

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FISIOLÓGICAS UFSCAR/UNESP**

**ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS, CARDÍACAS E VASCULARES INDUZIDAS**  
**PELO TREINAMENTO FÍSICO COMBINADO EM RATOS ESPONTANEAMENTE**  
**HIPERTENSOS TRATADOS OU NÃO COM DEXAMETASONA.**

**LIDIELI PAZIN TARDELLI**

**BAURU- SP**

**JULHO 2021**

**LIDIELI PAZIN TARDELLI**

**ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS, CARDÍACAS E VASCULARES INDUZIDAS  
PELO TREINAMENTO FÍSICO COMBINADO EM RATOS ESPONTANEAMENTE  
HIPERTENSOS TRATADOS OU NÃO COM DEXAMETASONA.**

Tese de doutorado apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Doutora junto ao Programa Interinstitucional de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas associação ampla UFSCar/UNESP.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Assoc. Sandra Lia do Amaral Cardoso**

**BAURU-SP  
JULHO 2021**

# FOLHA DE APROVAÇÃO EM REUNIÃO PELO PROGRAMA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SAO CARLOS

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

---

## Folha de Aprovação

---

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Lidieli Pazin Tardelli, realizada em 30/07/2021.

### Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso (UNESP)

Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos (USP)

Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani (UNESP)

Prof. Dr. Katashi Okoshi (UNESP)

Prof. Dr. Thiago José Dionísio (USP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

## **DEDICATÓRIA**

À minha família que são a representatividade de amor, união, persistência, trabalho e honestidade. Obrigada! Obrigada! Obrigada! Aos meus amigos, sempre foi mais fácil com vocês do meu lado. Minha eterna gratidão!

## AGRADECIMENTOS

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

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pesquisa e Ensino Superior – CAPES, pelo suporte financeiro durante meu doutorado (#88882.426901/2019-01).

Ao Prof. Dr. Katashi Okoshi (Faculdade de Medicina, UNESP de Botucatu) pela disponibilidade e realização da técnica de ecocardiograma. Pelos ensinamentos dessa nova técnica utilizada em nosso laboratório. Agradeço à dra. Luana Urbano Pagan pela parceria e amizade de longos anos que culminou nesse trabalho científico juntas.

Ao Prof. Dr. Carlos Vicentini (Departamento de Ciências Biológicas, UNESP de Bauru) por abrir as portas do seu laboratório e agregar mais conhecimento na minha vida acadêmica. Agradeço aos seus alunos Thalles e Diego por toda disponibilidade, paciência e ajuda no desenvolvimento no meu trabalho.

Aos meus amigos do LEFEx (Alison, Anderson, André, Danyelle, Francine, Mayara, Naiara e Vinicius) por toda parceria, experimentos, congressos, reflexões científicas e pessoais. Obrigada por se tornarem pessoas especiais que fizeram meus dias mais felizes. Vida longa a nossa amizade!

Obrigada especialmente, a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Assoc. Sandra Lia do Amaral Cardoso, responsável por aceitar e permitir a realização do meu sonho. Obrigada por acreditar em mim desde o começo e através da sua sabedoria, paciência e vocação para ensinar e transmitir o que sabe, somar o que hoje ninguém poderá me tirar: conhecimento! Muito obrigada!!!

Aos meus amigos e companheiros de vida que se fizeram tão presente e essenciais em todos os momentos memoráveis e difíceis que passei. À Carla que com sua bondade e empatia me fez enxergar um mundo diferente e mais feliz. À Raísa que prova que família é quem você escolhe e não precisa ter conta sanguínea. Às tão amadas e companheiras Laura, Deza, Lígia, Camila, Julia, Marcela e Tati que fazem parte da minha dose de alegria diária e que fizeram meus últimos meses serem mais leves embora tenham nos colocado mais distantes fisicamente.

Em especial os meus pais, Paulo e Meire, que são minha referência de amor e ética. Aos meus irmãos, Gustavo e Gabriela, que fazem todo o sentido para minha felicidade e existência. Vocês sempre serão meu orgulho e inspiração. Obrigado por todo apoio e incentivo para que eu chegasse até aqui! Meu amor por vocês é incondicional!

## RESUMO

A hipertensão arterial (HA) é acompanhada por alterações neurais, cardíacas e vasculares. A hipertensão induzida por dexametasona (DEX) é observada em animais normotensos, mas pouco se sabe sobre os efeitos da DEX na rigidez arterial e remodelamento vascular de ratos normotensos e espontaneamente hipertensos (SHR). O treinamento físico combinado (exercício aeróbio em dias alternados com exercício resistido) tem sido recomendado para prevenção e controle da HA, no entanto, os mecanismos induzidos pelo treinamento combinado para redução da PA de hipertensos ainda não são totalmente compreendidos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com DEX na pressão arterial (PA) e enrijecimento arterial de ratos Wistar e SHR, bem como avaliar os efeitos do treinamento combinado na hemodinâmica de SHR tratados ou não com DEX. Ratos Wistar e SHR foram tratados com DEX (50µg/kg *s.c.*) durante 14 dias. SHR foram submetidos a treinamento combinado por 74 dias ou mantidos sedentários e, nos últimos 14 dias foram tratados com DEX. Foram realizadas análises dos parâmetros ecocardiográficos, PA, velocidade de onda de pulso (VOP), bem como análises histológicas e morfométricas no miocárdio e artérias aorta, carótida e femoral. Os resultados mostram que o grupo SHR controle (SHR<sub>CT</sub>) teve maior PA que o grupo Wistar controle (W<sub>CT</sub>), associado a um desbalanço autonômico para o coração. Algumas alterações ecocardiográficas em SHR<sub>CT</sub> (*vs* W<sub>CT</sub>) foram sugestivas de remodelamento cardíaco: maior espessura relativa da parede (Esp.rel., +28%) e índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE, +26%); e menor diâmetro sistólico do VE (DSVE, -19%) e diâmetro diastólico do VE (DDVE, -10%), com discreta disfunção sistólica e função diastólica preservada. Além disso, o miocárdio dos SHR<sub>CT</sub> apresentou menor densidade de capilares e porcentagem de área de deposição de colágeno semelhante, quando comparados aos W<sub>CT</sub>. A VOP foi maior em SHR<sub>CT</sub> devido a maior deposição de colágeno aórtico. Ratos wistar tratados com DEX apresentaram maior PA (~23%) e desbalanço autonômico. A DEX não alterou a estrutura cardíaca no Wistar, mas a VOP (+21%) e a área de deposição de colágeno aórtico (+21%) foram maiores em comparação com o controle. Por outro lado, A DEX não alterou a PA ou a rigidez arterial de SHR, mas reduziu a esp.rel da parede do VE e a área de deposição de colágeno. Nos SHR, o treinamento combinado reduziu a PA (~18%) e a VOP (-20%), que foram associados a um melhor balanço autonômico para o coração, redução da deposição de colágeno no miocárdio (-18%), bem como menor deposição de colágeno na aorta (-23%), carótida (-35%) e femoral (-14%). Além disso, o treinamento combinado bloqueou completamente qualquer aumento de PA ou VOP induzidos por DEX em SHR, como aconteceu nos Wistar. Nem a DEX nem o treinamento combinado alteraram o remodelamento dos vasos. Em conclusão, os resultados sugerem um efeito diferencial da DEX na rigidez arterial, remodelação miocárdica e pressão arterial entre ratos Wistar e SHR. Por outro lado, o treinamento combinado se mostrou uma estratégia importante para reduzir a PA e a rigidez arterial em SHR, e essas respostas menores foram mantidas independentemente do tratamento com DEX.

**Palavras chaves:** Velocidade de onda de pulso; treinamento aeróbio; treinamento resistido; deposição colágeno; hipertensão; artérias

## ABSTRACT

Arterial hypertension (HT) is usually accompanied by neural, cardiac and vascular alterations. Dexamethasone (DEX)-induced hypertension is observed in normotensive rats, but little is known about the effects of DEX on arterial stiffness and vessel remodeling on normotensive and spontaneously hypertensive rats (SHR). Combined training (aerobic exercise on alternate days with resistance exercise) has been recommended as a preventive and non-pharmacological treatment for HT, but the mechanisms induced by combined training to reduce HT are not totally known. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of DEX treatment on arterial pressure (AP) and arterial stiffening of Wistar and SHR, as well as the effects of combined training on the hemodynamics of SHR treated or not with DEX. Wistar and SHR were treated with DEX (50 $\mu$ g/kg s.c.) for 14 days. SHR were submitted to combined training for 74 days and were treated with DEX during the last 14 days. Echocardiographic parameters, AP, pulse wave velocity (PWV), as well as histological and morphometric analyses of the heart and aorta, carotid and femoral arteries were performed. The results show that control SHR (SHR<sub>CT</sub>) had higher AP than control Wistar (W<sub>CT</sub>), associated with autonomic imbalance to the heart. Echocardiographic changes in SHR<sub>CT</sub> (vs W<sub>CT</sub>) were suggestive of cardiac remodeling: higher relative wall thickness (RWT, +28%) and left ventricle mass index (LVMI, +26%) and lower LV systolic diameter (LVSD, -19%) and LV diastolic diameter (LVDD, -10%), with slightly systolic dysfunction and preserved systolic function. In addition, SHR<sub>CT</sub> had lower myocardial capillary density and similar collagen deposition area. PWV was higher in SHR<sub>CT</sub> due to higher aortic collagen deposition. DEX-treated Wistar rats presented higher AP (~23%) and autonomic imbalance to the heart. DEX did not change cardiac structure in Wistar, but PWV (+21%) and aortic collagen deposition area (+21%) were higher compared with control. However, DEX did not change AP, autonomic balance to the heart or arterial stiffness in SHR, but reduced RWT and LV collagen deposition area (-12% vs SHR<sub>CT</sub>). On the other hand, combined training reduced AP (~18%), PWV (-20%) in SHR (SHR<sub>TCT</sub>), which was associated with better autonomic balance to the heart, reduced myocardial collagen deposition (-18%), as well as lower collagen deposition aorta (-23%), carotid (-35%) and femoral (-14%). In addition, combined training completely blocked any increase of AP or estimated PWV induced by DEX in SHR, as it does in normotensive rats. No effect of DEX treatment or combined training on vessel remodeling was observed in arteries. In conclusion, the results suggest a differential effect of dexamethasone on arterial stiffness, myocardial remodeling, and AP between Wistar and SHR. On the other hand, combined training proved to be an important strategy to reduce AP and arterial stiffness in SHR, and these lower responses were maintained regardless of DEX treatment.

**Keywords:** Pulse wave velocity; aerobic training; resistance training; collagen deposition; hypertension; arteries.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Ilustração do desenho experimental durante 74 dias. Peso corporal (PC), teste de capacidade física máxima (T<sub>máx</sub>), pressão arterial de cauda (PA cauda) e velocidade de onda de pulso (VOP) foram medidos ao longo do protocolo experimental. O treinamento combinado foi realizado durante 74 dias. O tratamento com DEX foi realizado nos últimos 14 dias. Ao final do protocolo experimental, análises ecocardiográficas e hemodinâmicas foram realizadas antes da eutanásia.....26
- Figura 2** - Ilustração do procedimento de estimação da velocidade de onda de pulso (VOP). Posicionamento do animal sobre a cama aquecedora e indicação da localização dos dois fotodiodos: um no membro superior direito (próximo ao cotovelo) e outro no membro posterior direito (próximo ao joelho). Os fotodiodos são conectados a 30 um computador e o tempo de trânsito (TT, ms) entre as artérias (trajeto carótida-femoral) é detectado pelo software pOpet 1.0. A distância entre o posicionamento dos fotodiodos deve ser incluída no software para calibração da medida de cada animal. A VOP é calculada pela fórmula:  $VOP (m/s) = D (m) / TT (s)$ , onde D seria a distância entre os fotodiodos. ....29
- Figura 3** - Valores de pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, Painel A), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, Painel B) e pressão arterial média (PAM, mmHg, Painel C) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=8), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=7), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=6). Significância: \* vs controle, # vs Wistar; p<0,05. ....36
- Figura 4** - Análise do balanço autonômico para o coração. Banda de baixa frequência (LF, nu), banda de alta frequência (HF, nu) e razão entre LF e HF (LF/HF) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=6), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=6), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=6) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=5). Significância: \* vs controle, # vs Wistar; p<0,05. ....37
- Figura 5** - Valores do diâmetro do miócito (Painel A, µm) e densidade capilar no miocárdio (Painel B, n/mm<sup>2</sup>) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=13), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=7), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=11). Significância: \* vs controle, # vs Wistar; p<0,05. ....39
- Figura 6** - Painel superior: Valores da porcentagem da área de deposição de colágeno do miocárdio dos grupos analisados: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=13), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=7), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=11). Painel inferior: Imagens de cortes transversais do miocárdio que ilustram a deposição de colágeno coradas com Picrosirius-red. A coloração em amarelo representa as fibras cardíacas e a coloração em vermelho, indicadas por setas, representam o tecido conjuntivo. Barra: 100µm,

400x. Wistar controle (Painel A), Wistar tratado com DEX (Painel B), SHR controle (Painel C) e SHR tratado com DEX (Painel D). Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p < 0,05$ . ..... 40

**Figura 7** - Valores estimados da velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) nos diferentes grupos analisados: Wistar controle ( $W_{CT}$ ,  $n=13$ ), Wistar tratado com DEX ( $W_{DEX}$ ,  $n=7$ ), SHR controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=8$ ) e SHR tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=11$ ). Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p < 0,05$ . ..... 41

**Figura 8 - Painel superior:** Valores da % da deposição de colágeno na aorta (Painel superior) dos grupos: Wistar controle ( $W_{CT}$ ,  $n=13$ ), Wistar tratado com DEX ( $W_{DEX}$ ,  $n=7$ ), SHR controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=8$ ) e SHR tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=11$ ). **Painel inferior:** Imagens representativas da deposição de colágeno na parede da aorta coradas com Picrosirius-red. As colorações em amarelo representam as fibras musculares lisas e as colorações em vermelho representam as fibras de colágeno. Cortes transversais ( $5 \mu\text{m}$ ) retirados da aorta torácica de um animal de cada grupo Wistar controle (Painel A), Wistar tratado com DEX (Painel B), SHR controle (Painel C) e SHR tratado com DEX (Painel D). Barra:  $50 \mu\text{m}$ , 200 X. Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p < 0,05$ . ..... 41

**Figura 9** - Valores de Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, Painel A), Pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, Painel B) e Pressão arterial média (PAM, mmHg, Painel C) entre todos os grupos SHR: sedentário controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=6$ ), sedentário tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=6$ ), treinado controle ( $SHR_{TCT}$ ,  $n=5$ ) e treinado tratado com DEX ( $SHR_{TDEX}$ ,  $n=7$ ). Significância: \* vs controle, + vs sedentário;  $p < 0,05$ . ..... 46

**Figura 10** - Análise do balanço autonômico para o coração. Baixa frequência no intervalo de pulso (LF, nu, Painel A), Alta frequência (HF, nu, Painel B) e Razão entre LF e HF (LF/HF, Painel C) entre todos os grupos SHR: sedentário controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=6$ ), sedentário tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=6$ ), treinado controle ( $SHR_{TCT}$ ,  $n=5$ ) e treinado tratado com DEX ( $SHR_{TDEX}$ ,  $n=6$ ). Significância: \* vs controle, + vs sedentário;  $p < 0,05$ . ..... 47

**Figura 11** - Painel da direita representa imagens da deposição de colágeno no miocárdio coradas com Picrosirius red. A coloração em amarelo representa as fibras cardíacas e a coloração em vermelho indicadas por setas representam o tecido conjuntivo. Barra:  $100 \mu\text{m}$ , 400x. Sedentário controle (Painel A), Sedentário tratado com DEX (Painel B), Treinado controle (Painel C) e Treinado tratado com DEX (Painel D). Painel da esquerda representa valores da área de deposição de colágeno do miocárdio (%) de todos os grupos SHR: Sedentário controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=8$ ), Sedentário tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=10$ ), Treinado controle ( $SHR_{TCT}$ ,  $n=12$ ) e Treinado tratado com DEX ( $SHR_{TDEX}$ ,  $n=11$ ). Significância: \* vs Controle, + vs Sedentário;  $p < 0,05$ . ..... 49

**Figura 12** - Valores estimados de velocidade de onda de pulso (A, VOP, m/s) e de pressão arterial sistólica (B, medida por pletismografia de cauda, mmHg) no início e final do protocolo de treinamento combinado (8 semanas) antes do tratamento com DEX em todos os grupos SHR: Sedentário (n=23) e Treinado (n=28). Significância: \$ vs inicial; + vs sedentário;  $p < 0,05$ . .... 49

**Figura 13** - Valores estimados de velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) no final do protocolo experimental em todos os grupos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=11), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=12), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=15) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n=13). Significância: + vs sedentário;  $p < 0,05$ . ..... 50

**Figura 14** - Painel superior mostra valores da área de deposição de colágeno nas artérias. Aorta (%), Painel A), carótida (%), Painel B) e femoral (%), Painel C) em todos os grupos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=7), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=10), Treinado Controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=12) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n=10). Significância: + vs sedentário;  $p < 0,05$ . Painel inferior representa imagens representativas da área de deposição de colágeno nas artérias aorta (Painel A), carótida (Painel B) e femoral (Painel C). Cortes transversais (5 $\mu$ m) retirados de cada animal foram corados com Picrosirius-red. As manchas de amarelo representam as fibras musculares lisas e as manchas de vermelho representam as fibras de colágeno. Barra: 50 $\mu$ m. .... 51

**Figura 15** - Imagens representativas da morfometria nas artérias aorta (Painel A), carótida (Painel B) e femoral (Painel C). Cortes transversais (10 $\mu$ m) retirados de cada animal foram corados com Hematoxilina-Eosina. Barra: 1 mm (Painel A) e 500  $\mu$ m (Painel B e C). ..... 53

**Figura 16** - Correlação entre velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) e % área de deposição de colágeno arterial: aorta ( $r=0,606$ ,  $p < 0,0001$ , Painel A), carótida ( $r=0,447$ ,  $p=0,02$ , Painel B) e femoral ( $r=0,370$ ,  $p < 0,04$ , Painel C) em todos os ratos SHR. Correlação entre a pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) e a velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) ( $r=0,484$ ,  $p < 0,001$ , Painel D) em todos os ratos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=7), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=9), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=12) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n=10). Significância: \*  $p < 0,005$ , \*\* $p < 0,001$ . ..... 54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Peso corporal e parâmetros ecocardiográficos entre animais sedentários normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR) .....	38
<b>Tabela 2</b> - Dados morfométricos da aorta entre animais sedentários normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR) tratados ou não com DEX .....	42
<b>Tabela 3</b> - Parâmetros do peso corporal e capacidade física durante o treinamento combinado e tratamento com DEX nos grupos SHR. ....	45
<b>Tabela 4</b> - Efeitos do tratamento com dexametasona e treinamento combinado nos parâmetros estruturais, funcionais e análises histológicas do ventrículo esquerdo nos grupos SHR .....	48
<b>Tabela 5</b> - Análise morfométrica da aorta, carótida e femoral em todos os grupos SHR. ....	52

## LISTA DE ABREVIACOES

HA: hipertensão arterial

SHR: rato espontaneamente hipertenso

VOP: velocidade de onda de pulso

PA: pressão arterial

VE: ventrículo esquerdo

LF: baixa frequência

HF: alta frequência

DSVE: diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo

DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo

IMVE: ndice de massa do ventrículo esquerdo

Esp. Rel. VE: espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo

VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior

FEVE: frao de ejeo

TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico

E/A: razão da onda (E) dividido pela onda (A)

PC: peso corporal

AST ext: rea de seco transversa externa

AST int: rea de seco transversa interna

D ext: diâmetro externo

D int: diâmetro interno

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	16
1.1 Hipertensão arterial.....	16
1.2 Dexametasona.....	18
1.3 Treinamento combinado e tratamento com DEX .....	20
2. HIPÓTESE.....	23
3. OBJETIVO.....	24
3.1 Objetivos Específicos.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	25
4.1 Grupos experimentais .....	25
4.2 Desenho experimental.....	26
4.3 Protocolo de treinamento combinado .....	26
4.3.1 Treinamento aeróbio: .....	27
4.3.2 Treinamento resistido:.....	27
4.4 Tratamento farmacológico .....	28
4.5 Análise ecocardiográfica.....	28
4.6 Análise da velocidade de onda de pulso .....	29
4.7 Análise da pressão arterial .....	30
4.7.1 Pressão arterial sistólica (PA por pletismografia de cauda).....	30
4.7.2 Confeção de cânulas e canulação .....	30
4.7.3 Registro de pressão arterial direta e análise espectral .....	31
4.8 Procedimentos histológicos para análises morfométricas/morfológicas .....	31
4.8.1 Análises morfométricas de densidade capilar, diâmetro de miócitos e deposição de colágeno do VE.....	32
4.8.2 Análises morfométricas e deposição de colágeno nas artérias aorta torácica, carótida e femoral.....	33
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	35
6. RESULTADOS.....	36
6.1 Efeitos da hipertensão .....	36
6.2 Efeitos do tratamento com DEX em normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR) sedentários.....	42
6.3 Efeitos do treinamento combinado em SHR controles e tratados com DEX .....	43
7. DISCUSSÃO.....	55
8. CONCLUSÃO .....	67

9. REFERÊNCIAS .....	68
10. ANEXO .....	84

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Hipertensão arterial

A hipertensão arterial (HA) é um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, com grande impacto na morbidade e mortalidade populacional (DI CHIARA; SCAGLIONE; CORRAO; ARGANO *et al.*, 2017; WANI-PAREKH; BLANCO-GARCIA; MENDEZ; MUKHERJEE, 2017). HA é uma condição clínica multifatorial que afeta mais de 4 milhões dos brasileiros (DATASUS, 2021) e é caracterizada por pressão arterial sistólica (PAS)  $\geq 140$  mmHg e / ou pressão arterial diastólica (PAD)  $\geq 90$  mmHg (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021). Com números cada vez mais acentuados nas internações hospitalares, a HA tornou-se um problema para a saúde pública por sua abrangência e por demandar enormes gastos e níveis de absenteísmo.

A HA geralmente é acompanhada por um desbalanço autonômico para o coração, hipertrofia cardíaca e rigidez arterial (BERNARDO; WEEKS; PRETORIUS; MCMULLEN, 2010; LI; HE; ZHAO; LI *et al.*, 2016; ROSSONI; OLIVEIRA; CAFFARO; MIANA *et al.*, 2011; STERN; TATTERSALL; GEPNER; KORCARZ *et al.*, 2015). O progresso da hipertensão é normalmente acompanhado por remodelamento cardíaco que, por sua vez, é induzido por alterações gênicas, moleculares, celulares e intersticiais manifestadas no coração, permitindo anormalidades em seu funcionamento, tamanho e forma com o aumento da PA (COHN; FERRARI; SHARPE, 2000). As alterações cardíacas são caracterizadas por hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE) e disfunção ventricular sistólica e/ou diastólica, que muitas vezes se agravam junto ao processo de envelhecimento (PAGAN; DAMATTO; CEZAR; LIMA *et al.*, 2015). O aumento da massa do miocárdio é também uma característica presente da hipertrofia cardíaca, decorrente de processos patológicos ou fisiológicos. Em animais espontaneamente hipertensos (SHR), mesmo com apenas 5 meses de idade, percebe-se maior espessura relativa da parede do VE, maior tamanho de miócito e aumento do índice de massa do VE (IMVE) (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021), que pode ser induzida por sobrecarga de pressão (BERNARDO; WEEKS; PRETORIUS; MCMULLEN, 2010). No processo de remodelamento cardíaco induzido por HA além de haver hipertrofia em miócitos, também ocorre alteração na produção e deposição de colágeno intersticial (COHN; FERRARI; SHARPE, 2000; DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ



*et al.*, 2021), o que favorece o aumento de fibrose e aumento da rigidez do músculo (VILLARI; CAMPBELL; HESS; MALL *et al.*, 1993).

A rigidez arterial, avaliada pela técnica de velocidade de onda de pulso (VOP), que acompanha o desenvolvimento da HA, tem sido reconhecida como um marcador de danos a órgãos alvos associados à idade e eventos cardiovasculares futuros, bem como marcador de mortalidade por todas essas causas (BEN-SHLOMO; SPEARS; BOUSTRED; MAY *et al.*, 2014; SCUTERI; MORRELL; FEGATELLI; FIORILLO *et al.*, 2020; VLACHOPOULOS; AZNAOURIDIS; STEFANADIS, 2010; 2014). Estudos têm demonstrado que a medida de VOP é uma técnica não invasiva que reflete o efeito a longo prazo dos fatores de risco como diabetes, aterosclerose, síndrome metabólica e hipertensão na parede arterial (DEMIR; AVCI; ERGULU ESMEN; TUNCEZ *et al.*, 2021; LAMBRINOUDAKI; KAZANI; ARMENI; RIZOS *et al.*, 2018; LITHOVIUS; GORDIN; FORSBLOM; SARAHEIMO *et al.*, 2018; PUTAREK; BANFIC; PASALIC; KRNIC *et al.*, 2018; SCUTERI; CUNHA; AGABITI ROSEI; BADARIERE *et al.*, 2014; SI; LIU, 2019).

Embora não esteja claro se a rigidez arterial é dependente ou independente o desenvolvimento de HA (HAGG; ANDERSSON; NAYLOR; GRONROS *et al.*, 2004; LINDESAY; BEZIE; RAGONNET; DUCHATELLE *et al.*, 2018; MARTINEZ-MARTINEZ; RODRIGUEZ; GALAN; MIANA *et al.*, 2016), alterações vasculares são comumente observadas na HA primária ou secundária (DUPONT; KENNEY; PATEL; JAFFE, 2019; MOZOS; MALAINER; HORBANCZUK; GUG *et al.*, 2017; SCANDALE; DIMITROV; RECCHIA; CARZANIGA *et al.*, 2020). O remodelamento vascular na HA envolve tanto a musculatura lisa vascular quanto os componentes da matrix extracelular, os quais dão suporte para a estrutura e funcionalidade, elasticidade e resistência da parede do vaso (FRIDEZ; ZULLIGER; BOBARD; MONTORZI *et al.*, 2003). Esses elementos estão dispostos nas paredes dos vasos formados por três camadas distintas: a túnica íntima, que é constituída pelo endotélio e por tecido subendotelial; túnica média, que é constituída na sua maior parte por músculo liso; e a túnica adventícia, que é constituída principalmente por colágeno e elastina (BRASSELET; DURAND; ADDAD; AL HAJ ZEN *et al.*, 2005).

A rigidez arterial está normalmente associada ao desequilíbrio entre componentes da matriz extracelular (como colágeno e elastina), alterações nas células do músculo liso e/ou remodelamento dos vasos (JORDAO; LADD; COPPI; CHOPARD *et al.*, 2011; LACOLLEY; REGNAULT; SEGERS; LAURENT, 2017; SEHGEL; VATNER; MEININGER, 2015). Além disso, pesquisadores demonstraram que a HA causa dano ao endotélio aórtico, inflamação e fibrose (WU; SALEH; KIRABO; ITANI *et al.*, 2016), o que

aumenta a rigidez arterial (HAGG; ANDERSSON; NAYLOR; GRONROS *et al.*, 2004; MARTINEZ-MARTINEZ; RODRIGUEZ; GALAN; MIANA *et al.*, 2016). Em SHR, sabe-se que a área de deposição de colágeno aórtico é maior do que em animais normotensos (ARTHUR-ATAAM; BIDEAUX; CHARRABI; SICARD *et al.*, 2019; BUNBUPHA; PRACHANEY; KUKONGVIRIYAPAN; KUKONGVIRIYAPAN *et al.*, 2015; CHAMIOT CLERC; RENAUD; BLACHER; LEGRAND *et al.*, 1999; HAYS; MA; ZHOU; STOLL *et al.*, 2018; JORDAO; LADD; COPPI; CHOPARD *et al.*, 2011; ZALBA; BEAUMONT; SAN JOSE; FORTUNO *et al.*, 2000) e este, por sua vez, tem sido considerado importante para o aumento de rigidez arterial e menor distensibilidade na aorta de SHR (CHAMIOT CLERC; RENAUD; BLACHER; LEGRAND *et al.*, 1999).

Portanto, compreender os mecanismos envolvidos na rigidez vascular é um alvo emergente para tratar a HA.

## 1.2 Dexametasona

A dexametasona (DEX) é um glicocorticóide amplamente utilizado na prática clínica para o tratamento de diversas doenças, principalmente por seus efeitos anti-inflamatórios e antialérgicos (KIM; KOO; SHIN; BAN *et al.*, 2016; PANIAGUA; LOPEZ; MUNOZ; TAMES *et al.*, 2017). Já está bem descrito na literatura que o tratamento com DEX induz HA, dependente da dose, da forma de administração do medicamento e do período de tratamento, tanto em animais (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; DODIC; PEERS; COGHLAN; MAY *et al.*, 1999; HERRERA; DUCHATSCH; TARDELLI; DIONISIO *et al.*, 2020; HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020; JOUKAR; EBRAHIMI; KHAZAEI; BASHIRI *et al.*, 2017; MONDO; YANG; ZHANG; HUANG, 2006; ONG; VOHRA; ZHANG; SUTTON *et al.*, 2013) quanto em humanos (ANWAR; SALEH; AL OLABI; AL SHEHABI *et al.*, 2016; BROTMAN; GIROD; GARCIA; PATEL *et al.*, 2005; WILLIAMSON; ONG; WHITWORTH; KELLY, 2015), mas os efeitos da DEX sobre a rigidez arterial ainda não estão claros. Nos últimos anos, nosso grupo tem mostrado os efeitos diferenciais da DEX na pressão arterial, balanço autonômico e remodelamento do miocárdio de animais normotensos Wistar (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; DUCHATSCH; CONSTANTINO; HERRERA; FABRICIO *et al.*, 2018; HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*,

2020) e recentemente alguns desses efeitos em SHR (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021).

Múltiplos mecanismos foram identificados para contribuir com a HA induzida pelo uso crônico de DEX em Wistar, entre eles pode-se citar o aumento da modulação simpática vascular, desbalanço autonômico para o coração e redução da efetividade da atividade barorreflexa (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; DUCHATSCH; CONSTANTINO; HERRERA; FABRICIO *et al.*, 2018; FLETCHER; GARDNER; EDWARDS; FOWDEN *et al.*, 2003; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; SEGAR; ROGHAI; SEGAR; BAILEY *et al.*, 2006), estresse oxidativo (JOUKAR; EBRAHIMI; KHAZAEI; BASHIRI *et al.*, 2017; MONDO; YANG; ZHANG; HUANG, 2006; SCHAFFER; WALLERATH; CLOSS; SCHMIDT *et al.*, 2005), aumento da atividade do sistema renina angiotensina (FORHEAD; GILLESPIE; FOWDEN, 2000; FORHEAD; JELLYMAN; DE BLASIO; JOHNSON *et al.*, 2015; HOSHINO; SAKAMAKI; NAKAMURA; KOBAYASHI *et al.*, 1994) e rarefação da microcirculação do músculo esquelético (HERRERA; DUCHATSCH; TARDELLI; DIONISIO *et al.*, 2020; HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020).

Pouco ainda se sabe sobre os efeitos do tratamento com DEX em indivíduos hipertensos. Sabendo-se que indivíduos hipertensos podem necessitar de tratamento com DEX por diversos motivos, é importante avaliar os efeitos da DEX em animais hipertensos, principalmente baseados nos estudos em animais normotensos. Recentemente, resultados de nosso grupo demonstraram que o tratamento com DEX parece melhorar a função cardíaca por reduzir a deposição de colágeno do ventrículo esquerdo (VE) e promover angiogênese no miocárdio (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021), no entanto os efeitos do tratamento com DEX no remodelamento cardíaco ainda são controversos. Alguns autores mostraram que a DEX causa hipertrofia de cardiomiócitos e disfunção cardíaca (DE; ROY; KAR; BANDYOPADHYAY, 2011; DE SALVI GUIMARAES; DE MORAES; BOZI; SOUZA *et al.*, 2017; DODIC; SAMUEL; MORITZ; WINTOUR *et al.*, 2001; MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020; MUANGMINGSUK; INGRAM; GUPTA; ARCILLA *et al.*, 2000; REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012) e outros autores mostraram efeitos cardioprotetores da DEX (AGUILAR; STROM; CHEN, 2014; DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA;

RUIZ *et al.*, 2021; REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012; XIA; NA; GUO; BI *et al.*, 2007; XU; STROM; CHEN, 2011).

Esses resultados são controversos porque a maioria dos estudos da literatura que utilizam doses mais altas de DEX, por exemplo, De Salvi et al (DE SALVI GUIMARAES; DE MORAES; BOZI; SOUZA *et al.*, 2017) encontraram maior peso do coração, fibrose cardíaca, apoptose e dano genético de cardiomiócitos, sugerindo remodelamento cardíaco patológico causado pela DEX em animais normotensos. Por outro lado, outros estudos têm mostrado o efeito benéfico do tratamento com DEX, como por exemplo em animais com oclusão coronária, a DEX diminui a área de infarto e reduz a apoptose de cardiomiócitos (XU; STROM; CHEN, 2011). Alguns autores justificam que a DEX em dose mais baixa pode aumentar a ativação da proteína Bcl-2 em situações patológicas, que é uma proteína antiapoptótica, desencadeando melhora da estrutura e funcionamento cardíaco (CHEN; ALEXANDER; SUN; XIE *et al.*, 2005; XU; STROM; CHEN, 2011).

Nada se sabe sobre os efeitos da DEX na rigidez arterial e remodelamento vascular de normotensos ou hipertensos. Resultados preliminares do nosso grupo (DE PAULA, 2019) sugeriram que a hipertensão induzida por DEX era acompanhada por aumento da rigidez arterial em ratos normotensos, mas os mecanismos envolvidos ainda não estão totalmente esclarecidos.

### **1.3 Treinamento combinado e tratamento com DEX**

O treinamento físico regular tem sido recomendado como terapia não farmacológica na prevenção e controle da HA (HANSEN; DENDALE; CONINX; VANHEES *et al.*, 2017; NERENBERG; ZARNKE; LEUNG; DASGUPTA *et al.*, 2018), associados ou não a tratamentos farmacológicos, como diuréticos, vasodilatadores, beta-bloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021; GRASSI; CATTANEO; SERAVALLE; LANFRANCHI *et al.*, 1998). Por esse aspecto, as progressivas descobertas dos benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos proporcionados após exercício físico agudo ou crônico, têm levado a novas pesquisas que sugerem mudanças no estilo de vida e prática de atividade física como prevenção e tratamento de doenças graves (PEDERSEN; SALTIN, 2015).

O treinamento físico combinado é constituído por exercícios aeróbios e exercícios resistidos, que podem ser realizados na mesma sessão ou em dias alternados. O exercício

aeróbio tem sido classificado pelo Colégio Americano de Medicina do Esporte (THOMPSON; ARENA; RIEBE; PESCATELLO *et al.*, 2013) como atividade naturalmente contínua e rítmica, que requer a participação de grandes grupos musculares. O exercício resistido, por sua vez, é definido como qualquer atividade que envolve execução breve e repetida de contrações musculares voluntárias contra uma carga aplicada (LEE; CARROLL, 2007). De qualquer forma, o treinamento físico aeróbio é eficiente em reduzir e controlar valores de PA e promove benefícios específicos na HA, como melhora do balanço autonômico, da sensibilidade barorreflexa e bradicardia de repouso (BRUM; DA SILVA; MOREIRA; IDA *et al.*, 2000; MASSON; COSTA; YSHII; FERNANDES *et al.*, 2014). Além disso, o treinamento aeróbio, especificamente, promove atenuação do remodelamento cardíaco patológico (CATTADORI; SEGURINI; PICOZZI; PADELETTI *et al.*, 2018; GIELEN; LAUGHLIN; O'CONNER; DUNCKER, 2015; JOHNSON; DIETER; MARSH, 2015) e melhora da rigidez arterial (COLLIER; KANALEY; CARHART; FRECHETTE *et al.*, 2008; GUIMARAES; CIOLAC; CARVALHO; D'AVILA *et al.*, 2010; LOPES; AFREIXO; TEIXEIRA; GARCIA *et al.*, 2021) em humanos hipertensos. Em animais SHR, o treinamento aeróbio promove angiogênese no VE e redução da fibrose do miocárdio, resultando na melhora da funcionalidade cardíaca (GARCIARENA; PINILLA; NOLLY; LAGUENS *et al.*, 2009; MIYACHI; YAZAWA; FURUKAWA; TSUBOI *et al.*, 2009; PAGAN; DAMATTO; GOMES; LIMA *et al.*, 2019; ROSSONI; OLIVEIRA; CAFFARO; MIANA *et al.*, 2011). Além disso, treinamento aeróbio em SHR é conhecido por alterar a morfologia dos vasos (ROQUE; BRIONES; GARCIA-REDONDO; GALAN *et al.*, 2013) e possivelmente indicar melhora na rigidez arterial.

Em modelo de hipertensão induzida por DEX, o treinamento aeróbio prévio é capaz de atenuar o aumento da PA em Wistar causada por esse glicocorticóide (HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020) e os mecanismos responsáveis por esse efeito benéfico do exercício físico seriam a prevenção do desbalanço autonômico para o coração, prevenção do aumento da atividade simpática para os vasos e prevenção da rarefação muscular esquelética provocada pela DEX (HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020). No músculo esquelético, a DEX provoca redução de proteínas angiogênicas (VEGF, Bcl-2 e Bax) e aumento de proteínas apoptóticas (Caspase-3 clivada) e, o treinamento aeróbio por sua vez, atenua a

rarefação microvascular induzida pelo glicocorticóide melhorando o equilíbrio entre essas proteínas, o que pode acarretar na atenuação da hipertensão (JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020). Já, em SHR, o treinamento aeróbio promoveu melhora da função sistólica e diastólica em função da angiogênese cardíaca e redução da deposição de colágeno da parede do VE (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021), nos animais tratados com DEX.

O treinamento resistido, por sua vez, tem sido investigado como uma opção de tratamento não farmacológico para adultos pré-hipertensos e hipertensos (FECCHIO; BRITO; PECANHA; DE MORAES FORJAZ, 2021). Os resultados da literatura ainda são controversos, mas alguns estudos mostram o efeito do treinamento resistido de diferentes tipos e intensidades na pressão ambulatorial. Quando avaliado o efeito do exercício resistido agudo de baixa/moderada intensidade, observa-se hipotensão pós exercício (HPE) de até 10 horas (MELO; ALENCAR FILHO; TINUCCI; MION *et al.*, 2006), enquanto que o exercício resistido agudo de alta intensidade provoca HPE por apenas 1 hora (HARDY; TUCKER, 1998). Por outro lado, protocolos de treinamento resistido dinâmico em hipertensos provam ser eficazes em reduzir valores de PA, comparáveis ou até melhores que o próprio treinamento aeróbio (MACDONALD; JOHNSON; HUEDO-MEDINA; LIVINGSTON *et al.*, 2016). Esses dados provam que diferentes protocolos, de diferentes intensidades e tipos de exercícios, podem gerar resultados divergentes e, apesar de diversos estudos mostrarem que o treinamento resistido reduz a PA, pouco se sabe sobre os mecanismos que desencadeiam este efeito hipotensor. Recentemente, uma revisão sistemática de estudos com mulheres pré-hipertensas e hipertensas avaliou os efeitos vasculares do treinamento resistido nos mecanismos de redução de PA e afirmaram que este protocolo de treinamento físico provoca adaptações vasculares, melhorando a vasodilatação periférica em repouso, aumentando a função endotelial e a capacidade vasodilatadora microvascular (FECCHIO; BRITO; PECANHA; DE MORAES FORJAZ, 2021).

Atualmente, o treinamento combinado, que consiste em exercícios aeróbios e resistidos em dias alternados, tem sido associado à melhores respostas no controle de fatores de risco cardiovascular (DIAS; BERNARDES; STOYELL-CONTI; DOS SANTOS *et al.*, 2020b; RUANGTHAI; PHOEMSAPTHAWEE, 2019; SCHROEDER; FRANKE; SHARP; LEE, 2019; SHIMOJO; DA SILVA DIAS; MALFITANO; SANCHES *et al.*, 2018). No entanto, quase nada se sabe sobre os efeitos do treinamento físico na hemodinâmica, remodelamento cardíaco e rigidez arterial em SHR tratados ou não com DEX.

## **2. HIPÓTESE**

A hipótese desse trabalho foi que a HA induzida por DEX seria acompanhada de aumento de rigidez arterial, principalmente por meio de alterações neurais, cardíacas e vasculares em ratos Wistar e SHR. Além disso, esperava-se que o treinamento combinado poderia atenuar o aumento de PA e VOP em SHR tratados ou não com DEX, por melhorar o balanço autonômico para o coração, o remodelamento miocárdico e a deposição de colágeno nas artérias.

### 3. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com dexametasona na pressão arterial e enrijecimento arterial de ratos Wistar e SHR, bem como avaliar os efeitos do treinamento combinado na hemodinâmica de SHR tratados ou não com DEX.

#### 3.1 Objetivos Específicos

- ✓ Determinar os mecanismos que induzem alterações neurais, morfológicas e funcionais no coração e vasos de SHR comparados com Wistar;
- ✓ Determinar os mecanismos que induzem o aumento de pressão arterial em Wistar com o tratamento com DEX;
- ✓ Determinar se o tratamento com DEX induz aumento da rigidez arterial em Wistar e avaliar seus mecanismos;
- ✓ Determinar os mecanismos que induzem manutenção de pressão arterial em SHR com o tratamento com DEX;
- ✓ Determinar se o tratamento com DEX exacerba a rigidez arterial em SHR e avaliar seus mecanismos;
- ✓ Determinar qual a influência do TC na PA, balanço autonômico para o coração, remodelamento cardíaco e alterações vasculares em SHR tratados ou não com DEX.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 23 ratos normotensos (Wistar) provenientes do Biotério Central da UNESP, campus de Botucatu (SP) e 51 ratos espontaneamente hipertensos (SHR) provenientes do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo (SP) de 250-300 gramas e 3 meses de idade. 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°C, com livre acesso à ração e água. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências, UNESP-BAURU (Processo n° 775/2017), ANEXO 1.

### 4.1 Grupos experimentais

#### ✓ Grupos Wistar:

Grupo Sedentário Wistar controle ( $W_{CT}$ , n:13): composto por animais normotensos que permaneceram sedentários durante todo o protocolo experimental. O início do tratamento foi aos 61 dias do protocolo experimental, sendo que esses animais foram tratados diariamente com solução salina (salina no mesmo volume que a DEX, *s.c.*) por 14 dias.

Grupo Sedentário Wistar tratado com DEX ( $W_{DEX}$ , n:10): composto por animais normotensos que permaneceram sedentários durante todo o protocolo experimental. O início do tratamento foi aos 61 dias do protocolo experimental, sendo que esses animais foram tratados diariamente com Dexametasona (Decadron<sup>®</sup>, 50µg/kg de peso corporal, *s.c.*) por 14 dias.

#### ✓ Grupos SHR:

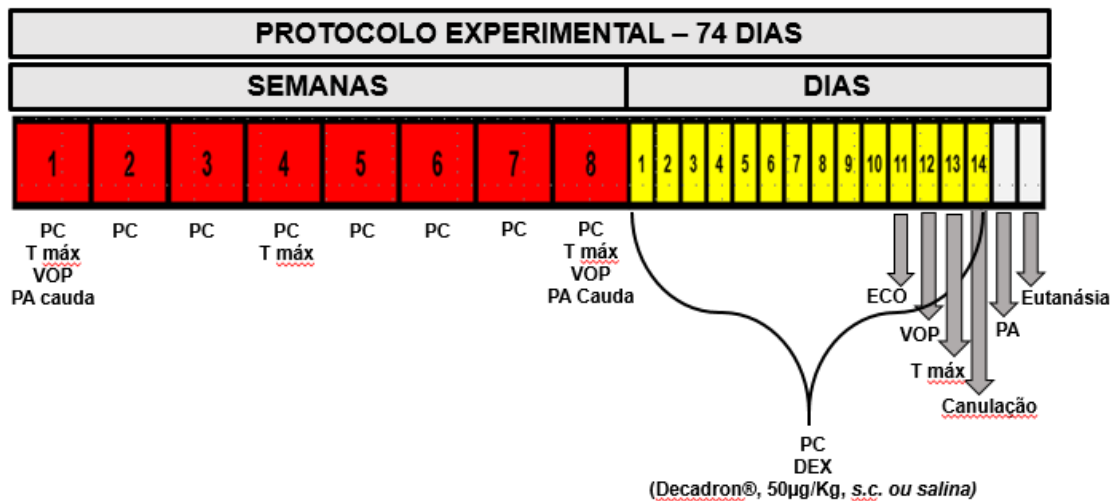
Sedentário SHR Controle ( $SHR_{SCT}$ , n:11): composto por animais espontaneamente hipertensos que permaneceram sedentários durante todo o protocolo experimental. O início do tratamento foi aos 61 dias do protocolo experimental, sendo que esses animais foram tratados diariamente com solução salina (salina, mesmo volume que a DEX, *s.c.*) por 14 dias.

Sedentário SHR tratado com DEX ( $SHR_{SDEX}$ , n:12): composto por animais que permaneceram sedentários durante todo o protocolo experimental. O início do tratamento foi aos 61 dias do protocolo experimental, sendo que esses animais foram tratados diariamente com Dexametasona (Decadron<sup>®</sup>, 50µg /kg de peso corporal, *s.c.*) por 14 dias.

Treinado SHR Controle ( $SHR_{TCT}$ ,  $n:15$ ): composto por animais que realizaram o treinamento combinado por 74 dias. O início do tratamento foi aos 61 dias do protocolo experimental, sendo que esses animais foram tratados diariamente com solução salina (salina, mesmo volume que a DEX, *s.c.*) por 14 dias.

Treinado SHR tratado com DEX ( $SHR_{TDEX}$ ,  $n:13$ ): composto por animais que realizaram o treinamento combinado por 74 dias, inclusive durante o tratamento farmacológico. O início do tratamento foi aos 61 dias do protocolo experimental, sendo que esses animais foram diariamente tratados com Dexametasona (Decadron®, 50µg/kg de peso corporal, *s.c.*) por 14 dias.

## 4.2 Desenho experimental



**Figura 1** - Ilustração do desenho experimental durante 74 dias. Peso corporal (PC), teste de capacidade física máxima (T<sub>máx</sub>), pressão arterial de cauda (PA cauda) e velocidade de onda de pulso (VOP) foram medidos ao longo do protocolo experimental. O treinamento combinado foi realizado durante 74 dias. O tratamento com DEX foi realizado nos últimos 14 dias. Ao final do protocolo experimental, análises ecocardiográficas e hemodinâmicas foram realizadas antes da eutanásia.

## 4.3 Protocolo de treinamento combinado

O treinamento combinado foi realizado em esteira motorizada e em escada vertical, em dias alternados, conforme descrito (DIAS; BERNARDES; STOYELL-CONTI; DOS SANTOS *et al.*, 2020b), durante 74 dias, conforme mostrado na Figura 1. É importante ressaltar que os animais sedentários foram adaptados à esteira e à escada para manter a capacidade de correr e subir a cada 2 semanas, e foram submetidos aos testes máximos nos mesmo períodos que os grupos treinados.

**4.3.1 Treinamento aeróbio:** Todos os animais foram adaptados a caminhar e correr por 5 dias em esteira motorizada (Inbramed, Millenium, Brasil) e realizaram o teste máximo (TEM-1), que avaliou a capacidade física individual conforme descrito anteriormente (Barel et al., 2010). O teste preconiza aumentos de 5 m/min a cada 3 minutos de exercício na esteira até a exaustão, ou seja, até o animal não conseguir completar o estágio na esteira. Como pode ser observado na Figura 1, este teste de capacidade física máxima foi repetido após 4 semanas (TEM-2), 8 semanas (TEM-3) e após os 14 dias de tratamento com a DEX (TEM-4), com a finalidade de reajustar as velocidades para manutenção da intensidade do treino até o final do protocolo experimental e para avaliar o efeito do treinamento físico, respectivamente, conforme publicado anteriormente (HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016). O treinamento aeróbio foi realizado na esteira, com intensidade baixa a moderada (40-60% da velocidade máxima de corrida avaliada nos testes), por 1 hora por dia (BAREL; PEREZ; GIOZZET; RAFACHO *et al.*, 2010), em dias alternados com treinamento resistido.

**4.3.2 Treinamento resistido:** Todos os animais também foram adaptados à escada vertical (110cm, 80° inclinada). Os animais eram colocados na base da escada e permitidos de subir espontaneamente. Ao atingirem o topo (caixa com 20 x 20 x 20 cm), descansavam por 2 min até a próxima subida. Esse procedimento foi realizado sucessivamente até que os animais realizassem 3 subidas consecutivas sem nenhum estímulo. Após a adaptação, os animais realizaram o teste de capacidade carregamento máximo voluntário (TCM-1) conforme publicado (MACEDO; KRUG; HERRERA; ZAGO *et al.*, 2014). Este teste de carregamento de carga máxima foi repetido após 4 semanas (TCM-2), 8 semanas (TCM-3) e após os 14 dias de tratamento com a DEX (TCM-4) com a finalidade de reajustar as cargas para manutenção da intensidade do treino até o final do protocolo experimental e para verificar a eficiência do treinamento, conforme publicado anteriormente (MACEDO; KRUG; HERRERA; ZAGO *et al.*, 2014). O treinamento resistido foi realizado na escada vertical, com intensidade baixa a moderada (40-60% da capacidade de carregamento de carga voluntária máxima), conforme descrito (MACEDO; KRUG; HERRERA; ZAGO *et al.*, 2014), em dias alternados com treinamento aeróbio.

#### 4.4 Tratamento farmacológico

O tratamento com dexametasona (Decadron, 50µg/kg de peso corporal, Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A) foi realizado diariamente em ratos Wistar e SHR às 9h por 14 dias. Os animais Wistar e SHR controle receberam solução salina no mesmo volume de DEX. Essa dose foi escolhida baseada em resultados prévios do nosso laboratório, os quais mostram que esta dosagem é capaz de induzir HA em animais normotensos (HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020).

#### 4.5 Análise ecocardiográfica

O exame de ecocardiograma foi realizado no 11º dia de tratamento com a DEX (Figura 1), 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 (0,5 mg/Kg, *i.p.*). Após realizar a tricotomia da região anterior do tórax e posicionados em decúbito lateral esquerdo, a avaliação dos fluxos transvalvar mitral e aórtico foi realizada através de um transdutor multifrequencial operando a 5,0 MHz, conectado em equipamento da General Electric Medical Systems, modelo Vivid S6 (Tirat Carmel, Israel)<sup>1</sup>. As variáveis morfológicas e funcionais do coração foram obtidas de acordo com metodologia previamente descrita (PAGAN; DAMATTO; CEZAR; LIMA *et al.*, 2015). Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas manualmente com auxílio de um paquímetro de precisão, de acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography. As estruturas cardíacas foram medidas em pelo menos cinco ciclos cardíacos consecutivos. As estruturas avaliadas foram: diâmetro sistólico (DSVE) do VE e diastólico (DDVE); espessura diastólica da parede posterior do VE (EDPP); espessura diastólica do septo intraventricular (EDSIV); diâmetro 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. A espessura relativa do VE foi calculada a partir da fórmula  $[(2 \times EDPP) / DDVE]$ . A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices: 1) velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), que é a tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior; 2) índice de performance miocárdica do VE (índice de Tei). 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

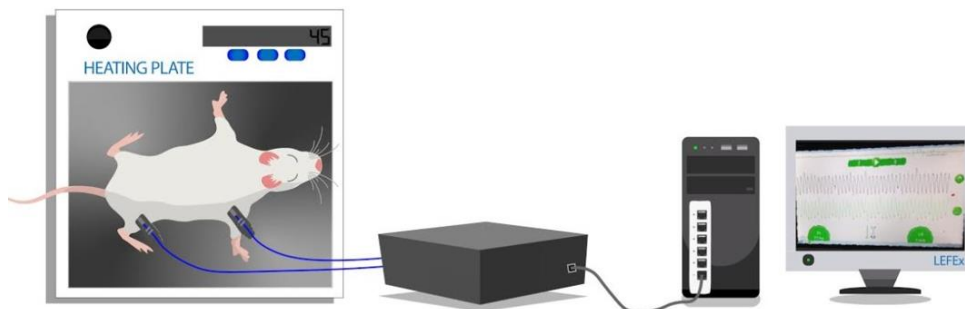
---

<sup>1</sup> Estes experimentos foram realizados em parceria com o laboratório UNIPEX, sob coordenação do prof. Titular Katashi Okoshi, na Faculdade de Medicina da UNESP, campus de Botucatu.

transmitral; 2) tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) (TRIV) (PAGAN; DAMATTO; CEZAR; LIMA *et al.*, 2015).

#### 4.6 Análise da velocidade de onda de pulso

As análises de velocidade de onda de pulso (VOP) foram realizadas no início do protocolo do experimental, ao final de 60 dias de período de treinamento combinado e aos 12 dias do tratamento com DEX, como mostrado na Figura 1. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/Kg, *i.p.*) e cloridrato de xilasina (10 mg/Kg, *i.p.*), seguindo os procedimentos publicados anteriormente (FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020; MIOTTO; DIONIZIO; JACOMINI; ZAGO *et al.*, 2021). A análise foi realizada a partir do posicionamento de dois probes (Axelife SAS, Saint Nicolas de Redon, France), um no membro anterior direito (próximo ao cotovelo) e outro no membro posterior direito (próximo ao joelho) dos animais anestesiados e esses animais se mantiveram em repouso sobre uma placa aquecedora, como mostrado na figura 2. Para obter um bom sinal, as avaliações foram realizadas em uma sala silenciosa, com a temperatura da sala mantida em 22°C e o aquecimento da placa entre 43-45°C. Após garantir a estabilização do sinal, o aquecimento era desligado e o posicionamento desses probes permitia que o dispositivo não invasivo pOpet registrasse o tempo de trânsito (TT, s) durante 10 segundos pelo software pOpet 1.0. A distância percorrida da onda de pulso foi estimada em cada rato pela distância (D, cm) medida por régua entre os probes. Assim, a VOP foi calculada, seguindo a fórmula:  $VOP (m/s) = D (m) / TT (s)$ , onde D seria a distância entre os probes. A média de 10 medidas foi considerada como valor estimado de VOP (FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020; MIOTTO; DIONIZIO; JACOMINI; ZAGO *et al.*, 2021).



**Figura 2** - Ilustração do procedimento de estimativa da velocidade de onda de pulso (VOP). Posicionamento do animal sobre a cama aquecedora e indicação da localização dos dois fotodiodos: um no membro superior direito (próximo ao cotovelo) e outro no membro posterior direito (próximo ao joelho). Os fotodiodos são conectados a 30 um computador e o tempo de trânsito (TT, ms) entre as artérias (trajeto carótida-femoral) é detectado pelo software pOpet 1.0. A distância entre o posicionamento dos fotodiodos deve ser incluída no software para calibração da medida de cada animal. A VOP é calculada pela fórmula:  $VOP (m/s) = D (m) / TT (s)$ , onde D seria a distância entre os fotodiodos.

## **4.7 Análise da pressão arterial**

### **4.7.1 Pressão arterial sistólica (PA por pletismografia de cauda)**

Todos os animais foram adaptados, por 5 dias, ao tubo cilíndrico de acrílico que mantinha o rato em repouso. As análises de PA sistólica (PAS) foram realizadas no início do protocolo do experimental, aos 30 dias e aos 60 dias de treinamento combinado, como mostrado na Figura 1. Para medição da PAS caudal foi utilizado o sistema de pletismografia (PanLab LE5001, Barcelona, Espanha) conforme publicado (MIOTTO; DIONIZIO; JACOMINI; ZAGO *et al.*, 2021; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021). Neste sistema um manguito foi posicionado ao redor da cauda do animal acordado que estava contido em um tubo cilíndrico, pré-aquecido a 37° C. Quando o pulso era detectado pelo transdutor, o manguito era inflado a uma PA de 300 mmHg. A partir do primeiro pulso detectado, durante o processo de deflação, foi determinada a PAS, considerando a média de 5 medidas.

### **4.7.2 Confeção de cânulas e canulação**

Para a realização da confecção das cânulas foram utilizados tubos de polietileno PE-50 (Scientific Commodities Inc.), os quais foram previamente soldados a tubos de polietileno PE-10 (Scientific Commodities Inc). No 14° dia de tratamento com DEX (Figura 1), após a última sessão de treino, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/Kg, *i.p.*) e cloridrato de xilasina (10 mg/Kg, *i.p.*) e posicionados em decúbito dorsal para realização de uma incisão na região ventral direita para dissecação e isolamento da artéria carótida. Após a localização da artéria carótida foi introduzida a cânula preenchida com solução fisiológica heparinizada. A parte oposta da cânula foi exteriorizada na região dorsal do animal, conforme descrito anteriormente por nosso laboratório (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; DUCHATSCH; CONSTANTINO; HERRERA; FABRICIO *et al.*, 2018; DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020; MIOTTO; DIONIZIO; JACOMINI; ZAGO *et al.*, 2021; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021). Durante a recuperação anestésica, os animais permaneceram aquecidos, em gaiolas individuais, com livre acesso à água e ração, até a realização dos experimentos no dia seguinte.

#### 4.7.3 Registro de pressão arterial direta e análise espectral

Após a recuperação da cirurgia por 24 h, a PA direta foi registrada continuamente nos ratos acordados, pela conexão da cânula da artéria carótida ao sistema de registro (transdutor + pré-amplificador, AD instrumenst<sup>®</sup>), que foi conectado ao computador. PA pulsátil foi registrada utilizando o software Lab Chart Pro 7.1 e a FC foi computada a partir dos pulsos de PA (DUCHATSCH; CONSTANTINO; HERRERA; FABRICIO *et al.*, 2018; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021). A partir do registro da PA direta, obtida por período de pelo menos 30 minutos, com frequência de aquisição de 2000 Hz, por meio do software LabChartPro 7.1, foi possível realizar a variabilidade da FC (VFC), sendo esta variabilidade quantificada pela média do desvio padrão. A análise no domínio da frequência foi feita pela decomposição do sistograma pela Transformada Rápida de Fourier. A partir destes dados foram obtidas as potências absolutas da banda de baixa frequência (LF, 0,20-0,75 Hz) (a potência absoluta da banda de alta frequência (HF, 0,75-3,0 Hz), que caracterizam a atividade simpática e parassimpática, respectivamente. O balanço simpato-vagal foi analisado pela razão de LF/HF (DUCHATSCH; CONSTANTINO; HERRERA; FABRICIO *et al.*, 2018; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021).

#### 4.8 Procedimentos histológicos para análises morfométricas/morfológicas

Ao final dos experimentos funcionais, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (160 mg/Kg, i.p.) e cloridrato de xilasina (20 mg/Kg, i.p.). Logo após a parada respiratória foi realizada uma incisão ventral, na linha mediana da região torácica com abertura do tórax, para expor o coração. Assim, os animais foram perfundidos utilizando uma bomba peristáltica (EngCO, EG-0.2) via ventrículo esquerdo, por meio da introdução da agulha no ápice do ventrículo esquerdo e abertura do átrio direito para extravasamento do sangue. A perfusão foi realizada na pressão de 30 mL/min utilizando solução salina estéril e posteriormente solução de paraformaldeído a 4% tamponado com PBS (FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020). Logo após, foi realizada a dissecação para a retirada dos tecidos: ventrículo esquerdo (VE), artéria aorta torácica, artéria carótida esquerda e artéria femoral esquerda. Após a remoção, os tecidos foram pré-fixados em solução de paraformaldeído tamponado com 4% durante 24 horas e armazenados na geladeira a 8°C.

Após 24 horas de fixação os tecidos foram submetidos às seguintes etapas:

- Os tecidos foram lavados e desidratados gradativamente em solução de etanol com as concentrações de 95% (2x de 30 minutos) e 100% (3x de 30 minutos), etapa de desidratação;
- Os tecidos foram mergulhados em xilol (3x de 30 minutos), etapa de diofanização;
- Os tecidos foram mergulhados em vidros contendo paraplast aquecido em estufa a 57-60°C (3x de 30 minutos), etapas de infiltração e inclusão;
- Posteriormente os tecidos foram emblocados em paraplast (Sigma Aldrich, USA) em forma de silicone e colocados em temperatura ambiente, etapa de emblocagem;

Após emblocagem do VE, aorta, femoral e carótida foram seccionados cortes transversais dos tecidos utilizando lâminas de ferro em micrótomo manual (Thermo/ Microm HM 325 Rotary Microtome, Artisan Technology Group, EUA) e colocados em lâminas de vidro. Todas as imagens foram capturadas através de câmera Leica MC170 HD, acoplada ao microscópio Leica DM4 B (aumento de 25 a 400x), dependendo dos diferentes tipos de tecidos. Todas as análises (off-line) foram realizadas usando o software ImageJ. Além disso, as análises foram realizadas às cegas para evitar qualquer interpretação subjetiva por parte do avaliador.

Em cada lâmina de vidro foram colocados de 3 a 6 cortes e para cada corte foram realizadas 3 fotos, totalizando 9 a 18 imagens por VE de cada animal. A montagem dos cortes foi realizada entre lâmina e lamínula.

#### **4.8.1 Análises morfométricas de densidade capilar, diâmetro de miócitos e deposição de colágeno do VE**

Cortes de 5µm foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE, Easy Path, SP) para análise de diâmetro do miócito e densidade capilar, conforme publicado anteriormente (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021). Para densidade capilar foram identificados os miócitos (em rosa) e os núcleos dos capilares em roxo. A densidade capilar foi calculada a partir da contagem de capilares da imagem e obtida a média dividida pela área da imagem (0,055488 µm<sup>2</sup>). Em seguida, a área foi normalizada em mm<sup>2</sup> e a densidade foi demonstrada em número de capilares/mm<sup>2</sup>, como previamente publicado (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021;



HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021; ROSSONI; OLIVEIRA; CAFFARO; MIANA *et al.*, 2011). Para diâmetro do miócito foram identificados os miócitos reconhecendo o núcleo e as membranas limitantes entre um miócito e outro. A partir de uma linha reta traçada entre as membranas passando pelo núcleo, foi obtida a análise de diâmetro de miócito ( $\mu\text{m}$ ), conforme demonstrado anteriormente (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021; ROSSONI; OLIVEIRA; CAFFARO; MIANA *et al.*, 2011).

Cortes de  $7\mu\text{m}$  foram corados com Picrosirius-red (Sigma Aldrich, EUA) para avaliar a deposição de colágeno (CURY; FREIRE; MARTINUCCI; DOS SANTOS *et al.*, 2018; DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021) que foi identificada pelos miócitos (em amarelo) e as fibras de colágeno (em vermelho). A quantificação da área de colágeno e a porcentagem (%) da área de colágeno foram calculadas automaticamente pelo software ImageJ, a partir da detecção de coloração vermelha numa determinada área (CURY; FREIRE; MARTINUCCI; DOS SANTOS *et al.*, 2018; DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021).

#### **4.8.2 Análises morfométricas e deposição de colágeno nas artérias aorta torácica, carótida e femoral.**

Cortes de  $10\mu\text{m}$  foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE, Easy Path, SP) para análises morfométricas das artérias (FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021). Para analisar a morfometria das artérias foram identificadas: a área de secção transversa externa (ASTe – lâmina elástica externa), área de secção transversa interna (ASTi – lâmina elástica interna), diâmetro externo (De) e diâmetro interno (Di). A partir desses valores, foram calculadas a espessura da parede  $[(\text{De}-\text{Di})/2]$ ,  $\mu\text{m}$ ) e a razão parede/luz (parede/Di), conforme publicado anteriormente (FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021).

Cortes de  $5\mu\text{m}$  foram corados com Picrosirius-red (Sigma Aldrich, USA) para quantificar a densidade de colágeno (CURY; FREIRE; MARTINUCCI; DOS SANTOS *et al.*, 2018) que foi identificada pelo músculo liso (em amarelo) e as fibras de colágeno (em vermelho). A quantificação da área de colágeno e a porcentagem (%) da área de colágeno foram calculadas

automaticamente pelo software ImageJ, a partir da detecção de coloração vermelha numa determinada área (CURY; FREIRE; MARTINUCCI; DOS SANTOS *et al.*, 2018).

## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

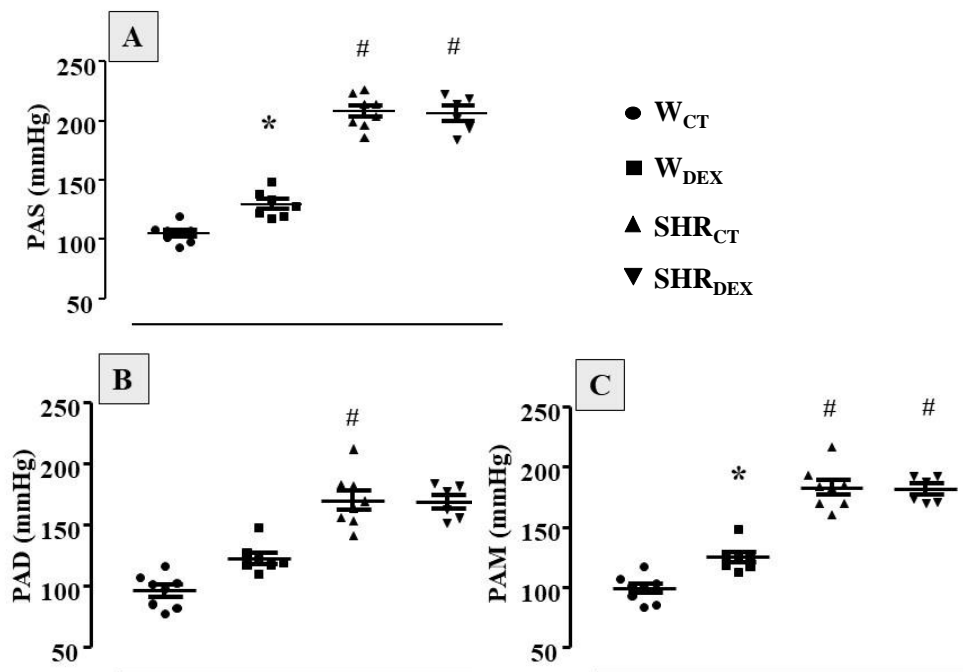
Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. A análise de variância (ANOVA) de duas vias foi usada para comparar 4 grupos sedentários ( $W_{CT}$ ,  $W_{DEX}$ ,  $SHR_{CT}$  e  $SHR_{DEX}$ ) e 4 grupos SHR ( $SHR_{SCT}$ ,  $SHR_{SDEX}$ ,  $SHR_{TCT}$  e  $SHR_{TDEX}$ ). ANOVA com medidas repetidas de dois fatores foi usada para PAS e VOP durante o período de treinamento em SHR. Post-hoc de Tukey foi usado quando houve interação entre os grupos. Testes de correlação de Pearson foram usados para associar dois parâmetros. Nível de significância adotado foi de 5%.

## 6. RESULTADOS

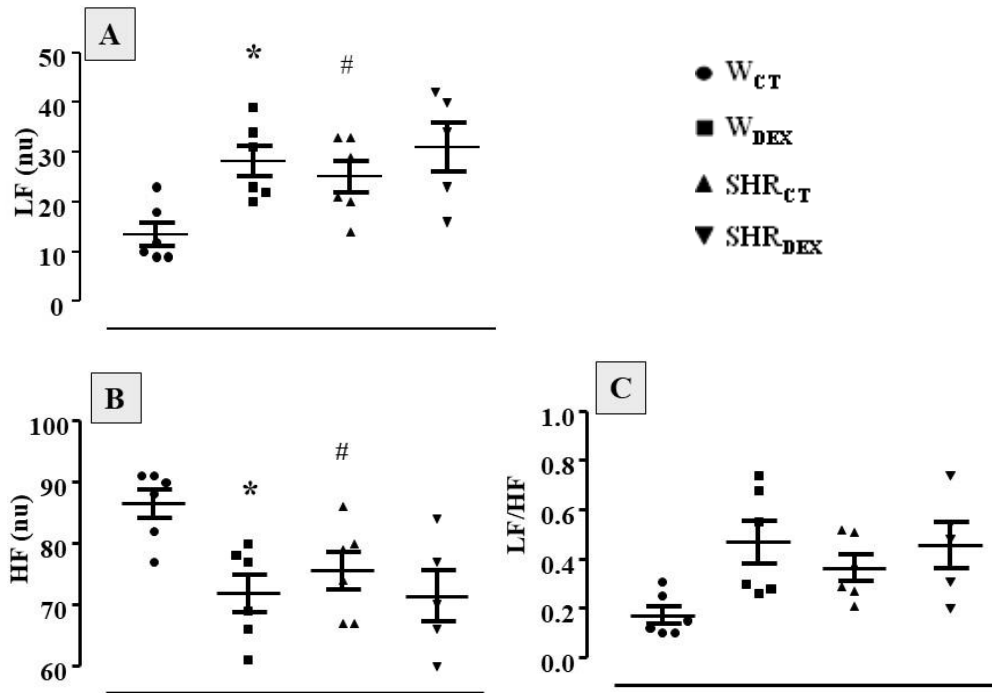
Para fins de facilitar a compreensão, os resultados foram divididos em duas partes, a saber: 1/ efeitos da hipertensão e do tratamento com a DEX, que inclui os animais normotensos e hipertensos sedentários; e 2/ efeitos do treinamento combinado nos SHR, tratados ou não com DEX.

### 6.1 Efeitos da hipertensão

A figura 3 mostra que ratos SHR<sub>CT</sub> apresentaram maior PAS ( $208 \pm 5$  vs  $105 \pm 3$  mmHg, Painei A), PAD ( $170 \pm 8$  vs  $95 \pm 5$  mmHg, Painei B) e PAM ( $183 \pm 8$  vs  $99 \pm 4$  mmHg, Painei C) quando comparados aos ratos W<sub>CT</sub>. Esta resposta foi acompanhada por valores mais altos de LF (+25%,  $p < 0,01$ , Painei A) e valores mais baixos de HF (-13%,  $p < 0,003$ , Painei B), como observado na figura 4.



**Figura 3** - Valores de pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, Painei A), pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, Painei B) e pressão arterial média (PAM, mmHg, Painei C) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=8), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=7), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=6). Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p < 0,05$ .



**Figura 4** - Análise do balanço autonômico para o coração. Banda de baixa frequência (LF, nu), banda de alta frequência (HF, nu) e razão entre LF e HF (LF/HF) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=6), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=6), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=6) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=5). Significância: \* vs controle, # vs Wistar; p<0,05.

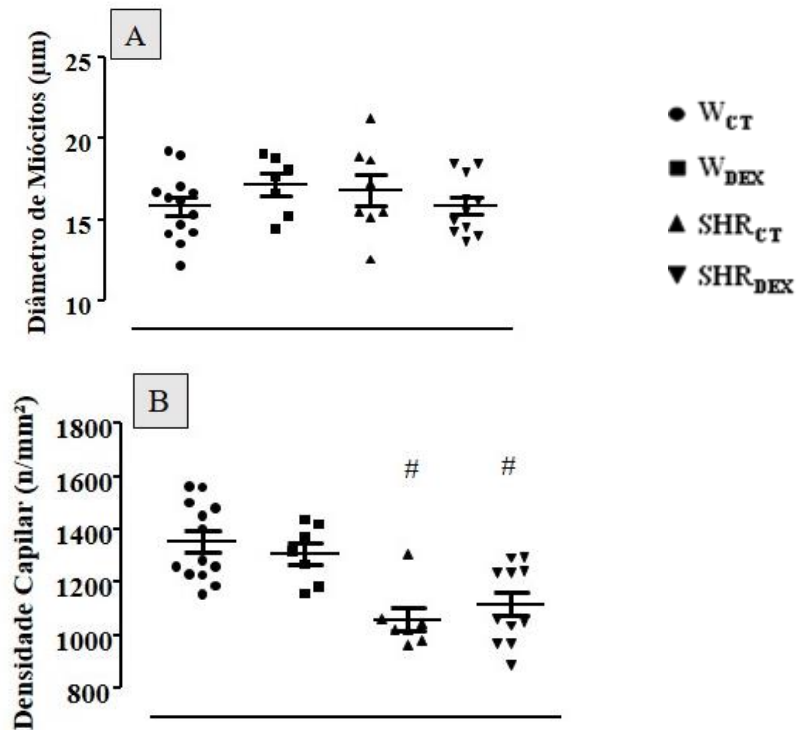
A Tabela 1 mostra os efeitos da HA *per se* nos parâmetros ecocardiográficos. Ratos SHR<sub>CT</sub> apresentaram menores valores de DSVE (-18%, p<0,05) e DDVE (-10%, p<0,05) acompanhados por aumento de diâmetro AE (+7%, p<0,012), de IMVE (+26%, p<0,05) e espessura relativa da parede do VE (+28%, p<0,05). Considerando a função cardíaca, SHR apresentou menor valor de VEPP (-9%, p<0,005), que está relacionado com a função sistólica. Outros parâmetros de função cardíaca não foram significativamente afetados pela HA.

**Tabela 1 - Peso corporal e parâmetros ecocardiográficos entre animais sedentários normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR)**

	<b>W<sub>CT</sub></b>	<b>W<sub>DEX</sub></b>	<b>SHR<sub>CT</sub></b>	<b>SHR<sub>DEX</sub></b>
<i>Peso corporal</i>				
<b>PC inicial, g</b>	435.4 ± 14.4	430.4 ± 9.6	328.9 ± 5.3 #	329.5 ± 6.8 #
<b>PC final, g</b>	437.2 ± 13.9	374.9 ± 10.5 *	331.8 ± 6.3 #	290.5 ± 6.3 #*
<b>ΔPC, g</b>	1,69 ± 0,87	-55,5 ± 5,73 *	2,9 ± 1,58	-38.9 ± 3,06 *
<i>Parâmetros estruturais do coração</i>				
<b>DDVE (mm)</b>	8,06 ± 0,58	8,50 ± 0,6	7,28 ± 0,42 #	7,65 ± 0,47 #
<b>DSVE (mm)</b>	4,28 ± 0,68	4,45 ± 0,67	3,49 ± 0,48 #	4,04 ± 0,52 *
<b>AE (mm)</b>	5,38 ± 0,06	5,51 ± 0,09	5,76 ± 0,14 #	5,74 ± 0,1
<b>Massa VE (g)</b>	0,73 ± 0,03	0,81 ± 0,04	0,73 ± 0,03	0,75 ± 0,03
<b>IMVE (g/kg)</b>	1,73 ± 0,17	2,01 ± 0,37 *	2,188 ± 0,35 #	2,46 ± 0,3 #*
<b>Esp.Rel.VE</b>	0,32 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,41 ± 0,03 #	0,38 ± 0,04 #*
<i>Parâmetros da função sistólica. Função diastólica e performance do VE</i>				
<b>VEPP (mm/s)</b>	41,55 ± 3,78	40,46 ± 5,07	37,89 ± 1,4 +	37,98 ± 0,92
<b>Tei index</b>	0,513 ± 0,05	0,50 ± 0,07	0,515 ± 0,05	0,50 ± 0,85
<b>FEVE</b>	0,847 ± 0,04	0,853 ± 0,04	0,886 ± 0,03	0,85 ± 0,03
<b>E/A</b>	1,64 ± 0,34	1,47 ± 0,25	1,80 ± 0,56	1,71 ± 0,31
<b>TRIV (m/s)</b>	27,38 ± 5,54	26,8 ± 4,61	28,36 ± 1,74	26,18 ± 2,75

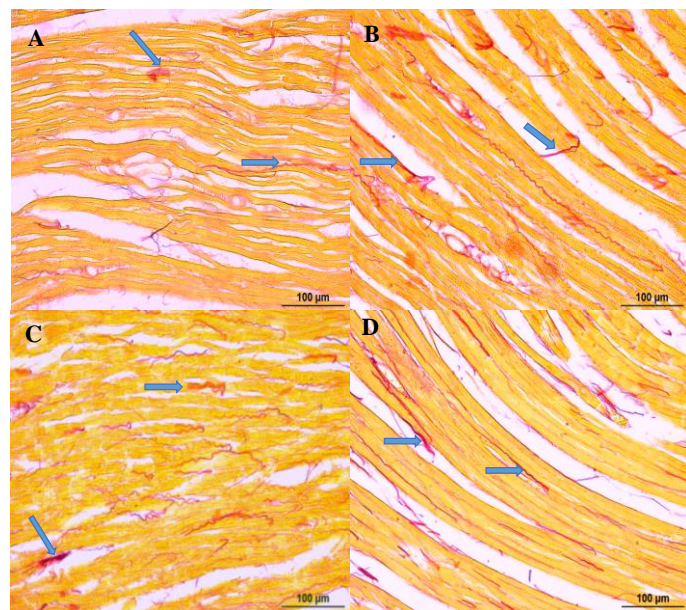
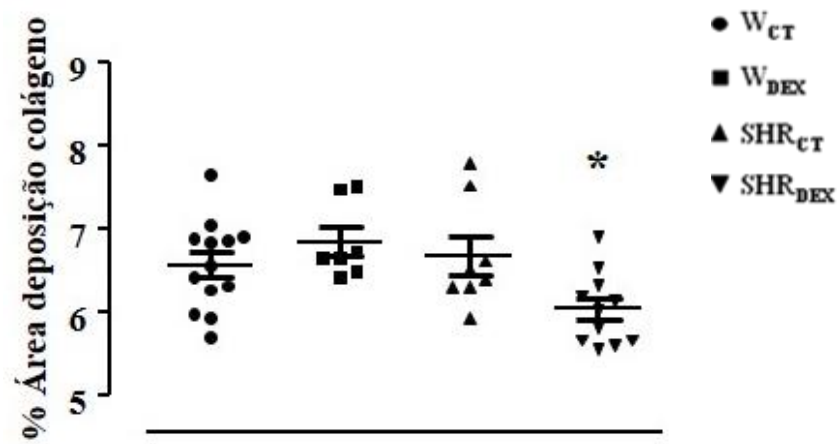
Peso corporal (PC), Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (DSVE, mm), Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE, mm), Diâmetro do átrio esquerdo (AE), Espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo (Esp. Rel. VE), Velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP, mm/s), Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), Performance do miocárdio Index (TEI index), razão da onda E pela onda A (E/A), Tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV, ms) entre dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=13), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=10), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=11) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=11). Significância: \* vs controle, # vs Wistar; p<0,05.

Pode-se observar na Figura 5 que o diâmetro do miócito não foi alterado significativamente pela hipertensão (Painel A), mas por outro lado, os SHR<sub>CT</sub> apresentaram densidade de capilares no miocárdio mais baixa (-25%,  $p < 0,0001$ ) em comparação aos W<sub>CT</sub> (Painel B).



**Figura 5** - Valores do diâmetro do miócito (Painel A, µm) e densidade capilar no miocárdio (Painel B, n/mm<sup>2</sup>) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=13), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=7), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=11). Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p < 0,05$ .

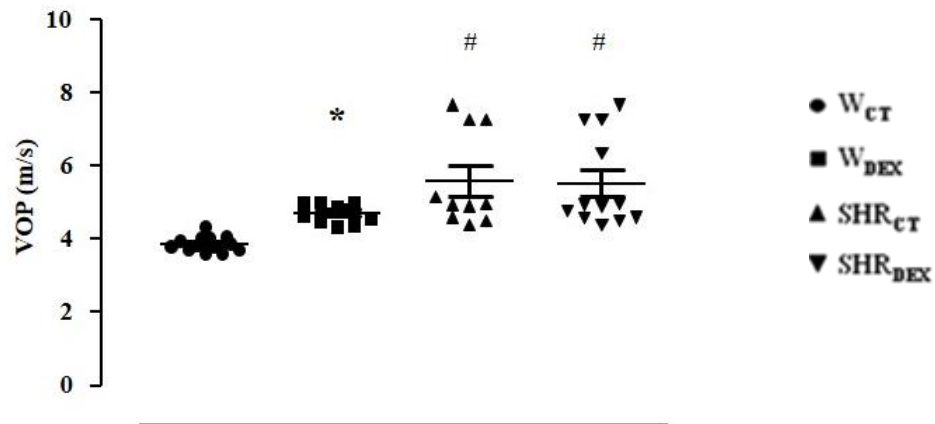
A Figura 6 mostra que a porcentagem da área de deposição de colágeno no miocárdio não foi alterada significativamente pela HA (Painel superior). O Painel inferior da Figura 6 contém imagens de cortes transversais histológicos ilustrando a deposição de colágeno no miocárdio coradas com *Picosirius-red*, em cada grupo analisado.



**Figura 6** - Paineis superior e inferior: Valores da porcentagem da área de deposição de colágeno do miocárdio dos grupos analisados: Wistar controle ( $W_{CT}$ ,  $n=13$ ), Wistar tratado com DEX ( $W_{DEX}$ ,  $n=7$ ), SHR controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=8$ ) e SHR tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=11$ ). Paineis inferior: Imagens de cortes transversais do miocárdio que ilustram a deposição de colágeno coradas com Picrosirius-red. A coloração em amarelo representa as fibras cardíacas e a coloração em vermelho, indicadas por setas, representam o tecido conjuntivo. Barra: 100  $\mu$ m, 400x. Wistar controle (Painel A), Wistar tratado com DEX (Painel B), SHR controle (Painel C) e SHR tratado com DEX (Painel D). Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p < 0,05$ .

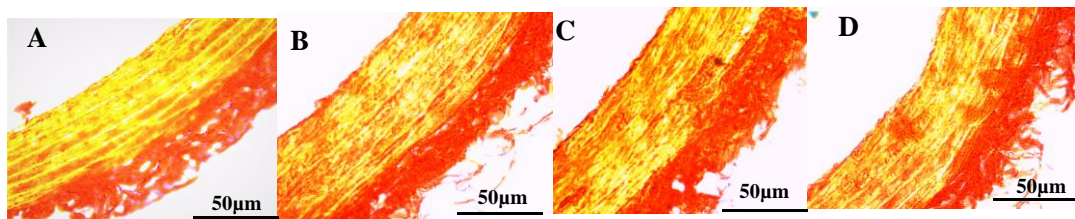
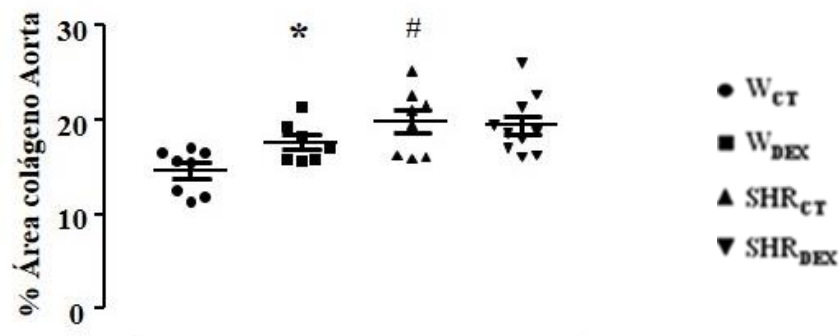
Por outro lado, HA determinou aumento na VOP dos  $SHR_{CT}$  ( $5,21 \pm 0,21$  vs  $4,24 \pm 0,18$  m/s) em comparação com  $W_{CT}$ , como mostrado na Figura 7.





**Figura 7** - Valores estimados da velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) nos diferentes grupos analisados: Wistar controle ( $W_{CT}$ ,  $n=13$ ), Wistar tratado com DEX ( $W_{DEX}$ ,  $n=7$ ), SHR controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=8$ ) e SHR tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=11$ ). Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p<0,05$ .

Esta resposta foi acompanhada por maior deposição de colágeno na aorta (35%,  $p<0,0008$ ), como mostrado na Figura 8 (Painel superior). Imagens representativas da deposição de colágeno na aorta coradas com Picosirius-red estão demonstradas no Painel inferior da Figura 8.



**Figura 8 - Painel superior:** Valores da % da deposição de colágeno na aorta (Painel superior) dos grupos: Wistar controle ( $W_{CT}$ ,  $n=13$ ), Wistar tratado com DEX ( $W_{DEX}$ ,  $n=7$ ), SHR controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=8$ ) e SHR tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=11$ ). **Painel inferior:** Imagens representativas da deposição de colágeno na parede da aorta coradas com Picosirius-red. As colorações em amarelo representam as fibras musculares lisas e as colorações em vermelho representam as fibras de colágeno. Cortes transversais (5  $\mu$ m) retirados da aorta torácica de um animal de cada grupo Wistar controle (Painel A), Wistar tratado com DEX (Painel B), SHR controle (Painel C) e SHR tratado com DEX (Painel D). Barra: 50  $\mu$ m, 200 X. Significância: \* vs controle, # vs Wistar;  $p<0,05$ .

Na Tabela 2 estão representados os resultados de morfometria da aorta, que foram semelhantes entre os grupos SHR<sub>CT</sub> e W<sub>CT</sub>.

**Tabela 2 - Dados morfométricos da aorta entre animais sedentários normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR) tratados ou não com DEX**

	W <sub>CT</sub>	W <sub>DEX</sub>	SHR <sub>CT</sub>	SHR <sub>DEX</sub>
AST ext, µm	2315229 ± 98	2099689 ± 79	2318402 ± 79	2159886 ± 79
AST int, µm	1810533 ± 79	1621119 ± 68	1793670 ± 46	1651364 ± 49
D ext, µm	1713,1 ± 36,1	1633,3 ± 30,8	1717 ± 22,4	1655,6 ± 29,5
D int, µm	1514,1 ± 33,5	1434,6 ± 30,8	1510,2 ± 19,8	1448,4 ± 21,5
Parede, µm	99,5 ± 3,9	99,35 ± 4,4	103,4 ± 3,1	103,6 ± 6,2
Parede/luz	0,065 ± 0,002	0,069 ± 0,003	0,068 ± 0,001	0,071 ± 0,003

Área de secção transversa externa (AST ext), Área de secção transversa interna (AST int), Diâmetro externo (D ext), Diâmetro interno (D int), espessura da parede (parede) e razão entre a parede e o diâmetro interno (parede/luz) dos grupos: Wistar controle (W<sub>CT</sub>, n=11), Wistar tratado com DEX (W<sub>DEX</sub>, n=7), SHR controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8) e SHR tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=11).

## 6.2 Efeitos do tratamento com DEX em normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR) sedentários

Como mostrado na Figura 3, W<sub>DEX</sub> apresentaram maior PAS ( $206 \pm 6$  vs  $130 \pm 4$  mmHg, Painel A), PAD ( $169 \pm 6$  vs  $122 \pm 5$  mmHg, Painel B) e PAM ( $181 \pm 4$  vs  $125 \pm 4$  mmHg, Painel C) em comparação com W<sub>CT</sub>. Estas respostas foram associadas ao desbalanço autonômico para o coração, como mostrado na Figura 4, com aumento significativo em LF ( $28,1 \pm 3,1$  vs  $13,5 \pm 2,3$  nu, Painel A) e LF/HF ( $0,46 \pm 0,08$  vs  $0,17 \pm 0,03$ , Painel C). Além disso, o tratamento com DEX induziu a redução de HF ( $71,8 \pm 3,1$  vs  $86,5 \pm 2,3$  nu, Painel B). Por outro lado, o tratamento crônico com DEX não alterou os valores de PAS ( $220 \pm 3,8$  vs  $206 \pm 6,1$  mmHg), PAD ( $187 \pm 10,1$  vs  $168 \pm 5,7$  mmHg) e PAM ( $198 \pm 7,7$  vs  $181 \pm 4,4$  mmHg) em SHR sedentários (SHR<sub>SDEX</sub>), conforme mostrado na Figura 3 (Painel A-C). A Figura 4 (Painel A-C) mostra que as respostas relacionadas ao balanço autonômico também não sofreram nenhuma alteração após o tratamento com DEX, ou seja, respostas de LF (painel A,  $28 \pm 2,4$  vs  $33,8 \pm 3,4$  nu), HF (Painel B,  $76,1 \pm 3,4$  vs  $66,2 \pm 3,4$  nu) e LF/HF (painel C,  $0,34 \pm 0,05$  vs  $0,53 \pm 0,07$ ) foram semelhantes entre os nos SHR sedentários (SHR<sub>SDEX</sub>) e os SHR controles.

Wistar tratados com DEX ( $W_{DEX}$ ) apresentaram aumento do IMVE (+16%,  $p=0,039$ , *vs*  $W_{CT}$ ), que pode ter sido influenciado pela redução do PC induzida por DEX, como mostrado na Tabela 1. De uma forma geral, os parâmetros ecocardiográficos foram semelhantes entre os grupos  $W_{DEX}$  e  $W_{CT}$ , conforme Tabela 1. Da mesma forma, a DEX não alterou o diâmetro do miócito (Figura 5, Painel A) nem a densidade de capilar no miocárdio (Figura 5, Painel B).

Pode-se observar ainda na Tabela 1 que o tratamento com DEX alterou ligeiramente alguns parâmetros estruturais cardíacos em SHR sedentários, ou seja, os SHR tratados com DEX ( $SHR_{SDEX}$ ) apresentaram maior DSVE (+16%,  $p<0,003$ ), IMVE (+13%,  $p<0,014$ ) e menor espessura relativa da parede do VE (-7%,  $p<0,007$ ) em comparação com os  $SHR_{SCT}$ . Essas alterações não foram acompanhadas por uma melhora na função cardíaca (Tabela 1), embora a área de deposição de colágeno do miocárdio tenha sido menor após o tratamento com DEX (-9%,  $p<0,019$ ) em comparação com  $SHR_{SCT}$ , como mostrado na Figura 6. O tratamento com DEX não alterou a área de deposição de colágeno no miócito dos ratos Wistar (Figura 6).

A Figura 7 revela que a VOP dos animais Wistar tratados com DEX ( $W_{DEX}$ ) foi maior do que a  $W_{CT}$  ( $4,71 \pm 0,08$  *vs*  $3,88 \pm 0,05$  m/s) e esta resposta foi provavelmente relacionada ao aumento da área de deposição de colágeno da aorta, conforme mostrado na Figura 8, uma vez que as análises morfométricas da aorta não foram alteradas pelo tratamento com DEX em Wistar ( $W_{DEX}$  *vs*  $W_{CT}$ ), como mostrado na Tabela 2. Por outro lado, o tratamento com DEX não alterou os valores de VOP ( $5,14 \pm 0,17$  *vs*  $5,49 \pm 0,35$  m/s, para  $SHR_{SDEX}$  *vs*  $SHR_{SCT}$ , respectivamente) nos SHR sedentários, como mostrado a Figura 7, e estas respostas foram acompanhadas de manutenção da deposição de colágeno na parede da aorta (Figura 8), bem como dos parâmetros morfométricos (Tabela 2).

### **6.3 Efeitos do treinamento combinado em SHR controles e tratados com DEX**

Para avaliar os efeitos do tratamento com DEX em ratos SHR, repetimos os dados de ambos os grupos sedentários SHR controle e tratado, afim de garantir comparações com os grupos treinados.

A Tabela 3 mostra as características antropométricas e os resultados dos testes de capacidades aeróbias na esteira (aeróbio) e de carregamento máximo na escada (resistido)

durante o protocolo experimental. Os animais apresentaram valores semelhantes de PC no início do protocolo de exercício ( $293 \pm 4,6\text{g}$ ,  $300 \pm 6,2\text{g}$ ,  $281 \pm 7,6\text{g}$ ,  $296 \pm 5,8\text{g}$ , para  $\text{SHR}_{\text{CT}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{DEX}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{TCT}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{TDEX}}$ , respectivamente). Como mostrado na Tabela 3, o aumento do peso corporal (delta PC) foi semelhante entre os grupos SHR durante o período de treinamento combinado. O tratamento com DEX diminuiu o PC em SHR sedentário representado por delta ( $-38,9 \pm 3,1\text{ g vs } 2,9 \pm 1,5$  para  $\text{SHR}_{\text{DEX}}$  vs  $\text{SHR}_{\text{CT}}$ , respectivamente) e o treinamento combinado não evitou esta resposta, uma vez que o  $\text{SHR}_{\text{TDEX}}$  também apresentou menores valores de PC ( $-34,7 \pm 3,2\text{ g vs } 1,57 \pm 1,9\text{ g}$ , para  $\text{SHR}_{\text{TDEX}}$  vs  $\text{SHR}_{\text{TCT}}$ , respectivamente), como mostrado na Tabela 3.

A capacidade física máxima na esteira (representada pelo tempo máximo na esteira durante o teste) era semelhante entre todos os grupos no início do treinamento combinado ( $618 \pm 41\text{s}$ ,  $617 \pm 53,2\text{s}$ ,  $777 \pm 15\text{s}$ ,  $777 \pm 16\text{s}$ , para  $\text{SHR}_{\text{CT}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{DEX}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{TCT}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{TDEX}}$ , respectivamente). Da mesma forma, a capacidade de carregamento máxima também era semelhante entre os grupos no início do treinamento combinado ( $316 \pm 9\text{g}$ ,  $321 \pm 11\text{g}$ ,  $328 \pm 9\text{g}$ ,  $336 \pm 9\text{g}$ , para  $\text{SHR}_{\text{CT}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{DEX}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{TCT}}$ ,  $\text{SHR}_{\text{TDEX}}$ , respectivamente). Conforme mostrado na Tabela 5, o treinamento combinado aumentou a capacidade física aeróbia na esteira (delta em s) e o carregamento de carga na escada (delta em g), independente do tratamento com DEX.

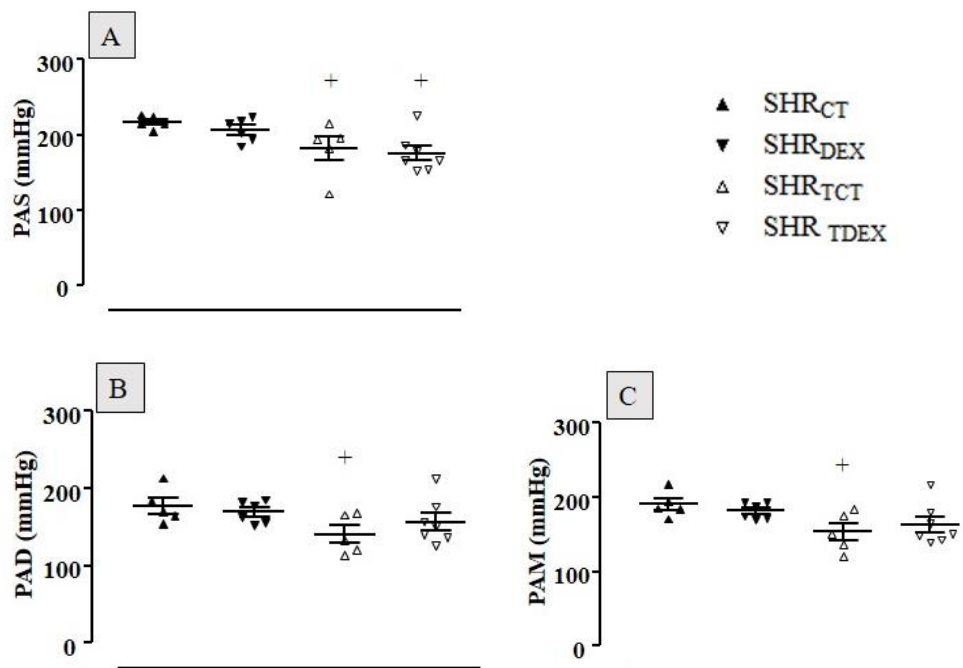
**Tabela 3 - Parâmetros do peso corporal e capacidade física durante o treinamento combinado e tratamento com DEX nos grupos SHR.**

	SHR <sub>CT</sub>	SHR <sub>DEX</sub>	SHR <sub>TCT</sub>	SHR <sub>TDEX</sub>
<i>PC</i>				
Delta PC treinamento (g)	37,5 ± 4,1	37 ± 4,3	38,4 ± 4,1	34,2 ± 6,2
Delta PC tratamento DEX (g)	2,9 ± 1,58	-38,9 ± 3,1 *	1,57 ± 1,9	-34,7 ± 3,2 *
<b>Teste máx aeróbio</b>				
Delta treinamento (s)	243,1 ± 49,3	376,5 ± 55,2	637,2 ± 56,1 +	679,4 ± 49,2 +
Delta tratamento DEX (s)	44,3 ± 26,8	43,7 ± 24,5	204,3 ± 59,3 +	211,2 ± 51,7 +
<b>Teste máx resistido</b>				
Delta treinamento (g)	717,5 ± 72,2	647,0 ± 75,0	1173,8 ± 54,5 +	1150,7 ± 85,3 +
Delta tratamento DEX (g)	310,3 ± 97,6	397,8 ± 64,2	506,1 ± 114,4 +	554,8 ± 71,5 +

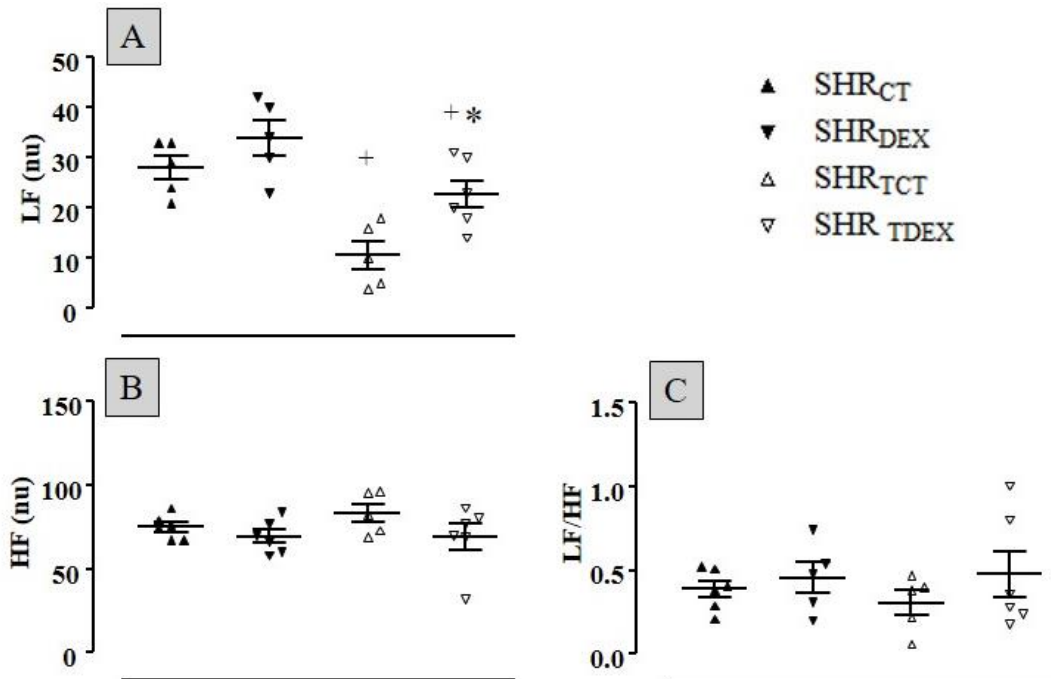
Peso corporal (PC) durante o período de treinamento combinado e durante os 14 dias de tratamento com DEX associado ao treinamento combinado. Delta em segundos (s) durante o treinamento aeróbio na esteira e delta em gramas (g) durante o treinamento resistido na escada em todos os grupos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>SC</sub>, n=13), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=10), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=11) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n=11). Significância: \* vs controle; + vs sedentário; p<0,05.

Ao final do protocolo experimental de 74 dias, foi possível observar que SHR treinados apresentaram valores menores de PAS (-11%, p=0,029, Painel A), PAD (-23%, Painel B) e PAM (-21%, Painel C), em comparação aos SHR sedentários, como mostrado na figura 9. Essa

resposta foi possivelmente induzida por menores valores de LF (-47%,  $p < 0,005$ , Paineil A) observados em  $SHR_{TCT}$  em comparação com  $SHR_{CT}$ , respectivamente, encontrados após o treinamento, como mostrado na Figura 10. Curiosamente, o treinamento combinado atenuou o aumento de LF induzido pelo tratamento com DEX em SHR (-21%,  $p < 0,05$ , Paineil A) de  $SHR_{TDEX}$  vs  $SHR_{DEX}$  (Figura 10), o que pode ter contribuído para manutenção da PAS, PAD e PAM observados na Figura 9.



**Figura 9** - Valores de Pressão arterial sistólica (PAS, mmHg, Paineil A), Pressão arterial diastólica (PAD, mmHg, Paineil B) e Pressão arterial média (PAM, mmHg, Paineil C) entre todos os grupos SHR: sedentário controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=6$ ), sedentário tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=6$ ), treinado controle ( $SHR_{TCT}$ ,  $n=5$ ) e treinado tratado com DEX ( $SHR_{TDEX}$ ,  $n=7$ ). Significância: \* vs controle, + vs sedentário;  $p < 0,05$ .



**Figura 10** - Análise do balanço autonômico para o coração. Baixa frequência no intervalo de pulso (LF, nu, Painel A), Alta frequência (HF, nu, Painel B) e Razão entre LF e HF (LF/HF, Painel C) entre todos os grupos SHR: sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=6), sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=6), treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=5) e treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, =6). Significância: \* vs controle, + vs sedentário; p<0,05.

Como pode ser observado na Tabela 4, o treinamento combinado *per se* alterou significativamente somente o diâmetro do AE (-7%, p<0,008) entre as estruturas cardíacas dos SHR, no entanto, a massa do VE estava menor nos SHR<sub>TDEX</sub> em comparação ao SHR<sub>DEX</sub>. A Tabela 4 também mostra que, nos animais treinados, a DEX determinou redução da esp rel do VE e aumento de VEPP (função sistólica), em relação aos SHR treinados controle (SHR<sub>TCT</sub>), embora a deposição de colágeno no miocárdio tenha sido semelhante entre os SHR treinados, como observado na Figura 11. O treinamento combinado não alterou significativamente os valores de TRIV (função diastólica) nos animais SHR tratados com DEX. Ainda na Tabela 4 pode-se observar que o diâmetro do miócito e a densidade capilar do VE não foram afetados nem pelo treinamento combinado nem pelo tratamento com DEX nos SHR.

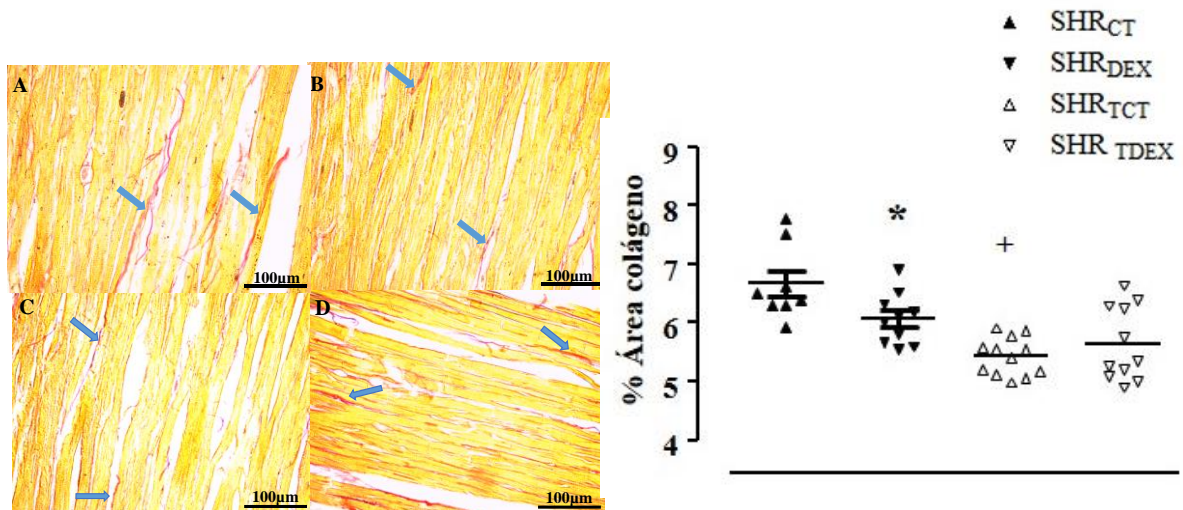
**Tabela 4 - Efeitos do tratamento com dexametasona e treinamento combinado nos parâmetros estruturais, funcionais e análises histológicas do ventrículo esquerdo nos grupos SHR**

	SHR <sub>CT</sub>	SHR <sub>DEX</sub>	SHR <sub>TCT</sub>	SHR <sub>TDEX</sub>
<i>Parâmetros estruturais e funcionais do VE</i>				
DDVE (mm)	7,28 ± 0,12	7,65 ± 0,14	7,09 ± 0,16	7,43 ± 0,12
DSVE (mm)	3,49 ± 0,14	4,04 ± 0,52 *	3,43 ± 0,15	3,7 ± 0,15
AE (mm)	5,76 ± 0,14	5,74 ± 0,1	5,34 ± 0,09 +	5,43 ± 0,09 +
Massa VE (g)	0,73 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,68 ± 0,02	0,67 ± 0,02 +
IMVE (g/kg)	2,18 ± 0,10	2,46 ± 0,09 *	2,13 ± 0,05	2,36 ± 0,07
Esp. Rel. VE	0,41 ± 0,01	0,38 ± 0,01 *	0,41 ± 0,01	0,37 ± 0,01 *
VEPP (mm/s)	37,8 ± 1,40	37,9 ± 0,92	36,2 ± 1,03	40,8 ± 0,90 *
Tei index	0,51 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,49 ± 0,01
FEVE	0,88 ± 0,01	0,85 ± 0,01	0,88 ± 0,01	0,87 ± 0,01
E/A	1,80 ± 0,17	1,71 ± 0,09	2,02 ± 0,09	1,84 ± 0,04
TRIV (ms)	28,3 ± 0,5	26,1 ± 0,8	31,2 ± 0,5 +	26,5 ± 0,8 *
<i>Análises histológicas</i>				
Diâmetro Miócito (µm)	16,8 ± 0,9	15,6 ± 0,5	16,7 ± 0,4	15,5 ± 0,6
Densidade Capilar (n/mm <sup>2</sup> )	1016,6 ± 12,2	1117,5 ± 44,5	1042,4 ± 97,7	1076,1 ± 38,6

Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE); Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (DSVE); Diâmetro do átrio esquerdo (AE); Massa do ventrículo esquerdo (Massa VE); Índice de massa do ventrículo esquerdo (IMVE); Espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo (Esp. Rel. VE); Velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP); Índice de performance do miocárdio (TEI INDEX); Fração de Ejeção pelo VE (FEVE); razão entre onda (E) e onda (A) (E/A) e Tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) em todos grupos SHR: sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=13), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=10), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n = 11) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n = 11). Significância: \* vs Controle, + vs Sedentário; p <0.05.

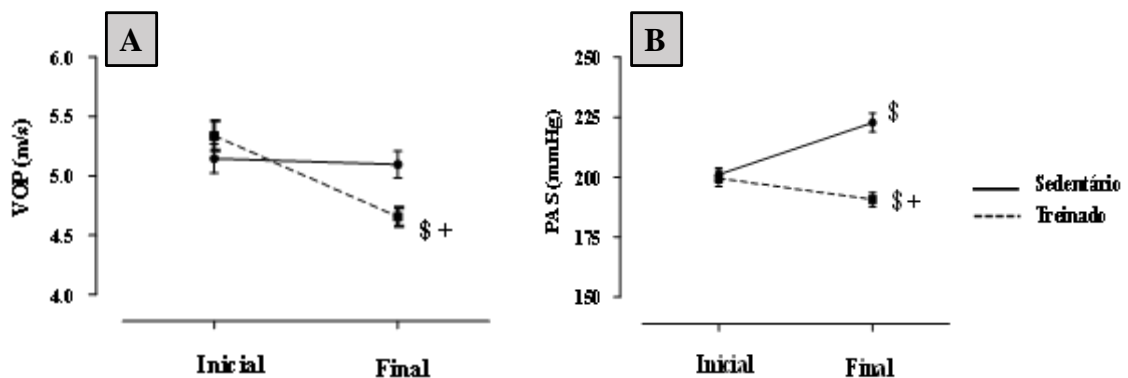
Apesar do tratamento com DEX não alterar a área de deposição de colágeno do miocárdio nos animais SHR treinados, é possível observar que o treinamento combinado reduziu em -18% (SHR<sub>TCT</sub> vs SHR<sub>CT</sub>, p<0,001) a área de deposição de colágeno do miocárdio, como mostrado na figura 11.





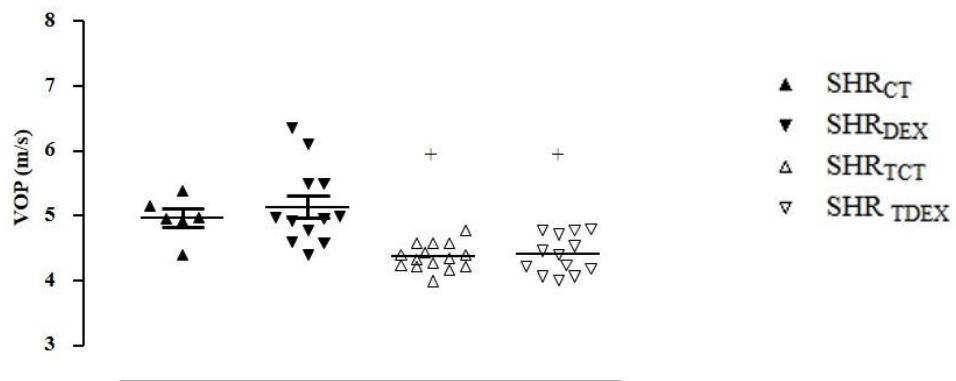
**Figura 11** - Paineis da direita representam imagens da deposição de colágeno no miocárdio coradas com Picrosirius red. A coloração em amarelo representa as fibras cardíacas e a coloração em vermelho indicadas por setas representam o tecido conjuntivo. Barra: 100 $\mu$ m, 400x. Sedentário controle (Painel A), Sedentário tratado com DEX (Painel B), Treinado controle (Painel C) e Treinado tratado com DEX (Painel D). Painel da esquerda representa valores da área de deposição de colágeno do miocárdio (%) de todos os grupos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=8), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=10), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=12) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n=11). Significância: \* vs Controle, + vs Sedentário; p<0,05.

A Figura 12 mostra que o treinamento combinado, por si só, reduziu a VOP (-13%, p<0,03), quando os valores foram comparados com o início do treinamento. Durante o mesmo período de protocolo, a VOP não mudou significativamente entre os ratos sedentários (Figura 12, Painel A). Neste período observou-se também a redução da PAS (-5%, p<0,02) dos animais SHR (Figura 12, Painel B). Note que durante este mesmo período a PAS aumentou nos animais sedentários (+11%).

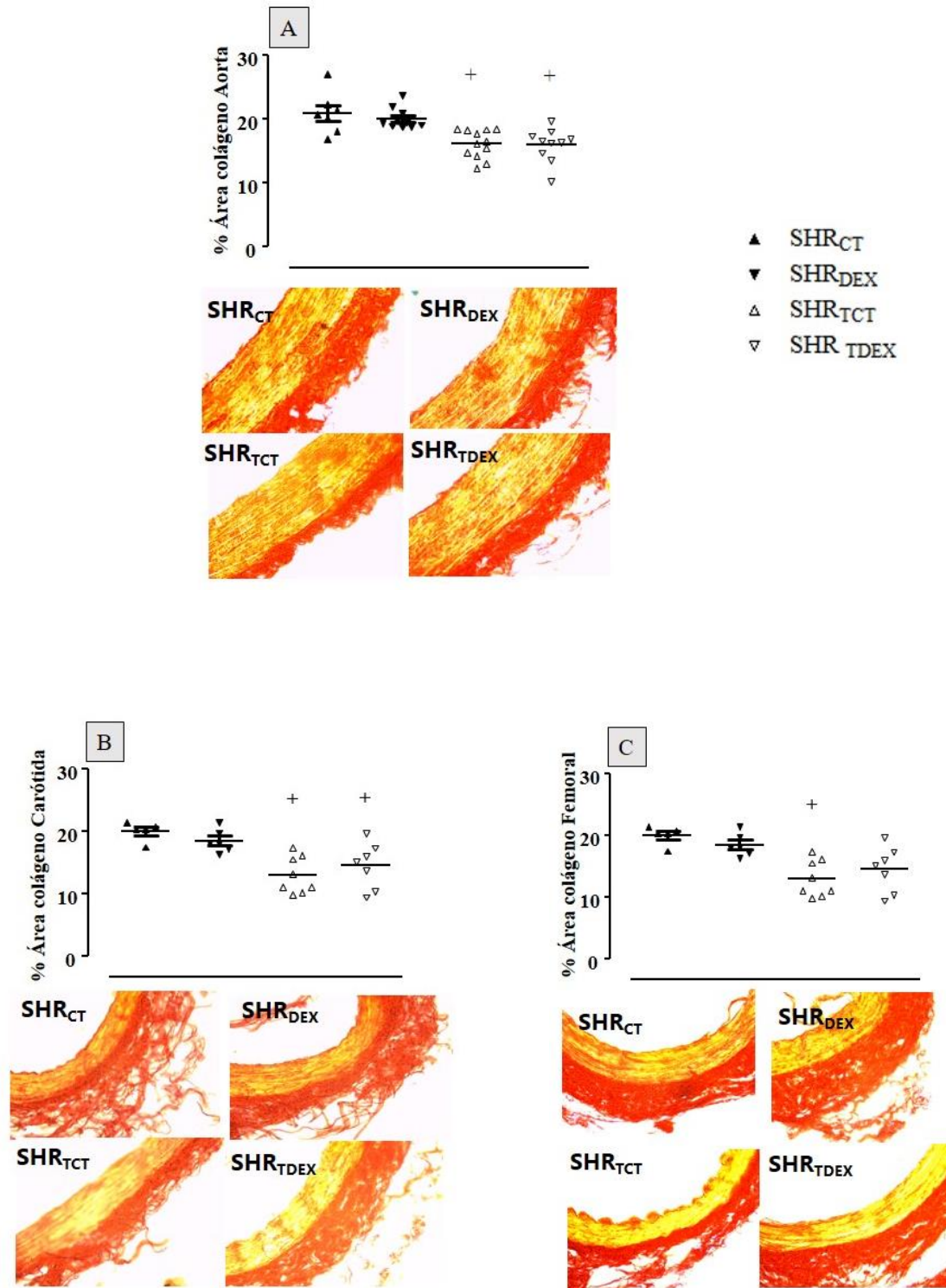


**Figura 12** - Valores estimados de velocidade de onda de pulso (A, VOP, m/s) e de pressão arterial sistólica (B, medida por pletismografia de cauda, mmHg) no início e final do protocolo de treinamento combinado (8 semanas) antes do tratamento com DEX em todos os grupos SHR: Sedentário (n=23) e Treinado (n=28). Significância: \$ vs inicial; + vs sedentário; p<0,05.

Ao final do protocolo experimental pode-se observar na Figura 13 que os SHR treinados ( $SHR_{TCT}$ ) apresentaram valores reduzidos de VOP (-20% vs  $SHR_{CT}$ ,  $p=0,001$ ) e essa resposta foi acompanhada por redução da deposição de colágeno na aorta (-23%,  $p=0,001$ , Figura 14, Painel A), carótida (-35%,  $p<0,001$ , Figura 14, Painel B) e femoral (-14%,  $p=0,003$ , Figura 14, Painel C) em comparação com SHR sedentários. As respostas de VOP (-14% vs  $SHR_{DEX}$ ) e % de área de deposição de colágeno permaneceram menores nos animais treinados, mesmo após tratamento com DEX, como pode ser observado nas Figuras 12 e 13, para VOP e % de área de deposição de colágeno, respectivamente).



**Figura 13** - Valores estimados de velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) no final do protocolo experimental em todos os grupos SHR: Sedentário controle ( $SHR_{CT}$ ,  $n=11$ ), Sedentário tratado com DEX ( $SHR_{DEX}$ ,  $n=12$ ), Treinado controle ( $SHR_{TCT}$ ,  $n=15$ ) e Treinado tratado com DEX ( $SHR_{TDEX}$ ,  $n=13$ ). Significância: + vs sedentário;  $p<0,05$ .



**Figura 14** - Paineis superiores mostram valores da área de deposição de colágeno nas artérias. Aorta (%), carótida (%), e femoral (%) em todos os grupos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n=7), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=10), Treinado Controle (SHR<sub>TCT</sub>, n=12) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n=10). Significância: + vs sedentário; p<0,05. Paineis inferiores representam imagens representativas da área de deposição de colágeno nas artérias aorta (Painel A), carótida (Painel B) e femoral (Painel C). Cortes transversais (5µm) retirados de cada animal foram corados com Picosirius-red. As manchas de amarelo representam as fibras musculares lisas e as manchas de vermelho representam as fibras de colágeno. Barra: 50µm.

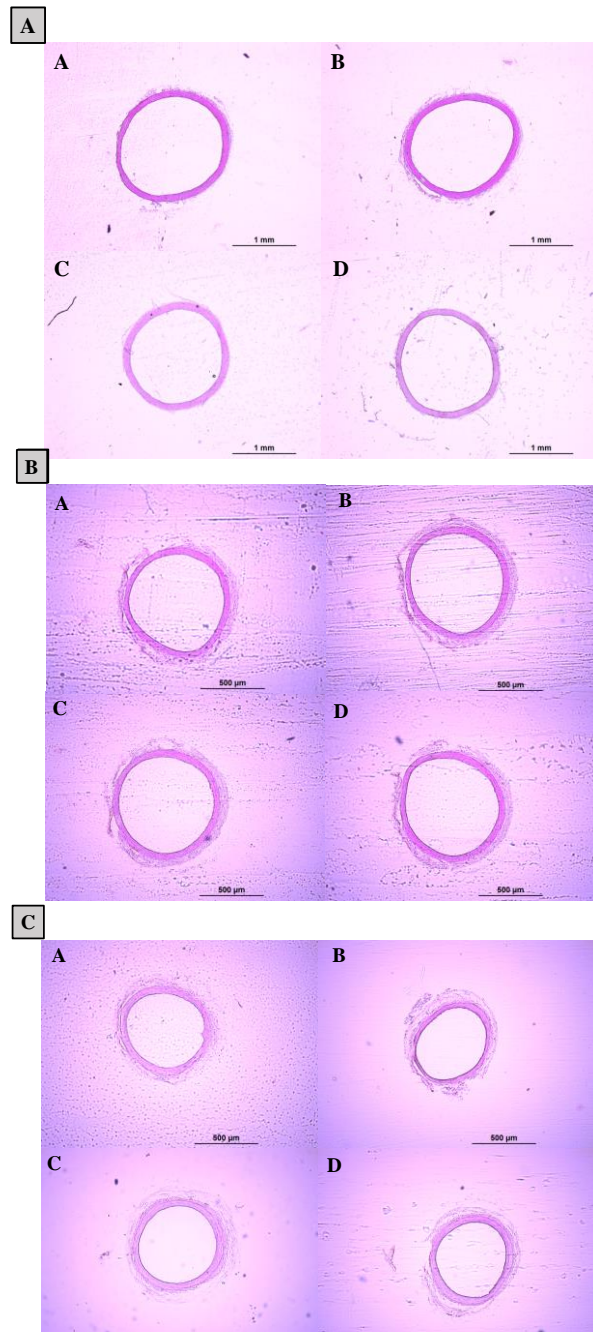
Por outro lado, o treinamento combinado não determinou qualquer alteração no remodelamento das artérias analisadas, como mostrado na Tabela 5.

**Tabela 5 - Análise morfométrica da aorta, carótida e femoral em todos os grupos SHR.**

	<b>SHR<sub>CT</sub></b>	<b>SHR<sub>DEX</sub></b>	<b>SHR<sub>TCT</sub></b>	<b>SHR<sub>TDEX</sub></b>
<i>Aorta</i>				
<b>D ext, µm</b>	1717 ± 22,4	1655,6 ± 29,5	1688,8 ± 27,5	1671,5 ± 19,6
<b>D int, µm</b>	1510,2 ± 19,8	1448,4 ± 21,5	1466,9 ± 23,3	1463,9 ± 16,7
<b>Espessura parede, µm</b>	103,4 ± 3,1	103,6 ± 6,2	110,9 ± 4,4	103,8 ± 4,3
<b>Parede/luz</b>	0,068 ± 0,001	0,071 ± 0,003	0,075 ± 0,002	0,071 ± 0,003
<i>Carótida</i>				
<b>D ext, µm</b>	735,6 ± 12,9	714,1 ± 13,8	709,3 ± 12,6	698,8 ± 17,3
<b>D int, µm</b>	635,9 ± 13,5	616,2 ± 15,9	604,8 ± 16,1	604,3 ± 17,4
<b>Espessura parede, µm</b>	49,8 ± 2,1	48,9 ± 1,9	52,2 ± 2,3	47,2 ± 2,2
<b>Parede/luz</b>	0,079 ± 0,004	0,079 ± 0,004	0,087 ± 0,006	0,079 ± 0,004
<i>Femoral</i>				
<b>D ext, µm</b>	664,8 ± 18,3	619,9 ± 15,9	599,1 ± 14,6	611,5 ± 6,9
<b>D int, µm</b>	569,1 ± 16,6	525,2 ± 17,6	503,7 ± 12,5	518,7 ± 7,3
<b>Espessura relativa, µm</b>	47,8 ± 4,2	47,21 ± 3,8	47,7 ± 2,9	46,3 ± 2,46
<b>Parede/luz</b>	0,08 ± 0,008	0,09 ± 0,009	0,095 ± 0,005	0,09 ± 0,005

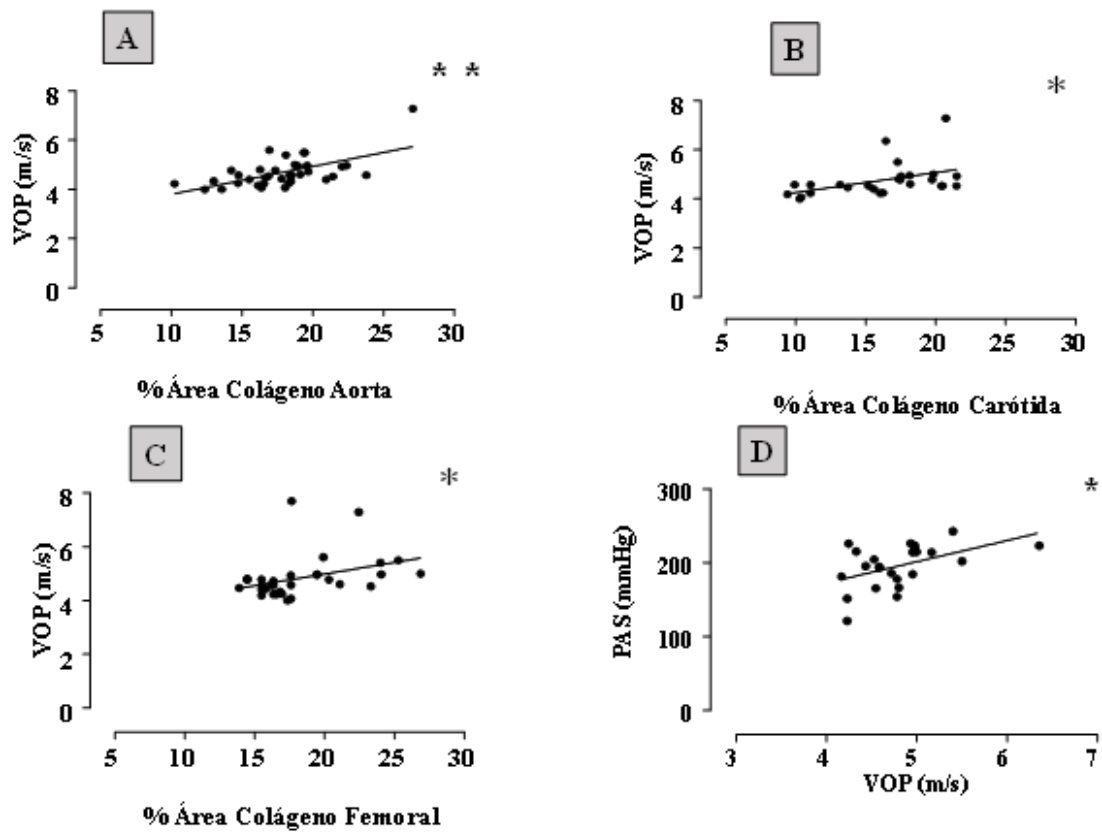
Diâmetro externo (D ext, µm); Diâmetro interno (D int, µm); razão parede/luz (espessura da parede / D int) em todos os grupos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>, n = 8), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>, n=11), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>, n = 12) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>, n = 11).

A Figura 15 ilustra cortes transversais das artérias aorta (Painel A), carótida (Painel B) e femoral (Painel C), corados com Hematoxilina-Eosina em todos os grupos: A, SHR Sedentário controle; B, SHR Sedentário tratado com DEX; C, SHR Treinado controle e D, SHR Treinado tratado com DEX. A Figura 15 sugere que nem o treinamento combinado nem o tratamento com DEX alteraram remodelamento das artérias, confirmando os resultados mostrados na Tabela 5.



**Figura 15** - Imagens representativas da morfometria nas artérias aorta (Painel A), carótida (Painel B) e femoral (Painel C). Cortes transversais (10µm) retirados de cada animal foram corados com Hematoxilina-Eosina. Barra: 1 mm (Painel A) e 500 µm (Painel B e C).

Para analisar a possível correlação entre deposição de colágeno arterial e VOP, foram realizados testes de correlação de Pearson, como mostrados na Figura 16. A VOP foi positivamente correlacionada com a área de deposição de colágeno da aorta ( $r=0,606$ ,  $p<0,0001$ , Painel A), carótida ( $r=0,447$ ,  $p=0,02$ , Painel B) e femoral ( $r=0,370$ ,  $p<0,04$ , Painel C) entre todos os grupos SHR. Além disso, a PAS foi positivamente correlacionada com os valores de VOP ( $r=0,484$ ,  $p<0,01$ , Painel D) entre todos os grupos SHR.



**Figura 16** - Correlação entre velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) e % área de deposição de colágeno arterial: aorta ( $r=0,606$ ,  $p<0,0001$ , Painel A), carótida ( $r=0,447$ ,  $p=0,02$ , Painel B) e femoral ( $r=0,370$ ,  $p<0,04$ , Painel C) em todos os ratos SHR. Correlação entre a pressão arterial sistólica (PAS, mmHg) e a velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) ( $r=0,484$ ,  $p<0,001$ , Painel D) em todos os ratos SHR: Sedentário controle (SHR<sub>CT</sub>,  $n=7$ ), Sedentário tratado com DEX (SHR<sub>DEX</sub>,  $n=9$ ), Treinado controle (SHR<sub>TCT</sub>,  $n=12$ ) e Treinado tratado com DEX (SHR<sub>TDEX</sub>,  $n=10$ ). Significância: \*  $p<0,005$ , \*\* $p<0,001$ .

## 7. DISCUSSÃO

Os principais achados deste estudo foram que o tratamento com DEX induziu hipertensão arterial acompanhada por desbalanço autonômico para o coração e remodelamento aórtico em animais Wistar, entretanto o tratamento com DEX não exacerbou a PA e a rigidez arterial em SHR. Além disso, em SHR o remodelamento cardíaco e a deposição de colágeno do miocárdio foram ligeiramente melhoradas pelo tratamento com DEX. Por outro lado, o treinamento combinado por si só reduziu a PA e VOP em SHR e os animais treinados mantiveram valores mais baixos de PA e VOP mesmo após o tratamento com DEX. Este estudo revelou também que menor VOP em SHR treinados foi associada a menor área de deposição de colágeno das artérias aorta, carótida e femoral, independente do tratamento com DEX.

Para entender os efeitos da DEX e treinamento combinado em SHR, era necessário, primeiramente identificar / confirmar os mecanismos que estavam alterados na HA. Como já está bem descrito na literatura, animais SHR, que representam um modelo experimental de hipertensão primária (DORIS, 2017; OKAMOTO; AOKI, 1963), apresentam alterações neurais (BERTAGNOLLI; CAMPOS; SCHENKEL; DE OLIVEIRA *et al.*, 2006; DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; MASSON; NAIR; SILVA SOARES; MICHELINI *et al.*, 2015; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021), seguido por remodelamento cardíaco (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; LI; KEMP; HOWELL; MASSEY *et al.*, 2019; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021; PAGAN; DAMATTO; CEZAR; LIMA *et al.*, 2015; PAGAN; DAMATTO; GOMES; LIMA *et al.*, 2019; SILVA; JARA; PERES; LIMA *et al.*, 2017), os quais contribuem para a manutenção dos níveis elevados de PA, bem como alterações na estrutura e função de vasos (HAGG; ANDERSSON; NAYLOR; GRONROS *et al.*, 2004; JORDAO; LADD; COPPI; CHOPARD *et al.*, 2011; LINDESAY; RAGONNET; CHIMENTI; VILLENEUVE *et al.*, 2016; MORAES-TEIXEIRA JDE; FELIX; FERNANDES-SANTOS; MOURA *et al.*, 2010), que contribuem para aumentar a rigidez arterial (LINDESAY; BEZIE; RAGONNET; DUCHATELLE *et al.*, 2018; LINDESAY; RAGONNET; CHIMENTI; VILLENEUVE *et al.*, 2016; MORGAN; CASABIANCA; KHOURI; KALINOSKI, 2014; SAFAR; CHAMIOT-CLERC; DAGHER; RENAUD, 2001; ZHANG; LIN; SHAO; SU *et al.*, 2020). A primeira parte deste presente estudo comparou os resultados de hemodinâmica, parâmetros cardíacos e vasculares entre ratos sedentários SHR e Wistar e confirmou que os SHR tinham maior PA, acompanhada de desbalanço autonômico para o coração. Além disso, os resultados obtidos por

meio das técnicas histológicas e ecocardiográficas mostraram que os SHR apresentavam menor DSVE e DDVE, maior diâmetro do AE e espessura relativa da parede do VE, seguido por menor capilarização do miocárdio. Estas respostas contribuíram para reduzir discretamente a função sistólica embora a deposição de colágeno no miocárdio não estivesse elevada nos SHR, como encontrado em outros estudos (MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021; SILVA; JARA; PERES; LIMA *et al.*, 2017). Estes resultados estão de acordo com achados anteriores do nosso grupo (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021) e confirmam que os SHR, mesmo aos 5 meses de idade, já apresentam alguma disfunção cardíaca (LAMMERICH; GUNTHER; PFITZER; STORCH *et al.*, 1995; LI; KEMP; HOWELL; MASSEY *et al.*, 2019). Além disso, o presente estudo expandiu as pesquisas anteriores de nosso grupo e de outros autores (FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020; HAGG; ANDERSSON; NAYLOR; GRONROS *et al.*, 2004; JORDAO; LADD; COPPI; CHOPARD *et al.*, 2011; LINDESAY; RAGONNET; CHIMENTI; VILLENEUVE *et al.*, 2016) e mostrou maior porcentagem de área de deposição de colágeno nas artérias aorta, carótida e femoral em comparação aos ratos Wistar, correlacionando positivamente com os valores de VOP.

A próxima etapa do presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do tratamento crônico com DEX em ratos normotensos e hipertensos, analisando o balanço autonômico para o coração, parâmetros ecocardiográficos e enrijecimento arterial. Em concordância com estudos anteriores, o tratamento com DEX aumentou significativamente a PA de ratos Wistar (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; HERRERA; DUCHATSCH; TARDELLI; DIONISIO *et al.*, 2020; HERRERA; JESUS; DIONISIO; DIONISIO *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020; MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020). Na verdade, a HA induzida por glicocorticóides não é novidade, mas os mecanismos envolvidos nesta resposta ainda são inconclusivos, principalmente por causa dos diferentes procedimentos experimentais, dosagens, vias de administração e períodos de tratamento (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; DE SALVI GUIMARAES; DE MORAES; BOZI; SOUZA *et al.*, 2017; DODIC; SAMUEL; MORITZ; WINTOUR *et al.*, 2001; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; JESUS; HERRERA; ANDREO; SANTOS *et al.*, 2020; MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020; MONDO; YANG; ZHANG; HUANG, 2006; SAVITHA; SUVILESH; SIDDESHA; MILAN GOWDA *et al.*, 2020). Além disso, a maioria deles foram realizados em ratos normotensos e há pouca informação sobre os efeitos da DEX em ratos hipertensos.



Embora alguns autores tenham mostrado que HA induzida por glicocorticóides está associada à deficiência de óxido nítrico (NO) (MIAO; ZHANG; LIM; KANJANAPAN *et al.*, 2007; WALLERATH; GODECKE; MOLOJAVYI; LI *et al.*, 2004; WHITWORTH; SCHYVENS; ZHANG; ANDREWS *et al.*, 2002) e superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROS) (MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020; MONDO; YANG; ZHANG; HUANG, 2006; ONG; VICKERS; ZHANG; MCKENZIE *et al.*, 2007; ONG; ZHANG; WHITWORTH, 2008; ZALBA; BEAUMONT; SAN JOSE; FORTUNO *et al.*, 2000), nosso grupo e outros demonstraram que a HA induzida por DEX foi acompanhada por um desbalanço autonômico para o coração e atividade barorreflexa reduzida (CONSTANTINO; DIONISIO; DUCHATSCH; HERRERA *et al.*, 2017; HERRERA; JESUS; SHINOHARA; DIONISIO *et al.*, 2016; MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020). Na verdade, ajuste neural inadequado do coração, induzido pelo tratamento DEX, ocorre mesmo antes do aumento da PA, como mostrado em estudo anterior de nosso grupo (DUCHATSCH; CONSTANTINO; HERRERA; FABRICIO *et al.*, 2018). Uma vez que os hipertensos podem ser submetidos a um tratamento com DEX ao longo da sua vida, restava uma dúvida sobre os riscos da DEX para esta população, especialmente relacionado a um possível evento cardiovascular induzido por uma exacerbação da PA. Os resultados do presente estudo mostraram que a dose baixa (50 µg / kg) de tratamento com DEX alterou o controle autonômico para o coração em ratos Wistar, que em parte contribuíram para aumentar a PA, no entanto, a maior atividade simpática para o coração, já presente nos SHR, foi mantida após o período de tratamento com DEX.

Recentemente, mostramos que esta dose de DEX não aumentava o peso do coração em ratos Wistar (HERRERA; DUCHATSCH; TARDELLI; DIONISIO *et al.*, 2020). De acordo, no presente estudo, o tratamento com DEX não alterou significativamente os parâmetros cardiológicos estruturais ou funcionais, avaliados por técnicas ecocardiográficas e histológicas. Dados sobre os efeitos de DEX em remodelação miocárdica ainda são controversos, principalmente porque alguns autores mostraram que a DEX causa hipertrofia de cardiomiócitos acompanhada por disfunção cardíaca (DE; ROY; KAR; BANDYOPADHYAY, 2011; DE SALVI GUIMARAES; DE MORAES; BOZI; SOUZA *et al.*, 2017; DODIC; SAMUEL; MORITZ; WINTOUR *et al.*, 2001; MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020; MUANGMINGSUK; INGRAM; GUPTA; ARCILLA *et al.*, 2000; REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012) e outros autores mostram um efeito cardíaco protetor da DEX (AGUILAR; STROM; CHEN, 2014; CHEN; ALEXANDER; SUN; XIE *et al.*, 2005;

DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2020; RAO; XU; NARAYANAN, 2001; REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012; XIA; NA; GUO; BI *et al.*, 2007; XU; STROM; CHEN, 2011).

Em relação a esses resultados controversos na remodelação cardíaca, é importante notar que a maioria dos estudos na literatura que observou hipertrofia de cardiomiócitos e disfunção cardíaca usou doses mais altas de DEX tanto em animais normotensos como em células saudáveis. Por exemplo, de Salvi et al (DE SALVI GUIMARAES; DE MORAES; BOZI; SOUZA *et al.*, 2017) trataram ratos normotensos com 35 µg/g de DEX e encontraram aumento do peso e fibrose cardíaca, apoptose de cardiomiócitos e dano genético em cardiomiócitos, sugerindo uma remodelação cardíaca patológica, com ativação da via de sinalização da calcineurina cardíaca, que prejudica a função diastólica. De acordo, Ren e colaboradores (REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012) sugeriram que a hipertrofia de cardiomiócitos induzida por tratamento com DEX é geralmente mediada por meio de receptores de glicocorticóides. Da mesma forma, a fibrose miocárdica intersticial e perivascular, com função cardíaca preservada, foram observadas após 2 mg / kg de DEX tratamento (MACEDO; SOUZA; ARAUJO; DANTAS *et al.*, 2020). A hipertrofia cardíaca também pode ser observada em ratos Sprague-Dawley recém-nascidos tratados com DEX (MUANGMINGSUK; INGRAM; GUPTA; ARCILLA *et al.*, 2000) ou em Sprague-Dawley adulto, tratado com 35 µg / 100 g de DEX (DE; ROY; KAR; BANDYOPADHYAY, 2011). Da mesma forma, a hipertrofia do ventrículo esquerdo foi observada em ovelhas adultas após uma exposição pré-natal de DEX (11 mg / d). Adicionalmente a este resultado, Ren e colaboradores (REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012) mostraram que excesso de DEX causa hipertrofia dos cardiomiócitos.

Por outro lado, especialmente em situações patológicas, como adrenalectomia, infarto, insuficiência cardíaca e HA, a DEX pode ter um efeito cardioprotetor. Por exemplo, Xia e colaboradores (XIA; NA; GUO; BI *et al.*, 2007) mostraram que a DEX melhorou a função cardíaca, reduzindo o fator de necrose tumoral miocárdico- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que, por sua vez, reduziu as metaloproteinases MMP-2 e MMP-9, espécies reativas de oxigênio e fibrose no VE de ratos com insuficiência cardíaca. Da mesma forma, Xu e colaboradores (XU; STROM; CHEN, 2011) trataram alguns ratos com DEX 24 h antes da cirurgia de oclusão coronária esquerda e viram uma prevenção do tamanho do infarto nesses ratos infartados. Usando Experimentos "in vitro", DEX ou outros glicocorticóides preveniram a apoptose celular induzida por doxorubicina, que é usada para quimioterapia em câncer (AGUILAR; STROM; CHEN, 2014; CHEN;

ALEXANDER; SUN; XIE *et al.*, 2005) ou induzido por TNF- $\alpha$  (REN; OAKLEY; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2012).

Da mesma forma, o tratamento de animais adrenalectomizados com DEX induziu um aumento na quantidade de CaM quinase II associada ao retículo sarcoplasmático cardíaco, o que sugere um importante papel modulador de DEX na homeostase celular de Ca<sup>+2</sup> no miocárdio (RAO; XU; NARAYANAN, 2001). Observe que, embora esses estudos acima mostraram resultados benéficos, a maioria deles usou doses mais altas de DEX que o presente estudo (1–50 mg / kg), podendo causar diversos efeitos colaterais, conforme descrito anteriormente. Recentemente, nosso grupo (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2020) revelou que a mesma dose baixa de DEX usada neste estudo (50  $\mu$ g / kg) causa diminuição da espessura relativa da parede, aumento dos diâmetros internos (LVDD e LVSD), aumento da densidade de vasos do VE e redução da área de deposição de colágeno miocárdico, o que provavelmente contribuiu para melhorar a PAS e função diastólica em SHR, no entanto, naquele estudo, a função sistólica e diastólica já estavam reduzidas nos SHR em comparação aos ratos Wistar antes do tratamento com DEX. Isso acontece porque a remodelação miocárdica pode ser de alguma forma determinada por um processo inflamatório (COHN; FERRARI; SHARPE, 2000; NIAN; LEE; KHAPER; LIU, 2004; XIE; WANG; LIANG; ZENG *et al.*, 2019; ZIMMER; TEIXEIRA; BONETTO; BAHR *et al.*, 2020) e da mesma forma, tem sido demonstrado que os animais SHR apresentam níveis mais elevados de interleucina-6 (IL-6) e TNF- $\alpha$  no miocárdio, acompanhados por infiltração fibrótica e deposição de colágeno (SILVA; JARA; PERES; LIMA *et al.*, 2017; YAO; CHEN; LU; ZHENG *et al.*, 2009; YOU; WU; ZHANG; YE *et al.*, 2018). É possível considerar que a DEX, que é um potente antiinflamatório, poderia diminuir essas citocinas inflamatórias e melhorar a fibrose cardíaca e deposição de colágeno (XIA; NA; GUO; BI *et al.*, 2007). Em concordância, no presente estudo, o tratamento com DEX reduziu a espessura relativa da parede, aumentou o diâmetro sistólico do VE e reduziu a área de deposição de colágeno miocárdico, no entanto, essas respostas não foram suficientes para melhorar a função sistólica em SHR.

Embora tenha sido relatado que a hipertensão, assim como o envelhecimento, é acompanhada por alterações estruturais e mecânicas nos vasos de condução (CHAMIOT CLERC; RENAUD; BLACHER; LEGRAND *et al.*, 1999; FABRICIO; JORDAO; MIOTTO; RUIZ *et al.*, 2020; JORDAO; LADD; COPPI; CHOPARD *et al.*, 2011; LACOLLEY; LI; CHALLANDE; REGNAULT, 2017), até agora existem poucos estudos investigando os efeitos do tratamento crônico com DEX na rigidez arterial em ratos normotensos ou hipertensos, e os

mecanismos ainda são pouco claros. Os resultados do presente estudo mostraram, pela primeira vez, que o tratamento com DEX aumentou a VOP em ratos Wistar e não alterou os valores já elevados de VOP em SHR. A análise histológica realizada no presente estudo revelou que a área de deposição de colágeno aórtico foi maior em ratos Wistar tratados com DEX em relação aos não tratados, no entanto, a maior área de deposição de colágeno aórtico observada na aorta de SHR não foi afetada pelo tratamento com DEX, e esta resposta ajudou a justificar os resultados da manutenção da VOP. Como afirmado antes, são poucos os estudos que investigaram os efeitos do tratamento com DEX na rigidez arterial e nenhum deles foi realizado com hipertensos.

Lietman e colaboradores (LIETMAN; SARAL, 1985) demonstraram que a DEX causa aumento na síntese e secreção de colágeno em células do músculo liso da aorta bovina, que poderiam fundamentar os resultados do presente estudo em ratos normotensos. De acordo, um estudo de coorte de acompanhamento por período de 25 anos mostrou distensibilidade aórtica reduzida e aumento da VOP em indivíduos nascidos prematuros que foram expostos a glicocorticóides antes do nascimento, e esta resposta foi associada com mudanças no metabolismo da glicose (KELLY; LEWANDOWSKI; WORTON; DAVIS *et al.*, 2012). De forma similar, efeitos dependentes de glicocorticóides na complacência cerebrovascular e rigidez também foi demonstrada por Durrant e colaboradores (DURRANT; KHORRAM; BUCHHOLZ; PEARCE, 2014), que observaram uma “programação” de efeitos a longo prazo em ratos após um estresse de restrição alimentar materna. Esses autores (DURRANT; KHORRAM; BUCHHOLZ; PEARCE, 2014) sugeriram que esses efeitos ocorreram por meio de mudanças na organização e abundância de proteínas da matriz extracelular. Mais recentemente, Kumar e colaboradores (KUMAR; IM; HUILGOL; YENDIGERI *et al.*, 2015) demonstraram que alterações da arteriosclerose induzida por DEX no endotélio da aorta era dependente da dose. Esses autores (KUMAR; IM; HUILGOL; YENDIGERI *et al.*, 2015) sugeriram que o espessamento das camadas endoteliais, como a túnica média e a adventícia, pode resultar na diminuição da complacência aórtica. Independente de qualquer mudança estrutural, Schafer e colaboradores (SCHAFER; WALLERATH; CLOSS; SCHMIDT *et al.*, 2005) demonstraram que a administração a longo prazo de DEX bloqueia a vasodilatação dependente do endotélio de arteríolas de resistência em camundongos intactos, sugerindo que essa resposta foi mediada pela regulação negativa da eNOS. Usando outro glicocorticóide, Yadav e colaboradores (YADAV; JAHAN; YADAV; SACHDEV *et al.*, 2013) mostraram que 4 semanas de tratamento com prednisona oral, em crianças, determinaram alterações na

mecânica da parede arterial, mas não o suficiente para causar disfunção endotelial, uma vez que desapareceu após a interrupção do tratamento. Então, analisando todos estes estudos, é possível acreditar que o mecanismo induzido por DEX para aumentar a rigidez arterial envolve uma abundância de proteínas da matriz, regulação negativa da eNOS, disfunção endotelial e alterações no metabolismo da glicose. Por outro lado, o presente estudo revelou, pela primeira vez, que a rigidez arterial patológica, presente em SHR, foi mantida após o tratamento com DEX. Esta resposta foi congruente com a área de deposição de colágeno aórtica. Da mesma forma que o observado no miocárdio, era esperado que DEX fosse melhorar a fibrose e a deposição de colágeno na parede do vaso devido aos seus efeitos anti-inflamatórios. Uma possível explicação para a manutenção da rigidez arterial é que a aorta de SHR normalmente já apresenta rupturas e duplicação da lâmina elástica interna (JORDAO; LADD; COPPI; CHOPARD *et al.*, 2011), que podem não ser afetadas por DEX.

Na terceira e última parte deste estudo, investigamos os efeitos do treinamento combinado (exercícios aeróbicos alternados com dias de exercício resistido) na hemodinâmica, remodelação cardíaca e rigidez arterial em SHR, tratados ou não com DEX. Sabe-se que o treinamento físico tem sido considerado uma importante estratégia não farmacológica para prevenir e controlar a HA e é reconhecido por várias sociedades de HA no Brasil e no mundo (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021; SHARMAN; SMART; COOMBES; STOWASSER, 2019; VERDECCHIA; REBOLDI; ANGELI, 2020; WILLIAMS; MANCIA; SPIERING; AGABITI ROSEI; AZIZI; BURNIER; CLEMENT; COCA; DE SIMONE; DOMINICZAK; KAHAN; MAHFOUD; REDON; RUILOPE; ZANCHETTI; KERINS; KJELDSSEN; KREUTZ; LAURENT; LIP; MCMANUS; NARKIEWICZ; RUSCHITZKA; SCHMIEDER; SHLYAKHTO; TSIOUFIS; ABOYANS; DESORMAIS, 2018). É amplamente preconizado que o treinamento aeróbio é o principal (mas não o único) componente do treinamento físico para indivíduos hipertensos.

São vários os mecanismos induzidos pelo treinamento físico aeróbio que estão envolvidos com o controle de PA, como restauração da atividade barorreflexa e normalização do balanço autômico para o coração (BRITO; PECANHA; FECCHIO; REZENDE *et al.*, 2019; CERONI; CHAAR; BOMBEIN; MICHELINI, 2009; FERREIRA-JUNIOR; RUGGERI; SILVA; ZAMPIERI *et al.*, 2019; MASSON; BORGES; DA SILVA; DA NOBREGA *et al.*, 2016; MASSON; COSTA; YSHII; FERNANDES *et al.*, 2014), normalização do impulso nervoso simpático para os vasos (DUCHATSCH; TARDELLI; HERRERA; RUIZ *et al.*, 2021; LEMOS; MOTA; MAROCOLO; SORDI *et al.*, 2018; LI; CHEN; LIU; KUO *et al.*, 2019;

MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021), atenuação da inflamação cardíaca, estresse oxidativo e hiperatividade do sistema renina angiotensina (SILVA; JARA; PERES; LIMA *et al.*, 2017), remodelamento das arteríolas do músculo esquelético (AMARAL; MICHELINI, 2011; CERONI; CHAAR; BOMBEIN; MICHELINI, 2009; MELO; MARTINHO; MICHELINI, 2003; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021), angiogênese do miocárdio e músculo esquelético (AMARAL; MICHELINI, 2011; MIOTTO; DUCHATSCH; MACEDO; RUIZ *et al.*, 2021), entre outros. Além disso, o treinamento aeróbio demonstrou prevenir e/ou reverter a rigidez arterial, como comumente observado não apenas em indivíduos com hipertensão, mas com síndrome metabólica e (GIOSCIA-RYAN; CLAYTON; FLEENOR; ENG *et al.*, 2021; GUERS; FARQUHAR; EDWARDS; LENNON, 2019; HASEGAWA; FUJIE; HORII; MIYAMOTO-MIKAMI *et al.*, 2018; KITZMAN; BRUBAKER; HERRINGTON; MORGAN *et al.*, 2013; KOHN; BORDELEAU; MILLER; WATKINS *et al.*, 2018; LOPES; AFREIXO; TEIXEIRA; GARCIA *et al.*, 2021; MIOTTO; DIONIZIO; JACOMINI; ZAGO *et al.*, 2021; MORA-RODRIGUEZ; RAMIREZ-JIMENEZ; FERNANDEZ-ELIAS; GUIO DE PRADA *et al.*, 2018; MORAES-TEIXEIRA JDE; FELIX; FERNANDES-SANTOS; MOURA *et al.*, 2010). Embora alguns estudos tenham mostrado alguns benefícios do treinamento resistido na redução da PA (FEITOSA; CARVALHO; DANTAS; DE SOUZA *et al.*, 2021; PERILHAO; KRAUSE NETO; DA SILVA; ALVES *et al.*, 2020), não há evidências suficientes de que o treinamento resistido isoladamente reduza significativamente a PA ambulatorial na população hipertensa (CARDOSO; GOMIDES; QUEIROZ; PINTO *et al.*, 2010) ou melhore a rigidez arterial (ASHOR; LARA; SIERVO; CELIS-MORALES *et al.*, 2014; HASEGAWA; FUJIE; HORII; MIYAMOTO-MIKAMI *et al.*, 2018; LI; HANSSSEN; CORDES; ROSSMEISSL *et al.*, 2015).

Portanto, a recomendação de exercício físico para controlar e tratar a HA é uma combinação de treinamento aeróbio complementado por treinamento (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021; SHARMAN; SMART; COOMBES; STOWASSER, 2019; VERDECCHIA; REBOLDI; ANGELI, 2020; WILLIAMS; MANCIA; SPIERING; AGABITI ROSEI; AZIZI; BURNIER; CLEMENT; COCA; DE SIMONE; DOMINICZAK; KAHAN; MAHFOUD; REDON; RUILOPE; ZANCHETTI; KERINS; KJELDSSEN; KREUTZ; LAURENT; LIP; MCMANUS; NARKIEWICZ; RUSCHITZKA; SCHMIEDER; SHLYAKHTO; TSIOUFIS; ABOYANS; DESORMAIS *et al.*, 2018), que é chamado de treinamento combinado. Na verdade, existem vários estudos clínicos que demonstram a eficácia do treinamento combinado para HA, realizado em dias

alternados ou no mesmo dia (FIGUEROA; OKAMOTO; JAIME; FAHS, 2019; FIGUEROA; PARK; SEO; SANCHEZ-GONZALEZ *et al.*, 2011; LI; HANSEN; CORDES; ROSSMEISSL *et al.*, 2015; MASROOR; BHATI; VERMA; KHAN *et al.*, 2018; PEKAS; SHIN; SON; HEADID *et al.*, 2020; SON; SUNG; BHARATH; CHOI *et al.*, 2017; SON; SUNG; CHO; PARK, 2017), no entanto, os mecanismos induzidos pelo treinamento combinado para reduzir a PA e VOP em SHR não são completamente compreendidos.

Os resultados do presente estudo mostraram que o treinamento combinado *per se* reduziu a PA em SHR e, o mecanismo envolveu um melhor balanço autonômico para o coração. De acordo, Conti *et al.*, (CONTI; BRITO JDE; BERNARDES; DIAS DDA *et al.*, 2015) e Shimojo *et al.*, (SHIMOJO; DA SILVA DIAS; MALFITANO; SANCHES *et al.*, 2018) mostraram que o treinamento combinado melhora a sensibilidade barorreflexa, reduz a variabilidade da PAS e a atividade nervosa simpático para os vasos, o que contribui para reduzir a PA em um modelo de síndrome metabólica e menopausa. Mais recentemente, Dias *et al.*, (DIAS; BERNARDES; STOYELL-CONTI; DOS SANTOS *et al.*, 2020a) mostraram que o treinamento combinado reduz a disfunção autonômica cardiovascular e o aumento da PA induzida por sobrecarga de frutose em SHR.

Como o remodelamento cardíaco geralmente está associado à HA e é considerado um indicador de mortalidade (PONIKOWSKI; VOORS; ANKER; BUENO *et al.*, 2016), nosso objetivo foi analisar os efeitos do treinamento combinado na hipertrofia e remodelamento cardíaco. No presente estudo, o treinamento combinado não melhorou nenhum dos parâmetros estruturais ecocardiográficos em SHR. Provavelmente, os efeitos do treinamento combinado sobre a estrutura e função do coração sejam mais evidentes em situações com comprometimento significativo da função cardíaca, como envelhecimento, insuficiência cardíaca, síndrome metabólica e menopausa, diabetes, entre outros *others* (DIAS; BERNARDES; STOYELL-CONTI; DOS SANTOS *et al.*, 2020a; SANCHES; BUZIN; CONTI; DIAS *et al.*, 2018; SHIMOJO; DA SILVA DIAS; MALFITANO; SANCHES *et al.*, 2018). Sanches *et al.*, (SANCHES; BUZIN; CONTI; DIAS *et al.*, 2018) demonstraram que o treinamento combinado atenua a disfunção cardíaca observada em modelo de diabetes e menopausa e essa resposta foi associada a menor concentração de espécies reativas de oxigênio (EROS) e inflamação cardíaca. Da mesma forma, redução do estresse oxidativo do VE e inflamação do miocárdio foram demonstradas após treinamento combinado, o que ajuda a melhorar disfunção cardíaca (CONTI; BRITO JDE; BERNARDES; DIAS DDA *et al.*, 2015; DIAS; BERNARDES; STOYELL-CONTI; DOS SANTOS *et al.*, 2020a; SHIMOJO; DA SILVA DIAS;

MALFITANO; SANCHES *et al.*, 2018). Embora o treinamento combinado no presente estudo não tenha melhorado significativamente a hipertrofia cardíaca dos SHR ou aumentado a densidade capilar do coração, o exercício foi capaz de reduzir a área de deposição de colágeno do miocárdio. Provavelmente essa foi uma resposta inicial e períodos mais longos de treinamento combinado poderiam melhorar parâmetros e funções cardíacas prejudicadas em SHR sedentários.

Além disso, o treinamento combinado reduziu a VOP em SHR, o que foi uma resposta positiva, uma vez que a rigidez arterial é considerada um importante marcador de saúde do vaso e um preditor de eventos cardiovasculares futuros, bem como indicativo subclínico de lesão de órgãos (SCUTERI; MORRELL; FEGATELLI; FIORILLO *et al.*, 2020; SHCHETYNSKA-MARINOVA; LIEBE; PAPA VASSILIU; DE FARIA FERNANDEZ *et al.*, 2021). A medida clínica da VOP tem sido sugerida para controlar precocemente o desenvolvimento da rigidez arterial, tanto em pacientes com risco cardiovascular aumentado quanto na população em geral (COUTINHO; TURNER; KULLO, 2011; JANNASZ; SONDEJ; TARGOWSKI; DOBROWOLSKI *et al.*, 2019). É importante notar que a rigidez arterial pode ser independente dos valores de (GUERS; FARQUHAR; EDWARDS; LENNON, 2019), ou seja, embora a hipertensão, associada ou não ao envelhecimento, leve ao aumento da rigidez arterial (MORGAN; CASABIANCA; KHOURI; KALINOSKI, 2014; RODE; TERENCE; WIRKNER; HORN *et al.*, 2020), alguns dos estudos mostraram que o desenvolvimento de rigidez arterial pode ser anterior à hipertensão (CELIK; YILMAZ; KEBAPCILAR; GUNDOGDU, 2017). Existem algumas metanálises e estudos de revisão utilizando exercícios combinados ou comparando os efeitos dos diferentes tipos de exercícios (aeróbico, resistido, combinado e intercalado de alta intensidade) na VOP, porém incluem hipertensos e normotensos (GREENWOOD; KOUFAKI; MERCER; RUSH *et al.*, 2015; MARTINEZ-VIZCAINO; CAVERO-REDONDO; SAZ-LARA; POZUELO-CARRASCOSA *et al.*, 2019; MONTERO; VINET; ROBERTS, 2015), que dificultam a compreensão dos resultados.

A relevância clínica do treinamento combinado tem sido demonstrada na HA, envelhecimento e diversas doenças cardiovasculares ou síndromes metabólicas (FIGUEROA; PARK; SEO; SANCHEZ-GONZALEZ *et al.*, 2011; MONTERO; VINET; ROBERTS, 2015; PEKAS; SHIN; SON; HEADID *et al.*, 2020; SCHMIDT-TRUCKSASS; WEISSER, 2011; SHIOTSU; WATANABE; TUJII; YANAGITA, 2018; SON; SUNG; CHO; PARK, 2017), mas os mecanismos subjacentes induzidos pelo treinamento combinado para diminuir a rigidez arterial em indivíduos hipertensos não são completamente compreendidos, basicamente devido



os desafios dos estudos mecânicos em grandes artérias em humanos. Além disso, a maioria dos estudos em humanos/animais que investigam os mecanismos de redução de rigidez arterial são realizados usando exercícios aeróbios (ANDRADE; CINTRA; ALVES; BARBOSA NETO *et al.*, 2013; GIOSCIA-RYAN; CLAYTON; FLEENOR; ENG *et al.*, 2021; HASEGAWA; FUJIE; HORII; MIYAMOTO-MIKAMI *et al.*, 2018; KOHN; BORDELEAU; MILLER; WATKINS *et al.*, 2018; MORAES-TEIXEIRA JDE; FELIX; FERNANDES-SANTOS; MOURA *et al.*, 2010). O presente estudo mostrou que o treinamento combinado reduziu a área de deposição de colágeno aórtico, carotídeo e femoral, sem alterações no remodelamento do vaso em SHR e, a menor quantidade de colágeno na parede das artérias foi positivamente correlacionada com a VOP. Em concordância, melhor equilíbrio entre colágeno e elastina aórticos, bem como a redução do conteúdo de colágeno na camada íntima da aorta foram associados à redução da VOP, mas esses resultados foram encontrados após o exercício aeróbio em ratos idosos (GU; WANG; ZHANG; MA *et al.*, 2014; KOHN; BORDELEAU; MILLER; WATKINS *et al.*, 2018) and SHR (GUERS; FARQUHAR; EDWARDS; LENNON, 2019; MORAES-TEIXEIRA JDE; FELIX; FERNANDES-SANTOS; MOURA *et al.*, 2010). Além disso, o aumento da síntese de NO (HASEGAWA; FUJIE; HORII; MIYAMOTO-MIKAMI *et al.*, 2018) ou o aumento da biodisponibilidade de NO devido à redução do estresse oxidativo (GUERS; FARQUHAR; EDWARDS; LENNON, 2019; ROQUE; BRIONES; GARCIA-REDONDO; GALAN *et al.*, 2013) estavam envolvidos na redução da rigidez arterial após exercícios aeróbicos. Poucos estudos investigaram os mecanismos de treinamento combinado na VOP. Recentemente, Otsuki *et al.*, (OTSUKI; NAMATAME; YOSHIKAWA; ZEMPO-MIYAKI, 2020) demonstraram que o treinamento combinado aumentou a concentração plasmática de NOx, um marcador de produção de óxido nítrico, que foi associado com a menor VOP, mas esses autores estudaram idosos e não hipertensos. Em concordância, o treinamento combinado elevou a concentração de nitrito/nitrato, bem como reduziu endotelina-1 em garotas obesas e pré-hipertensas (SON; SUNG; BHARATH; CHOI *et al.*, 2017). Da mesma forma, Pekas *et al.*, (PEKAS; SHIN; SON; HEADID *et al.*, 2020) também mostraram que o treinamento combinado reduziu a VOP em mulheres mais velhas no período pós-menopausa e essa resposta foi associada a uma melhora da PAS, lipoproteína de baixa densidade e percentual de gordura corporal. Assim, mais estudos são necessários para compreender os mecanismos do treinamento combinado na VOP de SHR.

O último resultado importante deste estudo foi que o treinamento combinado bloqueou completamente qualquer aumento de PA ou VOP induzida por DEX em SHR, como acontece

com ratos normotensos. A melhora alcançada pelo treinamento combinado no balanço autonômico do coração e na deposição de colágeno do miocárdio não foi afetada pelo tratamento com DEX, provavelmente devido ao melhor estado inflamatório e estresse oxidativo induzido pelo treinamento combinado (DIAS; BERNARDES; STOYELL-CONTI; DOS SANTOS *et al.*, 2020a; SANCHES; CONTI; BERNARDES; BRITO JDE *et al.*, 2015; SHIMOJO; DA SILVA DIAS; MALFITANO; SANCHES *et al.*, 2018), que poderia ser adicionado com o papel antiinflamatório de DEX. Além disso, o tratamento com DEX não aumentou a deposição de colágeno na parede do vaso em SHR como faz em ratos normotensos, o que ajudou a manter a VOP mais baixa. Portanto, até onde sabemos, este é o primeiro estudo a demonstrar que os valores mais baixos da PA e da VOP, obtidos após o treinamento combinado, foram mantidos mesmo após o tratamento com DEX em SHR.

Este estudo tem algumas limitações: primeiro, como o treinamento combinado reduziu a PA e a VOP, não podemos evitar a possibilidade de que a resposta da VOP seja dependente da PA, embora alguns estudos tenham mostrado que a redução da rigidez arterial pode ser independente da redução da PA; segundo, devido à limitação da técnica, a VOP foi analisada em ratos anestesiados.

## 8. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados do presente estudo sugerem que esta dosagem de DEX tem efeitos diferenciais na PA, rigidez arterial e remodelação do miocárdio em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos, ou seja, a hipertensão é induzida em Wistar devido as alterações neurais e rigidez aórtica, e em SHR, a hipertensão não foi exacerbada devido melhora no remodelamento do miocárdio e menor deposição da área de colágeno, sem efeitos adicionais na rigidez arterial.

Por outro lado, o treinamento combinado por si só reduz a PA e VOP em SHR e, mesmo após o tratamento com DEX, os animais mantiveram valores mais baixos desses parâmetros hemodinâmicos. Portanto, o treinamento combinado pode ser uma estratégia não farmacológica importante para reduzir a PA e a rigidez arterial em SHR e essas respostas mais baixas foram mantidas independentemente do tratamento com DEX.

## 9. REFERÊNCIAS

AGUILAR, D.; STROM, J.; CHEN, Q. M. Glucocorticoid induced leucine zipper inhibits apoptosis of cardiomyocytes by doxorubicin. **Toxicol Appl Pharmacol**, 276, n. 1, p. 55-62, Apr 1 2014.

AMARAL, S. L.; MICHELINI, L. C. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Braz J Med Biol Res**, 44, n. 9, p. 814-826, Sep 2011.

ANDRADE, G. P.; CINTRA, M. M.; ALVES, P. M.; BARBOSA NETO, O. *et al.* Remodeling of elastic layer of aortic artery after training by swimming in spontaneously hypertensive rats. **Exp Biol Med (Maywood)**, 238, n. 1, p. 7-11, Jan 2013.

ANWAR, M. A.; SALEH, A. I.; AL OLABI, R.; AL SHEHABI, T. S. *et al.* Glucocorticoid-induced fetal origins of adult hypertension: Association with epigenetic events. **Vascul Pharmacol**, 82, p. 41-50, Jul 2016.

ARTHUR-ATAAM, J.; BIDEAUX, P.; CHARRABI, A.; SICARD, P. *et al.* Dietary Supplementation with Silicon-Enriched Spirulina Improves Arterial Remodeling and Function in Hypertensive Rats. **Nutrients**, 11, n. 11, Oct 25 2019.

ASHOR, A. W.; LARA, J.; SIERVO, M.; CELIS-MORALES, C. *et al.* Effects of exercise modalities on arterial stiffness and wave reflection: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS One**, 9, n. 10, p. e110034, 2014.

BAREL, M.; PEREZ, O. A.; GIOZZET, V. A.; RAFACHO, A. *et al.* Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by dexamethasone treatment. **Eur J Appl Physiol**, 108, n. 5, p. 999-1007, Mar 2010.

BARROSO, W. K. S.; RODRIGUES, C. I. S.; BORTOLOTTI, L. A.; MOTA-GOMES, M. A. *et al.* Brazilian Guidelines of Hypertension - 2020. **Arq Bras Cardiol**, 116, n. 3, p. 516-658, Mar 2021.

BEN-SHLOMO, Y.; SPEARS, M.; BOUSTRED, C.; MAY, M. *et al.* Aortic pulse wave velocity improves cardiovascular event prediction: an individual participant meta-analysis of prospective observational data from 17,635 subjects. **J Am Coll Cardiol**, 63, n. 7, p. 636-646, Feb 25 2014.

BERNARDO, B. C.; WEEKS, K. L.; PRETORIUS, L.; MCMULLEN, J. R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacol Ther**, 128, n. 1, p. 191-227, Oct 2010.

BERTAGNOLLI, M.; CAMPOS, C.; SCHENKEL, P. C.; DE OLIVEIRA, V. L. *et al.* Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J Hypertens**, 24, n. 12, p. 2437-2443, Dec 2006.

BRASSELET, C.; DURAND, E.; ADDAD, F.; AL HAJ ZEN, A. *et al.* Collagen and elastin cross-linking: a mechanism of constrictive remodeling after arterial injury. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 289, n. 5, p. H2228-2233, Nov 2005.

BRITO, L. C.; PECANHA, T.; FECCHIO, R. Y.; REZENDE, R. A. *et al.* Morning versus Evening Aerobic Training Effects on Blood Pressure in Treated Hypertension. **Med Sci Sports Exerc**, 51, n. 4, p. 653-662, Apr 2019.

BROTMAN, D. J.; GIROD, J. P.; GARCIA, M. J.; PATEL, J. V. *et al.* Effects of short-term glucocorticoids on cardiovascular biomarkers. **J Clin Endocrinol Metab**, 90, n. 6, p. 3202-3208, Jun 2005.

BRUM, P. C.; DA SILVA, G. J.; MOREIRA, E. D.; IDA, F. *et al.* Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension**, 36, n. 6, p. 1018-1022, Dec 2000.

BUNBUPHA, S.; PRACHANEY, P.; KUKONGVIRIYAPAN, U.; KUKONGVIRIYAPAN, V. *et al.* Asiatic acid alleviates cardiovascular remodelling in rats with L-NAME-induced hypertension. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 42, n. 11, p. 1189-1197, Nov 2015.

CARDOSO, C. G., Jr.; GOMIDES, R. S.; QUEIROZ, A. C.; PINTO, L. G. *et al.* Acute and chronic effects of aerobic and resistance exercise on ambulatory blood pressure. **Clinics (Sao Paulo)**, 65, n. 3, p. 317-325, Mar 2010.

CATTADORI, G.; SEGURINI, C.; PICOZZI, A.; PADELETTI, L. *et al.* Exercise and heart failure: an update. **ESC Heart Fail**, 5, n. 2, p. 222-232, Apr 2018.

CELIK, G.; YILMAZ, S.; KEBAPCILAR, L.; GUNDOGDU, A. Central arterial characteristics of gout patients with chronic kidney diseases. **Int J Rheum Dis**, 20, n. 5, p. 628-638, May 2017.

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

CHAMIOT CLERC, P.; RENAUD, J. F.; BLACHER, J.; LEGRAND, M. *et al.* Collagen I and III and mechanical properties of conduit arteries in rats with genetic hypertension. **J Vasc Res**, 36, n. 2, p. 139-146, Mar-Apr 1999.

CHEN, Q. M.; ALEXANDER, D.; SUN, H.; XIE, L. *et al.* Corticosteroids inhibit cell death induced by doxorubicin in cardiomyocytes: induction of antiapoptosis, antioxidant, and detoxification genes. **Mol Pharmacol**, 67, n. 6, p. 1861-1873, Jun 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**, 35, n. 3, p. 569-582, Mar 1 2000.

COLLIER, S. R.; KANALEY, J. A.; CARHART, R., Jr.; FRECHETTE, V. *et al.* Effect of 4 weeks of aerobic or resistance exercise training on arterial stiffness, blood flow and blood pressure in pre- and stage-1 hypertensives. **J Hum Hypertens**, 22, n. 10, p. 678-686, Oct 2008.

CONSTANTINO, P. B.; DIONISIO, T. J.; DUCHATSCH, F.; HERRERA, N. A. *et al.* Exercise attenuates dexamethasone-induced hypertension through an improvement of baroreflex activity independently of the renin-angiotensin system. **Steroids**, 128, p. 147-154, Dec 2017.

CONTI, F. F.; BRITO JDE, O.; BERNARDES, N.; DIAS DDA, S. *et al.* Positive effect of combined exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 309, n. 12, p. R1532-1539, Dec 15 2015.

COUTINHO, T.; TURNER, S. T.; KULLO, I. J. Aortic pulse wave velocity is associated with measures of subclinical target organ damage. **JACC Cardiovasc Imaging**, 4, n. 7, p. 754-761, Jul 2011.

CURY, S. S.; FREIRE, P. P.; MARTINUCCI, B.; DOS SANTOS, V. C. *et al.* Fractal dimension analysis reveals skeletal muscle disorganization in mdx mice. **Biochem Biophys Res Commun**, 503, n. 1, p. 109-115, Sep 3 2018.

DE, P.; ROY, S. G.; KAR, D.; BANDYOPADHYAY, A. Excess of glucocorticoid induces myocardial remodeling and alteration of calcium signaling in cardiomyocytes. **J Endocrinol**, 209, n. 1, p. 105-114, Apr 2011.

DE SALVI GUIMARAES, F.; DE MORAES, W. M.; BOZI, L. H.; SOUZA, P. R. *et al.* Dexamethasone-induced cardiac deterioration is associated with both calcium handling abnormalities and calcineurin signaling pathway activation. **Mol Cell Biochem**, 424, n. 1-2, p. 87-98, Jan 2017.

DEMIR, K.; AVCI, A.; ERGULU ESMEN, S.; TUNCEZ, A. *et al.* Assessment of arterial stiffness and epicardial adipose tissue thickness in predicting the subclinical atherosclerosis in patients with ankylosing spondylitis. **Clin Exp Hypertens**, 43, n. 2, p. 169-174, Feb 17 2021.

DI CHIARA, T.; SCAGLIONE, A.; CORRAO, S.; ARGANO, C. *et al.* Education and hypertension: impact on global cardiovascular risk. **Acta Cardiol**, 72, n. 5, p. 507-513, Oct 2017.

DIAS, D. D. S.; BERNARDES, N.; STOYELL-CONTI, F. F.; DOS SANTOS, C. P. *et al.* Correction: Impact of combined exercise training on the development of cardiometabolic and neuroimmune complications induced by fructose consumption in hypertensive rats. **PLoS One**, 15, n. 7, p. e0235983, 2020a.

DIAS, D. D. S.; BERNARDES, N.; STOYELL-CONTI, F. F.; DOS SANTOS, C. P. *et al.* Impact of combined exercise training on the development of cardiometabolic and neuroimmune complications induced by fructose consumption in hypertensive rats. **PLoS One**, 15, n. 6, p. e0233785, 2020b.

DODIC, M.; PEERS, A.; COGHLAN, J. P.; MAY, C. N. *et al.* Altered cardiovascular haemodynamics and baroreceptor-heart rate reflex in adult sheep after prenatal exposure to dexamethasone. **Clin Sci (Lond)**, 97, n. 1, p. 103-109, Jul 1999.

DODIC, M.; SAMUEL, C.; MORITZ, K.; WINTOUR, E. M. *et al.* Impaired cardiac functional reserve and left ventricular hypertrophy in adult sheep after prenatal dexamethasone exposure. **Circ Res**, 89, n. 7, p. 623-629, Sep 28 2001.

DORIS, P. A. Genetics of hypertension: an assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat. **Physiol Genomics**, 49, n. 11, p. 601-617, Nov 1 2017.

DUCHATSCH, F.; CONSTANTINO, P. B.; HERRERA, N. A.; FABRICIO, M. F. *et al.* Short-term exposure to dexamethasone promotes autonomic imbalance to the heart before hypertension. **J Am Soc Hypertens**, 12, n. 8, p. 605-613, Aug 2018.

DUCHATSCH, F.; TARDELLI, L. P.; HERRERA, N. A.; RUIZ, T. F. R. *et al.* Dexamethasone and Training-Induced Cardiac Remodeling Improve Cardiac Function and Arterial Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. **J Cardiovasc Pharmacol Ther**, p. 1074248420953271, Aug 28 2020.

DUCHATSCH, F.; TARDELLI, L. P.; HERRERA, N. A.; RUIZ, T. F. R. *et al.* Dexamethasone and Training-Induced Cardiac Remodeling Improve Cardiac Function and Arterial Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. **J Cardiovasc Pharmacol Ther**, 26, n. 2, p. 189-199, Mar 2021.

DUPONT, J. J.; KENNEY, R. M.; PATEL, A. R.; JAFFE, I. Z. Sex differences in mechanisms of arterial stiffness. **Br J Pharmacol**, 176, n. 21, p. 4208-4225, Nov 2019.

DURRANT, L. M.; KHORRAM, O.; BUCHHOLZ, J. N.; PEARCE, W. J. Maternal food restriction modulates cerebrovascular structure and contractility in adult rat offspring: effects of metyrapone. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 306, n. 6, p. R401-410, Mar 15 2014.

FABRICIO, M. F.; JORDAO, M. T.; MIOTTO, D. S.; RUIZ, T. F. R. *et al.* Standardization of a new non-invasive device for assessment of arterial stiffness in rats: Correlation with age-related arteries' structure. **MethodsX**, 7, p. 100901, 2020.

FECCHIO, R. Y.; BRITO, L. C.; PECANHA, T.; DE MORAES FORJAZ, C. L. Potential Mechanisms Behind the Blood Pressure-Lowering Effect of Dynamic Resistance Training. **Curr Hypertens Rep**, 23, n. 6, p. 35, Jun 21 2021.

FEITOSA, L. A. S.; CARVALHO, J. D. S.; DANTAS, C. O.; DE SOUZA, D. S. *et al.* Resistance training improves cardiac function and cardiovascular autonomic control in doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Cardiovasc Toxicol**, 21, n. 5, p. 365-374, May 2021.

FERREIRA-JUNIOR, N. C.; RUGGERI, A.; SILVA, S. D., Jr.; ZAMPIERI, T. T. *et al.* Exercise training increases GAD65 expression, restores the depressed GABAA receptor function within the PVN and reduces sympathetic modulation in hypertension. **Physiol Rep**, 7, n. 13, p. e14107, Aug 2019.

FIGUEROA, A.; OKAMOTO, T.; JAIME, S. J.; FAHS, C. A. Impact of high- and low-intensity resistance training on arterial stiffness and blood pressure in adults across the lifespan: a review. **Pflugers Arch**, 471, n. 3, p. 467-478, Mar 2019.

FIGUEROA, A.; PARK, S. Y.; SEO, D. Y.; SANCHEZ-GONZALEZ, M. A. *et al.* Combined resistance and endurance exercise training improves arterial stiffness, blood pressure, and muscle strength in postmenopausal women. **Menopause**, 18, n. 9, p. 980-984, Sep 2011.

FLETCHER, A. J.; GARDNER, D. S.; EDWARDS, C. M.; FOWDEN, A. L. *et al.* Cardiovascular and endocrine responses to acute hypoxaemia during and following dexamethasone infusion in the ovine fetus. **J Physiol**, 549, n. Pt 1, p. 271-287, May 15 2003.

FORHEAD, A. J.; GILLESPIE, C. E.; FOWDEN, A. L. Role of cortisol in the ontogenic control of pulmonary and renal angiotensin-converting enzyme in fetal sheep near term. **J Physiol**, 526 Pt 2, p. 409-416, Jul 15 2000.

FORHEAD, A. J.; JELLYMAN, J. K.; DE BLASIO, M. J.; JOHNSON, E. *et al.* Maternal Dexamethasone Treatment Alters Tissue and Circulating Components of the Renin-Angiotensin System in the Pregnant Ewe and Fetus. **Endocrinology**, 156, n. 8, p. 3038-3046, Aug 2015.

FRIDEZ, P.; ZULLIGER, M.; BOBARD, F.; MONTORZI, G. *et al.* Geometrical, functional, and histomorphometric adaptation of rat carotid artery in induced hypertension. **J Biomech**, 36, n. 5, p. 671-680, May 2003.

GARCIARENA, C. D.; PINILLA, O. A.; NOLLY, M. B.; LAGUENS, R. P. *et al.* Endurance training in the spontaneously hypertensive rat: conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. **Hypertension**, 53, n. 4, p. 708-714, Apr 2009.

GIELEN, S.; LAUGHLIN, M. H.; O'CONNOR, C.; DUNCKER, D. J. Exercise training in patients with heart disease: review of beneficial effects and clinical recommendations. **Prog Cardiovasc Dis**, 57, n. 4, p. 347-355, Jan-Feb 2015.

GIOSCIA-RYAN, R. A.; CLAYTON, Z. S.; FLEENOR, B. S.; ENG, J. S. *et al.* Late-life voluntary wheel running reverses age-related aortic stiffness in mice: a translational model for studying mechanisms of exercise-mediated arterial de-stiffening. **Geroscience**, 43, n. 1, p. 423-432, Feb 2021.

GRASSI, G.; CATTANEO, B. M.; SERAVALLE, G.; LANFRANCHI, A. *et al.* Baroreflex control of sympathetic nerve activity in essential and secondary hypertension. **Hypertension**, 31, n. 1, p. 68-72, Jan 1998.



GREENWOOD, S. A.; KOUFAKI, P.; MERCER, T. H.; RUSH, R. *et al.* Aerobic or Resistance Training and Pulse Wave Velocity in Kidney Transplant Recipients: A 12-Week Pilot Randomized Controlled Trial (the Exercise in Renal Transplant [ExeRT] Trial). **Am J Kidney Dis**, 66, n. 4, p. 689-698, Oct 2015.

GU, Q.; WANG, B.; ZHANG, X. F.; MA, Y. P. *et al.* Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats. **Exp Gerontol**, 56, p. 37-44, Aug 2014.

GUERS, J. J.; FARQUHAR, W. B.; EDWARDS, D. G.; LENNON, S. L. Voluntary Wheel Running Attenuates Salt-Induced Vascular Stiffness Independent of Blood Pressure. **Am J Hypertens**, 32, n. 12, p. 1162-1169, Nov 15 2019.

GUIMARAES, G. V.; CIOLAC, E. G.; CARVALHO, V. O.; D'AVILA, V. M. *et al.* Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. **Hypertens Res**, 33, n. 6, p. 627-632, Jun 2010.

HAGG, U.; ANDERSSON, I.; NAYLOR, A. S.; GRONROS, J. *et al.* Voluntary physical exercise-induced vascular effects in spontaneously hypertensive rats. **Clin Sci (Lond)**, 107, n. 6, p. 571-581, Dec 2004.

HANSEN, D.; DENDALE, P.; CONINX, K.; VANHEES, L. *et al.* The European Association of Preventive Cardiology Exercise Prescription in Everyday Practice and Rehabilitative Training (EXPERT) tool: A digital training and decision support system for optimized exercise prescription in cardiovascular disease. Concept, definitions and construction methodology. **Eur J Prev Cardiol**, 24, n. 10, p. 1017-1031, Jul 2017.

HARDY, D. O.; TUCKER, L. A. The effects of a single bout of strength training on ambulatory blood pressure levels in 24 mildly hypertensive men. **Am J Health Promot**, 13, n. 2, p. 69-72, Nov-Dec 1998.

HASEGAWA, N.; FUJIE, S.; HORII, N.; MIYAMOTO-MIKAMI, E. *et al.* Effects of Different Exercise Modes on Arterial Stiffness and Nitric Oxide Synthesis. **Med Sci Sports Exerc**, 50, n. 6, p. 1177-1185, Jun 2018.

HAYS, T. T.; MA, B.; ZHOU, N.; STOLL, S. *et al.* Vascular smooth muscle cells direct extracellular dysregulation in aortic stiffening of hypertensive rats. **Aging Cell**, 17, n. 3, p. e12748, Jun 2018.

HERRERA, N. A.; DUCHATSCH, F.; TARDELLI, L. P.; DIONISIO, T. J. *et al.* Dexamethasone Does Not Inhibit Treadmill Training-Induced Angiogenesis in Myocardium: Role of MicroRNA-126 Pathway. **J Cardiovasc Pharmacol**, 76, n. 6, p. 708-714, Dec 2020.

HERRERA, N. A.; JESUS, I.; DIONISIO, E. J.; DIONISIO, T. J. *et al.* Exercise Training Prevents Dexamethasone-induced Rarefaction. **J Cardiovasc Pharmacol**, 70, n. 3, p. 194-201, Sep 2017.

HERRERA, N. A.; JESUS, I.; SHINOHARA, A. L.; DIONISIO, T. J. *et al.* Exercise training attenuates dexamethasone-induced hypertension by improving autonomic balance to the heart, sympathetic

vascular modulation and skeletal muscle microcirculation. **J Hypertens**, 34, n. 10, p. 1967-1976, Oct 2016.

HOSHINO, J.; SAKAMAKI, T.; NAKAMURA, T.; KOBAYASHI, M. *et al.* Exaggerated vascular response due to endothelial dysfunction and role of the renin-angiotensin system at early stage of renal hypertension in rats. **Circ Res**, 74, n. 1, p. 130-138, Jan 1994.

JANNASZ, I.; SONDEJ, T.; TARGOWSKI, T.; DOBROWOLSKI, A. *et al.* [Pulse wave velocity - a useful tool in assessing the stiffness of the arteries]. **Pol Merkur Lekarski**, 46, n. 276, p. 257-262, Jun 28 2019.

JESUS, I.; HERRERA, N. A.; ANDREO, J. C.; SANTOS, C. F. *et al.* Training counteracts DEX-induced microvascular rarefaction by improving the balance between apoptotic and angiogenic proteins. **Steroids**, 156, p. 108573, Apr 2020.

JOHNSON, E. J.; DIETER, B. P.; MARSH, S. A. Evidence for distinct effects of exercise in different cardiac hypertrophic disorders. **Life Sci**, 123, p. 100-106, Feb 15 2015.

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

JOUKAR, S.; EBRAHIMI, S.; KHAZAEI, M.; BASHIRI, A. *et al.* Co-administration of walnut (*Juglans regia*) prevents systemic hypertension induced by long-term use of dexamethasone: a promising strategy for steroid consumers. **Pharm Biol**, 55, n. 1, p. 184-189, Dec 2017.

KELLY, B. A.; LEWANDOWSKI, A. J.; WORTON, S. A.; DAVIS, E. F. *et al.* Antenatal glucocorticoid exposure and long-term alterations in aortic function and glucose metabolism. **Pediatrics**, 129, n. 5, p. e1282-1290, May 2012.

KIM, S. Y.; KOO, B. N.; SHIN, C. S.; BAN, M. *et al.* The effects of single-dose dexamethasone on inflammatory response and pain after uterine artery embolisation for symptomatic fibroids or adenomyosis: a randomised controlled study. **BJOG**, 123, n. 4, p. 580-587, Mar 2016.

KITZMAN, D. W.; BRUBAKER, P. H.; HERRINGTON, D. M.; MORGAN, T. M. *et al.* Effect of endurance exercise training on endothelial function and arterial stiffness in older patients with heart failure and preserved ejection fraction: a randomized, controlled, single-blind trial. **J Am Coll Cardiol**, 62, n. 7, p. 584-592, Aug 13 2013.

KOHN, J. C.; BORDELEAU, F.; MILLER, J.; WATKINS, H. C. *et al.* Beneficial Effects of Exercise on Subendothelial Matrix Stiffness are Short-Lived. **J Biomech Eng**, 140, n. 7, Jul 1 2018.

KUMAR, V. H.; IM, N. N.; HUILGOL, S. V.; YENDIGERI, S. M. *et al.* Dose Dependent Hepatic and Endothelial Changes in Rats Treated with Dexamethasone. **J Clin Diagn Res**, 9, n. 5, p. FF08-10, May 2015.

LACOLLEY, P.; LI, Z.; CHALLANDE, P.; REGNAULT, V. SRF/myocardin: a novel molecular axis regulating vascular smooth muscle cell stiffening in hypertension. **Cardiovasc Res**, 113, n. 2, p. 120-122, Feb 2017.

LACOLLEY, P.; REGNAULT, V.; SEGERS, P.; LAURENT, S. Vascular Smooth Muscle Cells and Arterial Stiffening: Relevance in Development, Aging, and Disease. **Physiol Rev**, 97, n. 4, p. 1555-1617, Oct 1 2017.

LAMBRINOUDAKI, I.; KAZANI, A.; ARMENI, E.; RIZOS, D. *et al.* The metabolic syndrome is associated with carotid atherosclerosis and arterial stiffness in asymptomatic, nondiabetic postmenopausal women. **Gynecol Endocrinol**, 34, n. 1, p. 78-82, Jan 2018.

LAMMERICH, A.; GUNTHER, J.; PFITZER, G.; STORCH, E. *et al.* Alterations of cardiac contractile function are related to changes in membrane calcium transport in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, 13, n. 11, p. 1313-1324, Nov 1995.

LEE, M.; CARROLL, T. J. Cross education: possible mechanisms for the contralateral effects of unilateral resistance training. **Sports Med**, 37, n. 1, p. 1-14, 2007.

LEMOIS, M. P.; MOTA, G. R. D.; MAROCOLO, M.; SORDI, C. C. *et al.* Exercise Training Attenuates Sympathetic Activity and Improves Morphometry of Splenic Arterioles in Spontaneously Hypertensive Rats. **Arq Bras Cardiol**, 110, n. 3, p. 263-269, Mar 2018.

LI, J.; KEMP, B. A.; HOWELL, N. L.; MASSEY, J. *et al.* Metabolic Changes in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts Precede Cardiac Dysfunction and Left Ventricular Hypertrophy. **J Am Heart Assoc**, 8, n. 4, p. e010926, Feb 19 2019.

LI, J. Y.; CHEN, C. W.; LIU, T. H.; KUO, T. B. *et al.* Exercise Prevents Hypertension and Disrupts the Correlation Between Vascular Sympathetic Activity and Age-Related Increase in Blood Pressure in SHR. **Am J Hypertens**, 32, n. 11, p. 1091-1100, Oct 16 2019.

LI, X. S.; HE, H.; ZHAO, Y. L.; LI, Y. *et al.* Bone Mineral Density Is Negatively Associated With Arterial Stiffness in Men With Hypertension. **J Clin Hypertens (Greenwich)**, 18, n. 11, p. 1106-1111, Nov 2016.

LI, Y.; HANSEN, H.; CORDES, M.; ROSSMEISL, A. *et al.* Aerobic, resistance and combined exercise training on arterial stiffness in normotensive and hypertensive adults: A review. **Eur J Sport Sci**, 15, n. 5, p. 443-457, 2015.

LIETMAN, P. S.; SARAL, R. Treatment and prevention of virus infections in immunosuppressed patients. **Antiviral Res**, Suppl 1, p. 241-250, 1985.

LINDESAY, G.; BEZIE, Y.; RAGONNET, C.; DUCHATELLE, V. *et al.* Differential Stiffening between the Abdominal and Thoracic Aorta: Effect of Salt Loading in Stroke-Prone Hypertensive Rats. **J Vasc Res**, 55, n. 3, p. 144-158, 2018.

LINDESAY, G.; RAGONNET, C.; CHIMENTI, S.; VILLENEUVE, N. *et al.* Age and hypertension strongly induce aortic stiffening in rats at basal and matched blood pressure levels. **Physiol Rep**, 4, n. 10, May 2016.

LITHOVIUS, R.; GORDIN, D.; FORSBLOM, C.; SARAHEIMO, M. *et al.* Ambulatory blood pressure and arterial stiffness in individuals with type 1 diabetes. **Diabetologia**, 61, n. 9, p. 1935-1945, Sep 2018.

LOPES, S.; AFREIXO, V.; TEIXEIRA, M.; GARCIA, C. *et al.* Exercise training reduces arterial stiffness in adults with hypertension: a systematic review and meta-analysis. **J Hypertens**, 39, n. 2, p. 214-222, Feb 1 2021.

MACDONALD, H. V.; JOHNSON, B. T.; HUEDO-MEDINA, T. B.; LIVINGSTON, J. *et al.* Dynamic Resistance Training as Stand-Alone Antihypertensive Lifestyle Therapy: A Meta-Analysis. **J Am Heart Assoc**, 5, n. 10, Sep 28 2016.

MACEDO, A. G.; KRUG, A. L.; HERRERA, N. A.; ZAGO, A. S. *et al.* Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 143, p. 357-364, Sep 2014.

MACEDO, F. N.; SOUZA, D. S.; ARAUJO, J.; DANTAS, C. O. *et al.* NOX-dependent reactive oxygen species production underlies arrhythmias susceptibility in dexamethasone-treated rats. **Free Radic Biol Med**, 152, p. 1-7, May 20 2020.

MARTINEZ-MARTINEZ, E.; RODRIGUEZ, C.; GALAN, M.; MIANA, M. *et al.* The lysyl oxidase inhibitor (beta-aminopropionitrile) reduces leptin profibrotic effects and ameliorates cardiovascular remodeling in diet-induced obesity in rats. **J Mol Cell Cardiol**, 92, p. 96-104, Mar 2016.

MARTINEZ-VIZCAINO, V.; CAVERO-REDONDO, I.; SAZ-LARA, A.; POZUELO-CARRASCOSA, D. P. *et al.* Comparative effect of statins and types of physical exercise on arterial stiffness: Protocol for network meta-analysis. **Medicine (Baltimore)**, 98, n. 20, p. e15484, May 2019.

MASROOR, S.; BHATI, P.; VERMA, S.; KHAN, M. *et al.* Heart Rate Variability following Combined Aerobic and Resistance Training in Sedentary Hypertensive Women: A Randomised Control Trial. **Indian Heart J**, 70 Suppl 3, p. S28-S35, Dec 2018.

MASSON, G. S.; BORGES, J. P.; DA SILVA, P. P.; DA NOBREGA, A. C. *et al.* Effect of continuous and interval aerobic exercise training on baroreflex sensitivity in heart failure. **Auton Neurosci**, 197, p. 9-13, May 2016.

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

MASSON, G. S.; NAIR, A. R.; SILVA SOARES, P. P.; MICHELINI, L. C. *et al.* Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 309, n. 7, p. H1115-1122, Oct 2015.

MELO, C. M.; ALENCAR FILHO, A. C.; TINUCCI, T.; MION, D., Jr. *et al.* Postexercise hypotension induced by low-intensity resistance exercise in hypertensive women receiving captopril. **Blood Press Monit**, 11, n. 4, p. 183-189, Aug 2006.

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

MIAO, Y.; ZHANG, Y.; LIM, P. S.; KANJANAPAN, Y. *et al.* Folic acid prevents and partially reverses glucocorticoid-induced hypertension in the rat. **Am J Hypertens**, 20, n. 3, p. 304-310, Mar 2007.

MIOTTO, D. S.; DIONIZIO, A.; JACOMINI, A. M.; ZAGO, A. S. *et al.* Identification of Aortic Proteins Involved in Arterial Stiffness in Spontaneously Hypertensive Rats Treated With Perindopril: A Proteomic Approach. **Front Physiol**, 12, p. 624515, 2021.

MIOTTO, D. S.; DUCHATSCH, F.; MACEDO, A. G.; RUIZ, T. F. R. *et al.* Perindopril Reduces Arterial Pressure and Does Not Inhibit Exercise-Induced Angiogenesis in Spontaneously Hypertensive Rats. **J Cardiovasc Pharmacol**, 77, n. 4, p. 519-528, Apr 1 2021.

MIYACHI, M.; YAZAWA, H.; FURUKAWA, M.; TSUBOI, K. *et al.* Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. **Hypertension**, 53, n. 4, p. 701-707, Apr 2009.

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**, 33, n. 11, p. 1029-1034, Nov 2006.

MONTERO, D.; VINET, A.; ROBERTS, C. K. Effect of combined aerobic and resistance training versus aerobic training on arterial stiffness. **Int J Cardiol**, 178, p. 69-76, Jan 15 2015.

MORA-RODRIGUEZ, R.; RAMIREZ-JIMENEZ, M.; FERNANDEZ-ELIAS, V. E.; GUIO DE PRADA, M. V. *et al.* Effects of aerobic interval training on arterial stiffness and microvascular function in patients with metabolic syndrome. **J Clin Hypertens (Greenwich)**, 20, n. 1, p. 11-18, Jan 2018.

MORAES-TEIXEIRA JDE, A.; FELIX, A.; FERNANDES-SANTOS, C.; MOURA, A. S. *et al.* Exercise training enhances elastin, fibrillin and nitric oxide in the aorta wall of spontaneously hypertensive rats. **Exp Mol Pathol**, 89, n. 3, p. 351-357, Dec 2010.

MORGAN, E. E.; CASABIANCA, A. B.; KHOURI, S. J.; KALINOSKI, A. L. In vivo assessment of arterial stiffness in the isoflurane anesthetized spontaneously hypertensive rat. **Cardiovasc Ultrasound**, 12, p. 37, Sep 17 2014.

MOZOS, I.; MALAINER, C.; HORBANCZUK, J.; GUG, C. *et al.* Inflammatory Markers for Arterial Stiffness in Cardiovascular Diseases. **Front Immunol**, 8, p. 1058, 2017.

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

NERENBERG, K. A.; ZARNKE, K. B.; LEUNG, A. A.; DASGUPTA, K. *et al.* Hypertension Canada's 2018 Guidelines for Diagnosis, Risk Assessment, Prevention, and Treatment of Hypertension in Adults and Children. **Can J Cardiol**, 34, n. 5, p. 506-525, May 2018.

NIAN, M.; LEE, P.; KHAPER, N.; LIU, P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. **Circ Res**, 94, n. 12, p. 1543-1553, Jun 25 2004.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J**, 27, p. 282-293, Mar 1963.

ONG, S. L.; VICKERS, J. J.; ZHANG, Y.; MCKENZIE, K. U. *et al.* Role of xanthine oxidase in dexamethasone-induced hypertension in rats. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 34, n. 5-6, p. 517-519, May-Jun 2007.

ONG, S. L.; VOHRA, H.; ZHANG, Y.; SUTTON, M. *et al.* The effect of alpha-lipoic acid on mitochondrial superoxide and glucocorticoid-induced hypertension. **Oxid Med Cell Longev**, 2013, p. 517045, 2013.

ONG, S. L.; ZHANG, Y.; WHITWORTH, J. A. Reactive oxygen species and glucocorticoid-induced hypertension. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 35, n. 4, p. 477-482, Apr 2008.

OTSUKI, T.; NAMATAME, H.; YOSHIKAWA, T.; ZEMPO-MIYAKI, A. Combined aerobic and low-intensity resistance exercise training increases basal nitric oxide production and decreases arterial stiffness in healthy older adults. **J Clin Biochem Nutr**, 66, n. 1, p. 62-66, Jan 2020.

PAGAN, L. U.; DAMATTO, R. L.; CEZAR, M. D.; LIMA, A. R. *et al.* Long-term low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. **Cell Physiol Biochem**, 36, n. 1, p. 61-74, 2015.

PAGAN, L. U.; DAMATTO, R. L.; GOMES, M. J.; LIMA, A. R. R. *et al.* Low-intensity aerobic exercise improves cardiac remodelling of adult spontaneously hypertensive rats. **J Cell Mol Med**, 23, n. 9, p. 6504-6507, Sep 2019.

PANIAGUA, N.; LOPEZ, R.; MUNOZ, N.; TAMES, M. *et al.* Randomized Trial of Dexamethasone Versus Prednisone for Children with Acute Asthma Exacerbations. **J Pediatr**, 191, p. 190-196 e191, Dec 2017.

PEDERSEN, B. K.; SALTIN, B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. **Scand J Med Sci Sports**, 25 Suppl 3, p. 1-72, Dec 2015.

PEKAS, E. J.; SHIN, J.; SON, W. M.; HEADID, R. J., 3rd *et al.* Habitual Combined Exercise Protects against Age-Associated Decline in Vascular Function and Lipid Profiles in Elderly Postmenopausal Women. **Int J Environ Res Public Health**, 17, n. 11, May 30 2020.

PERILHAO, M. S.; KRAUSE NETO, W.; DA SILVA, A. A.; ALVES, L. L. S. *et al.* Linear periodization of strength training in blocks attenuates hypertension and diastolic dysfunction with normalization of myocardial collagen content in spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, 38, n. 1, p. 73-81, Jan 2020.

PONIKOWSKI, P.; VOORS, A. A.; ANKER, S. D.; BUENO, H. *et al.* 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. **Eur J Heart Fail**, 18, n. 8, p. 891-975, Aug 2016.

PUTAREK, K.; BANFIC, L.; PASALIC, M.; KRNIC, N. *et al.* Arterial stiffness as a measure of cardiovascular risk in obese adolescents and adolescents with diabetes type 1. **J Pediatr Endocrinol Metab**, 31, n. 12, p. 1315-1323, Dec 19 2018.

RAO, M. K.; XU, A.; NARAYANAN, N. Glucocorticoid modulation of protein phosphorylation and sarcoplasmic reticulum function in rat myocardium. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 281, n. 1, p. H325-333, Jul 2001.

REN, R.; OAKLEY, R. H.; CRUZ-TOPETE, D.; CIDLOWSKI, J. A. Dual role for glucocorticoids in cardiomyocyte hypertrophy and apoptosis. **Endocrinology**, 153, n. 11, p. 5346-5360, Nov 2012.

RODE, M.; TEREN, A.; WIRKNER, K.; HORN, K. *et al.* Genome-wide association analysis of pulse wave velocity traits provide new insights into the causal relationship between arterial stiffness and blood pressure. **PLoS One**, 15, n. 8, p. e0237237, 2020.

ROQUE, F. R.; BRIONES, A. M.; GARCIA-REDONDO, A. B.; GALAN, M. *et al.* Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. **Br J Pharmacol**, 168, n. 3, p. 686-703, Feb 2013.

ROSSONI, L. V.; OLIVEIRA, R. A.; CAFFARO, R. R.; MIANA, M. *et al.* Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. **J Hypertens**, 29, n. 12, p. 2349-2358, Dec 2011.

RUANGTHAI, R.; PHOEMSAPTHAWEE, J. Combined exercise training improves blood pressure and antioxidant capacity in elderly individuals with hypertension. **J Exerc Sci Fit**, 17, n. 2, p. 67-76, Jan 20 2019.

SAFAR, M.; CHAMIOT-CLERC, P.; DAGHER, G.; RENAUD, J. F. Pulse pressure, endothelium function, and arterial stiffness in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, 38, n. 6, p. 1416-1421, Dec 1 2001.

SANCHES, I. C.; BUZIN, M.; CONTI, F. F.; DIAS, D. D. S. *et al.* Combined aerobic and resistance exercise training attenuates cardiac dysfunctions in a model of diabetes and menopause. **PLoS One**, 13, n. 9, p. e0202731, 2018.

SANCHES, I. C.; CONTI, F. F.; BERNARDES, N.; BRITO JDE, O. *et al.* Impact of combined exercise training on cardiovascular autonomic control and mortality in diabetic ovariectomized rats. **J Appl Physiol (1985)**, 119, n. 6, p. 656-662, Sep 15 2015.

SAVITHA, M. N.; SUVILESH, K. N.; SIDDESHA, J. M.; MILAN GOWDA, M. D. *et al.* Combinatorial inhibition of Angiotensin converting enzyme, Neutral endopeptidase and Aminopeptidase N by N-methylated peptides alleviates blood pressure and fibrosis in rat model of dexamethasone-induced hypertension. **Peptides**, 123, p. 170180, Jan 2020.

SCANDALE, G.; DIMITROV, G.; RECCHIA, M.; CARZANIGA, G. *et al.* Arterial stiffness and 5-year mortality in patients with peripheral arterial disease. **J Hum Hypertens**, 34, n. 7, p. 505-511, Jul 2020.

SCHAFER, S. C.; WALLERATH, T.; CLOSS, E. I.; SCHMIDT, C. *et al.* Dexamethasone suppresses eNOS and CAT-1 and induces oxidative stress in mouse resistance arterioles. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 288, n. 1, p. H436-444, Jan 2005.

SCHMIDT-TRUCKSASS, A.; WEISSER, B. [Vascular aging, arterial hypertension and physical activity]. **Dtsch Med Wochenschr**, 136, n. 46, p. 2367-2371, Nov 2011.

SCHROEDER, E. C.; FRANKE, W. D.; SHARP, R. L.; LEE, D. C. Comparative effectiveness of aerobic, resistance, and combined training on cardiovascular disease risk factors: A randomized controlled trial. **PLoS One**, 14, n. 1, p. e0210292, 2019.

SCUTERI, A.; CUNHA, P. G.; AGABITI ROSEI, E.; BADARIERE, J. *et al.* Arterial stiffness and influences of the metabolic syndrome: a cross-countries study. **Atherosclerosis**, 233, n. 2, p. 654-660, Apr 2014.

SCUTERI, A.; MORRELL, C. H.; FEGATELLI, D. A.; FIORILLO, E. *et al.* Arterial stiffness and multiple organ damage: a longitudinal study in population. **Aging Clin Exp Res**, 32, n. 5, p. 781-788, May 2020.



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

SEHGEL, N. L.; VATNER, S. F.; MEININGER, G. A. "Smooth Muscle Cell Stiffness Syndrome"-Revisiting the Structural Basis of Arterial Stiffness. **Front Physiol**, 6, p. 335, 2015.

SHARMAN, J. E.; SMART, N. A.; COOMBES, J. S.; STOWASSER, M. Exercise and sport science australia position stand update on exercise and hypertension. **J Hum Hypertens**, 33, n. 12, p. 837-843, Dec 2019.

SHCHETYNSKA-MARINOVA, T.; LIEBE, V.; PAPAVALASSILIU, T.; DE FARIA FERNANDEZ, A. *et al.* Determinants of arterial stiffness in patients with atrial fibrillation. **Arch Cardiovasc Dis**, Apr 23 2021.

SHIMOJO, G. L.; DA SILVA DIAS, D.; MALFITANO, C.; SANCHES, I. C. *et al.* Combined Aerobic and Resistance Exercise Training Improve Hypertension Associated With Menopause. **Front Physiol**, 9, p. 1471, 2018.

SHIOTSU, Y.; WATANABE, Y.; TUJII, S.; YANAGITA, M. Effect of exercise order of combined aerobic and resistance training on arterial stiffness in older men. **Exp Gerontol**, 111, p. 27-34, Oct 1 2018.

SI, X. B.; LIU, W. Relationship between blood lipid and arterial stiffness in hypertension. **Clin Invest Med**, 42, n. 3, p. E47-E55, Sep 29 2019.

SILVA, S. D., Jr.; JARA, Z. P.; PERES, R.; LIMA, L. S. *et al.* Temporal changes in cardiac oxidative stress, inflammation and remodeling induced by exercise in hypertension: Role for local angiotensin II reduction. **PLoS One**, 12, n. 12, p. e0189535, 2017.

SON, W. M.; SUNG, K. D.; BHARATH, L. P.; CHOI, K. J. *et al.* Combined exercise training reduces blood pressure, arterial stiffness, and insulin resistance in obese prehypertensive adolescent girls. **Clin Exp Hypertens**, 39, n. 6, p. 546-552, 2017.

SON, W. M.; SUNG, K. D.; CHO, J. M.; PARK, S. Y. Combined exercise reduces arterial stiffness, blood pressure, and blood markers for cardiovascular risk in postmenopausal women with hypertension. **Menopause**, 24, n. 3, p. 262-268, Mar 2017.

STERN, R.; TATTERSALL, M. C.; GEPNER, A. D.; KORCARZ, C. E. *et al.* Sex differences in predictors of longitudinal changes in carotid artery stiffness: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 35, n. 2, p. 478-484, Feb 2015.

THOMPSON, P. D.; ARENA, R.; RIEBE, D.; PESCATELLO, L. S. *et al.* ACSM's new preparticipation health screening recommendations from ACSM's guidelines for exercise testing and prescription, ninth edition. **Curr Sports Med Rep**, 12, n. 4, p. 215-217, Jul-Aug 2013.

VERDECCHIA, P.; REBOLDI, G.; ANGELI, F. The 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines - key messages and clinical considerations. **Eur J Intern Med**, 82, p. 1-6, Dec 2020.

VILLARI, B.; CAMPBELL, S. E.; HESS, O. M.; MALL, G. *et al.* Influence of collagen network on left ventricular systolic and diastolic function in aortic valve disease. **J Am Coll Cardiol**, 22, n. 5, p. 1477-1484, Nov 1 1993.

VLACHOPOULOS, C.; AZNAOURIDIS, K.; STEFANADIS, C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. **J Am Coll Cardiol**, 55, n. 13, p. 1318-1327, Mar 30 2010.

VLACHOPOULOS, C.; AZNAOURIDIS, K.; STEFANADIS, C. Aortic stiffness for cardiovascular risk prediction: just measure it, just do it! **J Am Coll Cardiol**, 63, n. 7, p. 647-649, Feb 25 2014.

WALLERATH, T.; GODECKE, A.; MOLOJAVYI, A.; LI, H. *et al.* Dexamethasone lacks effect on blood pressure in mice with a disrupted endothelial NO synthase gene. **Nitric Oxide**, 10, n. 1, p. 36-41, Feb 2004.

WANI-PAREKH, P.; BLANCO-GARCIA, C.; MENDEZ, M.; MUKHERJEE, D. Guide of Hypertensive Crisis Pharmacotherapy. **Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets**, 17, n. 1, p. 52-57, 2017.

WHITWORTH, J. A.; SCHYVENS, C. G.; ZHANG, Y.; ANDREWS, M. C. *et al.* The nitric oxide system in glucocorticoid-induced hypertension. **J Hypertens**, 20, n. 6, p. 1035-1043, Jun 2002.

WILLIAMS, B.; MANCIA, G.; SPIERING, W.; AGABITI ROSEI, E. *et al.* 2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. **Blood Press**, 27, n. 6, p. 314-340, Dec 2018.

WILLIAMS, B.; MANCIA, G.; SPIERING, W.; AGABITI ROSEI, E. *et al.* 2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology: ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. **J Hypertens**, 36, n. 12, p. 2284-2309, Dec 2018.

WILLIAMSON, P. M.; ONG, S. L.; WHITWORTH, J. A.; KELLY, J. J. The role of sustained release isosorbide mononitrate on corticosteroid-induced hypertension in healthy human subjects. **J Hum Hypertens**, 29, n. 12, p. 737-743, Dec 2015.

WU, J.; SALEH, M. A.; KIRABO, A.; ITANI, H. A. *et al.* Immune activation caused by vascular oxidation promotes fibrosis and hypertension. **J Clin Invest**, 126, n. 4, p. 1607, Apr 1 2016.

XIA, Q. G.; NA, T.; GUO, Y. M.; BI, Y. T. *et al.* Improvement of chronic heart failure by dexamethasone is not associated with downregulation of leptin in rats. **Acta Pharmacol Sin**, 28, n. 2, p. 202-210, Feb 2007.

XIE, Z.; WANG, S.; LIANG, Z.; ZENG, L. *et al.* Impacts of a Specific Cyclooxygenase-2 Inhibitor on Pressure Overload-Induced Myocardial Hypertrophy in Rats. **Heart Surg Forum**, 22, n. 6, p. E432-E437, Oct 9 2019.

XU, B.; STROM, J.; CHEN, Q. M. Dexamethasone induces transcriptional activation of Bcl-xL gene and inhibits cardiac injury by myocardial ischemia. **Eur J Pharmacol**, 668, n. 1-2, p. 194-200, Oct 1 2011.

YADAV, A.; JAHAN, A.; YADAV, T. P.; SACHDEV, N. *et al.* Effect of glucocorticoids on serum lipid profile and endothelial function and arterial wall mechanics. **Indian J Pediatr**, 80, n. 12, p. 1007-1014, Dec 2013.

YAO, L.; CHEN, G. P.; LU, X.; ZHENG, L. R. *et al.* Effects of atorvastatin on calcium-regulating proteins: a possible mechanism to repair cardiac dysfunction in spontaneously hypertensive rats. **Basic Res Cardiol**, 104, n. 3, p. 258-268, May 2009.

YOU, J.; WU, J.; ZHANG, Q.; YE, Y. *et al.* Differential cardiac hypertrophy and signaling pathways in pressure versus volume overload. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 314, n. 3, p. H552-H562, Mar 1 2018.

ZALBA, G.; BEAUMONT, F. J.; SAN JOSE, G.; FORTUNO, A. *et al.* Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, 35, n. 5, p. 1055-1061, May 2000.

ZHANG, G.; LIN, X.; SHAO, Y.; SU, C. *et al.* Berberine reduces endothelial injury and arterial stiffness in spontaneously hypertensive rats. **Clin Exp Hypertens**, 42, n. 3, p. 257-265, 2020.

ZIMMER, A.; TEIXEIRA, R. B.; BONETTO, J. H. P.; BAHR, A. C. *et al.* Role of inflammation, oxidative stress, and autonomic nervous system activation during the development of right and left cardiac remodeling in experimental pulmonary arterial hypertension. **Mol Cell Biochem**, 464, n. 1-2, p. 93-109, Jan 2020.

## 10. ANEXO



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



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Alterações hemodinâmicas e remodelamento cardíaco e vascular induzidos pelo treinamento físico combinado em SHR tratados com dexametasona**", registrada com o nº **775/2017 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 23/08/2018.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	De 15/09/2017 a 31/03/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Nº de animais	10
Peso/Idade	250g/45 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério
Espécie/linhagem/raça	Rato isogênico/SHR
Nº de animais	64
Peso/Idade	250g/45 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério

  
Profª Drª Sandra Lia do Amaral Cardoso