

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Ciências
Departamento de Educação Física
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
UFSCAR/UNESP

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO NO REMODELAMENTO
CARDÍACO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS TRATADOS
COM DEXAMETASONA**

Aluna: Francine Duchatsch Ribeiro de Souza

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso

Bauru
Fevereiro 2019

Francine Duchatsch Ribeiro de Souza

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO NO REMODELAMENTO
CARDÍACO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS TRATADOS
COM DEXAMETASONA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” de Araraquara como requisito para a obtenção do título de **Mestre em Ciências Fisiológicas**.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso

Bauru

Fevereiro 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Francine Duchatsch Ribeiro de Souza, realizada em 22/02/2019:

Profa. Dra. Sandra Lia do Amáral Cardoso
UNESP

Profa. Dra. Luana Urbano Pagan
UNESP

Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos
USP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Mauro e Patricia, que me ensinaram a importância do trabalho, da honestidade, da persistência e o valor da família. Vocês não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida. A minha irmã Caroline e minha avó Marta, a presença de vocês significou a certeza que não estou sozinha. E aos meus avós Alzira, Geraldo e Marcionilo (in memoriam) toda gratidão pelos seus esforços.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas UFSCAR/UNESP e a todos os professores e auxílios que contribuíram para minha formação.

Agradeço o suporte financeiro realizado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, durante minha iniciação científica (PROCESSO 2014/23050-6) e o suporte financeiro concedido no âmbito do CONVÊNIO FAPESP/CAPES durante meu mestrado (PROCESSO 2017/14405-3). Agradeço também o suporte financeiro realizado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, PROCESSO 131537/2017-2).

Ao Prof. Dr. Katashi Okoshi (Faculdade de Medicina, UNESP de Botucatu), pela disponibilidade e parceria na realização da técnica de ecocardiografia. E pela acessibilidade para qualquer dúvida dessa nova técnica utilizada pelo laboratório.

Ao Prof. Dr. Carlos A. Vicentini (Departamento de Biologia, UNESP de Bauru) e aos seus alunos Thalles, Diego, Matheus e Mário, por toda disponibilidade, conhecimento e paciência para ensinar a técnica de histologia. Além disso, ao laboratório LAMOA por ceder o espaço, equipamentos e os materiais para que fosse possível a realização da técnica de histologia.

Aos meus amigos do LEFEx (Anderson, Danyelle, Lidieli, Melissa, Naiara e Vinicius) por toda paciência, reflexões científicas e pessoais, por toda ajuda nos protocolos experimentais e nos problemas do cotidiano, por todas as viagens para as disciplinas e congressos. Obrigada pela amizade.

Em especial, a minha orientadora Prof^a. Assoc. Sandra Lia do Amaral Cardoso, por ter despertado em mim o amor pela pesquisa, pela minha profissão e pelo meio acadêmico. Por milhares de portas abertas, por todo ensinamento profissional e por nunca deixar que eu desistisse “de fato”. O título de orientadora cabe muito bem a você, obrigada.

Aos meus pais Mauro e Patricia, que me deram todo o suporte para que eu chegasse até aqui. Foram meu exemplo e sempre serão meu orgulho e inspiração. Nunca deixaram que me faltasse nada, principalmente amor. Por todo incentivo e apoio a minha formação. Obrigada por serem os ouvidos e os abraços que eu precisei. Sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês.

A minha irmã Caroline, por ser uma inspiração, tanto profissional quanto como pessoa. Por nunca deixar que eu me sentisse só. Sou extremamente grata, amo você.

A minha avó e madrinha Marta, por todo carinho e amor. Por fazer-me desejar sempre estar por perto. Te amarei para sempre.

Aos meus avós Alzira e Marcionilo (*in memorian*), por todos os esforços. Toda gratidão e amor. E ao meu avó e padrinho Geraldo (*in memorian*), por simplesmente ser quem foi, ser minha referência e meu amor. Amo vocês.

Ao meu namorado Victor, pelo apoio incondicional. Por me acalmar na hora do desespero, por me fazer enxergar quando eu já não conseguia ver, por ouvir diversas vezes minhas apresentações de congresso, por fingir entender sobre o que eu estava falando e inventar perguntas, por ser quem é. Amo você.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma estiveram envolvidos nesse processo. Obrigada por fazerem parte desse momento.

RESUMO

Tem sido demonstrado que o tratamento crônico com dexametasona (DEX) promove remodelamento cardíaco e hipertensão arterial (HA) em ratos normotensos, no entanto pouco se sabe sobre os efeitos da DEX em animais espontaneamente hipertensos (SHR). Em contrapartida, o treinamento físico (TF) aeróbio tem sido utilizado como tratamento não farmacológico na HA e um dos seus mecanismos é a melhora do remodelamento cardíaco. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do tratamento com a DEX e do treinamento físico aeróbio na PA e no processo de remodelamento cardíaco de ratos SHR. Para isso 64 ratos SHR (12 semanas) foram submetidos a um TF em esteira (60% da capacidade máxima, 5 dias/semana, 1 h/dia, por 75 dias) ou permaneceram sedentários. Durante os últimos 15 dias, os animais foram tratados com uma dosagem baixa de DEX (50 µg/kg de peso corporal por dia, *s.c.*) ou salina. Um grupo de 20 ratos Wistar (W, 12 semanas) sedentário foi usado como controle. Após o protocolo experimental, todos os ratos foram submetidos a um exame de ecocardiografia, glicemia de jejum, cateterização da artéria carótida para aferição da PA e frequência cardíaca (FC) e análise do sistema nervoso autonômico. Posteriormente, o coração foi retirado para análise de massa cardíaca, densidade capilar, diâmetro de miócitos e densidade de colágeno no ventrículo esquerdo (VE). O tratamento crônico com DEX não exacerbou PA média (PAM) dos SHR. Contudo, o TF foi eficaz em reduzir a PAM destes SHR (~20%). O tratamento com baixa dose de DEX não alterou a função sistólica, mas aumentou o diâmetro diastólico do VE (DDVE/PC) e melhorou a função diastólica, pois reduziu o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), além de aumentar densidade capilar (+19%) e reduzir a % de colágeno no VE (-22%), independente do tamanho de miócito. Já o TF nos SHR tratados com DEX promoveu aumento do peso do coração (11%) que sugere ser um aumento benéfico da massa, que foi independente do tamanho de miócito, aumentou a velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), que sugere também uma melhora da função sistólica, bem como aumento do DDVE/PC e TRIV, assim como redução na % de colágeno (-28%), que indicam melhora na função diastólica. Em suma, os resultados do presente estudo indicam, pela primeira vez, que o tratamento crônico com baixas dose de DEX não exacerba as variáveis hemodinâmicas e autonômicas presentes nos SHR, mas melhora a função diastólica do VE, aumenta número de vasos e reduz % de colágeno. Em conjunto com a DEX, o TF determinou redução significativa da PA e promoveu um remodelamento cardíaco que contribuiu para melhorar significativamente a função sistólica e diastólica do VE nos SHR. Estes resultados podem sugerir que a administração de DEX em doses baixas e no tempo usado nesse estudo, possa ser administrada para a população hipertensa sem grandes preocupações.

Palavras-chave: Glicocorticoides, Remodelamento Cardíaco, Exercício Físico, Hipertensão Arterial.

ABSTRACT

It has been shown that chronic treatment with dexamethasone (DEX) promotes cardiac remodeling and hypertension (H) in normotensive rats, however little is known about the effects of DEX in spontaneously hypertensive animals (SHR). In contrast, aerobic physical training (T) has been used as a non-pharmacological treatment in hypertension and one of its mechanisms is the improvement on cardiac remodeling. Therefore, the objective of the present study was to investigate the effects of DEX treatment and aerobic training on AP and cardiac remodeling process in SHR. For this purpose, 64 SHR (12 weeks) underwent treadmill T (60% of maximal capacity, 5 days / week, 1 h / day, for 75 days) or remained sedentary. During the last 15 days, the animals were treated with low dose of DEX (50 µg / kg body weight per day, *s.c.*) or saline. A group of 20 sedentary Wistar rats (W, 12 weeks) were used as control. After the experimental protocol, all rats were submitted to echocardiography, fasting blood glucose, carotid artery catheterization for AP and heart rate (HR) measurements and analysis of the autonomic nervous system. Subsequently, heart was removed for analysis of cardiac mass, capillary density, myocyte diameter and left ventricle (LV) collagen density. Chronic treatment with DEX did not exacerbate mean AP (MAP) of SHR. However, T was effective in reducing MAP of SHR (~ 20%). Treatment with low dose of DEX did not alter systolic function, but increased LV diastolic diameter (LVDD / BW) and improved diastolic function, since it reduced the isovolumetric relaxation time (IVRT), increased capillary density (+ 19%), and reduced % of collagen in the LV (-22%), regardless of myocyte size. On the other hand, T in the SHR treated with DEX promoted increase in heart weight (11%), which suggests a beneficial mass increase, which was independent of myocyte size, increased posterior wall shortening velocity (PWSV), which also suggests an improvement in systolic function, as well as increased LVDD / BW and IVRT, as well as reduced % of collagen (-28%), indicating an improvement in diastolic function. In summary, the results of the present study indicate, for the first time, that chronic treatment with low dose of DEX does not exacerbate hemodynamic and autonomic variables in SHR, but improves LV diastolic function, increases angiogenesis and reduces % of collagen. Together with DEX treatment, T determined a significant reduction on AP and promoted cardiac remodeling that contributed to a significant improvement of LV systolic and diastolic function in SHR. These results may suggest that administration of DEX at low doses and at the time used in this study can be administered to the hypertensive population without major concerns.

Key words: Glucocorticoids, Cardiac Remodeling, Physical Exercise, Hypertension.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Linha do tempo demonstrando o período de protocolo experimental (75 dias), sendo que durante as primeiras 8 semanas foi realizado somente o treinamento físico/sedentarismo (cinza claro) e durante os últimos 15 dias foi realizado, adicionalmente, o tratamento com a dexametasona (DEX) ou salina (cinza mais escuro). Peso Corporal (PC), Teste de Capacidade Física Máxima (Teste máx), Exame de Ecocardiografia (ECO), Cateterização da carótida (canulação), Pressão Arterial Direta (PA Direta).....22
- Figura 2:** Valores do delta do peso corporal nos grupos SHR sedentários (n=43) e treinados (n=22).....29
- Figura 3:** Valores do delta do peso corporal nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com DEX (SD, n=22), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs respectivo controle; p<0,05.....30
- Figura 4:** Valores do delta de tempo do teste máximo em segundos nos grupos SHR sedentários (n=44) e treinados (n=22). Significância: + vs sedentário; p<0,05.....30
- Figura 5:** Valores de glicemia de jejum avaliada em todos os grupos SHR: sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com DEX (SD, n=21), treinado controle (TC, n=12) e treinado tratado com DEX (TD, n=12).....31
- Figura 6:** Valores da pressão arterial sistólica (PAS/Painel A), pressão arterial diastólica (PAD/Painel B), pressão arterial média (PAM/Painel C) e frequência cardíaca (FC/Painel D) nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=13), sedentário tratado com DEX (SD, n=15), treinado controle (TC, n=6) e treinado tratado com DEX (TD, n=9). Significância: + vs respectivos sedentários; p<0,05.....33
- Figura 7:** Valores de bandas de baixa frequência (LF/Painel A), bandas de alta frequência (HF/Painel B), razão LF/HF (LF/HF/Painel C) e bandas de baixa frequência para os vasos (LF ABS/Painel D) nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=13), sedentário tratado com DEX (SD, n=9), treinado controle (TC, n=6) e treinado tratado com DEX (TD, n=7).....34
- Figura 8:** Valores de *up gain* (Painel A), *down gain* (Painel B) e *all gain* (Painel C), nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=12), sedentário tratado com DEX (SD, n=13), treinado controle (TC, n=8) e treinado tratado com DEX (TD, n=8).....35
- Figura 9:** Imagens representativas do exame ecocardiográfico dos grupos wistar (W), e dos grupos SHR sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Na imagem está representado o septointerventricular (↑), a cavidade do VE (*) e a parede posterior do VE (X).....37
- Figura 10:** Cortes histológicos transversais do VE (40x) em cada grupo analisado, corados com hematoxilina e eosina, para detecção da densidade capilar dos grupos wistar (W) e dos SHR sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Em rosa estão os miócitos e em roxo os núcleos dos capilares.....45
- Figura 11:** Valores da densidade capilar (n/mm²) no VE dos grupos SHR sedentário controle (SC, n=9), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs respectivo controle; p<0,05.....46
- Figura 12:** Cortes histológicos longitudinais do ventrículo esquerdo (40x), corados com hematoxilina e eosina, para detecção do diâmetro de miócitos dos grupos wistar (W), e grupos SHR sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Em rosa estão os miócitos e em roxo os núcleos.....47

Figura 13: Valores do diâmetro de miócitos no ventrículo esquerdo nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=9), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: $p < 0,05$48

Figura 14: Cortes histológicos longitudinais (20x), corados com Picrossírius Red, para detecção de colágeno no ventrículo esquerdo dos grupos wistar (W) e nos grupos SHR, sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Em vermelho pode-se observar as fibras de colágeno e em amarelo a musculatura cardíaca.....49

Figura 15: Valores da área de colágeno (Painel A) e da % de colágeno (Painel B) no ventrículo esquerdo nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=10) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs respectivo controle, + vs respectivo sedentário; $p < 0,05$50

Figura 16: Correlação entre % da área de colágeno do ventrículo esquerdo com a velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP, $r = -0,4887$) e com o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV, $r = 0,3336$) nos grupos SHR sedentário controle e treinado tratado com DEX. Significância: * $p < 0,05$51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de peso corporal obtidos no início e final do protocolo experimental nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SHR).....	29
Tabela 2: Valores de glicemia de jejum entre os grupos normotensos (W) e SHR sedentários (SC).....	31
Tabela 3: Valores hemodinâmicos, de balanço autonômico e atividade barorreflexa espontânea entre os animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).....	32
Tabela 4: Massa do coração, átrios, ventrículos e adrenais dos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).....	36
Tabela 5: Parâmetros ecocardiográficos estruturais do coração nos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).....	38
Tabela 6: Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica e desempenho do VE nos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).....	39
Tabela 7: Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica do VE nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).....	40
Tabela 8: Massa do coração, átrios, ventrículos e adrenais dos animais SHR.....	41
Tabela 9: Parâmetros ecocardiográficos estruturais do coração dos animais SHR.....	42
Tabela 10: Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica e do desempenho do VE nos animais SHR.....	43
Tabela 11: Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica do VE dos animais SHR.....	44
Tabela 12: Valores de densidade capilar no ventrículo esquerdo nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).....	46
Tabela 13: Valores do diâmetro de miócitos no ventrículo esquerdo nos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).....	48
Tabela 14: Valores de área e densidade de colágeno no ventrículo esquerdo nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).....	50

LISTA DE ABREVIATURAS

%ENC. ENDO: % de Encurtamento Endocárdico
A (D-E): Átrio Direto e Esquerdo
A MITRAL: Onda A do Fluxo Transmitral
A' LATERAL: Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular)
A' MÉDIA: Média da Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Lateral e Septal
A' SEPTAL: Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Septal (Doppler tissular)
ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico
AE/AO: Razão AE/AO
AE: Diâmetro do Átrio Esquerdo
ALL GAIN: Atividade Barorreflexa Espontânea
AMPK: Proteína Quinase ativada por Adenosina Monofosfato
ANOVA: Análise de Variância
AO: Diâmetro da Aorta
CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CRH: Hormônio Liberador de Corticotrofina
DDVE: Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo
DEX: Dexametasona
DOWN GAIN: Resposta Taquicárdica Reflexa Espontânea
DSVE: Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo
E MITRAL: Onda E do Fluxo Transmitral
E/A: Razão E/A
E/E': Razão E/E'
E' LATERAL: Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular)
E' MÉDIA: Média da Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Lateral e Septal
E' SEPTAL: Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Septal (Doppler tissular)
ECO: Exame de ecocardiografia
EDSIV: Espessura Diastólica do Septo Interventricular
EDPP: Espessura Diastólica da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo
EPM: Erro Padrão da Média
ESP. REL. VE: Espessura Relativa do Ventrículo Esquerdo
FC: Frequência Cardíaca
FRAÇÃO DE EJE.: Fração de Ejeção
HA: Hipertensão Arterial
HE: Hematoxilina-eosina
HF: Banda de Alta Frequência (sigla em inglês)
IC: Insuficiência Cardíaca
ÍND. MVE: Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo
IP: Índice de Pulso
LF ABS: Banda de Baixa Frequência Absoluta (sigla em inglês)
LF/HF: Balanço Autônomo (sigla em inglês)
LF: Banda de Baixa Frequência (sigla em inglês)
MASSA VE: Massa do Ventrículo Esquerdo
MHC: Isoforma alfa de Miosina de Cadeia Pesada
PA: Pressão Arterial
PAD: Pressão Arterial Diastólica
PAM: Pressão Arterial Média
PAS: Pressão Arterial Sistólica
PC: Peso Corporal
S LATERAL: Onda Sistólica do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular)

S MÉDIA: Média das velocidades sistólicas máximas de deslocamento das paredes lateral e septal do anel mitral
S SEPTAL: Onda Sistólica do Anel Mitral Septal (Doppler tissular)
S.C.: Subcutânea
SC: Sedentário Controle
SD: Sedentário tratado com Dexametasona
SHR: Ratos Espontaneamente Hipertensos
TC: Treinado Controle
TD: Treinado tratado com Dexametasona
TDE: Tempo de Desaceleração da Onda E Mitral
TEI INDEX: Índice de Performance Miocárdica
TESTE MÁX: Teste de Capacidade Física Máxima
TF: Treinamento Físico
TNF- α : Fator de Necrose Tumoral- α
TRIV: Tempo de Relaxamento Isovolumétrico
TRIV/R-R: TRIV Normalizado para a Frequência cardíaca
UP GAIN: Resposta Bradicárdica Reflexa Espontânea
VD: Ventrículo Direito
VE: Ventrículo Esquerdo
VEPP: Velocidade de Encurtamento da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo
W: Wistar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Remodelamento Cardíaco e Dexametasona	14
1.2 Treinamento Físico e Remodelamento Cardíaco	17
2 HIPÓTESE.....	19
3 OBJETIVO	20
3.1 Objetivos Específicos	20
4 MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1 Grupos Experimentais.....	21
4.2 Avaliação da Capacidade Física Máxima dos Animais.....	22
4.3 Protocolo de Treinamento Físico	23
4.4 Tratamento Farmacológico	23
4.5 Determinação do Exame de Ecocardiografia.....	23
4.6 Determinação da Glicemia de Jejum	24
4.7 Determinação da Pressão Arterial.....	25
4.7.1 Confeção e implantação da cânula arterial.....	25
4.7.2 Registro de pressão arterial e frequência cardíaca	25
4.8 Análise Espectral	25
4.9 Barorreflexo Espontâneo	26
4.10 Retirada do Ventrículo Esquerdo.....	26
4.11 Análises Morfométricas de Densidade Capilar, Diâmetro de Miócitos e Análise de Colágeno	27
4.12 Métodos Estatísticos	28
5 RESULTADOS	29
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	61
ANEXO 1.....	68

INTRODUÇÃO

1.1 Remodelamento Cardíaco e Dexametasona

No Brasil, no ano de 2016, as doenças do aparelho circulatório foram responsáveis por 1.115.951 internações e para seu tratamento foi contabilizado um gasto de R\$ 2.721.397.878,06. Dentre as doenças do aparelho circulatório, a terceira doença a ter mais gastos no ano de 2016 foi a insuficiência cardíaca (IC), que atingiu R\$ 331.803.678,24 (12,19%) e registrou 211.992 internações, sendo considerada a doença do aparelho circulatório com maior número de indivíduos internados (DATASUS, 2017).

A IC é uma síndrome complexa, caracterizada pelo cansaço aos mínimos esforços devido ao bombeamento insuficiente de sangue para manter a perfusão adequada do organismo (CORRÊA et al., 2008). Pode ser resultado de vários fatores, dentre eles a hipertensão arterial (HA) e o remodelamento cardíaco (KANNEL et al., 1987; COHN et al., 2000).

Remodelamento cardíaco é um conjunto de alterações no tamanho, massa, geometria e função do coração que ocorrem por consequência a um determinado estímulo (AZEVEDO et al., 2015). Os miócitos, a matriz extracelular e os capilares são os principais componentes do coração. A presença de alteração na composição de qualquer um destes componentes pode determinar o remodelamento cardíaco. A hipertrofia cardíaca é caracterizada por um aumento na massa do coração, frente a processos patológicos ou fisiológicos, denominada como hipertrofia patológica ou fisiológica, respectivamente. A hipertrofia cardíaca patológica pode ocorrer pela sobrecarga de pressão, decorrente da HA e coarctação da aorta, ou também, por causa da sobrecarga de volume devido as doenças das válvulas (BING et al., 1995; BERNARDO et al., 2010; WEEKS & MCMULLEN, 2011), enquanto a chamada hipertrofia fisiológica pode ser decorrente do treinamento físico (TF), por sobrecarga de pressão devido ao treinamento de força ou pode ser por sobrecarga de volume no treinamento de endurance (MACHIDA et al., 2000; BERNARDO et al., 2010; WEEKS & MCMULLEN, 2011). Por outro lado, a miocardiopatia hipertrófica, de origem genética, tem caráter hereditário (MARON, 2002). Se, por um lado a hipertrofia patológica está associada ao

aumento do índice de morbidade e mortalidade devido ao mau funcionamento do coração, a hipertrofia fisiológica está relacionada ao melhor funcionamento do coração como bomba, favorecendo a perfusão adequada (LEVY et al., 1990; FRIMM, 1998; FERNANDES et al., 2011; WEEKS & MCMULLEN, 2011). A hipertrofia cardíaca pode ser também subclassificada em hipertrofia concêntrica ou excêntrica. A hipertrofia concêntrica é decorrente da sobrecarga de pressão, caracterizada pelo aumento da parede do coração, com padrão de crescimento em paralelo dos sarcômeros e com dilatação pequena do ventrículo esquerdo (VE). Já, a hipertrofia excêntrica ocorre devido à sobrecarga de volume e é caracterizada pelo aumento da parede do coração com padrão de crescimento em série dos sarcômeros e dilatação do VE (BERNARDO et al., 2010; WEEKS & MCMULLEN, 2011). Tem sido demonstrado que o treinamento aeróbio determina hipertrofia excêntrica e, por outro lado, o treinamento de força determina hipertrofia concêntrica (PLUIM et al., 2000). A hipertrofia cardíaca de caráter concêntrico, associada à diminuição da densidade capilar e ao aumento da deposição de colágeno podem, conjuntamente, constituírem os possíveis mecanismos envolvidos na progressão da IC (BERNARDO et al., 2010; WEBER & BRILLA, 1991; HEIN et al., 2003; GROSSMAN et al., 1975).

Uma vez que o aumento crônico da pressão arterial (PA) é um fator indutor de remodelamento cardíaco e que o uso de medicamentos por períodos prolongados pode determinar aumentos de PA, vários estudos vêm sendo realizados com o intuito de entender os mecanismos pelos quais alguns medicamentos induzem HA (HOU & SLOTKIN, 1989; SEGAR et al., 2006; HERRERA et al., 2016, CONSTANTINO et al., 2017) e como eles atuam no remodelamento cardíaco (MUANGMINGSUUK et al., 2000; DODIC et al., 2001; DE SALVI GUIMARÃES et al., 2017), na tentativa de minimizar os riscos de causar insuficiência cardíaca no futuro.

Nesse sentido, a dexametasona (DEX), um glicocorticoide sintético, tem sido alvo de várias pesquisas, devido a sua relevância na clínica como potente droga antialérgica, anti-inflamatória e imunossupressora, o que permite ser utilizada no tratamento de doenças como asma, bronquite e inflamações crônicas. Os glicocorticoides podem ter origem natural, como o cortisol em humanos ou corticosterona em ratos. Os glicocorticoides de origem natural são hormônios esteroidais produzidos pelo córtex das glândulas supra-renais. Têm sua síntese controlada pelo hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). A liberação dos hormônios esteroidais pode sofrer influência do hormônio antidiurético, de ocitocinas, de catecolaminas ou pode ser mediado por

situações como febre, hipoglicemia e estresse. A DEX atua em todos os órgãos e tecidos, modulando o metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídeos e mantendo o equilíbrio hidroeletrólítico (ANTI et al., 2008).

Apesar de seus efeitos benéficos na clínica, o tratamento com DEX possui amplos efeitos deletérios, quando administrada por um período crônico, seja ele mais curto ou longo. Dentre os diversos efeitos deletérios, pode-se citar a HA (SUZUKI et al., 1982; DODIC et al., 1999; DODIC et al., 2006; MONDO et al., 2006; HERRERA et al., 2016; HERRERA et al., 2017; CONSTANTINO et al., 2017). Dados recentes de nosso laboratório têm demonstrado que animais tratados com DEX por 10-14 dias apresentaram maiores valores de PA (CONSTANTINO et al., 2017; HERRERA et al., 2016) quando comparados aos seus respectivos controles.

Dentre os vários mecanismos envolvidos na HA induzida pela DEX, tem sido demonstrado um aumento da atividade nervosa simpática (SEGAR et al., 2006; HERRERA et al., 2016). Hou & Slotkin (1989) sugeriram que a exposição à DEX no período pré-natal poderia alterar significativamente o controle de frequência cardíaca (FC) do neonato, sugerindo então que este seria um possível efeito da DEX sobre o sistema nervoso. Dados recentes de nosso laboratório mostraram que o tratamento por 5 dias (mas não com 1 dia) com a DEX, na dose de 1 mg/kg, promoveu aumento significativo da atividade nervosa simpática e diminuição da atividade nervosa parassimpática, determinando um desbalanço autonômico para o coração (DUCHATSCH et al., 2018). Da mesma forma, o tratamento crônico com a DEX em doses bem menores (0,05 mg/kg), mas por maior tempo, promoveu aumento da atividade nervosa simpática, diminuição da atividade nervosa parassimpática e desbalanço autonômico para o coração (HERRERA et al., 2016). Estudos têm demonstrado que ratos espontaneamente hipertensos (SHR) também apresentam disfunção autonômica para o coração (MASSON et al., 2014; STERN et al., 2012). Contudo, quase nada se sabe sobre os efeitos do tratamento com DEX em animais que já apresentam hipertensão estabelecida, como os SHR.

Alguns autores vêm evidenciando a influência do tratamento com a DEX no remodelamento cardíaco. De Salvi Guimarães et al. (2017) mostraram que ratos Wistar (W) tratados com alta dose de DEX (35µg/g) apresentaram hipertrofia cardíaca. Essa hipertrofia cardíaca foi acompanhada de fibrose e apoptose, o que pode ter contribuído para a instalação de disfunção diastólica, associada ao comprometimento da homeostase do cálcio e ativação da via da sinalização da calcineurina. Da mesma forma, o estudo de Muangmingsuk et al.

(2000) já havia demonstrado que, a partir do terceiro dia de tratamento em ratos recém-nascidos, a DEX determina hipertrofia cardíaca seguida de aumento da expressão da isoforma alfa da miosina de cadeia pesada (MHC) e diminuição da expressão do MHC-beta. Em outro modelo experimental, Dodic et al. (2001) demonstraram que o tratamento com DEX, durante a gestação de ovelhas, promoveu hipertrofia ventricular esquerda na prole adulta e redução da reserva funcional cardíaca. No entanto, neste trabalho, os autores não avaliaram os possíveis mecanismos envolvidos. Em resumo, estes estudos sugerem que os mecanismos responsáveis pela determinação da hipertrofia cardíaca em animais normotensos, induzida pela DEX, não estão bem elucidados. Já em animais SHR, o remodelamento cardíaco está implicado em seu desenvolvimento (GALLEGO-DELGADO et al., 2009). Estes animais apresentam aumento da massa e do diâmetro dos miócitos do VE, além do aumento da deposição de colágeno e da razão parede/luz das arteríolas (ROSSONI et al., 2011; PAGAN, 2018). No entanto, quase nada se sabe sobre os efeitos da DEX no remodelamento cardíaco já presente nos animais SHR.

Sabendo-se que o remodelamento cardíaco, implicado no desenvolvimento da IC (KANNEL et al., 1987), é uma resposta compensatória ao aumento da PA (BING et al., 1995) e que a IC é a segunda causa de mortalidade no Brasil dentre as doenças do aparelho circulatório (DATASUS, 2017), é importante conhecer os efeitos da DEX no desenvolvimento do remodelamento cardíaco de modelos experimentais de hipertensão, uma vez que pessoas hipertensas podem fazer uso desse tipo de tratamento e apresentar um agravamento de sua patologia.

1.2 Treinamento Físico e Remodelamento Cardíaco

O TF aeróbio, de baixa à moderada intensidade, vem sendo considerado um importante coadjuvante no tratamento e controle da hipertensão (PESCATELLO et al., 2004; MANCIA et al., 2013; GHADIEH et al., 2015). Tem sido demonstrado que um dos mecanismos pelos quais o TF aeróbio reduz a PA possa ser a redução da atividade nervosa simpática (CAVALCANTI et al., 2009; MARTINEZ et al., 2011; HERRERA et al., 2016). Dados recentes de nosso laboratório demonstraram que o TF em esteira atenua o aumento da PA induzido pela DEX e um dos mecanismos observados foi a melhora do balanço autonômico para o coração e redução da atividade nervosa simpática para os vasos (HERRERA et al., 2016). Em animais SHR, tem sido demonstrado que o TF aeróbio é capaz

de reduzir PA e FC, associados à melhora da sensibilidade barorreflexa desses animais (LOPES et al., 2016) além da melhora do balanço autonômico para o coração (MASSON et al., 2014). No entanto, nada se sabe sobre os efeitos do TF no balanço autonômico de ratos SHR tratados com DEX.

Sabe-se que o TF é um estímulo fisiológico para remodelamento cardíaco (MACHIDA et al., 2000; BERNARDO et al., 2010; WEEKS & MCMULLEN, 2011). Contudo, não está claro na literatura como o TF atua no remodelamento cardíaco de animais tratados com DEX. Tem sido demonstrado também que o TF é capaz de atenuar o remodelamento cardíaco patológico em ratos SHR e em pacientes com IC (PAGAN et al., 2015; WISLOFF et al., 2007). Dentre os possíveis mecanismos pelos quais o TF atenua o remodelamento cardíaco, pode-se citar a diminuição da massa do VE (KOKKINOS et al., 1995; ROSSONI et al., 2011), da deposição de colágeno (ROSSONI et al., 2011; KWAK et al., 2011) e da razão parede/luz das arteríolas presentes no miocárdio (ROSSONI et al., 2011). No entanto, nada se sabe sobre os efeitos do TF no remodelamento cardíaco de animais SHR tratados cronicamente com DEX.

Mudanças estruturais ocasionadas pelo TF no coração são refletidas na função cardíaca. Ratos Zucker, obesos, quando submetidos a protocolo de TF aeróbio (natação) apresentaram uma melhora da função diastólica (BARRETTI et al., 2011). Da mesma forma, tem sido evidenciado, por meio de exames ecocardiográficos, que o TF aeróbio diminui o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) de animais SHR, o que sugere uma melhora na disfunção diastólica (PAGAN et al., 2015; PAGAN, 2018). No entanto, nada se sabe a respeito dos efeitos do TF na função do VE em animais SHR que foram tratados com DEX.

Sabendo que os SHR possuem HA e remodelamento cardíaco e que o tratamento com a DEX, isoladamente em animais normotensos, promove HA e remodelamento cardíaco, é possível hipotetizar que o tratamento com a DEX, em animais SHR, pioraria o processo de hipertrofia cardíaca. Além disso, se a HA e o remodelamento cardíaco estiverem agravados pela associação das condições, o TF em esteira, realizado antes e concomitante ao tratamento com DEX, poderia atenuar esse processo. Sendo assim, a relevância clínica desse projeto de pesquisa tem como base o cuidado com a prescrição da DEX, uma vez que pessoas hipertensas sedentárias podem ter um maior comprometimento da função cardíaca durante o tratamento com a DEX. No entanto, se forem pessoas ativas, podem ter este efeito atenuado.

1. HIPÓTESE

A hipótese desse trabalho foi que a DEX poderia exacerbar a pressão arterial dos SHR e piorar o processo de remodelamento cardíaco. Por outro lado, o TF, realizado antes e concomitante ao tratamento farmacológico, poderia ser capaz de atenuar esses efeitos prejudiciais da DEX

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do tratamento com a DEX e do TF aeróbio na PA e no processo de remodelamento cardíaco de ratos SHR.

2.1 Objetivos Específicos

1/ Determinar se a DEX aumentaria mais a PA em SHR e se este aumento estaria associado às alterações no balanço autonômico para o coração e atividade nervosa simpática para os vasos e/ou alterações na atividade barorreflexa espontânea;

2/ Determinar se os animais SHR apresentariam remodelamento cardíaco e se a DEX pioraria esse processo, pelo exame de ecocardiografia e análises histológicas;

3/ Determinar qual a influência do TF na PA, no balanço autonômico e no processo de remodelamento cardíaco induzido pela DEX em animais SHR.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 64 SHR, com idade de 12 semanas, provenientes do Instituto de Ciências Biomédicas da USP/SP. Vinte ratos normotensos (Wistar), provenientes do Centro de Pesquisa e Produção de Animais da UNESP / Botucatu, foram usados como controle, uma vez que os efeitos da DEX nestes animais já são conhecidos (HERRERA et al., 2016; HERRERA et al., 2017; CONSTANTINO et al., 2017; DUCHATSCH et al., 2018). Durante o protocolo experimental, os animais foram mantidos em gaiolas com até cinco animais, no Biotério de Manutenção da Faculdade de Ciências da UNESP, campus de Bauru, em ciclo claro-escuro de 12:12 horas e temperatura controlada de $22 \pm 2^\circ \text{C}$; ração e água foram fornecidas *ad libitum*. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências da UNESP, campus de Bauru (Processo nº 779/2017 Vol. 1) e estão de acordo com CONCEA.

3.1 Grupos Experimentais

Os animais foram divididos nos seguintes grupos e foram acompanhados durante 75 dias de protocolo experimental:

GRUPO 1 / W – 20 animais Wistar que permaneceram sedentários durante todo o período do experimento e receberam tratamento com salina nos últimos 15 dias;

GRUPO 2 / SC – 20 animais SHR que permaneceram sedentários durante todo o período do experimento e receberam tratamento com salina nos últimos 15 dias;

GRUPO 3 / SD – 20 animais SHR que permaneceram sedentários durante todo o período do experimento e receberam tratamento com DEX nos últimos 15 dias;

GRUPO 4 / TC – 12 animais SHR que realizaram o TF durante todo o período do experimento e receberam tratamento com salina nos últimos 15 dias;

GRUPO 5 / TD- 12 animais SHR que realizaram o TF durante todo o período do experimento e receberam tratamento com DEX nos últimos 15 dias.

3.3 Protocolo de Treinamento Físico

Os animais foram submetidos a um período de TF em esteira ergométrica durante uma hora por dia, 5 dias por semana, por 10 semanas, com intensidade de 60% da velocidade máxima atingida no teste máx., como previamente publicado (BAREL et al., 2010). Durante os 15 dias de tratamento com DEX ou salina, os animais treinados continuaram seu treinamento. O horário de TF foi sempre no período da manhã (9h da manhã) e, quando iniciaram o protocolo de tratamento farmacológico (9h da manhã), o treinamento foi feito logo após o tratamento.

3.4 Tratamento Farmacológico

Foi utilizado o fármaco Decadron injetável (fosfato dissódico de dexametasona – 4 mg/ml, ampola de 2,5 ml) do laboratório farmacêutico Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A (Guarulhos, SP, Brasil). Para cada animal foi administrada a dose de 50 µg/kg de peso corporal (PC) por dia, de forma subcutânea (*s.c.*), durante os últimos 15 dias, sempre no período da manhã (9h da manhã). Essa dose foi escolhida baseada em resultados previamente publicados pelo nosso grupo (HERRERA et al., 2016, 2017), os quais mostram que esta dose é capaz de induzir HA nos animais normotensos.

3.5 Determinação do Exame de Ecocardiografia¹

O exame de ecocardiografia foi feito no 14º dia de tratamento com a DEX, 24 horas após a última sessão de treino. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg, *i.p.*) e cloridrato de xilasina (1 mg/kg, *i.p.*). Posteriormente foi feita a tricotomia da região anterior do tórax e os mesmos foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. Foi utilizado equipamento da General Electric Medical Systems, modelo Vivid S6 (Tirat Carmel, Israel), com transdutor multifrequencial de 5 a 11,5 MHz. A avaliação dos fluxos transvalvar mitral e aórtico foi realizada com o mesmo transdutor operando em 5,0 MHz. A partir deste equipamento, as variáveis morfológicas e funcionais do coração foram obtidas de acordo com a metodologia previamente descrita (OKOSHI et al., 2002; FIORETTO et

¹ O exame de ecocardiografia foi realizado em parceria com o Prof. Dr. Katashi Okoshi, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, SP.

al., 2002; MOREIRA et al., 2009). As estruturas cardíacas foram medidas manualmente com o auxílio de um paquímetro de precisão, de acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography (SAHN et al., 1978) em pelo menos cinco ciclos cardíacos consecutivos. Os seguintes parâmetros foram avaliados: diâmetro diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do VE; espessura diastólica (EDPP) da parede posterior do VE; espessura diastólica (EDSIV) do septo interventricular e diâmetros da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE). A massa do VE foi calculada pela seguinte fórmula $[(DDVE + EDPP + EDSIV)^3 - DDVE^3] \times 1,04$, em que 1,04 representa a densidade específica do miocárdio (LITWIN et al., 1995). A espessura relativa do VE foi calculada a partir da fórmula $[(2 \times EDPP) / DDVE]$ (GANAU et al., 1992). A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices: 1) porcentagem de encurtamento endocárdico (% Enc. Endo): $[(DDVE - DSVE) / DDVE]$; 2) velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), que é a tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior; 4) velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral (onda S) obtida por Doppler tissular. Adicionalmente foi calculado o índice de performance miocárdica do VE (índice de Tei) (TEI et al., 1997). A função diastólica do VE foi analisada pelos seguintes índices: 1) razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; 2) tempo de desaceleração da onda E (TDE); 3) tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV); 4) pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral (E') e pico de velocidade de deslocamento diastólico tardio do anel mitral (A') obtidas por Doppler tissular; e 5) razão entre as ondas E e E' (E/E').

3.6 Determinação da Glicemia de Jejum

Após jejum noturno (14h) os animais foram suavemente contidos e as amostras de sangue foram obtidas a partir da cauda dos animais, como previamente publicado (DIONÍSIO et al., 2014). Os níveis foram determinados usando um sistema de glicosímetro digital (One Touch – Johnsons & Johnsons). Este procedimento foi realizado no 15º dia de tratamento, logo após os animais serem tratados com DEX ou salina (figura 1).

3.7 Determinação da Pressão Arterial

3.7.1 Confeção e implantação da cânula arterial

Para a confecção das cânulas foram utilizados tubos de polietileno PE-50 (Scientific Commodities Inc. Lake Havazu, AZ, Estados Unidos), os quais foram soldados a tubos de polietileno PE-10 (Scientific Commodities Inc Lake Havazu, AZ, Estados Unidos) como publicado por Amaral et al. (2000).

No dia seguinte ao exame de ecocardiografia (48h após a última sessão de treino), os animais foram anestesiados com Anasedan® (cloridrato de xilasina, 10 mg/Kg), e Dopalen® (cloridrato de cetamina, 50 mg/Kg), CEVA, Paulínia, SP, Brasil. Foi feita uma incisão no pescoço do animal e, após localizar a artéria carótida, foi feita uma pequena incisão na artéria para que fosse introduzida a parte mais fina da cânula, a qual foi preenchida com solução fisiológica heparinizada. A outra parte da cânula foi exteriorizada na região dorsal do animal. Após o término do procedimento foram aguardadas 24 horas para recuperação do animal (HERRERA et al., 2016).

3.7.2 Registro de pressão arterial e frequência cardíaca

No dia seguinte à cirurgia de implantação da cânula na artéria carótida (72h após a última sessão de treino), a PA pulsátil e a FC foram registradas continuamente nos ratos acordados, pela conexão da cânula da artéria carótida ao sistema de registro (transdutor e pré-amplificador, ADInstrumentst®, Colorado Springs, CO, Estados Unidos) conectado ao computador. PA pulsátil e a FC foram registradas utilizando o software LabChartPro v 7.0, como previamente publicado (HERRERA et al., 2016).

4.8 Análise Espectral

O registro da PA e do intervalo de pulso dos animais (15-30 minutos com frequência de amostragem de 2000 Hz) foram processados pelo software LabChartPro v7.0, ADInstruments, NSW, Austrália, que detecta os pontos de inflexão ciclo por ciclo no sinal da PA pulsátil, determinando os valores da pressão arterial sistólica (PAS) batimento por batimento. A variabilidade da FC e da PAS foram analisadas no domínio da frequência a

partir do software desenvolvido por Daniel Penteadó Martins Dias da Universidade de São Paulo (USP) (CardioSeries V2.7, <http://www.danielpenteadó.com>).

A análise da variabilidade da FC foi realizada por meio da decomposição do sistograma, pela Transformada Rápida de Fourier e a variabilidade da PAS a partir do tacograma do registro da PAS. A partir desses dados, a potência das bandas de baixa frequência (LF, 0,20-0,75 HZ) (SANCHES, 2012) e das bandas de alta frequência (HF, 0,75-3,0 HZ) foram determinadas, correspondendo respectivamente à atividade nervosa simpática e parassimpática (LF) e somente atividade nervosa parassimpática (HF) (DUCHATSCH et al., 2018). O balanço simpato-vagal foi analisado pela razão LF/HF (ISHISE et al., 1985).

4.9 Barorreflexo Espontâneo

A função barorreflexa espontânea foi analisada sem qualquer influência de drogas. Sendo assim, sua função foi analisada a partir das faixas fisiológicas das flutuações da PA, conforme já descrito por Costa-Ferreira e colaboradores (2016). Para isso, foram necessárias a avaliação batimento-a-batimento de duas variáveis: PAS e índice de pulso (IP), a partir do software Cardioseries v2.7. O software é capaz de identificar sequências de aumentos de PAS associados a aumentos de IP, chamada de sequência *up*, assim como diminuições da PAS associadas a encurtamentos do IP, denominada de sequência *down*. A atividade barorreflexa espontânea (*gain*) foi determinada com base na inclinação (ms/mmHg) da regressão linear entre a PAS e o IP.

4.10 Retirada do Ventrículo Esquerdo

Ao final do protocolo experimental, os animais foram eutanasiados por sobrecarga de anestésico Anasedan® (cloridrato de xilasina 20 mg/kg), CEVA e Dopalen® (cloridrato de cetamina 160 mg/kg), VETBRANDS do Brasil. Após a confirmação da eutanásia, o músculo cardíaco foi removido, lavado, pesado e suas câmaras foram separadas para a pesagem (átrios direito e esquerdo, ventrículo direito e VE). O VE foi removido, lavado com salina, pesado e foi utilizado para análise histológica (densidade capilar, diâmetro de miócitos e área de colágeno). A tíbia foi retirada, limpa e medida (cm) para normalização dos pesos de coração e as glândulas adrenais foram retiradas para a confirmação da eficácia do tratamento com a DEX.

4.11 Análises Morfométricas de Densidade Capilar, Diâmetro de Miócitos e Análise de Colágeno

Foi realizado um corte transversal no VE e o mesmo foi fixado em solução de paraformoldeído 4% tamponado durante 24 horas. Em seguida, os tecidos foram lavados em álcool 70% para retirada do fixador. As amostras foram então destinadas para inclusão em Paraplast (Sigma, EUA), na qual passaram por um processo de desidratação com etanol com as concentrações de 95% (2x de 30 minutos) e 100% (3x de 30 minutos). Em seguida, passaram por uma etapa denominada diafanização, na qual as amostras receberam xilol (3x de 30 minutos). Em uma próxima etapa, as amostras foram submetidas ao processo de infiltração e inclusão. Processo esse que as amostras passam 3x de 30 minutos em vidros que contém paraplast, em estufa de 57-60°. Posteriormente foram emblocados e foram colocados em temperatura ambiente. Dos blocos foram feitos cortes histológicos, os quais foram seccionados em cortes transversais (5 ou 7 μm , dependendo da técnica de coloração) em micrótomo manual, utilizando navalhas descartáveis e foram colocados em lâminas. As lâminas com secções de 5 μm foram destinadas para rotinas de coloração com Hematoxilina-eosina (HE) para identificação de densidade capilar e diâmetro de miócitos (HERRERA et al., 2016). As lâminas com secções de 7 μm foram destinadas para rotinas histológicas de coloração com Picrosíríus Red, para quantificar a densidade de colágeno (CURY et al., 2018). Em cada lâmina foram colocados pelo menos 3 cortes (3-6) e, de cada corte foram feitas 3 fotos, totalizando 9 a 12 imagens por VE de cada rato.

Todas as imagens foram capturadas utilizando câmera Leica MC170 HD, acoplada ao microscópio Leica DM4 B (aumento de 20 a 40x). A análise (*off-line*) foi realizada usando software ImageJ. Nas fotos com aumentos de 40X e coloração com HE, foram identificados os miócitos (em rosa) e os núcleos dos capilares e de cada miócito em roxo. Em imagens transversais foi possível realizar a contagem no número de capilares. A densidade capilar foi obtida pela média da contagem da quantidade de capilares identificados nas fotos, dividida pela área da imagem (0,055488 μm^2). Em seguida, a área foi normalizada em mm^2 e a densidade foi demonstrada em número de capilares/ mm^2 (ROSSONI et al., 2011). Para análise de diâmetro de miócitos foram utilizadas imagens longitudinais. Para cada miócito foi feito o reconhecimento do núcleo e das membranas limitantes entre um miócito e outro. Foi traçada uma linha reta entre as membranas que passasse pelo núcleo. A medida em μm foi utilizada como diâmetro dos miócitos (ROSSONI et al., 2011). As fotos longitudinais,

com aumentos de 20X e coloração de picrossírius red, foram identificados os miócitos (em amarelo) e as fibras de colágeno (em vermelho). A quantificação da área de colágeno e a % de área de colágeno foi realizada automaticamente pelo software Image J, a partir da detecção de coloração vermelha numa determinada área (CURY et al., 2018).

4.12 Métodos Estatísticos

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Para as amostras com distribuição normal foram utilizados testes paramétricos (Two Way-ANOVA ou teste *t-Student*) e para as amostras com distribuição anormal foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. O teste de correlação de Spearman para dados não paramétricos foi usado para associar parâmetros funcionais e morfométricos. As amostras que apresentaram diferenças significativas foram analisadas pelo post-hoc de Tukey ($p < 0,05$).

Antes do estudo foi feita uma pesquisa com o intuito de fazer o cálculo amostral e conhecer o tamanho do efeito, para a escolha do número de animais para esta pesquisa, através do programa G*Power (versão 3.1.9.2; Düsseldorf, Alemanha). Esse cálculo se baseou nos resultados encontrados no estudo de Herrera et al. (2016), na qual foi levado em consideração o valor da PAS que estava alterado em animais normotensos tratados com DEX. Através dos valores obtidos com esse estudo, o número amostral para a presente pesquisa foi um número de 9 animais por grupo, com um tamanho de efeito de 1,87. Como o procedimento de canulação da artéria carótida leva alguns animais ao óbito, foi aumentado o número solicitado pelo cálculo amostral. Após os experimentos foi feito um pós teste usando o tamanho da amostra, juntamente com as médias e desvios-padrão encontrado em cada grupo, para conhecer o poder do teste e o tamanho do efeito.

4. RESULTADOS

Pode-se observar na Tabela 1 que ambos os grupos (W e SC) apresentaram ganho de PC de 18% e 16%, respectivamente durante o protocolo experimental. Os animais hipertensos (SC) possuíam PC significativamente menor (16%), quando comparados aos W, no início do protocolo experimental. Essa diferença do PC entre os animais SC e W se manteve até o final do protocolo experimental, ou seja, os animais SC apresentaram PC 17% menor que os W.

Tabela 1. Valores de peso corporal obtidos no início e final do protocolo experimental nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SHR)

	W	SC
PC INICIAL (g)	327,95 ± 5,388	276,45 ± 6,390 #
PC FINAL (g)	386,556 ± 5,046	319,9 ± 7,226 #

Peso Corporal (PC), no grupo wistar (W, n=20) e SHR sedentário controle (SC, n=20). Significância: # vs W; p<0,05.

Em relação aos grupos de SHR, foi feito o acompanhamento do PC durante todo o protocolo de treinamento e tratamento. Pode-se observar na Figura 2 que, durante o período de TF prévio ao tratamento, todos os animais ganharam peso de forma similar.

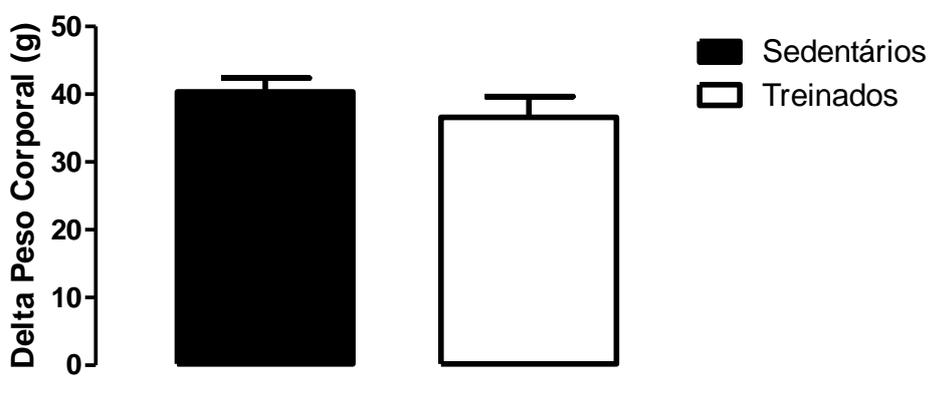


Figura 2: Valores do delta do peso corporal nos grupos SHR sedentários (n=43) e treinados (n=22).

Em relação ao PC durante o tratamento com a DEX, a Figura 3 mostra que os animais SHR que receberam tratamento com a DEX (SD e TD) apresentaram uma redução significativa de PC, quando comparados aos seus respectivos controles (SC e TC, respectivamente).

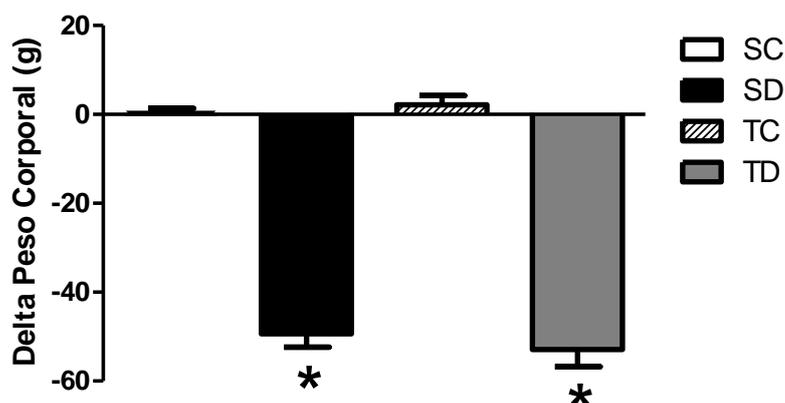


Figura 3: Valores do delta do peso corporal nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com DEX (SD, n=22), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs respectivo controle; $p < 0,05$.

A Figura 4 mostra que os animais SHR que foram submetidos ao protocolo de TF apresentaram aumento da capacidade física, quando comparados aos animais que permaneceram sedentários, representada pelo aumento do tempo do teste máximo.

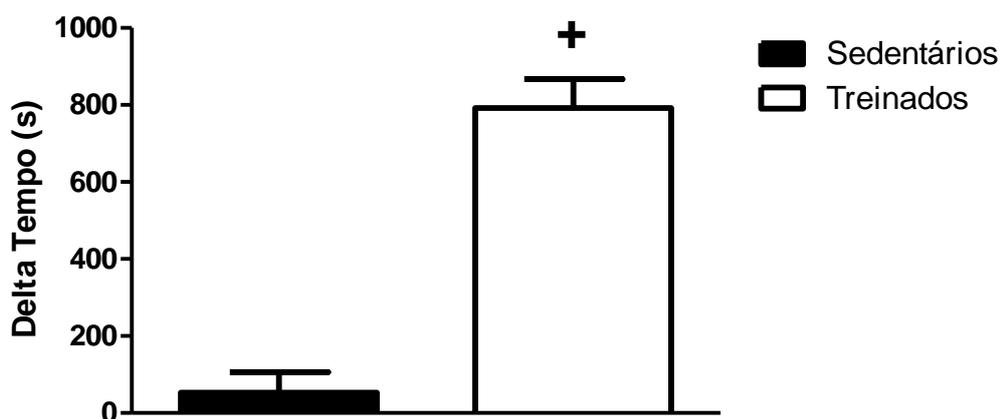


Figura 4: Valores do delta de tempo do teste máximo em segundos nos grupos SHR sedentários (n=44) e treinados (n=22). Significância: + vs sedentário; $p < 0,05$.

Tabela 2 mostra que os valores de glicemia de jejum entre os grupos W e SC não apresentaram diferença significativa.

Tabela 2. Valores de glicemia de jejum entre os grupos normotensos (W) e SHR sedentários (SC).

	W	SC
GLICOSE SANGUÍNEA (mg/dL)	76,78 ± 2,32	71,1 ± 2,21

Wistar (W, n=18) e SHR sedentário controle (SC, n=20).

A glicemia de jejum avaliada nos grupos SHR e demonstrada na Figura 5, não apresentou qualquer diferença significativa entre os grupos (71,1 ± 2,21; 76,48 ± 2,73; 75,82 ± 3,22; 82,91 ± 2,51 mg/dL, para SC, SD, TC e TD, respectivamente).

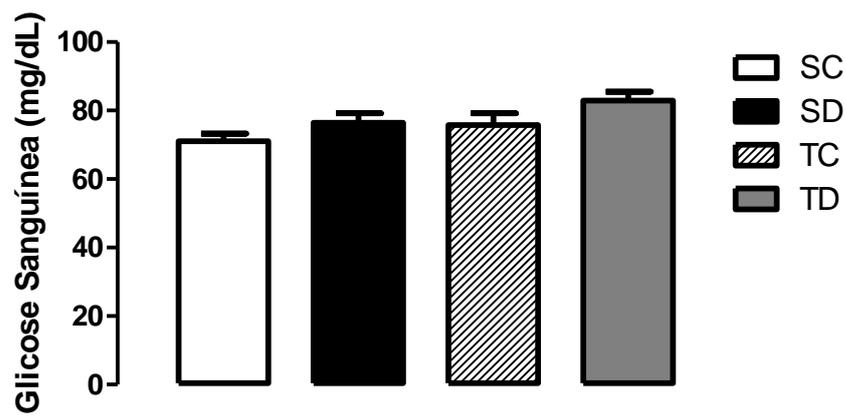


Figura 5: Valores de glicemia de jejum avaliada em todos os grupos SHR: sedentário controle (SC, n=20), sedentário tratado com DEX (SD, n=21), treinado controle (TC, n=12) e treinado tratado com DEX (TD, n=12).

Pode-se observar, na Tabela 3, que os animais SC possuíam valores de PAS (+72%), pressão arterial diastólica (PAD) (+59%) e pressão arterial média (PAM) (+76%) mais elevadas, quando comparadas aos W. Já o resultado de FC foi semelhante entre os grupos. Em relação aos resultados da análise espectral (Tabela 3), não houve alteração significativa nas ondas de baixa frequência (LF- componente simpático e parassimpático), nas ondas de alta frequência (HF- componente parassimpático) e, portanto, na razão LF/HF (balanço autonômico para o coração). Apesar disso, pode-se observar um aumento da atividade simpática para os vasos nos SHR (LF ABS, + 670%), quando comparados aos W. Ainda na Tabela 3, pode-se observar que as respostas de sensibilidade do barorreflexo espontâneo não eram diferentes entre os animais W e SC.

Tabela 3. Valores hemodinâmicos, de balanço autonômico e atividade barorreflexa espontânea entre os animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).

	W	SC
HEMODINÂMICA		
PAS (mmHg)	121,5 ± 4,593	209,403 ± 6,878 #
PAD (mmHg)	108,099 ± 4,961	171,942 ± 9,667 #
PAM (mmHg)	104,955 ± 9,254	184,404 ± 8,387 #
FC (bpm)	333,772 ± 13,772	337,578 ± 12,743
ANÁLISE ESPECTRAL		
LF (nu)	16,2 ± 1,878	24,615 ± 3,541
HF (nu)	83,8 ± 1,878	75,384 ± 3,541
LF/HF	0,224 ± 0,038	0,486 ± 0,176
LF ABS (mmHg²)	1,341 ± 0,460	10,323 ± 2,252 #
BARORREFLEXO ESPONTÂNEO		
UP GAIN	1,299 ± 0,183	0,698 ± 0,084
DOWN GAIN	1,411 ± 0,209	0,710 ± 0,096
ALL GAIN	1,367 ± 0,199	0,715 ± 0,080

Pressão Arterial Sistólica (PAS); Pressão Arterial Diastólica (PAD); Pressão Arterial Média (PAM); Frequência Cardíaca (FC); Banda de Baixa Frequência (LF); Banda de Alta Frequência (HF); Razão LF/HF; Banda de Baixa Frequência Absoluta (LF ABS); Resposta Bradicárdica Reflexa Espontânea (*UP GAIN*); Resposta Taquicárdica Reflexa Espontânea (*DOWN GAIN*); Atividade Barorreflexa Espontânea (*ALL GAIN*), no grupo wistar (W, n=20) e SHR sedentário controle (SC, n=20), significância: # vs W; p<0,05.

A Figura 6 ilustra os resultados hemodinâmicos dos grupos SHR no final do período experimental. Pode-se observar que o tratamento com a DEX não exacerbou os valores da PAS (201 ± 13 vs 209 ± 7 mmHg, para SD e SC, respectivamente), PAD (164 ± 11 vs 172 ± 10 mmHg, para SD e SC, respectivamente) e PAM (176 ± 11 vs 184 ± 8 mmHg, para SD e SC, respectivamente). Porém, o TF foi capaz de reduzir em 20% a PAS (166 ± 6 vs 209 ± 7 mmHg, para TC e SC, respectivamente – poder do teste=0,98 e tamanho do efeito=2,12), em 22% a PAD (134 ± 9 vs 172 ± 10 mmHg, para TC e SC, respectivamente) e em 21% a PAM (145 ± 7 vs 184 ± 8 mmHg, para TC e SC, respectivamente) nos SHR treinados controles.

O TF nos animais tratados com DEX foi capaz, também, de reduzir em 16% a PAS (168 ± 6 vs 201 ± 13 mmHg, para TD e SD, respectivamente), 19% a PAD (133 ± 5 vs 164 ± 11 mmHg, para TD e SD, respectivamente) e 18% a PAM (144 ± 5 vs 176 ± 11 mmHg, para TD e SD, respectivamente). Nem o tratamento, nem o treinamento foram capazes de alterar significativamente a FC dos grupos SHR avaliados, como demonstrado na Figura 6.

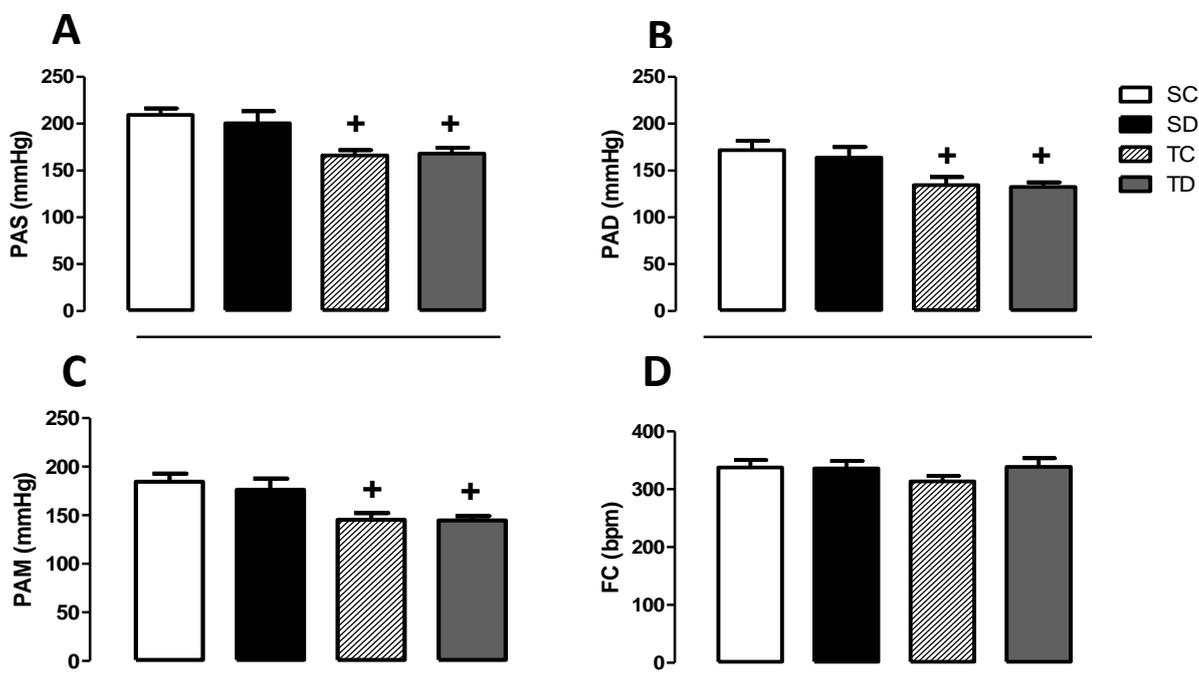


Figura 6: Valores da pressão arterial sistólica (PAS/Painel A), pressão arterial diastólica (PAD/Painel B), pressão arterial média (PAM/Painel C) e frequência cardíaca (FC/Painel D) nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=13), sedentário tratado com DEX (SD, n=15), treinado controle (TC, n=6) e treinado tratado com DEX (TD, n=9). Significância: + vs respectivos sedentários; $p < 0,05$.

A atividade simpática-parassimpática (LF) nos grupos SHR está demonstrada na Figura 7A e não apresenta qualquer alteração significativa entre os grupos ($24,615 \pm 3,541$; $29,666 \pm 5,595$; $17 \pm 2,121$; $21,714 \pm 2,661$ nu, para SC, SD, TC e TD, respectivamente). Da mesma forma, a atividade parassimpática - HF ($75,384 \pm 3,541$; $70,333 \pm 5,595$; $83 \pm 2,212$; $78,285 \pm 2,661$ nu, para SC, SD, TC e TD, respectivamente), balanço autonômico- LF/HF ($0,486 \pm 0,176$; $0,602 \pm 0,204$; $0,222 \pm 0,034$; $0,305 \pm 0,044$, para SC, SD, TC e TD, respectivamente) e atividade simpática para os vasos - LF abs ($10,323 \pm 2,252$; $31,226 \pm 25,882$; $5,382 \pm 1,615$; $12,265 \pm 9,457$ mmHg², para SC, SD, TC e TD, respectivamente), como pode ser observado na Figura 7 (B, C e D, respectivamente). Porém, é importante ressaltar algumas alterações estatisticamente não significativas, contudo com relevância clínica, que ocorreram após TF. No grupo treinado controle houve redução de 31% da atividade simpática-parassimpática (A), aumento de 10% na atividade parassimpática (B) e aumento de 54% no LF/HF (C) e redução da atividade simpática para os vasos em 48% (D), quando comparados aos animais SC. O mesmo aconteceu com os animais treinados e tratados com DEX: redução de 27% no LF (A), aumento de 11% no HF (B), aumento de 49% no LF/HF (C) e redução da atividade simpática para os vasos em 61% (D), quando comparados aos animais SD.

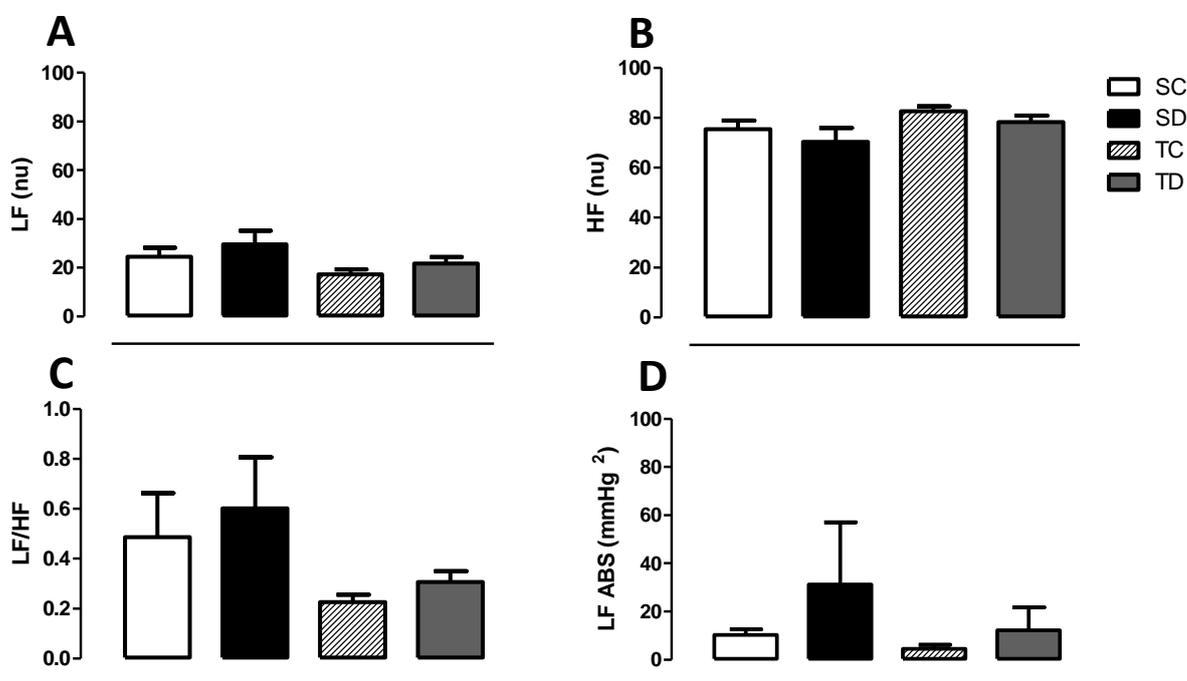


Figura 7: Valores de bandas de baixa frequência (LF/Painel A), bandas de alta frequência (HF/Painel B), razão LF/HF (LF/HF/Painel C) e bandas de baixa frequência para os vasos (LF ABS/Painel D) nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=13), sedentário tratado com DEX (SD, n=9), treinado controle (TC, n=6) e treinado tratado com DEX (TD, n=7).

Os valores referentes à variável que representa a atividade barorreflexa espontânea (*gain*) foi semelhante entre os grupos SHR e está demonstrada na Figura 8. O painel A representa os valores de bradicardia reflexa espontânea (*up*, $0,698 \pm 0,084$; $0,965 \pm 0,135$; $0,786 \pm 0,130$ e $0,949 \pm 0,152$, para SC, SD, TC e TD, respectivamente), o painel B representa os valores de taquicardia reflexa espontânea (*down*, $0,710 \pm 0,096$; $1,056 \pm 0,160$; $0,828 \pm 0,187$ e $0,980 \pm 0,148$, para SC, SD, TC e TD, respectivamente) e o painel C representa a atividade barorreflexa espontânea (*all*, $0,715 \pm 0,080$; $1,019 \pm 0,144$; $0,852 \pm 0,168$ e $0,968 \pm 0,145$, para SC, SD, TC e TD, respectivamente).

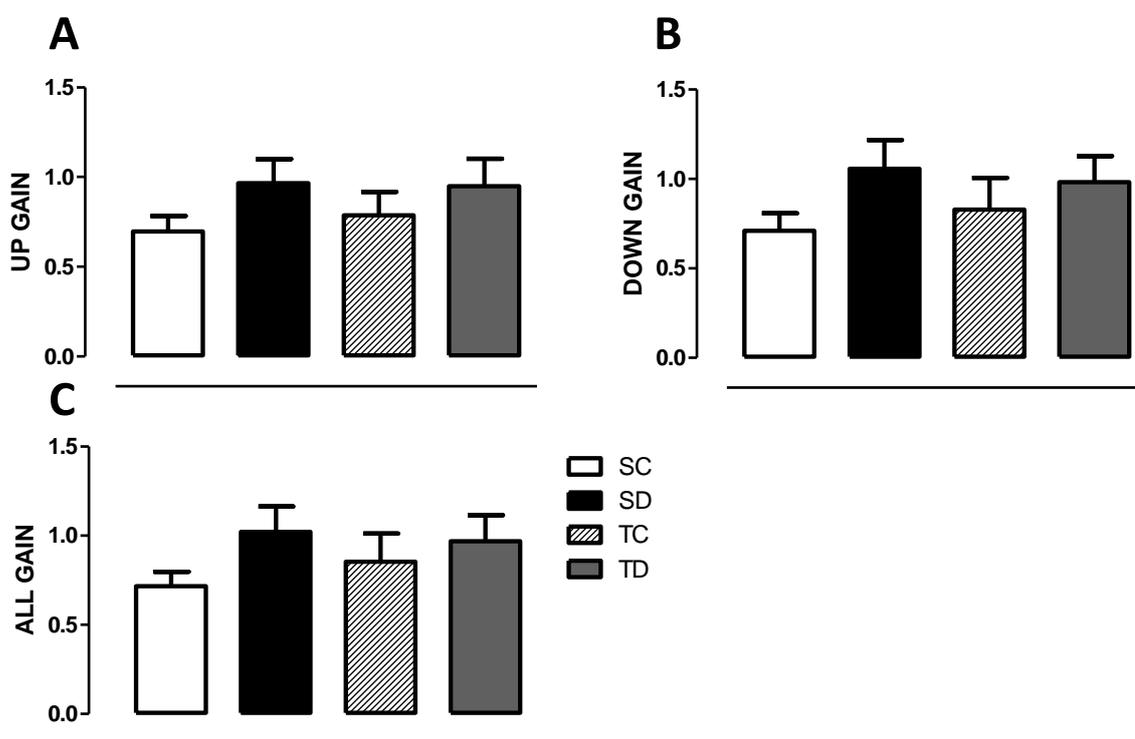


Figura 8: Valores de *up gain* (Painel A), *down gain* (Painel B) e *all gain* (Painel C), nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=12), sedentário tratado com DEX (SD, n=13), treinado controle (TC, n=8) e treinado tratado com DEX (TD, n=8).

Pode-se observar na Tabela 4 que os animais SHR sedentários possuíam menor tamanho de tíbia (-11%) quando comparados aos animais W, o que inviabilizou a normalização dos pesos do coração por esta unidade. Portanto os valores foram normalizados pelo PC. Pode-se observar que a massa do coração (g/100g) dos SHR SC foi 25% maior que a dos animais W. Da mesma forma, a massa muscular dos átrios (direito e esquerdo) e do VE também estava maior nos SC quando comparada a dos W (+22% e +35%, para átrios e VE, respectivamente). O ventrículo direito (VD) dos animais SC não apresentou massa diferente que a dos W. Os valores de peso da glândula adrenal (absoluto e normalizado pelo PC) eram menores nos SC (-18%), quando comparados aos W.

Tabela 4. Massa do coração, átrios, ventrículos e adrenais dos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).

	W	SC
PC (g)	393 ± 7,207	313,5 ± 12,288 #
TÍBIA (cm)	4,466 ± 0,062	3,99 ± 0,034 #
CORAÇÃO (g)	1,113 ± 0,016	1,105 ± 0,032
CORAÇÃO/PC (g/100 g)	0,283 ± 0,004	0,354 ± 0,006 #
A (D-E) (g)	0,092 ± 0,005	0,088 ± 0,004
A (D-E)/PC (g/100 g)	0,023 ± 0,001	0,028 ± 0,001 #
VD (g)	0,248 ± 0,009	0,208 ± 0,009 #
VD/PC (g/100 g)	0,063 ± 0,003	0,066 ± 0,002
VE (g)	0,759 ± 0,021	0,815 ± 0,029
VE/PC (g/100g)	0,193 ± 0,003	0,260 ± 0,003 #
ADRENAL (g)	0,044 ± 0,002	0,028 ± 0,000 #
ADRENAL/PC (g/100g)	0,011 ± 0,000	0,009 ± 0,000 #

Peso Corporal (PC); Átrio Direito e Esquerdo [A(D-E)]; Ventrículo Direito (VD); Ventrículo Esquerdo (VE).
Significância: # vs W; p<0,05.

Na figura 9 estão as imagens representativas do exame ecocardiográfico, cujos resultados estão descritos a seguir.

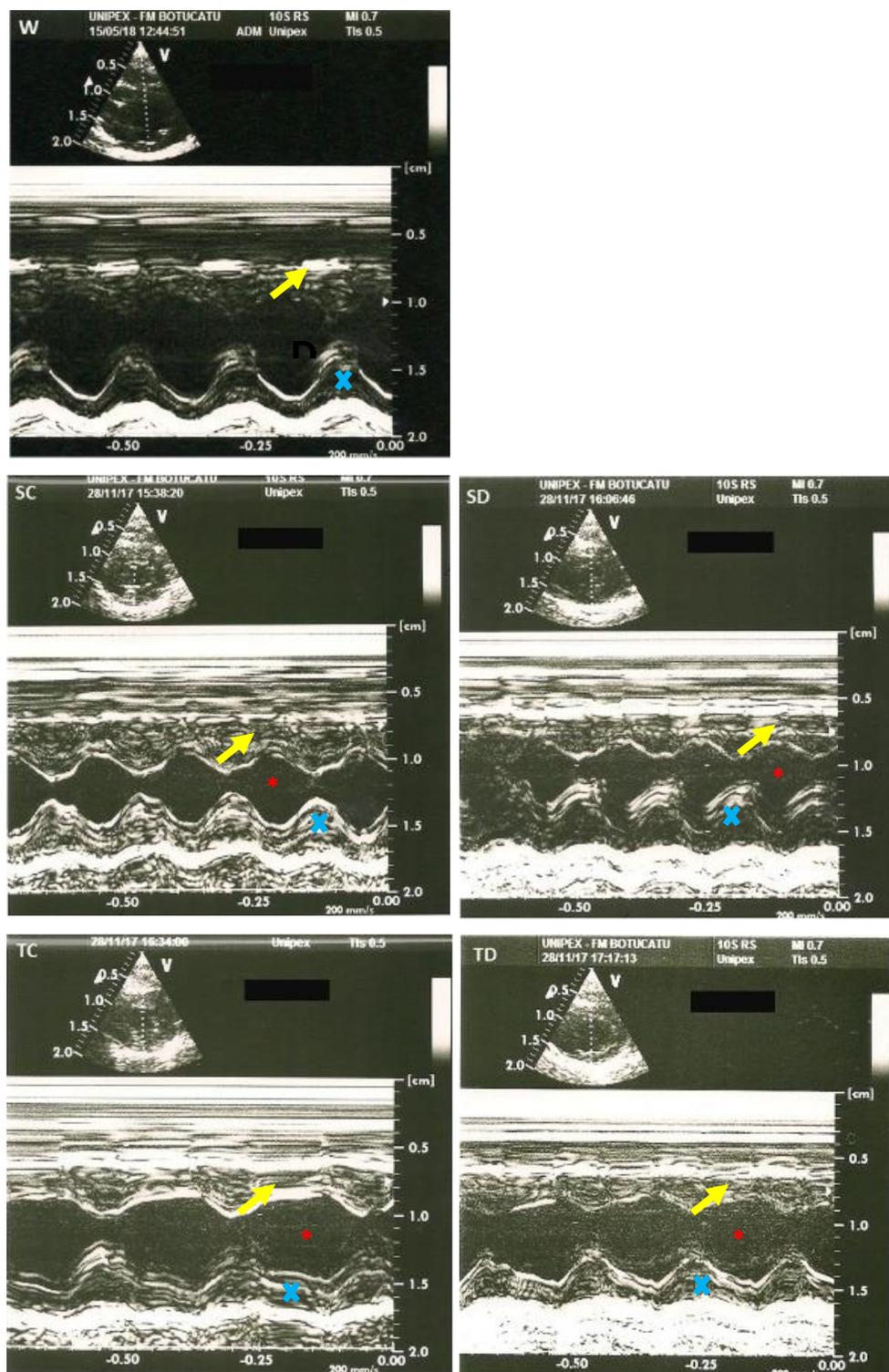


Figura 9: Imagens representativas do exame ecocardiográfico dos grupos Wistar (W), e dos grupos SHR sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Na imagem está representado o septointerventricular (↑), a cavidade do VE (*) e a parede posterior do VE (X).

Quanto às variáveis obtidas no exame ecocardiográfico, pode-se observar, na Tabela 5, que os animais SHR (SC) possuíam alguns resultados de função e morfométricos diferentes dos animais W. Com relação aos parâmetros estruturais do coração, os animais SC possuíam menor diâmetro diastólico do VE (DDVE, -11%) assim como menor diâmetro sistólico do VE (DSVE, -11%), quando comparados aos animais W. A espessura diastólica da parede posterior do VE (EDPP) e espessura diastólica do septo interventricular (EDSIV) estavam maiores nos animais SC (+15% e +15%, para EEDPP e EDSIV, respectivamente) em comparação os animais W. Porém, as variáveis diâmetro da aorta (AO), diâmetro do átrio esquerdo (AE) e a razão AE/AO não apresentaram nenhuma alteração significativa entre os grupos. Os dados de DDVE normalizado pelo PC (DDVE/PC) e os dados de AE normalizado pelo PC (AE/PC) estavam significativamente maiores nos SC, comparados aos W (+14% e +28%, para DDVE/PC e AE/PC, respectivamente). Em relação à massa do VE, não houve nenhuma alteração significativa. Diferentemente, o índice de massa do VE (ÍND. MVE) apresentou um aumento de 27% e a espessura relativa do VE (ESP. REL. VE) estava aumentada nos ratos hipertensos em 28%, em relação aos W.

Tabela 5. Parâmetros ecocardiográficos estruturais do coração nos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).

	W	SC
DDVE (mm)	8,007 ± 0,132	7,153 ± 0,096 #
DSVE (mm)	3,848 ± 0,123	3,449 ± 0,126 #
EDPP (mm)	1,333 ± 0,016	1,530 ± 0,012 #
EDSIV (mm)	1,335 ± 0,017	1,536 ± 0,011 #
AO (mm)	3,923 ± 0,030	3,946 ± 0,063
AE (mm)	5,599 ± 0,063	5,641 ± 0,131
AE/AO	1,427 ± 0,013	1,428 ± 0,021
DDVE/PC (mm/kg)	19,414 ± 0,316	22,083 ± 0,391 #
AE/PC (mm/kg)	13,577 ± 0,182	17,354 ± 0,317 #
MASSA VE (g)	0,734 ± 0,023	0,732 ± 0,019
ÍND. MVE (g/kg)	1,777 ± 0,048	2,253 ± 0,048 #
ESP. REL. VE	0,334 ± 0,00	0,429 ± 0,00 #

Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo (DDVE); Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo (DSVE); Espessura Diastólica da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo (EEDPP); Espessura Diastólica do Septo Interventricular (EDSIV); Diâmetro da Aorta (AO); Diâmetro do Átrio Esquerdo (AE); Razão AE/AO; Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo/Peso Corporal (DDVE/PC); Diâmetro do Átrio Esquerdo/Peso Corporal (AE/PC); Massa do Ventrículo Esquerdo (MASSA VE); Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo (ÍND. MVE); Espessura Relativa do Ventrículo Esquerdo (ESP. REL. VE), no grupo wistar (W, n=20) e sedentário controle (SC, n=20), significância: # vs W; p<0,05.

Em relação aos parâmetros de função sistólica e de desempenho do VE (Tabela 6), os resultados mostram que a % de encurtamento endocárdico (%ENC.ENDO) não apresentou qualquer alteração significativa entre os grupos. A velocidade de encurtamento da parede posterior do VE (VEPP) estava diminuída em 15% nos SHR. TEI INDEX e a fração de ejeção (FRAÇÃO DE EJE.) não eram diferentes entre os grupos. A onda sistólica do anel mitral lateral (S LATERAL) estava menor em 18% nos SHR, quando comparados aos animais W. A variável onda sistólica do anel mitral septal (S SEPTAL) não estava alterada, mas a onda S MÉDIA estava diminuída em 12% nos animais SHR, quando comparada aos W.

Tabela 6. Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica e desempenho do VE nos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).

	W	SC
% ENC. ENDO	52,058 ± 1,019	51,922 ± 1,458
VEPP (mm/s)	41,045 ± 1,042	34,838 ± 1,128 #
TEI INDEX	0,491 ± 0,014	0,502 ± 0,013
FRAÇÃO DE EJE	0,887 ± 0,007	0,883 ± 0,009
S LATERAL (cm/s)	3,963 ± 0,112	3,233 ± 0,094 #
S SEPTAL (cm/s)	3,652 ± 0,071	3,476 ± 0,068
S MÉDIA (cm/s)	3,807 ± 0,070	3,354 ± 0,058 #

% de Encurtamento Endocárdico (%ENC. ENDO); Velocidade de Encurtamento da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo (VEPP); Índice de Performance Miocárdica (TEI INDEX); Fração de Ejeção (FRAÇÃO DE EJE.); Onda Sistólica do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular) (S LATERAL); Onda Sistólica do Anel Mitral Septal (Doppler tissular) (S SEPTAL); Média das velocidades sistólicas máximas de deslocamento das paredes lateral e septal do anel mitral (S MÉDIA), no grupo wistar (W, n=20) e sedentário controle (SC, n=20), significância: # vs W; p<0,05.

Nos parâmetros de função diastólica do VE (Tabela 7) observou-se aumento de 12% na onda E do fluxo transmitral (E MITRAL) no grupo SC, comparado ao W. Porém, a onda A do fluxo transmitral (A MITRAL) e a razão E/A não apresentaram nenhuma diferença entre os grupos. O tempo de relaxamento isovolumétrico do VE (TRIV) estava aumentado em 16% nos SC, enquanto o tempo de desaceleração da onda E mitral (TDE) estava diminuído em 13% e o TRIV, normalizado para a FC, (TRIV/R-R) estava 16% maior nos animais SHR, comparados aos W. A onda diastólica inicial do anel mitral lateral (E' LATERAL) estava 18% menor nos SHR, quando comparada aos animais W. As variáveis de onda diastólica tardia do anel mitral lateral (A' LATERAL), a onda diastólica inicial do anel mitral septal (E' SEPTAL) e a onda diastólica tardia do anel mitral septal (A' SEPTAL) eram semelhantes entre os grupos, assim como a onda E' MÉDIA e a onda A' MÉDIA. A razão E/E' estava 26% aumentada nos animais SHR SC, comparada aos W, conforme demonstrado (tabela 7).

Tabela 7. Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica do VE nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).

	W	SC
E MITRAL (cm/s)	77,176 ± 1,622	86,111 ± 3,250 #
A MITRAL (cm/s)	47,941 ± 1,933	51,611 ± 3,967
E/A	1,643 ± 0,062	1,814 ± 0,126
TRIV (ms)	25,105 ± 0,868	29,285 ± 0,478 #
TDE (ms)	50,357 ± 1,914	43,933 ± 1,952 #
TRIV/R-R	54,826 ± 1,214	63,681 ± 1,271 #
E' LATERAL (cm/s)	4,258 ± 0,135	3,51 ± 0,184 #
A' LATERAL (cm/s)	4,405 ± 0,317	3,67 ± 0,221
E' SEPTAL (cm/s)	3,9 ± 0,156	4,035 ± 0,187
A' SEPTAL (cm/s)	4,147 ± 0,330	3,6 ± 0,222
E' MÉDIA (cm/s)	4,079 ± 0,130	3,772 ± 0,162
A' MÉDIA (cm/s)	4,276 ± 0,311	3,635 ± 0,215
E/E'	19,098 ± 0,455	24,053 ± 0,930 #

Onda E do Fluxo Transmitral (E MITRAL); Onda A do Fluxo Transmitral (A MITRAL); Razão E/A; Tempo de Relaxamento Isovolumétrico do Ventrículo Esquerdo (TRIV); Tempo de Desaceleração da Onda E Mitral (TDE); TRIV Normalizado para a Frequência cardíaca (TRIV/R-R); Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular) (E' LATERAL); Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular) (A' LATERAL); Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Septal (Doppler tissular) (E' SEPTAL); Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Septal (Doppler tissular) (A' SEPTAL); Média da Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Lateral e Septal (E' MÉDIA); Média da Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Lateral e Septal (A' MÉDIA); Razão E/E', no grupo wistar (W, n=20) e sedentário controle (SC, n=20), significância: # vs W; p<0,05.

Pode-se observar na Tabela 8, entre os animais SHR, que o grupo TD apresentou um aumento de 12% na massa do coração, quando comparado ao grupo SD. Os animais TC também apresentaram aumento na massa do coração em 10%, quando comparados aos animais SC. Os átrios (direito e esquerdo) dos animais TD aumentaram 9%, quando comparados aos SD. O VD não apresentou qualquer alteração significativa entre os grupos. Por outro lado, o VE estava aumentado no grupo TD em 14% quando comparado aos animais SD. Além disso, os animais TC apresentaram aumento de 9%, quando comparados aos animais SC. O peso da glândula adrenal (ADRENAL) estava diminuída no tratamento com a DEX (-34% SD vs SC e -36% TD vs TC), como pode ser visto na Tabela 8.

Tabela 8. Massa do coração, átrios, ventrículos e adrenais dos animais SHR.

	SC	SD	TC	TD
TÍBIA (cm)	3,99 ± 0,034	3,406 ± 0,071	3,9 ± 0,046	3,936 ± 0,052
CORAÇÃO (g)	1,105 ± 0,032	1,057 ± 0,020	1,191 ± 0,033	1,146 ± 0,019 ⁺
CORAÇÃO/TÍBIA (g/cm)	277,407 ± 8,867	261,249 ± 6,744	305,825 ± 9,011 ⁺	291,739 ± 5,700 ⁺
A (D-E) (g)	0,088 ± 0,004	0,075 ± 0,003	0,086 ± 0,004	0,084 ± 0,002 ⁺
A (D-E)/TÍBIA (g/cm)	22,070 ± 1,062	19,558 ± 0,746	22,065 ± 1,255	21,357 ± 0,453 ⁺
VD (g)	0,208 ± 0,009	0,205 ± 0,007	0,216 ± 0,019	0,202 ± 0,010
VD/TÍBIA (g/cm)	52,093 ± 2,206	50,589 ± 1,843	55,544 ± 5,225	51,461 ± 2,999
VE (g)	0,815 ± 0,029	0,762 ± 0,014	0,872 ± 0,021	0,843 ± 0,016 ⁺
VE/TÍBIA (g/cm)	204,569 ± 7,436	188,523 ± 5,405	224,065 ± 5,905 ⁺	214,435 ± 4,509 ⁺
ADRENAL (g)	0,028 ± 0,000	0,019 ± 0,001 [*]	0,026 ± 0,001	0,017 ± 0,000 [*]
ADRENAL/TÍBIA (g/cm)	7,226 ± 0,189	4,783 ± 0,329 [*]	6,806 ± 0,367	4,347 ± 0,232 [*]

Peso Corporal (PC); Átrio Direito e Esquerdo [A(D-E)]; Ventrículo Direito (VD); Ventrículo Esquerdo (VE); nos grupos SHR: sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs controle, + vs sedentário; p<0,05.

A análise ecocardiográfica dos grupos SHR demonstra que nos parâmetros estruturais do coração não houve nenhuma alteração significativa nas variáveis DDVE e DSVE, como pode ser observada na Tabela 9. A variável EDPP estava diminuída em 16% nos animais TD, quando comparada aos animais TC. A variável EDSIV, no grupo TD, estava diminuída em 7%, quando comparada ao SD e em 16% quando comparada ao TC. As variáveis AO, AE e a razão AE/AO não apresentaram alterações significativas. Porém, a razão DDVE/PC estava aumentada após o tratamento com a DEX em 14% no grupo SD e 18% no grupo TD, quando comparada aos seus respectivos controles (SC e TC). O mesmo aconteceu com a razão AE/PC, pois o tratamento com a DEX refletiu em aumento de 11% no grupo SD e 15% no grupo TD, quando comparada ao SC e TC, respectivamente. A massa do VE estava diminuída no grupo TD, quando comparada a dos grupos SD (-10%) e TC (-15%). Diferentemente, a variável IND MVE não apresentou nenhuma alteração significativa. A ESP REL VE estava diminuída nos animais TD em 8%, quando comparada aos animais SD.

Tabela 9. Parâmetros ecocardiográficos estruturais do coração dos animais SHR.

	SC	SD	TC	TD
DDVE (mm)	7,153 ± 0,096	7,385 ± 0,136	7,045 ± 0,160	7,367 ± 0,102
DSVE (mm)	3,449 ± 0,126	3,711 ± 0,131	3,199 ± 0,129	3,649 ± 0,120
EDPP (mm)	1,530 ± 0,012	1,471 ± 0,048	1,627 ± 0,019	1,368 ± 0,024 *
EDSIV (mm)	1,536 ± 0,011	1,477 ± 0,048	1,627 ± 0,019	1,368 ± 0,024 *+
AO (mm)	3,946 ± 0,063	3,883 ± 0,042	3,987 ± 0,077	4,033 ± 0,069
AE (mm)	5,641 ± 0,131	5,603 ± 0,091	5,672 ± 0,086	5,782 ± 0,082
AE/AO	1,428 ± 0,021	1,443 ± 0,021	1,428 ± 0,035	1,435 ± 0,018
DDVE/PC (mm/kg)	22,083 ± 0,391	25,206 ± 0,325 *	21,235 ± 0,392	25,114 ± 0,650 *
AE/PC (mm/kg)	17,354 ± 0,317	19,199 ± 0,402 *	17,174 ± 0,524	19,703 ± 0,468 *
MASSA VE (g)	0,732 ± 0,019	0,727 ± 0,022	0,773 ± 0,021	0,657 ± 0,018 *+
ÍND. MVE (g/kg)	2,253 ± 0,048	2,494 ± 0,094	2,328 ± 0,049	2,242 ± 0,082
ESP. REL. VE	0,429 ± 0,00	0,406 ± 0,024	0,465 ± 0,015	0,372 ± 0,009 *

Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo (DDVE); Diâmetro Sistólico do Ventrículo Esquerdo (DSVE); Espessura Diastólica da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo (EEDPP); Espessura Diastólica do Septo Interventricular (EDSIV); Diâmetro da Aorta (AO); Diâmetro do Átrio Esquerdo (AE); Razão AE/AO; Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo/Peso Corporal (DDVE/PC); Diâmetro do Átrio Esquerdo/Peso Corporal (AE/PC); Massa do Ventrículo Esquerdo (MASSA VE); Índice de Massa do Ventrículo Esquerdo (ÍND. MVE); Espessura Relativa do Ventrículo Esquerdo (ESP. REL. VE), nos grupos sedentário controle (SC, n=21), sedentário tratado com DEX (SD, n=22), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs controle, + vs sedentário; p<0,05.

Os parâmetros de função sistólica e de desempenho do VE (Tabela 10) demonstraram que a variável % ENC. ENDO não apresentou qualquer alteração significativa, mas a variável VEPP estava aumentada em 7% nos animais TD, quando comparada aos animais SD. A variável TEI INDEX e a FRAÇÃO DE EJE não apresentaram alterações significativas. Por outro lado, a onda S LATERAL estava diminuída no grupo TC, quando comparada ao grupo SC (-9%). A onda S SEPTAL não apresentou alteração significativa, mas a onda S MÉDIA, estava 8% diminuída no grupo TC, quando comparada ao grupo SC (tabela 10).

Tabela 10. Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica e do desempenho do VE nos animais SHR.

	SC	SD	TC	TD
% ENC. ENDO	51,922 ± 1,458	50,011 ± 1,110	54,686 ± 1,210	50,542 ± 1,214
VEPP (mm/s)	34,838 ± 1,128	37,290 ± 1,235	34,208 ± 1,589	39,956 ± 2,061 *
TEI INDEX	0,502 ± 0,013	0,513 ± 0,026	0,494 ± 0,010	0,462 ± 0,016
FRAÇÃO DE EJE	0,883 ± 0,009	0,871 ± 0,008	0,904 ± 0,007	0,876 ± 0,008
S LATERAL (cm/s)	3,233 ± 0,094	3,136 ± 0,098	2,927 ± 0,063 +	3,263 ± 0,100
S SEPTAL (cm/s)	3,476 ± 0,068	3,313 ± 0,090	3,218 ± 0,087	3,290 ± 0,117
S MÉDIA (cm/s)	3,354 ± 0,058	3,225 ± 0,075	3,072 ± 0,060 +	3,277 ± 0,086

% de Encurtamento Endocárdico (%ENC. ENDO); Velocidade de Encurtamento da Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo (VEPP); Índice de Performance Miocárdica (TEI INDEX); Fração de Ejeção (FRAÇÃO DE EJE.); Onda Sistólica do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular) (S LATERAL); Onda Sistólica do Anel Mitral Septal (Doppler tissular) (S SEPTAL); Média das velocidades sistólicas máximas de deslocamento das paredes lateral e septal do anel mitral (S MÉDIA), nos grupos sedentário controle (SC, n=21), sedentário tratado com DEX (SD, n=22), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs controle, + vs sedentário; p<0,05.

Nos parâmetros de função diastólica do VE (Tabela 11), a onda E MITRAL não apresentou qualquer alteração. A onda A MITRAL estava diminuída em 21% no grupo TC, quando comparada ao grupo SC e, no grupo TD, estava aumentada em 37%, quando comparada ao grupo TC. Ao contrário, a razão E/A estava aumentada em 28% no grupo TC vs SC e, no grupo TD estava diminuída em 26% vs TC. Na variável TRIV, o tratamento com a DEX diminuiu em 11% no grupo SD e 16% no grupo TC, quando comparada aos grupos SC e TC, respectivamente. A variável TDE não sofreu alterações nem com treinamento, nem com o tratamento. A variável TRIV/R-R estava diminuída no grupo SD em 9%, quando comparada ao SC, enquanto que, no grupo TC estava diminuída em 7%, quando comparada ao grupo SC. A onda E' LATERAL não apresentou alteração. Contudo, a onda A' LATERAL estava diminuída com o treinamento (TC = -25%) e quando o grupo treinado foi

tratado com a DEX, houve um aumento de 45% (TD). Na onda E' SEPTAL não houve alteração significativa, mas na onda A' SEPTAL, o treinamento foi capaz de reduzir em 19% (TC) e o treinamento associado com o tratamento com a DEX promoveu aumento dessa variável de 42 %. A onda E' MÉDIA não apresentou qualquer alteração, enquanto que a onda A' MÉDIA estava diminuída em 22% com o treinamento (TC). O tratamento com a DEX, associado ao treinamento, restabeleceu essa queda, com um aumento de 43%. A razão E/E' não apresentou nenhuma alteração entre os grupos.

Tabela 11. Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica do VE dos animais SHR.

	SC	SD	TC	TD
E MITRAL (cm/s)	86,111 ± 3,250	94,736 ± 2,490	92,545 ± 2,129	92,3 ± 2,408
A MITRAL (cm/s)	51,611 ± 3,967	57,210 ± 3,124	40,545 ± 1,884 +	55,5 ± 3,300 *
E/A	1,814 ± 0,126	1,750 ± 0,086	2,324 ± 0,107 +	1,713 ± 0,100 *
TRIV (ms)	29,285 ± 0,478	25,954 ± 0,745 *	28,818 ± 0,723	24,181 ± 0,989 *
TDE (ms)	43,933 ± 1,952	43,941 ± 1,619	44,090 ± 1,186	42,75 ± 1,571
TRIV/R-R	63,681 ± 1,271	57,979 ± 1,719 *	58,925 ± 1,575 +	55,001 ± 1,110
E' LATERAL (cm/s)	3,51 ± 0,184	3,45 ± 0,126	3,245 ± 0,130	3,67 ± 0,17
A' LATERAL (cm/s)	3,67 ± 0,221	3,905 ± 0,238	2,763 ± 0,194 +	4,01 ± 0,217 *
E' SEPTAL (cm/s)	4,035 ± 0,187	3,77 ± 0,109	3,745 ± 0,193	3,74 ± 0,261
A' SEPTAL (cm/s)	3,6 ± 0,222	4,095 ± 0,232	2,918 ± 0,165 +	4,14 ± 0,156 *
E' MÉDIA (cm/s)	3,772 ± 0,162	3,61 ± 0,094	3,495 ± 0,134	3,705 ± 0,163
A' MÉDIA (cm/s)	3,635 ± 0,215	4 ± 0,225	2,840 ± 0,166 +	4,075 ± 0,152 *
E/E'	24,053 ± 0,930	26,236 ± 0,981	26,972 ± 1,401	25,386 ± 1,339

Onda E do Fluxo Transmitral (E MITRAL); Onda A do Fluxo Transmitral (A MITRAL); Razão E/A; Tempo de Relaxamento Isovolumétrico do Ventrículo Esquerdo (TRIV); Tempo de Desaceleração da Onda E Mitral (TDE); TRIV Normalizado para a Frequência cardíaca (TRIV/R-R); Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular) (E' LATERAL); Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Lateral (Doppler tissular) (A' LATERAL); Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Septal (Doppler tissular) (E' SEPTAL); Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Septal (Doppler tissular) (A' SEPTAL); Média da Onda Diastólica Inicial do Anel Mitral Lateral e Septal (E' MÉDIA); Média da Onda Diastólica Tardia do Anel Mitral Lateral e Septal (A' MÉDIA); Razão E/E', nos grupos sedentário controle (SC, n=21), sedentário tratado com DEX (SD, n=22), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs controle, + vs sedentário; p<0,05.

Na figura 10 pode-se observar uma imagem representativa de cada grupo, ilustrando os capilares e o miocárdio após coloração com HE.

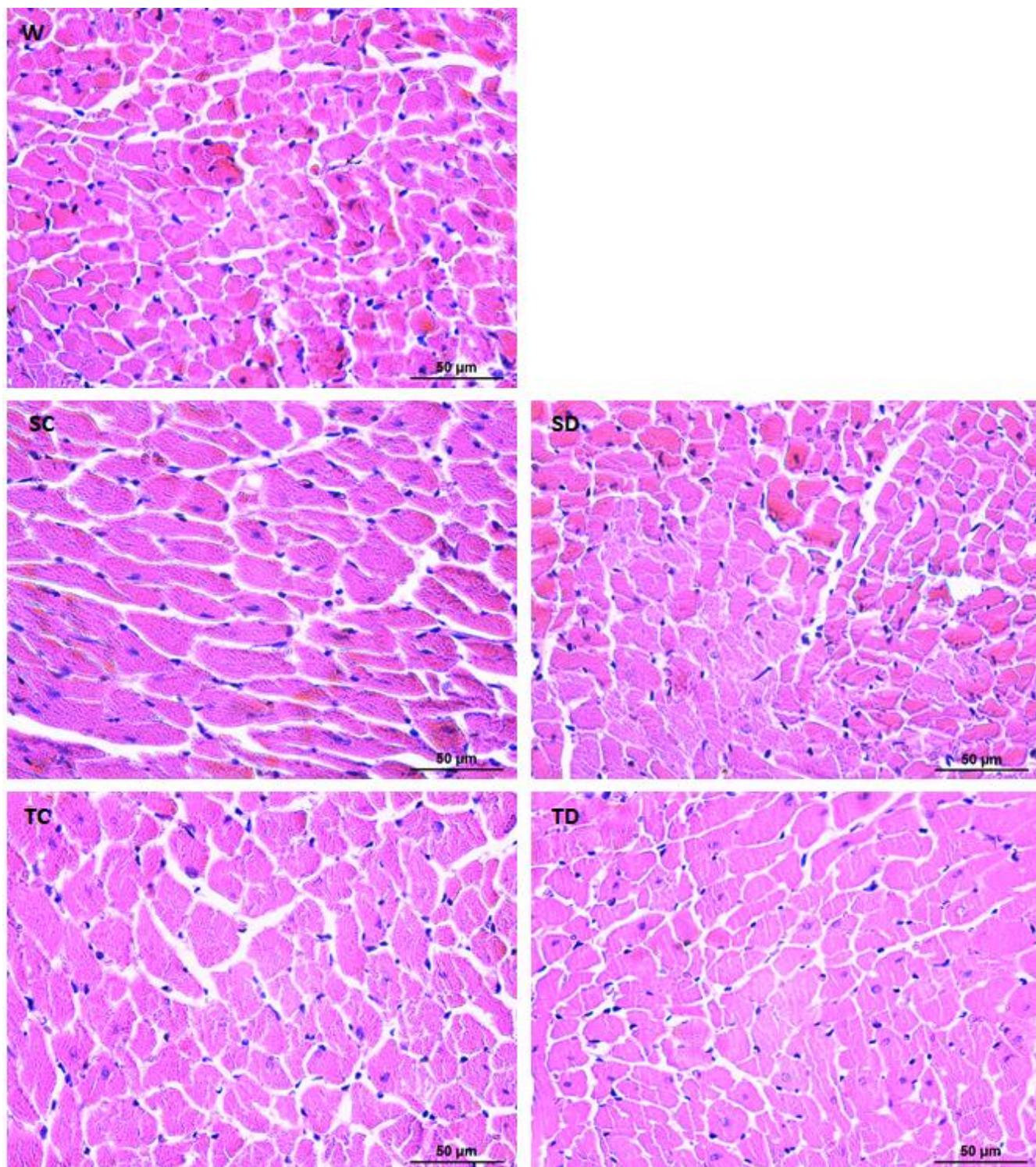


Figura 10: Cortes histológicos transversais do VE (40x) em cada grupo analisado, corados com hematoxilina e eosina, para detecção da densidade capilar dos grupos wistar (W) e dos SHR sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Em rosa estão os miócitos e em roxo os núcleos dos capilares.

Pode-se observar na Tabela 12 que a densidade capilar do VE foi semelhante entre os grupos SHR e W.

Tabela 12. Valores de densidade capilar no ventrículo esquerdo nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).

	W	SC
DENSIDADE CAPILAR (n/mm²)	1469,025 ± 72,957	1304,137 ± 72,764

Grupo wistar (W, n=9) e SHR sedentário controle (SC, n=9).

A Figura 11 ilustra os valores de densidade de capilares nos 4 grupos SHR analisados. Pode-se observar que o tratamento com DEX determinou aumento da densidade capilar nos SHR (+19%), quando comparada aos animais SC (1553,954 ± 53,437 vs 1304,137 ± 72,764 n/mm², para SD e SC, respectivamente – poder do teste=0,75 e tamanho do efeito=1,28). Os animais treinados não apresentaram nenhuma alteração significativa na densidade de capilares no VE (1468,117 ± 68,160 vs 1453,567 ± 62,136 n/mm², para TD e TC, respectivamente).

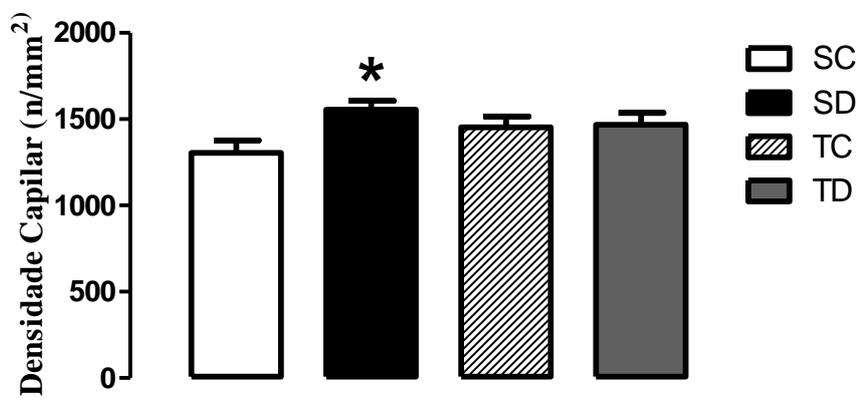


Figura 11: Valores da densidade capilar (n/mm²) no VE dos grupos SHR sedentário controle (SC, n=9), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs respectivo controle; p<0,05.

Na figura 12 pode-se observar uma imagem representativa de cada grupo, ilustrando os miócitos e seus núcleos, a partir da coloração com HE.

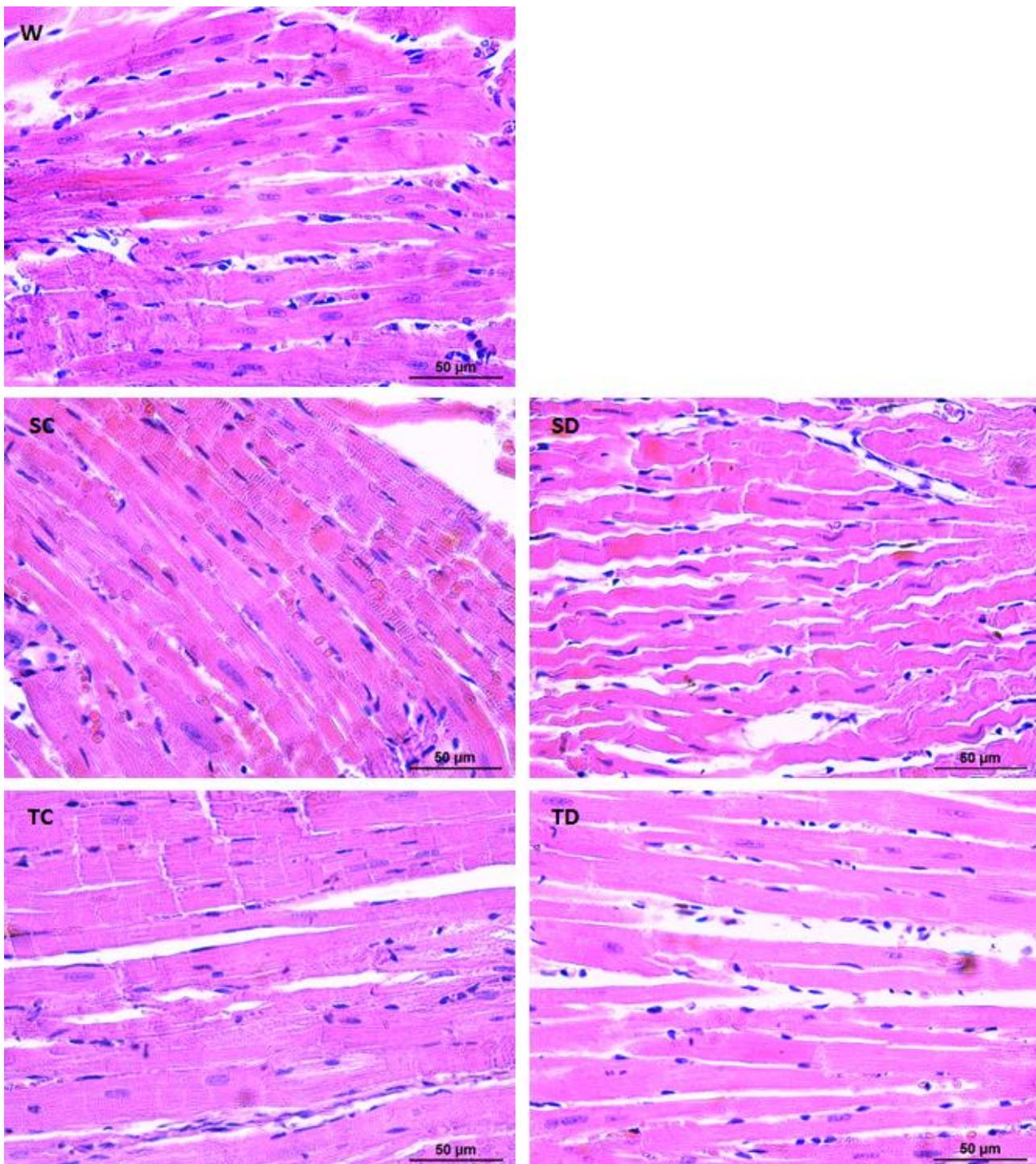


Figura 12: Cortes histológicos longitudinais do ventrículo esquerdo (40x), corados com hematoxilina e eosina, para detecção do diâmetro de miócitos dos grupos wistar (W), e grupos SHR sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Em rosa estão os miócitos e em roxo os núcleos.

Por meio da técnica de HE foi possível analisar o diâmetro de miócitos nos 5 grupos. A Tabela 13 revela que os animais SHR apresentavam um aumento de 16% no diâmetro dos miócitos, quando comparado aos animais sedentários normotensos.

Tabela 13. Valores do diâmetro de miócitos no ventrículo esquerdo nos animais normotensos (W) e SHR sedentários (SC).

	W	SC
DIÂMETRO DE MIÓCITOS (μm)	15,121 \pm 0,776	17,572 \pm 0,429 #

Grupo wistar (W, n=9) e SHR sedentário controle (SC, n=9). Significância: # vs W; $p < 0,05$.

Os animais SHR não apresentaram alterações significativas no diâmetro dos miócitos, independente do tratamento ou do treinamento (17,572 \pm 0,429; 17,286 \pm 0,525; 17,990 \pm 0,500; 17,361 \pm 0,405 μm , para SC, SD, TC e TD, respectivamente), como demonstrado na Figura 13.

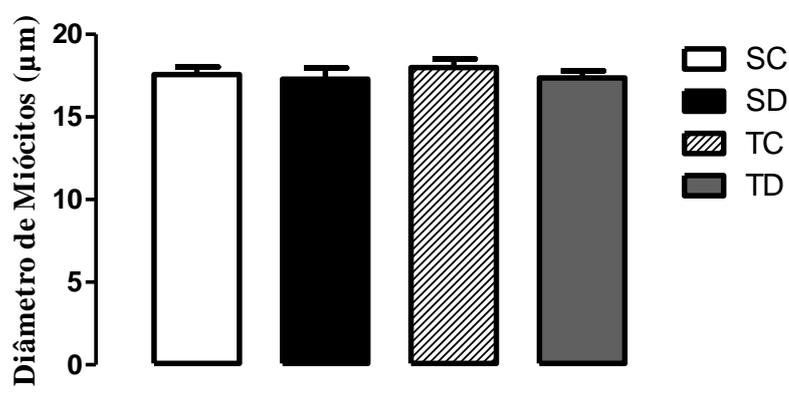


Figura 13: Valores do diâmetro de miócitos no ventrículo esquerdo nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=9), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=11) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: $p < 0,05$.

Na figura 14 pode-se observar uma imagem representativa do VE de cada grupo de animais, corada com Picrossírius Red para detecção do colágeno.

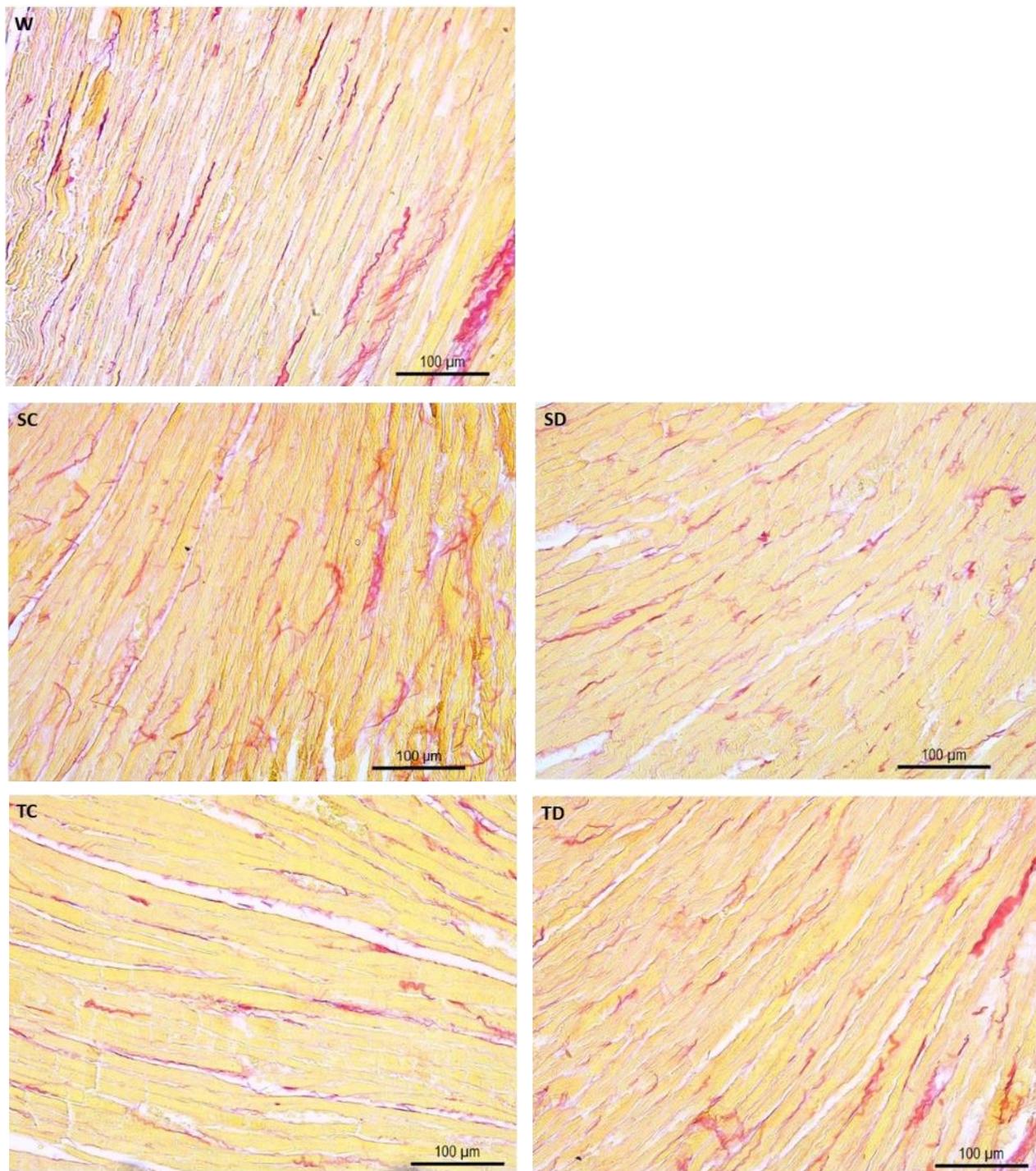


Figura 14: Cortes histológicos longitudinais (20x), corados com Picrossírius Red, para detecção de colágeno no ventrículo esquerdo dos grupos wistar (W) e nos grupos SHR, sedentário controle (SC), sedentário tratado com DEX (SD), treinado controle (TC) e treinado tratado com DEX (TD). Em vermelho pode-se observar as fibras de colágeno e em amarelo a musculatura cardíaca.

A tabela 14 ilustra os valores da área e densidade de colágeno, analisados a partir da coloração com Picrossírius Red. Pode-se observar que não houve nenhuma alteração na área de colágeno entre os animais normotensos e hipertensos, assim como na % de área de colágeno no VE.

Tabela 14. Valores de área e densidade de colágeno no ventrículo esquerdo nos animais normotensos (W) e hipertensos sedentários (SC).

	W	SC
ÁREA DE COLÁGENO (μM^2)	12308,48 \pm 1598,46	12453,97 \pm 620,631
% ÁREA DE COLÁGENO	5,566 \pm 0,722	5,623 \pm 0,273

Grupo wistar (W, n=7) e SHR sedentário controle (SC, n=10).

A Figura 15 demonstra que, entre os grupos SHR, a área de colágeno do VE dos animais sedentários tratados com a DEX estava menor em 22% (9690,074 \pm 520,020 vs 12453,97 \pm 620,631 μm^2 , para SD e SC, respectivamente – poder do teste=0,94 e tamanho do efeito=1,52). Da mesma forma, a % área de colágeno estava diminuída nos SD em 21% (4,4366 \pm 0,237 vs 5,623 \pm 0,273%, para SD e SC, respectivamente). O TF também foi capaz de reduzir a área de colágeno em 28% (9001,459 \pm 278,523 vs 12453,97 \pm 620,631 μm^2 , para TC e SC, respectivamente) bem como a % de área de colágeno em 27% (4,119 \pm 0,113 vs 5,623 \pm 0,273%, para TC e SC, respectivamente).

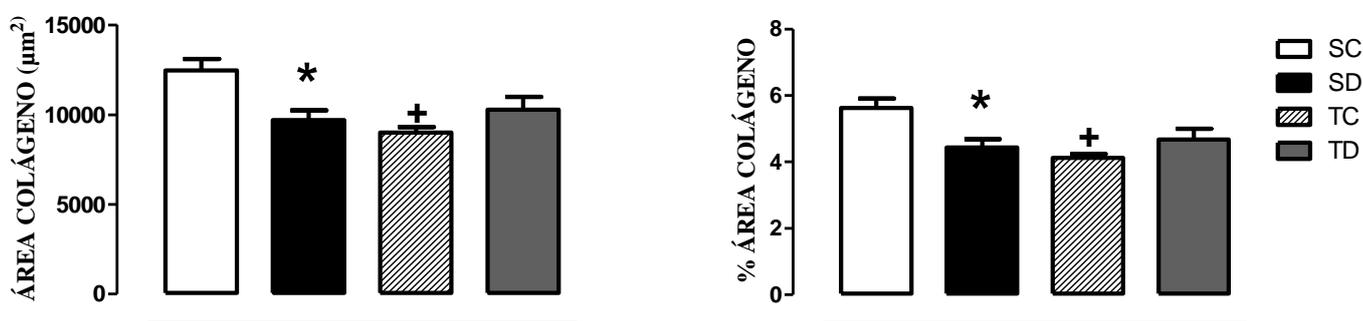


Figura 15: Valores da área de colágeno (Painel A) e da % de colágeno (Painel B) no ventrículo esquerdo nos grupos SHR sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com DEX (SD, n=10), treinado controle (TC, n=10) e treinado tratado com DEX (TD, n=11). Significância: * vs respectivo controle, + vs respectivo sedentário; $p < 0,05$.

Com o objetivo de correlacionar a deposição de colágeno e a função cardíaca, foi feita correlação de Spearman, para dados não paramétricos, entre a % de área de colágeno com as variáveis que foram alteradas pelo TF e o tratamento com a DEX que estão relacionadas à função sistólica (VEPP) e diastólica (TRIV). A Figura 16 ilustra que a % de área de colágeno não se correlacionou com as variáveis VEPP e TRIV, que indicam função sistólica e diastólica do VE, respectivamente, entre os animais treinados e tratados com DEX e os SHR sedentários controles.

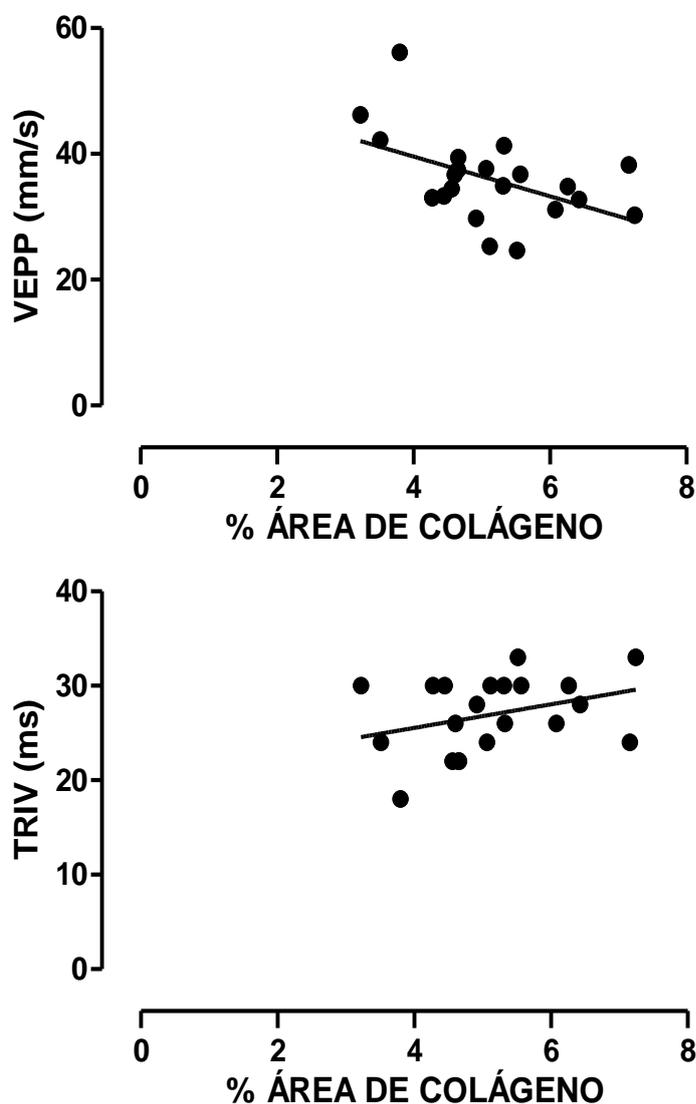


Figura 16: Correlação entre % da área de colágeno do ventrículo esquerdo com a velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP, $r=-0,4273$) e com o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV, $r=0,3277$) nos grupos SHR sedentário controle e treinado tratado com DEX.

5. DISCUSSÃO

A hipótese inicial desse trabalho foi que a DEX poderia exacerbar PA e piorar o processo de remodelamento cardíaco nos SHR. Por outro lado, o TF, realizado antes e concomitante ao tratamento farmacológico, poderia ser capaz de atenuar esses efeitos prejudiciais da DEX. No entanto, os principais resultados desse estudo foram que o tratamento crônico com baixa dose de DEX não exacerbou a PA dos animais SHR, a qual já estava aumentada em relação aos normotensos, bem como não alterou o balanço autonômico para o coração e a atividade barorreflexa espontânea. Da mesma forma, o tratamento crônico com DEX não promoveu alterações adicionais na massa muscular do coração, nem na estrutura do VE, função sistólica e desempenho do VE, as quais estavam claramente aumentadas em animais hipertensos, comparadas com os ratos normotensos. Interessantemente, o tratamento com baixa dose de DEX melhorou a função diastólica dos animais SHR, assim como foi capaz de aumentar a densidade capilar e reduzir a área e a % de colágeno no VE dos SHR sedentários. O TF, realizado prévia e concomitante ao tratamento da DEX, foi capaz de promover redução da PA nos SHR, independentemente dos valores de balanço autonômico para o coração e da atividade barorreflexa espontânea. Além disso, o treinamento foi capaz de alterar a estrutura do coração e melhorar alguns parâmetros da função sistólica e diastólica.

Resultados previamente publicados por nosso laboratório, em concordância com os achados da literatura, vêm demonstrando vários efeitos colaterais do tratamento agudo e crônico com a DEX, tais como redução de PC, atrofia muscular, resistência periférica à insulina e aumento de PA, acompanhada de desbalanço autonômico, redução de sensibilidade barorreflexa e remodelamento cardíaco (SUZUKI et al., 1982; DODIC et al., 1999; MUANGMINGSUK et al., 2000; DODIC et al., 2001; DODIC et al., 2006; MONDO et al., 2006; SEGAR et al., 2006; BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al., 2014; MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016; HERRERA et al., 2016; HERRERA et al., 2017; CONSTANTINO et al., 2017; DUCHATSCH et al., 2018; DE SALVI GUIMARÃES et al., 2017). No entanto, estes efeitos foram encontrados em animais normotensos e quase nada se sabia sobre os efeitos da DEX em animais SHR.

No presente estudo, os animais SHR já apresentavam menor PC quando comparados aos animais W, como observado no estudo de Omotayo e colaboradores (2011). O tratamento com a DEX promoveu redução significativa de PC, concordando com o observado em outros trabalhos (BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al., 2014; MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016; HERRERA et al., 2016; CONSTANTINO et al., 2017) e, da mesma forma que nos animais normotensos analisados em trabalhos anteriores, o TF não foi capaz de atenuar esta resposta no SHR. A redução de PC após tratamento com DEX pode-se dar devido à atrofia muscular e/ou redução da ingestão calórica (MACEDO et al., 2016 e KRUG et al., 2016). Acredita-se que estes mecanismos também possam estar influenciando a redução de PC nos SHR, no entanto, este trabalho não teve como objetivo investigar os mecanismos da redução do PC.

Pode-se observar, no presente trabalho, que os animais SHR possuíam glicemia de jejum semelhante a dos animais W, assim como descrito anteriormente por Omotayo et al. (2011). O tratamento crônico com DEX não promoveu hiperglicemia de jejum, como já havia sido demonstrado em animais normotensos (SANTOS et al., 2007; RAFACHO et al., 2007; GIOZZET et al., 2008; BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al., 2014; MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016). Uma possível explicação é que a dose administrada neste presente trabalho é cerca de 10-20x menor que a usada nos trabalhos anteriores. Em concordância, o TF na esteira não promoveu alteração significativa na glicemia de jejum dos SHR, tratados ou não com DEX.

Hipertensão induzida pelo tratamento crônico com a DEX vem sendo descrita em animais normotensos, em diferentes modelos experimentais, dosagens, vias de administração e períodos de tratamento (MONDO et al., 2006; DODIC et al., 1998; DODIC et al., 1999; DODIC et al., 2001; PEERS et al., 2001; HERRERA et al., 2016; CONSTANTINO et al., 2017; DE SALVI GUIMARÃES et al., 2017). No entanto, nada se sabia sobre os efeitos da DEX em animais espontaneamente hipertensos. Os resultados do presente trabalho são inéditos em revelar que o tratamento crônico com a DEX em doses baixas parece não exacerbar a PA dos animais SHR, a qual já se apresentava aumentada em relação aos normotensos. Apesar de contrariar a hipótese previamente formulada, os resultados do presente trabalho podem sugerir que uma pessoa hipertensa pode se submeter ao tratamento clínico com baixa dose de DEX sem apresentar grandes complicações, o que é um ponto bastante positivo.

Um dos mecanismos propostos para o aumento de PA induzido pelo tratamento crônico com a DEX em animais normotensos é o desbalanço autonômico para o coração, bem como uma redução na efetividade do barorreflexo. Recentemente, resultados de nosso laboratório demonstraram que com apenas 5 dias de tratamento com a DEX, na dosagem de 1mg/Kg ou 14 dias de tratamento com dose similar ao do presente trabalho, era possível observar um significativo desbalanço autonômico para o coração, determinado pelo desequilíbrio entre a atividade nervosa simpática e parassimpática (HERRERA et al., 2016; DUCHATSCH et al., 2018). Além disso, 10 dias de tratamento com a DEX, na dosagem de 1mg/Kg também foi determinante para reduzir a efetividade do barorreflexo (CONSTANTINO et al., 2017). Os resultados do presente estudo revelaram que os animais SHR sedentários apresentaram somente algumas flutuações não significativas da razão LF/HF, o que poderia sugerir um desbalanço autonômico, como observado em alguns trabalhos anteriores em SHR (MASSON et al., 2014; STERN et al., 2012), no entanto, concordando com os resultados de manutenção de PA no SHR, o tratamento crônico com a DEX também não promoveu alterações significativas no balanço autonômico. A atividade barorreflexa, induzida por drogas vasoconstritoras e vasodilatadoras, está reduzida após tratamento com DEX (CONSTANTINO et al., 2017) ou outros corticosteroides (BECHTOLD and SCHEUER, 2005 e SEGAR et al., 2006) em animais normotensos, e nada se sabia em relação aos efeitos da DEX na atividade barorreflexa de SHR. No entanto, somente a atividade barorreflexa espontânea foi observada no presente estudo. Pode observar que, apesar de hipertensos, os animais do presente estudo não apresentaram prejuízos significativos na atividade do barorreflexo espontâneo, nem antes nem após o tratamento com DEX. Dessa forma, pode-se sugerir que o efeito da DEX no sistema nervoso autonômico e balanço autonômico é dose dependente.

Independente de serem ou não tratados com DEX, todos os animais hipertensos que foram treinados apresentaram redução nos valores de PA, quando comparados aos respectivos grupos sedentários. Esses resultados concordam com os achados da literatura (AMARAL & MICHELLINI, 2011; ROSSONI et al., 2011) em animais controles e demonstram, pela primeira vez, que a DEX não interfere na resposta benéfica do TF em reduzir a PA de animais SHR. Dentre os mecanismos responsáveis por determinar redução de PA induzida pelo TF, tanto em animais controles como em tratados com DEX, pode-se citar a melhora no desbalanço autonômico para o coração (CAVALCANTI et al., 2009; MARTINEZ et al., 2011; HERRERA et al., 2016). No entanto, apesar do TF ter sido eficaz

em reduzir a PA dos animais SHR no presente estudo, ele não foi efetivo em alterar significativamente o balanço entre atividade simpática-parassimpática para o coração destes animais, como observado em animais normotensos treinados e tratados com DEX (HERRERA et al., 2016). Vale ressaltar que, apesar de apresentar uma melhora (não significativa) de 49% da razão LF/HF após TF, os SHR sedentários e tratados com DEX também não apresentavam aumento significativo de LF/HF em relação aqueles não tratados. Assim, apesar da redução da PA induzida pelo TF em animais normotensos tratados com DEX estar relacionada com melhora do balanço autonômico, parece que esta resposta não explica significativamente a redução de PA em SHR tratados com DEX. Além disso, os resultados do presente trabalho não mostram qualquer alteração no barorreflexo espontâneo nos animais SHR treinados, tratados ou não com DEX. Uma alteração que já foi vista com o treinamento, tanto em um modelo de hipertensão com animais SHR (AMARAL & MICHELINI, 2011) tanto em um modelo de hipertensão induzido por DEX (HERRERA et al., 2016) é que os animais treinados possuem uma menor razão parede/luz no músculo grácil e sóleo, respectivamente, quando comparado com os sedentários e essa alteração na resistência vascular periférica pode ser uma possível explicação para redução da PA nos animais treinados como visto neste estudo, contudo a influência do treinamento físico na periferia não foi investigado neste presente de estudo.

Outro fator a ser considerado como importante no desenvolvimento de hipertensão é o remodelamento cardíaco. Os resultados do presente estudo mostraram que os animais SHR possuíam um coração maior (massa cardíaca, dos átrios e do VE), quando comparado aos animais W, resultados esses que concordam com os achados da literatura (BING et al., 1995; GALLEGO-DELGADO, et al., 2009; ROSSONI et al., 2011; YAZAWA et al., 2011; PAGAN et al., 2015; PAGAN, 2018). Tem sido sugerido que esse aumento da massa cardíaca possa ser causado por uma hipertrofia patológica devido à sobrecarga de pressão que é imposta em uma situação de HA (BERNARDO et al., 2010). De fato, os resultados do presente estudo revelaram aumento no diâmetro dos miócitos dos SHR, comparados aos W. Após o tratamento com a DEX não houve nenhuma alteração significativa na massa muscular do coração dos SHR ou diâmetro de miócitos. Estes resultados estão em consonância com aqueles obtidos até o presente momento e que indicam que a DEX não exacerba as variáveis que já estão alteradas nos SHR quando comparados aos ratos W, normotensos. Apesar de trabalhos anteriores do nosso grupo não revelarem nenhum aumento de massa cardíaca após tratamento com DEX em animais normotensos (CONSTANTINO

et al., 2017; DUCHATSCH et al., 2018), De Salvi Guimarães e colaboradores (2017) demonstraram que o tratamento com a DEX, durante 15 dias, na dosagem de 35 μ g/g (dose essa que é bem maior quando comparada a usada nesse estudo), promoveu aumento da massa cardíaca, diminuição dos átrios e aumento do VD e VE. Estes resultados sugerem que os efeitos da DEX na massa cardíaca ainda são inconclusivos e podem depender da dose e forma de administração.

Com o intuito de investigar melhor os mecanismos responsáveis pela hipertensão, foi realizado um exame ecocardiográfico nos animais W e SHR. Os resultados do presente estudo revelaram que os parâmetros estruturais do coração estavam alterados, ou seja, os SHR sedentários controles apresentaram aumento da estrutura cardíaca (que concorda com o aumento de massa cardíaca, observada anteriormente na balança), com comprometimento nas funções sistólicas e diastólicas do VE, quando comparados aos animais W.

Tem sido demonstrado que as alterações na função cardíaca encontradas em animais SHR são decorrentes de remodelamento cardíaco. Pagan (2018), concordando com os resultados de Rossoni e colaboradores (2011), demonstraram que os animais SHR possuem um aumento da massa do VE e do diâmetro dos miócitos, acompanhado de aumento da deposição de colágeno no VE, quando comparados aos animais W. O aumento do diâmetro do miócito pode ser explicado pela sobrecarga de pressão na parede interna do VE, que promove uma adição de sarcômeros em paralelo (BERNARDO et al., 2010). Com relação a deposição de colágeno, um dos mecanismos responsáveis pelo aumento do colágeno é o aumento do processo inflamatório (AZEVEDO et al., 2015), uma vez que a função da inflamação é agir sobre estímulos lesivos ao tecido e facilitar a cicatrização (SUTHAHAR et al., 2017). Tem sido mostrado que algumas interleucinas, tais como IL-13, IL-4 (LIU et al., 2004) podem desempenhar papel importante no aumento do conteúdo fibrótico. De acordo, a inflamação está presente em um quadro de hipertensão com aumentos de colágeno no VE (SUTHAHAR et al., 2017) e já foi descrito em SHR (SILVA et al., 2017). Adicionalmente às respostas desencadeadas pelo estímulo inflamatório, o estresse oxidativo vem sendo apontado como um fator importante na hipertrofia cardíaca, pois determina apoptose e formação de tecido fibrótico (TSUTSUI et al., 2011; PAGAN, 2018). Além disso, o aumento da deposição de colágeno pode ocorrer pela angiogênese prejudicada e distanciamento entre a microcirculação e os miócitos (AZEVEDO et al., 2015), o que faz com que o tecido tenha redução de perfusão e, portanto, entrega de nutrientes e retirada de metabólitos prejudicada, fazendo com o que ocorra morte celular na região, que

normalmente é substituída por fibras colágenas (DE BOER et al., 2003). Neste sentido, alguns autores têm sugerido que o acúmulo de proteína tumoral (p53) no endotélio contribui para diminuição do número de vasos e assim o aumento de colágeno, com disfunção do VE (GOGIRAJU et al., 2015). Estes autores demonstraram que a deleção da p53 induzível impede a morte celular endotelial, por melhorar vascularização e, portanto, diminuição da deposição de colágeno, confirmando a importância da vascularização na função cardíaca. O aumento da atividade do sistema renina angiotensina também contribui para o aumento da resposta inflamatória e conteúdo fibrótico (GONZÁLEZ et al., 2016) e esta resposta vem sendo confirmada em animais SHR (SILVA et al., 2017). No presente estudo, os animais SHR apresentaram maiores diâmetros de miócitos, quando comparados aos animais W, entretanto, não foram observadas alterações significativas na densidade capilar e na deposição de colágeno no VE. Esses resultados podem sugerir que esses animais estão em estágio compensado de hipertrofia, ou seja, pode ser que a hipertrofia ainda esteja em fase inicial. De fato, estes animais apresentam pequenas e significativas disfunções tanto sistólica como diastólica.

Em relação ao tratamento crônico com a DEX e os parâmetros ecocardiográficos nos animais SHR, nada se sabia até o presente momento. Apesar do tratamento com DEX não aumentar ainda mais a PA dos SHR, o presente estudo demonstrou que o tratamento crônico com a DEX promoveu pequenas, mas significativas, alterações nos parâmetros estruturais do coração, tais como aumentos no DDVE e no AE, normalizados pelo PC. A função sistólica e desempenho do VE não foram significativamente alterados, contudo, houve diminuição do TRIV e do TRIV/R-R, o que sugere melhora da função diastólica do VE induzida pela DEX. Os resultados do presente estudo na dinâmica cardíaca se diferem dos achados da literatura, pois tem sido observada uma disfunção cardíaca após tratamento com alta dose de DEX em animais adultos (DE SALVI GUIMARÃES et al., 2017) ou uma diminuição da reserva funcional cardíaca dos filhotes na vida adulta quando a mãe é tratada com DEX durante a gestação (DODIC et al, 2001). No entanto, vale ressaltar que estes estudos foram realizados em animais normotensos.

A melhora da função diastólica do VE, encontrada no presente estudo, sugere que a DEX, em animais hipertensos que já possuem um comprometimento cardíaco, possa estar agindo como fármaco anti-inflamatório e contribuindo para reduzir a densidade de colágeno no VE. Os resultados do presente estudo revelaram que o tratamento com a DEX determinou aumento na densidade capilar, acompanhada de redução da deposição de colágeno no VE

dos SHR. Estas alterações foram acompanhadas de uma manutenção no diâmetro dos miócitos destes animais. Diferente dos achados do presente trabalho, De Salvi Guimarães et al., (2017) haviam demonstrado que o tratamento com a DEX aumentava a deposição de colágeno no VE e o dano do DNA dos miócitos, sugerindo que estaria ocorrendo uma apoptose dos miócitos e substituição por colágeno. Resultados diferentes também haviam sido encontrados no VE dos filhotes de ovelhas que foram tratadas durante a gestação com DEX (DODIC et al., 2001). Segundo estes autores, o tratamento com a DEX promoveu hipertrofia do VE, seguida de maior deposição de colágeno tipo 1. Este aumento de colágeno no VE, induzido pelo tratamento com DEX, também foi observado por Roy e colaboradores (2009) em ratos Sprague-Dawley e por De Vries et al., (2002), após tratamento neonatal com DEX. Contudo, novamente, estes resultados foram encontrados em animais normotensos.

Alguns autores vêm mostrando que existem alguns tecidos onde os glicocorticoides são capazes de proteger o tecido da resposta apoptótica, como é o caso dos miócitos e das células renais (GRUVER-YATES and CIDLOWSKI, 2013). Em concordância, Chen e colaboradores (2005) já haviam demonstrado que células de cardiomiócitos tratadas com corticosteroides apresentaram redução da resposta apoptótica induzida por doxorrubicina, devido a um aumento da produção proteica da BCL-XL, uma proteína antiapoptótica. Da mesma forma, Kewalramani e colaboradores (2009) demonstraram que a DEX protege os cardiomiócitos ventriculares de ratos normotensos da apoptose induzida pelo fator de necrose tumoral (TNF- α) pela ativação da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK), uma vez que a AMPK regula a proteína proapoptótica BAD e os mecanismos apoptóticos mitocondriais. No estudo de Ren et al. (2012), com cardiomiócitos H9C2 embrionários de rato e cardiomiócitos primários, a DEX promoveu aumento significativo no tamanho das células, assim como de marcadores hipertróficos. Além disso, estes autores confirmaram o papel fundamental da DEX em proteger os cardiomiócitos de apoptose, uma vez que a DEX foi capaz de inibir a apoptose induzida por TNF α e o uso de antagonistas do receptor de glicocorticoide (GR- RU486) aboliu a resposta antiapoptótica.

Independente do tratamento com a DEX, os animais que foram submetidos ao protocolo de TF apresentaram aumento da massa muscular do coração, átrios (somente o TD) e do VE. Esse aumento da massa cardíaca nos animais SHR treinados, parece caracterizar uma hipertrofia fisiológica, de caráter excêntrica (BERNARDO et al., 2010), uma vez que o diâmetro dos miócitos não foi alterado pelo TF, mas houve aumento do DDVE/PC. Tem sido demonstrado que uma melhora na estrutura cardíaca, induzida pelo TF

em animais SHR, pode contribuir para uma melhora da função cardíaca (PAGAN et al., 2015; PAGAN, 2018). O presente estudo demonstrou que o TF, realizado antes e concomitante ao tratamento com a DEX nos SHR, promoveu redução do EDPP, EDSIV, MASSA VE e ESP REAL VE, assim como aumento do DDVE/PC e AE/PC, variáveis estas que sugerem melhora na estrutura do VE. Estas alterações estruturais, induzidas pelo TF nos SHR tratados ou não com DEX, foram acompanhadas de aumento do VECP, que sugere uma melhora na função sistólica desse grupo e de diminuição da onda A MITRAL, onda A' LATERAL, onda A' SEPTAL e onda A' MÉDIA, bem como diminuição da razão E/A e TRIV, o que sugere uma melhora na função diastólica do VE. Não houve alterações adicionais na densidade capilar e na densidade de colágeno nesse grupo.

6. CONCLUSÃO

Em suma, os resultados do presente estudo indicam, pela primeira vez, que o tratamento crônico com a DEX em doses baixas não exacerba as variáveis hemodinâmicas e autonômicas presentes nos SHR, mas melhora a função diastólica do VE, que pode estar associada com aumento de vasos e redução da % de colágeno. Em conjunto com a DEX, o TF determinou redução significativa da PA e promoveu um remodelamento cardíaco que contribuiu para melhorar significativamente a função sistólica e diastólica do VE nos SHR. Estes resultados podem sugerir que a DEX, uma vez que tem uma série de finalidades clínicas, possa ser administrada para a população hipertensa sem grandes preocupações (pelo menos aos hipertensos essenciais, que foi representado pelos SHR em nosso modelo experimental). Estes resultados confirmam que o TF é uma importante e eficiente ferramenta no controle de PA na hipertensão.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, S.L. and MICHELINI, L.C. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Braz J Med Biol Res.** v.44, n.9, p.814-826, 2011.
- AMARAL, S. L.; ZORN, T. M.; MICHELINI, L. C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens.** v.18, n.11, p.1563-1572, 2000.
- ANTI, S.M.A.; GIORGI, R.D.N.; CHAHADE, W.H. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. **Einstein.** v.6, n.1, p.S159-S165, 2008.
- AZEVEDO, P.S.; POLEGATO, B.F.; MINICUCCI, M.F.; PAIVA, S.A.R.; ZORNOFF, L.A.M. Remodelação Cardíaca: Conceitos, Impacto Clínico, Mecanismos Fisiopatológicos e Tratamento Farmacológico. **Arq Bras Cardiol.** [online].ahead print, PP.0-0, 2015.
- BAREL, M.; PEREZ, O.A.; GIOZZET, V.A.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R.; AMARAL, S.L. Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by dexamethasone treatment. **Eur J Appl Physiol.** v.108, n.5, p.999-1007, 2010.
- BARRETTI, D.L.M.; CARMO, E.C.; ROSA, K.T.; IRIGOYEN, M.C.C.; OLIVEIRA, E.M. Treinamento físico aeróbio previne a hipertrofia cardíaca patológica e melhora a função diastólica em ratos Zucker obesos. **Rev. bras. Educ. Fís. Esporte,** v.25, n.4, p.593-605, 2011.
- BECHTOLD, A.G., SCHEUER, D.A. Glucocorticoids act in the dorsal hindbrain to modulate baroreflex control of heart rate. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** v.290, n.4, p.R1003-11, 2006.
- BERNARDO, B.C.; WEEKS, K.L.; PRETORIUS, L.; McMULLEN J.R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiachypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacol Ther.** v.128, n.1, p.191-227, 2010.
- BING, O.H.; BROOKS, W.W.; ROBINSON, K.G.; SLAWSKY, M.T.; HAYES, J.A.; LITWIN S.E.; SEN. S.; CONRAD. C.H. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. **J Mol Cell Cardiol.** v.27, n.1, p.383-396, 1995.
- CAVALCANTI, R. A.; DA PUREZA, D.Y.; DE MELO, M.P.; DE SOUZA, R.R.; BERGAMASCHI, C.T.; DO AMARAL, S.L.; TANG, H.; LOESCH, A.; RIBEIRO. A.A. Low-intensity treadmill exercise-related changes in the rat stellate ganglion neurons. **J Neurosci Res.** v.87, n.6, p.1334-1342, 2009.
- CHEN, Q.M.; ALEXANDER, D.; SUN, H.; XIE, L.; LIN, Y.; TERRAND, J.; MORRISY, S.; PURDOM, S. Corticosteroids inhibit cell death induced by doxorubicin in cardiomyocytes: Induction of antiapoptosis, antioxidant, and detoxification genes. **Mol. Pharmacol.** v.67, p.1861-1873, 2005.
- COHN, J.N.; FERRARI, R.; SHARPE, N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. **J Am Coll Cardiol.** v.35, n.3, p.569–582, 2000.
- CONSTANTINO, P.B.; DIONÍSIO, T.J.; DUCHATSCH, F.; HERRERA, N.A.; DUARTE, J.O.; SANTOS, C.F.; CRESTANI, C.C.; AMARAL, S.L. Exercise attenuates dexamethasone-induced hypertension through an improvement of baroreflex activity independently of the renin-angiotensin system. **Steroids.** v.128, p.147-154, 2017.
- CORRÊA, L.M.A.; SANTOS, T.S.N.P.; MOURA, T.H.P.; NEGRÃO, C.E. Alterações Autonômicas na Insuficiência Cardíaca: benefícios do exercício físico. **Rev SOCERJ.** v.21, n.2, p.106-111, 2008.

COSTA-FERREIRA, W.; VIEIRA, J.O.; ALMEIDA, J.; GOMES-DE-SOUZA, L.; CRESTANI, C.C. Involvement of Type 1 Angiotensin II Receptor (AT1) in Cardiovascular Changes Induced by Chronic Emotional Stress: Comparison between Homotypic and Heterotypic Stressors. **Front Pharmacol.** v.18, n. 7, p. 262, 2016.

CURY, S.S.; FREIRE, P.P.; MARTINUCCI, B.; DOS SANTOS, V.C.; DE OLIVEIRA, G.; FERRETTI, R.; DAL-PAI-SILVA, M.; PACAGNELLI, F.L.; DELELLA, F.K.; CARVALHO, R.F. Fractal dimension analysis reveals skeletal muscle disorganization in mdx mice. **Biochem Biophys Res Commun.** v.503, n.1, p.109-115, 2018.

DATASUS - Ministério da Saúde. **Sistema de informações sobre morbidade.** Disponível em: < <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sih/cnv/niuf.def> >. Acesso em: 02/03/2017.

DE BOER, R.A.; PINTO, Y.M.; VAN VELDHUISEN, D.J. The imbalance between oxygen demand and supply as a potential mechanism in the pathophysiology of heart failure: the role of microvascular growth and abnormalities. **Microcirculation.** v.10, p.113-26, 2003.

DE SALVI GUIMARÃES, F.; DE MORAES, W.M.; BOZI, L.H.; SOUZA, P.R.; ANTONIO, E.L.; BOCALINI, D.S.; TUCCI, P.J.; RIBEIRO, D.A.; BRUM, P.C.; MEDEIROS, A. Dexamethasone-induced cardiac deterioration is associated with both calcium handling abnormalities and calcineurin signaling pathway activation. **Mol Cell Biochem.** v.424, n.1-2, p.87-98, 2017.

DE VRIES, W.B.; LEIJ, F.R.V.; BAKKER, J.M.; KAMPHUIS, P.J.G.H.; OOSTERHOUT, M.F.M.V.; SCHIPPER, M.E.I.; SMID, G.B.; BARTELD, B.; FRANK VAN BEL, F.V. Alterations in Adult Rat Heart after Neonatal Dexamethasone Therapy. **Pediatric Research,** v.52; n.6, 2002.

DIONISIO, T.J.; LOUZADA, J.C.; VISCELLI, B.A.; DIONISIO, E.J.; MARTUSCELLI, A.M.; BAREL, M.; PEREZ, O.A.; BOSQUEIRO, J.R.; BROZOSKI, D.T.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Aerobic training prevents dexamethasone-induced peripheral insulin resistance. **Horm Metab Res.** v.7, p.484-489, 2014.

DODIC, M.; MCALINDEN, A.T.; JEFFERIES, A.J.; WINTOUR, E.M.; COCK, M.L.; MAY, C.N.; EVANS, R.G.; MORITZ, K.M. Differential effects of prenatal exposure to dexamethasone or cortisol on circulatory control mechanisms mediated by angiotensin II in the central nervous system of adult sheep. **J Physiol.** v.571, n.3, p.651-660, 2006.

DODIC, M.; SAMUEL, C.; MORITZ, K.; WINTOUR, E.M.; MORGAN, J.; GRIGG, L.; WONG, J. Impaired Cardiac Functional Reserve and Left Ventricular Hypertrophy in Adult Sheep After Prenatal Dexamethasone Exposure. **Circ Res.** v.89, n.7, p.623-639, 2001.

DODIC, M.; WINTOUR, E.M.; WHITWORTH, J.A.; COGHLAN, J.P. Effect of steroid hormones on blood pressure. **Clin Exp Pharmacol Physiol.** v.26, n.7, p.550-552, 1999.

DODIC, M.; MAY, C.N.; WINTOUR, E.M.; COGHLAN, J.P. An early prenatal exposure to excess glucocorticoid leads to hypertensive offspring in sheep. **Clin Sci (Lond).** v.94, n.2, p.149-155, 1998.

DUCHATSCH, F.; CONSTANTINO, P.B.; HERRERA, N.A.; FABRÍCIO, M.F.; TARDELLI, L.P.; MARTUSCELLI, A.M.; DIONÍSIO, T.J.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Short-term exposure to dexamethasone promotes autonomic imbalance to the heart before hypertension. **J Am Soc Hypertens.** pii: S1933-1711(18)30179-7, 2018.

FERNANDES, T.; SOCI, U.P.R. and OLIVEIRA, E.M. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. **Braz J Med Biol Res.** v.44, n.9, p. 836-847, 2011.

FIORETTO, J.R.; QUEIROZ, S.S.; PADOVANI, C.R.; MATSUBARA, L.S.; OKOSHI, K.; MATSUBARA, B.B. Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v.282, n.4, p.H1327-H1333, 2002.

FRIMM, C.C. Disfunção sistólica e diastólica na hipertensão arterial sistêmica com hipertrofia ventricular esquerda. **Hiper Ativo**. v.3, p.189-194, 1998.

GAHDIEH, A.S. & SAAB, B. Evidence for exercise training in the management of hypertension in adults. **Can Fam Physician**. v.61, n.3, p.233-239, 2015.

GALLEGO-DELGADO, J.; CONNOLLY, S.B.; LÁZARO, A.; SADLIER, D.; KIERAN, N.E.; SUGRUE, D.D.; DORAN, P.; BRADY, H.R.; OSENDE, J.; EGIDO, J. Transcriptome of hypertension-induced left ventricular hypertrophy and its regression by antihypertensive therapies. **Hypertens Res**. v.32, n.5, p.347-357, 2009.

GANAU, A.; DEVEREUX, R.B.; ROMAN, M.J.; De SIMONE, G.; PICKERING, T.G.; SABA, P.S.; VARGIU, P.; SIMONGINI, I.; LARAGH, J.H. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. **J Am Coll Cardiol**. v.19, n.7, p.1550-1558, 1992.

GIOZZET, V.A.; RAFACHO, A.; BOSCHERO, A.C.; CARNEIRO, E.M.; BOSQUEIRO, J.R. dexamethasone treatment in vivo counteracts the functional pancreatic islet alterations caused by malnourishment rats. **Metabolism**, v.57, n.5, p. 617-24, 2008.

GOGIRAJU, R.; XU, X.; BOCHENEK, M.L.; STEINBRECHER, J.H.; LEHNART, S.E.; WENZEL, P.; KESSEL, M.; ZEISBERG, E.M.; DOBBELSTEIN, M.; SCHÄFER, K. Endothelial p53 deletion improves angiogenesis and prevents cardiac fibrosis and heart failure induced by pressure overload in mice. **J Am Heart Assoc**. v.4, n.2, p. e001770, 2015.

GONZÁLEZ, G.E.; RHALEB, N.; D'AMBROSIO, M.A.; NAKAGAWA, P.; LIU, Y.; LEUNG, P.; DAI, X.; YANG, X.; PETERSON, E.L.; CARRETERO, O.A. Deletion of interleukin-6 prevents cardiac inflammation, fibrosis and dysfunction without affecting blood pressure in angiotensin II-high salt-induced hypertension. **J Hypertens**. v.33, n.1, p.144-152, 2015.

GROSSMAN, W.; JONES, D.; McLAURIN, L. P. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. **J Clin Invest**. v.56, n.1, p.56-64, 1975.

GRUVER-YATES, A.L. e CIDLOWSKI, J.A. Tissue-specific actions of glucocorticoids on apoptosis: a double-edged sword. **Cells**. v.2, n.2, p.202-223, 2013.

HEIN, S.; ARNON, E.; KOSTIN, S.; SCHÖNBURG, M.; ELSÄSSER, A.; POLYAKOVA, V.; BAUER, E.P.; KLÖVEKORN, W.P.; CHAPER, J. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart. **Circulation**. v.107, n.7, p. 984-991, 2003.

HERRERA, N.A.; JESUS, I.; DIONÍSIO, E.J.; DIONÍSIO, T.J.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Exercise Training Prevents Dexamethasone-induced Rarefaction. **J Cardiovasc Pharmacol**. v.70, n.3, p.194-201, 2017.

HERRERA, N. A.; JESUS, I.; SHINOHARA, A.L.; DIONÍSIO, T.J.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Exercise training attenuates dexamethasone-induced hypertension by improving autonomic balance to the heart. sympathetic vascular modulation and skeletal muscle microcirculation. **J Hypertens**. v.34, n.10, p.1967-1976, 2016.

HOU, Q.C. & SLOTKIN, T.A. Effects of prenatal dexamethasone or terbutaline exposure on development of neural and intrinsic control of heart rate. **Pediatr Res**. v.26, n.6, p.554-557, 1989.

ISHISE, H.; ASANOI, H.; ISHIZAKA, S.; JOHO, S.; KAMEYAMA, T.; UMENO, K.; INOUE, H. Time course of sympathovagal imbalance and left ventricular dysfunction in conscious dogs with heart failure. **J Appl Physiol**. v.84, n.4, p.1234-1241, 1985.

KANNEL, W.B.; LEVY, D.; CUPPLES, L.A. Left ventricular hypertrophy and risk of cardiac failure: insights from the Framingham Study. **J Cardiovasc Pharmacol**. v.10, n.6, p.S135-140, 1987.

- KEWALRAMANI, G.; PUTHANVEETIL, P.; WANG, F.; KIM, M.S.; DEPPE, S.; ABRAHANI, A.; LUCIANI, D.S.; JOHNSON, J.D.; RODRIGUES, B. AMP-activated protein kinase confers protection against TNF- α -induced cardiac cell death. **Cardiovasc. Res.** v. 84, p.42-53, 2009.
- KOKKINOS, P.F.; NARAYAN, P.; COLLERAN, J.A.; PITTARAS, A.; NOTARGIACOMO, A.; REDA, D.; PAPADEMETRIOU, V. Effects of regular exercise on blood pressure and left ventricular hypertrophy in African-American men with severe hypertension. **N Engl J Med.** v.333, n.22, p.1462-1467, 1995.
- KRUG, A.L.; MACEDO, A.G.; ZAGO, A.S.; RUSH, J.W.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. **Muscle & Nerve** v.53, n.5, p.779–788, 2016.
- KWAK, H.B.; KIM J.H.; JOSHI, K.; YEH, A.; MARTINEZ, D.A.; LAWLER, J.M. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. **FASEB J.** v.25, n.3, p.1106–1117, 2011.
- LEVY, D.; GARRISON, R.J.; SAVAGE, D.D.; KANNEL, W.B.; CASTELLI, W.P. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. **N Engl J Med.** v.322, n. 22, p.1561-1566, 1990.
- LITWIN, S.E.; KATZ, S.E.; WEINBERG, E.O.; LORELL, B.H.; AURIGEMMA, G.P.; DOUGLAS, P.S. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. **Circulation.** v.91, n.10, p.2642-2654, 1995.
- LIU, T.; JIN, H.; MULLENBRUCH, M.; HU, B.; HASHIMOTO, N.; MOORE, B.; MCKENZIE, A.; LUKACS, N.W.; PHAN, S.H. Regulation of found in inflammatory zone 1 expression in bleomycin-induced lung fibrosis: role of IL-4/IL-13 and mediation via STAT-6. **J. Immunol.** v.173, p.3425–3431, 2004.
- LOPES, P.R.; MOREIRA, M.C.S.; MARQUES, S.M.; PINTO, I.S.J.; MACEDO, L.M.; SILVA, C.C.; FREIRIA-OLIVEIRA, A.H.; REBELO, A.C.S.; REIS, A.A.S.; ROSA, D.A.; FERREIRA-NETO, M.L.; CASTRO, C.H.; PEDRINO, G.R. Association of exercise training and angiotensin-converting enzyme 2 activator improves baroreflex sensitivity of spontaneously hypertensive rat. **Braz J Med Biol Res.** v.49, n.9, 2016.
- MACHIDA, S.; KARIYA, F.; KOBAYASCHI, K.; NARUSAWA, M. Lack of effect of running training at two intensities on cardiac myosin isozyme composition in rats. **Jpn J Physiol.** v.50, n.6, p.577-583, 2000.
- MACEDO, A.G.; KRUG, A.L.; HERRERA, N.A.; ZAGO, A.S.; RUSH, J.W.; AMARAL, S.L. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. **J Steroid Biochem Mol Biol.** v.143, p.357–364, 2014.
- MANCIA, G.; FARGARD, R.; NARKIEWICZ, K.; REDÓN, J.; ZANCHETTI, A.; BHÖM, M.; CHRISTIAENS, T.; CIFKOVA, R.; DE BACKER, G.; DOMINICZAK, A.; GALDERISI, M.; GROBBEE, D.E.; JAARSMA, T.; KIRCHHOF, P.; KJELDSSEN, S.E.; LAURENT, S.; MANOLIS, A.J.; NILSSON, P.M.; RUILOPE, L.M.; SCHMJEDER, R.E.; SIRNES, P.A.; SLEIGHT, P.; VIIGIMAA, M.; WAEBER, B.; ZANNAD, F.; TASK FORCE MEMBERS, ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **J Hypertens.** v.31, n.7, p.1281-357, 2013.
- MARON, B.J. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. **JAMA.** v.287, n.10, p.1308-1320, 2002.
- MARTINEZ, D. G.; NICOLAU, J.C.; LAGE, R.L.; TOSCHI-DIAS, E.; DE MATOS, L.D.; ALVES, M.J.; TROMBETTA, I.C.; DIAS DA SILVA, V.J.; MIDDJEKAUFF, H.R.; NEGRÃO, C.E.; RONDON, M.U. Effects of long-term exercise training on autonomic control in myocardial infarction patients. **Hypertension.** v.58, n.6, p.1049-1056, 2011.

MASSON, G.S.; COSTA, T.S.R.; YSHII, L.; FERNANDES, D.C.; SOARES, P.P.S.; LAURINDO, F.R.; SCAVONE, C.; MICHELINI, L.C. Time-dependent effects of training on cardiovascular control in spontaneously hypertensive rats: role for brain oxidative stress and inflammation and baroreflex sensitivity. **PLoS One**. v.9, n.5, p.94927, 2014.

MONDO, C.K.; YANG, W.S.; ZHANG, N.; HUANG, T.G. Anti-oxidant effects of atorvastatin in dexamethasone-induced hypertension in the rat. **Clin Exp Pharmacol Physiol**. v.33, n.11, p.1029-1034, 2006.

MOREIRA, V.O.; PEREIRA, C.A.; SILVA, M.O.; FELISBINO, S.L.; CICOGNA, A.C.; OKOSHI, K.; ARAGON, F.F.; PADOVANI, C.R.; OKOSHI, M.P.; CASTRO, A.V. Growth hormone attenuates myocardial fibrosis in rats with chronic pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. **Clin Exp Pharmacol Physiol**. v.36, n.9, p.325-330, 2009.

MUANGMINGSUK, S.; INGRAM, P.; GUPTA, M.P.; ARCILLA, R.A.; GUPTA, M. Dexamethasone induced cardiac hypertrophy in newborn rats is accompanied by changes in myosin heavy chain phenotype and gene transcription. **Mol Cell Biochem**. v.209, n.1-2, p.165-173, 2000.

OKOSHI, K.; MATSUBARA, L.S.; OKOSHI, M.P.; CICOGNA, A.C.; FIORETTO, J.R.; PADOVANI, C.R.; et al. Food restriction-induced myocardial dysfunction demonstrated by the combination of in vivo and in vitro studies. **Nutr Res**. v.22, p.1353-1364, 2002.

OMOTAYO, O. E.; SITI, A. S.; MOHD, S. A.B. W.; KUTTULEBBAI, N. S. S.; MD SALZIHAN, M.D. S. AND SUNIL, G. Differential Responses to Blood Pressure and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar-Kyoto Rats and Spontaneously Hypertensive Rats: Effects of Antioxidant (Honey) Treatment. **Int J Mol Sci**. v.12, n.3, p.1888–1907, 2011.

PAGAN, L.U.; DAMATTO, R.L.; CEZAR, M.D.; LIMA, A.R.; BONOMO, C.; CAMPOS, D.H.; GOMES, M.J.; MARTINEZ, P.F.; OLIVEIRA, S.A.Jr.; GIMENES, R.; ROSA, C.M.; GUIZONI, D.M.; MOUKBEL, Y.C.; CICOGNA, A.C.; OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K. Long-Term Low Intensity Physical Exercise Attenuates Heart Failure Development in Aging Spontaneously Hypertensive Rats. **Cell Physiol Biochem**. v.36, n.1, p.61-74, 2015.

PAGAN, L.U. **Influência do Exercício Físico no Remodelamento Cardíaco, Estresse Oxidativo e Vias de Sinalização das MAPK e do NF-κB de Ratos Espontaneamente Hipertensos**. Tese apresentada a Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica. Botucatu. 2018.

PEERS, A.; CAMPBELL, D.J.; WINTOUR, E.M.; DODIC, M. The peripheral renin-angiotensin system is not involved in the hypertension of sheep exposed to prenatal dexamethasone. **Clin Exp Pharmacol Physiol** v.28, n.4, p.306–311, 2001.

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

PLUIM, B.M.; ZWINDERMAN, A.H.; VAN DER LAARSE, A.; VAN DER WALL, E.E. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation**. v.101, n.3, p.336-344, 2000.

RAFACHO, A.; ROMA, L.P.; TABOGA, S.R.; BOSCHERO, A.C.; BOSQUEIRO, J.R. dexamethasone-induced insulin resistance is associated with increased connexin 36 mRNA and protein expression in pancreatic rat islets. **Can J Physiol Pharmacol**, 85, n.5, p.536-45, 2007.

REN, R.; OAKLEY, R.H.; CRUZ-TOPETE, D.; CIDLOWSKI, J.A. Dual role for glucocorticoids in cardiomyocyte hypertrophy and apoptosis. **Endocrinology** v.153, p.5346-5360, 2012.

ROSSONI, L.V.; OLIVEIRA, R.A.; CAFFARO, R.R.; MIANA, M.; SANZ-ROSA, D.; KOIKE, M.K.; DO AMARAL, S.L.; MICHELINI, L.C.; LAHERA, V.; CACHOFEIRO, V. Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**. v.29, n.12, p.2349-2358, 2011.

ROY, S.G.; DE, P.; MUKHERJEE, D.; CHANDER, V.; KONAR, A.; BANDYOPADHYAY, D.; BANDYOPADHYAY, A. Excesso f glucocorticoid induces cardiac dysfunction via Activating Angiotensin II pathway. **Cell Physiol Biochem**. v.24, p.01-10, 2009.

SANCHES, I. C. **Controle cardiovascular em fêmeas ooforectomizadas diabéticas: efeitos do treinamento físico dinâmico aeróbio, resistido ou combinado.** Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências Programa de Fisiopatologia. São Paulo. 2012

SAHN, D.J.; De MARIA, A.; KISSLO, J.; WEYMAN, A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. **Circulation**. v.58, n.6, p.1072-1083, 1978.

SANTOS, C.L.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R. Efeitos da administração de dexametasona *in vivo* sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes do tempo de tratamento. **Biosci J**, v. 23, n. 3, p. 101-110, 2007.

SILVA, S.D.; JARA, Z.P.; PERES, R.; LIMA, L.S.; SCAVONE, C.; MONTEZANO, A.C.; TOUYZ, R.M.; CASARINI, D.E.; MICHELINI, L.C. Temporal changes in cardiac oxidative stress, inflammation and remodeling induced by exercise in hypertension: Role for local angiotensin II reduction. **PLoS One**. v.12, n.12, p.0189535, 2017.

SEGAR, J.L.; ROGHAI, R.D.; SEGAR, E.M.; BAILEY, M.C.; SCHOLZ, T.D.; LAMB, F.S. Early gestation dexamethasone alters baroreflex and vascular responses in newborn lambs before hypertension. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v.291, n.2, p.R481-488, 2006.

STERN, J.E.; SONNER, P.M.; SON, S.J.S.; SILVA, F.C.P.; JACKSON, K.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes an increased neuronal excitability of NTS-projecting neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus in hypertensive rats. **J Neurophysiol**. v.107, n.10, p.2912-2921, 2012.

SUTHAHAR, N.; MEIJERS, W.C.; SILLJÉ, H.H.W.; DE BOER, R.A. From Inflammation to Fibrosis- Molecular and Cellular Mechanisms of Myocardial Tissue Remodelling and Perspectives on Differential Treatment Opportunities. **Curr Heart Fail Rep**. v.14, n.4, p.235-250, 2017.

SUZUKI, H.; HANDA, M.; KONDO, K.; SARUTA, T. Role of renin-angiotensin system in glucocorticoid hypertension in rats. **Am J Physiol**. v.243, n.1, p. E48-51, 1982.

TEI, C.; NISHIMURA, R.A.; SEWARD, J.B.; TAJIK, A.J. Noninvasive Doppler-derived myocardial performance index: correlation with simultaneous measurements of cardiac catheterization measurements. **J Am Soc Echocardiogr**. v.10, p.169-178, 1997.

TSUTSUI, H.; KINUGAWA, S.; MATSUSHIMA, S. Oxidative stress and heart failure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v.301, n.6, p.H2181-2190, 2011.

YAZAWA, H.; MIYACHI, M.; FURUKAWA, M.; TAKAHASHI, K.; TAKATSU, M.; TSUBOI, K.; OHTAKE, M.; MURASE, T.; HATTORI, T.; KATO, Y.; MUROHARA, T.; NAGATA, K. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition Promotes Coronary Angiogenesis in the Failing Heart of Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. **Journal of Cardiac Failure** v.17, n. 12, 2011.

WEBER, K.T. & BRILLA, C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. **Circulation**. v.83, n.6, p.1849-1865, 1991.

WEEKS, K.L. & MCMULLEN, J.R. The Athlete's Heart vs. the Failing Heart: Can Signaling Explain the Two Distinct Outcomes? **Physiology**. v.26, n.2, p.97-105, 2011.

WISLOFF, U.; STOYLEN, A.; LOENNECHEN, J.P.; BRUVOLD, M.; ROGNMO, O.; HARAM, P.M.; TJONNA, A.E.; HELGERUD, J.; SLORDAHL, S.A.; LEE, S.J.; VIDEM, V.; BYE, A.; SMITH, G.L.; NAJJAR, S.M.; ELLINGSEN, O.; SKJAERPE, T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. A randomized study. **Circulation**. v.115, n.24, p.3086-3094, 2007.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Bauru



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Influência do treinamento físico aeróbio no remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos tratados com dexametasona**", registrada com o nº 779 Vol. 1, sob a responsabilidade da Profª Drª. SANDRA LIA DO AMARAL CARDOSO - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" - UNESP - FACULDADE DE CIÊNCIAS, CAMPUS DE BAURU, em reunião de 14/09/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	De 15/09/2017 a 14/09/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Nº de animais	12
Peso/Idade	250g/45 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério
Espécie/linhagem/raça	Rato isogênico/SHR
Nº de animais	48
Peso/Idade	250g/45 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério


Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini
Coordenador da CEUA

Feam