecado para avaliação da contratilidade cardíaca. O músculo papilar retirado foi colocado em cuba de vidro com 50 ml de solução nutritora de Krebs modificada contendo em mM: NaCl 120; KCl 5,4;  $CaCl_2$  1,25;  $MgCl_2$  1,2;  $NaH_2PO_4$  2;  $Na_2SO_4$  1,2;  $NaHCO_3$  27 e glicose 11. Essa solução foi gaseificada por borbulhamento com mistura carbogênica (5% de  $CO_2$  e 95% de  $O_2$ ) a 30° C. Os músculos tiveram suas extremidades fixadas para registro da contração isométrica, sendo estimulados por meio de eletrodos de platina posicionados paralelamente ao comprimento dos músculos, os quais liberavam pulsos de 5-10 ms de duração. A voltagem utilizada foi 1,5 vezes o limiar para provocar resposta mecânica do músculo a uma frequência de 0,5 Hz. A força desenvolvida foi medida através de transdutor de força isométrica (TSD125 - Byopac Systems, Inc; CA) acoplado a um amplificador (DA100C Byopac Systems, Inc; CA) e registrados em sistema de aquisição de dados (MP100 Byopac Systems, Inc; CA).

Os músculos foram estirados gradualmente até a tensão desenvolvida atingir o valor máximo. O comprimento diastólico da fibra muscular associado com a tensão máxima desenvolvida denomina-se  $L_{\text{máx}}$ . Após o  $L_{\text{máx}}$  ser alcançado, os músculos passaram por um

período de aproximadamente 40 min de estabilização. A partir de então os protocolos experimentais foram iniciados.

As variáveis analisadas foram: força isométrica máxima produzida corrigida pelo peso úmido dos músculos, força desenvolvida em diferentes frequências de estimulação, potenciação da força obtida após pausas de 15, 30, 60 e 120 segundos, contração após repouso de 10 minutos, contração tetânica, tempo de ativação e tempo de relaxamento ao isoproterenol. Considerando que a força foi mensurada em gramas e que esta foi corrigida pelo peso dos papilares, a força desenvolvida em cada protocolo experimental foi dada em g/mg.

### 3.4.5.1. Protocolos experimentais

#### 3.4.5.1.1. Curva de potenciação pós-pausa

A potenciação pós-pausa é uma manobra experimental que permite avaliar a atividade funcional do retículo sarcoplasmático. A primeira contração após uma pausa na estimulação elétrica é potencializada em relação às contrações precedentes (Fig. 7) (Vassallo e cols. 1995). Os tempos de pausa realizados foram: 15, 30, 60 e 120 segundos. Entre cada pausa a preparação passou por um período de estabilização até que a força desenvolvida retornasse ao valor basal.

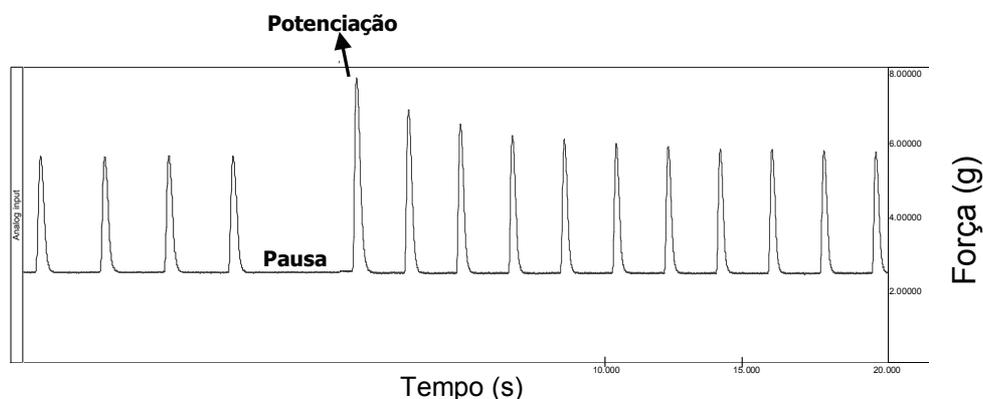


Fig. 7. Potenciação pós-pausa. A primeira contração após pausa na estimulação elétrica é potencializada. O tempo foi registrado em segundos (s) e a força em grama (g).

### 3.4.5.1.2. Curva concentração-resposta de cálcio extracelular

A curva concentração-resposta ao cálcio foi realizada utilizando concentrações extracelulares crescentes e cumulativas de cálcio (0,62; 1,25; 2,5 e 3,75 mM) para avaliar a variação de força. No primeiro momento, a solução de Krebs foi substituída por outra que continha a concentração de cálcio de 0,62 mM e novamente a preparação passava por um período de estabilização. As concentrações crescentes eram adicionadas após a força desenvolvida atingir um período de platô (Fig. 3).

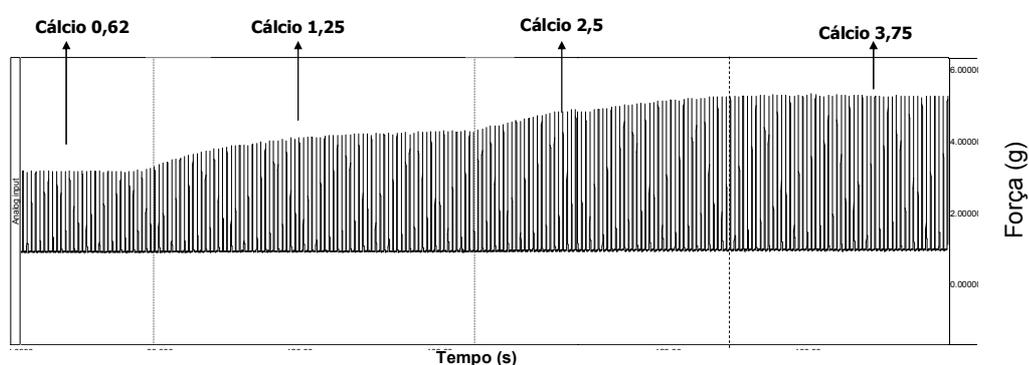


Fig. 8. Curva concentração-resposta ao cálcio realizada utilizando concentrações crescentes e cumulativas de  $\text{Ca}^{2+}$  (0,62; 1,25; 2,5 e 3,75 mM). O tempo foi registrado em segundos (s) e a força em grama (g).

### 3.4.5.1.3. Curva concentração-resposta ao isoproterenol

Para avaliação da resposta contrátil a um agonista  $\beta$ -adrenérgico não seletivo, a preparação foi superperfundida com solução de Krebs contendo uma concentração de cálcio 1,25 mM. Após estabilização funcional da preparação, foram adicionadas ao banho, doses crescentes de isoproterenol. A curva concentração-resposta foi realizada com as concentrações de  $5 \cdot 10^{-7}$  -  $5 \cdot 10^{-2}$  M (Fig. 9).

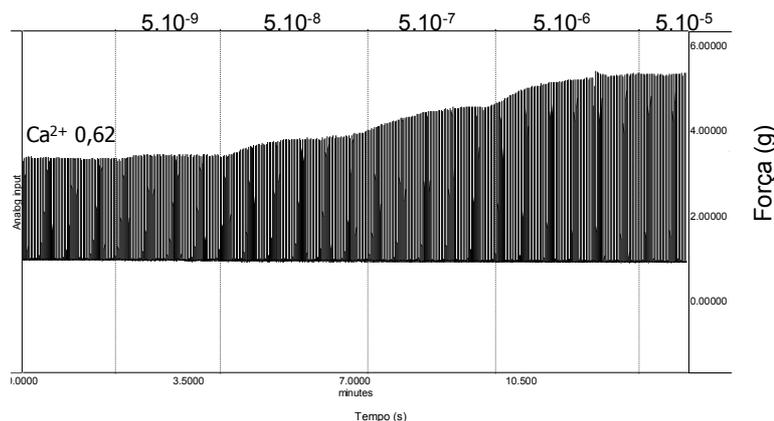


Fig. 9. Curva de concentração-resposta ao isoproterenol. Concentrações crescentes e cumulativas de isoproterenol ( $5.10^{-7}$  -  $5.10^{-2}$  M) foram adicionadas a uma solução de Krebs contendo uma concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  1,25 mM. O tempo foi registrado em segundos (s) e a força em grama (g).

#### 3.4.5.1.4. Contração tetânica

Essa manobra experimental foi realizada com o objetivo de avaliar o funcionamento das proteínas contráteis, desde que o funcionamento do RS é inibido pela cafeína. A tensão tetânica foi obtida após 30 minutos de perfusão com cafeína (5 mM) associada a frequência de estimulação de 10 Hz e duração de 15 segundos (Leite e cols. 1995). Foram registradas as forças obtidas no pico e no platô das contrações.

#### 3.4.5.1.5. Contração pós-pausa – PRC

As contrações obtidas após 10 minutos de repouso (post-rest contraction – PRC) permitem avaliar o influxo de cálcio pelo sarcolema. Para realização dessa manobra experimental, primeiramente a preparação foi perfundida com a solução previamente descrita, porém livre de cálcio e com 10 mM de cafeína com a finalidade de depletar o conteúdo de cálcio citoplasmático e do RS. A cafeína, na concentração usada, mantém os canais de rianodina do RS abertos com conseqüente extrusão de cálcio. A ausência de cálcio na solução favorece o efluxo desse íon da célula (Leite e cols. 1995). Os músculos foram lavados repetidamente com solução isenta de cálcio até as contrações serem abolidas (Ringer 1883). Em seguida o estímulo elétrico foi interrompido durante 10 minutos. Segundos antes de a estimulação ser reiniciada as preparações foram reperfundidas com solução Krebs.

### 3.4.6. Avaliação da contratilidade do coração isolado

O coração isolado do rato foi perfundido segundo técnica de Langendorff. O coto aórtico foi conectado a um sistema de perfusão com fluxo constante de 10 ml/min através de uma bomba peristáltica, no qual o músculo cardíaco foi nutrido em direção retrógrada, ou seja, através da artéria aorta. 10 minutos após a realização do exercício os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (65 mg/kg, ip) para retirada do coração. Para tanto, o tórax foi aberto por incisão bilateral na altura do processo xifóide e o coração exposto. Todos os vasos acima do arco aórtico foram ocluídos com auxílio de um fio de nylon deixando livre a aorta abdominal. Após a oclusão dos vasos, o coração foi cuidadosamente retirado juntamente com o pulmão e conectado ao sistema a fim de restabelecer a perfusão do músculo cardíaco. Uma vez iniciada a perfusão, o pulmão foi cuidadosamente removido bem como quaisquer outras estruturas remanescentes. A artéria pulmonar foi perfurada a fim de evitar aumento da pressão intra-ventricular que não fosse pelo balão. Também um pequeno orifício foi feito no ápice do ventrículo esquerdo a fim de impedir o acúmulo de líquido referente à circulação de Thebésio, a qual representa aproximadamente 5% do total do fluxo coronariano (Weber 1986). A solução nutritora bem como a cuba de vidro de 50 mL, contendo também solução nutritora onde o coração era acomodado, foram mantidos a temperatura constante em torno de 33° C por meio de um banho-maria. A composição química da solução nutritora era (em mM): NaCl 120; KCl 5,4; CaCl<sub>2</sub> 1,25; MgCl<sub>2</sub> 1,2; NaHCO<sub>3</sub> 24; NaSO<sub>4</sub> 1,2; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 e glicose 11, gaseificada por borbulhamento de mistura carbogênica na proporção 95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub> mantendo o pH estável na faixa de 7,4 -7,45.

Em todas as preparações os átrios foram removidos e a frequência dos batimentos cardíacos foi mantida fixa em 200 bpm através de eletrodo de estimulação (Ag/AgCl) imerso na cuba de vidro que acomodava o coração. Foram usados pulsos de onda quadrada de 5-10 V e duração de 5-10 ms.

Numa preparação ideal, a função contrátil e o ritmo cardíaco regular e retornavam em poucos segundos, e então um balão de látex foi introduzido na câmara ventricular esquerda através da válvula átrio-ventricular. Cada balão estava hermeticamente conectado a um cateter PE 150, ligado a uma peça em Y, onde uma de suas saídas possuía conexão direta com um transdutor de pressão (TSD104A). Este permitia o registro das pressões ventriculares. A outra extremidade da peça em Y era conectada a uma seringa de polietileno (1 mL) através de uma cânula de PE 50 e todo este sistema permaneceu completamente

preenchido de água deionizada a fim de controlar, de forma satisfatória, a pressão diastólica (PD) intra-ventricular através da variação do volume do balão.

A pressão de perfusão coronariana foi avaliada através também de um transdutor de pressão (TSD104A) acoplado ao sistema de perfusão aórtica. Uma vez considerado o fluxo constante, as variações de pressão indicavam variações na resistência coronariana e este parâmetro foi apenas um controle da atividade funcional da preparação durante a realização dos protocolos.

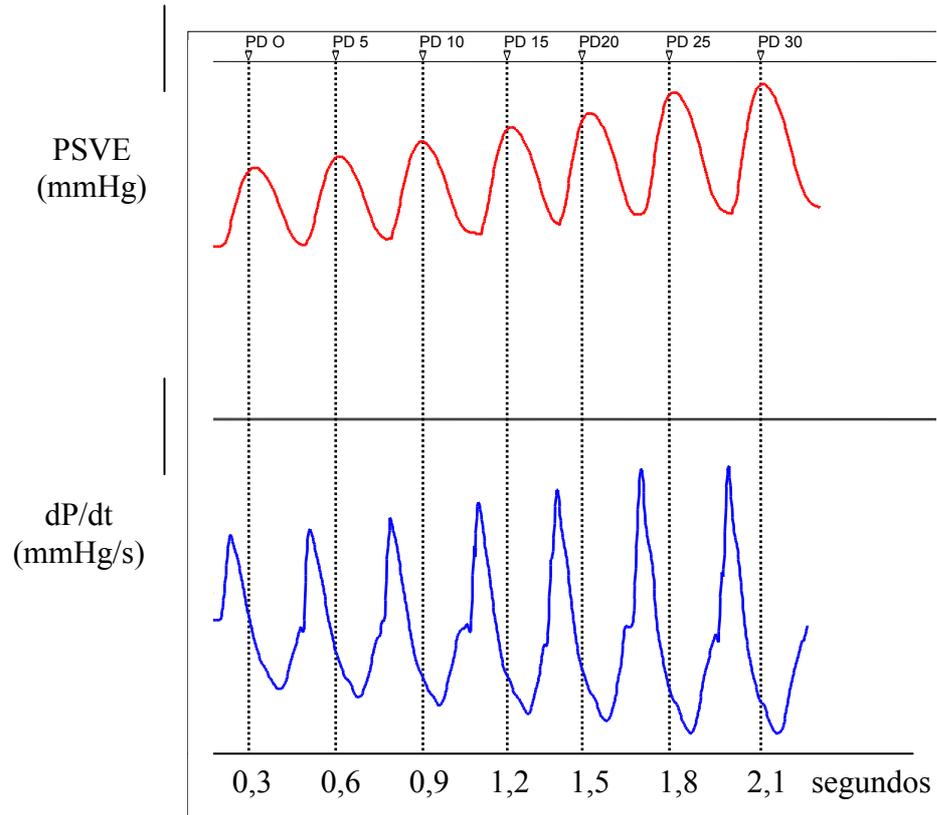
Na montagem da preparação verificou-se cuidadosamente que a altura do coração, dos transdutores e da coluna de mercúrio através da qual os transdutores eram previamente calibrados, estivessem perfeitamente nivelados. Os transdutores de pressão eram perfeitamente acoplados a um sistema de aquisição e registro de dados (MP 100 Biopac System, Inc; CA e PC Pentium).

#### **3.4.6.1. Protocolos experimentais**

No coração isolado, o estudo dos mecanismos que controlam o mecanismo intrínseco do desempenho muscular pode ser realizado através de intervenções inotrópicas. No presente estudo foi avaliada a auto-regulação heterométrica, também conhecida como relação de Frank-Starling, mensurada através de uma curva de estiramento-tensão. Foi avaliada também a regulação homeométrica do coração, por meio do aumento na concentração de cálcio na solução nutritora da preparação e aplicação *in bolus* de isoproterenol. As variáveis analisadas foram: pressão sistólica isovolumétrica do VE (PSIVE), primeira derivada temporal positiva da PS ( $dP/dt+$ ) e primeira derivada temporal negativa da PS ( $dP/dt-$ ).

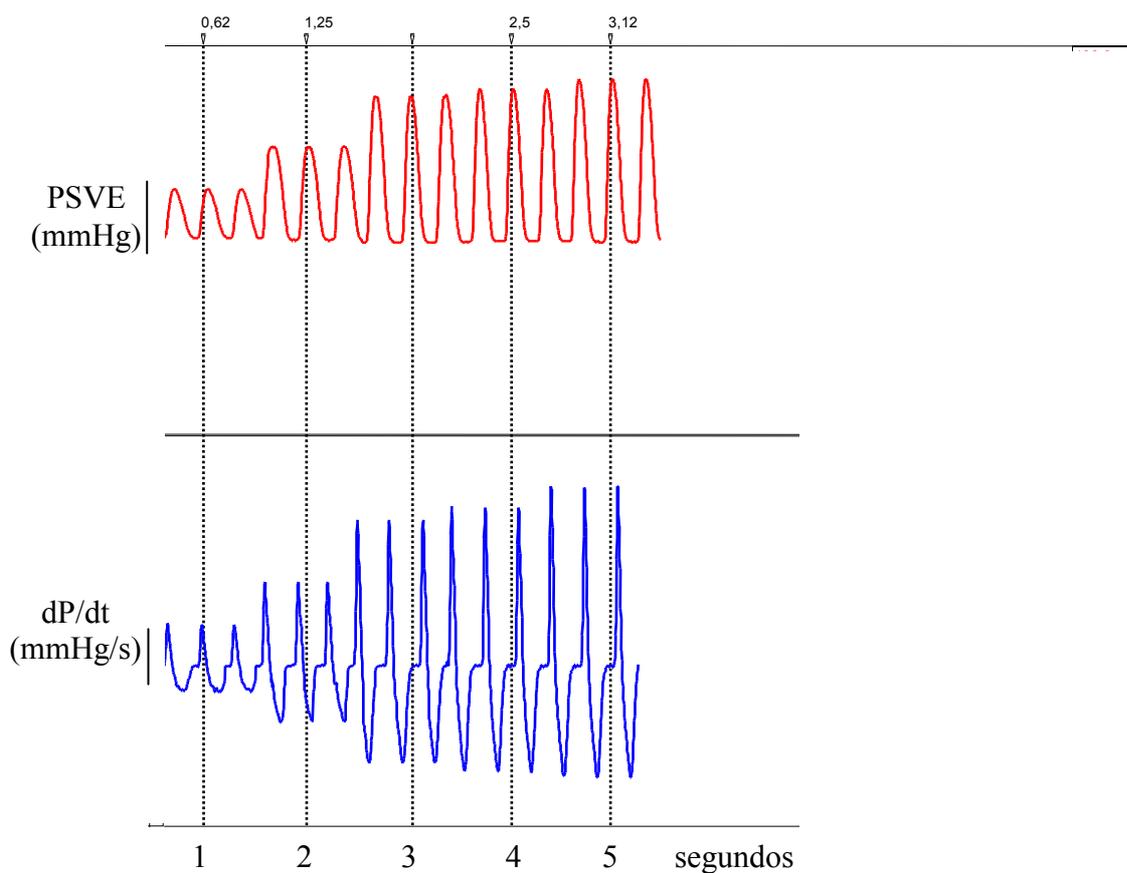
##### **3.4.6.1.1. Avaliação da auto-regulação heterométrica**

O desempenho ventricular foi avaliado através da curva estiramento-tensão na câmara ventricular esquerda, mecanismo conhecido como curva de Frank-Starling. A preparação do coração isolado foi mantida sob perfusão a fluxo constante de 10 mL/min com solução de Krebs ( $Ca^{+2}$  1,25 mM). A curva foi obtida por aumentos crescentes de 5 mmHg na PD (0 - 30 mmHg). A figura abaixo ilustra um registro típico deste protocolo experimental.



### 3.4.6.1.2. Avaliação da regulação homeométrica pelo aumento na concentração extracelular de cálcio

Foi realizada curva concentração-resposta ao cálcio utilizando concentrações crescentes de cálcio, conforme demonstrado na figura abaixo. A PD na câmara ventricular foi mantida em 10 mmHg e a solução nutritora foi substituída por outra cuja concentração de cálcio era de 0,62 mM. Após estabilização, procedimento semelhante foi realizado em soluções com concentração de cálcio de 1,25 mM; 2,5 mM e 3,12 mM.



### **3.4.6.1.3. Avaliação da regulação homeométrica por uma dose *in bolus* de isoproterenol**

Após estabilização, foi adicionado um volume de 100  $\mu\text{L}$  *in bolus* de uma solução de  $10^{-5}$  M de isoproterenol, perfazendo uma dose de 25  $\mu\text{g}$  na preparação. A PD na câmara ventricular foi mantida em 10 mmHg. As variáveis foram analisadas após o platô da pressão sistólica.

## **3.5. Apresentação dos dados e análise estatística**

Todos os dados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os testes estatísticos utilizados foram ANOVA 1 via para medidas repetidas e aleatórias, ANOVA 2 vias para medidas repetidas e teste *t*-Student não pareado. O teste post hoc utilizado foi de Tukey.  $P < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. O software utilizado para análise estatística dos dados foi o GraphPad-Prism 5.0.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Pressão arterial e frequência cardíaca

Como pode ser observado na figura 10 (A e B), uma única sessão de ER promoveu importante redução dos valores pressóricos de ratos hipertensos. Os animais exercitados apresentaram redução tanto da pressão arterial sistólica (PAS) quanto da pressão arterial diastólica (PAD) em todo o período pós-exercício quando comparado à condição pré-exercício e ao grupo controle. Dez min após o exercício a PAS atingiu o valor de  $164 \pm 7,4$  mmHg ( $P=0,002$  vs. pré-exercício) e a PAD  $121 \pm 5,3$  mmHg ( $P=0,005$  vs. pré-exercício). Os animais controle não exibiram alteração dos valores pressóricos após o exercício fictício. Antes do exercício, os grupos experimentais possuíam valores de PA semelhantes (PAS: Ct  $224 \pm 1,9$  mmHg vs. Ex  $221 \pm 2,0$  mmHg,  $P=0,3$ ; PAD: Ct  $146 \pm 0,3$  mmHg vs. Ex  $145 \pm 0,9$  mmHg,  $P=0,6$ ).

A figura 11 demonstra os valores de FC antes e após o ER agudo. Antes do exercício os valores de FC foram semelhantes entre os grupos (Ex  $316 \pm 2,9$  vs. Ct  $326 \pm 4,9$  bpm,  $P=0,12$ ). A FC apresentou elevação em dois momentos do período pós-exercício, aos 10 min ( $353 \pm 7,5$  bpm;  $P=0,03$  vs. pré-exercício) e aos 30 min ( $351 \pm 6,0$  bpm;  $P=0,03$  vs. pré-exercício).

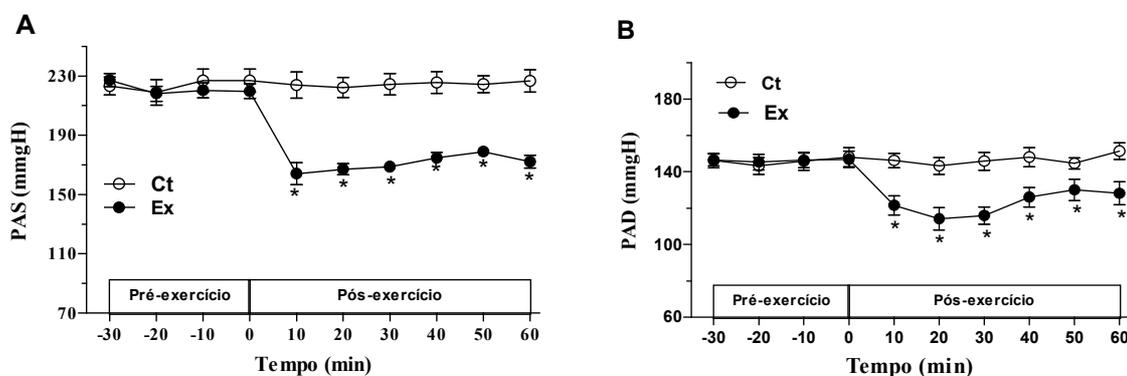


Fig. 10. Pressão arterial sistólica (PAS, A) e pressão arterial diastólica (PAD, B) nos períodos pré-exercício e pós-exercício em ratos controle (Ct,  $n=6$ ) e exercício (Ex,  $n=8$ ). \* $P<0,05$  vs. Ct e pré-exercício. Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Os dados foram analisados com ANOVA 1 e 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey.

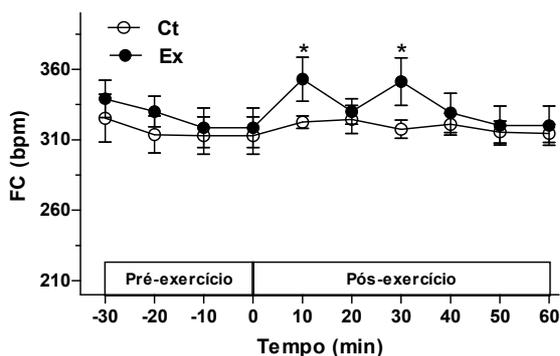


Fig. 11. Frequência cardíaca (FC) nos períodos pré-exercício e pós-exercício em ratos controle (Ct, n=6) e exercício (Ex, n=8). \* $P < 0,05$  vs. Ct e pré-exercício. Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Os dados foram analisados com ANOVA 1 e 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey.

## 4.2. Reatividade da artéria caudal

A figura 12 A apresenta curva de relaxamento à ACh na artéria caudal. Como pode ser observado, uma única sessão de ER aumentou o relaxamento dependente do endotélio, como observado pelo aumento da sensibilidade do vaso à ACh (Ex  $9,8 \pm 0,06$  vs. Ct  $8,7 \pm 0,1$  log M;  $P < 0,0001$ ). No entanto, não foi observado efeito do ER na  $R_{m\acute{a}x}$  (Ex  $58 \pm 2,2$  vs. Ct  $62 \pm 2,8$  mmHg  $P = 0,2$ ). O relaxamento independente do endotélio foi avaliado pela curva de relaxamento ao NPS (Fig. 12 B). Essa resposta não apresentou diferença entre os grupos estudados ( $EC_{50} =$  Ex  $-4,7 \pm 0,1$ ; Ct  $-5,5 \pm 0,4$  log M,  $P = 0,1$  /  $R_{m\acute{a}x} =$  Ex  $68 \pm 3,9$ ; Ct  $68 \pm 2,1$  mmHg,  $P = 0,9$ ), indicando que as alterações vasculares após o exercício são dependentes basicamente de fatores endoteliais.

A figura 13-A-D apresenta as curvas dose-resposta à FE na artéria caudal, assim como a % da diferença da área abaixo da curva (dAUC), mediante intervenções com L-NAME, indometacina e após dano endotelial. O ER agudo foi capaz de promover redução da reatividade à FE, como pode ser observado pela  $R_{m\acute{a}x}$  (Ex  $276 \pm 22$  vs. Ct  $439 \pm 18$  mm Hg,  $P = 0,002$ ) (A). Após administração de L-NAME a reatividade vascular aumentou em ambos os grupos ( $EC_{50} =$  Ex  $-2,0 \pm 0,07$ ; Ct  $-2,1 \pm 0,09$  log mg,  $P = 0,55$  /  $R_{m\acute{a}x} =$  Ex  $668 \pm 40$ ; Ct  $709 \pm 34$  mmHg,  $P = 0,66$ ). Embora a amplitude de resposta ao L-NAME tenha sido semelhante entre os grupos, ao analisar a magnitude do deslocamento da curva através da % da dAUC, os grupos se comportaram de forma diferente. Mediante administração de L-NAME, a % da

dAUC foi maior no grupo exercício, sugerindo que a liberação de NO foi maior nessa condição.

Após dano endotelial a reatividade vascular aumentou consideravelmente em ambos os grupos ( $EC_{50}$ = Ex  $-2,7 \pm 0,07$  vs. Ct  $-2,9 \pm 0,07$  log mg,  $P=0,22$  /  $R_{m\acute{a}x}$ = Ex  $666 \pm 45$  vs. Ct  $668 \pm 49$  mmHg,  $P=0,97$ ). Nessas condições a % da dAUC também foi maior nos animais exercitados, o que sugere importante papel do endotélio na redução da reatividade vascular à FE.

Na presença de indometacina, a resposta à FE foi maior em ambos os grupos quando comparado à resposta antes da administração de indometacina. No entanto, o grupo controle apresentou alteração apenas na  $EC_{50}$  enquanto que no grupo exercício foi observada alteração na  $R_{m\acute{a}x}$  e na  $EC_{50}$ . Além disso, na presença da indometacina, a comparação entre os grupos mostra que a  $EC_{50}$  (Ex  $-2,1 \pm 0,07$  vs. Ct  $-2,4 \pm 0,06$ ;  $P=0,01$ ) e a  $R_{m\acute{a}x}$  (Ex  $347 \pm 15$  vs. Ct  $437 \pm 24$ ;  $P=0,01$ ) foram menores nos animais exercitados. Ao analisar a magnitude do deslocamento da curva através da % da dAUC, observou-se maior liberação de prostanoídes após o exercício.

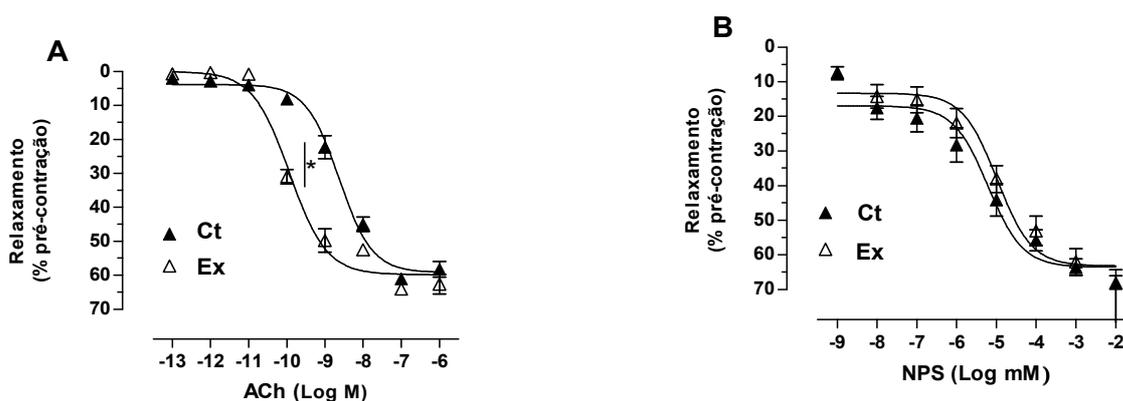


Fig. 12. Curvas dose-resposta ao relaxamento dependente do endotélio produzido pela acetilcolina (ACh) (A) e para o relaxamento independente do endotélio produzido pelo nitroprussiato de sódio (NPS) (B) no leito vascular caudal de ratos controle (Ct,  $n=8$ ) e exercício (Ex,  $n=8$ ). \* $P<0,05$   $R_{m\acute{a}x}$  Ex vs. Ct. Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados foram analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey e test t não-pareado.

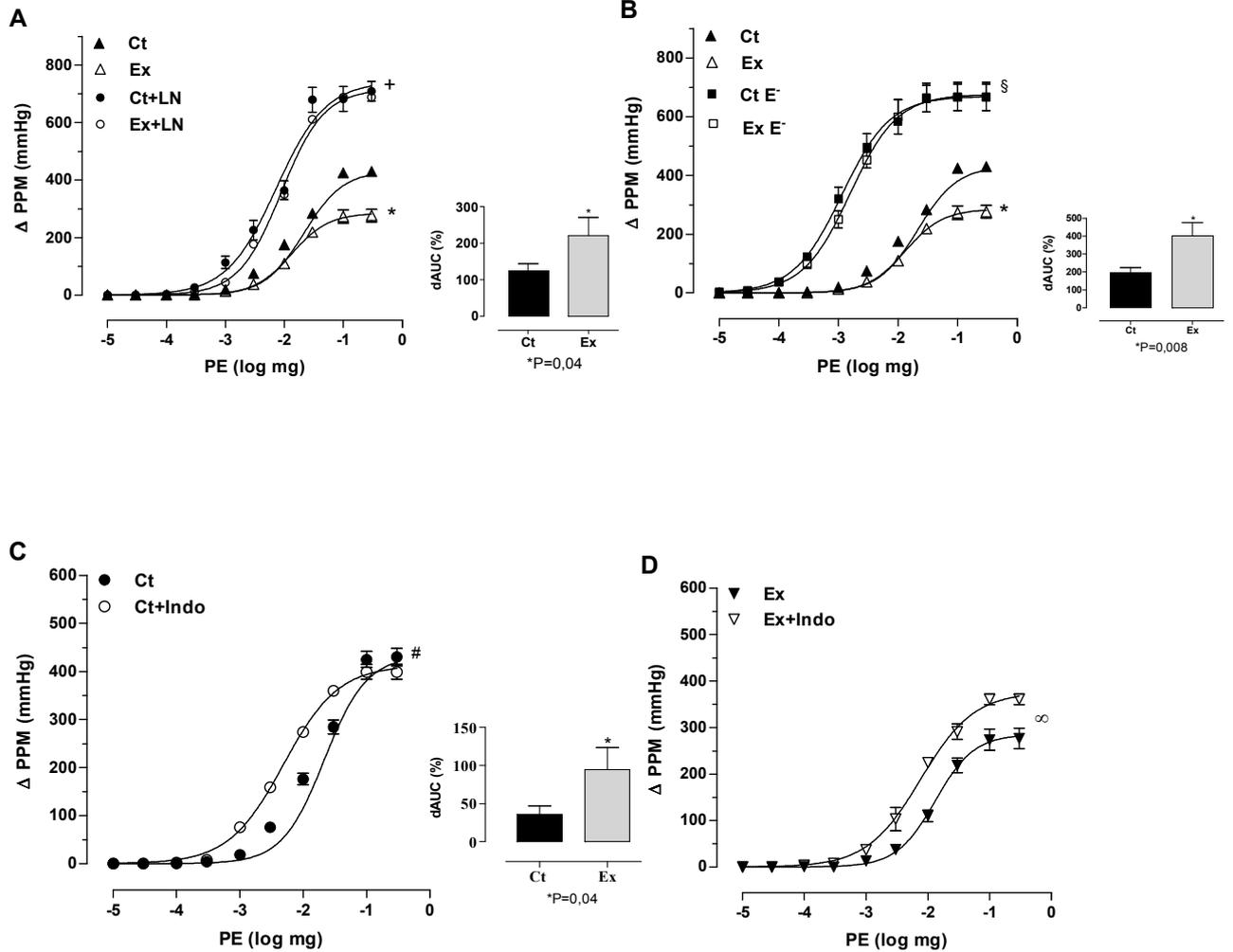


Fig. 13. Curva dose-resposta à fenilefrina (FE) e % diferença da área abaixo da curva (dAUC) em animais controle (Ct) e exercício (Ex) antes (Ct, n=21; Ex, n= 21) e após administração de L-NAME (Ct+LN, n= 7; Ex+LN, n= 7) (A), após dano endotelial (Ct E<sup>-</sup>, n=7; Ex E<sup>-</sup>, n=7) (B) e após administração de indometacina (Ct+Indo n=7, Ex+Indo, n=7) (C e D). \*P<0,05 Ex vs. demais condições. +P<0,05 Ct+LN e Ex+LN vs. demais condições. §P<0,05 Ct E<sup>-</sup> e Ex E<sup>-</sup> vs. demais condições. #P<0,05 Ct vs. Ct+Indo. ∞P<0,05 Ex vs. Ex+Indo. Valores são expressos em média ± EPM. Dados foram analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey e test t não-pareado.

### 4.3. Reatividade da artéria aorta

A figura 14 mostra o relaxamento dependente do endotélio produzido pela ACh. Uma única sessão de ER aumentou consideravelmente o relaxamento dependente do endotélio, como pode ser observado na curva concentração-resposta à ACh. Após o exercício houve aumento da  $R_{\text{máx}}$  à ACh (Ex  $-80 \pm 4,6$  vs. Ct  $-50 \pm 6,8$  %,  $P=0,001$ ), entretanto, quanto a  $EC_{50}$  não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (Ex  $-8,9 \pm 0,2$  vs. Ct  $-9 \pm 0,1$  log M,  $P=0,8$ ).

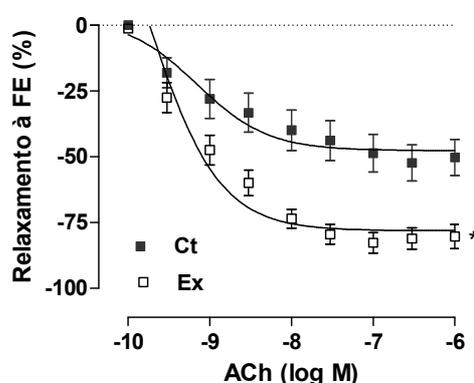


Fig. 14. Curva concentração-resposta à acetilcolina (ACh) obtida em anéis de aorta previamente contraído com FE ( $10^{-4}$ M) em animais controle (Ct,  $n=17$ ) e exercício (Ex,  $n=15$ ). FE, fenilefrina. \* $P<0,05$  vs. Ct. Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados foram analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey e test t não-pareado.

A figura 15 (A-D) apresenta as curvas concentração-resposta à FE, assim como a % da diferença da área abaixo da curva (dAUC), mediante intervenções com L-NAME, indometacina e após remoção do endotélio. Da mesma forma que na artéria caudal, a reatividade aórtica à FE foi atenuada após o ER agudo, como demonstrado pela redução da  $R_{\text{máx}}$  (Ex  $95 \pm 7,9$  vs. Ct  $120 \pm 4,2$  %,  $P=0,008$ ). Na presença do L-NAME, a redução da reatividade observada após o exercício foi abolida, ocorrendo significativo aumento da resposta vascular em ambos os grupos ( $EC_{50}$ = Ex  $-2,7 \pm 0,07$  vs. Ct  $-2,9 \pm 0,07$  log M,  $P=0,22$  /  $R_{\text{máx}}$ = Ex  $148 \pm 5,1$  vs. Ct  $149 \pm 7,9$  %,  $P=0,97$ ). A % da dAUC sugere também maior liberação de NO nos animais exercitados. (Fig. 15 A). Após dano endotelial a reatividade vascular aumentou consideravelmente em ambos os grupos ( $EC_{50}$ = Ex  $-7,7 \pm 0,25$  vs. Ct  $-7,6 \pm 0,12$  log M,  $P=0,8$  /  $R_{\text{máx}}$ = Ex  $158 \pm 7,2$  vs. Ct  $158 \pm 7,2$  %,  $P=0,8$ ). Nessas condições a % da dAUC também foi maior nos animais exercitados, indicando importante

modulação endotelial na redução da reatividade vascular à FE (Fig. 15 B). Na presença de indometacina a reatividade aórtica à FE foi consideravelmente reduzida em ambos os grupos ( $EC_{50}$ = Ex  $-5,9 \pm 0,14$  vs. Ct  $-6,6 \pm 0,33$  log M,  $P=0,06$  /  $R_{m\acute{a}x}$ = Ex  $9,5 \pm 2,9$  vs. Ct  $17 \pm 6,2$  %,  $P=0,2$ ), indicando maior produção de prostanóides vasoconstritores pela via da COX. Isso pode ser confirmado pela % da dAUC, a qual apresentou maior valor na condição exercício (Fig. 15 C).

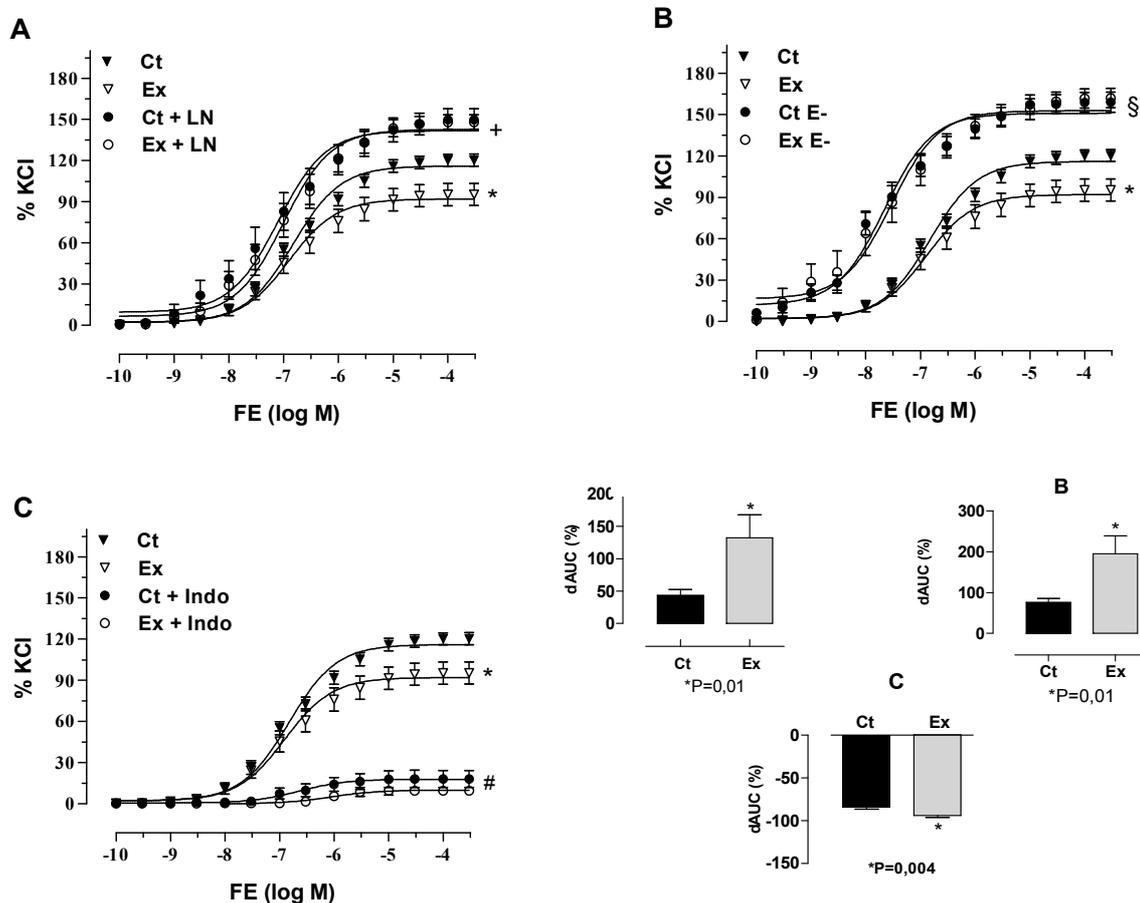


Fig. 15. Curva concentração-resposta à fenilefrina (FE) em anéis de aorta de animais controle (Ct) e exercício (Ex) antes (Ct, n=22; Ex, n= 22) e após administração de L-NAME (Ct+LN, n= 11; Ex+LN, n= 12) (A), após dano endotelial (Ct E<sup>-</sup>, n=7; Ex E<sup>-</sup>, n=6) (B) e após administração de indometacina (Ct+Indo n=7, Ex+Indo, n=7) (C). dAUC, diferença da área abaixo da curva. \*P<0,05 Ex vs. demais condições. +P<0,05 Ct+LN e Ex+LN vs. demais condições. §P<0,05 Ct E<sup>-</sup> e Ex E<sup>-</sup> vs. demais condições. #P<0,05 Ct+Indo e Ex+Indo vs. demais condições. Os resultados (média ± EPM) são expressos como porcentagem da resposta máxima ao KCl. Dados foram analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey e test t não-pareado.

Com o objetivo de investigar o possível papel da adenosina na redução da reatividade aórtica após o ER agudo, curvas concentração-resposta à FE foi avaliada na presença de 8-SPT, bloqueador de receptores de adenosina (Fig. 16 A e B). Entretanto, após o bloqueio desses receptores a resposta à FE não foi alterada em ambos os grupos estudados (**Ex** -  $EC_{50}$  antes do bloqueio:  $-6,2 \pm 0,14$  vs. após o bloqueio  $-6,3 \pm 0,11$  log M,  $P=0,59$ ; **Ct** -  $EC_{50}$  antes do bloqueio:  $-6,5 \pm 0,1$  vs. após o bloqueio  $-6,4 \pm 0,14$  log M,  $P=0,88$  / **Ex** -  $R_{máx}$  antes do bloqueio:  $88 \pm 6,7$  vs. após o bloqueio  $73 \pm 9,3$  %,  $P=0,21$ ; **Ct** -  $R_{máx}$  antes do bloqueio:  $106 \pm 12$  vs. após o bloqueio  $103 \pm 8,0$  %,  $P=0,82$ ).

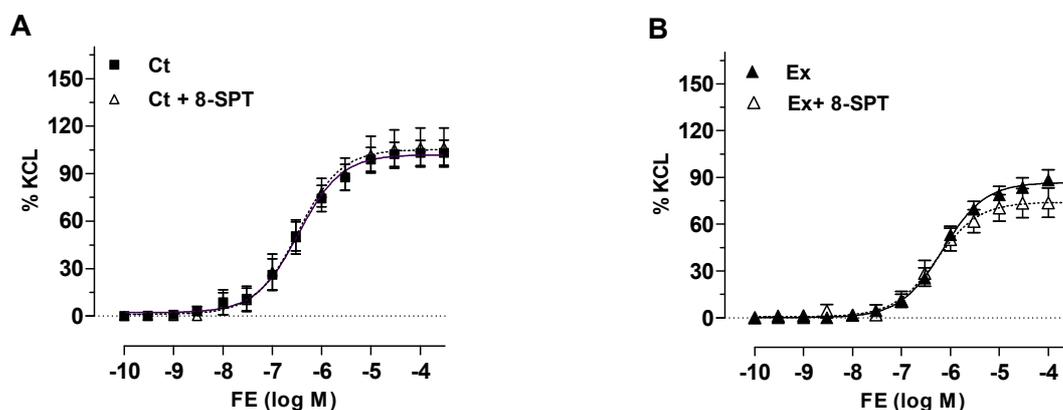


Fig. 16. Curva concentração-resposta à fenilefrina (FE) obtida em anéis de aorta nas condições controle (Ct, n=8) (A) e exercício (Ex, n=10) (B) antes e após a administração de 8-SPT (Ct+8-SPT, n=9; Ex+8-SPT, n=8). Os resultados (média  $\pm$  EPM) são expressos como porcentagem da resposta máxima ao KCl. Dados foram analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey e test t não-pareado.

#### 4.4. Contratilidade do músculo papilar isolado

A figura 18 demonstra que em condições basais, uma única sessão de ER desencadeou aumento (42%,  $P=0,01$ ) na força desenvolvida pelos músculos papilares.

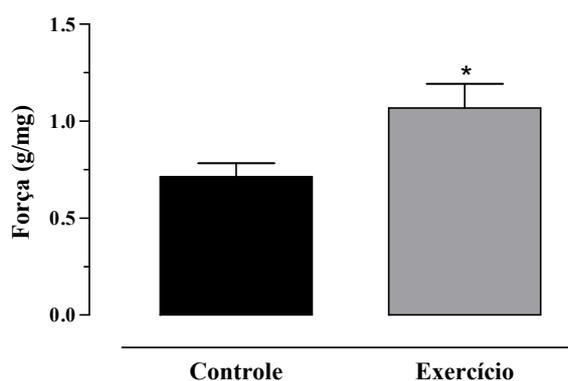


Fig. 17. Força desenvolvida por músculos papilares isolados de ratos controle (n=21) e exercício (n=15) em condições basais. \*P=0,01. Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados analisados com teste t não pareado.

Não foi observada alteração na força desenvolvida por músculos papilares após pausas na contração nos animais controle (Fig. 19). Entretanto, nos animais exercitados, foi observado aumento na força desenvolvida após pausas de 30 ( $\Delta + 0,1$  vs. 15s; P<0,05), 60 ( $\Delta + 0,2$  vs. 15s; P<0,05) e 120 segundos ( $\Delta + 0,15$  vs. 15s; P<0,05).

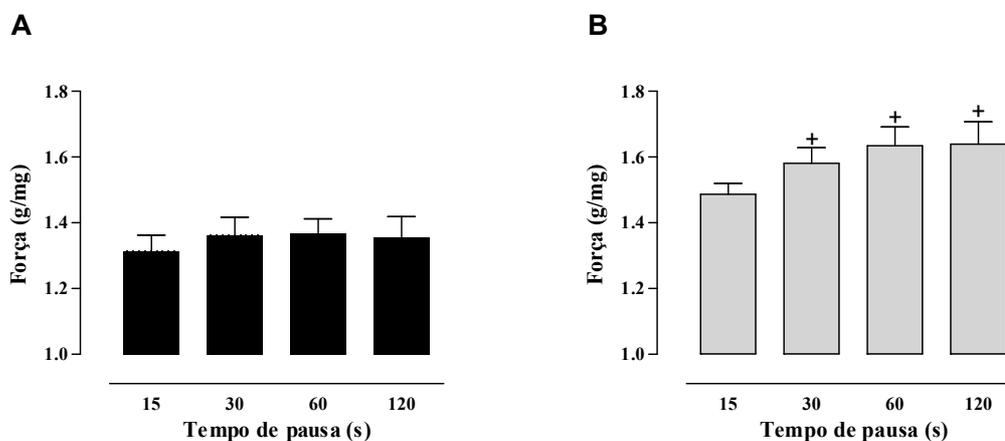


Fig. 18. Potenciação pós-pausa - potenciação da força desenvolvida por músculos papilares isolados após pausas de 15, 30, 60 e 120 segundos na contração em ratos controle (A, n=21) e exercício (B, n=15). A potenciação após cada pausa foi obtida dividindo-se a amplitude da primeira contração após a pausa, pela amplitude da contração que precedeu a pausa. <sup>+</sup>P<0,05 vs. 15 s. Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados analisados com ANOVA 1 via para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey.

A resposta inotrópica ao isoproterenol foi maior nos animais exercitados (Fig. 20). Entretanto o incremento da força desenvolvida entre as concentrações de isoproterenol foi

semelhante entre os grupos. Em ambos os grupos, nas últimas concentrações ( $5.10^{-4}$  –  $5.10^{-2}$  M), a resposta inotrópica foi maior quando comparada ao basal e às concentrações de  $5.10^{-7}$  e  $5.10^{-6}$  ( $P < 0,05$ ).

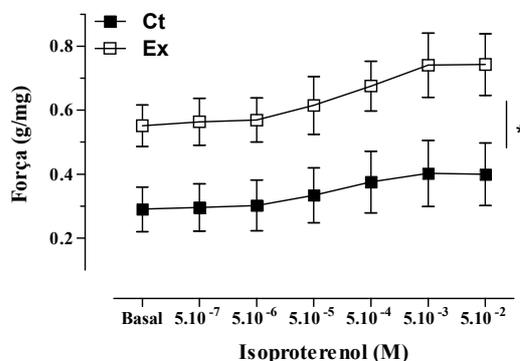


Fig. 19. Força desenvolvida por músculos papilares isolados de ratos controle (Ct, n=5) e exercício (Ex, n=5) mediante concentrações crescentes de isoproterenol. \* $P < 0,05$ . Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey.

A fig. 21 apresenta os valores da porcentagem de aumento das PRC. Como pode ser observado, o exercício causou importante aumento na PRC (Ex  $4,1 \pm 0,4$  vs. Ct  $1,7 \pm 0,2$  % g/mg;  $P = 0,0001$ ), sugerindo assim, que após o exercício o influxo de cálcio pelo sarcolema está aumentado.

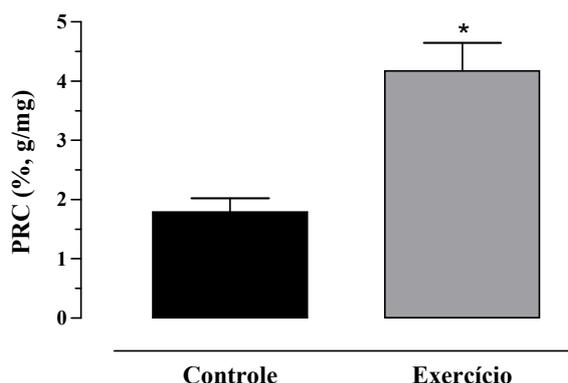


Fig. 20. Contração pós-pausa (PRC) em ratos controle (Ct, n=11) e exercício (Ex, n=8). \* $P < 0,0001$ . Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados foram analisados com teste t não-pareado.

Na fig. 22 pode-se observar que não houve diferença nas contrações tetânicas entre os animais exercício e controle, tanto no pico ( $P = 0,68$ ) quanto no platô das contrações ( $P = 0,91$ ).

Considerando que essa manobra experimental promove máxima ativação das proteínas contráteis, esses resultados sugerem que após o exercício ER agudo não ocorre melhora na atividade funcional das proteínas contráteis.

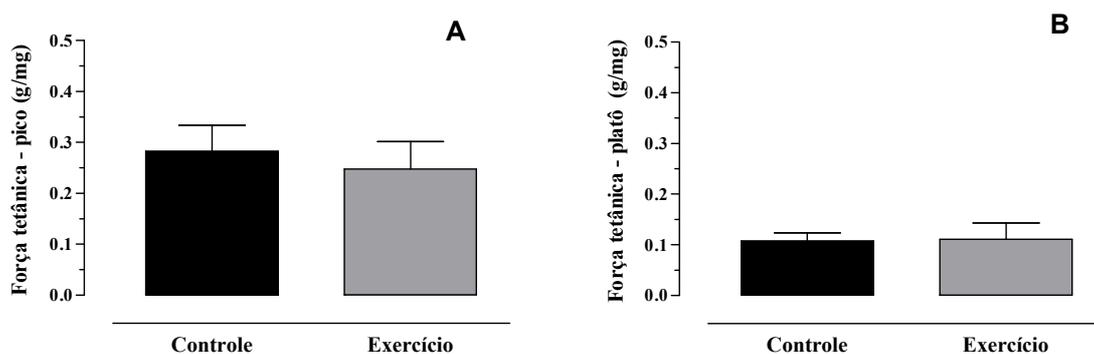


Fig. 21. Força tetânica desenvolvida por músculos papilares isolados no pico (A) e platô (B) da contração em ratos controle (Ct, n=16) e exercício (Ex, n=7). Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados foram analisados com teste t não-pareado.

A resposta inotrópica ao cálcio não apresentou diferença entre os grupos estudados ( $P > 0,05$ ) (Fig. 23).

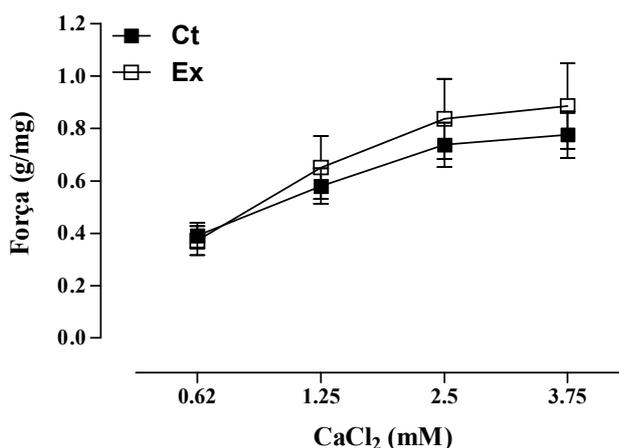


Fig. 22. Força desenvolvida por músculos papilares isolados de ratos controle (Ct, n=18) e exercício (Ex, n=8) mediante concentrações crescentes de  $\text{CaCl}_2$ . Valores são expressos em média  $\pm$  EPM. Dados analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com teste post hoc de Tukey.

#### 4.5. Contratibilidade do coração isolado

A contratibilidade ventricular esquerda foi investigada através da intervenção heterométrica (curva de Frank-Starling) e homeométrica (curva de cálcio e dose in bolus de isoproterenol).

A figura 24 demonstra que, em condições basais, uma única sessão de ER aumentou a pressão sistólica desenvolvida pelo VE ( $\Delta +39$  mmHg). A resposta inotrópica ao isoproterenol foi maior na condição exercício, no entanto, quando comparado à condição basal, os animais controle apresentaram maior incremento da PSIVE ( $\Delta +53$  mmHg) que os animais Ex ( $\Delta +46$  mmHg).

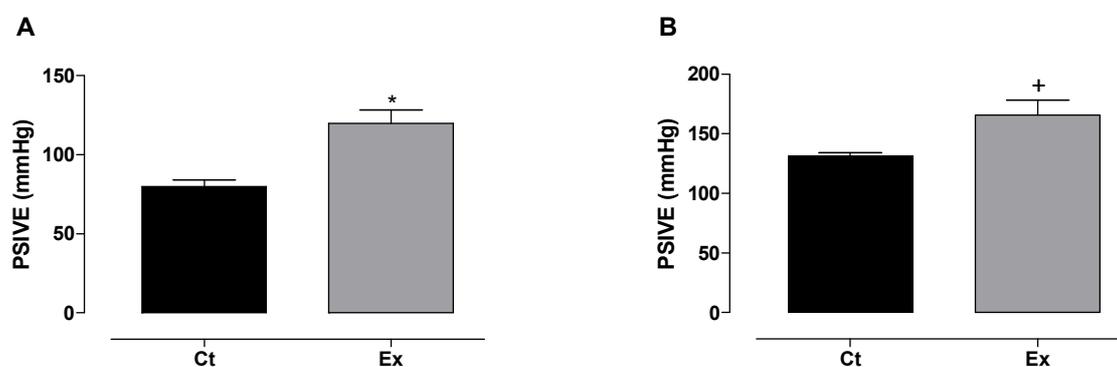


Fig. 23. Pressão sistólica isovolumétrica no ventrículo esquerdo (PSIVE) em condições basais (A) e na presença de isoproterenol (B) em animais controle (Ct, n=5) e exercício (Ex, n=6). PD constante de 10 mmHg e concentração extracelular de cálcio 1,25 mM. \*P=0,003. +P= 0,02. Dados foram expressos como média  $\pm$  EPM e foram analisados com teste t não-pareado.

A figura 25 (A e C) mostra que em condições basais, o índice de contratibilidade da fase de contração isovolumétrica ( $dP/dt+$ ), assim como da fase de relaxamento isovolumétrico ( $dP/dt-$ ) foi maior nos animais exercitados ( $+1649 \pm 154$  mmHg/s;  $-1824 \pm 144$  mmHg/s, respectivamente) que nos animais controles ( $+1162 \pm 135$  mmHg/s;  $-1193 \pm 100$  mmHg/s, respectivamente). Na presença do isoproterenol (Fig. 25 B e D), esse parâmetros apresentaram maior incremento após o exercício ( $\Delta dP/dt+$  2228 mmHg/s,  $\Delta dP/dt-$  1523 mmHg/s) que após a condição controle ( $\Delta dP/dt+$  1786 mmHg/s,  $\Delta dP/dt-$  1354 mmHg/s) quando comparado à situação basal.

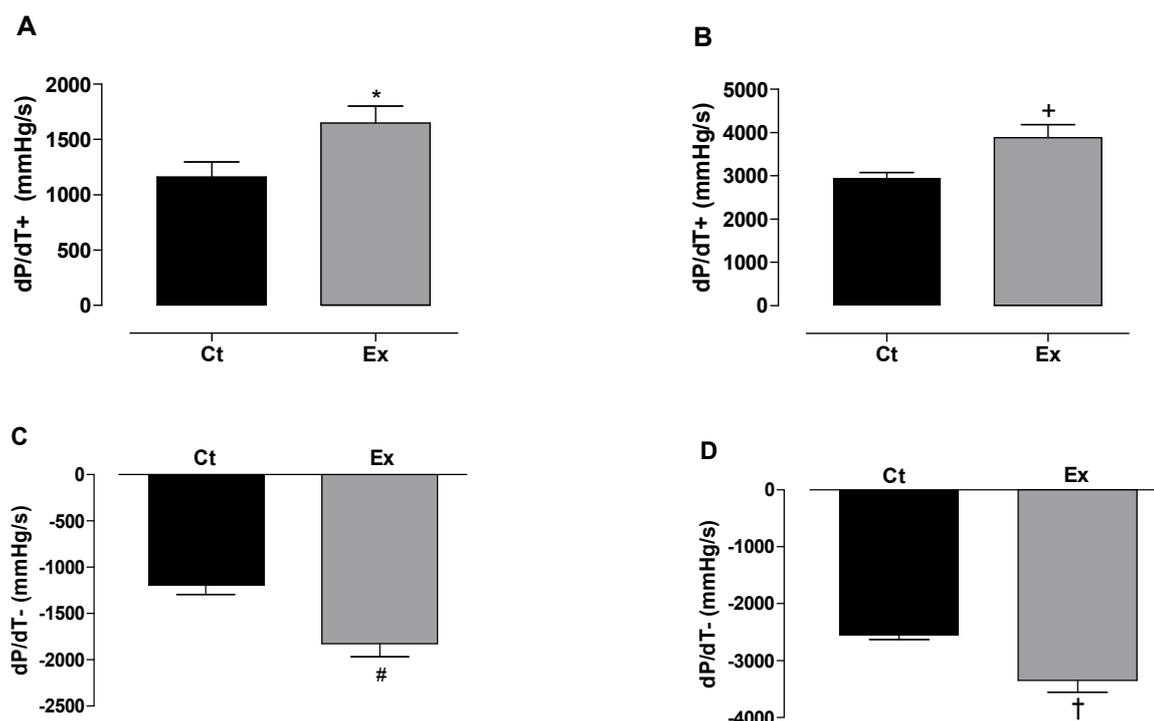


Fig. 24. Primeira derivada temporal positiva da pressão (dP/dT+) em condições basais (A) e na presença de isoproterenol (B) e primeira derivada temporal negativa da pressão (dP/dT-) em condições basais (C) e na presença de isoproterenol (D) em animais controle (Ct, n=5) e exercício (Ex, n=6). \*P=0,045. +P=0,018. #P=0,007. †P=0,007. Dados foram expressos como média  $\pm$  EPM e foram analisados com teste t não-pareado.

A figura 26A apresenta a curva de Frank-Starling, na qual pode ser observado que os animais exercitados apresentaram aumento da PSIVE em todas as pressões diastólicas estudadas ( $P < 0,05$ ). Ambos os grupos de animais responderam aos incrementos de PD com aumentos na PSIVE. Após o exercício os animais exercitados apresentaram aumento nos índices de contratilidade (dP/dt+ e dP/dt-) para todas as pressões diastólicas (Fig. 26 B e C). Entretanto, a dP/dt+ não apresentou alteração ( $P > 0,05$ ) em função dos aumentos na PD, tanto na condição controle quanto na condição exercício. Ao contrário, a dP/dt- apresentou aumento mediante incrementos na PD tanto no grupo controle ( $P < 0,05$  0 mmHg vs. 5, 10, 15, 20, 25, 30 mmHg;  $P < 0,05$  5 mmHg vs. 15, 20, 25, 30 mmHg) quanto exercício ( $P < 0,05$  0 mmHg vs. 10, 15, 20, 25, 30 mmHg;  $P < 0,05$  5 mmHg vs. 20, 25, 30 mmHg).

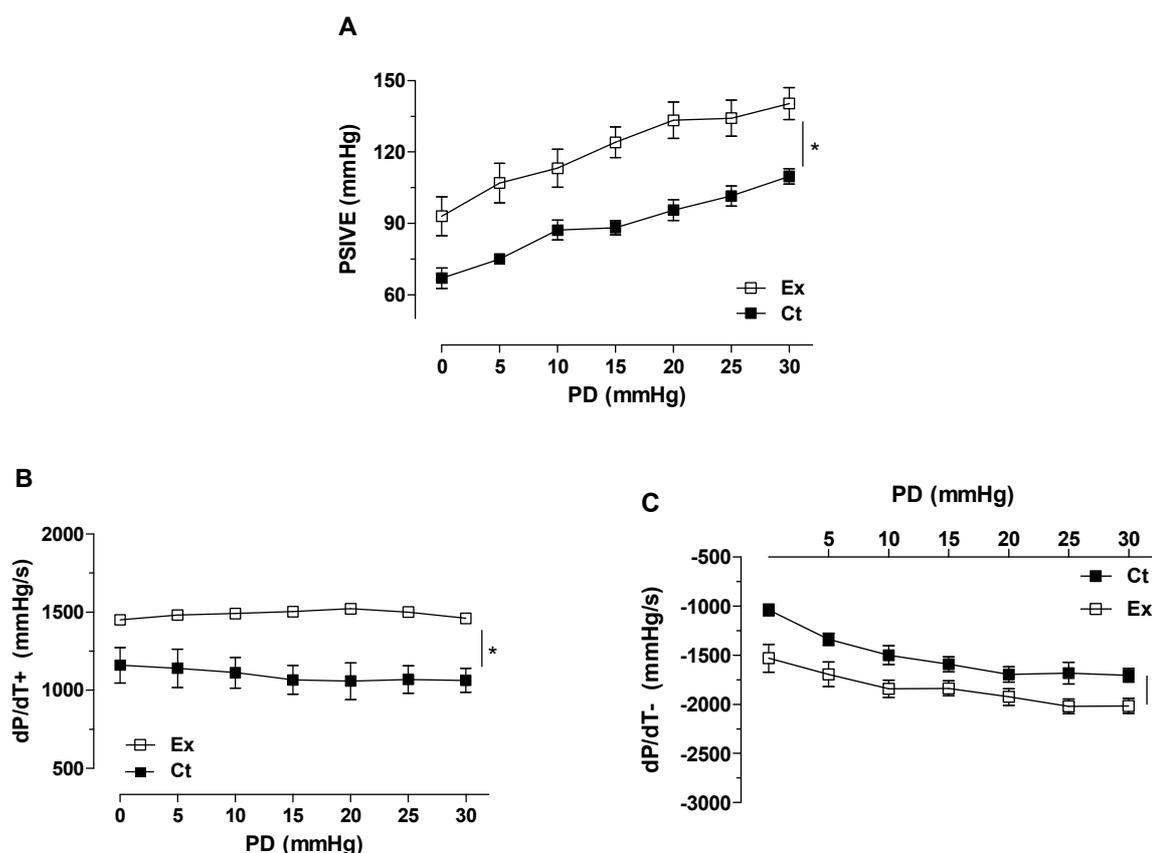


Fig. 25. Curva de Frank-Starling - pressão sistólica isovolumétrica no ventrículo esquerdo (PSIVE) (A), primeira derivada temporal positiva da pressão (dP/dT+) (B) e primeira derivada temporal negativa da pressão (dP/dT-) mediante aumentos crescentes na pressão diastólica (PD) em animais controle (Ct, n=5) e exercício (Ex, n=6). \* $P < 0,05$  Ex vs. Ct. Dados foram expressos como média  $\pm$  EPM e foram analisados com ANOVA 1 e 2 vias para medidas repetidas com post hoc de tukey.

Na concentração 0,62 mM da curva de cálcio, o exercício não alterou a PSIVE (Fig. 27A). Entretanto, a resposta inotrópica ao cálcio, partir da concentração de 1,25 mM, foi maior nos animais exercitados ( $P < 0,05$ ). As derivadas de pressão positiva e negativa apresentaram variações semelhantes (Fig. 27 B e C). Na concentração de 0,62 mM, as derivadas foram menores nos animais exercitados ( $P < 0,05$ ). Entretanto, as derivadas apresentaram valores maiores na dose de 1,25 mM nos animais exercitados ( $P < 0,05$ ). Nas doses subseqüentes elas apresentaram valores semelhantes ( $P > 0,05$ ).

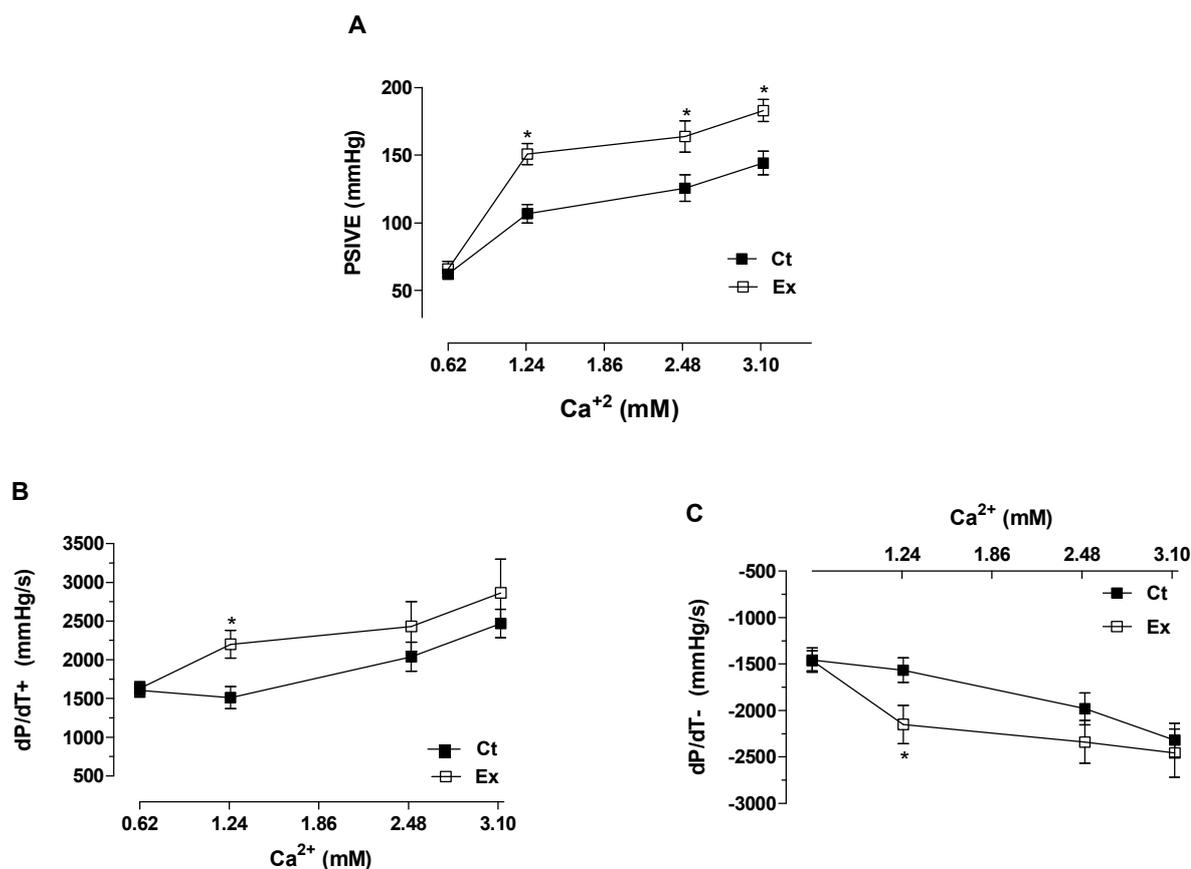


Fig. 26. Pressão sistólica isovolumétrica no ventrículo esquerdo (PSIVE) (A), primeira derivada temporal positiva da pressão (dP/dT+) (B) e primeira derivada temporal negativa da pressão (dP/dT-) (C) na presença de concentrações crescentes de Ca<sup>2+</sup> em animais controle (Ct, n=5) e exercício (Ex, n=6). \*P<0,05 vs. Ct. Dados foram expressos como média ± EPM e foram analisados com ANOVA 2 vias para medidas repetidas com post hoc de tukey.

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou pela primeira vez a ocorrência de importantes adaptações vasculares e cardíacas após uma única sessão de exercício resistido em ratos hipertensos. Esse tipo de exercício promoveu redução da PA de repouso, melhora na função vascular das artérias aorta e caudal, assim como aumento na contratilidade do coração isolado e de músculos papilares do VE.

### 5.1. Pressão arterial

Nos últimos anos muitos estudos registraram a ocorrência de redução dos valores de PA de repouso após uma única sessão de exercício, tanto em humanos quanto em animais (Floras e cols. 1989, Kenney e Seals 1993, Halliwill e cols. 1996, Chandler e cols. 1998, Halliwill e cols. 2003, MacDonald e cols. 2002, Lizardo e Simões 2005, Melo e cols. 2006, Lizardo e cols. 2008). Entretanto, a grande maioria dessas investigações utilizou exercício de resistência aeróbia. Sendo assim, no que diz respeito aos efeitos pressóricos do ER agudo, os achados são escassos e inconclusivos. O presente estudo vem demonstrar pela segunda vez que o ER agudo reduz a PA de repouso em ratos hipertensos. Recentemente, tal resposta foi por nós demonstrada pela primeira vez na literatura (Lizardo e cols. 2008), no entanto, a intensidade de exercício utilizada nesse primeiro estudo foi de 75% de 1RM, a qual é considerada uma intensidade alta quando se pensa na prescrição de exercício para controle da HA. Dessa forma, no presente estudo foi utilizada intensidade moderada de exercício (50% de 1RM) e redução pressórica semelhante à observada no primeiro estudo foi registrada (Fig. 10). Até então, os achados existentes sobre HPE resistido eram referentes apenas a humanos. Embora alguns destes tenham mostrado que o ER agudo não influencia os níveis pressóricos de repouso (O'Connor e cols. 1993, Roltsch e cols. 2001), outros registraram a presença de HPE resistido humanos (Brown e cols. 1994, MacDonald e cols. 1999, Fisher 2001, Melo e cols. 2006). Fisher (2001), por exemplo, verificou declínio dos valores de PA após exercício agudo resistido realizado a 50% de 1RM em indivíduos hipertensos e normotensos. Da mesma forma, Brown e cols. (1994) e MacDonald e cols. (1999) documentaram significativo efeito hipotensivo em normotensos após a realização de exercício resistido a 40 e 70% de 1 RM e a 65% de 1 RM, respectivamente. Muito interessantes, foram os resultados obtidos por Melo e cols. em 2006. Esses autores utilizaram monitorização ambulatorial da PA e

mostraram significativa queda da PA sistólica (média de -12 mmHg) e diastólica (média de -6 mmHg) durante 10 h após exercício resistido agudo realizado a 40% de 1RM por mulheres hipertensas.

A magnitude da queda pressórica observada após o exercício no presente estudo ( $\Delta$  PAM = - 35  $\pm$  0,6 mmHg) foi de maior magnitude que a observada em estudos prévios utilizando exercício agudo em SHR, os quais tem demonstrado declínio de aproximadamente 18 mmHg na PAM (Overton e cols. 1988, Chandler e cols. 1998, Kulics e cols. 1999, Collins e cols. 2001, Chen e cols. 2002, Rao e cols. 2002, Lizardo e cols. 2008). A magnitude média de queda na PAM após exercício é de 3mmHg em humanos normotensos, 11 mmHg em hipertensos limítrofes e 8 mmHg em hipertensos, (Halliwill e cols. 1996, MacDonald e cols. 1999, MacDonald 2002, Halliwill e cols. 2003, Wilkins e cols. 2004), enquanto animais normotensos não exibem queda pressórica após a realização do exercício (Chandler e DiCarlo 1998, Howard e cols. 2000). A pronunciada queda de PA registrada nos nossos animais pode ser explicada pelos altos valores de PA que eles apresentaram em condições basais (PAS: Ct 224  $\pm$  1,9 mmHg vs. Ex 221  $\pm$  2,0 mmHg, P=0,3; PAD: Ct 146  $\pm$  0,3 mmHg vs. Ex 145  $\pm$  0,9 mmHg, P=0,6). Alguns estudos têm demonstrado que a magnitude da HPE é influenciada pelos níveis pressóricos basais (Forjaz e cols. 2000, MacDonald e cols. 2002). Dessa forma, quanto maior os valores basais de PA, maior a magnitude da HPE.

Considerando que os valores da PA são determinados pelo volume sanguíneo ejetado e pela RVP, os mecanismos envolvidos na HPE são relacionados a alterações nessas variáveis. Embora a maioria dos estudos em humanos sobre HPE resistido não tenham objetivado a avaliação do mecanismo envolvido nessa resposta, a investigação de Rezk e cols. (2006) mostrou que a redução pressórica após sessões de exercício realizadas a 40% e 80% de 1RM, foi mediada por redução no DC. No entanto, após o exercício de resistência aeróbia, poucos estudos têm registrado alterações no DC após o exercício (Rueckert e cols. 1996), dessa forma, o a redução na RVP parece ser o principal mecanismo para a HPE (Halliwill e cols. 1996). A queda na RVP pode estar associada a fatores como redução da atividade nervosa simpática em leitos exercitados e não exercitados (Floras e cols. 1989, Halliwill e cols. 1996, Kulics e cols. 1999), diminuição da sensibilidade do barorreflexo arterial (Chandler e cols. 1998), fatores termo-regulatórios (Franklin e cols. 1993) e a ação de substâncias vasoativas (Jen e cols. 2002, Rao e cols. 2002, Lizardo e cols. 2008). O último mecanismo foi estudado no presente estudo e os resultados obtidos sugerem que substâncias

como o NO e prostanóides vasodilatadores liberados pela artéria aorta e caudal podem promover redução na RVP com conseqüente diminuição dos valores sistêmicos de PA. Corroborando esses resultados, demonstramos previamente (Lizardo e cols. 2008) que a HPE foi abolida após o bloqueio da síntese de NO em SHR. Rao e cols. (2002) também atribuíram a redução pressórica pós-exercício em SHR à ação do NO. Em humanos, Radegran & Saltin (1999) demonstraram aumento do fluxo sanguíneo da artéria femoral após o exercício agudo juntamente com redução dos níveis pressóricos. Mediante infusão de L-NMMA na artéria femoral, o aumento do fluxo sanguíneo foi abolido juntamente com a HPE. Jungersten e cols. (1997) mostraram que a produção de NO está aumentada em indivíduos saudáveis após o exercício aeróbio, realizado de forma aguda ou crônica. Esses achados sugerem que, tanto em animais quanto em humanos, o NO tem importante participação na HPE através da vasodilatação regional. Em contrapartida, Halliwill e cols. (2000) ao investigarem o papel do NO na HPE através de L-NMMA na água de beber, demonstraram que o NO não participa da redução pressórica pós-exercício em indivíduos normotensos. No entanto, os estudos mostram que o L-NAME é mais potente em inibir as isoformas constitutivas da NOS que o L-NMMA. Dessa forma, apesar dos resultados de Halliwill e cols. terem indicado que a produção de NO foi reduzida após o tratamento com L-NMMA, não se pode afirmar que sua síntese foi totalmente abolida e que, portanto, esse agente vasodilatador não participação na HPE.

## **5.2. Reatividade da artéria aorta e caudal**

Diversos estudos têm demonstrado que tanto o exercício crônico quanto o exercício agudo de resistência aeróbia pode reduzir a resposta vascular  $\alpha$ -adrenérgica (Wiegman e cols. 1981, Howard e Dicarlo 1992, Howard e cols. 1992, Delp 1995, Chen e Chiang 1996, Cheng e cols. 1999, Spier e cols. 1999, Jen e cols. 2002, Rao e cols. 2002) e aumentar o relaxamento dependente do endotélio em humanos e animais normotensos e hipertensos (Goto 2003, Chen e cols. 1994, Chen e cols. 1996, Katz e cols. 1997). Tal resposta pode ser mediada pela liberação de NO e outras substâncias vasoativas como a prostaciclina (Chen e cols. 1993, Sessa e cols. 1994, Goto 2003). Após o ER agudo, os resultados disponíveis são sobre a influência do exercício isométrico de curta duração com handgrip sobre a função vascular (McGowan e cols. 2004, McGowan e cols. 2006). Tais estudos têm como objetivo estudar a vasodilatação mediada pelo aumento do fluxo sanguíneo apenas imediatamente

após o exercício, com intuito de obtenção de parâmetros para avaliação da função vascular da artéria braquial, principalmente em indivíduos portadores de disfunção endotelial, tais como hipertensos e portadores de IC. Dessa forma, nós não conhecemos estudos sobre o impacto de uma única sessão de ER na função endotelial vascular. Em animais, o presente estudo foi o primeiro a investigar as respostas vasculares após sessão de ER agudo. Para isso estudamos a reatividade vascular das artérias caudal e aorta.

Nesses vasos, estudamos inicialmente a resposta vasodilatadora dependente do endotélio através de curva concentração-resposta à ACh. Através de sua ação em receptores muscarínicos endoteliais, esse fármaco promove a síntese e liberação de NO. Os resultados obtidos em ambos os vasos estudados mostraram que uma única sessão de ER aumentou a vasodilatação dependente do endotélio (Fig. 12 e 14). Chen e cols. (1996) obtiveram resultados semelhantes aos nossos após o exercício agudo ao avaliar a vasodilatação à ACh em aorta de SHRs, porém, o exercício realizado foi de resistência aeróbia. Jen e cols. (2002) também investigaram a resposta à ACh aorta de ratos após uma única sessão de corrida em esteira até a exaustão. Eles demonstraram importante aumento da resposta à ACh após o exercício utilizando ratos normotensos (Wistar). Maiorana e cols. (2000) investigaram a resposta vascular da artéria braquial mediante injeção de 3 doses crescentes de ACh em portadores de insuficiência cardíaca após 8 semanas de treinamento. O treinamento consistiu de exercícios de resistência aeróbia e exercícios resistidos. Foi demonstrado importante aumento da resposta vasodilatadora à ACh após o treinamento. Sendo assim, nossos resultados reproduzem as respostas à ACh observadas tanto após o exercício agudo quanto após o treinamento, em humanos e em animais. Esses achados têm grande relevância clínica, uma vez que a hipertensão e a insuficiência cardíaca são condições diretamente relacionadas à disfunção endotelial.

Nossos resultados mostraram também que tanto na artéria aorta quanto na artéria caudal o exercício reduziu a resposta vasoconstritora à FE (Fig. 13 e 15). Apesar do estudo de Halliwill e cols. (2003) ter demonstrado que exercício aeróbio agudo não altera a resposta  $\alpha$ -adrenérgica em humanos normotensos, outras investigações em animais corroboram com nossos resultados. Howard e cols. (1992) mostraram redução da resposta à FE em anéis isolados de aorta de coelhos normotensos. Patil et al. (1993) demonstraram, in vivo, significativa atenuação da resposta máxima à FE na artéria ilíaca de ratos Sprague-Dawley após uma única sessão de corrida. Nesse estudo, tal resposta foi abolida mediante inibição da síntese de NO. Semelhantemente, no presente estudo, a redução da reatividade à FE em ambos os vasos após o exercício foi abolida após administração de L-NAME, inibidor da

síntese de NO. Rao et al. (2000) também investigaram a resposta  $\alpha$ -adrenérgica após exercício agudo aeróbio em SHR. Esses autores demonstraram importante atenuação dessa resposta na artéria femoral in vivo, à qual foi abolida após administração de L-NAME. Achados em humanos também mostram a participação do NO após o exercício. Shoemaker e cols. (1997) verificaram abolição da resposta vasodilatadora no antebraço de indivíduos normotensos após exercício agudo mediante a inibição da síntese de NO. Suportando esses achados, Radegran e Saltin (1999), observaram, em voluntários normotensos, diminuição do fluxo sanguíneo femoral após a infusão de L-NMMA. Nossos resultados corroboram também com achados obtidos após a utilização de exercício aeróbio crônico. Chen et al. (1994) mostraram que a redução da resposta à norepinefrina após treinamento com corrida em coelhos foi mediado pelo NO. Chen e Chiang (1996) evidenciaram que a sensibilidade à FE e norepinefrina da artéria aorta foi atenuada após treinamento com exercício aeróbio em ratos SHR e Wistar Kyoto (WKY) devido ao aumento da liberação de NO pós-exercício. Todos esses estudos, portanto, estão de acordo com nossos achados e reforçam a nossa sugestão de que a síntese de NO está aumentada no período de recuperação pós-exercício resistido.

Entretanto os mecanismos envolvidos no aumento da síntese de NO após o exercício crônico e agudo provavelmente são distintos. Estudos têm mostrado que o treinamento com exercício aumenta a expressão da NOS endotelial (Sessa e cols. 1994, Sun e cols. 1994). No entanto, os fatores envolvidos no aumento da síntese de NO após uma única sessão de exercício ainda necessitam de investigação, mas algumas respostas podem ser especuladas. Alguns fatores que determinam a liberação de NO estão presentes durante a realização do exercício agudo. Dentre eles podemos citar o estiramento cíclico da parede vascular associada ao fluxo pulsátil, hipóxia e liberação de catecolaminas. Dessa forma, é bem estabelecido que o NO participa da regulação do fluxo sanguíneo durante o exercício (Andersen e Saltin 1985, Balon e Nadler 1994) e por isso, sua síntese se encontra aumentada nos leitos vasculares exercitados (Robert e cols. 1999, Momken e cols. 2004). Os estímulos para síntese de NO presentes durante o exercício poderiam mediar aumento na atividade da eNOS, o que explicaria a redução da resposta vasoconstritora à FE e aumento na resposta vasodilatadora à ACh observada no presente estudo. Além disso, desde que a ação vasodilatadora da ACh nos leitos vasculares estudados é mediada por receptores muscarínicos endoteliais, alteração na função desses receptores poderiam estar envolvidos nas respostas à ACh observada nos nossos animais. De fato, estudos têm demonstrado que apenas uma única sessão de exercício é capaz de promover alterações na expressão de receptores vasculares (Chen e cols. 1998, Cheng e cols. 1999). Após o treinamento com

exercício aeróbio e após o exercício aeróbio agudo ocorre aumento na expressão de receptores muscarínicos M3 (Chen e cols. 1998, Cheng e cols. 1999), o que foi associado ao aumento na resposta vasodilatadora à ACh. Outro possível mecanismo envolvido nas respostas à FE seria o desacoplamento de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos endoteliais do seu efector devido à sua exposição à altas concentrações de catecolaminas durante o exercício. O desacoplamento do receptor de seu respectivo efector pode promover a dessensibilização do receptor ou sua internalização, sendo assim a resposta por ele mediada é atenuada. Tal adaptação é conhecida como “downregulation” do receptor. Cheng e cols. (1999) mostraram redução na expressão de receptores  $\alpha_2$  no endotélio da aorta de ratos Wistar após único período de corrida em esteira. Essa resposta foi associada a redução da resposta vasoconstritora à clonidina. Da mesma forma que receptores adrenérgicos endoteliais  $\alpha_2$  podem ter sua expressão reduzida após o exercício agudo, os nossos animais podem apresentar uma “downregulation” de receptores endoteliais  $\alpha_1$ . Considerando que a duração do ER no presente estudo não ultrapassou 20 min, é improvável que após o exercício agudo ocorra síntese de novos receptores.

Objetivando investigar o possível papel de prostanóides vasodilatadores derivados da via da COX na redução da reatividade vascular aórtica e caudal, nós avaliamos a resposta à FE na presença de indometacina. Na artéria caudal foi observado que mediante inibição da COX, a redução da reatividade vascular após o exercício foi abolida (Fig. 13), indicando que prostanóides vasodilatadores também contribuem para melhora na função vascular. Considerando que o mesmo estímulo, como por exemplo, o aumento do estresse de cisalhamento, pode desencadear tanto a liberação de NO e prostanóides, a redução da reatividade vascular do presente estudo pode ser atribuída ao NO e prostanóides vasodilatadores. Koller e cols. (1994) mostraram a presença de co-liberação de NO e prostaglandinas vasodilatadoras mediante aumento do fluxo sanguíneo de arteríolas de ratos. Além disso, sabe-se que a produção de NO pode ser estimulada por prostaciclina (Horton 1969). No entanto, os valores % da dAUC (Fig. 13) mostram maior participação do NO do que de prostanóides na resposta vascular pós-exercício.

Ao contrário do observado na artéria caudal, mediante inibição da COX, a reatividade da artéria aorta reduziu consideravelmente (Fig. 15). Isso ocorreu tanto nos animais controle quanto nos animais exercitados e pode ser explicado pelo aumento na síntese de prostanóides vasoconstritores derivados da COX em animais hipertensos. Yolanda (2006) também observou importante redução da resposta vascular na presença de indometacina em SHR. Essa autora demonstrou que nesses animais a síntese de prostanóides vasoconstritores, como

TXA<sub>2</sub>, está aumentada pela atividade da COX-2. A partir de então, os resultados obtidos no nosso estudo mediante inibição da COX, apontam uma importante adaptação promovida pelo exercício. Como pode ser observado na figura 15, a % da dAUC foi maior após o exercício. Isso sugere que uma única sessão de ER reduz a liberação de prostanóides vasoconstritores ou aumenta a liberação de prostanóides vasodilatadores em ratos hipertensos. Considerando que na disfunção endotelial presente na HA ocorre aumento na produção prostanóides vasoconstritores (Taddei e Vanhoutte 1993, Dohi e cols. 1996, Zhou e cols. 1999), essa adaptação promovida pelo exercício pode ter importante impacto na melhora da função vascular.

São poucos os estudos que se destinaram avaliar a liberação de prostanóides no período de recuperação pós-exercício. Muitos estudos têm investigado o papel dos prostanóides na vasodilatação durante a realização do exercício (Nowak e Wennmalm 1979, Wilson e Kapoor 1993, Engelke e cols. 1996, Frandsen e cols. 2000, Boushel e cols. 2002). Apesar de não ser consenso (Nowak e Wennmalm 1979), os prostanóides vasodilatadores parecem ter importante participação nessa resposta (Engelke e cols. 1996, Frandsen e cols. 2000). Cowley e cols. (1985) mostraram que a redução da RVP após uma única sessão de exercício aeróbio em indivíduos saudáveis foi abolida na presença da COX. Win e Marshall (2005) estudaram a participação das prostaglandinas na vasodilatação após o exercício isométrico agudo com handgrip. Esses autores concluíram que prostaglandinas estão envolvidos na resposta vasodilatadora da artéria braquial após o exercício. Chen e cols. (1993) também investigaram a influência do exercício na liberação de prostanóides. Eles utilizaram ratos normotensos e demonstraram que após de 10 semanas de treinamento com exercício aeróbio houve aumento na liberação de prostaciclina e redução na liberação de TXA<sub>2</sub> pela artéria aorta. Morganroth e cols. (1977) investigaram a participação das prostaglandinas na vasodilatação durante 60 minutos do período de recuperação após exercício agudo aeróbio. Esses autores demonstraram importante participação das prostaglandinas na vasodilatação ocorrida nesse período.

A adenosina, um nucleosídeo purinérgico endógeno, é formada pela defosforilação do AMP pela ectoenzima 5'-nucleotidase, sendo responsável por diversas respostas fisiológicas teciduais, dentre elas, a regulação do tônus vascular (Daval e cols. 1991). Suas ações se dão através de quatro subtipos de receptores: A1, A2a, A2b e A3 (Collis e Hourani 1993). A ativação dos receptores A2, na maioria dos leitos vasculares, causa vasodilatação através da estimulação da adenilato ciclase, podendo envolver também estimulação da produção de NO e PGI<sub>2</sub> (Abebe e cols. 1995, Merkel e cols. 1992). A concentração intersticial desse

metabólito aumenta no músculo esquelético exercitado de forma proporcional à intensidade do exercício e ao fluxo sanguíneo (Hellsten e cols. 1998, Costa e cols. 2000, Costa e cols. 2001, Langberg e cols. 2002). Dessa forma, apesar de algumas controvérsias (Honig e Frierson 1980, Koch e cols. 1990), tem sido sugerido que a adenosina participa da resposta vasodilatadora durante o exercício no leito vascular exercitado. Sendo assim, hipotetizamos que a adenosina poderia também estar envolvida na atenuação da reatividade aórtica após o exercício. Entretanto, na presença de 8-SPT, um antagonista de receptores de adenosina, a reatividade à FE não foi alterada, indicando que a adenosina não participa da redução da reatividade aórtica à FE presente após uma única sessão de ER (fig. 16).

Os resultados obtidos nas artérias caudal e aorta nos permitem sugerir que as adaptações vasculares ao ER agudo podem ser generalizadas e não específica ao leito vascular exercitado. Maiorana e cols. (2000) mostraram que 8 semanas após um programa de treinamento composto por ER e de resistência aeróbia, ocorreu aumento na resposta vasodilatadora da artéria braquial à ACh. No entanto, no protocolo de exercício não foi incluído exercícios de braço ou antebraço, ou seja, o leito vascular onde essa resposta foi observada não foi exercitado.

### **5.3. Contratilidade miocárdica**

Após o treinamento com ER ocorrem importantes adaptações cardíacas como hipertrofia ventricular esquerda, aumento do débito cardíaco durante o esforço e melhora da função diastólica (Kanakis e Hickson 1980, Umpierre e Stein 2007). Um recente estudo (Barauna e cols. 2007) utilizando semelhante aparato de exercício por nós utilizado investigou os efeitos do treinamento com ER na função ventricular de ratos normotensos. No entanto, não foram observadas alterações na função ventricular, a qual foi avaliada pelo tempo de relaxamento isovolumétrico, pela fração de ejeção ventricular, assim como pela fração de encurtamento ventricular. Ehsani e cols. (1991) avaliaram a função ventricular de idosos e jovens após treinamento com exercício de resistência aeróbia. Esses autores demonstraram que o treinamento aumentou a fração de ejeção durante o exercício e reduziu o volume diastólico final durante o exercício. Entretanto, a contratilidade miocárdica após uma única sessão de ER não havia sido investigada até o momento. O presente estudo avaliou então, a contratilidade do coração isolado perfundido através da técnica de Langendorff. Essa técnica permite a avaliação dos mecanismos cardíacos intrínsecos envolvidos no desempenho

contrátil. Os resultados obtidos evidenciaram que o ER agudo aumentou a PSIVE e as  $dP/dt+$  e  $dP/dt-$  em condições basais e mediante intervenções inotrópicas com isoproterenol (Fig. 23 e 24) e cálcio (Fig. 25). O aumento na pressão desenvolvida pela câmara cardíaca reflete o funcionamento do coração como bomba, dessa forma, o aumento na PSIVE mostra melhor desempenho do coração ao ejetar o volume sanguíneo nele contido. Dentre os fatores que determinam o desempenho da bomba cardíaca está a contratilidade miocárdica, a qual pode ser definida como o estado inotrópico do músculo cardíaco. A  $dP/dt$  é um importante índice de contratilidade miocárdica, pois é diretamente influenciada pelo inotropismo cardíaco. Dessa forma, podemos sugerir que o ER agudo foi capaz de aumentar o desempenho cardíaco como bomba pelo aumento da contratilidade miocárdica. Estudos prévios têm demonstrado que a função cardíaca de corações isolados de ratos Wistar está aumentada após o treinamento aeróbio (Penpargkul e Scheuer 1970, Scheuer e cols. 1972). Penpargkul e Scheuer (1970) mostraram maior DC e  $dP/dt$  em corações isolados de ratos Wistar treinados com natação. Esses autores encontraram maior resposta contrátil (PSIVE e  $dP/dt$ ) à elevações da pressão de enchimento do átrio esquerdo nos animais exercitados. Codini e cols. estudaram o desempenho do coração, *in vivo*, com tórax aberto, em ratos treinados com natação. Os resultados obtidos mostraram que em condições basais, a PSVE e a  $dP/dt$  não diferiram entre os animais sedentários e exercitados. Todavia, mediante completa oclusão aórtica, tanto a PSVE quanto a  $dP/dt$  foram maiores na condição exercício. Esses achados são interessantes e corroboram com os nossos, pois durante a oclusão aórtica, a contração ventricular esquerda é essencialmente isovolumétrica.

No coração isolado foi avaliado também o mecanismo de Frank-Starling. Essa propriedade cardíaca foi avaliada através da resposta da PSIVE mediante aumentos crescentes na pressão diastólica (Fig. 25). Para todas as pressões diastólicas estudadas a PSIVE foi maior nos animais exercitados. Estudos prévios em corações isolados de ratos normotensos e hipertensos treinados têm mostrado resultados semelhantes (Scheuer e cols. 1972, Codini e cols. 1977, Woodiwiss e cols. 1996, MacDonnell e cols. 2005). MacDonnell e cols. (2005) demonstraram que o treinamento aumenta a complacência diastólica em corações de SHR, o que por sua vez resulta em melhora da relação de Frank-Starling. O aumento da complacência diastólica pode estar associado à menor concentração de íons cálcio no citoplasma da célula cardíaca durante a diástole. Tal resposta pode ser influenciada pelo aumento da recaptção de cálcio pelo RS. Além disso, o aumento do índice de contratilidade observado nos corações isolados sugere melhora no acoplamento excitação-contração, o qual também depende da função do RS. Outros fatores que influenciam diretamente o

acoplamento excitação-contração é o influxo de íons cálcio pelo sarcolema e a atividade funcional das proteínas contráteis. Essas respostas foram então avaliadas através de outra preparação experimental, na qual a força desenvolvida por músculos papilares isolados do VE foi mensurada.

Em músculos papilares foi possível observar que apenas uma sessão de ER promoveu significativo aumento da força isométrica desenvolvida (Fig.17), corroborando com o aumento no desempenho cardíaco registrado no coração isolado. Os estudos sobre o desempenho de músculos papilares isolados após o exercício tiveram início há mais de 30 anos atrás. Porém, nenhum deles investigou os efeitos agudos do exercício. Williams e Potter (1976) demonstraram que 6 semanas de exercício em esteira não alterou a contratilidade de papilares do ventrículo direito de gatos. Semelhantemente, estudos anteriores em ratos após o treinamento aeróbio não mostraram influência desse exercício na contratilidade de músculos papilares de VE (Grim e cols. 1963, Amsterdam e cols. 1972). Entretanto, Wyatt e cols. (1978) mostraram aumento da função contrátil de papilares de VE de ratos após 20 semanas de natação. Recente estudo realizado em nosso laboratório (de Cássia e cols. 2008) também evidenciou melhora na função contrátil de músculos papilares do VE de ratos Wistar após 8 semanas de treinamento. Esse estudo foi realizado em aparelho de exercício semelhante ao utilizado no presente estudo. Os mecanismos responsáveis pela melhora na função contrátil cardíaca após o treinamento podem ser diferentes, uma vez que o treinamento promove aumento na massa ventricular. De fato, Wyatt e cols. (1978) mostram que o aumento na força isométrica de músculos papilares é evidente apenas quando a força desenvolvida não é corrigida pelo peso dos papilares. Quando a força é normalizada pelo peso do papilar, o aumento na força desaparece. Nesses animais foi observada importante hipertrofia cardíaca após o treinamento, dessa forma, o desempenho contrátil poderia ser atribuído ao aumento no número de unidades contráteis.

A participação do cálcio do RS no processo de acoplamento excitação-contração e a liberação de cálcio-cálcio induzida são fatores determinantes para a contração do miocárdio (Fabiato 1985). Na preparação com músculos papilares isolados é possível avaliar a função do retículo sarcoplasmático através da curva de potenciação pós-pausa. Em ratos, observa-se aumento na força desenvolvida após períodos de pausas na contração, ou seja, as contrações subseqüentes às pausas são potencializadas. A pausa na contração proporciona maior tempo de recaptação do cálcio citoplasmático pelo RS, aumentando assim os estoques de cálcio do retículo. Dessa forma, na contração subseqüente a pausa, o retículo libera maior quantidade de íons cálcio, resultando em aumento da contratilidade. Nossos resultados demonstraram

que somente nos ratos exercitados ocorre potenciação da força após pausas na contração (Fig. 18). Isso indica melhor função do retículo sarcoplasmático nos ratos exercitados. Dessa forma pode-se sugerir que após o exercício o RS recapta e libera mais cálcio. A maior disponibilidade de íons cálcio para contração resulta em melhora na contratilidade. Esse mecanismo pode explicar o aumento na contratilidade observado no coração isolado e o aumento na força desenvolvida por músculos papilares isolados. A melhora da atividade funcional do RS pode explicar também a melhora da relação da Frank-Starling nos animais exercitados, pois mediante maior recaptação de cálcio pelo RS, menor a concentração desses íons durante a diástole e maior o estiramento do miócito cardíaco nessa fase do ciclo cardíaco. O aumento do estiramento dos cardiomiócitos durante a diástole promove a abertura de canais de cálcio sensíveis ao estiramento, o que por sua vez aumenta a disponibilidade desses íons durante a sístole, potencializando assim, a contração ventricular. Corroborando nossos achados, Penpargkul e cols. (1977) mostraram aumento no transporte de cálcio pelo RS de ratos Wistar após 8 semanas de natação. Entretanto, estudo prévio realizado em nosso laboratório (de Cássia e cols. 2008) demonstrou que o aumento na força desenvolvida por músculos papilares após 8 semanas de treinamento com ER não foi associada à melhora na função do RS.

É importante ressaltar que o esperado seria que ambos os grupos de animais apresentassem potenciação da força. A ausência de potenciação nos animais controle sugere prejuízo funcional do retículo causado provavelmente pela hipertensão arterial. De fato, o remodelamento miocárdico presente em SHRs está associado à redução na expressão da SERCA-2 com conseqüente prejuízo na recaptação do cálcio pelo retículo sarcoplasmático (Mercadier e cols. 1990, Swynghedauw e cols. 1999).

Os principais componentes envolvidos no acoplamento excitação-contração são modulados pela ativação do sistema nervoso simpático. A estimulação  $\beta$ -adrenérgica ativa as proteínas  $G_s$  que por sua vez estimulam a AC, aumentando os níveis de AMPc. Em seguida a proteína quinase A (PKA) é ativada e fosforila as proteínas que permitem o aumento do  $Ca^{+2}$  citosólico como os canais de  $Ca^{+2}$  tipo-L e os receptores de rianodina. A PKA fosforila também as proteínas regulatórias da contração, como a TnI e a fosfolambam que participam do processo de relaxamento do miocárdio. Como resultado ocorre aumento na força de contração e na FC. No presente estudo, tanto no coração isolado, como em papilares de VE, a resposta inotrópica ao isoproterenol foi potencializada após o ER agudo (Fig. 19 e 23). Diversas investigações têm mostrado que o treinamento com exercícios de resistência aeróbia aumenta a resposta a agentes  $\beta$ -adrenérgicos tanto em humanos quanto em animais (Dowell e

Tipton 1970, Tipton e cols. 1972, Molé 1978, Wyatt e cols. 1978, Spina e cols. 1992, Hopkins e cols. 1996, MacDonnell e cols. 2005). de Cássia e cols. (2008), utilizou mesmo aparato de exercício do presente estudo. Nesse estudo ratos Wistar foram treinados durante 8 semanas e avaliação dos músculos papilares também mostrou aumento da resposta inotrópica ao isoproterenol.

A maioria das investigações citadas acima não investigou os mecanismos envolvidos no aumento da resposta  $\beta$ -adrenérgica. Entretanto, o estudo de MacDonnell e cols. (2005) mostrou interessantes resultados que explicam o aumento dessa resposta após o exercício. Esse estudo evidenciou que o treinamento com exercício aeróbio em SHR atenua o aumento da proteína quinase do receptor  $\beta$ -adrenérgico associado com a hipertensão. Essa proteína ao fosforilar o receptor, o torna inativo, acarretando desacoplamento do complexo receptor-Gs-adenil ciclase. Desacoplado do efetor, o receptor perde sua função. Dessa forma, a redução da quinase do receptor  $\beta$ -adrenérgico aumenta a função do receptor  $\beta$ -adrenérgico. Outra importante adaptação mostrada por esses autores após 3 meses de corrida em SHR é o aumento da fosforilação da fosfolambam, o que aumenta a recaptção e posterior liberação de íons cálcio pelo retículo sarcoplasmático. Wyatt e cols. (1978) testaram a hipótese de que a atividade da adenilato ciclase estaria aumentada após o treinamento, no entanto, sua atividade não foi alterada após o treinamento. O estudo de de Cássia e cols. (2008) mostrou aumento da atividade da enzima ATPase miosínica cardíaca após o treinamento. Tal adaptação poderia estar envolvida na resposta ao isoproterenol. Outro fator que poderia explicar a melhora da resposta  $\beta$ -adrenérgica nos estudos acima citados é a hipertrofia cardíaca observada após o treinamento. Essa adaptação foi observada em praticamente todos os estudos onde houve melhora na resposta  $\beta$ -adrenérgica. Na hipertrofia cardíaca ocorre aumento do número de sarcômeros, dessa forma, durante estimulação  $\beta$ -adrenérgica haveria maior número de unidades contráteis em funcionamento, resultado assim em potencialização da força de contração. Os resultados da potenciação pós-pausa obtidos no presente estudo sugerem aumento na atividade funcional do RS. O fator responsável por essa melhora poderia ser o aumento na atividade da fosfolambam, como demonstrado por MacDonnell e cols. (2005). Outra adaptação que também poderia estar presente nos nossos animais é o aumento da fosforilação dos receptores de rianodina do RS. Essa resposta também foi evidenciada por MacDonnell e cols. (2005). Através da PRC nós avaliamos também o influxo de cálcio pelo sarcolema. Os resultados obtidos demonstram aumento na PRC após o exercício (Fig. 20), o que sugere elevação do influxo de cálcio pelo sarcolema. Esse aumento pode estar envolvido na melhora da resposta ao isoproterenol em ambas as preparações estudadas.

Em músculos papilares nós avaliamos ainda as contrações tetânicas (21). Essa manobra tem sido realizada para promover máxima ativação das proteínas contráteis (Leite e cols. 1995). Não houve alteração das contrações tetânicas após o exercício, sugerindo que o aumento do desempenho contrátil observado nos músculos papilares e no coração isolado não foi mediado pelo aumento da atividade funcional das proteínas contráteis. Alguns estudos investigando os mecanismos envolvidos no aumento da força de músculos papilares após o treinamento têm demonstrado melhora na função das proteínas contráteis pelo aumento da atividade da ATPase miosínica (Giusti e cols. 1978, de Cássia e cols. 2008).

Em resumo, a avaliação do coração isolado, assim como de músculos papilares isolados, demonstrou que uma única sessão de ER aumentou o desempenho contrátil dos cardiomiócitos. Tais respostas parecem ser mediadas pelo aumento da atividade contrátil do RS e aumento do influxo de cálcio pelo sarcolema.

#### **5.4. Considerações experimentais e perspectivas**

Embora os estudos demonstrem que animais normotensos não apresentam HPE (Chen e cols. 1995, Chandler e DiCarlo 1998), a ausência de um grupo de animais normotensos não nos permite identificar se as respostas adaptativas ao exercício são inerentes à hipertensão ou não. Considerando que a magnitude da pode HPE estar relacionada aos valores pressóricos basais (Kaufman e cols. 1987, Chandler e DiCarlo 1998, Forjaz e cols. 2000) e que a HA promove disfunção endotelial com conseqüente alterações das respostas vasculares (Luscher e cols. 1987, Lee e Webb 1992, Luscher e cols. 1998, Bautista 2003), as adaptações vasculares pós-exercício podem sofrer influência dos níveis de PA. A análise dessas respostas em ratos normotensos nos permitiria elucidar tais questões.

Outro aspecto a ser considerado nesse estudo é que o leito vascular exercitado não foi avaliado. É de extrema importância verificar em estudos futuros a reatividade vascular na artéria femoral, a qual está diretamente envolvida com a musculatura exercitada. Se em leitos vasculares não-exercitados houve redução de reatividade, a magnitude da resposta vascular poderia ser maior no vaso envolvido com a musculatura exercitada.

É necessário também determinar os mecanismos envolvidos nas respostas vasculares observadas. A análise da atividade e expressão da eNOS, assim como a expressão de receptores muscarínicos e receptores  $\alpha$ -adrenérgicos seriam essenciais para entendimento da redução da reatividade das artérias caudal e aorta. A mensuração de catecolaminas

plasmáticas seria bastante pertinente, uma vez que seus níveis se elevam durante o exercício, o que pode influenciar a expressão de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos e promover a liberação de NO através de sua ação em receptores endoteliais  $\alpha$ -adrenérgicos (Angus e cols 1986).

A análise da contratilidade do músculo papilar isolado nos mostrou aumento no desempenho desse músculo após o exercício, porém os mecanismos envolvidos precisam ser elucidados. É importante avaliar através de uma técnica direta, por exemplo, “patch-clamp”, se realmente o influxo de íons  $\text{Ca}^{+2}$  está aumentado após o exercício. Além disso, seria interessante analisar a influência de enzimas dependentes desse íon na contratilidade miocárdica. Dentre elas destacamos as isoformas da NOS.

É necessário ressaltar ainda que apesar de Vassallo e cols. (1994) terem demonstrado que sob baixas concentrações de cálcio, preparações isoladas de rato exibem melhor resposta inotrópica positiva, no presente estudo, a resposta inotrópica ao isoproterenol em músculos papilares foi analisada na concentração de 1,25 mM. Mediante concentração de 0,62 mM, os papilares dos nossos animais exercitados não exibiram alteração da resposta inotrópica ao isoproterenol quando comparado aos animais controle (dados não demonstrados). Considerando que na presença de 1,25 mM de cálcio foi observado aumento na força desenvolvida pelos papilares após o exercício, nós hipotetizamos que se realizássemos a intervenção com isoproterenol na presença dessa concentração de cálcio, o aumento da resposta inotrópica após o exercício se tornaria evidente. Nossa hipótese foi então confirmada. Na curva de cálcio realizada no coração isolado, em concentrações de 0,62 mM de cálcio (Fig. 27), ambos os grupos de animais exibiram valores semelhantes de PSIVE e dos índices de contratilidade. A partir da concentração de 1,25 mM, os animais exercitados apresentaram então aumento da resposta contrátil, corroborando assim com os resultados obtidos no músculo papilar. Essas respostas podem ser explicadas por alterações no movimento de cálcio promovidas pelo remodelamento miocárdico decorrente da HA. Nessa condição ocorre redução da atividade funcional de proteínas que determinam a concentração do cálcio mioplasmático, como dos canais de rianodina, da SERCA-2 e da fosfolambam (Swynghedauw 1999). Dessa forma, baixas concentrações de cálcio não seriam suficientes para manifestação da melhora da função contrátil promovida pelo exercício.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que em SHRs uma única sessão de ER é capaz de reduzir a resposta  $\alpha$ -adrenérgica à FE e aumentar o relaxamento dependente do endotélio promovido pela ACh em anéis de aorta e na artérias caudal. Em ambos os vasos, a redução da reatividade parece ter sido mediada pelo aumento da síntese de NO. Na artéria caudal, prostanóides vasodilatadores também podem estar envolvidos, no entanto, a participação do NO foi mais evidente. Os resultados sugerem ainda que a produção de adenosina esteja aumentada na artéria aorta após o exercício. Nesse vaso, o ER agudo pode atenuar o aumento de prostanóides vasoconstritores associados à hipertensão.

Além disso, uma única sessão de ER aumentou o desempenho contrátil do coração isolado e de músculos papilares do VE em condições basais e mediante intervenção inotrópica com isoproterenol. O exercício também melhorou a resposta ao estiramento (regulação heterométrica) de cardiomiócitos. Os achados obtidos sugerem que o aumento na contratilidade miocárdica foi mediado pela melhora na atividade funcional do RS e pelo aumento do influxo de cálcio pelo sarcolema.

Finalmente, a PA de repouso foi reduzida após um único período de ER, o que pode ter como fator causal a redução na RVP desencadeada pela liberação de substâncias vasodilatadoras.

Considerando que a HA está associada à disfunção endotelial e prejuízo funcional dos cardiomiócitos, a redução pressórica associada à melhora na função endotelial e aumento na contratilidade miocárdica documentada após o ER agudo em animais hipertensos, sugere-se que a prática do ER tem relevância clínica para portadores de HA.

## 7. REFERÊNCIAS

1. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, Campos do Jordão, 2006. [www.sbh.org.br](http://www.sbh.org.br).
2. Burton AC. Relation of Structure to Function of the Tissues of the Wall of Blood Vessels *Physiol Rev* 1954; 34:619-642.
3. Abebe W, Hussain T, Olanrewaju H, Mustafa SJ. Role of nitric oxide in adenosine receptor-mediated relaxation of porcine coronary artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1995; 269: H1672-H1678.
4. Allen DG, Kentish JC. Calcium concentration in the myoplasm of skinned ferret ventricular muscle following changes in muscle length. *Journal of Physiology* 1988; 407:489-503.
5. Allen DG, Kurihara S. The effects of muscle length on intracellular calcium transients in mammalian cardiac muscle. *Journal of Physiology* 1982; 327:79-94.  
*Am Heart J* 2006; 152:493.e1-8.
6. American College of Sports Medicine position stand: the recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 1990; 22:265–274.
7. Amsterdam EA, Offelt JW, Choquet Y, Kamiyama T, Lenz J, Zelis R, Mason DT. Response of the rat heart to strenuous exercise: physical, biochemical and function correlates (Abstract). 1972; *Circulation Res* 20:361.
8. Andersen P, Saltin B. Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* 1985; 366:233-249.
10. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovascular Research* 1999; 43:521-531.

11. Anggård E, Samuelsson B. Biosynthesis of prostaglandins from arachidonic acid in guinea pig lung. Prostaglandins and related factors. *J Biol Chem* 1965; 240:3518-21.  
Angus JA, Cocks TM, Satoh K. Alpha 2-adrenoceptors and endothelium-dependent relaxation in canine large arteries. *Br J Pharmacol* 1986; 88:767-77.
12. Anrep G. On the part played by suprarenals in the normal vascular reactions on the body. *Journal of Physiology* 1912; 45:307-317.
13. Archers S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 1993; 7:349-60.
14. Babu A, Gulati J. Critical role of cardiac troponin-C in length-dependence of in skinned ventricular trabeculae from hamster heart. *Journal of Physiology* 1998; 403:89P.
15. Ballou SP, Lozanski G. Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein. *Cytokine* 1992; 4:361-8.
16. Balon TW, Nadler JL. Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *J Appl Physiol* 1994; 77:2519-2521.
17. Barauna VG, Rosa KT, Irigoyen MC, Oliveira EM. Effects of Resistance Training on Ventricular Function and Hypertrophy in a Rat Model. *Clin Med Res* 2007; 5:114-120.
18. Bauersachs J, Bouloumié A, Mülsch A, Wiemer G, Fleming I, Busse R. Vasodilator dysfunction in aged spontaneously hypertensive rats: changes in NO synthase III and soluble guanylyl cyclase expression, and in superoxide anion production. *Cardiovasc Res* 1998; 37:772-9.
19. Bautista LE. Inflammation, endothelial dysfunction, and the risk of high blood pressure: epidemiologic and biological evidence. *J Hum Hypertens* 2003; 17:223-30.
20. Bazzoni G, Dejana E. Endothelial Cell-to-Cell Junctions: Molecular Organization and Role in Vascular Homeostasis. *Physiol Rev* 2004; 84:869-901.

21. Bermudes AM, Vassallo DV, Vasquez EC, Lima EG. Ambulatory blood pressure monitoring in normotensive individuals undergoing two single exercise sessions: resistive exercise training and aerobic exercise training. *Arq Bras Cardiol* 2004; 82: 57-64.
22. Berne RM, Knabb RM, Ely SW, Rubio R. Adenosine in the local regulation of blood flow: a brief overview. *Federation Proceedings* 1983; 42:3136–3142.
23. Bers DM. Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circ Res* 2000; 87:257-281.
24. Bertovic DA, Waddell TK, Gatzka CD, Cameron JD, Dart AM, Kingwell BA. Muscular strength training is associated with low arterial compliance and high pulse pressure. *Hypertension*. 1999; 33: 1385-91.
25. Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:37S-42S.
26. Boos CJ, Lip GY. Is hypertension an inflammatory process? *Curr Pharm Des* 2006; 12:1623-35.
27. Boulanger CM, Heymes C, Benessiano J, Geske RS, Lévy BI, Vanhoutte PM. Neuronal nitric oxide synthase is expressed in rat vascular smooth muscle cells: activation by angiotensin II in hypertension. *Circ Res* 1998; 83:1271-8.
28. Braith RW, Stewart KJ. Resistance Exercise Training: Its Role in the Prevention of Cardiovascular Disease *Circulation* 2006; 113:2642-2650.
29. Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:682-685.
30. Briones AM, Alonso MJ, Marín J, Balfagón G, Salaices M. Influence of hypertension on nitric oxide synthase expression and vascular effects of lipopolysaccharide in rat mesenteric arteries. *Br J Pharmacol* 2000; 131:185-94.

31. Brown SP, Clemons JM, He Q, Liu S. Effects of resistance exercise and cycling on recovery blood pressure. *J Sports Sci* 1994; 12:463-468.
32. Burt VL, Whelton P, Roccella EJ, Brown C, Cutler JA, Higgins M, Horan MJ, Labarthe D. : Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Hypertension* 1995; 25:305-13.
33. Burton AC. Relation of Structure to Function of the Tissues of the Wall of Blood Vessels. *Physiol Rev* 1954; 34:619-42.
34. Calaghan S, White E. Activation of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange and stretch-activated channels underlies the slow inotropic response to stretch in myocytes and muscle from the rat heart. *J Physiol* 2004; 559: 205-214.
35. Cameron JD, Dart AM. Exercise training increases total systemic arterial compliance in humans. *Am J Physiol* 1994; 266: H693-701.
36. Carabello BA. Concentric versus eccentric remodeling. *J Card Fail* 2002; 8:S258-63.
37. Chandler MP, DiCarlo SE. Acute exercise and gender alter cardiac autonomic tonus differently in hypertensive and normotensive rats. *Am J Physiol Integrative Comp Physiol* 1998; 274: R510-R516.
38. Chandler MP, Rodenbaugh DW, DiCarlo SE. Arterial baroreflex resetting mediates postexercise reductions in arterial pressure and heart rate. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1998; 275: H1627-H1634.
39. Charnet P, Lory P, Bourinet E, Collin T, Nargeot J. cAMP-dependent phosphorylation of the cardiac L-type Ca channel: amissing link? *Bioquimie* 1995; 77: 957-962.
40. Chen Y, Chandler MP, DiCarlo SE. Acute exercise attenuates cardiac autonomic regulation in hypertensive rats. *Hypertension* 1995; 26:676-83.

41. Chen HI, Chiang IP, Jen CJ. Exercise training increases acetylcholine-stimulated endothelium-derived nitric oxide release in spontaneously hypertensive rats. *J Biomed Sci* 1996; 3:454–460.
42. Chen HI, Chiang IP. Chronic exercise decreases adrenergic agonist-induced vasoconstriction in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 271:H977–H983.
43. Chen HI, Li HT, Chen CC. Physical conditioning decreases norepinephrine (NE)-induced vasoconstriction in rabbits: possible roles of NE-evoked endothelium-derived relaxing factor. *Circulation* 1994; 90:970-975.
44. Chen HI, Liao YL. Effects of chronic exercise on muscarinic receptor-mediated vasodilation in rats. *Chinese J Physiol* 1998; 41:1-6.
45. Cheng LJ, Yang CC, Hsu LY, Lin MT, Jen JC, Chen HI. Acute Exercise Enhances Receptor-Mediated Endothelium-Dependent Vasodilation by Receptor Upregulation. *J Biomed Sci* 1999; 6:22-27.
46. Chen CY, Munch PA, Quail AW, Bonham AC. Postexercise hypotension in conscious SHR is attenuated by blockade of substance P receptors in NTS. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002; 283: H1856: H1862.
47. Chen Y, McCarron RM, Golech S, Bembry J, Ford B, Lenz FA, Azzam N, Spatz M ET-1- and NO-mediated signal transduction pathway in human brain capillary endothelial cells *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284:C243-C249.
48. Chikara Goto. Effect of Different Intensities of Exercise on Endothelium-Dependent Vasodilation in Humans Role of Endothelium-Dependent Nitric Oxide and Oxidative Stress. *Circulation* 2003; 108:530-535.
49. Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension*. 1998 Feb;31(2):643-8.

50. Codini MA, Yipintsoi T, Scheuer J. Cardiac responses to moderate training in rats. *J Appl Physiol* 1987; 42:262-6.
51. Collins HL, Rodenbaugh DW, DiCarlo SE. Central blockade of vasopressin V1 receptors attenuates postexercise hypotension. *Am J Physiol Integrative Comp Physiol*, 2001; 281: R375-R380.
52. Collis MG, Hourani SMO. Adenosine receptor subtypes. *Trends Pharmacol*, 1993; 14:360-366.
53. Cooper G, Puga FJ, Zujko KJ, Harrison CE, Coleman HN. Normal myocardial function and energetics in volume-overload hypertrophy in the cat. *Circulation Res* 1973; 32:140-148.
54. Cooper RS, Simmons BE, Castaner A, Santhanam V, Ghali J, Mar M. Left ventricular hypertrophy is associated with worse survival independent of ventricular function and number of coronary arteries severely narrowed. *Am J Cardiol* 1990; 65:441– 445.
55. Cornelissen VA, Fagard RH. Effect of resistance training on resting blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hypertens* 2005; 23:251-9.
56. Costa F, Diedrich A, Johnson B, Sulur P, Farley G, Biaggioni I. Adenosine, a metabolic trigger of the exercise pressor reflex in humans. *Hypertension* 2001; 37:917– 922.
57. Costa F, Heusinkveld J, Ballog R, Davis S, Biaggioni I. Estimation of skeletal muscle interstitial adenosine during forearm dynamic exercise in humans. *Hypertension* 2000; 35: 1124–1128.
58. Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. *Circulation*. 2000;101:828–833.

59. Cowley AJ, Stainer K, Rowley JM, and Wilcox RG. Effect of aspirin and indomethacin on exercise-induced changes in blood pressure and limb blood flow in normal volunteers. *Cardiovasc Res* 1985; 19:177–180.
60. Crews J, Aldinger EE. Effect of chronic exercise on myocardial function. *Am Heart J* 1967; 74:536-542.
61. DATASUS. <http://w3.datasus.gov.br/datasus/datasus.php>.
62. Daval JJ, Nehlig A, Nicolas F. Physiological and pharmacological properties of adenosine: therapeutics implications. *Life Sci* 1991; 49:1435-1453.
63. Davidge ST. Prostaglandin H synthase and vascular function. *Circ Res* 2001 89:650-660.
64. de Belder AJ, Radomski MW, Why HJ, Richardson PJ, Bucknall CA, Salas E, Martin JF, Moncada S. Nitric oxide synthase activities in human myocardium. *Lancet* 1993 341:84-5.
65. de Cássia Cypriano Ervati Pinter R, Padilha AS, de Oliveira EM, Vassallo DV, de Fúcio Lizardo JH. Cardiovascular adaptive responses in rats submitted to moderate resistance training. *Eur J Appl Physiol* 2008; 103:605-13.
66. Delp MD. Effects of exercise training on endothelium-dependent peripheral vascular responsiveness. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27:1152–1157.
67. Dent P, Lavoigne A, Nakielny S, Caudwell FB, Watt P, Cohen P. The molecular mechanism by which insulin stimulates glycogen synthesis in mammalian skeletal muscle. *Nature* 1990; 348:302-8.
68. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens*. 2000; 18:655-73. Review.

69. Dinunno FA, Tanaka H, Monahan KD, Clevenger CM, Eskurza I, DeSouza CA, Seals DR. Regular endurance exercise induces expansive arterial remodelling in the trained limbs of healthy men. *J Physiol* 2001; 534:287-95.
70. Dohi Y, Kojima M, Sato K. Endothelial modulation of contractile responses in arteries from hypertensive rats. *Hypertension* 1996; 28:732-7.
71. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robinson K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzymelated carboxypeptidase (ACE 2) converts angiotensin I to angiotensin (1-9). *Circ Res* 2000; 87:1-9.
72. Dowell FJ, Martin W, Dominiczak AF, Hamilton CA. Decreased basal despite enhanced agonist-stimulated effects of nitric oxide in 12-week-old stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Eur J Pharmacol* 1999; 379:175-82.
73. Dowell RT, Tipton CM. Influence of training on heart rate responses of rats to isoproterenol and propranolol. *Physiologist* 1970; 13:182.
74. Ehsani AA, Ogawa T, Miller TR, Spina RJ, Jilka SM. Exercise training improves left ventricular systolic function in older men. *Circulation* 1991; 83:96-103.
75. Endoh M. Signal Transduction and  $Ca^{+2}$  signaling in intact myocardium. *J Pharmacol Sci* 2006; 100:525-537.
76. Engelke KA, Halliwell JR, Proctor DN, Dietz NM, and Joyner MJ. Contribution of NO and prostaglandins to reactive hyperemia in the human forearm. *J Appl Physiol* 1996; 81:1807-1814.
77. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983; 245:1-14. Review.
78. Fisher MM. The effect of resistance exercise on recovery blood pressure in normotensive and borderline hypertensive women. *J Strength Cond Res* 2001; 15:210-6.

79. Fitzgerald SJ, Barlow CE, Kampert JB, Morrow JR, Jackson AW, Blair SN. Muscular fitness and all-cause mortality: prospective observations. *J Physical Activity Health* 2004; 1:7-18.
80. Fitzgerald W. Labile hypertension and jogging: new diagnostic tool or spurious discovery? *Br Med J Clin Res Ed* 1981; 282:542-544.
81. Fleck SJ, Kraemer WJ. *Designing Resistance Training Programs*. 2<sup>nd</sup> ed. Champaign, Ill: Human Kinetics; 1997.
82. Fletcher GF, Balady G, Blair SN, Blumenthal J, Caspersen C, Chaitman B, Epstein S, Sivarajan Froelicher ES, Froelicher VF, Pina IL, Pollock ML. Statement on exercise: benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans: a statement for health professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation* 1996; 94:857-862.
83. Floras JS, Sinkey CA, Aylward PE, Seals DR, Thóren PN, Mark AL. Postexercise hypotension and sympathoinhibition in borderline hypertensive men. *Hypertension* 1989; 14:28-35.
84. Focht BC, Koltyn KF. Influence of resistance exercise of different intensities on state anxiety and blood pressure. *Med Sci Spots Exerc* 1999; 31:456-63.
85. Forjaz CL, Tinucci T, Ortega KC, Santaella DF, Mion D Jr, Negrão CE. Factors affecting post-exercise hypotension in normotensive and hypertensive humans. *Blood Press Monit* 2000; 5:255-62.
86. Frank K F, Bolck B, Erdmann E, Schwinger RHG. Sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation *Cardiovas Res* 2003; 57:20–27.
87. Frankel RA, Metting P J, Britton SL. Evaluation of spontaneous baroreflex sensitivity in conscious dogs. *J Physiol (Lond.)* 1993; 462:31–45.

88. Franklin BA, Bonzheim K, Gordon S, Timmis GC. Resistance training in cardiac rehabilitation. *J Cardiopulm Rehabil* 1991; 11:99-107.
89. Franklin PJ, Green DJ, Cable NT. The influence of thermoregulatory mechanisms on post-exercise hypotension in humans. *J Physiol* 1993; 470:231-41.
90. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science Wash* 1978; 201:875-880.
91. Frontali G. The endothelial constitution. *Arch Kinderheilkd* 1950;140:212-3.
92. Fuchs F, Smith SH. Calcium, Cross-Bridges, and the Frank-Starling Relationship. *News Physiol Sci* 2001; 16:5-10.
93. Fukuda N, Granzier H. Titin/connectin-based modulation of the Frank-Starling mechanism of the heart. *J Mus Res Cell Motility* 2005; 26:319-323.
94. Furchgott RF. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983; 53:557-73. Review.
95. Furchgott RF, DE Gubareff T, Grossman A. Release of autonomic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulation. *Science* 1959; 129:328-9.
96. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989; 3:2007-18. Review.
97. Furchgott RF. An historical survey and prospects of research on EDRF. *Nippon Heikatsukin Gakkai Zasshi* 1987; 23:435-40. Review.
98. Furchgott RF. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983; 53:557-73.
99. Furchgott RF. The 1989 Ulf von Euler lecture. Studies on endothelium-dependent vasodilation and the endothelium-derived relaxing factor. *Acta Physiol Scand* 1990; 139:257-70. Review.

100. Furchgott RF. The receptors for epinephrine and norepinephrine (adrenergic receptors). *Pharmacol Rev* 1959; 11:429-41; discussion 441-2.
101. Gao YJ, Lee RM. Hydrogen peroxide induces a greater contraction in mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats through thromboxane A<sub>2</sub> production. *Br J Pharmacol*. 2001; 134:1639-46.
102. Ge T, Hughes H, Junquero DC, Wu KK, Vanhoutte PM, Boulanger CM. Endothelium-dependent contractions are associated with both augmented expression of prostaglandin H synthase-1 and hypersensitivity to prostaglandin H<sub>2</sub> in the SHR aorta. *Circ Res* 1995; 76:1003-10.
103. Giusti R, Bersohn MM, Malhotra A, Scheuer J. Cardiac function and actomyosin ATPase activity in hearts of conditioned and deconditioned rats. *J Appl Physiol* 1978; 44:171-4.
104. Goldberg L, Elliot DL, Kuehl KS. A comparison of the cardiovascular effects of running and weight training. *J Strength Cond Res* 1994; 8:219–24.
105. Gordon GA. Observations on the effect of prolonged and severe exertion on the blood pressure in healthy athletes. *Edinb Med J* 1907; 22:53-56.
106. Goto K, Warner TD. Endothelin versatility. *Nature* 1995; 375: 539 – 54.
107. Graham TP, Covell JW, Sonnenblick EH, Ross J, Braunwald E. Control of Myocardial Oxygen Consumption: Relative Influence of Contractile State and Tension Development. *J Clin Invest* 1968; 47:375-385.
108. Green DJ, Walsh JH, Maiorana A, Best MJ, Taylor RR, O’Driscoll JG. Exercise-induced improvement in endothelial dysfunction is not mediated by changes in CV risk factors: pooled analysis of diverse patient populations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H2679-H2687.

109. Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, Newby AC, Henderson AH. The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor. *Nature* 1984; 308:645-7.
110. Grimm AF, Kubota R, Whitehorn WV. Properties of myocardium in cardiomegaly. *Circulation Res* 1963; 12:118-124.
111. Gulati J, Babu A and Su H. Molecular physiology of the length-dependence of the  $Ca^{++}$ -sensitivity of skinned fibers with a high affinity Tn-C-mutant: implications for Starling's Law. *Supplement to Circulation* 1992; 86:327.
112. Gunther S, Grossman W. Determinants of ventricular function in pressure-overload hypertrophy in man. *Circulation* 1979; 59:679-688.
113. Halliwill JR, Minson CT, Joyner MJ. Effect of systemic nitric oxide synthase inhibition on postexercise hypotension in humans. *J Appl Physiol* 2000; 89:1830-6.
114. Halliwill JR, Taylor JA, Eckberg DL. Impaired sympathetic vascular regulation in humans after acute dynamic exercise. *J Physiol*, 1996; 495: 279-288.
115. Halliwill JR, Dineno FA, Dietz NM.  $\alpha$ -adrenergic vascular responsiveness during postexercise hypotension in humans. *J Physiol*, 2003; 550:279-286.
116. Hardy DO, Tucker LA. The effects of a single bout of strength training on ambulatory blood pressure levels in 24 mildly hypertensive men. *Am J Health Promot* 1998; 13:69-72.
117. Hellsten Y, Maclean D, Radegran G, Saltin B, Bangsbo J. Adenosine concentrations in the interstitium of resting and contracting human skeletal muscle. *Circulation* 1998; 98:6-8.
118. Henrion D, Dechaux E, Dowell FJ, Maclour J, Samuel JL, Lévy BI, Michel JB. Alteration of flow-induced dilatation in mesenteric resistance arteries of L-NAME treated rats and its partial association with induction of cyclo-oxygenase-2. *Br J Pharmacol* 1997; 121:83-90.

119. Herman AG, Moncada S, Vane JR. Formation of prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) by different layers of the arterial wall. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1977; 227:162-3.
120. Hill L. Arterial pressure in man while sleeping, resting, working and bathing. *J Physiol Lond* 1897; 22:16-29.
121. Hirata Y. Endothelin-1 receptors in cultured vascular smooth muscle cells and cardiocytes of rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13:S157-8.
122. Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kanda Y, Nishio Y, Adachi K, Tasaka K, Miyoshi E, Fujiwara N, Taniguchi N, Murata Y. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial cells. *J Biol Chem* 2001; 276:3459-3467.
123. Hladovec J. The role of endothelium in the pathogenesis of vascular diseases. *Cor Vasa* 1989; 31:433-43.
124. Holmer SR, Homcy CJ. G Proteins in the heart. A redundant and diverse transmembrane signaling network. *Circulation* 1991; 84:1891-1892.
125. Honig CR, Frierson JL. Role of adenosine in exercise vasodilation in dog gracilis muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1980; 238:H703-H715.
126. Hopkins MG, Spina RJ, Ehsani AA. Enhanced b-adrenergic-mediated cardiovascular responses in endurance athletes. *J Appl Physiol* 1996; 80:516-521.
127. Hornig B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1996; 93:210-214.
128. Horton EW. Hypotheses on physiological roles of prostaglandins. *Physiol Rev* 1969; 49:122-161.
129. Howard MG, DiCarlo SE, Stallone JN. Acute exercise attenuates aortic response to phenylephrine. *Med Sci Sports Exercise* 1992; 24:1102-1107.

130. Howard MG, DiCarlo SE. Reduced vascular responsiveness following a single bout of dynamic exercise in the conscious rabbit. *J Appl Physiol* 1992; 73:2662-2667.
131. Huonker M, Halle M, Keul J. Structural and functional adaptations of the cardiovascular system by training. *Int J Sports Med* 1996; 17: S164-72. Review.
132. Huxley H, Hanson J. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature* 1954; 22:973-6.
133. Ignarro LJ. Signal transduction mechanisms involving nitric oxide. *Biochem Pharmacol* 1991; 4:485-90.
134. Ikeda U, Takahashi M, Shimada K. C-reactive protein directly inhibits nitric oxide production by cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42:607-11.
135. Iwai N, Inagami T. Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. *FEBS Lett* 1992; 298:257-260.
136. Jaimes EA, Sweeney C, Rajj L. Effects of the reactive oxygen species hydrogen peroxide and hypochlorite on endothelial nitric oxide production. *Hypertension* 2001; 38:877-83.
137. Jen CJ, Chan HP, Chen HI. Acute exercise enhances vasorelaxation by modulating endothelial calcium signaling in rat aortas. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:H977-82.
138. Jennings G, Nelson L, Nestel P, Esler M, Korner P, Burton D, Bazelmans J. The effects of changes in physical activity on major cardiovascular risk factors, hemodynamics, sympathetic function, and glucose utilization in man: a controlled study of four levels of activity. *Circulation* 1986; 73:30-40.
139. Jewell BR. A reexamination of the influence of muscle length on myocardial performance. *Circ Res* 1977; 40:221-230.

140. Jones AW, Rubin LJ, Magliola L. Endothelin-1 sensitivity of porcine coronary arteries is reduced by exercise training and is gender dependent. *J Appl Physiol* 1999; 87:1172-7.
141. Jones JV, Serafi AS, James MA. Wall stress and heart. *J Card Risk* 2000; 7:159-161.
142. Jungersten L, Ambring A, Wall B, and Wennmalm, Å. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. *J Appl Physiol* 82: 760–764, 1997.
143. Kaito S, Koide M, Cooper G IV, et al. Effects of pressure– or volume–overload hypertrophy on passive stiffness in isolated adult cardiac muscle cells. *Am J Physiol* 1996; 271:H2572–H2583.
144. Kanakis C, Hickson RC. Left ventricular responses to a program of lower-limb strength training. *Chest* 1980; 78:618–21.
145. Katz AM. Contractile proteins of the heart. *Physiol Rev* 1970; 50:63-158. Review.
146. Katz SD, Yuen J, Bijou R, Lejemtel TH. Training improves endothelium-dependent vasodilation in resistance vessels of patients with heart failure. *J Appl Physiol* 1997; 82: 1488–1492.
147. Kaufman FL, Hughson RL, Schaman JP. Effect of exercise on recovery blood pressure in normotensive and hypertensive subjects. *Med Sci Sports Exerc* 1987; 19:17-20.
148. Kawano H, Tanaka H, Miyachi M. Resistance training and arterial compliance: keeping the benefits while minimizing the stiffening. *J Hypertens* 2006; 24:1753-9.
149. Kelley GA, Kelley KS. Progressive resistance exercise and resting blood pressure: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension* 2000; 35:838-43.
150. Kenney MJ, Seals DR. Postexercise hypotension: key features, mechanisms and clinical significance. *Hypertension* 1993; 22:653-664.

151. Kerr S, Brosnan MJ, McIntyre M, Reid JL, Dominiczak AF, Hamilton CA. Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension: role of the endothelium. *Hypertension*. 1999; 33:1353-8.
152. Kingwell BA, Tran B, Cameron JD, Jennings GL, and Dart AM. Enhanced vasodilation to acetylcholine in athletes is associated with lower plasma cholesterol. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 270:H2008-H2013.
153. Kirchberber MA, Tada M, Katz AM. Phospholamban: a regulatory protein of the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 1975;5:103-15.
154. Kiveloff B, Huber O. Brief maximal isometric exercise in hypertension. *J Am Geriatr Soc* 1971; 19:1006-12.
155. Klaus D. Physiology and pathology of the renin-angiotensin systems. *Med Welt* 1964; 12:2671-6.
156. Klein S, Burke LE, Bray GA, Blair S, Allison DB, Pi-Sunyer X, Hong Y, Eckel RH. Clinical implications of obesity with specific focus on cardiovascular disease: a statement for professionals from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism: endorsed by the American College of Cardiology Foundation. *Circulation* 2004; 110:2952–2967.
157. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298:249-258.
158. Knowles RG, Palacios M, Palmer RM, Moncada S. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86:5159-62.
159. Koch LG, Britton SL, Metting PJ. Adenosine is not essential for exercise hyperaemia in the hindlimb in conscious dogs. *J Physiol* 1990; 429:63–75.

160. Koller A, Sun D, Huang A, Kaley G. Co-release of nitric oxide and prostaglandins mediates flow-dependent dilation of rat gracilis muscle arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994; 267:H326–H332.
161. Kontos HA, Hess ML. Oxygen radicals and vascular damage. *Adv Exp Med Biol*. 1983;161:365-75.
162. Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savage DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med* 1990; 115:345–352.
163. Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, Fleck SJ, Franklin B, Fry AC, Hoffman JR, Newton RU, Potteiger J, Stone MH, Ratamess NA, Triplett-McBride T. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 2002 34:364-80.
164. Krául J, Chraster J, Adamirova J. The hypotensive effect of physical activity. In: *Prevention of Ischemic Heart Disease: Principles and Practice*, W. Rabb (Ed.). Springfield, IL: Charles C Thomas, 1966, p. 359-371.
165. Kulics JM, Collins HL, DiCarlo SE. Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 276: H27-H32, 1999.
166. Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schönbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens* 1998; 16:291-303.
167. Langberg H, Bjorn C, Boushel R, Hellsten Y, Kjaer M. Exercise-induced increase in interstitial bradykinin and adenosine concentrations in skeletal muscle and peritendinous tissue in humans. *J Physiol* 2002; 542:977-983.
168. Lash JM, Bohlen HG. Functional adaptations of rat skeletal muscle arterioles to aerobic exercise training. *J Appl Physiol* 1992; 72:2052-62.

169. Laughlin MH, Schrage WG, McAllister RM, Garverick HA, Jones AW. Interaction of gender and exercise training: vasomotor reactivity of porcine skeletal muscle arteries. *J Appl Physiol* 2001; 90:216-27.
170. Lee L, Webb RC. Endothelium-dependent relaxation and L-arginine metabolism in genetic hypertension. *Hypertension* 1992; 19: 435-441.
171. Leite CM, Mill JG, Vassallo DV. Characteristics of titanic contractions in the caffeine treated rat myocardium. *Can J Physiol Pharmacol* 1995; 73:638-643.
172. Lizardo JH, Silveira EA, Vassallo DV, Oliveira EM. Post-resistance exercise hypotension in spontaneously hypertensive rats is mediated by nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35:782-7.
173. Lizardo JH, Simões HG. Efeitos de diferentes sessões de exercícios resistidos sobre a hipotensão pós-exercício. *Rev Bras Fisioter* 2005; 3:249-255.
174. Lopez-Jaramillo P, Gonzalez MC, Palmer RM, Moncada S. The crucial role of physiological  $Ca^{2+}$  concentrations in the production of endothelial nitric oxide and the control of vascular tone. *Br J Pharmacol* 1990; 101:489-93.
175. Luscher TF, Diederich D, Weber E, Vanhoutte PM, Buhler FR. Endothelium-dependent responses in carotid and renal arteries of normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1988; 11:573-578.
176. Luscher TF, Raij L, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 1987; 9:157-163.
178. MacDonald JR, MacDougall JD, Interisano SA, Smith KM, McCartney N, Moroz JS, Younglai EV, Tarnopolsky MA. Hypotension following mild bouts of resistance exercise and submaximal dynamic exercise. *Eur J Appl Physiol* 1999; 79:148-154.
179. MacDonald JR. Potential causes, mechanisms and implications of post exercise hypotension. *J Hum Hypertension* 2002; 16:225-236.

180. MacDonnell SM, Kubo H, Crabbe DL, Renna BF, Reger PO, Mohara J, Smithwick LA, Koch WJ, Houser SR, Libonati JR. Improved myocardial beta-adrenergic responsiveness and signaling with exercise training in hypertension. *Circulation* 2005; 111:3420–3428.
181. Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y, Murakami H, Kumagai Y, Kuno S, Matsuda M. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life Sci* 2001; 69:1005-16.
189. Maiorana A, O'Driscoll G, Dembo L, Cheetham C, Goodman C, Taylor R, Green D. Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H1999-H2005.
190. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268: 12231-4.
191. Marletta MA. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell* 1994; 78:927-30.
192. Martin EA, Nicholson WT, Eisenach JH, Charkoudian N, Joyner MJ. Bimodal distribution of vasodilator responsiveness to adenosine due to difference in nitric oxide component: implications for exercise hyperemia. *J Appl Physiol* 2006; 101:492-499.
193. Matoba T, Shimokawa H, Kubota H, Morikawa K, Fujiki T, Kunihiro I, Mukai Y, Hirakawa Y, Takeshita A. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in human mesenteric arteries. *Biochem Biophys Res Comm* 2002; 290:909-913.
194. Matoba T, Shimokawa H, Nakashima M, Hirakawa Y, Mukai Y, Hirano K, Kanaide H, Takeshita A. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. *J Clin Invest* 2000; 106:1521-1530.
195. Maximow AA. Relation of blood cells to connective tissues and endothelium. *Physiol Rev* 1924; 4:533-563.

196. McGowan CL, Levy AS, Millar PJ, Guzman JC, Morillo CA, McCartney N, Macdonald MJ. Acute vascular responses to isometric handgrip exercise and effects of training in persons medicated for hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291:H1797-802.
197. McGowan CL, Visocchi A, Faulkner M, Rakobowchuk M, McCartney N, and MacDonald MJ. Isometric handgrip training improves endothelial function in persons medicated for hypertension (Abstract). *Exp Clin Cardiol* 2004; 9:68.
198. Melo CM, Alencar Filho AC, Tinucci T, Mion D Jr, Forjaz CL. Postexercise hypotension induced by low-intensity resistance exercise in hypertensive women receiving captopril. *Blood Press Monit* 2006; 11:183-9.
199. Mercadier JJ, Lompre AM, Duc P, Boheler KR, Fraysse JB, Wisnewsky C, Allen PD, Komajda M, Schwartz K. Altered sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase gene expression in the human ventricle during end-stage heart failure. *J Clin Invest* 1990; 85:305-309.
200. Meredith IT, Friberg P, Jennings GL, Dewar EM, Fazio VA, Lambert GW, Esler MD. Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans. *Hypertension* 1991; 18:575-82.
201. Merkel LA, Lappe RW, Rivera LM, Cox BF, Perrone MH. Demonstration of vasorelaxant activity with an A1-selective adenosine agonist in porcine coronary artery: involvement of potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260:437-43.
202. Mill JG, Pimentel EB, Lemos DM, Leite CM. Hipertrofia Cardíaca: Mecanismos Bioquímicos. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul* 2004; 23:1-4.
203. Mill JG, Stefanon I, Leite CM, Vassallo DV. Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res* 1990; 24:748-53.

204. Miyachi M, Donato AJ, Yamamoto K, Takahashi K, Gates PE, Moreau KL, et al. Greater age-related reductions in central arterial compliance in resistance trained men. *Hypertension* 2003; 41:130-5.
205. Molé PA. Increased contractile potential of papillary muscles from exercise-trained rat hearts. *Am J Physiol* 1978; 234:H421-5.
206. Momken I, Lechene P, Ventura-Clapier R, Veksler V. Voluntary physical activity alterations in endothelial nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287:H914-H920.
207. Moncada S, Higgs EA. Prostaglandins in the pathogenesis and prevention of vascular disease. *Blood Rev* 1987; 1:141-5. Review.
208. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991; 43:109-42.
209. Moncada S, Radomski MW, Palmer RM. Endothelium-derived relaxing factor: identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem Pharmacol* 1988; 37:2495-501.
210. Momken I, Lechene P, Ventura-Clapier R, Veksler V. Voluntary physical activity alterations in endothelial nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287:H914-H920.
211. Moncada S, Vane JR. The role of prostacyclin in vascular tissue. *Fed Proc* 1979; 38:66-71. Review.
212. Morganroth ML, Young EW, Sparks HV. Prostaglandin and histaminergic mediation of prolonged vasodilation after exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1977; 233:H27-H33.
213. Morris CE. Mechanosensitive ion channels. *J Memb Biol* 1990; 113:93-107.

214. Moss RL, Razumova M, Fitzsimons DP. Myosin crossbridge activation of cardiac thin filaments: implications for myocardial function in health and disease. *Circ Res* 2004; 94:1290-1300.
215. Mukoyama M, Nakajima M, Horiuchi M, Sasamura H, Pratt RE, Dzau VJ. Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven-transmembrane receptors. *J Biol Chem* 1993; 268:24539-24542.
216. Mulvany MJ. Small artery remodeling in hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2002; 4:49-55. Review.
217. Murphy TJ, Alexander RW, Griendling KK, Runge MS, Bernstein KE. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor. *Nature* 1991; 351:233-236.
218. Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid Receptors: Structures, Properties, and Functions. *Physiol Rev* 1999; 79:1193-1226.
219. Naseem KM. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med* 2005; 26:33-65.
220. Nechifor Mungiu OC. Drug receptors and prostaglandins. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 1977; 81:688-92. Review.
221. Nelson L, Jennings GL, Esler MD, Korner PI. Effect of changing levels of physical activity on blood-pressure and haemodynamics in essential hypertension. *Lancet* 1986; 30:473-6.
222. Nilsson-Ehle P, Garfinkel AS, Schotz MC. Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism. *Annu Rev Biochem* 1980; 49:667-93. Review.
223. Norton JM. Toward consistent definitions for preload and afterload. *Adv Physiol Educ* 2001; 25:53-61.

224. Nottin S, Nguyen LD, Terbah M, Obert P. Left ventricular function in endurance-trained children by tissue doppler imaging. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36:1507-1513.
225. Nowak J, Wennmalm A. A study on the role of endogenous prostaglandins in the development of exercise-induced and post-occlusive hyperemia in human limbs. *Acta Physiol Scand* 1979; 106:365–369.
226. O'Connell JK, O'Connell DG, Desmond S, Price J, Snyder F. Aerobic exercise prescription: practitioner practices vs. ACSM recommendations. *Med Sci Sports Exerc* 1986, 18:S7.
227. O'Connor PJ, Bryant CX, Veltri JP, Gebhardt SM. State anxiety and ambulatory blood pressure following resistance exercise in females. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25:516-521.
228. Okoshi, K. Fioretto JR, Bonatto RC, Tornero MTT, Tucci PJ. Influência da Elevação da Pressão Diastólica do Ventrículo Esquerdo sobre os Valores da Primeira Derivada Temporal da Pressão Ventricular (dP/dt). *Arq Bras Cardiol* 1999; 73:37-41.
229. O'Neill GP, Ford-Hutchinson AW. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. *FEBS Lett* 1993; 330:156-60.
230. Palmer RM, Rees DD, Ashton DS, Moncada S. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 153:1251-6. (b)
231. Overton JM, Joyner MJ, Tipton CM. Reductions in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. *J Appl Physiol* 1988; 64:748-752.
232. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginina. *Nature* 1988; 333:664-666. (a)
233. Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, Buchner D, Ettinger W, Heath GW, King AC, et al. Physical activity and public health. A

recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995; 273:402-7. Review.

234. Patil RD, DiCarlo SE, and Collins HL. Acute exercise enhances nitric oxide modulation of vascular response to phenylephrine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1993; 265:H1184-H1188.

235. Patrick K, Pollock ML, Rippe JM, Sallis J, Wilmore JH. Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995; 273:402-407.

236. Patterson SW, Piper H, Starling EH. The regulation of the heart beat. *J Physiol* 1914; 48:465-513.

237. Patterson SW, Starling EH. On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *J Physiol* 1914; 48:357-79.

238. Pelà G, Bruschi G, Montagna L, Manara M, Manca C. Left and right ventricular adaptation assessed by doppler tissue echocardiography in athletes. *J Am Soc Echoc* 2004; 17:205-211.

239. Penpargkul S, Repke D, Katz AM, Scheuer J. Effect of physical training on calcium transport by rat cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circ Res* 1977; 40:134-8.

240. Penpargkul S, Scheuer J. The effect of physical training upon the mechanical and metabolic performance of the rat heart. *J Clin Invest* 1970; 49:1859-1868.

241. Pollock ML, Franklin BA, Balady GJ, Chaitman BL, Fleg JL, Fletcher B, Limacher M, Pina IL, Stein RA, Williams M, Bazzarre T. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. *Circulation* 2000; 101:828-33.

242. Radegran G, Saltin B. Nitric oxide in the regulation of vasomotor tone in human skeletal. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1999; 276: H1951-H1960.
243. Radomski MW, Moncada S. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. *Thromb Haemost* 1993; 70:36-41. Review.
244. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine: nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:5193-7.
245. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987; 92:639-46.
246. Ramwell PW, Leovey EM, Sintetos AL. Regulation of the arachidonic acid cascade. *Biol Reprod* 1977; 16:70-87.
247. Rao SP, Collins HL, DiCarlo SE. Postexercise  $\alpha$ -adrenergic receptor hyporesponsiveness in hypertensive rats is due to nitric oxide. *Am J Physiol Integrative Comp Physiol* 2002; 282: R960-R968.
248. Ray CA, Carrasco DI. Isometric handgrip training reduces arterial pressure at rest without changes in sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H245-9.
249. Ray CA, Hume KM. Sympathetic neural adaptations to exercise training in humans: insights from microneurography. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:387-91. Review.
250. Ray CA. Sympathetic adaptations to one-legged training. *J Appl Physiol* 1999; 86:1583-7.
251. Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86:3375-8.

252. Resink TJ, Scott-Burden T, Bühler FR. Endothelin stimulates phospholipase C in cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157:1360-8.
253. Rezk CC, Marrache RC, Tinucci T, Mion D Jr, Forjaz CL. Post-resistance exercise hypotension, hemodynamics, and heart rate variability: influence of exercise intensity. *Eur J Appl Physiol* 2006; 98:105-12.
254. Ricci G, Lajoie D, Petitclerc R, Peronnet F, Ferguson RJ, Fournier M, Taylor AW. Left ventricular size following endurance, sprint, and strength training. *Med Sci Sports Exerc* 1982; 14: 344-7.
255. Roberts CK, Barnard RJ, Jasman A, Balon TW. Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1999; 277:390-394.
256. Roltsch MH, Mendez T, Wilund KR, Hagberg JM. Acute resistive exercise does not affect ambulatory blood pressure in young men and women. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33:881-886.
257. Rossoni LV, Salaices M, Marin J, Vassallo DV, and Alonso MJ. Alterations in phenylephrine-induced contractions and the vascular expression of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase in ouabain-induced hypertension. *Br J Pharmacol* 2002; 135:771-781.
258. Rossoni LV, Salaices M, Miguel M, Briones AM, Barker LA, Vassallo DV, Alonso MJ. Ouabain-induced hypertension is accompanied by increases in endothelial vasodilator factors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283:H2110-8.
259. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1986; 250:H1145-1149.
260. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. *Am J Physiol* 1986; 250:H815-21.

261. Rueckert PA, Slane PR, Lillis DL, Hanson P. Hemodynamic patterns and duration of post-dynamic exercise hypotension in hypertensive humans. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28:24-32.
262. Ruetten H, Zabel U, Linz W, Schmidt HH. Downregulation of soluble guanylyl cyclase in young and aging spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1999; 85:534-41.
263. Sachs F. Mechanical transduction in biological systems. *Critical reviews in biomedical engineering* 1988; 16:141-169.
264. Saltin B, Blomqvist G, Mitchell JH, Johnson JR RL, Wildenthal K, Chapman CB. Response to exercise after bed rest and after training: a longitudinal study of adaptive changes in oxygen transport and body composition. *Circulation* 1968; 38:1-78.
265. Saltin B, Blomqvist G, Mitchell JH, Johnson RL Jr, Wildenthal K, Chapman CB. Response to exercise after bed rest and after training. *Circulation* 1968; 38:VIII-78.
266. Sarnoff SJ, Mitchell JH. The control of the function of the heart. *Handbook of Physiology Cir* 1962; 15:489-501.
267. Scheuer J, Stezoski SW. Effect of physical training on the mechanical and metabolic response of the rat heart to hypoxia. *Circ Res* 1972; 30:418-429.
268. Schulze F, Lenzen H, Hanefeld C, Bartling A, Osterziel KJ, Goudeva L, Schmidt-Lucke C, Kusus M, Maas R, Schwedhelm E, Strödter D, Simon BC, Mügge A, Daniel WG, Tillmanns H, Maisch B, Streichert T, Böger RH. Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study. *Am Heart* 2006; 152:493.e1-8.
269. Sedeek MH, Llinas MT, Drummond H, Fortepiani L, Abram SR, Alexander BT, Reckelhoff JF, Granger JP. Role of Reactive Oxygen Species in Endothelin-Induced Hypertension 2003; 42:806-810.

270. Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide synthase production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res* 74: 349–353, 1994.
271. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003; 290:2945-51.
272. Shapiro LM, McKenna WJ. Left ventricular hypertrophy: relation of structure to diastolic function in hypertension. *Br Heart J* 1984; 51:637-642.  
Shapiro LM. Physiological left ventricular hypertrophy. *Br Heart J* 1984; 52:130-5.
273. Shimokawa H, Yasutake H, Fujii K, Owada K, Nakaike R, Fukumoto Y, Takayanagi T, Nagao T, Egashira K, Fujishima M, Takeshita A. The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 28:703-711.
274. Shoemaker JK, Halliwill JR, Hughson RL, Joyner MJ. Contributions of acetylcholine and nitric oxide to forearm blood flow at exercise onset and recovery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997; 273:H2388-2395.
275. Simao R, Fleck SJ, Polito M, Monteiro W, Farinatti P. Effects of resistance training intensity, volume, and session format on the postexercise hypotensive response. *J Strength Cond Res* 2005; 19:853-8.
276. Solaro RJ, Rarick HM. Troponin and Tropomyosin: Proteins That Switch on and Tune in the Activity of cardiac myofilaments. *Circ Res* 1998; 83:471-480.
277. Spier SA, Laughlin MH, Delp MD. Effects of acute and chronic exercise on vasoconstrictor responsiveness of rat abdominal aorta. *J Appl Physiol* 1999; 87:1752-7.
278. Spina RJ, Turner MJ, Ehsani AA.  $\beta$ -Adrenergic-mediated improvement in left ventricular function by exercise training in older men. *Am J Physiol* 1992; 274:H397-H404.

279. Stamler R, Stamler J, Gosch FC, Civinelli J, Fishman J, McKeever P, McDonald A, Dyer AR. Primary prevention of hypertension by nutritional-hygienic means. Final report of a randomized, controlled trial. *JAMA* 1989; 262: 1801-7.
280. Stefanon I, Vassallo DV, Mill JG. Left ventricular length dependent activation in the isovolumetric rat heart. *Card Res* 1990; 24:254-256.
281. Sugden PH. Signaling in myocardial hypertrophy. *Circ Res* 1999; 84:633-646.
282. Sullivan MJ, Higginbotham MB, Cobb FR. Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction: hemodynamic and metabolic effects. *Circulation* 1988; 78:506-515.
283. Sun D, Huang A, Koller A, and Kaley G. Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *J Appl Physiol* 1994; 76:2241-2247.
284. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev* 1999; 79:216-261.
285. Taddei S, Favilla S, Duranti P, Simonini N, Salvetti A. Vascular renin-angiotensin system and neurotransmission in hypertensive persons *Hypertension*, Sep 1991; 18:266-277.
286. Taddei S, Vanhoutte PM. Role of endothelium in endothelium-evoked contractions in the rat aorta. *Hypertension* 1993; 21:9-15.
287. Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A. Cyclooxygenase inhibition restores nitric oxide activity in essential hypertension. *Hypertension* 1997; 29:274-9.
288. Tamaki T, Uchiyama S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc* 1992; 24:881-886.

289. Tanaka H, DeSouza CA, Seals DR. Absence of age-related increase in central arterial stiffness in physically active women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:127-32.
290. Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 2000; 102:1270-5.
291. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* 2003; 42:1075-81.
292. Tavi P, Han C, Weckstrom M. Mechanisms of stretch-induced changes in [Ca] in rat atrial myocytes: Role of increased troponin C affinity and stretch-activated ion channels *Circ Res* 1998; 83: 1165-1177.
293. Thannickal VJ, Barry L, Fanburg. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279:1005-1028.
294. Tipton CM, Struck PJ, Baldwin KM, Matthes RD, Dowell RT. Response of adrenalectomized rats to chronic exercise. *Endocrinology* 91: 573-579.
295. Touyz RM, Schiffrin EL. Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Pharmacol Rev* 2000; 52:939-672.
296. Touyz RM. Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005; 14:125-31. Review.
297. Ungvari Z, Koller A. Endothelin and prostaglandin H<sub>2</sub>/thromboxane A<sub>2</sub> enhance myogenic constriction in hypertension by increasing Ca<sup>2+</sup> sensitivity of arteriolar smooth muscle. *Hypertension* 2000 36:856-61.
298. Vaitkevicius PV, Fleg JL, Engel JH, O'Connor FC, Wright JG, Lakatta LE, Yin FC, Lakatta EG. Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation* 1993; 88:1456-62.

299. Van Renterghem C, Vigne P, Barhanin J, Schmid-Alliana A, Frelin C, Lazdunski M. Molecular mechanism of action of the vasoconstrictor peptide endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157:977-85.
300. Vanhoutte PM, Boulanger CM. Endothelium-dependent responses in hypertension. *Hypertens Res* 1995; 18:87-98. Review.
301. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, Levy D. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2001; 345:1291-7.
302. Vassallo DV, Lima EQ, Campagnaro P, Stefanon I, Leite CM & Mill JG. Effects of isoproterenol on the mechanical activity of isolated papillary muscles and perfused rat hearts in different calcium concentrations. *Pharmacol Res* 1994; 29:251-260.
303. Vaziri ND, Ni Z, Oveisi F, Trnavsky-Hobbs DL. Effect of antioxidant therapy on blood pressure and NO synthase expression in hypertensive rats. *Hypertension* 2000; 36:957-64.
304. Vega GW, Rosón MI, Bellver A, Celentano MM, de la Riva IJ. Nitric oxide and superoxide anions in vascular reactivity of renovascular hypertensive rats. *Clin Exp Hypertension* 1995; 17:817-35.
305. Watanabe T, Barker TA, Berk BC. Angiotensin II and the Endothelium: Diverse Signals and Effects. *Hypertension* 2005; 45: 163-169.
306. Weber KT, Janicki JS, Shroff SG (1986). Measurement of ventricular function in the experimental laboratory. In: *The heart and cardiovascular system*. Ed Fozzard et al. Raven Press, NY cap. 42:856-885.
307. Wei EP, Kontos HA. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and endothelium-dependent cerebral arteriolar dilation. Implications for the identity of endothelium-derived relaxing factor generated by acetylcholine. *Hypertension* 1990; 16:162-9.

308. Whelton PK, He J, Appel LJ, Cutler JA, Havas S, Kotchen TA, Roccella EJ, Stout R, Vallbona C, Winston MC, Karimbakas J. Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from the National High Blood Pressure Education Program. *JAMA* 2002; 288:1882-1888.
309. Wiegman DL, Harris PD, Joshua IG, Miller FN. Decreased vascular sensitivity to norepinephrine following exercise training. *J Appl Physiol* 1981; 51:282-7.
310. Wier WG, Beukelmann DJ. Sodium-calcium exchange heart: current-voltage relation and intracellular concentration *Mol Cell Biochem* 1989; 89:97-102.
311. Wijnen JA, Kuipers H, Kool MJ, Hoeks AP, van Baak MA, Struyker Boudier HA, Verstappen FT, Van Bortel LM. Vessel wall properties of large arteries in trained and sedentary subjects. *Basic Res Cardiol* 1991; 86:25-9.
312. Wiley RL, Dunn CL, Cox RH, Hueppchen NA, Scott MS. Isometric exercise training lowers resting blood pressure. *Med Sci Sports Exerc* 1992; 24:749-54.
313. Wilkins BW, Minson CT, Halliwill JR. Regional hemodynamics during postexercise hypotension II. Cutaneous circulation. *J Appl Physiol* 2004; 97:2071-2076.
314. Williams JF Jr, Potter RD. Effect of exercise conditioning on the intrinsic contractile state of cat myocardium. *Circ Res* 1976; 39:425-8.
315. Wilson JR, Kapoor S. Contributions of prostaglandins to exercise-induced vasodilation in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1993; 265:H171-H175.
316. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Albert M, Belanger, Halit Silbershatz, and William B. Kannel Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories *Circulation* 1998; 97:1837-1847.
317. Win TS, Marshall JM. Contribution of prostaglandins to the dilation that follows isometric forearm contraction in human subjects: effects of aspirin and hyperoxia. *J Appl Physiol* 2005; 99:45-52.

318. Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats:  $VO_2$ max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280:H1301-10.
319. Woodiwiss AJ, Kalk WJ, Norton GR. Habitual exercise attenuates myocardial stiffness in diabetes mellitus in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 271:H2126-H2133.
320. Wyatt HL, Chuck L, Rabinowitz B, Tyberg JV, Parmley WW. Enhanced cardiac response to catecholamines in physically trained cats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1978; 3:H608-H613.
321. Xiao RP, Cheng H, Zhou Y, Kuschel M, Lakatta EG. Recent Advances in Cardiac  $\beta_2$ -Adrenergic Signal Transduction. *Circ Res* 1999; 85:1092-1100.
322. Xu L, Meissner G. Mechanism of Calmodulin Inhibition of Cardiac Sarcoplasmic Reticulum  $Ca^{2+}$  Release Channel (Ryanodine Receptor). *Biophysical Journal* 2004; 86:797-804.
323. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-5.
324. Yang D, Song L, Zhu W, Chakir K, Wang W, Wu C, Wang Y, Xiao R, Chen SR, Cheng H. Calmodulin Regulation of Excitation-Contraction Coupling in Cardiac Myocytes *Circulation Research* 2003; 92:659-667.
325. Yano M, Ikeda Y, Matsuzaki M. Altered intracellular  $Ca^{2+}$  handling in heart failure. *J Clin Invest* 2005; 115:556-564.
326. Yolanda AM. Alteración en la expresión vascular de iNOS y COX-2 con la hipertensión – papel del sistema renina angiotensina y del estrés oxidativo. Tese de Doutorado. Departamento de Farmacología y terapêutica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid.

327. Zhang T, Miyamoto S, Brown JH. Cardiomyocyte Calcium and Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II: Friends or Foes? *Recent Progress in Hormone Research* 2004; 59:141-168.

328. Zhou MS, Nishida Y, Chen QH, Kosaka H. Endothelium-derived contracting factor in carotid artery of hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 1999; 34:39-43.