

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Biologia Celular e Molecular

Efeito de diferentes metodologias de treinamento físico na função cardíaca
e no controle barorreflexo cardíaco em modelo experimental de cardiopatia
dilatada isquêmica

Gustavo Santos Masson

Rio de Janeiro

2010

Gustavo Santos Masson

Efeito de diferentes metodologias de treinamento físico na função cardíaca e no controle barorreflexo cardíaco em modelo experimental de cardiopatia dilatada isquêmica

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular do Instituto Oswaldo Cruz.

Aprovada em 02 de Setembro de 2010.

Banca Examinadora:

Dr. Gabriel Melo de Oliveira

Pesquisador do Laboratório de Biologia Celular

Prof^a. Dr^a. Lisete Compagno Michelini

Professora Titular do Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Pedro Paulo da Silva Soares

Professor Adjunto do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal Fluminense

Suplentes:

Dr. Roger de Moraes

Pós-doutorando do Laboratório de Investigação Cardiovascular

Dr^a. Isabela Bonomo

Pesquisadora Visitante do Laboratório de Investigação Cardiovascular

**Esta dissertação foi desenvolvida no Laboratório de
Investigação Cardiovascular do Instituto Oswaldo Cruz, sob
orientação do Dr. Marcos Adriano da Rocha Lessa e na
vigência de auxílios concedidos pelo Conselho Nacional de
Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
(FAPERJ).**

ÍNDICE

Agradecimentos	pg. 4
Lista de figuras	pg. 6
Lista de tabelas	pg. 7
Resumo	pg. 8
Abstract	pg. 9
1. Introdução	pg.11
2. Objetivo	pg.24
3. Metodologia	pg.25
4. Resultados	pg.30
5. Discussão	pg.42
6. Conclusão	pg.51
7. Referências	pg.52

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Marcos Adriano da Rocha Lessa pela disponibilidade e dedicação na orientação desta dissertação. Obrigado pelos incentivos nos momentos mais difíceis deste projeto que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Eduardo Tibiriçá pela oportunidade de ingressar no Laboratório de Investigação cardiovascular, contribuindo sobremaneira para minha formação acadêmica.

À Prof^a. Dr^a. Lisete Michelini pela grande atenção disponibilizada no período em que estive em seu laboratório e também durante a realização deste projeto.

Ao Prof. Dr. Pedro Paulo Soares pelas importantes sugestões que foram cruciais para a realização deste projeto.

Aos professores das disciplinas do programa de Pós-graduação Biologia Celular e Molecular, em especial ao Prof. Dr. Ernesto Caffarena, Prof^a. Dra. Adriana Ribeiro Silva e Prof. Dr. Milton Ozório Moraes, por se constituírem exemplos de excelência na pesquisa e no ensino.

Aos coordenadores do Curso de Férias, Métodos Experimentais no Estudo de Proteínas, Dr. Fernando Genta e Dr. Richard Hemmi Valente, pela grande contribuição para o meu desenvolvimento acadêmico e pela grande disponibilidade.

Aos meus queridos amigos, Camila Espíndula, Leonardo Marafoni e Guilherme Sá, que foram determinantes para a realização deste projeto e me apoiaram nos momentos mais difíceis desta dissertação.

Aos colegas do Laboratório de Investigação Cardiovascular, Fabiana, Alessandro, Isabela, Vanessa, Íris, Natália, Dani, Felipe, Fernanda, Flávio, pelo apoio durante a execução desta dissertação e pela divertida convivência durante estes quatro anos.

Aos grandes amigos, Thiago, Victor e Leandro, que sempre me incentivaram para a conclusão desta etapa.

À Alessandra Lucena que realizou com muita dedicação e brilhantismo as análises ecocardiográficas nesta dissertação.

A toda minha família, em especial meu tio Jorge César, que sempre, desde sempre mesmo, me ajudou e possibilitou que eu chegasse ao mestrado.

Ao meu pai que sempre esteve do meu lado e é fundamental para minha formação, como um exemplo de dedicação e de sucesso profissional.

À minha mãe que esteve sempre me ajudando nesse processo, sendo muito importante para que eu chegasse ao mestrado e também na continuidade da minha formação acadêmica.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – vista da análise ecocardiográfica

Figura 02 – número de óbitos durante as metodologias de treinamento físico ou o período de sedentarismo

Figura 03 – representação esquemática do desenho experimental do presente estudo

Figura 04 – efeito do treinamento físico na capacidade física

Figura 05 – efeito do treinamento físico na fração de ejeção

Figura 06 – efeito do treinamento físico no diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole

Figura 07 – efeito do treinamento físico no controle barorreflexo cardíaco

Figura 08 – correlação entre as alterações na função cardíaca e na capacidade física

Figura 09 - correlação entre a modificação da duração do teste de esforço máximo e o índice de sensibilidade barorreflexa

Figura 10 – correlação entre as modificações na função cardíaca e o índice de sensibilidade barorreflexa

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Efeito de diferentes metodologias de treinamento físico nos diferentes parâmetros ecocardiográficos

Tabela 02 - Efeito de diferentes metodologias de treinamento físico nas variáveis hemodinâmicas

ABREVIATURAS

ANG II – angiotensina II

Ask-1 - proteína quinase sinalizadora de apoptose-1

CBC - controle barorreflexo cardíaco

ECA – enzima conversora da angiotensina

ERK1/2 - proteínas quinases de regulação extracelular-1/2

EROs – espécies reativas de oxigênio

FE – fração de ejeção

GABA - aminoácido inibitório Gama-aminobutírico

IAM – infarto agudo do miocárdio

IC – insuficiência cardíaca

IC Cont – treinamento contínuo

IC IAer – treinamento intervalado moderado

IC IAna – treinamento intervalado intenso

IC Sed – sedentário

IKK - proteína inibidora quinase K

IL-1 β - interleucina-beta

NF- κ B - Fator de Transcrição Nuclear KappaB

NPV – núcleo paraventricular

NTS – núcleo do trato solitário

OMS – Organização Mundial de Saúde

PKA - proteína quinase A

PKC - proteína quinase C

RVLM – região rostral da medula ventro-lateral

SRA – Sistema Renina-Angiotensina

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral-alfa

RESUMO

Introdução: O treinamento físico contínuo (Cont) é tradicionalmente empregado como estratégia terapêutica não-farmacológica da IC. Contudo outros métodos de treinamento vêm sendo crescentemente utilizadas. **Objetivo:** Avaliar o efeito de diferentes metodologias de treinamento físico sobre a função cardíaca e sensibilidade barorreflexa em modelo experimental de IC. **Metodologia:** Dividimos 43 ratos Wistar Kyoto, machos e com massa corporal entre 250 e 350g em: IC e *sham*. O grupo IC foi subdividido em: Cont (IC Cont), Intervalado moderado (IC IAer), Intervalado intenso (IC IAna) e Sedentário (IC Sed). A IC foi induzida através da ligadura da artéria coronária interventricular. Após 6 semanas do procedimento e ao final do treinamento, foi avaliada a função cardíaca através do ecocardiograma. A medida da fração de ejeção e dos diâmetros ventriculares e atriais foi efetuada pelo método de Simpson e módulo M, respectivamente. No início, na quarta semana e ao final do treinamento, os ratos foram submetidos ao teste de esforço máximo (TE) em esteira rolante. Após 48 horas do terceiro TE, as variáveis hemodinâmicas (pressão arterial, frequência cardíaca e duplo produto) e o controle barorreflexo cardíaco foram determinados. O índice de sensibilidade barorreflexa foi obtido pela razão da variação da FC e da PA sistólica antes e após cada infusão. O treinamento físico foi caracterizado por um período de 8 semanas, com uma frequência semanal de 3 sessões, onde cada treino durou 30 minutos. O IC Cont consistiu na manutenção de 70% da velocidade máxima obtida no TE, já o IC IAna foi marcado pela alternância de segmentos de 1 min a 90% e 50% da velocidade máxima no TE. Por outro lado, o IC IAer se caracterizou pela alternância de períodos de 5 min a 80% e 60% da velocidade máxima no TE. **Resultados:** Constatamos aumento significativo da fração de ejeção no IC Cont ($28,48 \pm 5\%$ vs $39,2 \pm 11\%$) e IC IAer ($31,03 \pm 7\%$ vs $42 \pm 9\%$). Sobre os diâmetros ventriculares e atriais não observamos modificação significativa nos grupos treinados. Entretanto, o IC Sed demonstrou aumento do diâmetro do ventrículo esquerdo em diástole ($0,89 \pm 0,1\text{cm}$ vs $1 \pm 0,1\text{cm}$). A respeito do índice de controle barorreflexo cardíaco, apenas o IC Cont apresentou um maior índice do que o IC Sed ($1,65 \pm 1$ bpm/mmHg vs $0,82 \pm 0,4$ bpm/mmHg). **Conclusão:** A partir dos resultados obtidos, podemos sugerir que o IC Cont e IC IAer parecem ser os métodos mais adequados para a melhoria da função cardíaca e da disfunção barorreflexa na IC.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the effect of different methods of physical training on cardiac function and baroreflex sensitivity in an experimental model of heart failure. **Methods:** Male Wistar Kyoto rats (250 - 350g) were stratified into: continuous training (IC Cont), anaerobic interval training (IC IAAna), aerobic interval training (IC IAer) and sedentary (IC Sed). The animals underwent surgery to induce heart failure by ligation of the interventricular coronary artery. Cardiac function was assessed by echocardiography 6 weeks after the procedure and at the end of training. The measurement of ejection fraction and ventricular and atrial diameters was performed by Simpson's method and module M, respectively. Before, in the fourth week and at the end of training, rats underwent a maximal effort test (ET) on a treadmill, which was characterized by the initial speed of 10 m/min and gradually increased to 3 m/min every 2 minutes. The physical training (8 weeks, 3 sessions/week, 30 min/session) started 6 weeks after surgery. The IC Cont consisted in 70% of the maximum speed obtained in the ET. The IC Ana was marked by alternating segments of 1 min at 90% and 50% of the maximum speed on ET. Furthermore, the IC Aer was characterized by alternating periods of 5 min at 80% and 60% of the maximum speed on ET. After the third ET, the animals were anesthetized with urethane (1.5 mg/kg) and the left carotid artery and the right jugular vein were catheterized, allowing the measurement of blood pressure (BP) and heart rate (HR). The index of baroreflex sensitivity (IBS) was obtained by the reason of Δ HR and Δ BP before and after doses of sodium nitroprusside (2.5, 5, 10 and 20 g/ml) and phenylephrine (4, 8, 16 and 32 g/ml). Statistical analysis was performed by GraphPad Prism, using the two-way ANOVA and Bonferroni post-test, considering statistically significant $p < 0.05$. **Results:** A significant increase in ejection fraction was found in IC Cont (28.48 ± 5 vs $39.2 \pm 11\%$) and IC IAer (31.03 ± 7 vs $42 \pm 9\%$). As in regard of the ventricular and atrial diameters, we did not observe any significant change in the trained groups. However, the IC Sed demonstrated increased left ventricular diameter in diastole (0.89 ± 0.09 vs 1 ± 0.1 cm). Regarding the content of ISB, only the IC Cont showed a higher rate than the IC Sed (1.65 ± 1 vs 0.82 ± 0.4 bpm / mmHg). **Conclusions:** The results suggest that the IC IAer and IC Cont seem to be the most appropriate methods for improving cardiac function. In addition, only IC Cont improved baroreflex dysfunction in HF.

1- INTRODUÇÃO

Conforme apontado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), as doenças cardiovasculares são as principais causas de óbito no mundo, gerando, aproximadamente, 16,7 milhões de mortes por ano, o que corresponde a 29,2% de todos os óbitos (WHO & ISI, 2007). A doença isquêmica do miocárdio é responsável por 7,2 milhões destas mortes, enquanto o acidente vascular cerebral e a hipertensão arterial proporcionam 5,5 e 3,9 milhões, respectivamente. Por outro lado, a taxa de sobrevivência ao evento isquêmico cardíaco agudo vem crescendo nas últimas décadas, devido ao aumento da eficiência das estratégias terapêuticas. A OMS estima que ao menos 20 milhões de pessoas sobrevivam ao infarto agudo do miocárdio (IAM) a cada ano. A doença isquêmica do miocárdio é considerada um dos principais causadores de insuficiência cardíaca (IC), juntamente com a hipertensão arterial e as doenças valvares cardíacas (WHO & ISI, 2007). Apesar do aumento da eficiência das terapias farmacológicas, a IC é caracterizada pela sua alta letalidade. Neste sentido, de acordo com o Estudo Framingham, a média de sobrevida é de 1,7 para homens e 3,2 anos para mulheres após o diagnóstico da doença. Apesar de uma importante variação na taxa de mortalidade, devido ao estágio do desenvolvimento da IC acompanhado pelos principais estudos epidemiológicos, a taxa de mortalidade foi sempre superior a 18% no primeiro anos pós-diagnóstico (Kannel 2000).

No Brasil, a IC consiste num dos principais problemas de saúde pública, pois, somente no segundo semestre de 2009, houveram, aproximadamente, 138 mil internações no Sistema Único de Saúde, gerando um gasto público superior a 153 milhões de reais (www.datasus.gov.br, acesso em abril de 2010).

Conceituação de Insuficiência Cardíaca

A IC é uma síndrome clínica complexa, caracterizada pela a incapacidade do miocárdio produzir um débito cardíaco satisfatório para suprir as demandas metabólicas do organismo. Frente à disfunção ventricular, o organismo aciona mecanismos compensatórios a fim de manter um fluxo sanguíneo adequado para os órgãos vitais através das respostas cronotrópicas e inotrópicas promovidas pela maior ativação do sistema nervoso simpático. Embora agudamente a elevação da atividade central simpática possa promover respostas benéficas ao quadro clínico do paciente, a prolongada exposição à hiperatividade simpática está associada a um pior prognóstico (Munhoz, Negrao et al. 2009), relacionado com o remodelamento ventricular e com modificações cardiometabólicas periféricas (Brum, Rolim

et al. 2006). Por outro lado, alguns estudos não identificaram a disfunção ventricular como o principal fator para a hiperatividade simpática, pois a descarga simpática não se correlacionou com a função ventricular e pacientes com fração de ejeção (FE) inferior a 35% apresentaram valores semelhantes a controles saudáveis, pareados em gênero e idade. A hiperatividade simpática parece estar presente somente na ocorrência de outras características clínicas da IC, como intolerância ao esforço físico e distúrbios respiratórios relacionados ao sono (Florás and Mak 2009).

Apesar dos aspectos fisiopatológicos comuns, a IC pode apresentar características distintas, devido às diferentes etiologias, como na doença isquêmica do miocárdio e na hipertensão arterial, as quais geram fenótipos cardíacos distintos, sendo classificados como cardiopatia dilatada isquêmica e cardiopatia dilatada hipertrófica, respectivamente.

Hiperatividade Simpática, Sensibilidade Barorreflexa e Sistema Renina-Angiotensina

A alteração da atividade do sistema nervoso simpático, observada na IC, está atrelada a alteração nos seus mecanismos regulatórios periféricos de sua própria atividade. Dentre estes mecanismos estão: barorreceptores, quimiorreceptores e os receptores cardiopulmonares. Os barorreceptores consistem em receptores, localizados no seio carotídeo e arco aórtico, sensíveis ao estiramento vascular decorrente de alterações na pressão arterial. Estes receptores consistem em terminações nervosas livres, as quais são compostas pela associação de fibras pré-mielinizadas com fibras amielínicas, citados na camada adventícia próximas à borda médio-adventicial das artérias (Kraus 1979). Outra característica destes receptores é a presença dos canais *Degenerin/Epithelial Na⁺ Channel* (DEG/ENaC) que são sensíveis pressão mecânica e, quando estimulados, possibilitam o influxo de sódio e cálcio nos barorreceptores, promovendo a despolarização das terminações nervosas (Drummond, Price et al. 1998). Após variação na pressão arterial, os impulsos nervosos originados nos barorreceptores pela ativação dos canais DEG/ENaC são conduzidos até o núcleo do trato solitário (NTS) por sistemas de condutância específicos. Quando os barorreceptores presentes na artéria aorta são sensibilizados, o nervo depressor aórtico conduz a informação, juntamente com o nervo de Hering (Levy 2009).

A partir de diferentes estímulos, pode-se descrever o arco reflexo da regulação pressórica batimento a batimento, o qual pode ser dividido em dois estímulos: o primeiro é desencadeado pela elevação da pressão arterial o que induz a ativação do NTS através da

exocitose de vesículas contendo o aminoácido excitatório glutamato na fenda sináptica. Com a estimulação do NTS, ocorre a ativação do núcleo motor dorsal e núcleo ambíguo, regiões adjacentes ao NTS que são formadas por neurônios pré-ganglionares do sistema nervoso parassimpático, possibilitando o aumento do tônus vagal cardíaco. Além disso, a ativação do NTS também favorece a inibição da região rostral da medula ventrolateral (RVLM), região formada por neurônios pré-ganglionares do sistema nervoso simpático, pela liberação do aminoácido inibitório Gama-aminobutírico (GABA), resultando na diminuição do tônus simpático cardíaco. Desta forma, o aumento da atividade vagal e da descarga simpática, respectivamente, possibilitam a diminuição da frequência cardíaca, do retorno venoso, do volume sistólico e da resistência vascular periférica, além do incremento da capacitância venosa. Estas respostas fisiológicas favorecem ao retorno da pressão arterial aos valores anteriores a estimulação dos barorreceptores. Já o segundo arco reflexo do controle pressórico batimento a batimento é desencadeado pela redução da taxa de despolarização dos barorreceptores o que minimiza a estimulação do NTS pela menor exocitose de vesículas contendo glutamato na fenda sináptica. Conseqüentemente, os neurônios pré-ganglionares dos núcleos de ativação do sistema nervoso parassimpático, núcleo motor dorsal e núcleo ambíguo, não são estimulados e os neurônios pré-ganglionares da RVLM não são inibidos, culminando na redução do tônus vagal e no aumento do tônus simpático. A partir desta condição do balanço autonômico, observa-se o aumento da frequência cardíaca, do retorno venoso, do volume sistólico e da resistência vascular periférica, além da diminuição da capacitância venosa. Tais respostas fisiológicas induzem ao aumento da pressão arterial para valores constatados antes da diminuição da sensibilização dos barorreceptores.

A sensibilidade barorreflexa, ou seja, a capacidade do organismo promover uma resposta fisiológica frente a modificação da pressão arterial, apresenta grande importância clínica na terapêutica das coronariopatias, pois a sensibilidade barorreflexa espontânea é considerada um marcador de prognóstico independente em coronariopatas, mesmo naqueles que apresentam função ventricular preservada. (La Rovere, Bigger et al. 1998; De Ferrari, Sanzo et al. 2007). Além disso, a sensibilidade barorreflexa também apresenta características prognósticas na doença cardíaca congênita (Ohuchi, Negishi et al. 2010). Os aspectos prognósticos da sensibilidade barorreflexa estão relacionados com diminuição no controle da descarga simpática para a rede vascular e para diferentes órgãos, como o coração

e os rins, favorecendo a manutenção da atividade simpática periférica elevada e a maior variabilidade da pressão arterial. Estes fatores possibilitam a ativação de mecanismos diretos, como os estímulos hipertróficos nos cardiomiócitos gerados pela ativação dos receptores β_2 e indiretos, como a estimulação do sistema renina-angiotensina, que intensificam a progressão da IC.

Como discutido anteriormente, a alteração na frequência cardíaca é uma das principais respostas fisiológicas às variações pressóricas, sendo que esta capacidade de modulação da frequência cardíaca é definida como controle barorreflexo cardíaco (CBC). A administração intravenosa de drogas vasoativas, como a fenilefrina e o nitroprussiato de sódio, consiste num dos principais métodos de avaliação do CBC, pois as alterações pressóricas provocadas por estas drogas evocam uma resposta da frequência cardíaca. O mecanismo de ação da fenilefrina é marcado pela estimulação dos receptores α_1 , predominantemente, nas arteríolas periféricas, gerando vasoconstrição sistêmica, elevação da pressão arterial e bradicardia reflexa. Já infusão de nitroprussiato de sódio estimula a enzima guanilato ciclase, o que aumenta a concentração de GMP-cíclico na musculatura lisa, induzindo ao vasodilatação periférica, redução da pressão arterial e taquicardia reflexa. No que diz respeito ao CBC nas doenças cardiometabólicas, diversos estudos avaliaram, através da administração das drogas vasoativas, o CBC e constataram que esta resposta está comprometida em diversos distúrbios cardiometabólicos, como a hipertensão (Cisternas, Valenti et al.; Malpas, Groom et al. 1997), obesidade (Chen, Wang et al.) e diabetes mellitus tipo II (Serra, Santos et al.).

A hiperatividade do sistema simpático estimula o sistema renina-angiotensina (SRA) através da interação entre as catecolaminas liberadas pelas terminações simpáticas e os receptores beta-adrenérgicos, localizados, sobretudo, nas arteríolas renais aferentes. A cinética de ativação do SRA se inicia com o aumento da circulação sanguínea de renina, a qual é sintetizada pelas células justaglomerulares. Esta enzima favorece a liberação, a partir do angiotensinogênio, da angiotensina I através do rompimento dos resíduos 10 e 11 do aminoácido terminal do angiotensinogênio. Apesar de não possuir efeito cardiovascular relevante, a angiotensina I é processada em um peptídeo de 8 aminoácidos, a angiotensina II (ANG II), pela enzima de conversão da angiotensina (ECA) (Levy 2009).

Foram identificados sete receptores da família dos receptores acoplados a proteína G para a angiotensina II, mas os receptores AT₁ e AT₂ tiveram seus efeitos melhor caracterizados, onde o AT₂ possui efeitos antagônicos ao AT₁. A reabsorção de água e sódio, a vasoconstrição sistêmica, a produção de ânion superóxido e de citocinas pró-inflamatórias são mediados pela ligação da ANGII com o receptor AT₁. Somando-se as propriedades neuromoduladoras e vasomotoras, a ANG II ativa o carreador sódio-potássio-cloro na membrana do túbulo proximal, favorecendo a reabsorção de sódio. Além dos efeitos diretos da ANG II na função renal, a ANG II estimula a síntese e a liberação de vasopressina ou hormônio antidiurético. Este peptídeo de nove aminoácidos é produzido pelos núcleos supraóptico e paraventricular (NPV), no hipotálamo, e liberado pelas terminações simpáticas na glândula pituitária posterior. Dentre os principais efeitos da vasopressina sobre a função renal está sua relação inversamente proporcional com o nível de excreção urinária, favorecendo elevação da volemia, da retenção de sódio e, conseqüentemente, da pressão arterial. Outro efeito indireto da ANG II ocorre através do estímulo a síntese de aldosterona pelas células glomerulares no córtex adrenal. Um dos principais efeitos renais da aldosterona é a diminuição na excreção de cloreto de sódio pelo aumento da reabsorção deste sal pelo segmento espesso na alça de Henle, pelo túbulo distal e duto coletor (Levy 2009).

Paralelamente à ativação do SRA plasmático, ocorre também a ativação do SRA tecidual em coração, vasos, rins e cérebro, o que amplifica, através de efeitos parácrinos, as respostas fisiopatológicas anteriormente mencionadas. Desta forma, SRA e simpático constituem um círculo vicioso, já que o simpático estimula o SRA plasmático e tecidual e estes, por sua vez, estimulam o simpático e perpetuando a retroalimentação positiva e o aumento da pressão arterial.

Mecanismos Moleculares da gênese da hiperatividade simpática

Após o IAM, a ativação do SRA e o conseqüente aumento da concentração plasmática de ANG II favorece a amplificação da hiperatividade simpática. Embora a ANG II não possa ultrapassar a barreira hemato-encefálica, o aumento da concentração deste peptídeo é capaz de ativar os órgãos circunventriculares, como o órgão subfornical e o órgão vascular da lâmina terminal, pois estas regiões são caracterizadas por um grande número de capilares e pela presença dos receptores de ANG II, bem como de aldosterona (Wright and Harding 1994). Portanto, é plausível que a ativação dos órgãos circunventriculares pela

ANG II possibilite a estimulação do NPV no hipotálamo, o qual interage com a RVLM que consiste no principal sítio de regulação da descarga simpática periférica (Zhang, Francis et al. 2002; Wei, Yu et al. 2009).

Associado com os efeitos fisiológicos mencionados anteriormente, a ANG II, no cérebro, induz o aumento da síntese de espécies reativas de oxigênio (EROs) pela ativação do complexo enzimático NADPH oxidase. A interação da ANG II com o receptor $At1$ possibilita a ativação da fosfolipase C- beta, proporcionando o aumento da concentração citosólica de diacilglicerol e cálcio. O incremento da concentração deste íon induz a ativação da proteína quinase C (PKC) que fosforila a subunidade 47^{phox} da NADPH oxidase. Após sua fosforilação, esta subunidade se reúne com as demais, sobretudo com a 22^{phox} e a subunidade catalítica $gp91^{phox}$, na membrana plasmática, gerando a liberação do ânion superóxido. A partir do aumento da síntese de EROs, as MAPKs, sobretudo as proteínas quinases de regulação extracelular-1/2 (ERK1/2), são estimuladas, induzindo à ativação do fator de transcrição AP-1, o qual parece ser o responsável pela transcrição do receptor AT_1 , contribuindo para o aumento da atividade do SRA no sistema nervoso central e para a amplificação do estresse oxidativo mediado pela NADPH oxidase (Liu, Gao et al. 2006). Somando-se ao fator de transcrição AP-1, a fosforilação de ERK1/2 induz à ativação do fator de transcrição nuclear KappaB (NF- κ B) através da fosforilação da proteína inibidora quinase K (IKK), a qual permite o desacoplamento do NF- κ B e da sua proteína inibidora I κ B pela liberação dos monômeros, I κ B- α e I κ B- β que compõe a I κ B. Na medida em que o NF- κ B está livre no citoplasma, este fator de transcrição é capaz de ingressar no núcleo celular e realizar sua atividade transcriptase, a qual se caracteriza pela síntese de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e a interleucina-beta (IL- 1β). Estas moléculas possibilitam a amplificação do estresse oxidativo, pois são capazes de estimular a NADPH oxidase (Chan, Wang et al. 2007; Kang, Zhang et al. 2008; Kang, Ma et al. 2009; Wei, Yu et al. 2009).

Além da contribuição das EROs para o aumento da atividade do SRA no sistema nervoso central, é plausível que estas moléculas exerçam um papel regulatório pós-traducional no fluxo iônico nas células das regiões controladoras da descarga simpática, pois o aumento das EROs pode incrementar a reação destas como alguns canais iônicos, modificando sua expressão e atividade (Liu, Gao et al. 2006).

Atuando em sinergismo com a ANG II no sistema nervoso central, a aldosterona também possibilita a ativação dos órgãos circunventriculares. Embora, tradicionalmente, a

ação da aldosterona seja descrita no aparelho renal afim de regular a volemia, alguns estudos identificaram a expressão da enzima 11 β -Hidroxiesteróide desidrogenase tipo II no NPV (Zhang, Kang et al. 2006) e no NTS (Geerling, Kawata et al. 2006). Esta enzima é responsável pela conversão dos corticóides em 11-dehidrocorticóides, permitindo a interação da aldosterona com os receptores mineralocorticóides, uma vez que estes receptores apresentam uma maior afinidade pelos corticóides (Geerling, Kawata et al. 2006). Os efeitos moleculares da aldosterona são similares àqueles da ANG II, como geração de EROs pela estimulação da NADPH oxidase (Yu, Wei et al. 2008; Zhang, Yu et al. 2008).

Além da influência dos integrantes do SRA circulantes nos órgãos circunventriculares, diversos estudos vêm caracterizando o SRA cerebral, o qual seria marcado pelos efeitos parácrinos dos seus integrantes neste tecido. Assim, empregando ratos espontaneamente hipertensos, foi constatada correlação diretamente proporcional entre a expressão do RNA mensageiro do angiotensinogênio e a pressão arterial média (Felix and Michelini 2007) e maior expressão gênica da enzima aldosterona sintase na RVLM (Kumar, Goodchild et al. 2006). Já utilizando modelo experimental de cardiopatia dilatada isquêmica, foi identificada maior expressão da ECA na RVLM dos animais infartados (Kar, Gao et al.).

Associando estes diversos mecanismos moleculares, estudos identificaram relação entre a hiperatividade simpática e o estresse oxidativo em regiões de regulação da atividade simpática no bulbo, como NTS e RVLM, e no hipotálamo, NPV, que estão associadas à ativação simpática em modelos de hipertensão arterial (Kishi, Hirooka et al. 2004; Tai, Wang et al. 2005; Fujita, Ando et al. 2007; Oliveira-Sales, Dugaich et al. 2008; Oliveira-Sales, Nishi et al. 2009) e IC (Gao, Wang et al. 2004; Han, Shi et al. 2007). Além das EROs, a expressão das citocinas pró-inflamatórias nas regiões regulatórias do sistema simpático também são importantes na gênese da hipertividade simpática, pois foi evidenciado que a inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias, em modelo experimental de insuficiência cardíaca, produziu uma menor expressão de renina e da enzima conversora da angiotensina no NPV (Kang, Ma et al. 2008).

Outra molécula importante em mediar os efeitos moleculares da Ang II nos sítios regulatórios da atividade simpática é o NO. Em modelo experimental de hipertensão, a transfecção de vetor que superexpressava eNOS na RVLM, produziu menor estresse oxidativo e atividade simpática renal, além de maior sensibilidade barorreflexa (Kishi, Hirooka *et al.*, 2003). Além desta isoforma endotelial, a estimulação da isoforma neuronal

da NOS (nNOS), em animais com insuficiência cardíaca, gerou menor atividade simpática (Wang, Patel *et al.*, 2003). Este efeito inibitório do NO pode estar relacionado à regulação negativa (modificações pós-traducionais) da atividade transcriptase do NFκB, o que produziria uma menor expressão de ROS e citocinas pró-inflamatórias, pois foi demonstrada, em células endoteliais, a redução da atividade transcriptase do NFκB e aumento da nitrosilação da subunidade p50 deste fator de transcrição após exposição ao estresse de cisalhamento por 90 minutos (Grumbach, Chen *et al.*, 2005). Por outro lado, o aumento da expressão da isoforma induzível da NOS na RVLM proporcionou elevação do estado pró-oxidante, da pressão arterial e da atividade simpática (Kimura, Hirooka *et al.*, 2005; Kimura, Hirooka *et al.*, 2009).

Remodelamento Ventricular

Diretamente associado com a hiperatividade simpática, o remodelamento do ventrículo esquerdo é o principal processo adaptativo que se desenvolve após o IAM, sendo resultado de modificações na expressão gênica e nas características moleculares do tecido cardíaco. Este fenômeno fisiopatológico promove alterações morfológicas em uma ou mais câmaras cardíacas, como o aumento do volumes diastólico e sistólico finais e a transformação do formato cardíaco elipsoidal para a forma de globo. A diminuição da espessura da parede ventricular da região infartada, o aumento da região da área infartada e a hipertrofia transitória e posterior apoptose dos cardiomiócitos distantes da região infartada estão diretamente ligadas com as características anatômicas mencionadas acima (Remme 2003).

Embora aparentemente paradoxal, a cardiopatia dilatada isquêmica, no que diz respeito aos cardiomiócitos sobreviventes, possui características pró-hipertroóficas e pró-apoptóticas em etapas distintas do remodelamento ventricular. Inicialmente, os cardiomiócitos sobreviventes são estimulados à hipertrofia a fim de incrementar efemeramente a capacidade contrátil. Por outro lado, com o agravamento da disfunção ventricular, a intensificação do estresse oxidativo e da inflamação induzem a apoptose dos cardiomiócitos sobreviventes (Sirker, Zhang *et al.* 2007; Sun 2009).

A principal característica do estímulo hipertrófico nos cardiomiócitos sobreviventes é a participação das ERK1/2. Estas MAPKs são estimuladas por diversos receptores acoplados a proteína G, como receptores AT₁, mineralocorticóides e α₁ adrenérgicos. A sinalização celular desencadeada por estes receptores é mediada pelo aumento na síntese de

ânion superóxido pela NADPH oxidase.

Além das ERK1/2, o estresse oxidativo nos cardiomiócitos favorece a ativação de outras proteínas quinase, como a fosforilação da Akt pela p66Shc. A ativação destas quinases modifica o fenótipo dos cardiomiócitos sobreviventes através do aumento da atividade transcriptase de fatores de transcrição, como o NFAT/Gata4 e o NF- κ B, os quais estão relacionados com a hipertrofia e com o estresse oxidativo e a síntese de citocinas pró-inflamatórias, respectivamente. A ativação destas proteínas quinases ainda inibe a ativação dos fatores de transcrição FOXO e GSK3- β , os quais estão associados com a transcrição de genes de enzimas antioxidantes e outras integrantes do processo de fosforilação oxidativa e de biogênese mitocondrial (French and Kramer 2007; Sirker, Zhang et al. 2007; Guo, Gertsberg et al. 2009).

Já a sinalização pró-apoptótica dos cardiomiócitos sobreviventes é caracterizada pela a ativação das MAPKs p38 e da JNK. Os efeitos da p38 e da JNK são viabilizados pelo aumento na síntese de EROs e pela fosforilação da proteína quinase sinalizadora de apoptose-1 (ASK-1) (Sirker, Zhang et al. 2007; Liu, Sargent et al. 2009).

Outro aspecto molecular do cardiomiócito na cardiopatia dilatada isquêmica é o aumento da concentração citosólica de cálcio. Esta característica fisiopatológica está relacionada com a redução da capacidade do contrátil, a qual é gerada pela o aumento da fosforilação dos receptores de rianodina pela proteína quinase A (PKA), favorecendo o influxo de cálcio do retículo sarcoplasmático para o citosol na sístole. A PKA é ativada por diversos receptores acoplados à proteína G, como os receptores β_1 -adrenérgicos. Também contribuindo para o aumento da concentração citosólica de cálcio, a diminuição da expressão do canal de cálcio SERCA-2, o qual permite o efluxo deste íon do citosol para o retículo sarcoplasmático na diástole, e a redução da razão de fosfolambam fosforilada/fosfolambam total. A fosfolambam inibe o transporte pelo SERCA-2, mas, quando fosforilada, esta proteína modifica sua conformação, possibilitando a remoção do cálcio pelo SERCA-2. A redução do estado fosforilado da fosfolambam é gerada pela interação da ANG II com seu receptor AT₁, levando a fosforilação da PKC e de diversas proteínas fosfatases. Além disso, a diminuição na expressão do trocador sódio-cálcio também possibilita o aumento do cálcio citosólico na diástole (Brum 2008).

Efeito do treinamento físico na atividade simpática e no controle barorreflexo cardíaco

O treinamento físico é considerado uma das principais estratégias terapêuticas na prevenção e no tratamento das disfunções cardiometabólicas, apresentando importância prognóstica na IC (Piepoli, Davos et al. 2004; Tenenbaum, Freimark et al. 2006). Além dos benefícios psicossociais, como a melhoria da qualidade de vida e da capacidade funcional, a prática regular e sistematizada de exercícios físicos modifica uma série de características fisiopatológicas da cardiopatia dilatada isquêmica. Uma das principais adaptações ao treinamento físico é a redução da descarga simpática periférica verificada em modelos experimentais de IC (Rondon, Brasileiro-Santos et al. 2006; Gao, Wang et al. 2007; Mousa, Liu et al. 2008) e em pacientes portadores de IC (Roveda, Middlekauff et al. 2003; Fraga, Franco et al. 2007; Ueno, Drager et al. 2009).

Entre os diversos mecanismos que poderiam justificar a alteração na atividade simpática após treinamento físico, estão as alterações nos sistemas de regulação da atividade autonômica, sobretudo no controle barorreflexo. Neste sentido, diversos estudos demonstraram os efeitos do treinamento físico no controle barorreflexo cardíaco (Liu, Kulakofsky et al. 2002; Gao, Wang et al. 2007; Mousa, Liu et al. 2008) e na atividade simpática renal (Gao, Wang et al. 2007; Mousa, Liu et al. 2008) em modelos experimentais de cardiopatia dilatada isquêmica. Além dos estudos experimentais, o treinamento físico preveniu a disfunção no controle barorreflexo da atividade simpática muscular e da frequência cardíaca em hipertensos (Laterza, de Matos et al. 2007) e em coronariopatas, sendo que nesses, a melhoria da função barorreflexa esteve associada com um melhor prognóstico (La Rovere, Bersano et al. 2002). Na medida em que a análise da sensibilidade barorreflexa representa a integração entre a sensibilidade das células mecanossensíveis do arco aórtico e do seio carotídeo, a transmissão do sinal até as regiões de controle da atividade do sistema nervoso central, o processamento desta informação e a elaboração da resposta por estes sítios e a resposta à ativação dos reflexos cardiovasculares, o treinamento físico pode influenciar um ou vários destes fatores, permitindo a melhoria do controle barorreflexo. Dentre estes fatores, a adaptação ao treinamento físico melhor caracterizada é o incremento da função endotelial, permitindo maior modificação no tônus vascular frente a uma alteração pressórica (Kojda and Hambrecht 2005). Além disso, o treinamento físico parece proporcionar uma maior atividade nervosa do nervo depressor carotídeo após variações pressóricas na cardiopatia dilatada isquêmica (Rondon, Brasileiro-Santos et al.

2006). No que diz respeito aos efeitos do treinamento físico na atividade dos sítios regulatórios centrais, os quais modificam o processamento do estímulo e a elaboração de uma resposta fisiológica pelas regiões bulbares e hipotalâmicas. Diversos estudos demonstraram, a diminuição, após o treinamento físico, da expressão dos integrantes do SRA (Kar, Gao et al.; Felix and Michelini 2007; Mousa, Liu et al. 2008) e da liberação de EROs (Gao, Wang et al. 2007; Pan, Gao et al. 2007) no NPV e na RVLM, que, conforme discutido anteriormente, estão relacionados com a hiperatividade simpática e a disfunção barorreflexa. Além do aumento da sensibilidade barorreflexa, alterações na ativação do SRA também podem contribuir para explicar os efeitos no treinamento físico na atividade nervosa simpática na IC, pois, conforme discutido anteriormente, os integrantes do SRA podem aumentar a descarga simpática periférica através da ativação de seus receptores nos órgãos circunventriculares. Corroborando esta hipótese, foi demonstrada que a manutenção de elevado nível plasmático de ANG II inibe as adaptações promovidas pelo treinamento físico, como menor descarga simpática renal, maior controle barorreflexo cardíaco e da atividade simpática renal e menor expressão gênica e protéica do receptor AT₁ no NPV, em modelo experimental de cardiopatia dilatada isquêmica (Mousa, Liu et al. 2008).

Adicionalmente aos efeitos sobre os mecanismos regulatórios da atividade autonômica, o treinamento físico proporciona modificações na chamada alça “supra-bulbar”, onde esta estratégia terapêutica reverte o desequilíbrio entre as vias ocitocinérgicas e vasopressinérgicas. Este desequilíbrio observado em algumas disfunções cardiometabólicas, como na hipertensão arterial, é caracterizado pelo predomínio das vias vasopressinérgicas, relacionadas com a ativação simpática, em detrimento às vias ocitocinérgicas, associadas à estimulação parassimpática. A adaptação ao treinamento físico nestas vias gera algumas respostas fisiológicas crônicas, como a menor frequência cardíaca de repouso e em esforços submáximos em indivíduos treinados (Michelini, 2007).

Efeito do treinamento físico no remodelamento cardíaco

Embora diversos estudos nos anos 90 apenas atribuíssem ao treinamento físico apenas benefícios periféricos (Sullivan, Higginbotham et al. 1988; Dubach, Myers et al. 1997). A partir do início do século XXI, foram constatados diversos achados no tocante a melhoria da função cardíaca e a reversão do remodelamento ventricular após programa de exercícios em pacientes com IC (Hambrecht, Gielen et al. 2000; Erbs, Linke et al. 2003; Giannuzzi, Temporelli et al. 2003; Haykowsky, Liang et al. 2007; Delagardelle, Feiereisen

et al. 2008). A fim de explicar a melhoria da função cardíaca após treinamento, foram propostos mecanismos periféricos, como a melhoria da função endotelial, da atividade simpática muscular, da ativação do SRA e da resistência vascular periférica, que reduziriam a demanda energética cardíaca e, conseqüentemente, a dilatação e a disfunção ventricular (Erbs, Hollriegel et al.). Além destes mecanismos sistêmicos, estudos experimentais demonstraram o efeito do treinamento físico nos cardiomiócitos, onde estas repostas crônicas se caracterizaram pela menor atividade do SRA no miocárdio (Pereira, Ferreira et al. 2009), pelo aumento da expressão da enzima superóxido dismutase (Lawler, Kwak et al. 2009) e pela diminuição na liberação de EROs e de citocinas pró-inflamatórias. Na medida em que tanto as EROs quanto as citocinas pró-inflamatórias são cruciais para os efeitos moleculares dos receptores relacionados com o remodelamento ventricular, como o receptor AT_1 , o receptor β -adrenérgico e o receptor α -adrenérgico, é possível que o treinamento iniba o desenvolvimento do fenótipo disfuncional do miocárdio através da redução da ativação das vias de sinalização deste receptores. A respeito do efeito do treinamento físico sobre as cascatas de sinalização pró-hipertróficas, foi demonstrado que o treinamento físico inibe a hiperatividade de transcrição dos fatores NFAT e GATA4, os quais estão mais ativos na IC, através da redução da atividade da calcineurina (Oliveira, Ferreira et al. 2009). Além destes efeitos no remodelamento ventricular, o treinamento físico interfere diretamente nos eventos relacionados com a contração cardíaca, pois esta prática terapêutica induz a maior expressão do SERCA-2 (Medeiros, Rolim et al. 2008), do trocador sódio-cálcio e aumenta a taxa e fosfolambam fosforilada/fosfolambam defosforilada, contribuindo para a reversão das alterações no transiente de cálcio (Rolim, Medeiros et al. 2007).

Diferentes metodologias de treinamento na Insuficiência Cardíaca

Apesar da prática regular de exercícios físicos possuir aspectos profiláticos e terapêuticos na IC, o método de treinamento físico mais adequado para esta disfunção cardiometabólica ainda não foi claramente evidenciado. Tradicionalmente, a metodologia de treinamento contínua é empregada no tratamento dos portadores IC. Este método de exercícios é caracterizado pela manutenção da intensidade de esforço constante durante toda a sessão de treinamento. Entretanto, outras metodologias de treinamento físico, como o treinamento intervalado, vêm sendo crescentemente utilizadas como alternativa terapêutica neste distúrbio cardiometabólico (Wisloff, Stoylen et al. 2007; Nilsson, Westheim et al. 2008; Nilsson, Westheim et al. 2008). O treinamento intervalado é marcado pela alternância

de segmentos de maior e de menor intensidade dentro de um mesmo treino. Este método já proporcionou maiores benefícios no que diz respeito à biogênese mitocondrial (Daussin, Zoll et al. 2008), redução do percentual de gordura e melhoria da sensibilidade insulínica (Tjonna, Lee et al. 2008). Considerando estas adaptações distintas às metodologias de treinamento, é plausível que estes desencadeiem respostas crônicas distintas, uma vez que a intensidade do esforço se correlaciona diretamente com a liberação de EROs e de citocinas pró-inflamatórias e, como discutido anteriormente, estas moléculas apresentam função central nos mecanismos fisiopatológicos associados à cardiopatia dilatada isquêmica, como a disfunção da contratilidade cardíaca e no controle barorreflexo cardíaco.

Em suma, como descrito anteriormente, a IC é uma síndrome clínica complexa caracterizada pela diminuição progressiva da contratilidade cardíaca e pela hiperatividade simpática. O treinamento físico, sobretudo o método contínuo, é utilizado como estratégia terapêutica nesta síndrome para a melhoria da função cardíaca e reversão da disfunção autonômica. A nossa hipótese de estudo é que diferentes metodologias de treinamento físico, embora sejam isocalóricas, possibilitem adaptações distintas na contratilidade cardíaca e no controle barorreflexo cardíaco, uma vez que estas metodologias se distinguem pela exposição a diferentes intensidades do esforço, a qual se correlaciona com a síntese de EROs e citocinas pró-inflamatórias em diversos tecidos, e os mecanismos fisiopatológicos da IC relacionados com a disfunção contrátil do ventrículo esquerdo e com a menor sensibilidade barorreflexa são desencadeados, ao menos em parte, pelo aumento na expressão dos radicais livres e das citocinas pró-inflamatórias.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

A presente dissertação teve como objetivo analisar os efeitos de diferentes metodologias de treinamento físico na função cardíaca e no controle barorreflexo cardíaco na cardiopatia dilatada isquêmica.

2.2 Objetivos Específicos

- 1 - Desenvolver modelo de cardiopatia dilatada isquêmica por meio da ligadura da artéria coronária interventricular.
- 2- Caracterizar este modelo, através de análise ecocardiográfica, pelas alterações nas dimensões ventriculares e pela disfunção ventricular.
- 3- Determinar o efeito da disfunção ventricular de etiologia isquêmica no controle barorreflexo cardíaco.
- 4- Analisar as possíveis correlações entre modificações, geradas pelo treinamento físico, na função cardíaca e no controle barorreflexo cardíaco.

3. METODOLOGIA

3.1 Animais

Neste estudo foram utilizados ratos Wistar-Kyoto machos e com massa corporal entre 250 e 300 g, provenientes do CECAL. Os procedimentos experimentais efetuados nesta dissertação foram aprovados pelo comitê de ética da FIOCRUZ. Os animais foram mantidos em salas aclimatadas (22° C) sob o ciclo de claro/escuro controlado (12/12 horas), ração padrão e água *ad libitum*.

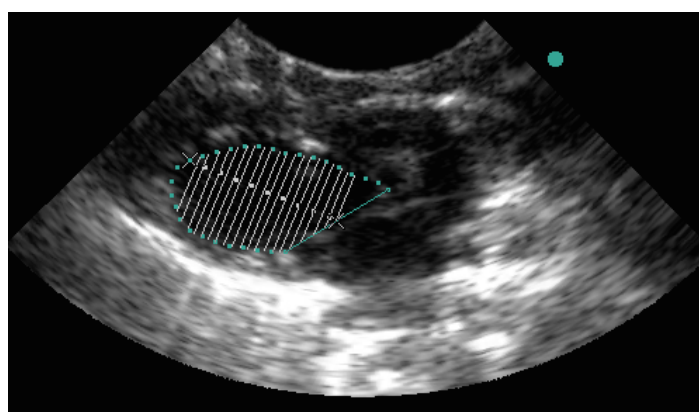
3.2 – Modelos de cardiopatia dilatada isquêmica

Os animais foram anestesiados com solução salina de pentobarbital (50mg/Kg), infundida peritonealmente e posicionados numa mesa cirúrgica móvel (45 graus de inclinação), possibilitando a intubação com cânula de jelco[®] (número 16). Os animais foram acoplados ao sistema de ventilação mecânica (frequência respiratória de 70 respirações/min e volume de 4 mm³/min). Tricotomia, toracotomia esquerda e pericardiotomia foram realizadas, permitindo o acesso ao ventrículo esquerdo. Posteriormente, a aurícula esquerda foi levemente tracionada e a artéria coronária interventricular foi obstruída em sua porção mais proximal com fio cirúrgico de polipropileno 6.0. Após a realização da ligadura, o tórax foi suturado com fio cirúrgico (Catgut 3.0) e, precedendo a conclusão deste procedimento, um tubo conector acoplado a uma seringa (volume de 10 ml) foi introduzido no tórax dos animais, possibilitando a drenagem do tórax dos animais. Finalmente, a pele dos animais foi suturada com fio de sutura (Nylon 3.0). Após um período mínimo de 15 minutos do final do procedimento cirúrgico, os animais foram desconectados do sistema de ventilação mecânica. No período pós-cirúrgico, foram administrados, subcutaneamente, penicilina (50.000 UI/Kg) e cetoprofeno (1mg/Kg), sendo que este ainda foi infundido nos 3 dias consecutivos à cirurgia. Os animais do grupo Sham-Sed foram submetidos ao procedimento cirúrgico semelhante aos animais dos grupos IC, contudo a ligadura da artéria interventricular não foi efetuada.

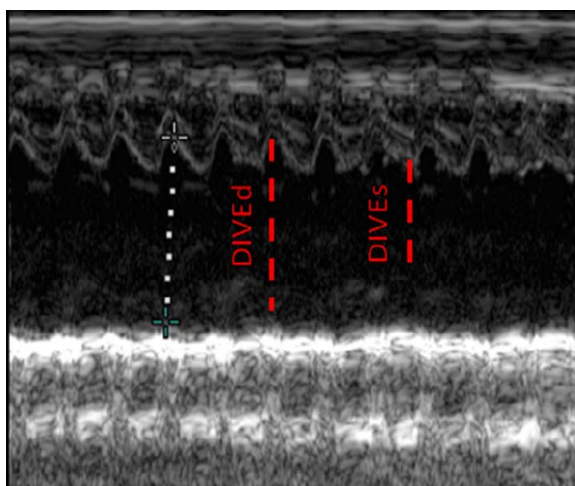
3.3 – Análise ecocardiográfica

Os animais foram anestesiados com citrato de fentanila (0,05 mg/Kg) e solução salina de pentobarbital (30 mg/Kg) e mantidos em decúbito ventral. Neste exame, utilizamos

o transdutor associado ao sistema de análise digital de imagem (Titan 2000). As variáveis analisadas foram fração de ejeção e diâmetros ventriculares e atriais, sendo que aquela foi determinada pelo Método de Simpson e estes pelo Módulo M. O método de Simpson consiste na análise tridimensional das variáveis, enquanto o módulo M é caracterizado pela análise bidimensional das variáveis. Somente foram considerados para o grupo IC, aqueles animais que apresentaram uma fração de ejeção inferior a 45 %, caracterizando a disfunção ventricular.



A



B

Figura 01 – Vista da análise da ecocardiográfica no método de Simpson (A) e no módulo M (B).

3.4 – Teste de esforço Máximo

Os animais foram submetidos ao teste de esforço máximo em esteira rolante no início, na quarta semana e ao final do treinamento físico ou do período de sedentarismo. O teste de esforço máximo foi caracterizado por uma velocidade inicial de 10 m/min com aumentos de 3 m/min a cada período de 2 minutos. O exame foi interrompido na medida em que os animais não prosseguiram o deslocamento após um período de 5 segundos de estimulação.

3.5 – Metodologias de Treinamento Físico

O treinamento físico apresentou uma duração de 8 semanas com frequência semanal de 3 sessões, onde cada sessão teve a duração de 30 minutos. O método de treinamento físico contínuo (IC Cont; n=10) foi caracterizado pela manutenção de 70% da velocidade máxima obtida no teste de esforço máximo durante toda a sessão de treino. Já a metodologia de treinamento intervalado aeróbio (IC IAer; n=9) consistiu na alternância de segmentos de 5 minutos a 60% e 80% da velocidade máxima obtida no teste de esforço máximo. Enquanto o método de treinamento intervalado anaeróbio (IC IAAna; n=8) foi marcado pela alternância de períodos de 1 minuto a 50% e 90% da velocidade máxima obtida no teste de esforço máximo. Todas as metodologias apresentavam o mesmo trabalho total realizado em cada sessão. As cargas do treinamento físico foram recalculadas após a realização do segundo teste de esforço máximo na esteira em todos os grupos.

3.6 – Análise do controle barorreflexo cardíaco

Neste procedimento, animais foram anestesiados com infusão intraperitoneal de solução salina de uretano (1,5 mg/Kg). Então, a artéria carótida esquerda e a veia jugular direita foram cateterizadas com tubo de polietileno PE50 e PE10, respectivamente. O cateter arterial foi acoplado ao sistema de aquisição de sinal digital (BIOPAC1500), permitindo a medida da pressão arterial e da frequência cardíaca. A partir da medida da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca, obtivemos, o duplo produto pela fórmula: $PAS \times FC/1000$. Para análise dos resultados, utilizamos o software AcqKwnologde 3.73.

Através do cateter venoso, foram administradas doses crescentes de nitroprussiato de sódio (0,25; 0,5; 1 e 2 μ g) e fenilefrina (0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 μ g). Entre as doses de nitroprussiato de sódio e fenilefrina foi infundida uma dose de solução salina. Todas as

infusões possuíam um volume de 0,2 ml. O índice de sensibilidade barorreflexa foi obtido a partir da razão entre a variação da frequência cardíaca e a variação da pressão arterial sistólica antes e após cada infusão. Então, efetuamos a média aritmética entre as infusões e consideramos este valor o índice de sensibilidade barorreflexa. Após a última dose de fenilefrina, os animais foram eutanasiados com uma superdose intravenosa de pentobarbital (100mg/kg).

3.7 – Desenho Experimental

A seqüência dos procedimentos realizados nesta dissertação é ilustrada na figura 02. Os animais foram alocados em dois grupos (IC e *sham*). O grupo IC foi subdividido em: treinamento físico contínuo (IC Cont), treinamento físico intervalado aeróbio (IC IAer), treinamento físico intervalado anaeróbio (IC IAna) e sedentário (IC Sed). Os animais *sham* foram mantidos sedentários (Sham Sed).

Inicialmente os animais foram submetidos à cirurgia de indução à cardiopatia dilatada isquêmica através da ligadura da artéria coronariana interventricular. Após seis semanas da primeira cirurgia, foi efetuada avaliação ecocardiográfica a fim de diagnosticar a disfunção ventricular, uma vez que somente incluímos no estudo aqueles animais infartados com fração de ejeção < 45%. Além disso, analisamos a integridade da função ventricular dos animais pertencentes ao grupo controle, já que estes animais foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico dos animais dos grupos IC, entretanto a oclusão da artéria interventricular não foi realizada. Então, os animais iniciaram os diferentes protocolos de treinamento físico ou foram mantidos sedentários. Após o período de treinamento físico (8 semanas), os animais foram novamente submetidos ao ecocardiograma e, no dia posterior a este exame, foi realizada análise do controle barorreflexo cardíaco e a extração dos diferentes tecidos.

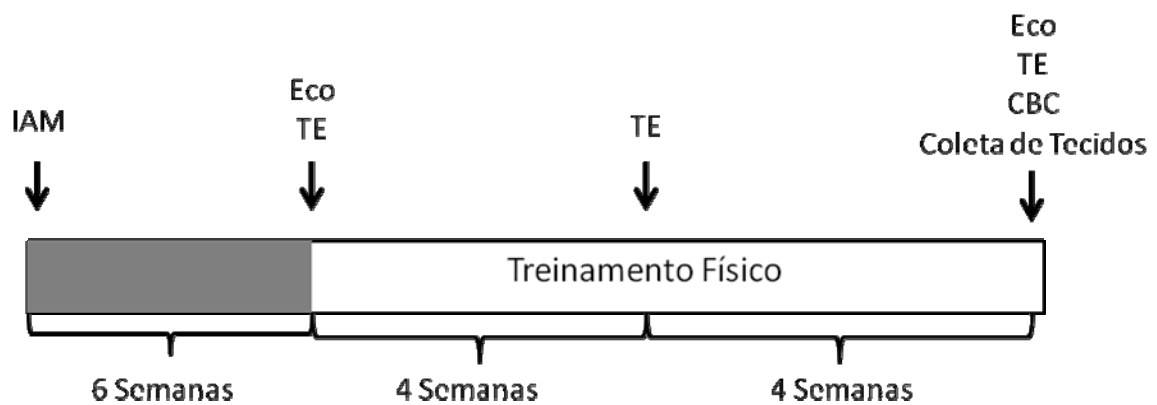


Figura 02 – Desenho Experimental: Esquema representativo da sequência de experimentos realizados na presente dissertação

IAM – Cirurgia de indução à cardiopatia dilatada isquêmica

Eco – Análise ecocardiográfica

TE – Teste de esforço máximo

CBC – Controle barorreflexo cardiaco

3.8 – Drogas

Pentobarbital (Sigma Chemical Co, EUA)

Cetoprofeno[®] e Benzetacil[®] (Eurofarma, Brasil)

Nitroprussiato de sódio (Nitropress[®], Brasil)

Fenilefrina (Dynacren, Itália)

3.9 – Análise estatística

A análise estatística foi realizada no software Graphiicpad Prism 4.0. Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão da média e analisados utilizando o teste ANOVA One-way seguido do pós-teste de Bonferroni. Para a análise das correlações entre as variáveis, utilizamos o teste de person. Apenas foram considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1- Padronização do modelo de cardiopatia dilatada isquêmica

Neste trabalho foram realizadas 102 cirurgias de indução à cardiopatia dilatada isquêmica, onde 9 foram procedimentos *sham* e 93 consistiram na oclusão da artéria interventricular, dos quais 6 morreram entre a indução da IC e a primeira análise ecocardiográfica. Dentre os procedimentos cirúrgicos onde foi efetuada a ligadura, 12 não apresentaram fração de ejeção < 45%, logo não foram incluídos no estudo. Daqueles 75 animais que apresentaram fração de ejeção <45%, 5 vieram a óbito imediatamente após a primeira avaliação ecocardiográfica, 11 durante o treinamento intervalado anaeróbio, 7 durante a metodologia contínua e 4 no método intervalado moderado. Vale ressaltar que 14 animais morreram no período em que foram mantidos sedentários. Desta forma, foram analisados 34 animais com fração de ejeção <45%, caracterizando a disfunção ventricular.

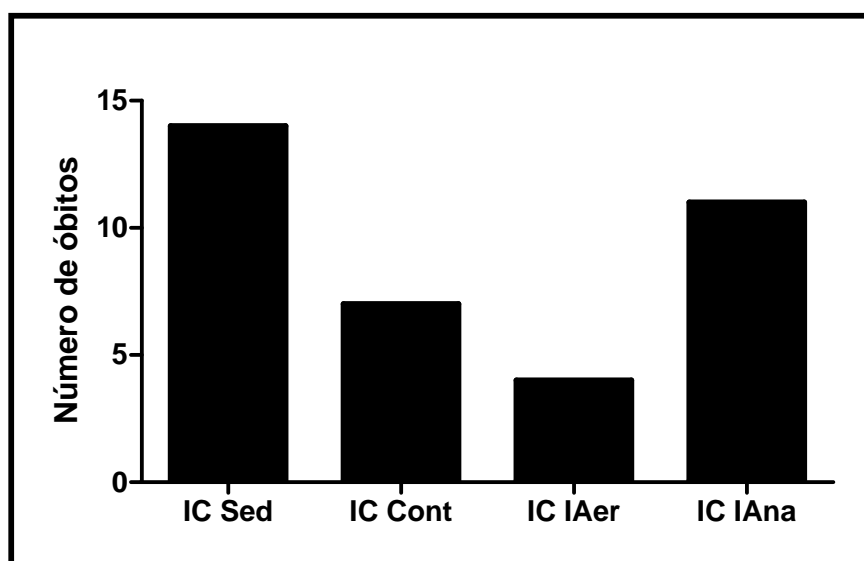


Figura 03 – Número de óbitos durante os diferentes protocolos de treinamento físico ou o período de sedentarismo

Daqueles 75 animais que apresentaram fração de ejeção <45% na primeira análise ecocardiográfica, um total de 36 animais vieram a óbito durante as metodologias de treinamento físico ou no período de sedentarismo.

4.2 – Efeito do treinamento físico na capacidade física máxima

Os animais submetidos à ligadura da artéria coronária interventricular anterior, com

fração de ejeção <45%, apresentaram uma menor capacidade física em relação aos animais *sham*. Todas as diferentes metodologias de treinamento físico promoveram aumento significativo da performance física, após 4 semanas de treinamento. Esta adaptação se manteve após 8 semanas de treinamento. Os animais sedentários, independente da condição experimental, demonstraram uma redução da duração do teste de esforço. Vale ainda ressaltar que, após 4 e 8 semanas, os animais infartados treinados apresentaram valores maiores do que os animais *sham* (figura 04).

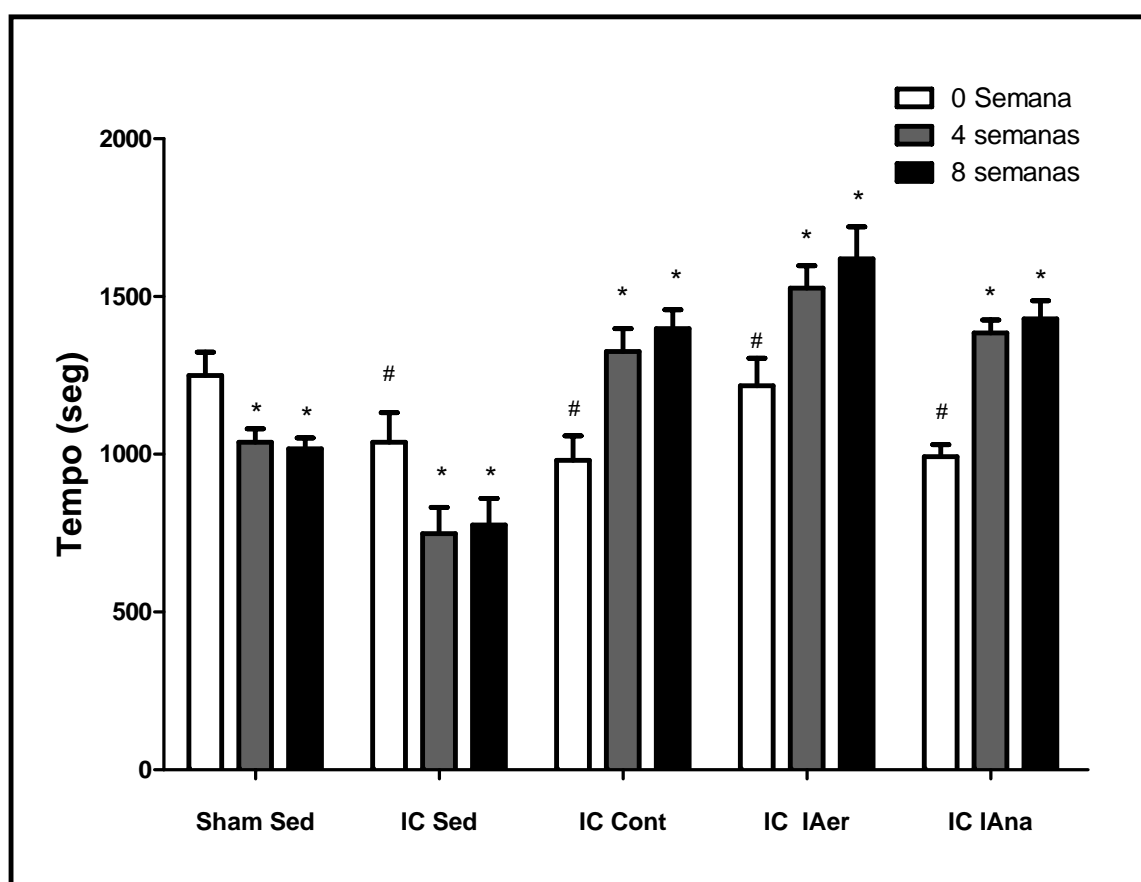


Figura 04 – Efeito das diferentes metodologias de treinamento físico na capacidade física máxima após 4 e 8 semanas de treinamento em animais com fração de ejeção <45% e *sham*.

* - $p < 0,001$ vs valores basais intra-grupo

- $p < 0,05$ vs Sham Sed.

(ANOVA one-way seguido do pós-teste de Bonferroni)

4.3- Efeito do treinamento físico no remodelamento cardíaco

Na figura 05, demonstramos que apenas as metodologias de treinamento físico contínua ($28,48 \pm 5,74\%$ vs $39,21 \pm 11,62\%$) e intervalada aeróbia proporcionaram um aumento significativo da fração de ejeção ($31,03 \pm 8,25\%$ vs $42 \pm 9,71\%$). Enquanto, os animais sedentários ($33,26 \pm 5,79\%$ vs $27,37 \pm 8,23\%$) e aqueles submetidos ao treinamento intervalado anaeróbio ($27,56 \pm 7,7\%$ vs $28,04 \pm 9,24\%$) não apresentaram modificação significativa.

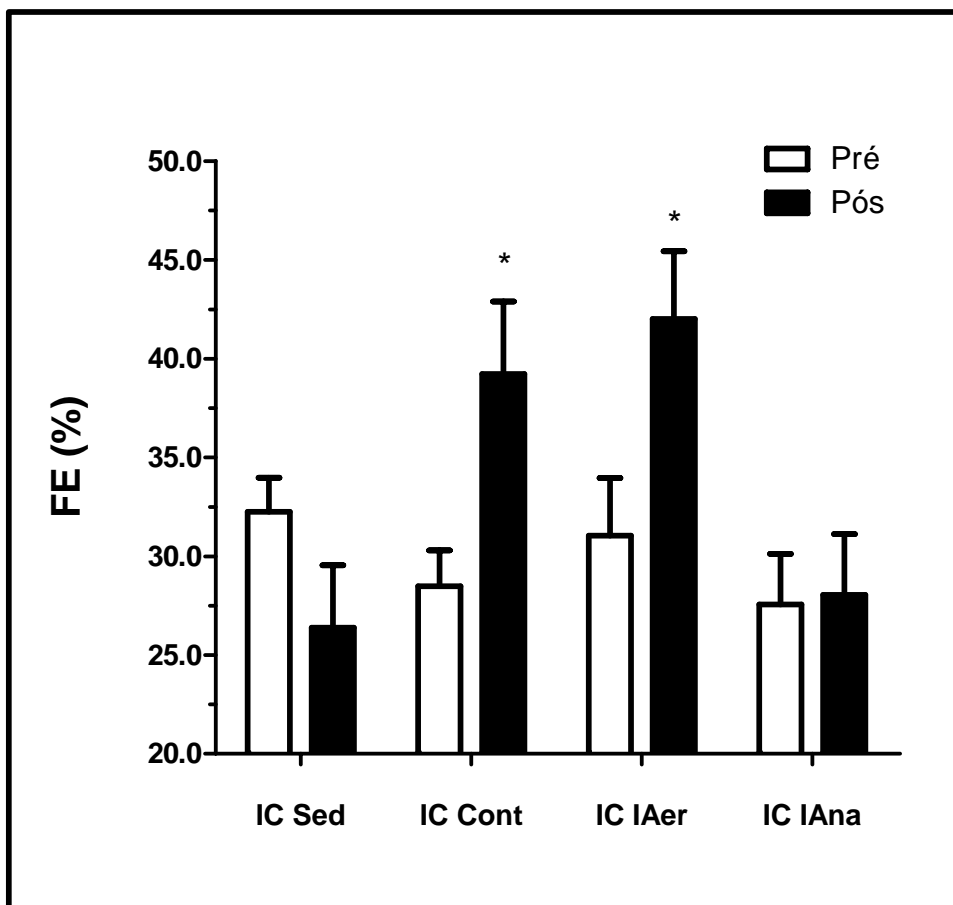


Figura 05 – Efeito das diferentes metodologias de treinamento físico na fração de ejeção após 8 semanas de treinamento físico. FE (%) – Fração de ejeção.

* - $p < 0,01$ vs valores pré, intragrupos.

(ANOVA One-way seguido do pós-teste de Bonferroni).

Em relação aos diâmetros internos, todos os métodos de treinamento físico inibiram o aumento do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole observado nos animais sedentários ($0,85 \pm 0,11$ cm vs $1 \pm 0,11$ cm, ver figura 06). Por outro lado, não foram observadas alterações significativas, em nenhum dos grupos experimentais, no diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole, na relação átrio esquerdo/aorta, na espessura da parede anterior e da parede posterior, seja em diástole ou em sístole (Tabela 01).

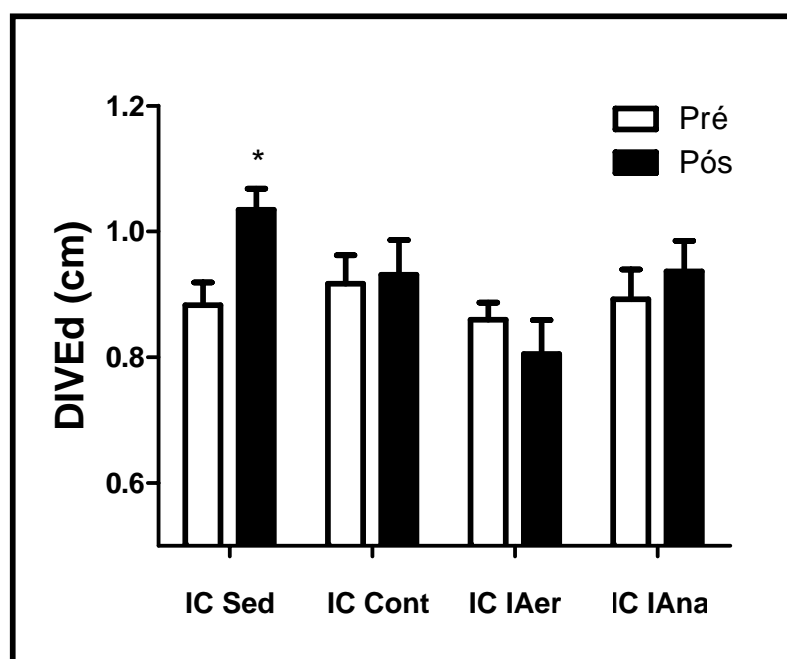


Figura 06 – Efeito das diferentes metodologias de treinamento físico no diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole, após 8 semanas, nos animais com fração de ejeção <45%.

* - $p < 0,01$ vs valores pré, intragrupo.

(ANOVA One-way seguido do pós-teste de Bonferroni).

TABELA 1 - Dados ecocardiográficos

		IC Sed	IC Cont	IC IAer	IC IAa
DIVEs	Pré	0,65±0,10	0,68±0,10	0,67±0,10	0,67±0,10
	Pós	0,83±0,11	0,71± 0,17	0,61 ±0,17	0,75± 0,13
Ae/Ao	Pré	1,58±0,43	1,72±0,40	1,21±0,22	1,72±0,34
	Pós	1,63±0,56	1,66±0,40	1,43±0,43	1,64±0,51
Esp PAd	Pré	0,14±0,02	0,13±0,02	0,13±0,03	0,13±0,02
	Pós	0,13±0,04	0,15±0,01	0,14±0,03	0,14±0,02
Esp PPd	Pré	0,15± 0,03	0,13± 0,03	0,14± 0,03	0,11± 0,03
	Pós	0,12±0,04	0,14±0,04	0,16±0,06	0,13±0,03
Esp PAs	Pré	0,22± 0,03	0,2± 0,03	0,2± 0,03	0,19± 0,03
	Pós	0,18± 0,04	0,21±0,03	0,21±0,03	0,19±0,01
Esp PPs	Pré	0,18± 0,03	0,17± 0,04	0,18± 0,04	0,17± 0,04
	Pós	0,17± 0,04	0,18± 0,05	0,22± 0,09	0,18± 0,05

Tabela 01 – Efeito de diferentes metodologias de treinamento físico nos diferentes parâmetros ecocardiográficos, após 8 semanas, nos animais com fração de ejeção <45%.

DIVEs – diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole; Ae/Ao – relação átrio esquerdo/aorta; Esp PAs – espessamento da parede anterior em sístole; Esp PAd – espessamento da parede anterior em diástole; Esp PPs – espessamento da parede posterior em sístole; Esp PPd – espessamento da parede anterior em diástole.

4.3- Efeito do treinamento físico nas variáveis hemodinâmicas nos animais anestesiados

Na tabela 02, são apresentados os valores da pressão arterial sistólica, média, diastólica, frequência cardíaca e duplo produto nos animais anestesiados. Constatamos que o IC Sed e o IC IAer apresentavam pressão arterial média, pressão arterial diastólica e frequência cardíaca significativamente maiores do que os demais grupos. Por outro lado,

apenas o IC Cont demonstrou um duplo-produto significativamente menor que os outros grupos.

TABELA 2 - Dados hemodinâmicos

	Sham Sed	IC Sed	IC Cont	IC IAer	IC IAAna
PAS	110,3 ±5,5	107,8 ±9,7	102,7 ±15,2	116,6 ±16,3	103,2 ±10,2
PAM	89,7 ±3,9	93,3 ±11,1*	88,9 ±3,8	103,6 ±15,2*	90,1 ±9,6
PAD	74,7 ±2,7	85,0 ±8,6*	77,69 ±12,5	91,62 ±14,6*	78,4 ±10,4
FC	352,7 ±9,5	373,6 ±26,5*	350,1 ±28,0	397,5 ±39,5*	352,8 ±4,0
DP	43,1 ±35,9	40,9 ±64,2	36,1 ±6,9 [#]	48,1 ±8,9	36,6 ±7,1

Tabela 02 – Efeito de diferentes metodologias de treinamento físico nas variáveis hemodinâmicas, após 8 semanas, nos animais anestesiados com uretano (1,5mg/Kg).

PAS – pressão arterial sistólica; PAM – pressão arterial média; PAD- pressão arterial diastólica; FC – frequência cardíaca; DP – duplo produto

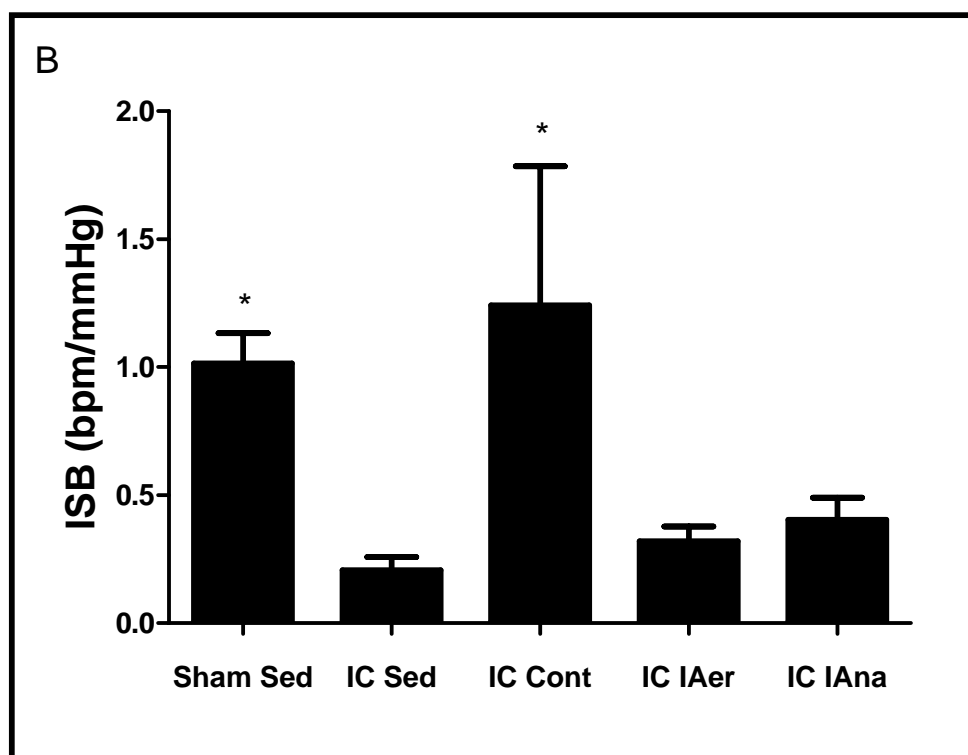
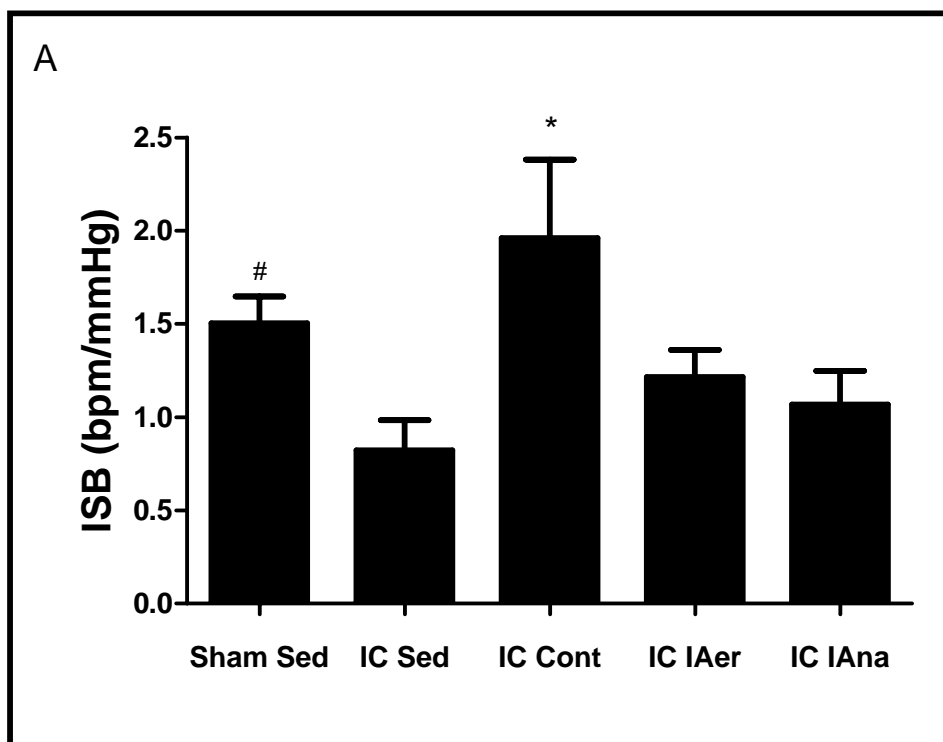
* p<0,05 vs IC Cont; IC IAAna; Sham Sed

p<0,05 vs IC IAAna; IC IAer; IC Sed; Sham Sed.

4.4 – Efeito do treinamento físico no controle barorreflexo cardíaco

Conforme apresentado na figura 7A, apenas o IC Cont foi capaz de normalizar o controle barorreflexo cardíaco, pois não identificamos diferença estatisticamente significativa entre o IC Cont e Sham Sed (1,96±1,1 bpm/mmHg vs 1,5±0,4 bpm/mmHg). Além disso, o IC Cont foi o único método de treinamento que apresentou um índice de sensibilidade barorreflexa estatisticamente maior do que o IC Sed (1,96±1,1 bpm/mmHg vs 0,82±0,43 bpm/mmHg). Esta adaptação diferenciada ao treinamento contínuo foi gerada pela maior elevação da frequência cardíaca frente ao estímulo com nitroprussiato de sódio (figura 7B). Já que a resposta bradicárdica desencadeada pela administração de fenilefrina

foi semelhante entre os grupos treinados e o Sham Sed, onde estes apresentaram maiores índices de sensibilidade barorreflexa do que o IC Sed (figura 7C).



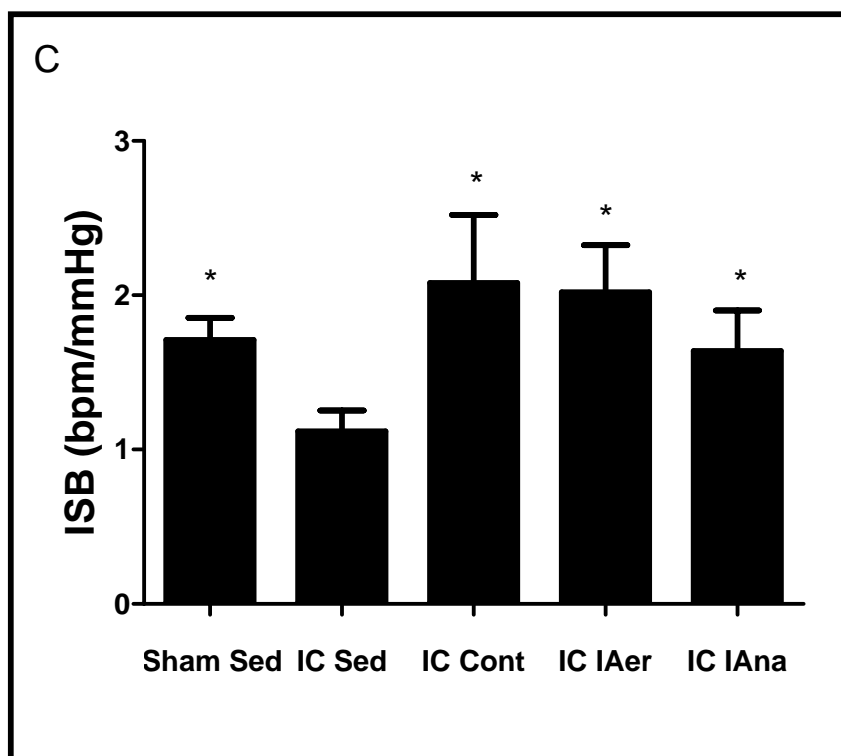


Figura 07 – Efeito das diferentes metodologias de treinamento físico no controle barorreflexo cardíaco em animais anestesiados com uretano (1,5 mg/Kg).

A) Índice de sensibilidade barorreflexa médio entre os estímulos bradicárdicos e taquicárdicos; * - $p < 0,001$ vs IC sed , # - $p < 0,05$ vs IC Sed. B) Índice de sensibilidade barorreflexa em resposta ao estímulo taquicárdico; * - $p < 0,05$ vs IC Sed, IC IAna, IC IAer. C) Índice de sensibilidade barorreflexa em resposta ao estímulo bradicárdico; * - $p < 0,05$ vs IC Sed.

ISB – índice de sensibilidade barorreflexa.

4.5 – Correlações entre as variáveis analisadas

Constatamos uma correlação diretamente proporcional entre as modificações na fração de ejeção e na capacidade física máxima após 8 semanas de treinamento físico ($p = 0,03$, $r = 0,12$, Figura 08).

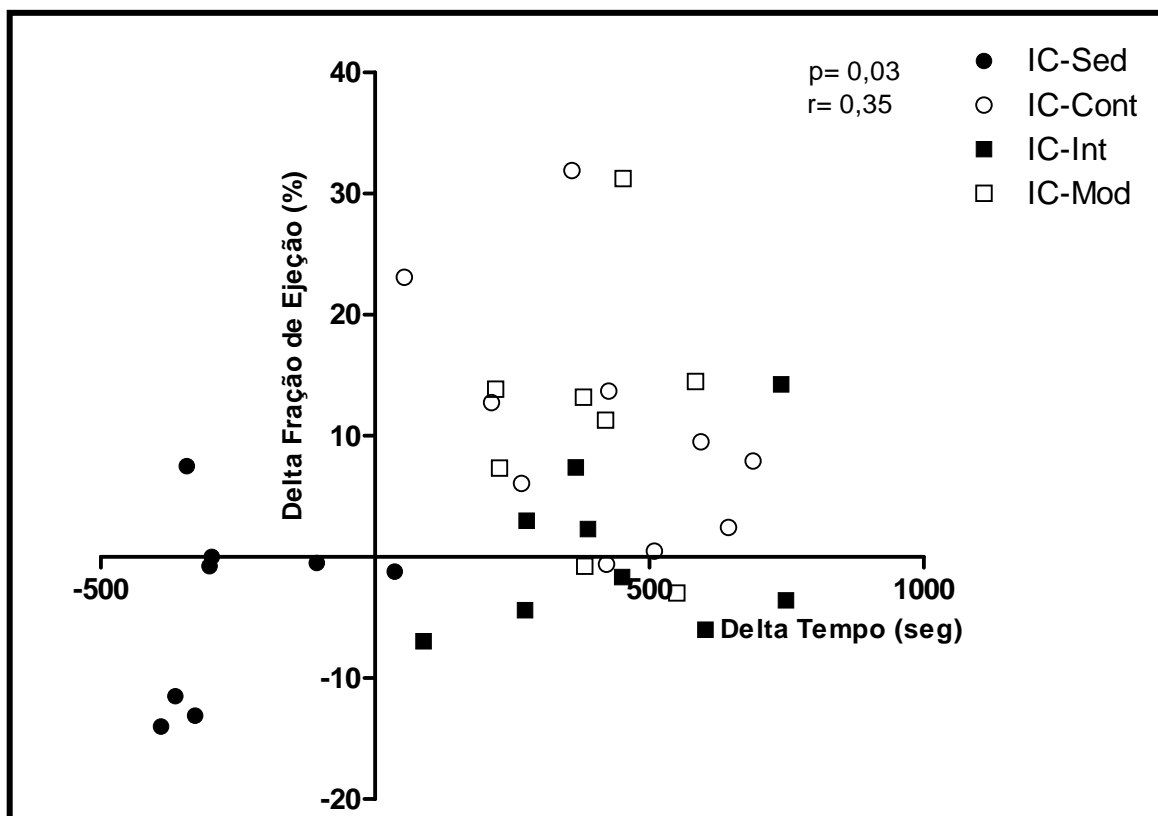


Figura 08 – Correlação entre as alterações na fração de ejeção e na duração do teste de esforço máximo.

Não observamos correlação significativa entre o índice de sensibilidade barorreflexa e as alterações na duração do teste de esforço máximo. Contudo, quando excluimos os grupos IC-Aer e IC IAAna, os quais não demonstraram maior controle barorreflexo cardíaco do que o IC Sed, identificamos correlação diretamente proporcional ($p=0,02$, $r=0,20$, figura 09). Adicionalmente, evidenciamos correlação diretamente proporcional entre o índice de sensibilidade barorreflexa e a variação da fração de ejeção após 8 semanas de treinamento ($p<0,01$, $r=0,22$, figura 10).

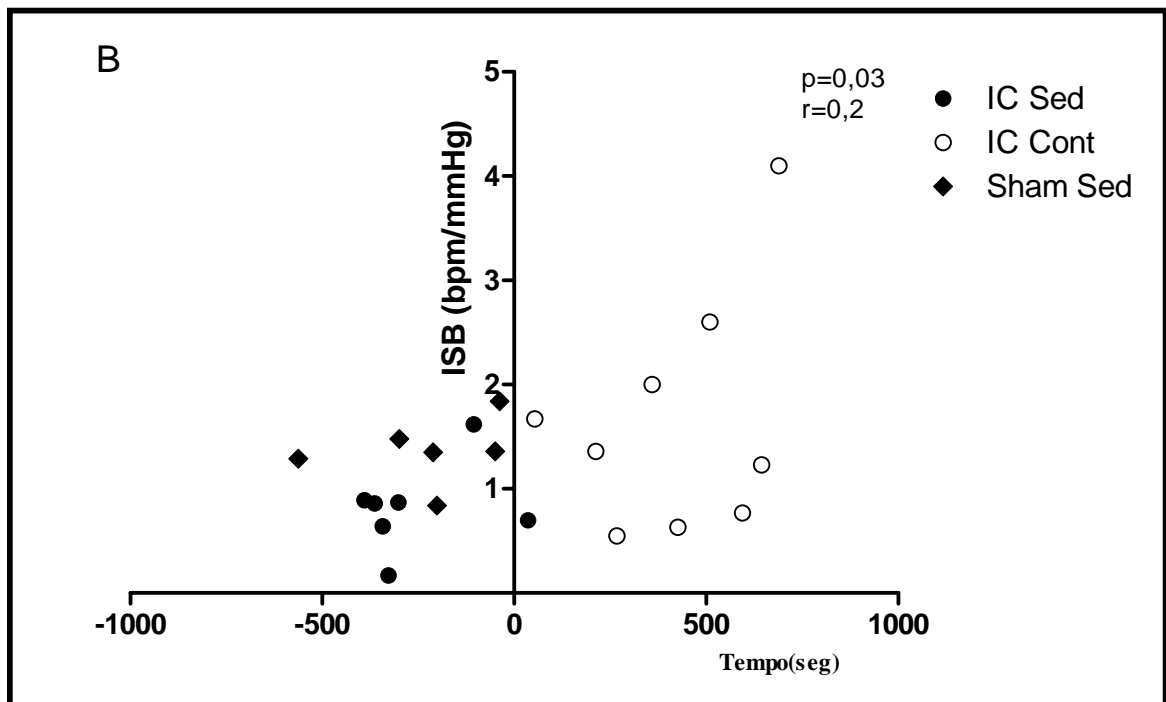
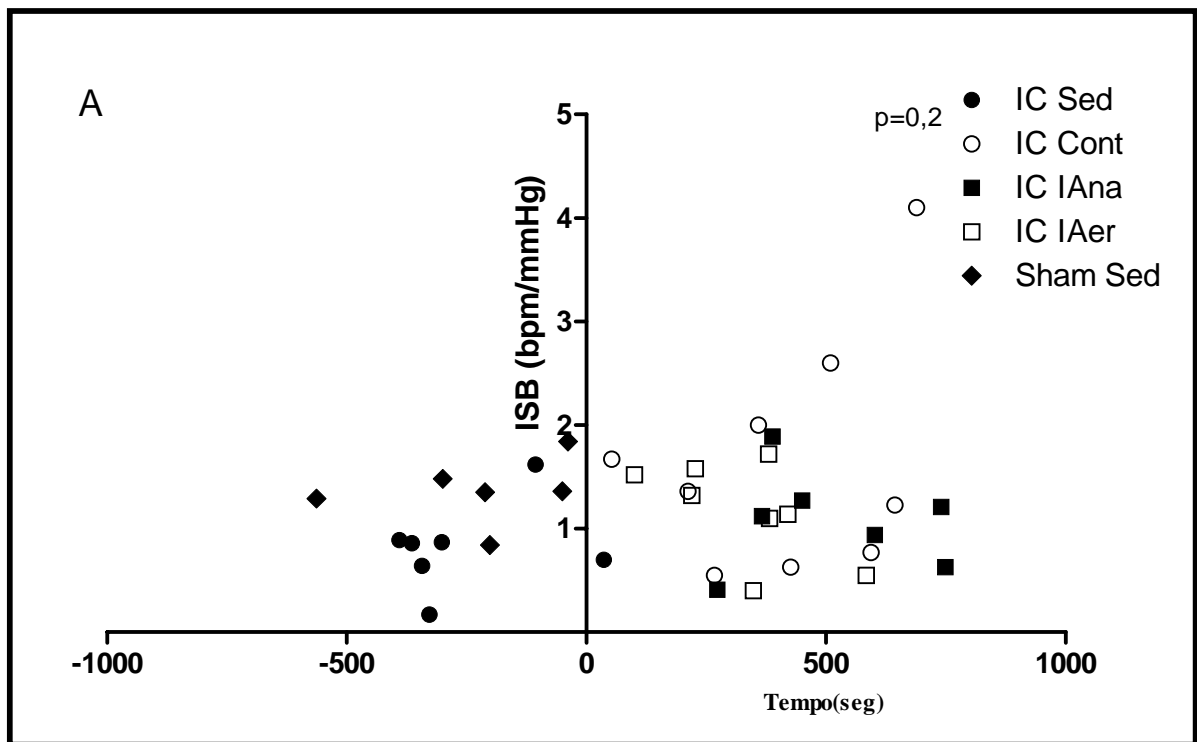


Figura 09 – Correlação entre a modificação da duração do teste de esforço máximo e o índice de sensibilidade barorreflexa. A) Análise incluindo os grupos IC IAer e IC IAAna. B) Análise excluindo os grupos IC IAer e IC IAAna. ISB (bpm/mmHg) – índice de sensibilidade barorreflexa

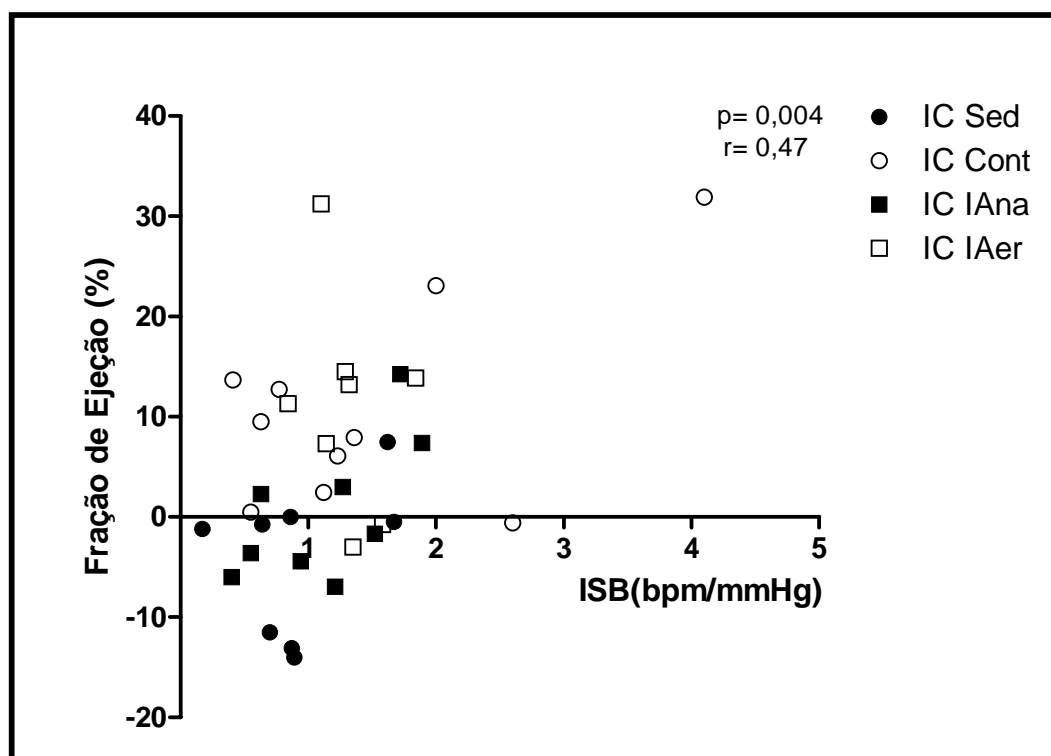


Figura 10 – Correlação entre o índice de sensibilidade barorreflexo e a alteração na duração do teste de esforço máximo.

ISB (bpm/mmHg) – índice de sensibilidade barorreflexa

5. DISCUSSÃO

Os principais resultados desta dissertação foram:

- 1) O modelo de cardiopatia dilatada isquêmica proporciona uma menor capacidade física máxima determinada pelo teste de esforço máximo. Este efeito foi normalizado pelos diferentes métodos de treinamento físico.
- 2) Apenas as metodologias de treinamento contínua e intervalada aeróbia produziram um aumento na fração de ejeção no modelo de cardiopatia dilatada isquêmica, onde a melhora da função ventricular proporcionada pelo treinamento físico se correlacionou com as alterações na capacidade física. Outro efeito do treinamento físico no remodelamento cardíaco foi a inibição do aumento do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole, observado nos animais com fração de ejeção <45% e sedentários, desencadeada por todas as metodologias de treinamento. Além disso, somente o método de treinamento físico contínuo apresentou um menor duplo produto no repouso.
- 3) A normalização do controle barorreflexo cardíaco foi um efeito exclusivo da metodologia de treinamento físico contínua, sendo que esta adaptação pode ser justificada pela melhor sensibilidade ao estímulo taquicárdico gerado pela administração de nitroprussiato de sódio. O índice do controle barorreflexo cardíaco se correlacionou com as modificações na performance física máxima, quando foram considerados apenas os animais sedentários e submetidos ao treinamento contínuo. Este indicador de regulação autonômica ainda se correlacionou com as alterações na fração de ejeção.

A redução da capacidade funcional é uma das principais manifestações clínicas observadas na IC. Diversos estudos constataram a reversão da incapacidade física após protocolo de exercícios físicos na IC. A elevação da performance física, evidenciada pelo aumento no consumo de oxigênio e na duração de provas de esforço máximo, pode ser explicada, principalmente, por adaptações periféricas, como a melhoria da capacidade oxidativa e da função endotelial, além da diminuição da descarga simpática periférica e da ativação do SRA (Kiilavuori, Naveri et al. 1999; Kiilavuori, Naveri et al. 2000; Dimopoulos, Anastasiou-Nana et al. 2006; Maria Sarullo, Gristina et al. 2006; Vasiliauskas, Kavoliuniene et al. 2006; Fraga, Franco et al. 2007; Smart, Haluska et al. 2007; Passino, Del Ry et al. 2008; Ueno, Drager et al. 2009). Cabe ainda ressaltar que o consumo máximo de oxigênio possui importância prognóstica na IC. Portanto, o treinamento físico reduz a taxa de morbi-

mortalidade na IC (Davies, Moxham et al.; Belardinelli, Georgiou et al. 1999; Piepoli, Davos et al. 2004; Tabet, Meurin et al. 2008).

Nossos resultados demonstraram que todos os métodos de treinamento físico desencadearam um aumento significativo na duração do teste de esforço máximo. Embora alguns estudos tenham constatado maior eficiência do treinamento intervalado aeróbico no aumento da capacidade física na síndrome metabólica (Tjonna, Lee et al. 2008; Haram, Kemi et al. 2009) e na coronariopatia (Wisloff, Stoylen et al. 2007; Moholdt, Amundsen et al. 2009), outros autores evidenciaram efeitos similares de diversas metodologias de treinamento desde que estes métodos apresentassem características semelhantes no que diz respeito a duração e ao trabalho realizado nas sessões de treinamento (Dimopoulos, Anastasiou-Nana et al. 2006; Wang, Psilander et al. 2009).

Além das respostas crônicas periféricas promovidas pelo treinamento físico, esta terapia não-farmacológica apresenta efeitos diretos no remodelamento cardíaco. Dentre estas adaptações estão: a redução da dilatação ventricular, avaliada pelo volume diastólico final do ventrículo esquerdo, o aumento da fração de ejeção e da captação de cálcio citosólico (Erbs, Hollriegel et al.; Giannuzzi, Temporelli et al. 2003; Vasiliauskas, Kavoliuniene et al. 2006; Haykowsky, Liang et al. 2007; Rolim, Medeiros et al. 2007; Smart, Haluska et al. 2007; Medeiros, Rolim et al. 2008). No presente estudo, observamos que apenas os métodos contínuo e intervalado aeróbio produziram um aumento na fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Por outro lado, todas as metodologias de treinamento inibiram o aumento do diâmetro interno do ventrículo esquerdo observado nos animais com fração de ejeção <45% e sedentários. Desta forma, podemos sugerir que todos os métodos analisados tenham impedido a progressão da dilatação ventricular, mas somente os treinamentos contínuo e intervalado aeróbio apresentaram efeitos benéficos sobre a contratilidade do ventrículo esquerdo.

Os possíveis mecanismos moleculares que justificam esta adaptação ao treinamento contínuo e ao intervalado aeróbio envolvem a alteração na disfunção do metabolismo do cálcio observado nos cardiomiócitos na IC. Neste sentido, alguns estudos observaram maior expressão gênica e protéica do SERCA-2, da concentração de fosfolambam defosforilada e razão SERCA-2/fosfolambam fosforilada em animais treinados. Estes resultados indicam uma melhoria na capacidade de reabsorção de cálcio na diástole pela SERCA-2, devido à menor repressão pela fosfolambam na sua condição fosforilada (Rolim, Medeiros et al. 2007; Kemi, Ceci et al. 2008; Medeiros, Rolim et al. 2008). Outra via de sinalização celular

relacionada com o remodelamento cardíaco é a cascata da cálcio-calmodulina quinase/calcineurina/NFAT, uma vez que foi observado, em modelo experimental de cardiopatia dilatada hipertrófica, que os ratos treinados apresentavam uma menor concentração protéica de calcineurina B, GATA-4 e NFAT no núcleo dos cardiomiócitos (Oliveira, Ferreira et al. 2009).

Adicionalmente aos efeitos diretos do treinamento físico no miocárdio, as adaptações periféricas, como redução da descarga simpática periférica, da ativação do SRA e melhoria da função endotelial, também favorecem o aumento da contratilidade cardíaca, pois estas adaptações reduzem a demanda metabólica do miocárdio através da redução da pós-carga mediada pela diminuição da resistência vascular periférica (Erbs, Hollriegel et al.; Crimi, Ignarro et al. 2009).

As respostas crônicas ao treinamento físico, sejam estas periféricas ou centrais, se caracterizam pela modificação do estado redox, onde observa-se uma redução da síntese de EROs e um aumento na expressão de enzimas antioxidantes. Somando-se aos efeitos do treinamento físico, as vias de sinalização, no tecido cardíaco e cerebral, desencadeadas pelos receptores acoplados à proteína G, como o receptor AT₁ e o β-adrenérgico, os quais estão hiperativados na IC, também envolvem as EROs. Desta forma, efeitos divergentes das metodologias de treinamento na condição pró-oxidante podem justificar o aumento da função cardíaca apenas no treinamento contínuo e no intervalado moderado. Corroborando esta hipótese, alguns estudos identificaram uma relação direta entre a intensidade do esforço e o dano oxidativo em atletas (Munoz Marin, Olcina et al.; Sureda, Ferrer et al. 2009) e em indivíduos sedentários (Quindry, Stone et al. 2003). Portanto, é plausível inferir que os métodos contínuo e intervalado aeróbioproduziram uma adaptação mais importante no que diz respeito à condição pró-oxidante, a qual se repercutiu diretamente ou indiretamente no aumento da contratilidade cardíaca.

No que diz respeito à comparação dos efeitos de diferentes metodologias de treinamento no remodelamento cardíaco, Wisloff e colaboradores (2007) identificaram aumento significativo da fração de ejeção e diminuição dos volumes finais diastólico e sistólico apenas nos pacientes com IC submetidos ao treinamento intervalado moderado. Aparentemente, estes achados divergentes dos evidenciados no presente estudo, porém uma análise mais aprofundada dos métodos de treinamento empregados por Wisloff e colaboradores (2007) revela semelhanças entre nossos resultados, pois a metodologia intervalada aeróbia utilizada no referido estudo se caracterizava pela alternância de

intervalos de 4 minutos com intensidade entre 85-90% do consumo máximo de oxigênio. Já o método intervalado moderado, utilizado no presente estudo, intercalava segmentos de 5 minutos de 80% e 60% da velocidade máxima obtida no teste de esforço. Desta forma, podemos sugerir que a duração do período no método intervalado parece ser uma variável crucial para os benefícios do treinamento, uma vez que a metodologia intervalada intensa, com segmentos de um minuto com intensidade de 90 e 50% da VM não provocou efeito significativo na fração de ejeção. Outro aspecto metodológico importante do estudo de Wisloff e colaboradores (2007) é o fato de que, embora equivalentes no gasto calórico entre as metodologias de treinamento físico, os métodos de treinamento apresentaram durações distintas. Além disso, os autores deste estudo não evidenciaram o tipo de betabloqueadores utilizados pelo pacientes e estes podem produzir efeitos distintos no remodelamento cardíaco. Também podemos sugerir uma possível interação dos fármacos com as metodologias de treinamento físico, já que na presente dissertação não empregamos nenhuma intervenção farmacológica.

Apesar da impossibilidade de se estabelecer uma relação de causa e efeito entre as variáveis, é razoável ao menos sugerir um sinergismo entre elas. No que diz respeito à correlação entre as alterações na capacidade física máxima e na fração de ejeção, embora diversos estudos (Carell, Murali et al. 1994; Gulec, Ertas et al. 1998; Lapu-Bula, Robert et al. 1999) não tenham associado o consumo máximo de oxigênio à função cardíaca, identificamos uma correlação diretamente proporcional. Cabe ressaltar que estes estudos foram realizados na década passada, onde os efeitos do treinamento físico no remodelamento cardíaco não haviam sido claramente identificados. A correlação entre as modificações na capacidade física máxima e na fração de ejeção promovidas pelo treinamento físico pode ser explicada pelo fato das mesmas respostas crônicas periféricas e centrais viabilizarem o aumento da capacidade física e da função cardíaca.

Outra adaptação distinta promovida pelas diferentes metodologias de treinamento está relacionada com a demanda metabólica cardíaca em repouso, pois constatamos que os animais com fração de ejeção <45% submetidos ao treinamento contínuo, ao final do protocolo de exercícios, apresentaram um valor de duplo-produto significativamente menor do que os demais grupos. Esta adaptação exclusiva do treinamento contínuo pode estar relacionada com a redução da atividade do SRA e do sistema nervoso simpático, uma vez que a manutenção de níveis elevados de ANG II é capaz de sustentar a descarga simpática renal elevada e disfunção no CBC. Já a hiperatividade simpática promove

elevação da resistência vascular periférica, contribuindo para o aumento da pós-carga e da pressão arterial. A hiperatividade simpática ainda incrementa a frequência cardíaca. Tais aumentos na pressão arterial e na frequência cardíaca favorecem a elevação do duplo-produto. A maior demanda metabólica cardíaca está relacionada com a hipertrofia transitória dos cardiomiócitos sobreviventes e com a progressão da disfunção ventricular. Além do duplo-produto, também identificamos maiores valores pressóricos médios e diastólicos nos grupos animais com disfunção ventricular sedentários e engajados no treinamento intervalado moderado. Cabe ressaltar que tais análises foram realizadas em animais anestesiados com uretano (1,5 mg/kg) em sendo assim, não podemos excluir os efeitos deste anestésico nas variáveis analisadas.

Outra adaptação produzida pelo treinamento físico, largamente comprovada em diferentes disfunções cardiometabólicas, é o aumento da sensibilidade barorreflexa (Flores, Figueroa et al.; La Rovere, Bersano et al. 2002; Liu, Kulakofsky et al. 2002; Laterza, de Matos et al. 2007). Neste sentido, observamos que apenas o método contínuo foi capaz de normalizar este mecanismo regulatório do sistema cardiovascular, uma vez que apenas este tipo de treinamento demonstrou valores significativamente maiores do que aqueles pertencentes ao grupo IC Sed e semelhantes ao grupo Sham Sed. Esta adaptação ao treinamento contínuo foi gerada, principalmente, pela maior resposta taquicárdica ao estímulo vasodilatador, pois apenas na resposta ao nitroprussitado de sódio constatamos um efeito diferenciado do treinamento contínuo. Corroborando nossos achados, Dimopoulos e colaboradores (2006) demonstraram que o treinamento intervalado anaeróbio, diferentemente do método contínuo, não provocou aumento significativo na reserva cronotrópica e na velocidade de redução da frequência cardíaca no primeiro minuto de recuperação após esforço máximo em pacientes com IC. Tais observações indicam que somente o treinamento contínuo modifica a disfunção autonômica na IC.

A avaliação do controle barorreflexo cardíaco integra: 1) a modificação do tônus vascular frente a variações pressóricas; 2) a transmissão do estímulo dos barorreceptores até as regiões de regulação central da atividade autonômica; 3) o processamento da informação e da elaboração da resposta fisiológica pelos sítios regulatórios centrais; 4) a sensibilidade dos cardiomiócitos ao estímulo gerado pelo sistema nervoso central. Sendo assim, a alteração nestes fatores promovida pelas metodologias de treinamento físico pode modificar o controle barorreflexo cardíaco. Na medida em que apenas o método contínuo gerou maior índice de sensibilidade barorreflexa do que o grupo IC-Sed, é razoável que esta metodologia

tenha efeito maior do que os outros métodos em um ou em vários aspectos determinantes do controle barorreflexo cardíaco.

A capacidade de modificação do diâmetro vascular induzida pela variação da pressão arterial, a qual é considerada um dos determinantes da sensibilidade barorreflexa, é um indicador da função endotelial. Como em várias disfunções cardiometabólicas, o treinamento físico reverte a disfunção endotelial na IC. Os mecanismos que explicam esta resposta crônica envolvem a ativação da via PI3K/Akt induzida pelo estresse de cisalhamento laminar, contribuindo para a fosforilação da eNOS e, conseqüentemente, síntese vascular de óxido nítrico. Esta molécula é considerada um dos principais moduladores do tônus vascular, uma vez que, embora seja produzida no endotélio pela eNOS, o óxido nítrico atravessa para a musculatura lisa, onde estimula a enzima guanilato ciclase a sintetizar GMP ciclo, possibilitando o efluxo de cálcio do citosol, através da ativação de canais iônicos, e o relaxamento vascular (Moncada 1997). Outros mecanismos também favorecem o relaxamento vascular através do óxido nítrico, como a abertura de canais de potássio, a inibição da formação de IP₃ e a ativação de canais de cálcio dependentes de ATP (Murad, Forstermann et al. 1992; Fisher, Chien et al. 2001).

A respeito das respostas na função endotelial promovidas pelas diferentes metodologias de treinamento físico, é possível inferir que a síntese vascular de EROs justifique adaptações divergentes na função endotelial e, conseqüentemente, no controle barorreflexo, pois os radicais livres contribuem para a diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico. Nesta perspectiva, Goto e colaboradores (2003) identificaram que os indivíduos submetidos ao treinamento físico moderado, caracterizado pela intensidade de 50% do consumo máximo de oxigênio, apresentaram melhoria da função endotelial. Enquanto, aqueles que realizaram o treinamento na intensidade de 75% do consumo máximo de oxigênio não demonstraram alteração na vasodilatação induzida pela administração de acetilcolina (Goto, Higashi et al. 2003). Além disso, Wisloff e colaboradores (2007) observaram aumento da dilatação vascular mediada pelo aumento no fluxo sanguíneo na artéria braquial em pacientes com IC submetidos tanto ao treinamento contínuo quanto no treinamento intervalado moderado. Portanto, é plausível que os métodos de treinamento, os quais são diferenciados por variações na intensidade do esforço, desencadeiem distintas respostas na síntese vascular de EROs e na função endotelial. Adicionalmente à intensidade do esforço, a duração dos períodos no treinamento intervalado parece ser uma variável importante para as adaptações na função endotelial, pois, nos

segmentos de mesma intensidade, a frequência cardíaca é mais constante, implicando, possivelmente, num fluxo sanguíneo mais linear e, por conseguinte, num maior tempo de exposição do endotélio a um estresse de cisalhamento laminar constante, o que pode induzir a uma maior organização longitudinal das células endoteliais e estimulação da via de sinalização PI3 quinase/Akt/eNOS pelas integrinas, contribuindo para a maior expressão de óxido nítrico no endotélio.

Além da função endotelial, o processamento e a elaboração da resposta fisiológica pelas regiões regulatórias da atividade simpática também influenciam o resultado da análise do controle barorreflexo cardíaco. Diversos estudos (Campese, Ye et al. 2004; Gao, Wang et al. 2004; Kishi, Hirooka et al. 2004; Campese, Shaohua et al. 2005; Gao, Wang et al. 2005; Tai, Wang et al. 2005; Dai, Cao et al. 2006; Hirooka, Kimura et al. 2006; Liu, Gao et al. 2006; Chan, Wang et al. 2007; Fujita, Ando et al. 2007; Han, Shi et al. 2007; Guggilam, Patel et al. 2008; Hirooka 2008; Kang, Ma et al. 2008; Kang, Zhang et al. 2008; Konno, Hirooka et al. 2008; Liu, Gao et al. 2008; Oliveira-Sales, Dugaich et al. 2008; Kang, He et al. 2009; Kang, Ma et al. 2009; Nagae, Fujita et al. 2009; Oliveira-Sales, Nishi et al. 2009; Wei, Yu et al. 2009) identificaram o aumento da expressão de EROs e de citocinas pró-inflamatórias e da ativação do SRA no NPV, RVLM e NTS, o que pode explicar a maior descarga simpática renal e a menor sensibilidade barorreflexa observada na IC. O treinamento físico contínuo também apresenta efeitos benéficos sobre estas características fisiopatológicas das regiões de controle da atividade autonômica, pois Gao e colaboradores (2007) evidenciaram, em modelo experimental de IC, aumento da expressão das isoformas cobre-zinco e manganês da enzima antioxidante superóxido dismutase e redução da subunidade gp91phox da NADPH oxidase na RVLM. Estas adaptações moleculares estavam associadas à menor descarga simpática renal e maior controle barorreflexo cardíaco observado nos animais treinados. A diminuição da ativação sistêmica do SRA parece ser um dos mecanismos que proporciona estas respostas crônicas, uma vez que a administração subcutânea crônica de ANG II inibiu o aumento da sensibilidade barorreflexa e a redução da descarga simpática renal e da expressão do receptor AT₁ no NPV induzida pelo treinamento contínuo em modelo experimental de IC (Mousa, Liu et al. 2008). A ANG II circulante pode influenciar a descarga simpática periférica e controle barorreflexo, pois, embora não ultrapasse a barreira hematoencefálica, este peptídeo, através da ligação com seu receptor AT₁, é capaz de ativar os órgãos circunventriculares que se comunicam diretamente com regiões regulatórias centrais como o NPV. A ativação destas regiões do sistema nervoso

central pela ANG II possibilita o aumento na síntese de EROs, sobretudo através da ativação na NADPH oxidase. A condição citosólica pró-oxidante induz à ativação das MAPK, ERK1-2 e JNK, as quais favorecem a atividade transcriptase dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1, respectivamente, desencadeando o aumento na síntese de citocinas pró-inflamatórias e do receptor AT₁ (Zucker and Gao 2005; Liu, Gao et al. 2006; Chan, Wang et al. 2007; Wei, Yu et al. 2008; Wei, Yu et al. 2008; Wei, Yu et al. 2009).

Outra adaptação gerada pelo treinamento físico que se relaciona com a ação do SRA nos sítios regulatórios centrais é a menor descarga simpática periférica induzida pela administração intracerebroventricular de glutamato (Mueller 2007) e do ácido N-metil D-aspartico (Kleiber, Zheng et al. 2008), ligante de um subtipo do receptor de glutamato, em modelo experimental de cardiopatia dilatada isquêmica. Este efeito pode ser explicado pela menor expressão gênica e protéica da subunidade NR1A do receptor de NMDA (Kleiber, Zheng et al. 2008). A expressão deste receptor pode ser influenciada ação da ANG II no sistema nervoso central, pois este peptídeo favorece a liberação de EROs e, conseqüentemente, a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico. O óxido nítrico parece inibir a estimulação da atividade simpática renal pelo NMDA, já que a administração do inibidor não-seletivo da NOS incrementa o efeito do NMDA na atividade simpática renal (Zhang, Li et al. 2001). Como o treinamento físico minimiza a atividade do SRA cerebral e apresenta efeitos antioxidantes nos sítios regulatórios do sistema nervoso central, esta prática terapêutica não-farmacológica favorece o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico e, provavelmente, a redução da expressão da subunidade NR1A, contribuindo para a diminuição da descarga simpática periférica e aumento da sensibilidade barorreflexa.

Além dos efeitos antioxidantes do treinamento físico nos sítios centrais de regulação da atividade do sistema nervoso central, as propriedades antiinflamatórias do treinamento podem interferir na descarga simpática periférica e no controle barorreflexo, pois, embora ainda não tenham sido demonstrados os efeitos do treinamento físico na expressão de citocinas no NTS, no NPV e na RVLM, é plausível que está terapia não-farmacológica induza a diminuição da condição pro-inflamatória destas regiões, uma vez que foi demonstrada a redução da concentração plasmática de TNF e de seus receptores do tipo I e II após treinamento físico contínuo em pacientes com IC (Adamopoulos, Parissis et al. 2002).

De forma semelhante às adaptações ao treinamento na função endotelial, a modificação no estado redox celular e na condição pró-inflamatória, aparentemente, explicam a diminuição na atividade do SRA cerebral e da expressão da subunidade NR1A do receptor NMDA e, conseqüentemente, na descarga simpática periférica e no controle barorreflexo cardíaco e renal. Portanto, embora ainda não tenham sido comprovados os efeitos do treinamento intervalado aeróbio e anaeróbio na síntese de EROs e de citocinas pró-inflamatórias nos sistema nervoso central, respostas distintas a geração destas moléculas podem justificar efeitos divergentes promovidos pelos métodos de treinamento físico no controle barorreflexo cardíaco.

No presente estudo, constatamos uma correlação diretamente proporcional entre a duração do teste de esforço e o índice de sensibilidade barorreflexa quando consideramos apenas os animais sedentários e aqueles submetidos ao treinamento contínuo. Na análise reunindo os animais do treinamento intervalado aeróbio e anaeróbio, não evidenciamos esta correlação. Este resultado deve-se ao fato destes métodos não terem influenciado o controle barorreflexo cardíaco.

Outra correlação identificada foi a relação entre o índice de sensibilidade barorreflexa e a alteração na fração de ejeção. Embora não possamos inferir uma relação casuística entre o melhor controle barorreflexo cardíaco, o qual pode refletir uma diminuição da atividade simpática, e a reversão da disfunção ventricular. A redução da atividade simpática e, consecutivamente, da ativação do SRA influencia o remodelamento cardíaco, pois a estimulação dos receptores beta-adrenérgicos e At1 nos cardiomiócitos induzem a atividade transcriptase de fatores de transcrição que controlam genes relacionados com o estresse oxidativo, a inflamação, a hipertrofia transitória e a apoptose.

6- CONCLUSÃO

A diminuição da função ventricular e a disfunção do controle barorreflexo cardíaco estão entre as principais características da IC associadas com a progressão desta síndrome clínica complexa. A modificação destes aspectos fisiopatológicos está relacionada com a melhoria do desfecho clínico.

O treinamento físico é largamente utilizado como estratégia terapêutica no tratamento de várias doenças cardiometabólicas, inclusive na IC. Diferentes metodologias de treinamento físico vêm sendo empregadas na profilaxia e na terapêutica da IC. O conjunto dos nossos resultados sugere que o treinamento físico contínuo parece ser o método mais adequado para a reversão da disfunção ventricular, bem como para a melhoria do controle barorreflexo cardíaco. Por outro lado, a metodologia de treinamento intervalado aeróbio também possibilita o aumento da função cardíaca.

Adicionalmente a estes achados fisiológicos é necessária investigação a respeito dos mecanismos moleculares que expliquem os efeitos das diferentes metodologias de treinamento físico abordadas no presente estudo na função cardíaca e no controle autonômico.

7- REFERÊNCIAS

- Adamopoulos, S., J. Parissis, et al. (2002). "Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure." *J Am Coll Cardiol* **39**(4): 653-63.
- Belardinelli, R., D. Georgiou, et al. (1999). "Randomized, controlled trial of long-term moderate exercise training in chronic heart failure: effects on functional capacity, quality of life, and clinical outcome." *Circulation* **99**(9): 1173-82.
- Brum, P. C. (2008). *Bases Moleculares das Doenças Cardiovasculares*. São Paulo, Atheneu.
- Brum, P. C., N. P. Rolim, et al. (2006). "Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors." *An Acad Bras Cienc* **78**(3): 485-503.
- Campese, V. M., Y. Shaohua, et al. (2005). "Oxidative stress mediates angiotensin II-dependent stimulation of sympathetic nerve activity." *Hypertension* **46**(3): 533-9.
- Campese, V. M., S. Ye, et al. (2004). "Reactive oxygen species stimulate central and peripheral sympathetic nervous system activity." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **287**(2): H695-703.
- Carell, E. S., S. Murali, et al. (1994). "Maximal exercise tolerance in chronic congestive heart failure. Relationship to resting left ventricular function." *Chest* **106**(6): 1746-52.
- Chan, S. H., L. L. Wang, et al. (2007). "Upregulation of AT1 receptor gene on activation of protein kinase Cbeta/nicotinamide adenine dinucleotide diphosphate oxidase/ERK1/2/c-fos signaling cascade mediates long-term pressor effect of angiotensin II in rostral ventrolateral medulla." *J Hypertens* **25**(9): 1845-61.
- Chen, J. S., H. J. Wang, et al. "Altered nitroergic and NMDA receptor-mediated modulation of baroreflex-mediated heart rate in obese Zucker rats." *Hypertens Res*.
- Cisternas, J. R., V. E. Valenti, et al. "Cardiac baroreflex is already blunted in eight weeks old spontaneously hypertensive rats." *Int Arch Med* **3**: 2.
- Crimi, E., L. J. Ignarro, et al. (2009). "Mechanisms by which exercise training benefits patients with heart failure." *Nat Rev Cardiol* **6**(4): 292-300.
- Dai, X., X. Cao, et al. (2006). "Superoxide anion is elevated in sympathetic neurons in DOCA-salt hypertension via activation of NADPH oxidase." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **290**(3): H1019-26.
- Daussin, F. N., J. Zoll, et al. (2008). "Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **295**(1): R264-72.
- Davies, E. J., T. Moxham, et al. "Exercise training for systolic heart failure: Cochrane systematic review and meta-analysis." *Eur J Heart Fail* **12**(7): 706-15.
- De Ferrari, G. M., A. Sanzo, et al. (2007). "Baroreflex sensitivity predicts long-term cardiovascular mortality after myocardial infarction even in patients with preserved left ventricular function." *J Am Coll Cardiol* **50**(24): 2285-90.
- Delagardelle, C., P. Feiereisen, et al. (2008). "Reverse remodelling through exercise training is more pronounced in non-ischemic heart failure." *Clin Res Cardiol* **97**(12): 865-71.
- Dimopoulos, S., M. Anastasiou-Nana, et al. (2006). "Effects of exercise rehabilitation program on heart rate recovery in patients with chronic heart failure." *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **13**(1): 67-73.
- Drummond, H. A., M. P. Price, et al. (1998). "A molecular component of the arterial baroreceptor mechanotransducer." *Neuron* **21**(6): 1435-41.

- Dubach, P., J. Myers, et al. (1997). "Effect of exercise training on myocardial remodeling in patients with reduced left ventricular function after myocardial infarction: application of magnetic resonance imaging." Circulation **95**(8): 2060-7.
- Erbs, S., R. Hollriegel, et al. "Exercise Training in Patients with Advanced Chronic Heart Failure (NYHA IIIb) Promotes Restoration of Peripheral Vasomotor Function, Induction of Endogenous Regeneration, and Improvement of Left-Ventricular Function." Circ Heart Fail.
- Erbs, S., A. Linke, et al. (2003). "Exercise training in patients with severe chronic heart failure: impact on left ventricular performance and cardiac size. A retrospective analysis of the Leipzig Heart Failure Training Trial." Eur J Cardiovasc Prev Rehabil **10**(5): 336-44.
- Felix, J. V. and L. C. Michelini (2007). "Training-induced pressure fall in spontaneously hypertensive rats is associated with reduced angiotensinogen mRNA expression within the nucleus tractus solitarii." Hypertension **50**(4): 780-5.
- Fisher, A. B., S. Chien, et al. (2001). "Endothelial cellular response to altered shear stress." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **281**(3): L529-33.
- Floras, J. S. and S. Mak (2009). "Muscle sympathetic nerve activity in women and men following acute myocardial infarction: a meaningful difference?" Eur Heart J **30**(14): 1692-4.
- Flores, L. J., D. Figueroa, et al. "Effects of exercise training on autonomic dysfunction management in an experimental model of menopause and myocardial infarction." Menopause **17**(4): 712-7.
- Fraga, R., F. G. Franco, et al. (2007). "Exercise training reduces sympathetic nerve activity in heart failure patients treated with carvedilol." Eur J Heart Fail **9**(6-7): 630-6.
- French, B. A. and C. M. Kramer (2007). "Mechanisms of Post-Infarct Left Ventricular Remodeling." Drug Discov Today Dis Mech **4**(3): 185-196.
- Fujita, M., K. Ando, et al. (2007). "Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in salt-sensitive hypertension." Hypertension **50**(2): 360-7.
- Gao, L., W. Wang, et al. (2004). "Superoxide mediates sympathoexcitation in heart failure: roles of angiotensin II and NAD(P)H oxidase." Circ Res **95**(9): 937-44.
- Gao, L., W. Wang, et al. (2005). "Sympathoexcitation by central ANG II: roles for AT1 receptor upregulation and NAD(P)H oxidase in RVLM." Am J Physiol Heart Circ Physiol **288**(5): H2271-9.
- Gao, L., W. Wang, et al. (2007). "Exercise training normalizes sympathetic outflow by central antioxidant mechanisms in rabbits with pacing-induced chronic heart failure." Circulation **115**(24): 3095-102.
- Geerling, J. C., M. Kawata, et al. (2006). "Aldosterone-sensitive neurons in the rat central nervous system." J Comp Neurol **494**(3): 515-27.
- Giannuzzi, P., P. L. Temporelli, et al. (2003). "Antiremodeling effect of long-term exercise training in patients with stable chronic heart failure: results of the Exercise in Left Ventricular Dysfunction and Chronic Heart Failure (ELVD-CHF) Trial." Circulation **108**(5): 554-9.
- Goto, C., Y. Higashi, et al. (2003). "Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress." Circulation **108**(5): 530-5.
- Guggilam, A., K. P. Patel, et al. (2008). "Cytokine blockade attenuates sympathoexcitation in heart failure: cross-talk between nNOS, AT-1R and cytokines in the hypothalamic paraventricular nucleus." Eur J Heart Fail **10**(7): 625-34.

- Gulec, S., F. Ertas, et al. (1998). "Exercise performance in patients with dilated cardiomyopathy: relationship to resting left ventricular function." *Int J Cardiol* **65**(3): 247-53.
- Guo, J., Z. Gertsberg, et al. (2009). "p66Shc links alpha1-adrenergic receptors to a reactive oxygen species-dependent AKT-FOXO3A phosphorylation pathway in cardiomyocytes." *Circ Res* **104**(5): 660-9.
- Hambrecht, R., S. Gielen, et al. (2000). "Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure: A randomized trial." *JAMA* **283**(23): 3095-101.
- Han, Y., Z. Shi, et al. (2007). "Reactive oxygen species in the paraventricular nucleus mediate the cardiac sympathetic afferent reflex in chronic heart failure rats." *Eur J Heart Fail* **9**(10): 967-73.
- Haram, P. M., O. J. Kemi, et al. (2009). "Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity." *Cardiovasc Res* **81**(4): 723-32.
- Haykowsky, M. J., Y. Liang, et al. (2007). "A meta-analysis of the effect of exercise training on left ventricular remodeling in heart failure patients: the benefit depends on the type of training performed." *J Am Coll Cardiol* **49**(24): 2329-36.
- Hirooka, Y. (2008). "Role of reactive oxygen species in brainstem in neural mechanisms of hypertension." *Auton Neurosci* **142**(1-2): 20-4.
- Hirooka, Y., Y. Kimura, et al. (2006). "Amlodipine-induced reduction of oxidative stress in the brain is associated with sympatho-inhibitory effects in stroke-prone spontaneously hypertensive rats." *Hypertens Res* **29**(1): 49-56.
- Kang, Y. M., R. L. He, et al. (2009). "Brain tumour necrosis factor-alpha modulates neurotransmitters in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure." *Cardiovasc Res* **83**(4): 737-46.
- Kang, Y. M., Y. Ma, et al. (2008). "Cross-talk between cytokines and renin-angiotensin in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure: role of nuclear factor-kappaB." *Cardiovasc Res* **79**(4): 671-8.
- Kang, Y. M., Y. Ma, et al. (2009). "Brain nuclear factor-kappa B activation contributes to neurohumoral excitation in angiotensin II-induced hypertension." *Cardiovasc Res* **82**(3): 503-12.
- Kang, Y. M., Z. H. Zhang, et al. (2008). "Inhibition of brain proinflammatory cytokine synthesis reduces hypothalamic excitation in rats with ischemia-induced heart failure." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **295**(1): H227-36.
- Kannel, W. B. (2000). "Incidence and epidemiology of heart failure." *Heart Fail Rev* **5**(2): 167-73.
- Kar, S., L. Gao, et al. "Exercise Training Normalizes Ace and Ace2 in the Brain of Rabbits with Pacing Induced Heart Failure." *J Appl Physiol*.
- Kemi, O. J., M. Ceci, et al. (2008). "Myocardial sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase function is increased by aerobic interval training." *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **15**(2): 145-8.
- Kiilavuori, K., H. Naveri, et al. (1999). "The effect of physical training on hormonal status and exertional hormonal response in patients with chronic congestive heart failure." *Eur Heart J* **20**(6): 456-64.
- Kiilavuori, K., H. Naveri, et al. (2000). "The effect of physical training on skeletal muscle in patients with chronic heart failure." *Eur J Heart Fail* **2**(1): 53-63.
- Kishi, T., Y. Hirooka, et al. (2004). "Increased reactive oxygen species in rostral ventrolateral medulla contribute to neural mechanisms of hypertension in stroke-

- prone spontaneously hypertensive rats." *Circulation* **109**(19): 2357-62.
- Kleiber, A. C., H. Zheng, et al. (2008). "Exercise training normalizes enhanced glutamate-mediated sympathetic activation from the PVN in heart failure." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **294**(6): R1863-72.
- Kojda, G. and R. Hambrecht (2005). "Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy?" *Cardiovasc Res* **67**(2): 187-97.
- Konno, S., Y. Hirooka, et al. (2008). "Azelnidipine decreases sympathetic nerve activity via antioxidant effect in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats." *J Cardiovasc Pharmacol* **52**(6): 555-60.
- Krauh, J. M. (1979). "Structure of rat aortic baroreceptors and their relationship to connective tissue." *J Neurocytol* **8**(4): 401-14.
- Kumar, N. N., A. K. Goodchild, et al. (2006). "An aldosterone-related system in the ventrolateral medulla oblongata of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats." *Clin Exp Pharmacol Physiol* **33**(1-2): 71-5.
- La Rovere, M. T., C. Bersano, et al. (2002). "Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction." *Circulation* **106**(8): 945-9.
- La Rovere, M. T., J. T. Bigger, Jr., et al. (1998). "Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators." *Lancet* **351**(9101): 478-84.
- Lapu-Bula, R., A. Robert, et al. (1999). "Relation of exercise capacity to left ventricular systolic function and diastolic filling in idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy." *Am J Cardiol* **83**(5): 728-34.
- Laterza, M. C., L. D. de Matos, et al. (2007). "Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients." *Hypertension* **49**(6): 1298-306.
- Lawler, J. M., H. B. Kwak, et al. (2009). "Exercise training inducibility of MnSOD protein expression and activity is retained while reducing prooxidant signaling in the heart of senescent rats." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **296**(5): R1496-502.
- Levy, R. M. B. a. M. N. (2009). *Fisiologia*. Rio de Janeiro, Elsevier.
- Liu, D., L. Gao, et al. (2006). "Neuronal angiotensin II type 1 receptor upregulation in heart failure: activation of activator protein 1 and Jun N-terminal kinase." *Circ Res* **99**(9): 1004-11.
- Liu, D., L. Gao, et al. (2008). "Role of oxidant stress on AT1 receptor expression in neurons of rabbits with heart failure and in cultured neurons." *Circ Res* **103**(2): 186-93.
- Liu, J. L., J. Kulakofsky, et al. (2002). "Exercise training enhances baroreflex control of heart rate by a vagal mechanism in rabbits with heart failure." *J Appl Physiol* **92**(6): 2403-8.
- Liu, Q., M. A. Sargent, et al. (2009). "ASK1 regulates cardiomyocyte death but not hypertrophy in transgenic mice." *Circ Res* **105**(11): 1110-7.
- Malpas, S. C., A. S. Groom, et al. (1997). "Baroreflex control of heart rate and cardiac hypertrophy in angiotensin II-induced hypertension in rabbits." *Hypertension* **29**(6): 1284-90.
- Maria Sarullo, F., T. Gristina, et al. (2006). "Effect of physical training on exercise capacity, gas exchange and N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with chronic heart failure." *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **13**(5): 812-7.
- Medeiros, A., N. P. Rolim, et al. (2008). "Exercise training delays cardiac dysfunction and prevents calcium handling abnormalities in sympathetic hyperactivity-induced heart

- failure mice." J Appl Physiol **104**(1): 103-9.
- Michellini, L. C. (2007). "The NTS and integration of cardiovascular control during exercise in normotensive and hypertensive individuals." Curr Hypertens Rep **9**(3): 214-21.
- Moholdt, T. T., B. H. Amundsen, et al. (2009). "Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: a randomized study of cardiovascular effects and quality of life." Am Heart J **158**(6): 1031-7.
- Moncada, S. (1997). "Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology." Ann N Y Acad Sci **811**: 60-7; discussion 67-9.
- Mousa, T. M., D. Liu, et al. (2008). "Exercise training enhances baroreflex sensitivity by an angiotensin II-dependent mechanism in chronic heart failure." J Appl Physiol **104**(3): 616-24.
- Mueller, P. J. (2007). "Exercise training attenuates increases in lumbar sympathetic nerve activity produced by stimulation of the rostral ventrolateral medulla." J Appl Physiol **102**(2): 803-13.
- Munhoz, R. T., C. E. Negrao, et al. (2009). "Microneurography and venous occlusion plethysmography in heart failure: correlation with prognosis." Arq Bras Cardiol **92**(1): 46-53.
- Munoz Marin, D., G. Olcina, et al. "Effect of different exercise intensities on oxidative stress markers and antioxidant response in trained cyclists." J Sports Med Phys Fitness **50**(1): 93-8.
- Murad, F., U. Forstermann, et al. (1992). "The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction pathway in vascular smooth muscle preparations and other tissues." Jpn J Pharmacol **58 Suppl 2**: 150P-157P.
- Nagae, A., M. Fujita, et al. (2009). "Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension." Circulation **119**(7): 978-86.
- Nilsson, B. B., A. Westheim, et al. (2008). "Effects of group-based high-intensity aerobic interval training in patients with chronic heart failure." Am J Cardiol **102**(10): 1361-5.
- Nilsson, B. B., A. Westheim, et al. (2008). "Long-term effects of a group-based high-intensity aerobic interval-training program in patients with chronic heart failure." Am J Cardiol **102**(9): 1220-4.
- Ohuchi, H., J. Negishi, et al. (2010). "Long-term prognostic value of cardiac autonomic nervous activity in postoperative patients with congenital heart disease." Int J Cardiol.
- Oliveira-Sales, E. B., A. P. Dugaich, et al. (2008). "Oxidative stress contributes to renovascular hypertension." Am J Hypertens **21**(1): 98-104.
- Oliveira-Sales, E. B., E. E. Nishi, et al. (2009). "Oxidative stress in the sympathetic premotor neurons contributes to sympathetic activation in renovascular hypertension." Am J Hypertens **22**(5): 484-92.
- Oliveira, R. S., J. C. Ferreira, et al. (2009). "Cardiac anti-remodelling effect of aerobic training is associated with a reduction in the calcineurin/NFAT signalling pathway in heart failure mice." J Physiol **587**(Pt 15): 3899-910.
- Pan, Y. X., L. Gao, et al. (2007). "Exercise training prevents arterial baroreflex dysfunction in rats treated with central angiotensin II." Hypertension **49**(3): 519-27.
- Passino, C., S. Del Ry, et al. (2008). "C-type natriuretic peptide expression in patients with chronic heart failure: effects of aerobic training." Eur J Cardiovasc Prev Rehabil **15**(2): 168-72.
- Pereira, M. G., J. C. Ferreira, et al. (2009). "Exercise training reduces cardiac angiotensin II

- levels and prevents cardiac dysfunction in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice." *Eur J Appl Physiol* **105**(6): 843-50.
- Piepoli, M. F., C. Davos, et al. (2004). "Exercise training meta-analysis of trials in patients with chronic heart failure (ExTraMATCH)." *BMJ* **328**(7433): 189.
- Quindry, J. C., W. L. Stone, et al. (2003). "The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress." *Med Sci Sports Exerc* **35**(7): 1139-45.
- Remme, W. J. (2003). "Pharmacological modulation of cardiovascular remodeling: a guide to heart failure therapy." *Cardiovasc Drugs Ther* **17**(4): 349-60.
- Rolim, N. P., A. Medeiros, et al. (2007). "Exercise training improves the net balance of cardiac Ca²⁺ handling protein expression in heart failure." *Physiol Genomics* **29**(3): 246-52.
- Rondon, E., M. S. Brasileiro-Santos, et al. (2006). "Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **291**(6): H2801-6.
- Roveda, F., H. R. Middlekauff, et al. (2003). "The effects of exercise training on sympathetic neural activation in advanced heart failure: a randomized controlled trial." *J Am Coll Cardiol* **42**(5): 854-60.
- Serra, A. J., M. H. Santos, et al. "Exercise training inhibits inflammatory cytokines and more than prevents myocardial dysfunction in rats with sustained beta-adrenergic hyperactivity." *J Physiol* **588**(Pt 13): 2431-42.
- Sirker, A., M. Zhang, et al. (2007). "Involvement of NADPH oxidases in cardiac remodelling and heart failure." *Am J Nephrol* **27**(6): 649-60.
- Smart, N., B. Haluska, et al. (2007). "Exercise training in systolic and diastolic dysfunction: effects on cardiac function, functional capacity, and quality of life." *Am Heart J* **153**(4): 530-6.
- Sullivan, M. J., M. B. Higginbotham, et al. (1988). "Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction. Hemodynamic and metabolic effects." *Circulation* **78**(3): 506-15.
- Sun, Y. (2009). "Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors." *Cardiovasc Res* **81**(3): 482-90.
- Sureda, A., M. D. Ferrer, et al. (2009). "Effects of exercise intensity on lymphocyte H₂O₂ production and antioxidant defences in soccer players." *Br J Sports Med* **43**(3): 186-90.
- Tabet, J. Y., P. Meurin, et al. (2008). "Absence of exercise capacity improvement after exercise training program: a strong prognostic factor in patients with chronic heart failure." *Circ Heart Fail* **1**(4): 220-6.
- Tai, M. H., L. L. Wang, et al. (2005). "Increased superoxide anion in rostral ventrolateral medulla contributes to hypertension in spontaneously hypertensive rats via interactions with nitric oxide." *Free Radic Biol Med* **38**(4): 450-62.
- Tenenbaum, A., D. Freimark, et al. (2006). "Long-term versus intermediate-term supervised exercise training in advanced heart failure: effects on exercise tolerance and mortality." *Int J Cardiol* **113**(3): 364-70.
- Tjonna, A. E., S. J. Lee, et al. (2008). "Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study." *Circulation* **118**(4): 346-54.
- Ueno, L. M., L. F. Drager, et al. (2009). "Effects of exercise training in patients with chronic heart failure and sleep apnea." *Sleep* **32**(5): 637-47.
- Vasiliauskas, D., A. Kavoliuniene, et al. (2006). "[Left ventricular remodeling in ischemic heart disease patients with signs and symptoms of chronic heart failure: an impact of

- the long-term exercise training]." Medicina (Kaunas) **42**(12): 965-74.
- Wang, L., N. Psilander, et al. (2009). "Similar expression of oxidative genes after interval and continuous exercise." Med Sci Sports Exerc **41**(12): 2136-44.
- Wei, S. G., Y. Yu, et al. (2009). "Angiotensin II upregulates hypothalamic AT1 receptor expression in rats via the mitogen-activated protein kinase pathway." Am J Physiol Heart Circ Physiol **296**(5): H1425-33.
- Wei, S. G., Y. Yu, et al. (2008). "Angiotensin II-triggered p44/42 mitogen-activated protein kinase mediates sympathetic excitation in heart failure rats." Hypertension **52**(2): 342-50.
- Wei, S. G., Y. Yu, et al. (2008). "Mitogen-activated protein kinases mediate upregulation of hypothalamic angiotensin II type 1 receptors in heart failure rats." Hypertension **52**(4): 679-86.
- Wisloff, U., A. Stoylen, et al. (2007). "Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study." Circulation **115**(24): 3086-94.
- Wright, J. W. and J. W. Harding (1994). "Brain angiotensin receptor subtypes in the control of physiological and behavioral responses." Neurosci Biobehav Rev **18**(1): 21-53.
- Yu, Y., S. G. Wei, et al. (2008). "Does aldosterone upregulate the brain renin-angiotensin system in rats with heart failure?" Hypertension **51**(3): 727-33.
- Zhang, K., Y. F. Li, et al. (2001). "Blunted nitric oxide-mediated inhibition of renal nerve discharge within PVN of rats with heart failure." Am J Physiol Heart Circ Physiol **281**(3): H995-1004.
- Zhang, Z. H., J. Francis, et al. (2002). "The renin-angiotensin-aldosterone system excites hypothalamic paraventricular nucleus neurons in heart failure." Am J Physiol Heart Circ Physiol **283**(1): H423-33.
- Zhang, Z. H., Y. M. Kang, et al. (2006). "11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity in hypothalamic paraventricular nucleus modulates sympathetic excitation." Hypertension **48**(1): 127-33.
- Zhang, Z. H., Y. Yu, et al. (2008). "Aldosterone acts centrally to increase brain renin-angiotensin system activity and oxidative stress in normal rats." Am J Physiol Heart Circ Physiol **294**(2): H1067-74.
- Zucker, I. H. and L. Gao (2005). "The regulation of sympathetic nerve activity by angiotensin II involves reactive oxygen species and MAPK." Circ Res **97**(8): 737-9.