

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

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO COMBINADO NA RIGIDEZ ARTERIAL DE  
RATOS TRATADOS COM DEXAMETASONA.**

Aluno: Vinicius Ferreira de Paula  
Orientadora: Profa. Assoc. Sandra Lia do Amaral Cardoso

**BAURU  
Maio – 2019**

**VINICIUS FERREIRA DE PAULA**

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO COMBINADO NA RIGIDEZ ARTERIAL DE  
RATOS TRATADOS COM DEXAMETASONA.**

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

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

**BAURU - SP**

**Maior - 2019**

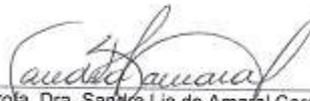


**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

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

**Folha de Aprovação**

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Vinicius Ferreira de Paula, realizada em 26/03/2019:



---

Prof. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso  
UNESP



---

Prof. Dr. Emmanuel Gomes Ciolac  
UNESP



---

Prof. Dr. Thiago José Dionísio  
USP

Ferreira de Paula, Vinicius

Efeitos do Treinamento Físico Combinado na Rigidez Arterial de ratos  
Tratados com Dexametasona / Vinicius Ferreira de Paula. -- 2019.  
58 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus São  
Carlos, São Carlos

Orientador: Sandra Lia do Amaral Cardoso

Banca examinadora: Sandra Lia Amaral Cardoso, Emmanuel Gomes

Ciolar, Thiago José Dionísio

Bibliografia

1. Treinamento Físico Combinado. 2. Rigidez Arterial. 3. Dexametasona.  
I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Ronildo Santos Prado – CRB/8 7325

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Paulo (*in memoriam*) e Neiva, que dedicaram suas vidas para me educar, trilhar o caminho da honestidade e da humildade, sempre perseverar e, principalmente, realizar os sonhos. Vocês não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida. A minha avó Geny (*in memoriam*), minha eterna gratidão pelos seus ensinamentos de vida em conduzi-la, sobretudo, com amor e fé em Deus. E ao meu segundo pai, Romeu que me conduziu com amor incondicional, em trilhar pelo caminho do amor e compaixão, contribuindo para que este sonho se tornar-se realidade.

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES, #1702104) - Código de Financiamento 001. O suporte financeiro pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, #2017/00509-1).

A todos os professores que tiveram participação em minha formação, principalmente a Prof<sup>a</sup>. Ms. Olga de Castro Mendes, por me indicar o caminho,

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas e do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências fisiológicas - associação ampla UFSCAR/ UNESP.

Aos meus companheiros e amigos de laboratório Naiara Herrera, Danyelle Miotto, Francine Duchatsch, Lidieli Tardeli, Anderson Macedo, André Krug este último acabou sendo muito importante, por me auxiliar e conduzir de forma amigável minha iniciação científica no laboratório. Aos alunos de iniciação científica, Melissa e Gustavo Henrique. Todos contribuíram para a conclusão desta dissertação.

A minha orientadora Sandra, a qual com o tempo aprendi a admirar, respeitar e espelhar-me tanto como pessoa quanto orientadora. Muito obrigado pela atenção, paciência, perseverança em me orientar, sobretudo, por acreditar em mim!

A minha família de amigos que sem eles jamais seria possível tudo isso. Sem dúvida é o suporte para tudo.

A minha namorada Larissa Massi, por me apoiar e ajudar com carinho e compaixão, sendo de extrema importância nos momentos difíceis, sendo compreensiva e amorosa. Te amo!

A minha sogra Vera, por me dar suporte nestes momentos tão especial na minha vida.

Aos meus irmãos, Paulo Junior e Rafael, pelo suporte na ausência de nosso pai. Aos meus avós que já estão junto a Deus, mas sempre presentes em minha vida, aos meus pais, Paulo Roberto e Neiva Elir F. de Paula, a Minha Avó Geni D'Ávila de Paula. Esta conquista não é só minha, mas deles também. Para mostrar que o sonho é possível realizar e que Deus é maravilhoso!

Mãe, a sra. que sempre me ensinou que a nossa família não desiste nunca, e que perseverar é a palavra cravada em nossa alma.

Ao meu psicólogo-pai, por me ensinar a conduzir a minha vida com amor, compaixão, coragem e sabedoria. Esta conquista é sua também, sem você nada disso seria possível ser realizado com tanto afinho e amor.

Obrigados a todos que durante este período de alguma forma fizeram parte desta conquista.

## RESUMO

A rigidez arterial, avaliada pela velocidade de onda de pulso (VOP) vem sendo considerada um importante preditor de risco cardiovascular. Tem sido demonstrado que o aumento da rigidez arterial contribui para o desenvolvimento da hipertensão e pode ser determinada pelo desbalanço entre as principais proteínas da matriz extracelular, tais como colágeno e elastina. Trabalhos anteriores demonstraram que a dexametasona (DEX) determina aumento na pressão arterial (PA) de ratos e humanos, no entanto, os efeitos da DEX na rigidez arterial ainda são inconclusivos. Por outro lado, treinamento físico combinado (TFC) vem sendo recomendado para o controle da hipertensão, mas quase nada se sabe sobre seus efeitos nos mecanismos responsáveis pelo controle da rigidez arterial. A hipótese deste trabalho foi que o TFC poderia controlar a produção proteica de colágeno e elastina na artéria aorta e contribuir para atenuar o aumento da rigidez arterial e PA de ratos tratados com DEX. Neste sentido, o objetivo geral deste estudo foi verificar os efeitos do TFC na rigidez arterial e PA de ratos tratados com DEX. Para isso, foram utilizados trinta e sete ratos Wistar (200-250g) distribuídos em 4 grupos: sedentário controle (SC, n=8), sedentário tratado com DEX (SD, n=9), treinado controle (TC, n=10) e treinado e tratado com DEX (TD, n=10). Todos os ratos foram submetidos aos testes de carregamento máximo (TCM, na escada) e ao teste de esforço máximo (TEM, na esteira) e submetidos a um protocolo experimental de TFC (60% do máximo, 5d/semana, 1h/dia, em dias alternados, por 74 dias) ou mantidos sedentários. Nos últimos 14 dias, foram tratados com DEX (50µg/kg por dia, s.c.) ou salina. Ao final do protocolo experimental, os animais foram submetidos às análises de velocidade de onda de pulso (VOP) e PA caudal. Foram utilizados os teste T-Student e ANOVA de dois caminhos para comparar os grupos. Tukey foi usado como post-hoc quando necessário. Os resultados de capacidade física máxima, VOP e PA foram correlacionados pelo teste de correlação de Pearson ou Spearman ( $p < 0,05$ ). Os ratos treinados apresentaram respostas maiores de TCM e TEM em comparação aos sedentários. O tratamento com a DEX promoveu aumento da PA caudal (de  $116 \pm 2$  para  $181 \pm 5$  mmHg,  $p < 0,05$ ) acompanhado de aumento de VOP (de  $1,5 \pm 0,05$  m/s para  $2,1 \pm 0,09$  m/s,  $p < 0,05$ ), quando comparados aos SC. Em contrapartida, o grupo TD, apresentou atenuação do aumento da PA caudal e da VOP induzidos pela DEX (11% de PA e 7,3% de VOP), quando comparado ao grupo SD (53% e 38%, para PA e VOP, respectivamente). Além disso, a DEX determinou e aumento significativo da proteína COL III nos animais sedentários (+51,62%) e o TFC atenuou este aumento (TD, +4,31%). A razão entre COL I e COL III estava diminuída no grupo SD (-53%) quando comparada ao grupo SC. Os valores de elastina não foram modificados. Os resultados de VOP foram associados com a PA ( $r = 0,6714$ ), bem como com COL III ( $r = 0,4567$ ). Os resultados do presente estudo são inéditos em demonstrar que o TFC foi capaz de atenuar o aumento da rigidez arterial de ratos tratados com DEX e os mecanismos responsáveis por esta redução parecem envolver a produção de colágeno III na aorta. Esta atenuação da VOP induzida pelo TFC parece contribuir para atenuar o aumento de PA em ratos treinados e tratados com DEX.

**Palavras chave:** treinamento físico aeróbio, treinamento físico resistido, treinamento físico combinado; glicocorticoides, velocidade de onda de pulso, colágeno.

## ABSTRACT

Arterial stiffness, determined by pulse wave velocity (PWV) has been considered an important cardiovascular risk predictor. It has been shown that high arterial stiffness contributes to develop hypertension (HT) and may be determined by an unbalance between the main extracellular proteins, like collagen and elastin. Previous studies have demonstrated that dexamethasone (DEX) increases arterial pressure (AP) in rats and humans; however the DEX effects on arterial stiffness are unclear. On the other hand, combined physical training (CT) has been recommended to control hypertension, but almost nothing is known about its effects on mechanisms responsible to control arterial stiffness. We hypothesized that CT could control collagen and elastin levels and attenuate arterial stiffness and AP increase in DEX-treated rats. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of CT on arterial stiffness and AP in DEX-treated rats. Thirty-seven Wistar rats (200-250g) were allocated into 4 groups: sedentary control (SC, n = 8), sedentary treated with DEX (SD, n = 9), trained control (TC, n=10) and trained and treated with DEX (TD, n = 10). All rats performed a maximum voluntary carrying capacity test (MVCC, on the ladder) and a maximal physical capacity test (TEM, on the treadmill) and underwent CT (60% maximum, 5d / week, 1h / on alternate days, for 74 days) or were kept sedentary. Through the last 14 days, they were treated with DEX (50µg / kg per day, s.c.) or saline. At the end experimental protocol, rats underwent pulse wave velocity (PWV) and tail AP measurements. Two-way ANOVA and T-Student t-test were used to compare the groups. Tukey post-hoc test was used when necessary. Maximal physical capacity test or MVCC values, PWV and AP were correlated by Pearson/Spearman test ( $p < 0.05$ ). Trained rats showed higher responses on MVCC and TEM compared with sedentary rats. DEX treatment increased tail AP (from  $116 \pm 2$  to  $181 \pm 5$  mmHg,  $p < 0.05$ ) as well as VOP (from  $1.5 \pm 0.05$  m/s to  $2.1 \pm 0$  m/s). On the other hand, TD group presented attenuation of AP and PWV increase induced by DEX (11% and 7.3%, for AP and PWV, respectively) when compared with SD group (53% e 38%, for AP and PWV, respectively). Also, DEX treatment increased COL III protein levels (+51,62%) in SD and CT significantly attenuated this increase (TD, +4,31%). COL I/COL III was significantly reduced after DEX treatment. Elastin levels were not altered. Results of PWV were associated with AP ( $r = 0.6714$ ) as well as COL III ( $r=0.4567$ ). Therefore, the results of the present study are unique in demonstrating that CT was able mitigate increase on arterial stiffness induced by DEX treatment and the mechanism may involve a better control of aorta COL III levels. This CT-induced PWV attenuation may contribute to the lower AP observed in trained DEX-treated rats.

**Key words:** Aerobic physical training, power training, glucocorticoids, pulse wave velocity, collagen.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Esquema ilustrativo dos principais fatores envolvidos na rigidez arterial. Imagem adaptada de ALVIM et al., 2017.....15

**Figura 2:** Linha do tempo demonstrando o período de protocolo experimental (75 dias), sendo que durante as primeiras 8 semanas foi realizado somente o treinamento físico/sedentarismo (cinza claro) e durante os últimos 14 dias foi realizado, adicionalmente, o tratamento com a dexametasona (DEX) ou salina (preto). Peso Corporal (PC), Teste de Esforço Máximo na esteira (TEM), Teste de Carregamento Máximo na escada (TCM), Análise de Velocidade de Onda de Pulso (VOP), Pressão Arterial Caudal (PA Caudal).....24

**Figura 3: Painel superior:** Resultados dos testes de carregamento máximos resistidos absoluto (g) realizados na escada durante o protocolo experimental, nas quatro avaliações (TCM1, TCM2, TCM3 e TCM4). **Painel inferior esquerdo:** Variação (delta) do peso carregado entre o TCM3 e TCM1 dos animais treinados (n=20) e sedentários (n= 17). **Painel inferior direito:** Variação (delta) do peso carregado entre o TCM4 e TCM3, em todos os grupos avaliados, sedentário controle (SC, n= 8), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). Painel inferior esquerdo: Variação (delta) do tempo (em segundos) entre TEM3 e TEM1 dos animais treinados e sedentários agrupados. Significância: a: efeito do treinamento; b: efeito do momento; \*vs controle e + vs sedentários, p<0,05.....33

**Figura 4: Painel superior:** Resultados dos testes de carregamento máximos resistidos relativos (g/kg) realizados na escada durante o protocolo experimental, nas quatro avaliações (TCM1, TCM2, TCM3 e TCM4). **Painel inferior esquerdo:** Variação (delta) do peso carregado entre o TCM3 e TCM1 dos animais treinados (n= 20) e sedentários (n= 17). **Painel inferior direito:** Variação (delta) do peso carregado entre o TCM4 e TCM3, em todos os grupos avaliados, sedentário controle (SC, n= 8), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). Significância: a: efeito do treinamento; \* vs controle e + vs sedentários, p<0,05.....34

**Figura 5: Painel superior:** Resultados de teste de esforço máximo (segundos) realizado na esteira durante o protocolo experimental, nas 4 avaliações (TEM1, TEM2, TEM3 e TEM4), nos 4 grupos avaliados: sedentário controle (SC, n= 8), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). **Painel inferior esquerdo:** Variação (delta) do tempo (em segundos) entre TEM3 e TEM1 dos animais treinados (n= 20) e sedentários (n= 17). **Painel inferior direito:** Variação (delta) tempo (em segundos) entre TEM4 e TEM3 em todos os grupos analisados. Significância: a: efeito do treinamento; \* vs controle, + vs sedentário, p<0,05.....35

- Figura 6:** Resultados de Pressão Arterial (PA) de cauda durante o protocolo experimental de TFC, nas 5 avaliações (inicial, 8ª semana, 5º dia de tratamento, 12º dia de tratamento e no último dia de tratamento) nos 4 grupos analisados: sedentário controle (SC, n= 8 ), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle(TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). Significância: a: efeito do treinamento; b: efeito do tratamento.  $p < 0,05$ .....36
- Figura 7.** Valores basais Pressão Arterial (PA) de cauda ao final do protocolo experimental (TFC + tratamento com DEX), nos 4 grupos analisados: sedentário controle(SC, n= 8), sedentário tratado DEX(SD, n= 9), treinado controle(TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). Significância: \* vs controles, + vs sedentários.  $p < 0,05$ .....37
- Figura 8: Painel superior:** Resultados de velocidade de onda de pulso (VOP) durante o protocolo experimental de TFC, nas 3 avaliações (inicial, 8ª semana, último dia de tratamento) nos 4 grupos analisados: sedentário controle (SC, n= 8 ), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle(TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). **Painel esquerdo:** Valores de velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) ao final da 8ª semana, para sedentários (N=17) e treinados (N=20). **Painel direito:** Valores ao final do tratamento com dexametasona (Painel direito), nos 4 grupos analisados. Significância: a: efeito do treinamento; b: efeito do tratamento e \*vs controles, +vs sedentários.  $p < 0,05$ .....37
- Figura 9:** Análise densitométrica da produção proteica de colágeno tipo I e tipo III e, em todos os grupos analisados: Sedentário controle (SC, N=7), sedentário tratado com DEX (SD, N=9), treinado controle (TC, N=10) e treinado tratado com DEX (TD, N=8), : \*vs controles, +vs sedentários.  $p < 0,05$ .....38
- Figura 10:** Análise densitométrica proteica da razão entre os colágenos tipos I e tipo III, em todos os grupos analisados: Sedentário controle (SC, N=7), sedentário tratado com DEX (SD, N=9), treinado controle (TC, N=10) e treinado tratado com DEX(TD, N=8). \*vs controles.  $p < 0,05$ .....38
- Figura 11:** Análise densitométrica proteica da produção de Elastina (ELN), em todos os grupos analisados: Sedentário controle (SC, N=5), sedentário tratado com DEX (SD, N=5), treinado controle (TC, N=5) e treinado tratado com DEX (TD, N=5),.....39
- Figura 12:** Correlação entre análises de densitometria proteica de colágeno tipo I e III(COL I, COL III) e velocidade de onda de pulso (VOP). **Painel esquerdo:** Não apresentou correlação negativa significativa entre as duas análises COL I e VOP,  $r = - 0,0934$ . **Painel Direito:** Demonstrou correlação positiva significativa entre as duas análises de COL III e VOP,  $r = 0,4567$  com colágeno tipo III (COL III) em todos os grupos. Significância: a:\*\*\*  $p < 0,0003$ .....39
- Figura 13: Painel esquerdo:** Correlação entre a razão de colágeno I (COL I/COL III) e a velocidade de onda de pulso (VOP),  $r = - 0,2351$  em todos os grupos. **Painel direito:** Correlação entre a densitometria proteica da Elastina (ELN) e a velocidade da onda de pulso (VOP, Pearson,  $r = 0,3017$ ).  
.....40

**Figura 14:** Correlação entre a pressão arterial (PA) caudal,  $r=0,6714$  com a velocidade da onda de pulso (VOP) em todos os grupos. Significância: a:\*\*\*  
 $p<0,0001$ .....40

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Valores de peso corporal (PC), peso das glândulas adrenais normalizadas pela Tíbia nos quatro grupos analisados. PC: peso corporal, SC: Sedentário controle; SD: Sedentário tratado com DEX; TC: Treinado controle e TD: Treinado tratado com DEX. Significância: \*vs controle,  $p < 0,05$ .....32

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

- 1. CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais.**
- 2. COL I: Colágeno tipo 1.**
- 3. COL III: Colágeno tipo 3.**
- 4. COL IV: Colágeno tipo 4.**
- 5. COL VI: Colágeno tipo 5.**
- 6. CONCEU: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.**
- 7. DEX: Dexametasona.**
- 8. ELN: Elastina.**
- 9. g: Gramas.**
- 10. HA: Hipertensão Arterial**
- 11. Kg: Quilogramas.**
- 12. m/s: Metros por Segundo.**
- 13. mmHg: Milímetros de Mercúrio.**
- 14. PA: Pressão Arterial de Cauda.**
- 15. PC: Peso Corporal.**
- 16. s.c. : Subcutânea.**
- 17. SC: Sedentário Controle.**
- 18. SD: Sedentário Dexametasona.**
- 19. TC: Treinado Controle.**
- 20. TD: Treinado Dexametasona.**
- 21. TCM: Teste de Carregamento Máximo.**
- 22. TEM: Teste de Esforço Máximo.**
- 23. TFA: Treinamento Físico Aeróbio.**
- 24. TFC: Treinamento Físico Combinado.**
- 25. TFR: Treinamento Físico Resistido.**
- 26. TT: Tempo de Transito.**
- 27. VII DBH: 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão.**
- 28. V: Velocidade.**
- 29. VOP: Velocidade de Onda de Pulso.**

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
1.1. Rigidez Arterial .....	14
1.2. Dexametasona e Rigidez Arterial .....	18
1.3. Treinamento Físico e Rigidez Arterial .....	20
<b>2. HIPÓTESE</b> .....	<b>22</b>
<b>3. OBJETIVO</b> .....	<b>23</b>
3.1. Objetivo Geral .....	23
3.2. Objetivos Específicos .....	23
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
4.2. TESTE DE CARREGAMENTO MÁXIMO NA ESCADA .....	26
4.3. PROTOCOLO DE TREINAMENTO RESISTIDO (TFR) .....	26
4.4. TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO NA ESTEIRA (TEM) .....	27
4.5. PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO (TFA) .....	27
4.6. ANÁLISE DA RIGIDEZ ARTERIAL .....	28
4.7. AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL CAUDAL .....	28
4.8. RETIRADA DA ARTÉRIA AORTA .....	29
4.10. PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE DA PRODUÇÃO PROTEICA .....	30
<b>5. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>31</b>
<b>6. RESULTADOS</b> .....	<b>32</b>
<b>7. DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>8. CONCLUSÃO:</b> .....	<b>47</b>
<b>9. REFERÊNCIAS:</b> .....	<b>48</b>
<b>10. ANEXO 1</b> .....	<b>57</b>

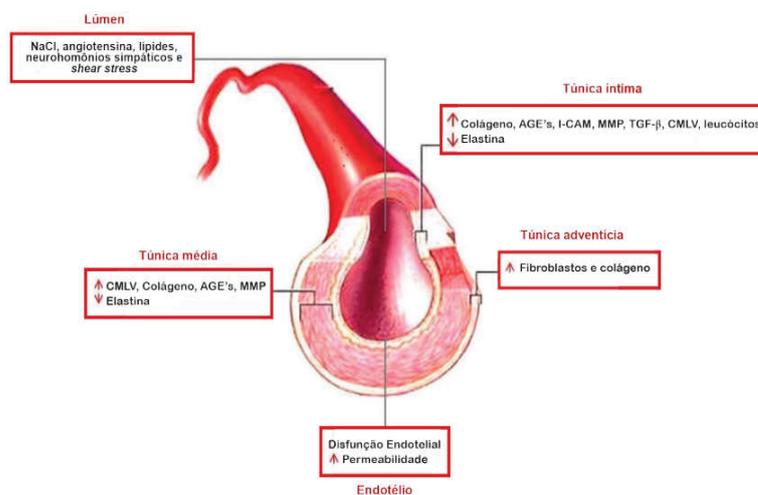
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Rigidez Arterial

A rigidez arterial é um complexo fenômeno caracterizado pela diminuição acentuada da complacência (distensibilidade) das artérias e seu aumento vem sendo considerado parte do processo natural de envelhecimento (PIZZI et al., 2006; ZHANG et al., 2014). No entanto, tem sido demonstrado que, embora o envelhecimento provoque um aumento da rigidez arterial (ALIVON et al., 2015), fatores extrínsecos tais como o estresse, ingestão de alimentos ricos em sal, aumento de espécies reativas de oxigênio, alterações nas quantidades de metaloproteinases e diversas patologias como doenças inflamatórias, aterosclerose, doença renal crônica, diabetes, síndrome metabólica e hipertensão arterial contribuem para o aumento da rigidez arterial (LONDON et al., 1997; XU et al., 2000; JACOB et al., 2003; ZIEMAN et al., 2005). Devido a esta extensa lista de fatores que predispõe à redução da complacência vascular, a medida de rigidez arterial vem sendo clinicamente considerada como um importante preditor de doenças cardiovasculares. Blacher et al. (1999) já haviam sugerido, em seu estudo, que a medida de rigidez da artéria aorta poderia ser um preditor de mortalidade, pois indivíduos em estágio final de doença renal, que apresentaram maior índice de mortalidade, apresentaram a velocidade de onda de pulso (VOP) maior que 9,0 m/s. Em concordância, vários estudiosos sugeriram que a VOP seria um importante preditor de eventos e doenças cardiovasculares (SCHILLACI et al., 2012; LUFT et al., 2012; ALVIM et al., 2013; ERSHOVA et al., 2016). Além disso, tem sido demonstrado que a hipertensão arterial, muitas vezes associada ao aumento da rigidez arterial, possa ser considerado um dos principais fatores de risco de mortalidade por doenças cardiovasculares (LAKATTA et al., 2014). Uma vez que níveis elevados de pressão arterial (PA) envolvem 60% da população de idosos (VII DBH, 2016) e contribuem para cerca de 50% de mortes no Brasil, faz-se necessária a busca por melhores tratamentos.

A estrutura dos vasos sanguíneos é primordial para que eles possam cumprir suas funções. O fato de que existe bastante coesão entre as células confere aos vasos sanguíneos a capacidade de resistência necessária para que o sangue possa

ser transportado. No entanto, existe um limite para essa resistência e a Figura 1 resume alguns dos principais fatores que podem comprometer direta ou indiretamente a capacidade de resistência e elasticidade do vaso, determinando a rigidez arterial. Dentre eles pode-se citar formação de placa de ateroma (JOHNSON et al., 2001), acúmulo de agente proteoglicano (ATANASOVAN et al., 2012), disfunção endotelial (JACOB et al., 2001), aumento da atividade simpática, aumento da concentração de sal, aumento de espécies reativas de oxigênio e aumento da ação da angiotensina II (HUYARD et al., 2014), além de alterações nas proporções das proteínas da matriz extracelular na musculatura lisa vascular, tais como colágeno e elastina (OLIVER et al., 2003; ARONSON 2003; DÍEZ et al., 2007; BARNES et al., 2014; SUN et al., 2016; ALVIM et al., 2017; MIKAEL et al., 2017;). Dentre estes vários fatores, tem sido demonstrando que o desequilíbrio entre as proteínas da matriz extracelular estaria diretamente envolvido no processo de rigidez arterial, principalmente por serem responsáveis pela estrutura e funcionalidade dos vasos (LONDON et al., 1997; XU et al., 2000; JACOB et al., 2003; PIZZI et al., 2006; ATANASOVA et al., 2012; ZANGH et al., 2016; ZIEMAN et al., 2005).



**Figura 1.** Esquema ilustrativo dos principais fatores envolvidos na rigidez arterial. Imagem adaptada de ALVIM et al., 2017

Os vasos sanguíneos são estruturalmente compostos por três camadas básicas: Endotélio, formado por células endoteliais, é a camada mais íntima dos vasos e tem a capacidade de liberar ou inibir substâncias relacionadas a inflamações locais, coagulação sanguínea, agregação de plaquetas e outras

situações pertinentes ao sistema vascular; Túnica média, que é uma camada intermediária e que está presente em boa parte das artérias (principalmente as de maior calibre), a qual é composta por uma grande quantidade de fibras musculares lisas e colágenas, e também uma pequena porção de tecido conjuntivo elástico e a adventícia, que é encontrada apenas nas maiores artérias do organismo e também pode ser chamada de túnica externa, justamente por ser a camada mais exterior de todas. Nela é encontrado predominantemente tecido conjuntivo, além de alguns filetes nervosos e também vasculares, que servem para inervar e irrigar essas artérias.

Tem sido demonstrado que cerca de 30% a 60% da musculatura lisa vascular é composta de colágeno e elastina. O colágeno é a proteína mais abundante no organismo dos animais vertebrados. É uma proteína fibrosa, essencial no organismo dos vertebrados, e sintetizada pelas células do tecido conjuntivo. É o principal componente de pele, ossos, tendões, cartilagem, vasos sanguíneos e dentes e responsável por conferir elasticidade a estes tecidos (ROSS & ROWRELL, 1993; JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999; ALBERTS et al., 2004; KJAER, 2009 WAGENSEIL et al., 2010).

Dentre os mais de 19 tipos distintos de colágeno e 10 proteínas que apresentam domínios semelhantes ao colágeno, tanto em animais como em humanos, os colágenos tipo I e III são os principais fibrilares encontrados em vasos (80 e 90%, respectivamente), principalmente em vasos de capacitância, como a aorta, o que garante resistência e elasticidade para suportar as grandes pressões ejetadas pelo coração; e cerca de 10-20% são outros tipos de colágeno, tais como IV, V, VI (KIELTY et al, 1993). Enquanto os primeiros (I e III) conferem rigidez ao vaso, os últimos (IV, V e VI) fornecem resistência (MUTARA et al., 1986; FARQUHARSON et al., 1989; PROCKOP et al., 1995; BARNES et al., 1999; JACOB et al., 2001; XU et al., 2005; VIEIRA-DAMIANI et al., 2012; ZIEMAN et al., 2005). Segundo estes autores, o colágeno do tipo I encontra-se principalmente na camada íntima e adventícia, pouco na média e o colágeno tipo III fica distribuído uniformemente entre as camadas, sendo mais expresso na camada média e adventícia. Por outro lado, a característica das fibras elásticas como a proteína elastina é específica ao tecido, ou seja, exerce funções específicas em diferentes

tecidos. Na camada média da aorta e das artérias elásticas, por exemplo, as fibras de elastina formam lamelas fenestradas as quais são separadas por camadas de células da musculatura lisa vascular, conferindo elasticidade e resiliência às paredes dos vasos sanguíneos, destacando-se por ser a proteína que se apresenta com maior depósito na camada íntima vascular (PROCKOP et al., 1995; XU et al., 2000; VIEIRA-DAMIANI et al., 2012; DUCA et al., 2016; ALVIM et al., 2017).

Estes componentes (COL I, COL III e Elastina) das camadas dos vasos apresentam diferentes alterações em diversas patologias, tais como aterosclerose (XU et al., 2000), diabetes (CHEN et al., 2002), dislipidemia, síndrome de Marfan (ZHANG et al., 2018) e hipertensão arterial (McNULTY et al., 2007; ZIEMAN et al., 2007; BAKKER et al., 2014), podendo contribuir para o enrijecimento arterial. Neste sentido, XU et al. (2000) demonstraram que ratos hipertensos apresentam maior expressão de colágeno tipo I na camada íntima da aorta, enquanto que elastina não tem aumento significativo. Porém, Neves et al. (1998) relataram a migração de elastina da camada média para íntima vascular de mulheres hipertensas contribuindo assim para a rigidez arterial. Por outro lado, Gay et al. (1976) notaram que o colágeno do tipo III é mais suscetível a efeitos trombogênicos do que Colágeno I. Recentemente, Zhang et al. (2018) observaram um remodelamento vascular devido ao aumento de colágeno em camundongos após provocar a dissecação da aorta por um potente vasoconstritor, a angiotensina II, acompanhado de aumento da pressão arterial sistólica destes animais. Outro fator que pode estar contribuindo para o desequilíbrio nas quantidades de colágeno e elastina é o estresse nutricional durante o período gestacional (KHORRAM et al., 2015). Estes autores investigaram ratas que foram induzidas a estresse nutricional durante o período gestacional, e detectaram aumento dos níveis de corticosterona na circulação sanguínea. As ratas de 3 semanas e 9 meses submetidas ao estresse nutricional apresentaram aumento nas quantidades de elastina e colágeno na artéria carótida, quando comparados as ratas que receberam um inibidor de síntese de corticosterona, sugerindo que o grande aumento de depósito de colágeno e elastina na parede da carótida esteja relacionado à ação dos glicocorticoides. Contudo, os efeitos de glicocorticoides na artéria aorta e na produção ou degradação de proteínas fibrilares e elásticas responsáveis pela complacência arterial continuam obscuros.

## 1.2. Dexametasona e Rigidez Arterial

A dexametasona (DEX) é um importante glicocorticoide sintético, amplamente utilizado na prática clínica devido a seus efeitos anti-inflamatórios, antialérgicos, etc (ANTI et al., 2008). No entanto, vários estudos vêm demonstrando que seu uso crônico pode determinar vários efeitos colaterais como perda de peso corporal (PC), atrofia muscular, resistência periférica à insulina, desbalanço autonômico para o coração, alterações no barorreflexo e rarefação da microcirculação na musculatura esquelética (MONDO et al., 2006; BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al., 2014; SIUDA et al., 2014; MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016, MACEDO et al., 2016; HERRERA et al., 2016, HERRERA et al., 2017, CONSTANTINO et al., 2017 e DUCHATSCH et al., 2018). Trabalhos de nosso laboratório demonstraram que o tratamento crônico com DEX em ratos adultos pode determinar aumento significativo de pressão arterial (HERRERA et al., 2016, HERRERA et al., 2017, CONSTANTINO et al., 2017), no entanto, muito pouco se sabe sobre os efeitos da DEX na complacência dos vasos. Poucos são os estudos que investigaram o efeito do tratamento com DEX nos componentes vasculares que determinam o enrijecimento arterial e seus resultados são controversos. Neste sentido, Longenecker et al. (1984) observaram diminuição da síntese e proliferação de proteínas fibrilares, após a incubação de 0,1  $\mu\text{M}$  de DEX por 24h em células musculares da aorta de bovinos. Já Leitman et al. (1984) demonstraram aumento das proteínas colágeno tipo I e tipo III, caracterizadas fibrilares, na aorta de bovinos (in vitro), após o tratamento com DEX. Além disso, quase nada se sabe se as alterações vasculares determinadas pelo tratamento com DEX podem contribuir para o aumento da rigidez arterial e, conseqüentemente, da pressão arterial.

A técnica de velocidade de onda de pulso (VOP) vem sendo considerada a mais indicada para a avaliação da rigidez arterial por ser não invasiva, de fácil aplicação e grande reprodutibilidade (BOUTOUYRIE et al., 2008; HOUCKEN et al., 2012; CHARAKIDA et al., 2009) e vem sendo frequentemente utilizada nas clínicas médicas (CUNHA et al., 2004; COSTA et al., 2013). Um método amplamente utilizado para análise e registro da VOP em humanos é o sistema automático computadorizado Complior®. Nesta técnica coloca-se o indivíduo na posição supina e são colocados dois transdutores sensíveis à pressão sobre a pele das partes mais

proeminentes das artérias, carótida comum direita e femoral direita. O software permite a medida do intervalo de tempo entre o início da onda na carótida e o início da onda femoral, obtendo o dado de velocidade. A medida de distância (cm) entre os transdutores é multiplicada pela velocidade gerando a VOP aórtica (PIZZI et al., 2006). Outras técnicas utilizadas para medida de VOP são a ressonância magnética e o Doppler, por mapeamento de fluxo sanguíneo. Embora se destacam por serem técnicas eficientes, apresentam alto custo aos pacientes, maior tempo de análise e dependem de profissionais altamente capacitados, o que dificulta a aplicação de rotina (HOZUMI et al., 1998; GROTHENHUIS et al., 2009).

Recentemente foi lançado um novo equipamento capaz de mensurar a VOP em humanos de uma forma mais rápida, mais prática e menos desconfortável, fazendo com que a obtenção da medida de VOP ocorra de maneira simples e eficiente no meio clínico. O novo software, chamado pOpmètri® 1.0, utiliza os mesmos padrões das técnicas anteriores, calculando o tempo de trânsito do fluxo entre as artérias carótida e femoral. No entanto, para a realização desta técnica, o indivíduo permanece na posição sentada e são colocados dois sensores, um no dedo indicador da mão direita e outro no dedão do pé direito. Em apenas 20s a velocidade da onda de pulso pode ser mensurada e são obtidas as variáveis tempo de trânsito (TT) e velocidade (V) em m/s (ALIVON et al., 2015).

Apesar de extremamente eficientes e amplamente utilizadas atualmente, estas técnicas não permitem uma avaliação efetiva dos possíveis mecanismos que estão contribuindo para a determinação do aumento ou redução da VOP. Neste sentido, o estudo realizado em animais, que permite a retirada dos vasos para análise, pode facilitar este entendimento e fornecer subsídios para os diferentes tratamentos observados na clínica, no sentido de evitar ou controlar o enrijecimento arterial. Vários estudos são conduzidos em animais para a avaliação de estruturas dos vasos em diferentes patologias (BUTLIN et al., 2015; DABROWSKA et al., 2017), no entanto, poucos estudos avaliaram a medida de VOP (funcional) e as características dos vasos (histológica e estrutural) no mesmo animal.

Mais recentemente foi comercializado um aparelho de medida de VOP para animais de pequeno porte (pOpmètri® 1.0), que foi idealizado nos mesmos moldes

daquele utilizado em humanos, ou seja, rápido, eficiente e portátil. No entanto, este equipamento só foi validado para humanos (ALIVON et al., 2015). Resultados recentes de nosso laboratório (FABRICIO, 2018) mostraram que a medida de VOP, obtida em ratos por este equipamento (pOpmètri® 1.0), era diretamente proporcional às alterações na estrutura das artérias aorta, carótida femoral e renal (área de secção transversa da camada média, densidade de colágeno presente na camada média e número de fibras elásticas) observadas em ratos jovens, adultos e idosos.

Sabe-se que a hipertensão pode alterar a estrutura dos vasos (SAFAR et al., 1984), bem como as medidas de VOP (TANAKA et al., 2005; CIOLAC et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2010; FIGUEROA et al., 2013; WONG et al., 2015; DABROWSKA et al., 2017) e que o tratamento crônico com DEX pode promover hipertensão arterial (HERRERA et al., 2016, 2017 e CONSTANTINO et al., 2017), no entanto, nada se sabe sobre os efeitos da DEX na estrutura dos vasos e se este tratamento pode alterar sua funcionalidade (VOP).

### **1.3. Treinamento Físico e Rigidez Arterial**

O treinamento físico aeróbio (TFA) e o treinamento físico resistido (TFR), em contrapartida, são estratégias não farmacológicas eficazes no tratamento de doenças como diabetes (BAREL et al., 2010; DIONISIO et al., 2014; MACEDO et al., 2014) e hipertensão (MADDEN et al., 2000; MALACHIAS et al., 2016; HERRERA et al., 2016, 2017 e CONSTANTINO et al., 2017). Neste sentido, Jordão et al. (2011) demonstraram que ratos espontaneamente hipertensos (SHR), submetidos a sessões de TFA em esteira, apresentaram redução de pressão arterial concomitante com reduções de colágeno tipo I e III, bem como de elastina na artéria aorta, mas nenhuma medida funcional foi realizada neste estudo. Mais recentemente, camundongos idosos, quando submetidos ao TFA, apresentaram redução de colágeno na matriz extracelular do endotelial da artéria aorta, o que contribuiu para a diminuição da VOP (KOHN et al., 2018). A hipertensão arterial induzida pelo tratamento com a DEX também pode ser significativamente atenuada pelo TFA (HERRERA et al., 2016, 2017 e CONSTANTINO et al., 2017), no entanto, nada se sabe se este efeito benéfico do treinamento físico está associado às alterações na quantidade de colágeno e elastina na aorta e/ou com as medidas de VOP.

Por outro lado, tem sido demonstrado que o TFR de alta intensidade promove aumento da VOP, quando comparado ao TFA (COLLIER, 2008; COLLIER et al., 2011; SMITH et al., 2015).

Recentemente, o treinamento físico combinado (TFC), que contempla sessões de TFA e TFR de baixa intensidade, tem sido considerado uma ferramenta eficaz no controle de fatores de risco de doenças cardiovasculares e recomendado pelas Sociedades de Hipertensão (SHAW et al., 2009; MANCIA et al., 2013; SANCHES et al., 2015, VII DBH, 2016). Segundo Cortez-Cooper et al. (2007) o TFC de moderada a alta intensidade em indivíduos normotensos de 40 a 80 anos apresentou aumento do estresse de cisalhamento e diminuição da complacência. Em contrapartida, outros autores observaram que o TFC, realizado no mesmo dia ou em dias alternados, foi capaz de reduzir a PA sistólica e VOP em mulheres obesas normotensas e hipertensas (YANG et al., 2011; FIGUEROA et al., 2014; WONG et al., 2015; SON et al., 2017; FRANCOIS et al., 2017), mas quase nada se sabe sobre os mecanismos responsáveis por esta resposta. Se o TFC pode alterar as quantidades de colágeno e elastina na artéria aorta e, desta forma, influenciar a VOP e PA dos animais tratados com DEX, ainda não está claro.

## **2. HIPÓTESE**

O treinamento físico combinado poderia reduzir a produção proteica de colágeno e elastina na artéria aorta e contribuir para atenuar o aumento da rigidez arterial e PA de ratos tratados com DEX.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1. Objetivo Geral**

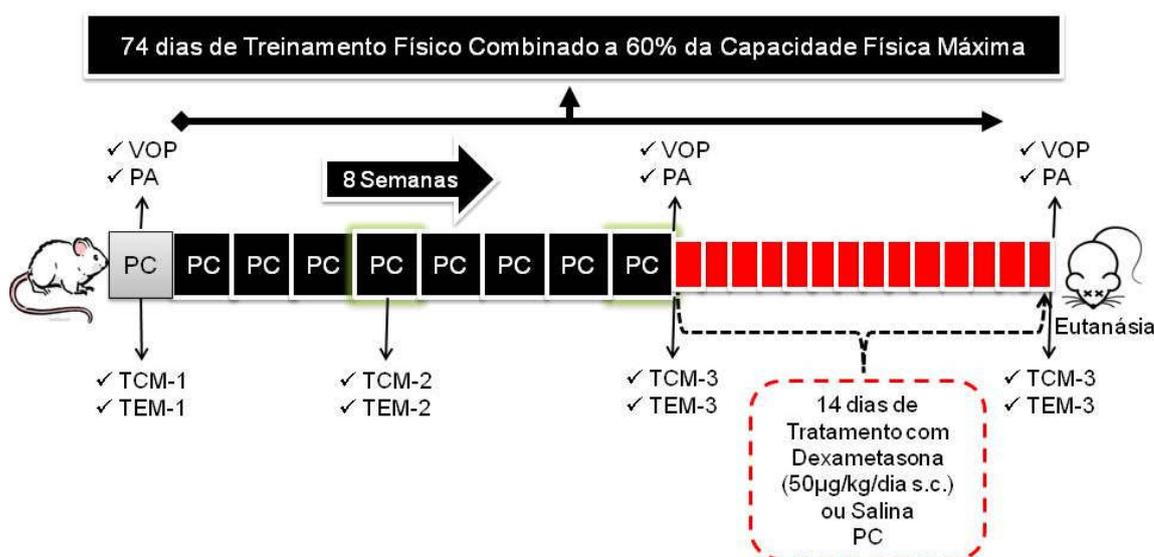
O objetivo geral deste estudo foi verificar os efeitos do treinamento físico combinado (treinamento aeróbio + treinamento resistido) na rigidez arterial e pressão arterial de ratos tratados com dexametasona.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- 3.2.1. Verificar os efeitos do tratamento com DEX sobre a rigidez arterial e PA, bem como sobre a produção proteica de colágeno e elastina na artéria aorta de ratos.
- 3.2.2. Analisar efeitos do treinamento físico combinado sobre a rigidez arterial e PA, bem como sobre a produção proteica de colágeno e elastina na artéria aorta de ratos tratados ou não com DEX.
- 3.2.3. Verificar se os resultados de VOP se correlacionam com os valores de PA dos animais tratados ou não com DEX, sedentários ou treinados.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos conduzidos para esta pesquisa estavam de acordo com as normas ditadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências da Unesp, Campus de Bauru (Protocolo #777/2017). Foram utilizados 37 ratos Wistar, provenientes do Centro de Pesquisa e Produção de Animais da Unesp de Botucatu (200-250g). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas no biotério da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp, Campus de Bauru, com ciclo claro-escuro de 12:12 horas, temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ) e fornecimento de ração e água *ad libitum*. Os ratos foram pesados semanalmente durante o protocolo de treinamento e diariamente durante o tratamento com DEX.



**Figura 2.** Linha de tempo do protocolo experimental. PC = Peso Corporal, PA = Pressão caudal, TCM = Teste de Carregamento Máximo, TEM = Teste de Esforço Máximo, VOP = Velocidade de Onda de Pulso.

#### 4.1. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Após a análise de capacidade física máxima em ambos os ergômetros e medida do PC, os animais foram distribuídos homogeneamente em 4 grupos:

**Grupo 1:** Sedentário Controle (**SC, n=8**): composto por animais que permaneceram sedentários durante todo o protocolo experimental (74 dias) e foram tratados com solução salina nos últimos 14 dias (salina, mesmo volume que a DEX s.c.).

**Grupo 2:** Sedentário Tratado com Dexametasona (**SD, n=9**): composto por animais que permaneceram sedentários durante todo o protocolo experimental (74 dias) e foram tratados com DEX nos últimos 14 dias (Decadron<sup>®</sup>, de 50ug/kg, s.c.).

**Grupo 3:** Treinado Controle (**TC, n=10**): composto por animais que realizaram o treinamento físico combinado durante todo o protocolo experimental (74 dias) e foram tratados com solução salina nos últimos 14 dias (salina, mesmo volume que a DEX, s.c.).

**Grupo 4:** Treinado Tratado com Dexametasona (**TD, n=10**): composto por animais que realizaram o treinamento físico combinado durante todo o protocolo experimental (74 dias) e foram tratados com DEX nos últimos 14 dias (Decadron<sup>®</sup>, de 50ug/kg, s.c.).

Os animais treinados e tratados com DEX continuaram treinando concomitante com o tratamento. Os animais sedentários passaram pelas mesmas avaliações que os grupos treinados, sendo adaptados ao treinamento a cada 15 dias, para que a capacidade de execução dos testes não fosse perdida,

O TFC foi a junção dos TFR+TFA, os quais foram realizados em dias alternados. O TFC foi realizado durante 8 semanas, 5 dias por semana, como previamente publicado (SALE et al., 1990; SANCHES et al., 2015).

## **4.2. TESTE DE CARREGAMENTO MÁXIMO NA ESCADA**

Os animais foram adaptados ao ato de escalar por 5 dias em uma escada contendo 54 degraus de ferro, dispostos a cada 2 cm, com 110 cm de altura e 80° de inclinação, a qual foi validada para uso com animais por Hornberger e Farrar (2004). Contudo, ao atingirem o topo da escada (caixa com 20 x 20 x 20 cm), era-lhes permitido um intervalo de 2 minutos de descanso para realizarem a próxima subida. Todos os ratos completaram 3 subidas consecutivas durante o período de adaptação.

Após a última sessão de adaptação, deu-se início ao teste de carregando máximo, com carga inicial de 75% do PC dos animais acoplado na cauda para o ato da escalada (Macedo et al., 2014). Após o descanso por 2 minutos, repetiram-se sucessivamente as subidas, com incremento de 30 gramas a cada tentativa. Foi considerada a carga máxima dos ratos quando os mesmos não efetuavam a escalada completa, mesmo após três estímulos manuais em sua cauda. O teste de carregamento máximo foi realizado no início (TCM-1), na 4ª semana (TCM-2, para ajuste das cargas e manutenção da intensidade), na 8ª semana de treinamento, imediatamente antes do tratamento farmacológico (TCM-3, para ajuste das cargas e manutenção da intensidade) e ao final dos 14 dias de tratamento com DEX (TCM-4). A única diferença nestes momentos foi o incremento de carga entre as subidas: 30g (TCM-1), 50g (TCM-2) e 100g (TCM-3 e TCM-4). Os animais sedentários foram readaptados a 15 dias e realizaram os TCM nos mesmos momentos que os treinados.

## **4.3. PROTOCOLO DE TREINAMENTO RESISTIDO (TFR)**

Após o TCM-1, o TFR consistiu em 2 a 3 sessões por semana, alternando com treinamento físico aeróbio (TFA), num total de 74 dias. Este protocolo foi adaptado de Sanches et al. (2014) e Macedo et al. (2014) e foi realizado da seguinte forma: Os animais iniciavam a escalada com o peso corporal (aquecimento) e, após a pausa de 1 minuto no cume da escada, era fixado um peso na cauda do animal correspondente a 40% do TCM-1. Durante as quatro semanas iniciais a intensidade foi aumentada progressivamente de 40 a 60% do TCM-1, possibilitando que os

animais iniciassem a quarta semana treinando a 60% da carga máxima. Os ratos iniciaram o treinamento realizando nove subidas que foram, posteriormente, aumentadas gradativamente para 20 subidas. A partir da quinta semana, a intensidade do carregamento foi mantida a 60% da carga máxima, determinada pelo TCM-2. Da 5ª a 8ª semana, os ratos realizaram em torno de 14 e 20 subidas. O TFR foi realizado em dias alternados, juntamente com o TFA, ou seja, as sessões semanais variavam de 2 a 3 vezes. Após a oitava semana, foi realizado o TCM-3. Durante os quatorze dias de tratamento farmacológico, repetiu-se o formato de treino da 7ª e 8ª semanas, sendo a carga de treinamento calculada a partir do TCM-3. Ao final do período de tratamento foi realizado o TCM-4, para que fosse possível verificar o efeito do treinamento resistido e algum possível efeito da DEX na capacidade de carregamento máximo dos animais.

#### **4.4. TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO NA ESTEIRA (TEM)**

Os animais também foram submetidos a um período de 5 dias de adaptação à esteira, modificada para ratos, que possui 10 raias suspensas de ferro (Inbramed, Millennium). Após a adaptação, todos os ratos realizaram o teste de esforço máximo (TEM-1), utilizando um protocolo previamente publicado que preconiza aumentos de 0,3 km/h a cada 3 minutos até a exaustão, ou seja, o momento em que os animais não conseguiam mais correr sozinhos (BAREL et al., 2010). Posteriormente, os ratos foram reavaliados na 4ª (TEM-2), 8ª (TEM-3) semanas e após os 14 dias de tratamento farmacológico (TEM-4), para reajuste das velocidades e manutenção da intensidade proposta de 60% até o final do protocolo e, para avaliação da capacidade física no final do protocolo. Os animais sedentários foram readaptados a cada 15 dias na esteira e realizaram os testes máximos nos mesmos períodos que os treinados.

#### **4.5. PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO (TFA)**

Após o TEM-1 os ratos iniciaram TFA em esteira ergométrica, durante uma hora por dia, por 60 minutos, em dias alternados com o TFR, pelo período de 74 dias. Na primeira semana os animais realizaram o protocolo experimental com velocidade correspondendo a 50% do TCM-1, progredindo, a partir da 2ª semana de

treinamento, para 60% do TEM-1. Os testes máximos foram repetidos após 4ª e 8ª semanas (TEM-2 e TEM-3, respectivamente) para reajuste da velocidade e manutenção da intensidade do treinamento (HERRERA et al., 2016).

#### **4.6. ANÁLISE DA RIGIDEZ ARTERIAL**

As análises da velocidade de onda de pulso (VOP) foram realizadas no início, ao final da oitava semana e no final do protocolo experimental. Para tanto, os animais foram pesados e anestesiados com ANASEDAN® (cloridrato de xilasina, 10 mg/Kg), CEVA e DOPALEN® (cloridrato de quetamina, 50 mg/Kg), VETBRANDS do Brasil (na proporção de 1:1, 0,1mg/100g de peso corporal) e posicionados em decúbito ventral sobre o berço aquecedor (45°C, Bonther®, Ribeirão Preto, SP) por 5 minutos, com um dos sensores posicionado no membro torácico e o outro no membro pélvico dos animais. Após a colocação dos sensores, o aparelho foi calibrado, de acordo com a medida da distância (em centímetros) entre os dois sensores. A medida da VOP foi realizada pelo software popmètre® 1.0 (AxelifeSAS, France, TousDroits reserves®, Axelife SAS 2013). Foram coletadas 10 medidas por rato. A diferença da base da onda de fluxo do membro torácico e a base da onda de fluxo do membro pélvico foram calculadas e representadas em m/s. Somado a estas análises, foi aplicado a análise de fidedignidade como previamente realizado por (FABRÍCIO, 2018).

#### **4.7. AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL CAUDAL**

Os animais passaram por um período de adaptação de 15 dias (5 a 10 minutos/dia) contidos dentro do cilindro de acrílico, que continha janelas que possibilitavam a ventilação para uma boa respiração. Após o período de adaptação foi realizada a medida da PA, pela técnica de pletismografia de cauda, utilizando o equipamento de pressão caudal (Pressure Meter LE5001; Panlab, S.L., Barcelona, Spain). Após breve vasodilatação da artéria caudal por aquecimento, o manguito era acionado e insuflado a 300 mmHg, até o desaparecimento do pulso da artéria, detectado pelo transdutor de pressão. Durante sua desinsuflação era possível detectar o momento em que o pulso reaparecia. A pressão neste momento foi anotada como PA de cauda. Foram anotadas cerca de 5-10 coletas por rato, no

período das 9 às 11 horas da manhã, sempre antes do horário de treinamento físico dos animais. A medida de PA foi realizada no início, após 8 semanas, e no final do protocolo experimental, em todos os ratos.

#### **4.8. RETIRADA DA ARTÉRIA AORTA**

Após o protocolo experimental, os animais foram eutanasiados por sobrecarga de anestésico ANASEDAN<sup>®</sup> (10 ml de cloridrato de xilasina) e DOPALEN<sup>®</sup> (50 ml de cloridrato de quetamina), VETBRANDS do Brasil (1mg/kg de peso corporal). Após eutanásia, a artéria aorta foi retirada, limpa e imediatamente submersa em nitrogênio líquido para o imediato congelamento e armazenamento em freezer -80° C para futuras análises de produção proteica.

#### **4.9. PROTOCOLO DE DOSAGEM DE PROTEÍNAS**

Os tecidos coletados foram homogeneizados com a utilização do gral e macerado com o pestilho, sempre submersos em nitrogênio líquido. Posteriormente foi coletado o tecido macerado, depositando-o em tubos com solução tampão RIPA (Cell Signaling) que continha: 0,5 de Tris Base, pH 7,4, 1,5M de NaCl, 2,5% de ácido deoxicólico, 10% de NP-40, 10mM de EDTA. A este tampão foi adicionado um coquetel de inibidores de proteases (0,1%, PIC, Sigma Aldrich). Em seguida, os tubos foram centrifugados a 4°C com ciclo de 25200 g por 10 minutos. As amostras centrifugadas foram armazenadas no freezer a -80° C até o momento da utilização. Para o procedimento de dosagem de proteínas, foi utilizado o kit comercial (Bio-Rad Kit, Protein Assay Standard II, Hercules, CA) de acordo com as determinações sugeridas pelo kit, como previamente publicado (MACEDO et al, 2014). As amostras foram analisadas e os valores de absorbância foram fornecidos pelo leitor de placas (BMG labtech, Spectro Star Nano). Após a dosagem da concentração de proteínas, as amostras foram estocadas a -20° C e utilizadas para os experimentos de Western Blotting.

#### 4.10. PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE DA PRODUÇÃO PROTEICA

As proteínas foram separadas eletroforéticamente por tamanho pelo sistema de gel de poliacrilamida (AMARAL et al., 2001; MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016), utilizando a técnica de Western Blot. Basicamente, foi utilizado um gel com duas camadas, em diferentes concentrações: 5% na camada superior e 8% na camada inferior. As amostras (40µg) foram colocadas no gel e, posteriormente, dentro de uma cuba com solução tampão de corrida (190 mM de glicina, 25 mM de Tris, 0,1% de SDS, pH 8,3). O processo de corrida e separação das proteínas por tamanho ocorreu por 120 minutos a uma voltagem de 200V. O marcador de peso molecular foi simultaneamente utilizado durante o procedimento. As proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose com aplicação de corrente de 120V, por 1 hora e meia em tampão específico (190 mM de glicina, 25 mM de Tris, 20% de metanol, pH 8,3). A equivalência da quantidade de proteína colocada em cada coluna foi conferida por meio da coloração com *Ponceau*. As membranas foram lavadas em solução de Tris 1M, NaCl 5M, Tween 20 (TBS-T), bloqueadas em solução de 5% de albumina sérica bovina (BSA) por 20 minutos, utilizando o sistema SNAP I.D. (Merck-Millipore, Darmstadt, Alemanha), como previamente publicado (MACEDO et al., 2014; KRUG et al., 2016; HERRERA et al., 2016). Após bloqueio, as membranas foram lavadas 1 vez por 2 minutos em TBS-T e incubadas por 10 minutos em seu respectivo anticorpo primário com diluição apropriada para proteínas em 1% de BSA: colágeno I (COL1A1 Antibody, Cell Signaling #84336, 1:800), colágeno III (Anti-Collagen Type III, clone IE7-D7, Merck-Millipore #MAB3392, 1:800) e elastina (ELN Rabbit Polyclonal antibody, Proteintech #15257-1-AP; 1:1000,). Após nova lavagem de 3 vezes, as membranas foram incubadas com o anticorpo secundário (IgG anti-mouse e anti-rabbit, 1:1.000 para colágeno I e elastina, respectivamente). Os valores obtidos foram normalizados pela quantidade de Glyceraldehyde – 3 – Phosphate Dehydrogenase (GAPDH FL - 335, Santa Cruz #sc-25778, 1:800) e apresentados como % das unidades arbitrárias do grupo controle. Posteriormente, os anticorpos foram detectados por reação química com a utilização de quimiluminescência aumentada (WESTAR NOVA 2.0®, Bologna, Italia #XLS071,0250), e as membranas foram expostas a filme de radiografia. As bandas foram analisadas pelo programa computacional (Scion Image, Corporation, 0.4.0.2) as quais foram normalizadas pelo grupo controle.

## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para as amostras com distribuição normal foram utilizados testes paramétricos (ANOVA ou teste t Student) e as amostras com distribuição anormal foram ajustadas pelo programa Sigma Stat para se adequar aos parâmetros de normalidade. A análise de potência post hoc foi realizada via G\* Power (versão 3.1.9.2; Düsseldorf, Alemanha) usando o tamanho da amostra juntamente com as médias e desvios padrão encontrados em cada grupo. Foi utilizado o teste de correlação de Pearson para análises paramétricas e correlação de Spearman para análises não paramétricas, usadas para associar parâmetros funcionais e densitométricos de produção proteica. As amostras que apresentaram diferenças significativas foram analisadas pelo post-hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 6. RESULTADOS

Os resultados de PC e massa das glândulas adrenais estão ilustrados na Tabela 1 e demonstram que os valores de PC e adrenais estavam significativamente menores nos grupos tratados com a DEX, quando comparados aos controles, independente do treinamento.

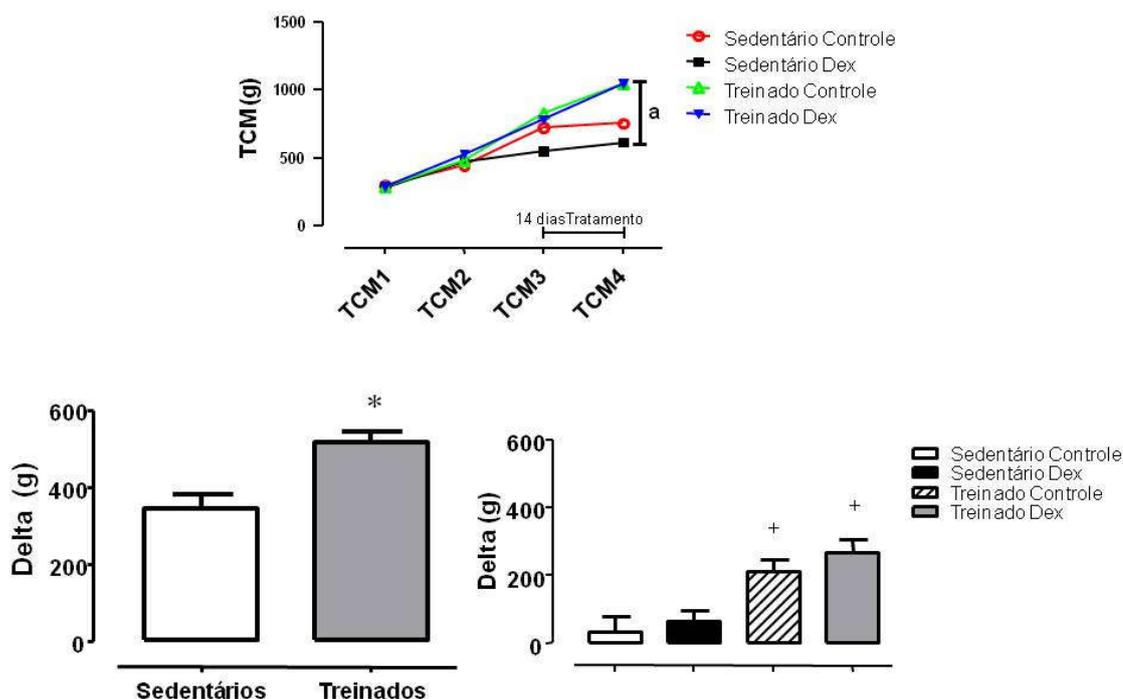
**Tabela 1. Valores de peso corporal (PC) e massa das glândulas adrenais nos quatro grupos analisados.**

VARIÁVEIS	SC (N=8)	SD (N=9)	TC (N=10)	TD (N=10)
PC (g) Inicial	248,38 ± 5,8	267,78 ± 12,21	261,20 ± 8,30	244,70 ± 7,59
PC (g) Final	371,13 ± 5,7	332,11 ± 14,5*	374, ± 11,24	301,50 ± 10,41*
TÍBIA (cm)	4,0 ± 0,03	4,1 ± 0,05	4,0 ± 0,02	4,1 ± 0,06
ADRENAL/TÍBIA (mg/cm)	7,4 ± 0,28	4,1 ± 0,16*	8,4 ± 0,34	3,7 ± 0,47*

PC: peso corporal, SC: Sedentário controle; SD: Sedentário tratado com DEX; TC: Treinado controle e TD: Treinado tratado com DEX. Significância: \* vs controle,  $p < 0,05$ .

A Figura 3 (painel superior) ilustra os resultados dos testes de carregamento máximo (cargas absolutas) realizados durante o período de treinamento resistido. Pode-se observar que todos os animais iniciaram o protocolo experimental com valores semelhantes de carregamento de peso (293, 87 ± 16,5 g, 275,77 ± 11,67 g, 288,80 ± 14,14 e 288,10 ± 16, 81g, para SC, SD, TC e TD, respectivamente) e o TFC determinou aumento significativo de TCM, independente do tratamento com a DEX. O painel inferior esquerdo da Figura 3 demonstra o delta de peso carregado no TCM realizado após o TFC, a 60% da capacidade física máxima nos animais treinados e sedentários agrupados (515,55 ± 35,63 g 345,47 ± 35,63 g, para treinados e sedentários, respectivamente, tamanho de efeito 5,26 e poder do teste 100%). Pode-se observar que o grupo treinado aumentou significativamente a carga carregada no TCM, quando comparado ao sedentário. O painel inferior direito ilustra os resultados de TCM após o tratamento com a DEX. Houve interação entre os ratos treinados e sedentários ( $p < 0,001$ ), mas não houve efeito significativo do tratamento ( $p = 0,069$ ). Portanto, a comparação entre todos os grupos mostrou que o tratamento com a DEX não interferiu nas respostas de TCM entre os grupos (32,25 ± 47 g; 63,5 ± 33 g;

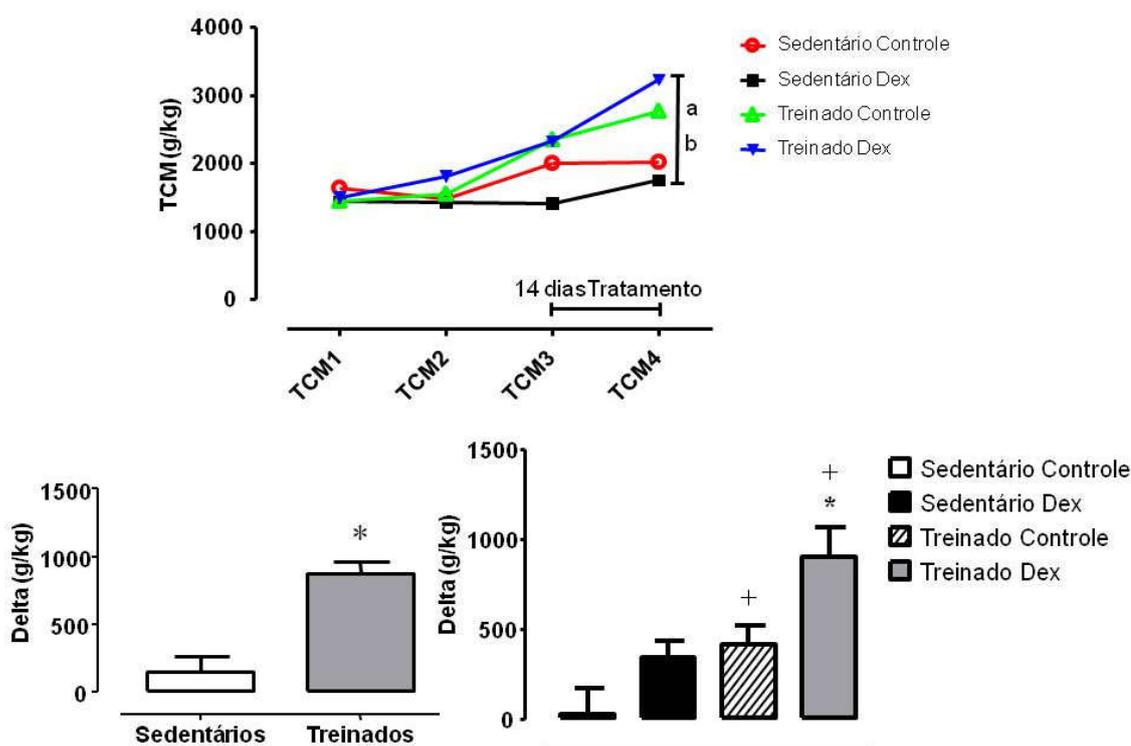
212,11 ± 33 g e 266,10 ± 38 g, para SC, SD, TC e TD, respectivamente). Pode-se observar ainda na Figura 3 que o TFC promoveu aumento significativo da carga absoluta de carregamento no período do tratamento (TCM-4 – TCM-3) nos grupos TC e TD, quando comparados aos respectivos controles SC e SD (tamanho do efeito 4,40 e força do teste 100%, TC versus SC e Efeito 5,71 e Força 100% TD versus SD).



**Figura 3. Painel superior:** Resultados dos testes de carregamento máximo (TCM) realizados na escada durante o protocolo experimental, nas quatro avaliações (TCM-1, TCM-2, TCM-3 e TCM-4). **Painel inferior esquerdo:** Variação do peso carregado entre o TCM-3 e TCM-1 nos animais treinados ( $n = 20$ ) e sedentários ( $n = 17$ ), analisados pelo teste *t-Student*. **Painel inferior direito:** Variação do peso carregado entre o TCM-4 e TCM-3 em todos os grupos avaliados, sedentário controle (SC,  $n = 8$ ), sedentário e tratado com DEX (SD,  $n = 9$ ), treinado controle (TC,  $n = 10$ ) e treinado e tratado com DEX (TD,  $n = 10$ ). Significância: a: efeito do treinamento, \* vs controle e + vs sedentários,  $p < 0,05$ .

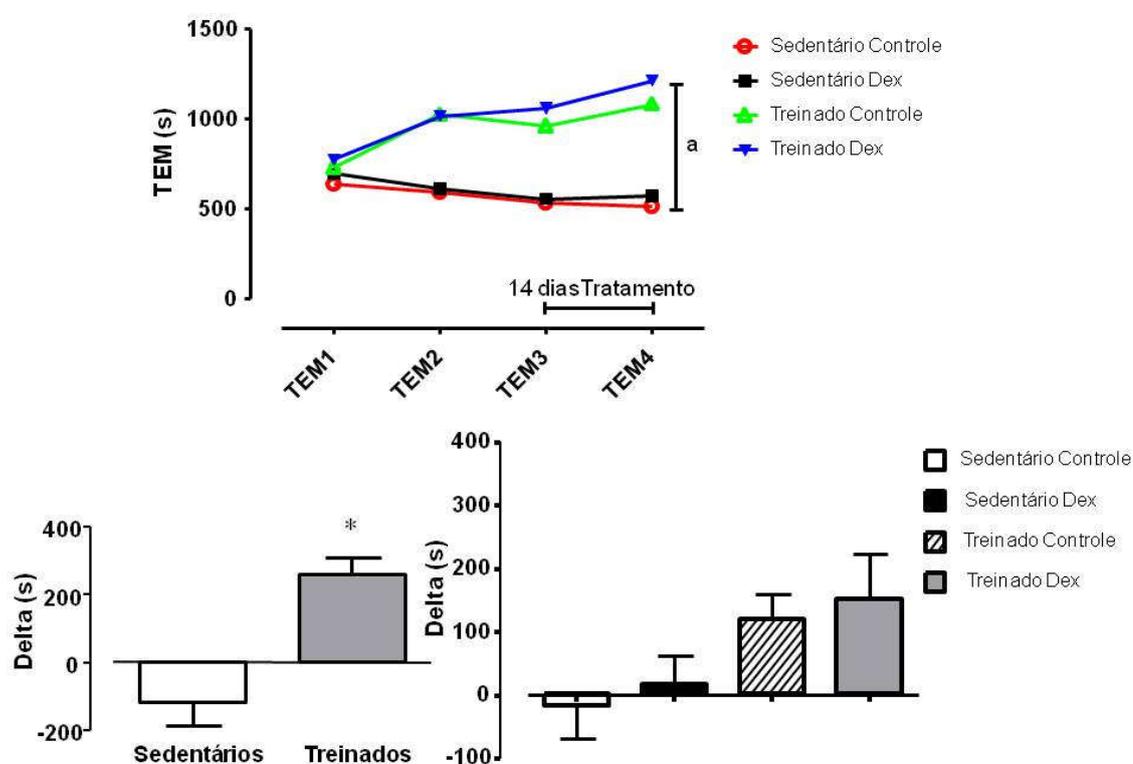
Os resultados dos TCM normalizados pelo PC estão representados na Figura 4 (valores relativos). Pode-se observar no painel superior que todos os grupos de animais avaliados iniciaram o protocolo experimental carregando pesos semelhantes ( $1636,8 \pm 112,5$  g/kg,  $1434,2 \pm 103,3$  g/kg,  $1434,12 \pm 69,13$  g/kg e  $1497,41 \pm 74,26$  g/kg, para SC, SD, TC e TD, respectivamente no TCM-1, e estes resultados não apresentaram interação entre os grupos). No painel inferior esquerdo da Figura 4 pode-se observar que, durante o período de 8 semanas de TFC, houve um aumento significativo na força relativa de carregamento máximo dos grupos TC e TD, ambos

chegando no TCM-3 com valores de  $2378,73 \pm 169,78$  g/kg e  $2322,84 \pm 158,68$  g/kg, respectivamente (tamanho de efeito 2,11 e poder do teste 99%). O delta entre o TCM-4 e o TCM-3 (painel inferior direito) demonstrou que não houve diferença significativa no TCM entre os animais SC e SD após o período de tratamento com DEX. No entanto, os grupos TC e TD exibiram aumento significativo na carga relativa carregada quando comparado aos grupos SC e SD  $416,77 \pm 105,93$  g/kg e  $905 \pm 87$  g/kg para TC e TD e  $26,42 \pm 144,86$  g/kg e  $345,34 \pm 92$  g/kg, para SC e SD, respectivamente (tamanho do efeito 3,07 e força do teste 99% para TC versus SC e tamanho do efeito 5,35 e força do teste 100% para TD versus SD). Nota-se ainda (painel inferior direito) que o grupo TD exibiu aumento significativo na carga relativa carregada quando comparado ao grupo TC ( $905 \pm 87$  g/kg e  $416,77 \pm 105,93$  g/kg, respectivamente, tamanho do efeito 3,56 e força do teste 100% de TD versus TC).



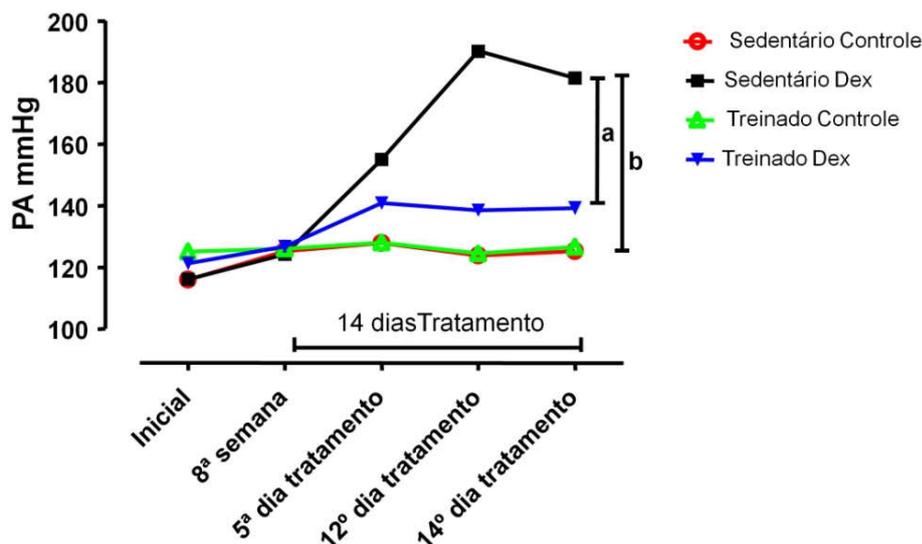
**Figura 4. Painel superior:** Resultados dos testes de carregamento máximo relativo (g/kg) realizados na escada durante o protocolo experimental, nas quatro avaliações (TCM-1, TCM-2, TCM-3 e TCM-4). **Painel inferior esquerdo:** Variação do peso carregado entre o TCM-3 e TCM-1 nos animais treinados (n= 20) e sedentários (n= 17), analisados pelo teste *t-Student*. **Painel inferior direito:** Variação do peso carregado entre o TCM-4 e TCM-3, em todos os grupos avaliados, sedentário controle (SC, n= 8), sedentário e tratado com DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado e tratado com DEX (TD, n= 10). Significância: a: efeito do treinamento; b: efeito do tratamento, \* vs controle e + vs sedentários,  $p < 0,05$ .

A Figura 5 apresenta os resultados de TEM no início do protocolo de TFC. Pode-se observar que todos os animais apresentaram valores semelhantes de tempo do teste no início do protocolo experimental ( $634,25 \pm 74,99$  s,  $693,67 \pm 103,43$  s,  $728,90 \pm 64,77$  s e  $771,70 \pm 53,75$  s, para os grupos SC, SD, TC e TD, respectivamente). Do início ao final do protocolo experimental houve efeito significativo do TF, como pode ser observado na Figura 5, painel superior. Após 8 semanas de TFC, o grupo treinado apresentou um aumento significativo (de  $750,30 \pm 39,33$  s, para  $1008,80 \pm 53,59$ s, tamanho do efeito 6,01 e poder do teste 100%) no tempo máximo na esteira, enquanto que os animais que permaneceram sedentários não apresentaram diferença significativa no final do protocolo experimental.



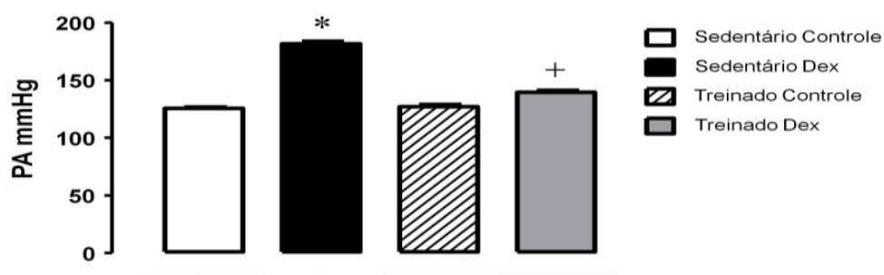
**Figura 5. Painel superior:** Resultados de teste de esforço máximo (TEM, em segundos) realizado na esteira durante o protocolo experimental nas 4 avaliações (TEM-1, TEM-2, TEM-3 e TEM-4) e nos 4 grupos avaliados: sedentário controle (SC, n= 8), sedentário e tratado com DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado e tratado com DEX (TD, n= 10). **Painel inferior esquerdo:** Variação do tempo (em segundos) entre TEM-3 e TEM-1 nos dos animais treinados (n= 20) e sedentários (n= 17), analisados pelo teste t-Student. **Painel inferior direito:** Variação tempo (em segundos) entre TEM-4 e TEM-3 em todos os grupos analisados. Significância: a: efeito do treinamento; + vs sedentário,  $p < 0,05$ .

Na Figura 6, são apresentados os valores da PA caudal dos animais durante o protocolo experimental. Todos os ratos apresentaram valores iniciais semelhantes de PA caudal ( $116 \pm 2$  mmHg ;  $116 \pm 2$  mmHg;  $125 \pm 5$  mmHg e  $121 \pm 5$  mmHg, para SC, SD, TC e TD, respectivamente).



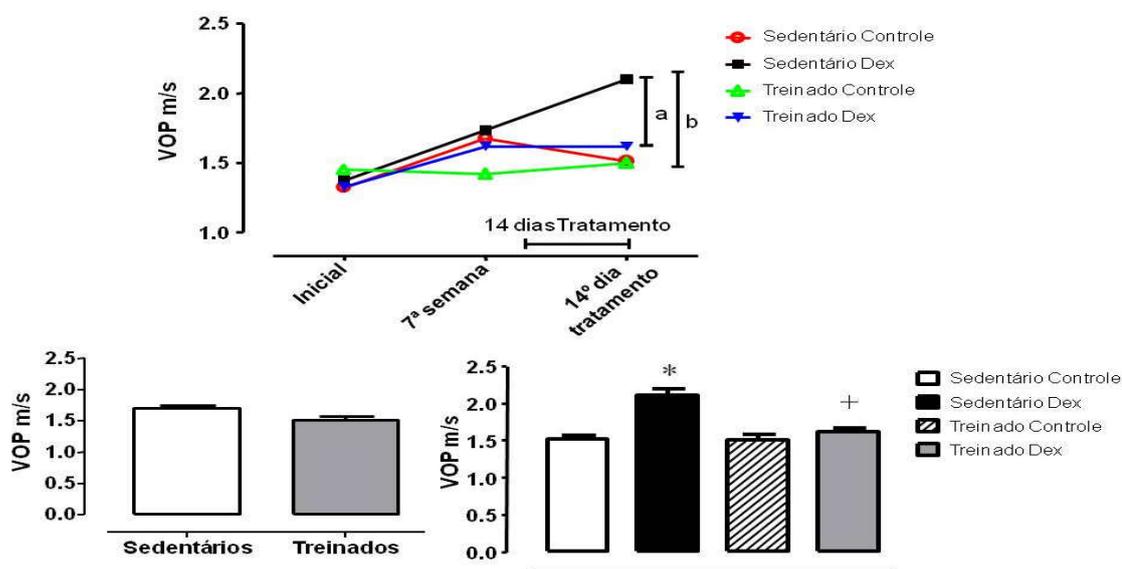
**Figura 6.** Resultados de Pressão Arterial (PA) de cauda durante o protocolo experimental de TFC, nas 5 avaliações (inicial, 8ª semana, 5º dia de tratamento, 12º dia de tratamento e no último dia de tratamento) nos 4 grupos analisados: sedentário controle (SC, n= 8), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). Significância: a: efeito do treinamento; b: efeito do tratamento.  $p < 0,05$ .

Pode-se observar na Figura 7 que durante o período de TFC, sem tratamento farmacológico, a PA não foi alterada significativamente. O tratamento com a DEX determinou aumento significativo nos animais sedentários e treinados, como pode ser observado na Figura 7, no entanto, ao final dos 14 dias de tratamento com a DEX os animais treinados apresentaram valores de PA ( $139 \pm 2$  mmHg, tamanho do efeito 1,38 e força do teste 83%) significativamente menores que os sedentários ( $181 \pm 2$  mmHg, tamanho do efeito 6,48 e poder do teste 100%), como demonstrado na Figura 7. Os grupos controles, SC e TC apresentaram valores semelhantes de PA caudal ao final do protocolo experimental, como observado na Figura 7.



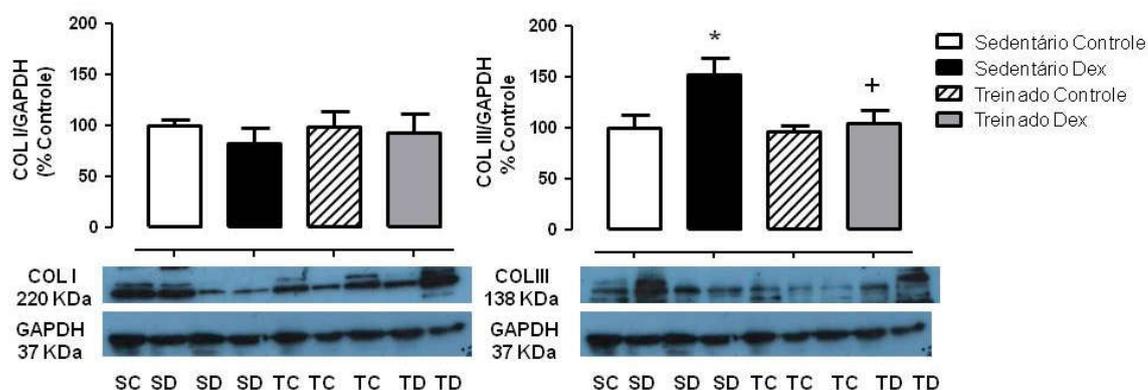
**Figura 7.** Valores basais Pressão Arterial (PA) de cauda ao final do protocolo experimental (TFC + tratamento com DEX), nos 4 grupos analisados: sedentário controle (SC, n= 8), sedentário tratado DEX(SD, n= 9), treinado controle(TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). Significância: \* vs controles, + vs sedentários.  $p < 0,05$ .

Os valores de VOP são apresentados na Figura 8. No painel superior, são apresentadas as 3 análises dos animais durante o protocolo experimental. No painel esquerdo inferior pode-se observar que o TFC não alterou significativamente a VOP dos animais sedentários ou treinados ( $1,7 \pm 0,04$  e  $1,5 \pm 0,05$  m/s, para sedentários e treinados, respectivamente). Como observado no painel direito inferior, a DEX induziu o aumento significativo da VOP no grupo SD ( $2,1 \pm 0,09$  m/s, Tamanho do efeito 6 e força do teste 100 %), quando comparado ao grupo SC ( $1,5 \pm 0,05$  m/s). Aumento este que foi significativamente menor para o grupo TD ( $1,6 \pm 0,04$  m/s, Tamanho do efeito 1 e força do teste 56%).

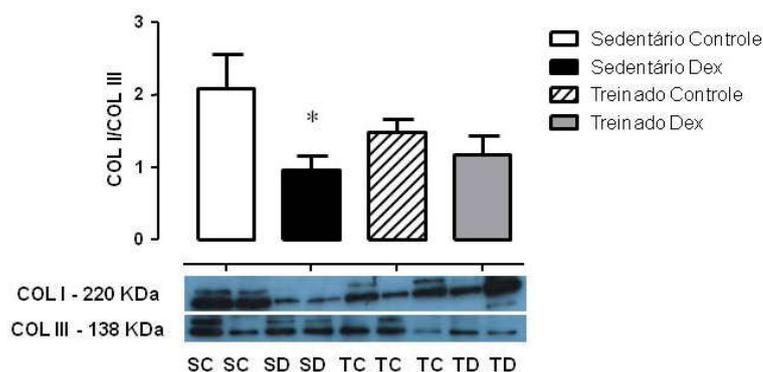


**Figura 8. Painel superior:** Resultados de velocidade de onda de pulso (VOP) durante o protocolo experimental de TFC, nas 3 avaliações (inicial, início e final do tratamento farmacológico) nos 4 grupos analisados: sedentário controle (SC, n= 8), sedentário tratado DEX (SD, n= 9), treinado controle (TC, n= 10) e treinado tratado DEX (TD, n= 10). **Painel inferior esquerdo:** Valores de velocidade de onda de pulso (VOP, m/s) antes do tratamento com a DEX, para sedentários (N=17) e treinados (N=20), analisados pelo teste t-Student. **Painel inferior direito:** Valores ao final do tratamento com DEX (Painel direito) nos 4 grupos analisados. Significância: a: efeito do treinamento; b: efeito do tratamento e \*vs controles, +vs sedentários.  $p < 0,05$ .

A Figura 9 ilustra os resultados da análise densitométrica das proteínas Colágeno I (COL I, painel esquerdo) e Colágeno III (COL III, painel direito) e, na Figura 10, a razão entre as duas proteínas (COL I/COL III) na artéria aorta. Observa-se que nem o tratamento, nem o TFC, alteraram significativamente a produção proteica de COL I na aorta dos animais. Inversamente, o COL III aumentou significativamente no grupo SD (+51,62%, tamanho do efeito 1,18 e força do teste 58%) e o TFC atenuou este aumento no grupo TD (+4,31%, tamanho do efeito 0,26 e poder do teste 8%) quando comparado ao grupo SC. Já a razão entre as duas proteínas COL I/COL III, estava menor no grupo SD (-53,35%, tamanho do efeito 1,38 e poder do teste 58%) quando comparado ao grupo SC.

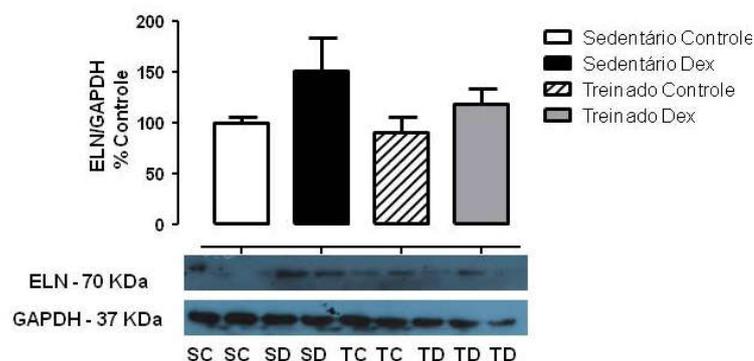


**Figura 9.** Análise densitométrica da produção proteica de colágeno I (esquerda) e III (direita), bem como os blots representativos de cada grupo em todos os grupos analisados: Sedentário controle (SC, N=7), sedentário tratado com DEX (SD, N=9), treinado controle (TC, N=10) e treinado tratado com DEX (TD, N=8). Significância: \*vs controles, +vs sedentários.  $p < 0,05$ .



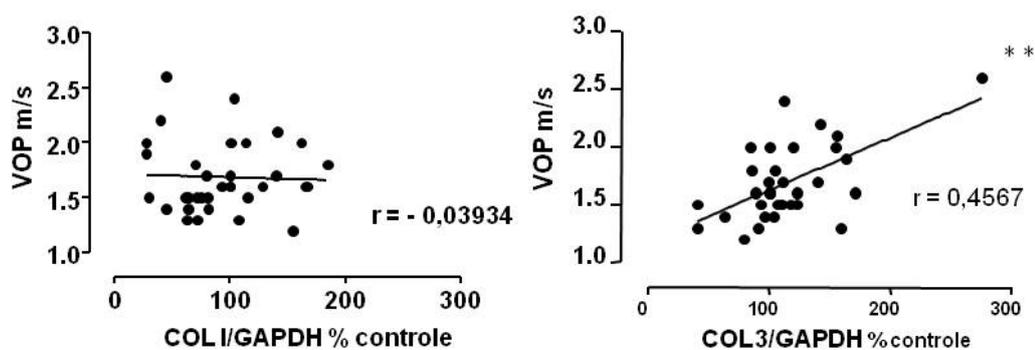
**Figura 10.** Análise densitométrica proteica da razão entre os colágenos I e III, bem como os blots representativos de cada grupo em todos os grupos analisados: Sedentário controle (SC, N=7), sedentário tratado com DEX (SD, N=9), treinado controle (TC, N=10) e treinado tratado com DEX (TD, N=8). Significância: \*vs controles.  $p < 0,05$ .

A Figura 11 ilustra os resultados da análise densitométrica da proteína Elastina (ELN) na artéria aorta. Não houve diferença significativa entre os grupos.



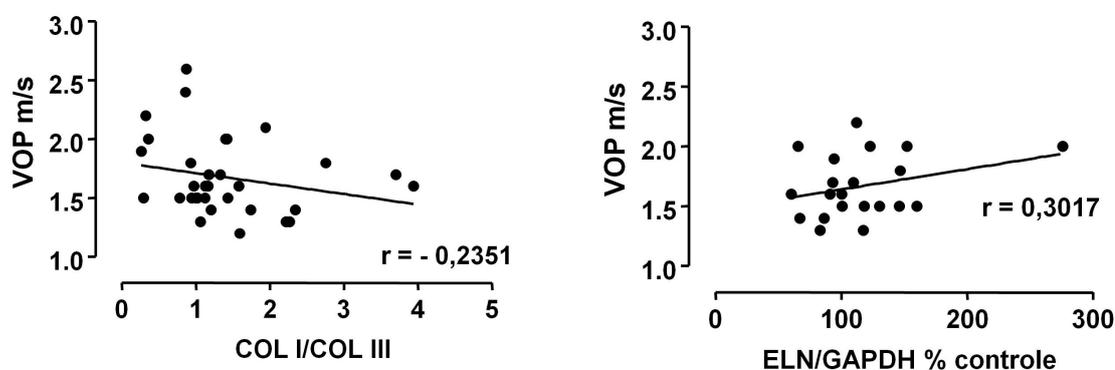
**Figura 11.** Análise densitométrica proteica da produção de Elastina (ELN), bem como os blots representativos de cada grupo, em todos os grupos analisados: Sedentário controle (SC, N=5), sedentário tratado com DEX (SD, N=5), treinado controle (TC, N=5) e treinado tratado com DEX (TD, N=5). Significância:  $p < 0,05$ .

Na Figura 12 pode se observar os resultados de correlação entre densitometria proteica de colágeno tipo I e III com a VOP. Não foi observada nenhuma correlação entre COL I e VOP (painel esquerdo,  $r = -0,03934$ ), por outro lado, foi observada uma correlação positiva significativa entre as análises de COL III e VOP (painel direito,  $r = 0,4567$ ).



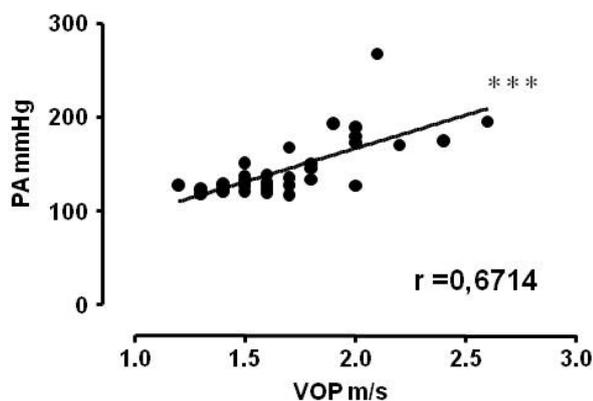
**Figura 12.** Correlação entre análises de densitometria proteica de colágeno I (COL I, painel esquerdo) e III (COL III, Spearman,  $r = 0,4567$ , painel direito) e velocidade de onda de pulso (VOP). Significância: a:\*\*  $p < 0,01$ .

A Figura 13 ilustra a análise de correlação da produção proteica da Elastina (ELN) com VOP (painel esquerdo) e da razão COL I/COL III com VOP (painel direito). Pode-se observar que não houve correlação entre estas variáveis.



**Figura 13. Painel esquerdo:** Correlação entre a razão de colágeno I (COL I/COL III) e a velocidade de onda de pulso (VOP),  $r = -0,2351$  em todos os grupos. **Painel direito:** Correlação entre a densitometria proteica da Elastina (ELN) e a velocidade da onda de pulso (VOP, Pearson,  $r = 0,3017$ ).

Por fim, a Figura 14 demonstra que houve uma correlação positiva significativa entre os valores de VOP e PA caudal ( $r = 0,6714$ ).



**Figura 14.** Correlação entre a velocidade da onda de pulso (VOP) e a pressão arterial (PA) caudal, (Spearman,  $r = 0,6714$ ) em todos os grupos. Significância: a:\*\*\*  $p < 0,0001$ .

## 7. DISCUSSÃO

Os principais resultados do presente estudo foram que o tratamento crônico com DEX promoveu aumento da produção de COL III na artéria aorta, que foi associado com aumento na VOP e pressão caudal destes animais. Em contrapartida, os resultados demonstram, pela primeira vez, que o TFC foi capaz de atenuar este aumento de COL III e, conseqüentemente, mitigar o aumento de PA induzido pela DEX.

Estudos conduzidos em nosso laboratório e outros vêm demonstrando que o tratamento crônico com DEX, independente da dosagem, promove diminuição do peso corporal, seja por atrofia da musculatura esquelética ou redução da ingestão alimentar e, que nem o TFA nem TFR não foram capazes de atenuar este efeito (SEVERINO et al., 2002; BAREL et al., 2010; DIONÍSIO et al., 2014; MACEDO et al., 2014; SIUDA et al., 2014; KRUG et al., 2016; HERRERA et al., 2016; CONSTANTINO et al., 2017; DUCHATSCH et al., 2018). Entretanto, nada se sabia sobre os efeitos do TFC na redução do peso corporal induzida pelo tratamento com DEX. Os resultados do presente estudo demonstram que o TFC, da mesma forma, não foi capaz de atenuar a redução de PC induzida pela DEX. No entanto, não foi objetivo do presente estudo a investigação dos mecanismos envolvidos na redução do PC.

O aumento da pressão arterial em ratos submetidos ao tratamento crônico com DEX vem sendo observado frequentemente na literatura e pelos estudos conduzidos em nosso laboratório (MONDO et al., 2006; SIUDA et al., 2014; HERRERA et al., 2016; HERRERA et al., 2017; CONSTANTINO et al., 2017) e, em contrapartida, o pré-condicionamento físico aeróbio tem sido eficaz em atenuar significativamente este aumento (HERRERA et al., 2016; HERRERA et al., 2017; CONSTANTINO et al., 2017). O exercício físico regular vem sendo recomendado como coadjuvante no controle e tratamento da hipertensão arterial, tanto primária como secundária. Segundo a 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão (2016), TFR (40% de intensidade) pode ser recomendado como complemento do TFA, uma vez que o TFR atenua a atrofia muscular (KRUG et al., 2016), previne sarcopenia (HURLEY et al., 2000; LENK et al., 2010) e promove benefícios osteomioarticulares que não são obtidos pelo TFA (GIANNI & PROTAS, 1993; GUALANO et al., 2010). O TFA, por sua vez, tem sido eficiente em promover melhoras para o sistema cardiovascular e endócrino,

atenua o desequilíbrio do sistema autonômico para o coração, melhora sensibilidade do barorreflexo, aumenta a densidade proteica de VEGF na musculatura esquelética e cardíaca, reduz a resistência vascular periférica, diminui o estresse oxidativo e regula a ação do sistema renina-angiotensina (AMARAL et al., 2011; FERNANDES et al., 2012; MASSON et al., 2014; CONSTANTINO et al., 2017; HERRERA et al., 2016; HERRERA et al., 2017). Contudo, pouco se sabia sobre os efeitos do TFC na pressão arterial de ratos submetidos ao tratamento com DEX, tampouco sobre os efeitos do TFC na estrutura e funcionalidade das artérias, mais especificamente da artéria aorta.

Diante disto, este presente trabalho objetivou avaliar os efeitos do TFC na rigidez arterial e PA dos animais tratados com DEX e entender seus mecanismos. A efetividade do TFC, a 60% da capacidade física máxima, foi comprovada pelo aumento significativo da capacidade de carregamento máximo de peso na escada e na capacidade máxima de esforço na esteira. Da mesma forma, a efetividade do tratamento farmacológico com DEX foi confirmada pela redução significativa de massa das glândulas adrenais.

Os resultados do presente estudo revelaram pela primeira vez que o tratamento crônico com DEX determinou aumento significativo de 38% na VOP, que foi positivamente correlacionada com o aumento de PA caudal destes animais ( $r=0,6714$ ). Com o intuito de se entender os mecanismos que poderiam estar envolvidos no aumento da rigidez arterial destes animais, a aorta foi retirada e preparada para análise de quantidade proteica de COL I, COL III e elastina.

A aorta é uma artéria elástica composta por três túnicas: a íntima, a média e a adventícia, como explicado anteriormente para outros vasos. A camada interna ou íntima consiste de uma única camada de células endoteliais sobre uma lâmina basal ou lâmina elástica interna que separa a íntima da média. A camada média das artérias elásticas possui importante função na manutenção da arquitetura da parede vascular, em resposta à deformação causada pela onda de pulso determinada pela sístole cardíaca. Ela é interposta entre fibras e lamelas elásticas, fibras colágenas, e componentes da matriz extracelular tais como: proteoglicanos e glicoproteínas estruturais. Por fim, ao redor da camada média, encontra-se a camada adventícia, constituída de tecido conectivo frouxo com fibroblastos, colágeno, elastina e substância fundamental (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999).

As fibras elásticas e colágenas são os principais constituintes da camada média. As primeiras conferem a elasticidade necessária para que os vasos suportem o volume sistólico, já as fibras colágenas fornecem resistência aos tecidos (ROSS & ROWRELL, 1993; KIELTLY et al., 1993; JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999; ALBERTS et al., 2004; WAGENSEIL et al., 2010). Juntos, estes dois componentes contribuem para a estabilidade do vaso. Segundo alguns autores (McNULTY et al., 2006; McNULTY et al., 2007; ATANASOVA et al., 2012), quaisquer alterações na síntese ou degradação destas proteínas pode afetar diretamente na complacência arterial. Neste sentido, as metaloproteinases (família de endopetidases produzidas por leucócitos e células musculares lisas na parede da aorta) têm como função a degradação da elastina, do colágeno e das outras proteínas relacionadas à integridade da parede da aorta (RENSE et al., 2007; HARVEY et al., 2016). O desbalanço entre as metaloproteinases e seus inibidores endógenos também contribuem para a degradação da matriz extracelular da camada média, resultando em perda da integridade estrutural e, conseqüentemente, causando prejuízo em sua funcionalidade, medida pela análise da VOP.

Tem sido demonstrado que a artéria aorta apresenta em sua composição diversos tipos de colágeno e, neste sentido, o colágeno do tipo I estaria mais presente, cerca de 70 a 75%, sendo seguido pelo colágeno tipo III, o qual chega a 30% (LEITMAN et al., 1984; MUTARA et al., 1986; PROCKOP et al., 1995; WAGENSEIL et al., 2010).

Neste sentido Clerc et al. (1999) demonstraram que a rigidez da aorta de ratos idosos normotensos e ratos geneticamente hipertensos pode ser influenciada não apenas pela própria hipertensão, mas também pela maior densidade de colágeno tipo III, porém, não por colágeno do tipo I, contribuindo para a diminuição da complacência e distensibilidade. Em concordância, trabalho recente de nosso grupo demonstrou que a VOP estava positivamente correlacionada com a quantidade de colágeno III nas camadas médias das artérias aorta, carótida e femoral quando animais jovens eram comparados aos mais velhos (FABRICIO, 2018).

Dentre os mecanismos envolvidos na rigidez arterial, tem sido apontado o sistema renina-angiotensina (SRA) e sistema nervoso simpático (SNS). Neste sentido, Dab et al. (2012) investigaram o papel do SNS e do SRA na síntese das proteínas colágeno I, III e Elastina na aorta de ratos normotensos. Estes autores demonstraram que a infusão de noradrenalina estimulou a síntese de COL III via

receptor  $\beta$  e de Elastina via receptores  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$  (após bloqueios destes receptores). Além disso, demonstraram que a infusão de Angiotensina II (Ang II) aumentou a síntese de COL III e reduziu a síntese de Elastina, ambos efeitos via receptor AT1. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos do treinamento físico combinado no aumento da síntese e/ou degradação das proteínas COL I, COL III e Elastina na aorta de ratos tratados ou não com DEX.

Dados do nosso laboratório mostram a influência do tratamento crônico com DEX em induzir hipertensão arterial por meio do desbalanço autonômico (HERRERA et al., 2016; DUCHATSCH et al., 2017). No entanto, nada se sabia sobre os efeitos da DEX no enrijecimento arterial.

Os resultados do presente estudo mostraram que o tratamento por 14 dias com DEX determinou um aumento na produção de COL III (mas não de COL I) na artéria aorta dos animais tratados, quando comparados aos SC e este aumento se correlacionou positivamente com a VOP, sugerindo que o aumento de COL III, induzido pelo tratamento com DEX, possa ser um mecanismo importante na determinação do enrijecimento arterial induzido pela DEX. Em consonância, De Marco et al. (2015) relataram aumento significativo da VOP devido ao aumento significativo de depósito de colágeno em camundongos, quando comparados a camundongos que receberam antagonista do receptor de mineralocorticóide, sugerindo assim o envolvimento do mineralocorticóide na rigidez da aorta.

Em contrapartida, outros estudiosos demonstraram divergências quanto aos efeitos dos glicocorticoides na aorta bovina *in vitro*. Longenecker et al. (1984) observaram em cultura de célula, ao aplicar corticosteroide, cortisol e DEX, inibição da proliferação e produção de colágeno da matriz extracelular. Por outro lado, Leitman et al. (1984) observaram aumento tempo-dependente na síntese de colágeno I após tratamento com DEX em cultura de células da aorta de bovinos. Adicionalmente, o tratamento com DEX apresenta resultados controversos dependendo das dosagens e tecidos avaliados. Rajashree et al. (2000) relataram que a administração de DEX, na dose de 2,5 mg/kg, em animais normotensos, determinou redução na produção de colágeno I e aumento do COL III, tanto no coração como nos rins. De acordo com estes resultados, outros autores também observaram a ação da DEX no metabolismo de colágeno relacionando-a a diminuição da síntese e/ou degradação de colágeno na pele (CUTRONEO et al., 1981; VERBRUGGEN et al., 1982), Pulmão, através da redução de TGF- $\beta$

responsável por sintetizar COL I e III na matriz extracelular (SHULL et al., 1995), artérias das vias aéreas (BONACCI et al., 2006) e células embrionárias (COCKCAYNE et al., 1986). De acordo com Rajashree et al. (2000) a diferença da produção ou degradação induzida por DEX, pode ser devido à quantidade de receptores nos diferentes tecidos.

A produção de COL I não foi influenciada pelo tratamento com DEX no presente estudo e, igualmente não se correlacionou com os resultados de VOP. Resultados similares foram demonstrados por McNulty et al. (2006), os quais relataram que embora o COL I estava expresso em maior quantidade em hipertensos, não houve correlação com a rigidez arterial. Contudo, este estudo (MCNULTY et al., 2006) não analisou quais os efeitos induzidos pelo tratamento crônico com DEX, nem tampouco quais os efeitos do TFC na rigidez da aorta e seus efeitos na produção COL I. Este mesmo autores (MCNULTY et al., 2006) observaram a participação de enzimas degradadoras de colágeno da matriz extracelular, correlacionando-as com aumento da rigidez arterial, mais especificamente as metaloproteinases da matriz extracelular (MMP-1), no entanto, neste estudo, os autores não utilizaram tratamento crônico com glicocorticoides. Concordando com estes autores, a análise da razão entre COL I/COL III no presente estudo estava reduzida nos animais tratados com DEX (-52,35 %), mas estes valores não se correlacionaram com a VOP.

O TFC não determinou alteração na VOP dos animais controles neste estudo, mas foi eficaz em atenuar o aumento da VOP induzido pela DEX. Os efeitos do TF na VOP vêm sendo demonstrados por alguns autores, mas seus resultados ainda são inconclusivos. Tem sido demonstrado que o tipo e intensidade do exercício podem influenciar nos efeitos causados pelo treinamento físico na VOP. De acordo, alguns autores têm demonstrado que o TFR de alta e moderada intensidade promove aumento da VOP em pacientes normotensos (MIYACH et al., 2004), hipertensos (COLLIER, 2008; COLLIER et al., 2011) e em pacientes com doença coronariana (MOON et al., 2015). Collier et al. (2008 e 2011) compararam os efeitos do TFR e TFA de moderada intensidade na VOP de indivíduos pré-hipertensos e hipertensos, os quais apresentaram a VOP no final do TFA mais baixa quando comparada aos indivíduos que participaram do TFR. Em contrapartida, Cook et al. (2005) ao investigarem a VOP em atletas remadores, relataram que os atletas apresentaram aumento significativo da complacência na artéria carótida, quando

comparados a indivíduos sedentários. Além disso, outros autores demonstram que o TFA intervalado (alta intensidade) reduz VOP em hipertensos (CIOLAC et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2010), sugestionado pela diminuição da enzima vasoconstritora Endotelina 1 (CIOLAC et al., 2010). No entanto, a maioria dos estudos com humanos não permite a avaliação aprofundada dos mecanismos responsáveis por respostas estruturais de vasos.

Neste sentido, alguns trabalhos avaliaram os efeitos do TF sobre os componentes da matriz extracelular e estrutura de vasos que podem comprometer a complacência dos vasos, mas nem todos avaliaram a rigidez arterial. GU et al. (2014) demonstraram em ratos espontaneamente hipertensos, que o TFA na esteira, com incremento de inclinação, promoveu redução de colágeno e de elastina na artéria aorta de ratos hipertensos, o que contribuiu para a diminuição da PA, quando comparados a ratos hipertensos sedentários. Estes resultados concordam com os achados de Nosaka et al. (2003) que compararam aortas de ratos jovens e idosos e demonstraram que os ratos idosos apresentaram aumento significativo de colágeno e elastina na aorta, quando comparado aos ratos jovens; no entanto, quando os animais idosos passaram pelo TF de natação em baixa intensidade, apresentaram diminuição de colágeno. Estes mesmos autores (Nosaka et al., 2003) compararam a quantidade cálcio na aorta e sugeriram que este poderia ser um possível mecanismo envolvido no remodelamento arterial, uma vez que os animais jovens treinados apresentaram menor concentração de cálcio na aorta, comparados aos idosos. Apesar de não avaliar a VOP, Morais-Teixeira et al. (2010) demonstraram que 5 meses de treino de baixa intensidade em esteira promoveu aumento do lúmen e redução da espessura da parede da aorta, associada a aumento de elastina em ratos espontaneamente hipertensos treinados, comparados a SHR sedentários. Dentre os possíveis mecanismos que poderiam estar contribuindo para redução de colágeno nos vasos após TF pode-se citar uma menor atividade do Sistema renina angiotensina, no entanto, este mecanismo foi avaliado em ratos SHR e após TFA (GU et al., (2014).

Por outro lado, o TF resistido determina aumento de proteínas da matriz extracelular, como observado por Souza et al. (2017) após 12 semanas de TFR em escada a 60% de 1RM, relataram aumento significativo na densidade de colágeno na artéria aorta, o que contribuiu para aumento da túnica média para os animais

treinados quando comparados aos animais sedentários. Entretanto, a VOP não foi analisada e os valores de PA não alteraram significativamente.

Mais recentemente, KHON et al. (2018) demonstraram que o TFA de 8 semanas em natação determinou redução da VOP em camundongos idosos treinados, quando comparados a ratos idosos sedentários, e esta redução foi acompanhada de redução de colágeno na aorta nos animais treinados.

Dentre os tipos de treinamentos físicos e os possíveis mecanismos envolvidos no controle patológico vascular, o TFC em dias alternados vem sendo sugerido como uma importante ferramenta por contemplar as magnitudes específicas promovidas por cada tipo de treinamento (VII DBH, 2016). Figueroa et al. (2014) argumentam favoravelmente ao demonstrarem que o TFC contribuiu para a diminuição da PA e de VOP, bem como na melhora da força muscular em mulheres obesas, pré-hipertensas, suplementadas ou não com proteínas derivadas do soro do leite. Pode-se observar a crucial importância do TFC na saúde mundial, uma vez que a hipertensão é a doença com maior índice de risco remanescente de vida e a VOP pode estar relacionada com a taxa de sobrevivência (LAKATTA et al., 2014).

Uma das limitações deste presente estudo foi a grande variabilidade da VOP entre os animais, e ao fato de ser uma análise realizada com animais anestesiados. A realização implica em manter os animais completamente anestesiados, o local de análise sem ruído e com temperatura controlada a 22°C. Além disso, o berço aquecedor precisa manter a temperatura em até 45°C. No entanto, a partir dos estudos realizados por nosso grupo, com testes de fidedignidade, objetividade, consistência interna (FABRÍCIO, 2018) os resultados apresentados pelo equipamento podem ser considerados confiáveis.

## **8. CONCLUSÃO:**

Os resultados do presente estudo são inéditos em demonstrar que o TFC foi capaz de atenuar o aumento da rigidez arterial de ratos tratados com DEX e os mecanismos responsáveis por esta redução parecem envolver a produção de colágeno III na aorta. Esta atenuação da VOP induzida pelo TFC parece contribuir para atenuar o aumento de PA em ratos treinados e tratados com DEX.

## 9. REFERÊNCIAS:

1. ALVIM, R. D. O., SANTOS, P. C. J. L., MUSSO, M. M., DE SÁ CUNHA, R., KRIEGER, J. E., MILL, J. G., PEREIRA, A. C. Impact of diabetes mellitus on arterial stiffness in a representative sample of an urban Brazilian population. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 5, n.1, p. 45-50, 2013.
2. ALVIM, R. D. O., SANTOS, P. C. J. L., BORTOLOTTI, L. A., MILL, J. G., PEREIRA, A. D. C. Arterial Stiffness: Pathophysiological and Genetic Aspects. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 30, n. 5, p. 433-441, 2017.
3. ALIVON, M., PHUONG, T. V. D., VIGNON, V., BOZEC, E., KHETTAB, H., HANON, O., MOHAMMEDI, K. A novel device for measuring arterial stiffness using finger-toe pulse wave velocity: Validation study of the pOpmètre®. **Archives Of Cardiovascular Diseases**, v. 108 n. 4, p. 227-234, 2015.
4. AMARAL S. L.; PAPANÉK P. E.; GREENE, A. S. Angiotensin II and VEGF are involved in angiogenesis induced by short-term exercise training. **Am J Physiol Heart CircPhysiol**, v. 281, n. 3, p. H1163-H1169, 2001.
5. AMARAL, S. L. D., & MICHELINI, L. C.. Effect of gender on training-induced vascular remodeling in SHR. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44. N. 9, p. 814-826, 2011.
6. ANTI S. M. A.; GIORGI R. D. N.; CHAHADÉ W. H. Antiinflamatórios hormonais: glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, n. Supl1, p. S159-S65, 2008.
7. ATANASOVA, M., DIMITROVA, A., RUSEVA, B., STOYANOVA, A., GEORGIEVA, M., & KONOVA, E. Quantification of elastin, collagen and advanced glycation end products as functions of age and hypertension. In: **Senescence**. Intechopen, v. 33. n. 12, p. 520-528, 2012.
8. ARONSON, D. Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes. **Journal of hypertension**, v. 21n. 1, p. 3-12, 2003.
9. BAKKER, E. N., GROMA, G., SPIJKERS, L. J., DE VOS, J., VAN WEERT, A., VAN VEEN, H., VANBAVEL, E. Heterogeneity in arterial remodeling among sublines of spontaneously hypertensive rats. **PloS one**, v. 9 n. 9, p.e107998, 2014.
10. BAREL M; PEREZ O. A.; GIOZZET V. A.; RAFACHO A.; BOSQUEIRO J. R.; DO AMARAL S. L. Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by dexamethasone treatment. **Eur J of Appl Physiol**, v. 108, n. 5, p. 999-1007, 2010.
11. BARNES, J. N., HART, E. C., CURRY, T. B., NICHOLSON, W. T., EISENACH, J. H., WALLIN, B. G., ... & JOYNER, M. J. Aging enhances autonomic support of blood pressure in women. **Hypertension**, v. 63n. 2, p. 303-308, 2014.
12. BARNES, M. J., FARNDALÉ, R. W. Collagens and atherosclerosis. **Experimental Gerontology**, v34 n4, p. 513-525, 1999.
13. BATLOUNI M. Endotélio e hipertensão arterial. **Rev. Bras. Hipertens**, v. 8, n. 3, p. 328-338, 2001.
14. BLACHER, J., GUERIN, A. P., PANNIER, B., MARCHAIS, S. J., SAFAR, M. E., LONDON, G. M. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. **Circulation**, v. 99 n.18, p. 2434-2439, 1999.
15. BUTLIN, M., LINDESAY, G., VIEGAS, K. D., & AVOLIO, A. P. Pressure dependency of aortic pulse wave velocity in vivo is not affected by vasoactive substances that alter aortic wall tension

- ex vivo. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 308 n. 10, p. H1221-H1228, 2015.
16. BOUTOUYRIE P. New techniques for assessing arterial stiffness. **Diabetes Metab**, v. 34, p. 21-26, 2008.
  17. BONACCI, J. V., SCHULIGA, M., HARRIS, T., & STEWART, A. G. Collagen impairs glucocorticoid actions in airway smooth muscle through integrin signaling. **British Journal Of Pharmacology**, v. 149 n. 4, p. 365-373, 2006.
  18. BRIONES, A. M., ARRIBAS, S. M., SALAICES, M. Role of extracellular matrix in vascular remodeling of hypertension. **Current Opinion In Nephrology And Hypertension**, v. 19 n.2, p. 187-194, 2010.
  19. CIOLAC, E. G., BOCCHI, E. A., BORTOLOTTI, L. A., CARVALHO, V. O., GREVE, J. M., & GUIMARÃES, G. V. Effects of high-intensity aerobic interval training vs. moderate exercise on hemodynamic, metabolic and neuro-humoral abnormalities of young normotensive women at high familial risk for hypertension. **Hypertension Research**, v. 33 n.8, p. 836, 2010.
  20. COLLIER S. R. Sex differences in the effects of aerobic and anaerobic exercise on blood pressure and arterial stiffness. **Gend Med**, v. 5, n. 2, p. 115-123, 2008.
  21. COLLIER S. R., FRECHETTE, V., SANDBERG, K., SCHAFFER, P., Ji, H., SMULYAN, H., & FERNHALL, B. Sex differences in resting hemodynamics and arterial stiffness following 4 weeks of resistance versus aerobic exercise training in individuals with pre-hypertension to stage 1 hypertension. **Biology of Sex Differences**, v. 2, n. 1, p. 9, 2011.
  22. COLLIER, S. R., SANDBERG, K., MOODY, A. M., FRECHETTE, V., CURRY, C. D., JI, H. MEUCCI, M. Reduction of plasma aldosterone and arterial stiffness in obese pre-and stage1 hypertensive subjects after aerobic exercise. **Journal Of Human Hypertension**, v. 29 n. 1, p. 53, 2015.
  23. COOK JN, DEVAN AE, SCHLEIFER JL, ANTON MM, CORTEZ-COOPER MY, TANAKA H. Arterial compliance of rowers: implications for combined aerobic and strength training on arterial elasticity. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. v. 4, p. H1596-600, 2005.
  24. CHARAKIDA M.; LOUKOGEORGAKIS S. P.; OKORIE M. I.; MASI, S., HALCOX J. P.; DEANFIELD, J. E.; & KLEIN N. J. Increased arterial stiffness in HIV-infected children: risk factors and antiretroviral therapy. **Antivir Ther**, v. 14, n. 8, p. 1075-9, 2009.
  25. CHEN, J., BRODSKY, S. V., GOLIGORSKY, D. M., HAMPEL, D. J., LI, H., GROSS, S. S., GOLIGORSKY, M. S. Glycated collagen I induces premature senescence-like phenotypic changes in endothelial cells. **Circulation Research**, v. 90 n. 12, p. 1290-1298, 2002.
  26. CLERC, P. C., RENAUD, J. F., BLACHER, J., LEGRAND, M., SAMUEL, J. L., LEVY, B. I., SAFAR, M. E. Collagen I and III and mechanical properties of conduit arteries in rats with genetic hypertension. **Journal Of Vascular Research**, v. 36 n. 2, p. 139-146, 1999.
  27. COSTA A. R. P. **Rigidez arterial: determinantes e efeitos/implicações na sensibilidade à resposta terapêutica com nitroprussiato de sódio**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade da Beira Interior.
  28. CONSTANTINO, P. B., DIONÍSIO, T. J., DUCHATSCH, F., HERRERA, N. A., DUARTE, J. O., SANTOS, C. F., ... & AMARAL, S. L. Exercise attenuates dexamethasone-induced hypertension through an improvement of baroreflex activity independently of the renin-angiotensin system. **Steroids**, v. 128, p. 147-154, 2017.

29. CORTEZ-COOPER, M. Y., ANTON, M. M., DEVAN, A. E., NEIDRE, D. B., COOK, J. N., & TANAKA, H. The effects of strength training on central arterial compliance in middle-aged and older adults. **European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 15 n. 2, p. 149-155, 2008.
30. CUTRONEO, K. R., ROKOWSKI, R., & COUNTS, D. F. Glucocorticoids and collagen synthesis: comparison of in vivo and cell culture studies. **Collagen And Related Research**, v. 1 n. 6, p. 557-568, 1981.
31. DAB, H., KACEM, K., HACHANI, R., DHAOUADI, N., HODROJ, W., SAKLY, M. BRICCA, G. (2012). Physiological regulation of extracellular matrix collagen and elastin in the arterial wall of rats by noradrenergic tone and angiotensin II. **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, v. 13 n. 1, p. 19-28, 2012.
32. DABROWSKA, E., SWIERBLEWSKA, E., KUNICKA, K., GRAFF, B., SZYNDLER, A., ROJEK, A., & NARKIEWICZ, K. [pp. 24.09] The Role Of Structural And Functional Alterations Of Large Arteries In Ventricular Hypertrophy And Diastolic Dysfunction In Patients With Essential Hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 35, p. e290, 2017.
33. DEMARCO, V. G., HABIBI, J., JIA, G., AROOR, A. R., RAMIREZ-PEREZ, F. I., MARTINEZ-LEMUS, L. A., ... & MEININGER, G. A. Low-Dose Mineralocorticoid Receptor Blockade Prevents Western Diet-Induced Arterial Stiffening in Female Mice. **Hypertension**, HYPERTENSION p. 115, 2015.
34. DIONISIO, T.J.; LOUZADA, J.C.; VISCELLI, B.A.; DIONISIO, E.J.; MARTUSCELLI, A.M.; BAREL, M.; PEREZ, O.A.; BOSQUEIRO, J.R.; BROZOSKI, D.T.; SANTOS, C.F.; AMARAL, S.L. Aerobic training prevents dexamethasone-induced peripheral insulin resistance. **Horm Metab Res**. v.7, p.484–489, 2014.
35. DUCA, L., BLAISE, S., ROMIER, B., LAFFARGUE, M., GAYRAL, S., EL BTAOURI, H., MAURICE, P. (2016). Matrix ageing and vascular impacts: focus on elastin fragmentation. **Cardiovascular Research**, v. 110 n. 3, p. 298-308, 2016.
36. DUCHATSCH, F., CONSTANTINNO P. B, HERRERA N, A., FABRICIO M, F., TARDELI L, P., MARTUSCELLI A, M., AMARAL S, L. Short-term exposure to Dexamethasone promotes autonomic imbalance to the heart before hypertension. **Journal of the American Society of Hypertension**, 2018.
37. ERSHOVA A. I.; MESHKOV A. N.; ROZHKOVA T. A.; KALININA M. V.; DEEV A. D.; ROGOZA A. N.; BOYTSOV, S. A. Carotid and aortic stiffness in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0158964, 2016.
38. FABRICIO M. F., **Novo dispositivo de medida de rigidez arterial - pOpmètri® e suas correlações com análises morfométricas e densidade de colágeno em artérias de ratos de diferentes idades**. 2018. Tese de Mestrado Programa Interinstitucional de pós –graduação UFScar/UNESP – São Caros/Araraquara.
39. FARQUHARSON, C., & ROBINS, S. P. Immunolocalization of collagen types I and III in the arterial wall of the rat. **The Histochemical Journal**, v. 21 n. 3, p. 172-178, 1989.
40. FARQUHARSON, C., & ROBINS, S. P. Immunolocalization of collagen types I, III and IV, elastin and fibronectin within the heart of normal and copper-deficient rats. **Journal of comparative pathology**, v. 104 n. 3, p. 245-255, 1991.
41. FIGUEROA, A., VICIL, F., SANCHEZ-GONZALEZ, M. A., WONG, A., ORMSBEE, M. J., HOOSHMAND, S., DAGGY, B. Effects of diet and/or low-intensity resistance exercise training on arterial stiffness, adiposity, and lean mass in obese postmenopausal women. **American Journal Of Hypertension**, v. 26 n. 3, p.416-423, 2013.

42. FIGUEROA A.; WONG A.; KINSEY A.; KALFON R.; EDDY W.; ORMSBEE M. J. Effects of milk proteins and combined exercise training on aortic hemodynamics and arterial stiffness in young obese women with high blood pressure. **Am J Hypertens**, v. 27, n. 3, p. 338-344, 2014.
43. FRANCOIS, M. E., DURRER, C., PISTAWKA, K. J., HALPERIN, F. A., CHANG, C., LITTLE, J. P. Combined interval training and post-exercise nutrition in type 2 diabetes: a randomized control trial. **Frontiers In Physiology**, v. 8, p. 528, 2017.
44. LAKATTA E. G. The reality of aging viewed from the arterial wall. **Artery Res.** v. 7 n. 2, p. 73-80, 2013.
45. LUFT F. C. Molecular mechanisms of arterial stiffness: new insights. **Jam Soc Hypertens**, v. 6, n. 6, p. 436-438, 2012.
46. LEITMAN, D. C.; BENSON, S. C.; JOHNSON, Lorin K. Glucocorticoids stimulate collagen and noncollagen protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. **The Journal Of Cell Biology**, v.98 n.2 p. 541-549, 1984.
47. LENK, K, SCHULER, G, ADAMS, V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. **Journal Of Cachexia, Sarcopenia And Muscle**, v. 1. N. 1. P. 9-21, 2010.
48. GAY, S., BALLEISEN, L., REMBERGER, K., FIETZEK, P. P., ADELMANN, B. C., & KÜHN, K. Immunohistochemical evidence for the presence of collagen type III in human arterial walls, arterial thrombi, and in leukocytes, incubated with collagen in vitro. **Klinische Wochenschrift**, v. 53 n. 19, p. 899-902, 1975.
49. GAY, S., WALTER, P., & KÜHN, K. Characterization and distribution of collagen types in arterial heterografts originating from the calf carotis. **Klinische Wochenschrift**, v. 54 n. 18, p. 889-894, 1976.
50. GIANNINI, M. J., & PROTAS, E. J. Comparison of peak isometric knee extensor torque in children with and without juvenile rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology**, v. 6 n. 2, p. 82-88, 1993.
51. GEPNER, A. M. et al. Longitudinal Effects of a Decade of Aging on Carotid-left ventricular load in a northern Chinese urban community. **Circulation**, v. 68 n. 1. P. 50-58, 2014.
52. GU Q.; WANG B.; ZHANG X. F.; MA Y. P.; LIU J. D.; WANG X. Z. Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats. **Exp Gerontol**, v. 56, p. 37-44, 2014.
53. GUALANO, B., PINTO, A. L. S., PERONDI, B., PRADO, D. M. L., OMORI, C., ALMEIDA, R. T., SILVA, C. A. A. Evidence for prescribing exercise as treatment in pediatric rheumatic diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 9 n.8, p. 569-573, 2010.
54. GUIMARAES, G. V., CIOLAC, E. G., CARVALHO, V. O., D'AVILA, V. M., BORTOLOTTI, L. A., BOCCHI, E. A. Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. **Hypertension Research**, v. 33 n. 6, p. 627, 2010.
55. GROTENHUIS, H. B. et al. Validation and reproducibility of aortic pulse wave velocity as assessed with velocity-encoded MRI. **J. Magnetic Resonance Imaging**, v. 30 n. 3 p. 512-6, 2009.
56. HARVEY, A., MONTEZANO, A. C., LOPES, R. A., RIOS, F., TOUYZ, R. M. Vascular fibrosis in aging and hypertension: molecular mechanisms and clinical implications. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32 n. 5, p. 659-668, 2016.

57. HERRERA N. A.; JESUS I.; SHINOHARA A. L.; DIONÍSIO T. J.; SANTOS C. F.; AMARAL S. L. Exercise training attenuates dexamethasone-induced hypertension by improving autonomic balance to the heart, sympathetic vascular modulation and skeletal muscle microcirculation. **J Hypertens**, v. 34, n. 10, p. 1967-1976, 2016.
58. HERRERA, N. A., JESUS, I., DIONÍSIO, E. J., DIONÍSIO, T. J., SANTOS, C. F., AMARAL, S. L.. Exercise Training Prevents Dexamethasone-induced Rarefaction. **Journal Of Cardiovascular Pharmacology**, v. 70 n.3, p. 194-201, 2017.
59. HORNBERGER T. A JR.; FARRAR R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v. 29, n. 1, p. 16-31, 2004.
60. HURLEY, B. F., & ROTH, S. M. Strength training in the elderly. **Sports Medicine**, v. 30 n. 4, p. 249-268, 2000.
61. HOUCKEN W.; TEEUW W. J.; BIZZARRO S.; ALVAREZ RODRIGUEZ E.; MULDER T. A.; VAN DEN BORN B. J.; LOOS B. G. Arterial stiffness in periodontitis patients and controls. **J Hum Hypertens**, v. 30, n. 1, p. 24-29, 2016.
62. HOZUMI, T. et al. Noninvasive assessment of coronary flow velocity and coronary flow velocity reserve in the left anterior descending coronary artery by Doppler echocardiography: comparison with invasive technique. **Journal American College Cardiology**, v. 32 n. 5 p. 1251-9, 1998
63. HUYARD, F., ZYDORCZYK, C., CASTRO, M. M., CLOUTIER, A., BERTAGNOLLI, M., SARTELET, H., NUYT, A. M. Remodeling of aorta extracellular matrix as a result of transient high oxygen exposure in newborn rats: implication for arterial rigidity and hypertension risk. **PloS One**, v. 9 n. 4, p. e92287, 2014.
64. JACOB, M. P., BADIÉ-COMMANDER, C., FONTAINE, V., BENAZZOUG, Y., FELDMAN, L., & MICHEL, J. B. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. **Pathologie Biologie**, v. 49 n. 4, p. 326-332, 2001.
65. JOHNSON, C. P., BAUGH, R., WILSON, C. A., BURNS, J. Age related changes in the tunica media of the vertebral artery: implications for the assessment of vessels injured by trauma. **Journal Of Clinical Pathology**, v. 54 n. 2, p. 139-145, 2001.
66. JORDÃO M. T.; LADD F. V.; COPPI A. A.; CHOPARD R. P.; MICHELINI L. C. Exercise training restores hypertension-induced changes in the elastic tissue of the thoracic aorta. **J Vasc Res**, v. 48, n. 6, p. 513-524, 2011.
67. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica. 4ª edição. Rio de Janeiro**, 1999.
68. KIELTY, C. M., SHERRATT, M. J., & SHUTTLEWORTH, C. A. Elastic fibres. **Journal Of Cell Science**, v. 115 n. 14, p. 2817-2828, 2002.
69. KJAER, M. The secrets of matrix mechanical loading. **Scandinavian Journal Of Medicine & Science In Sports**, v. 19 n.4. p. 455-456, 2009.
70. KOHN, J. C., BORDELEAU, F., MILLER, J., WATKINS, H. C., MODI, S., MA, J., REINHART-KING, C. A. Beneficial Effects of Exercise on Subendothelial Matrix Stiffness are Short-Lived. **Journal of biomechanical engineering**, v. 140 n. 7, p. 074501, 2018.
71. KHORRAM, O.; CHUANG, T. D.; PEARCE, W. J. Long-term effects of maternal undernutrition on offspring carotid artery remodeling: role of miR-29c. **J Dev Orig Health Dis**, v. 6, n. 04, p. 342-349, 2015.

72. KRUG A. L.; MACEDO A. G.; ZAGO A. S.; RUSH J. W.; SANTOS C. F.; AMARAL S. L. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. **Muscle & Nerve**, v. 53, n. 5, p. 779-788, 2016.
73. LONDON, G. M., & DRÜEKE, T. B. (1997). Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. **Kidney international**, v. 51 n. 6, p. 1678-1695, 1997.
74. LONGENECKER, J. P.; KILTY, L. A.; JOHNSON, L. K. Glucocorticoid inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation: influence of homologous extracellular matrix and serum mitogens. **The Journal Of Cell Biology**, v. 98 n. 2. P. 534-540, 1984.
75. MACEDO A. G.; KRUG A. L. O.; HERRERA N. A.; ZAGO A. S.; RUSH J. W. E.; AMARAL S. L. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 143, p. 357-364, 2014.
76. MADDEN KM, LOCKHART C, CUFF D, POTTER TF, MENEILLY GS. Short-term aerobic exercise reduces arterial stiffness in older adults with type 2 diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. **Diabetes Care**, v. 32, n. 8, p. 1531-1535, 2009.
77. MALACHIAS M. V. B.; SOUZA W. K. S. B.; PLAVNIK F. L.; RODRIGUES C. I. S.; BRANDÃO A. A.; NEVES M. F. T.; ET AL. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3 Supl3, p. 1-83, 2016.
78. MANCIA, G., FAGARD, R., NARKIEWICZ, K., REDÁN, J., ZANCHETTI, A., BÖHM, M., ... & GALDERISI, M. Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. **Journal Of Hypertension**, v. 31 n. 10, p. 1925-1938, 2013.
79. MASSON, G.S.; COSTA, T.S.R.; YSHII, L.; FERNANDES, D.C.; SOARES, P.P.S.; LAURINDO, F.R.; SCAVONE, C.; MICHELINI, L.C. Time-dependent effects of training on cardiovascular control in spontaneously hypertensive rats: role for brain oxidative stress and inflammation and baroreflex sensitivity. **PLoS One**. v.9, n.5, p.94927, 2014.
80. MIYACHI, M., KAWANO, H., SUGAWARA, J., TAKAHASHI, K., HAYASHI, K., YAMAZAKI, K., & TANAKA, H. Unfavorable effects of resistance training on central arterial compliance: a randomized intervention study. **Circulation**, v. 110 n. 18, p. 2858-2863, 2004.
81. MCNULTY, M., MAHMUD, A., SPIERS, P., & FEELY, J. Collagen type-I degradation is related to arterial stiffness in hypertensive and normotensive subjects. **Journal Of Human Hypertension**, v. 20 n. 11, p. 867, 2006.
82. MCNULTY, M., MAHMUD, A., & FEELY, J. Advanced glycation end-products and arterial stiffness in hypertension. **American Journal Of Hypertension**, v. 20 n. 3, p. 242-247, 2007.
83. MOON, S. H., MOON, J. C., Heo, D. H., LIM, Y. H., CHOI, J. H., KIM, S. Y., JOO, S. J. Increased pulse wave velocity and augmentation index after isometric handgrip exercise in patients with coronary artery disease. **Clinical hypertension**, v. 21 n. 1, p. 5, 2015.
84. MIKAEL, L. D. R., PAIVA, A. M. G. D., GOMES, M. M., SOUSA, A. L. L., JARDIM, P. C. B. V., VITORINO, P. V. D. O., BARROSO, W. K. S. Vascular aging and arterial stiffness. **Arquivos Brasileiros De Cardiologia**, v. 109 n. 3, p. 253-258, 2017.
85. MORAES-TEIXEIRA, J., FÉLIX, A., FERNANDES-SANTOS, C., MOURA, A. S., MANDARIM-DE-LACERDA, C. A., DE CARVALHO, J. J. Exercise training enhances elastin, fibrillin and nitric oxide in the aorta wall of spontaneously hypertensive rats. **Experimental And Molecular Pathology**, v. 89 n. 3, p. 351-357, 2010.

86. MONDO, C.K.; YANG, W.S.; ZHANG, N.; HUANG, T.G. Anti-oxidant effects of atorvastatin in dexamethasone-induced hypertension in the rat. **Clin Exp Pharmacol Physiol**. v. 33, n. 11, p.1029-1034, 2006.
87. MURATA, K., MOTAYAMA, T., & KOTAKE, C. Collagen types in various layers of the human aorta and their changes with the atherosclerotic process. **Atherosclerosis**, v. 60 n. 3, p. 251-262, 1986.
88. NEVES, M. F. T., SOUZA, J. F., & OIGMAN, W. Alterações morfológicas na parede de artéria muscular em pacientes hipertensas. **Arq Bras Cardiol**, v. 70 n. 1, p. 19-23, 1998.
89. NOSAKA, T., TANAKA, H., WATANABE, I., SATO, M., & MATSUDA, M. Influence of regular exercise on age-related changes in arterial elasticity: mechanistic insights from wall compositions in rat aorta. **Canadian Journal Of Applied Physiology**, v. 28 n. 2, p. 204-212, 2003.
90. 7º Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros De Cardiologia**. v. 107, nº3, supl.3, Setembro, 2016.
91. O'ROURKE, M. F., STAESSEN, J. A., VLACHOPOULOS, C., DUPREZ, D. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. **American journal of hypertension**, v. 15 n. 5, p. 426-444, 2002.
92. OLIVER, J. J., & WEBB, D. J. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, v. 23 n. 4, p. 554-566, 2003.
93. PIZZI, O., BRANDÃO, A. A., MAGALHÃES, M. E. C., POZZAN, R., & BRANDÃO, A. P.. Velocidade de onda de pulso-o método e suas implicações prognósticas na hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v. 13 n. 1, p. 59-62, 2006.
94. PROCKOP, D. J., & KIVIRIKKO, K. I. Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. **Annual review of biochemistry**, v. 64 n. 1, p. 403-434, 1995.
95. RAJASHREE, S., & PUVANAKRISHNAN, R. Alterations in collagen metabolism in heart and kidney on dexamethasone administration in rats, 2000.
96. RENSEN, S. S. M., DOEVENDANS, P. A. F. M., & VAN EYS, G. J. J. M. Regulation and characteristics of vascular smooth muscle cell phenotypic diversity. **Netherlands Heart Journal**, v. 15 n. 3, pag 100-108, 2007.
97. ROSS, MICHAEL H. **Histologia: texto e Atlas**, 2ª. edição: Panamericana. São Paulo, 1993.
98. SAFAR, M. E., SIMON, A. C., & LEVENSON, J. A. Structural changes of large arteries in sustained essential hypertension. **Hypertension**, v. 6 n. 6 Pt 2, p. III117, 1984.
99. SANCHES I. C.; CONTI F. F.; BERNARDES N.; BRITO J. D. E O.; GALDINI E. G.; CAVAGLIERI C. R.; IRIGOYEN M. C.; DE ANGELIS K. Impact of combined exercise training on cardiovascular autonomic control and mortality in diabetic ovariectomized rats. **J Appl Physiol**, v. 119, n. 6, p. 656-662, 2015.
100. SEHGEL, N. L., VATNER, S. F., & MEININGER, G. A. "Smooth muscle cell stiffness syndrome"—revisiting the structural basis of arterial stiffness. **Frontiers In Physiology**, v. 6, p. 335, 2015.
101. SIUDA, D., TOBIAS, S., RUS, A., XIA, N., FÖRSTERMANN, U., & LI, H. Dexamethasone upregulates Nox1 expression in vascular smooth muscle cells. **Pharmacology**, v. 94 n. 1-2, p. 13-20, 2014.

102. SHAW I.; SHAW B. S.; KRASILSHCHIKOV O. Comparison of aerobic and combined aerobic and resistance training on low-density lipoprotein cholesterol concentrations in men. **Cardiovasc J Afr**, v. 20, n. 5, p. 290-295, 2009.
103. SCHILLACI, G., BILO, G., PUCCI, G., LAURENT, S., MACQUIN-MAVIER, I., BOUTOUYRIE, P., FAINI, A. Relationship between short-term blood pressure variability and large-artery stiffness in human hypertension: findings from 2 large databases. **Hypertension**, HYPERTENSION p.112, 2012.
104. SMITH, M. M., BUFFINGTON, C. T., HAMLIN, R. L., & DEVOR, S. T. Relationship between muscle sympathetic nerve activity and aortic wave reflection characteristics in aerobic-and resistance-trained subjects. **European Journal Of Applied Physiology**, v. 115 n. 12, p. 2609-2619, 2015.
105. SHULL, S., MEISLER, N., ABSHER, M., PHAN, S., & CUTRONEO, K. R. (1995). Glucocorticoid-induced down regulation of transforming growth factor- $\beta$ 1 in adult rat lung fibroblasts. **Lung**, v. 173 n. 2, p. 71-78, 1995.
106. 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**, v.24 n.3, p. 262-268, 2017.
107. SOUZA, R. R., DE FRANÇA, E., MADUREIRA, D., PONTES, C. C., SANTANA, J. O. CAPERUTO, E. C. (2017). Resistance training improves aortic structure in Wistar rats. **Brazilian Journal Of Physical Therapy**, v. 21 n.4, p. 244-250, 2017.
108. SUN, A., WANG, Y., LIU, J., YU, X., SUN, Y., YANG, F., LU, F. Exogenous H<sub>2</sub>S modulates mitochondrial fusion–fission to inhibit vascular smooth muscle cell proliferation in a hyperglycemic state. **Cell & bioscience**, v.6 n.1, p. 36, 2016.
109. TANAKA, H., DINENNO, F. A., MONAHAN, K. D., CLEVINGER, C. M., DESOUZA, C. A., & SEALS, D. R. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. **Circulation**, v. 102 n. 11, p. 1270-1275, 2000.
110. TARNOKI, A., TARNOKI, D. L., GODOR, E., LITTVAY, L., HORVATH, T., JERMENDY, A., ... & MAUROVICH-HORVAT, P. 2D. 05: RELATIONSHIP OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS WITH ARTERIAL STIFFNESS AND CENTRAL SYSTOLIC BLOOD PRESSURE. **Journal Of Hypertension**, v. 33, p. e29-e29, 2015.
111. VERBRUGGEN, L. A., & ABE, S. (1982). Glucocorticoids alter the ratio of type III/type I collagen synthesis by mouse dermal fibroblasts. **Biochemical Pharmacology**, v. 31 n. 9, p. 1711-1715, 1992.
112. VIEIRA-DAMIANI, G, **Análise computacional de fibras elásticas e colágenas da aorta humana**. 2012. Tese de Doutorado Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.
113. WAGENSEIL, J. E., & MECHAM, R. P. (2009). Vascular extracellular matrix and arterial mechanics. **Physiological Reviews**, v. 89 n. 3, p. 957-989, 2010.
114. WONG, A., ALVAREZ-ALVARADO, S., JAIME, S. J., KINSEY, A. W., SPICER, M. T., MADZIMA, T. A., & FIGUEROA, A. Combined whole-body vibration training and L-citrulline supplementation improves pressure wave reflection in obese postmenopausal women. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 41 n.3, p. 292-297, 2015.
115. XU C.; ZARINS C. K.; PANNARAJ P. S.; BASSIOUNY H. S.; GLAGOV S. Hypercholesterolemia superimposed by experimental hypertension induces differential distribution of collagen and elastin. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 20, n. 12, p. 2566-2572, 2000.

116. XU, J., NAGATA, K., OBATA, K., ICHIHARA, S., IZAWA, H., NODA, A., ... & YOKOTA, M. Nicorandil promotes myocardial capillary and arteriolar growth in the failing heart of Dahl salt-sensitive hypertensive rats. **Hypertension**, v. 46 n.4, p. 719-724, 2005.
117. YANG, S. J., HONG, H. C., CHOI, H. Y., YOO, H. J., CHO, G. J., HWANG, T. G., ... & CHOI, K. M. Effects of a three-month combined exercise programme on fibroblast growth factor 21 and fetuin-A levels and arterial stiffness in obese women. **Clinical Endocrinology**, v.75 n.4, pag 464-469, 2011.
118. YOKOYAMA H.; EMOTO M.; FUJIWARA S.; MOTOYAMA K.; MORIOKA T.; KOYAMA H.; SHOJI T.; INABA M.; NISHIZAWA Y. Short-term aerobic exercise improves arterial stiffness in type 2 diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 65, n. 2, pag. 85-93, 2004.
119. ZHANG, Y., AGNOLETTI, D., XU, Y., WANG, J. G., BLACHER, J., & SAFAR, M. E. Carotid–femoral pulse wave velocity in the elderly. **Journal Of Hypertension**, v. 32 n.8, p. 1572-1576, 2014.
120. ZHANG, J., ZHAO, X., VATNER, D. E., MCNULTY, T., BISHOP, S., SUN, Z., VATNER, S. F. Extracellular matrix disarray as a mechanism for greater abdominal versus thoracic aortic stiffness with aging in primates. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, p.115, 2015.
121. ZHANG, L., ZHOU, J., JING, Z., XIAO, Y., SUN, Y., WU, Y., & SUN, H. Glucocorticoids Regulate the Vascular Remodeling of Aortic Dissection Via the p38 MAPK-HSP27 Pathway Mediated by Soluble TNF-RII. **E Bio Medicine**, V. 27, p. 247-257, 2018.
122. ZIEMAN S. J.; MELENOVSKY V.; KASS D. A. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 25, n. 5, p. 932-943, 2005.
123. ZIEMAN, S. J., MELENOVSKY, V., CLATTENBURG, L., CORRETTI, M. C., CAPRIOTTI, A., GERSTENBLITH, G., KASS, D. A. Advanced glycation endproduct crosslink breaker (alagebrium) improves endothelial function in patients with isolated systolic hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 25 n. 3, p. 577-583, 2007.

## 10. ANEXO 1



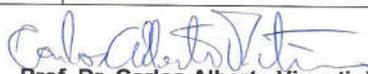
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Bauru



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeitos do treinamento físico combinado na rigidez arterial de ratos tratados com dexametasona**", registrada com o nº **777/2017 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 14/09/2017.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	De 15/09/2017 a 14/09/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Nº de animais	42
Peso/Idade	250g/45 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério

  
Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini  
Coordenador da CEUA