

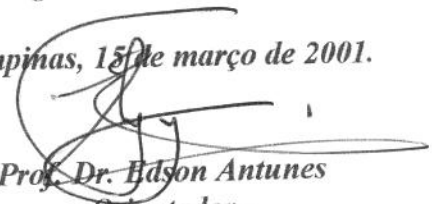
ROGÉRIO BRANDÃO WICHI

BC

***INFLUÊNCIA DA ATIVIDADE FÍSICA NA FUNÇÃO
CARDÍACA DE RATOS HIPERTENSOS PELA INIBIÇÃO DA
SÍNTESE DE ÓXIDO NÍTRICO***

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia do Professor de Educação Física Rogério Brandão Wichi.

Campinas, 15 de março de 2001.


Prof. Dr. Edson Antunes
- Orientador -

ROGÉRIO BRANDÃO WICHI

***INFLUÊNCIA DA ATIVIDADE FÍSICA NA FUNÇÃO
CARDÍACA DE RATOS HIPERTENSOS PELA INIBIÇÃO DA
SÍNTESE DE ÓXIDO NÍTRICO***

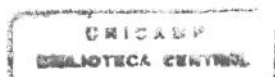
*Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para a obtenção do título de Mestre
em Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dr. Edson Antunes

CAMPINAS

2001

iii



094511008

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

W631i

Wichi, Rogério Brandão

Influência da atividade física na função cardíaca de ratos hipertensos pela inibição da síntese de óxido nítrico / Rogério Brandão Wichi. Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : Edson Antunes

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Exercício Físico. 2. Pressão Arterial. I. . Edson Antunes. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

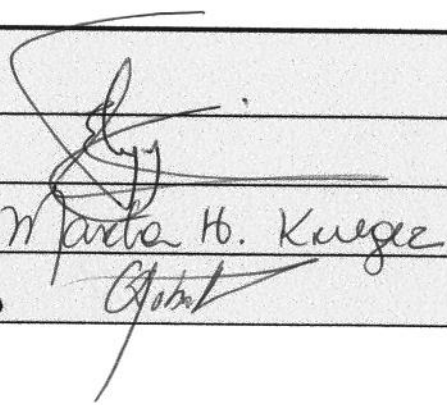
Prof. Dr. Edson Antunes

Membros:

1. Prof. Dr. Edson Antunes

2. Profa. Dra. Marta Helena Krieger

3. Prof. Dr. Cláudio Alexandre Gobatto

Handwritten signatures of the three members of the examination board. The first signature is for Prof. Dr. Edson Antunes, the second for Profa. Dra. Marta Helena Krieger, and the third for Prof. Dr. Cláudio Alexandre Gobatto. The signatures are written in black ink and are positioned to the right of the printed names.

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 15 /03/01

DEDICATÓRIA

*...aos meus queridos pais e irmãs,
sobretudo pelo amor e carinho.
...a eterna amiga Angelina.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Edson Antunes pela dedicação na orientação deste trabalho, pela amizade e oportunidade de conhecer a imensidão da Farmacologia.

Ao Prof. Dr. Gilberto de Nucci pelo suporte ao laboratório e incentivos para participar de Reuniões Científicas.

A Profª. Dra. Iara I.M.S. De Lucca pela amizade e ajuda nas análises histológicas realizadas.

Ao Prof. Dr. Louis Allen Barker pela ajuda na interpretação dos resultados.

A Clarice Y. Shybuia pela realização da análise do lactato plasmático.

Aos Funcionários do Depto de Farmacologia (Adilson, Miguel, Aguinaldo, Gislaine, Maria Rita, Wanderley, Eduardo, Dora, Eliseo) pelo infinito apoio e dedicação aos alunos.

Aos funcionários da Diretoria de Apoio Didático, Científico e Computacional da Faculdade de Ciências Médicas pelo indiscreto apoio na confecção de posters e diapositivos.

A todos os amigos do Depto de Farmacologia, sem exceções. Agradeço pelos ensinamentos e momentos que compartilhados, sem os quais, eu não seria o mesmo Rogério de hoje.

Ao Prof. Dr. Heitor Moreno Jr., pela amizade e momentos de reflexões.

Ao amigo Adriano pela longa convivência e paciência para “entender” minhas limitações.

Ao amigo Márcio pela amizade e conselhos.

Aos animais, sem os quais este trabalho não poderia ser realizado, meu sincero agradecimento e respeito.

A Profa. Dra. Angelina Zanesco que dedica sua vida para a formação e informação de pesquisadores e professores. Obrigado pelos ensinamentos sobre a ciência da vida, pelos incentivos em momentos difíceis e pela dedicada atenção e paciência.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da Bolsa de Mestrado (1999-2001).

*“Se pudéssemos ter a velocidade para ver tudo,
assistiríamos tudo...”ⁱⁱ*

Nando Reis

SUMÁRIO

	PÁG.
RESUMO	xxv
INTRODUÇÃO	29
Hipertensão e atividade física.....	31
Óxido nítrico.....	34
Fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF).....	37
Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP).....	38
Adenosina e o sistema cardiovascular.....	39
Sistema nervoso autônomo.....	41
Neurotransmissão adrenérgica.....	41
Neurotransmissão colinérgica.....	44
Estrutura cardíaca.....	45
Modelos de hipertensão e atividade física.....	46
Objetivos.....	47
MATERIAL E MÉTODO	49
Animais.....	51
Grupos experimentais.....	51
Protocolos Experimentais.....	51
Protocolo I.....	51
Protocolo II.....	52
Protocolo III.....	52

Treinamento físico.....	53
Avaliação do Condicionamento Físico.....	53
Tratamento com L-NAME.....	54
Medida de pressão arterial.....	54
Análise histológica do coração.....	55
Átrios direitos isolados.....	56
Obtenção e análise das curvas concentração-efeito.....	56
Análise estatística.....	57
RESULTADOS.....	59
Protocolo experimental I.....	61
Concentração de lactato sanguíneo.....	63
Pressão arterial sistólica.....	64
Peso corporal.....	65
Frequência atrial basal.....	66
Resposta cronotrópica ao agonista β -adrenérgico: isoproterenol.....	67
Resposta cronotrópica negativa ao agonista muscarínico: carbachol.....	69
Resposta máxima ao isoproterenol e carbachol.....	71
Dimensões dos cardiomiócitos ventriculares.....	72
Tecido conjuntivo cardíaco.....	73
Protocolo experimental II.....	75
Concentração de lactato sanguíneo.....	77
Pressão arterial sistólica.....	78
Peso corporal.....	79
Frequência atrial basal.....	80

Resposta cronotrópica ao agonista β -adrenérgico: isoproterenol.....	81
Resposta cronotrópica negativa ao agonista muscarínico: carbacol.....	83
Resposta máxima ao isoproterenol e carbacol.....	85
Dimensões dos cardiomiócitos ventriculares.....	86
Tecido conjuntivo cardíaco.....	87
Protocolo experimental III.....	89
Concentração de lactato sanguíneo.....	91
Pressão arterial sistólica.....	92
Peso corporal.....	93
Frequência atrial basal.....	94
Resposta cronotrópica ao agonista β -adrenérgico: isoproterenol.....	95
Resposta cronotrópica negativa ao agonista muscarínico: carbacol.....	97
Resposta máxima ao isoproterenol e carbacol.....	99
Dimensões dos cardiomiócitos ventriculares.....	100
Tecido conjuntivo cardíaco.....	101
DISCUSSÃO	103
CONCLUSÕES	111
SUMMARY	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

LISTA DE ABREVIACES

SIGLA	Nome completo
Bat/Min.	Batimentos por minuto
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
EDRF	Fator relaxante derivado do endotélio
EDHF	Fator hiperpolarizante derivado do endotélio
E _{máx}	Resposta máxima
L-NAME	N [] -nitro-L-arginina metil ster
NO	xido nítrico
EC ₅₀	50 % da resposta máxima de um determinado agonista

LISTA DE MATERIAIS

SUBSTÂNCIAS	PROCEDÊNCIA
17- β Estradiol	Sigma Chem. CO (St. Louis, EUA)
Ácido Ascórbico	Sigma Chem. CO (St. Louis, EUA)
Carbacol	Sigma Chem. CO (St. Louis, EUA)
EDTA	Merck (Rio de Janeiro, Brasil)
Halotano	Halocarbon (New Jersey, EUA)
Isoproterenol	Sigma Chem. CO (St. Louis, EUA)
L-NAME	Sigma Chem. CO (St. Louis, EUA)

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na frequência basal de átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	66
Tabela 2: Efeito do treinamento prévio ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	68
Tabela 3: Efeito do treinamento físico por natação prévio ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	70
Tabela 4: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na resposta máxima aos agonistas isoproterenol e carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	71
Tabela 5: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico no tamanho dos cardiomiócitos de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	72
Tabela 6: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	73
Tabela 7: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na frequência basal de átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	80

Tabela 8:	Efeito do treinamento físico por natação simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	82
Tabela 9:	Efeito do treinamento físico por natação simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	84
Tabela 10:	Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na resposta máxima aos agonistas isoproterenol e carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	85
Tabela 11:	Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico no tamanho dos cardiomiócitos de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	86
Tabela 12:	Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	87
Tabela 13:	Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na frequência basal de átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	94
Tabela 14:	Efeito do treinamento físico por natação prévio e simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	96
Tabela 15:	Efeito do treinamento físico por natação prévio e simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.....	98

LISTA DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1: Síntese de óxido nítrico.....	35
Figura 2: Estrutura química da L-arginina e do L-NAME.....	36
Figura 3: Efeito do treinamento físico por natação durante 4 semanas na concentração plasmática de lactato em ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	63
Figura 4: Evolução temporal dos valores de pressão arterial sistólica de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou Treinados + L-NA.....	64
Figura 5: Evolução temporal dos valores de peso corporal de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	65
Figura 6: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	67
Figura 7: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	69
Figura 8: Efeito do treinamento físico por natação durante 8 semanas na concentração plasmática de lactato em ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	77
Figura 9: Evolução temporal dos valores de pressão arterial sistólica de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAM.....	78
Figura 10: Evolução temporal dos valores de peso corporal de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	79

Figura 11: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	81
Figura 12: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	83
Figura 13: Efeito do treinamento físico por natação durante 8 semanas na concentração plasmática de lactato em ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	91
Figura 14: Evolução temporal dos valores de pressão arterial sistólica de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME....	92
Figura 15: Evolução temporal dos valores de peso corporal de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	93
Figura 16: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	95
Figura 17: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, L-NAME, treinados ou treinados + L-NAME.....	97

RESUMO

A inibição crônica da síntese de óxido nítrico, através do tratamento com L-NAME, promove aumento da resistência vascular e hipertensão. O exercício físico regular tem sido empregado como tratamento não farmacológico na hipertensão. No entanto, diferentes resultados têm sido encontrados. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi analisar a influência do exercício físico por natação realizado previamente e/ou simultaneamente ao tratamento com L-NAME na pressão arterial sistólica, no tamanho dos cardiomiócitos ventriculares, no percentual de tecido conjuntivo cardíaco e nas respostas cronotrópicas de átrios direitos isolados de ratos. Nossos resultados mostram que a atividade física realizada previamente ao tratamento com L-NAME atenua o aumento da pressão arterial nesses animais. Entretanto, quando o treinamento físico foi simultâneo ao tratamento com L-NAME, ele não modificou o aumento da pressão arterial promovida pela inibição da síntese de óxido nítrico. O treinamento físico por natação prévio ou simultâneo ao tratamento com L-NAME não modificou a potência ao isoproterenol, enquanto que a potência ao carbacol foi diminuída nos animais treinados. A porcentagem de tecido conjuntivo nos átrios direitos dos animais treinados ou treinados e tratados com L-NAME foi aumentada e esse aumento foi independente da associação com a administração de L-NAME. O tamanho dos cardiomiócitos não foi alterado nos animais treinados. Concluindo, o exercício físico prévio ao desenvolvimento da hipertensão induzida pela inibição da síntese de óxido nítrico atenua a elevação dos valores de pressão arterial. No entanto, quando a hipertensão está em desenvolvimento ou já estabelecida, a atividade física não melhora o quadro hipertensivo.

INTRODUÇÃO

O exercício físico é entendido como movimento físico capaz de alterar a homeostasia (SCHEUER & TIPTON, 1977). Quando realizado regularmente, o exercício físico pode auxiliar no tratamento da hipertensão arterial, favorecer perda de peso e reduzir os riscos de doenças cardiovasculares. O ato de caminhar diariamente por 30 a 60 minutos parece ser o suficiente para prevenir o aparecimento de cardiopatias (RIBEIRO, 1996). Assim, a atividade física regular e vida saudável têm sido correlacionadas a importância da prática de exercícios e os seus benefícios na saúde física e mental (BLAIR *et al.*, 1984; LEON *et al.*, 1987; HARDMAN, 1996). Além disso, pesquisas epidemiológicas demonstram que a atividade física pode diminuir os riscos de sequelas e óbitos provocados por doenças crônicas como hipertensão, doenças coronarianas, diabetes não-dependente de insulina, osteoporose, câncer de cólon, ansiedade e depressão (BLAIR *et al.*, 1984; MANSON, RIMM, STAMPFER, 1991; LEE, PAFFENBARGER, HSIEH, 1991; SNOW-HARTER & MARCUS, 1991; MCGINNIS & FOEGE, 1993). Estima-se que das 250.000 mortes ocorridas anualmente nos Estados Unidos da América, aproximadamente 12% do total são atribuídas à falta de atividade física regular (MCGINNIS & FOEGE 1993).

HIPERTENSÃO E ATIVIDADE FÍSICA

Os sistemas cardiovascular e pulmonar desempenham papel fundamental na homeostasia do organismo, tanto no repouso, quanto em condições de exercício. Além disso, esses dois sistemas são os principais alvos das doenças crônico-degenerativas e de mudanças constitucionais como a obesidade (FRANKLIN, SEYMOUR, TIMMIS, 1991).

O exercício físico e a hipertensão têm sido estudados pela área médica com dois diferentes propósitos. Primeiro, o de avaliar os mecanismos de regulação da pressão arterial durante o exercício agudo em pacientes hipertensos e segundo, o de usar o exercício regular como terapêutica não farmacológica para reduzir a pressão arterial em hipertensos e prevenir doenças coronarianas (AMERY *et al.*, 1967; DUNCAN *et al.*, 1985).

Dados experimentais mostram que a redução da pressão arterial após exercício aeróbio crônico é maior em indivíduos hipertensos do que em normotensos, tanto em humanos quanto em animais. A redução dos valores de pressão arterial sistólica e diastólica decorrente da atividade física varia de um 18–20 mmHg (Δ) e de 7-9 mmHg (Δ) respectivamente, em humanos com hipertensão leve ou moderada. Em indivíduos normotensos, a redução é de 8-10 mmHg e 3-5 mmHg, respectivamente (DUNCAN *et al.*, 1985; KENNEY & SEALS, 1993).

Vários estudos demonstram que variações na intensidade do exercício promovem diferentes efeitos na pressão arterial em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e em humanos (TIPTON *et al.*, 1983; GRASSI *et al.*, 1994). Os exercícios aeróbios são mais eficazes como terapia alternativa (ou concomitante com terapia farmacológica) no tratamento da hipertensão leve ou moderada. Os programas de condicionamento físico para hipertensos preconizam que os exercícios devem ser realizados, no mínimo, três vezes por semana, durante pelo menos 30 minutos por sessão. Exercícios de baixa a moderada intensidade (40-60% de VO_2 máx) parecem acarretar melhores resultados na redução da pressão arterial do que exercícios de maior intensidade. Exercícios aeróbios como ciclismo, natação, subir e descer escadas, corrida leve em esteira ou em movimento (trotar) são os que desencadeiam melhor resultado na redução da pressão arterial (FRANKLIN *et al.*, 1991).

Estudos realizados em animais utilizam basicamente dois modelos de exercício: a corrida em esteira ou a natação. Os programas de natação geram muitas discussões em relação ao componente estressante ao qual o animal é submetido. COX *et al.* (1985) compararam o efeito do estresse por natação com a corrida na esteira, na função cardiovascular e na atividade simpatoadrenal. Seus resultados demonstram que as respostas agudas cardiovascular e simpática produzida pela natação durante os 14 a 20 minutos da realização do exercício é similar à corrida na esteira. Assim, ambos os modelos são largamente empregados para estudar os efeitos da atividade física sobre os parâmetros cardiovasculares.

Além da intensidade e duração do exercício na natação, outro fator importante a ser considerado é a temperatura da água na qual os animais realizam a natação. Diferenças de temperaturas podem levar a resultados contraditórios. Animais SHR treinados durante oito semanas à temperatura de 36° C obtiveram rápida redução de pressão arterial sistólica ocorrida logo nos primeiros dias de treinamento, quando comparados com animais treinado à temperatura de 26° C, que diminuiu a pressão arterial sistólica somente ao final do programa de treinamento (VOGT *et al.*, 1986).

Complexos e múltiplos mecanismos foram propostos para explicar a redução da pressão arterial secundária ao treinamento físico, como redução do tônus simpático (LEBLANC *et al.*, 1977), aumento da sensibilidade dos barorreceptores aórticos e carotídeos (KRIEGER *et al.*, 1998), aumento da sensibilidade dos adrenoceptores β_2 vasculares e/ou diminuição da sensibilidade dos adrenoceptores α (SHEN, 1990), alteração do número de receptores adrenérgicos (TIPTON, MATHEES, BEDFORD, 1982), diminuição dos níveis plasmáticos de renina e aldosterona (MELIN, ECLACHE, GEELEN, 1980; McCRIMMON, CUNNINGHAM, RECHNITZER, 1976), liberação de opióides endógenos (HARTLEY, MASON, HOGAN, 1972) e serotonina os quais inibem a estimulação simpática, aumento da liberação de peptídeos nos átrios e nos ventrículos (FREUD, WADE, CLAUBAUGH, 1988) e maior produção de fatores relaxantes derivado do endotélio (GRYGLEWSKI, BOTTING, VANE, 1988; FURCHGOTT, 1983; LUND-JOHANSEN, 1980).

Uma diversidade de substâncias estão implicadas no controle do sistema cardiovascular. Dentre elas: catecolaminas, acetilcolina, angiotensina II, neuropeptídeos como a vasopressina, substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), endotelinas, óxido nítrico, (NO) fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e purinas (BARNES, FERRARIO, CONOMY, 1979; PRIVITERA, THIODEAUX, YATES, 1994; LINDSEY, 1995; GARDNER & BROADLEY, 1999). Recentes trabalhos mostram que o treinamento físico é um estímulo para a maior liberação de fatores vasorelaxantes produzidos ou não pelo endotélio vascular como NO e EDHF, acarretando assim redução dos valores de pressão arterial (JANSKUL & HIRUNPAN, 1999).

ÓXIDO NÍTRICO

O endotélio vascular desempenha um papel fundamental no controle e regulação do tônus vascular. FURCHGOTT & ZAWASDSKI (1980) foram os primeiros pesquisadores a demonstrar que a vasodilatação induzida pela acetilcolina era dependente da presença de um endotélio íntegro, e postularam que as células endoteliais liberavam um fator de relaxamento, denominado fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF). Além da acetilcolina, verificou-se, posteriormente, que outros agonistas como histamina, bradicinina, ATP, trombina, noradrenalina, angiotensina e serotonina eram capazes de liberar EDRF (BHARDWAJ & MOORE, 1988, GRYGLEWSKI *et al.*, 1988).

Estudos fisiológicos e bioquímicos demonstraram que o EDRF e o NO apresentavam a mesma identidade química, sendo sua ação relaxante vascular foi medida pelo acúmulo de GMPc nas células de músculo liso (PALMER, FERRIGE, MONCADA, 1987, IGNARRO *et al.*, 1987). Atualmente, sabe-se que o NO produz ações independentes do GMPc e ativação de canais de K⁺ ativados por Ca²⁺ no músculo liso vascular (BOLOTINA *et al.*, 1994).

O NO é sintetizado a partir de um dos átomos de nitrogênio do grupo guanidino terminal do aminoácido L-arginina através da enzima NO sintase que apresenta grande homologia estrutural com a citocromo P-450 redutase (PALMER, ASHON, MONCADA, 1988, BREDT *et al.*, 1991). Existem três isoformas de NO sintases, divididas basicamente em duas categorias: constitutiva (isoforma I e isoforma III) e a induzível (isoforma II). A isoforma I, denominada neuronal, é encontrada no cérebro, medula espinhal, gânglios simpáticos, glândulas adrenais e neurônios nitrérgicos. A isoforma III é a isoforma ligada à membrana da células endoteliais, e regula o tônus da célula muscular lisa vascular, bem como a adesão e agregação plaquetária. As NO sintases constitutivas encontram-se presentes nas células e são estimuladas por uma cascata bioquímica que envolve a participação dos íons cálcio e a calmodulina. O complexo cálcio-calmodulina leva à ativação da NO sintase constitutiva levando a formação de pequenas quantidades de NO. A isoforma II, induzível, é ativada a partir de determinados estímulos patológicos, tais como citocinas e endotoxinas. Esta isoforma é ativada independente do complexo cálcio-calmodulina, e libera grandes quantidades de NO por períodos de tempo relativamente longos (SCHULZ & TRIGGLE, 1994; DOMINICZACK & BOHR, 1995).

Uma vez liberado, o NO difunde-se rapidamente da célula geradora para a célula alvo, onde interage com moléculas específicas, tais como o ferro, na forma reduzida, contido em determinadas proteínas, como a guanilato ciclase solúvel. A ligação do NO ao grupamento heme da guanilato ciclase solúvel estimula a sua atividade catalítica, levando à formação de GMPc e diminuição dos níveis intracelular de cálcio (figura 1) (MURAD *et al.*, 1992).

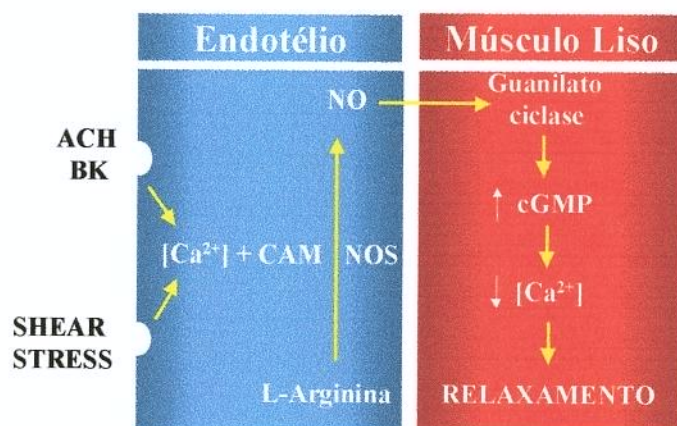


Figura 1: Síntese de óxido nítrico, adaptado de Knowles, 1989.

Compostos estruturalmente análogos à L-arginina inibem competitivamente a NO sintase. Inicialmente, observou-se que a N-monometil L-arginina (L-NMMA) era capaz de inibir a síntese de NO e que este efeito era dose-dependente e estereoseletivo para a forma levógera (PALMER *et al.*, 1988; REES, PALMER, MONCADA, 1989). Posteriormente, outros compostos foram sintetizados: N-nitro-L-arginina (L-NNA), N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) (figura 2) e N-iminoetil-L-ornitina (L-NIO) (MOORE *et al.*, 1990; MULSCH & BUSSE, 1990).

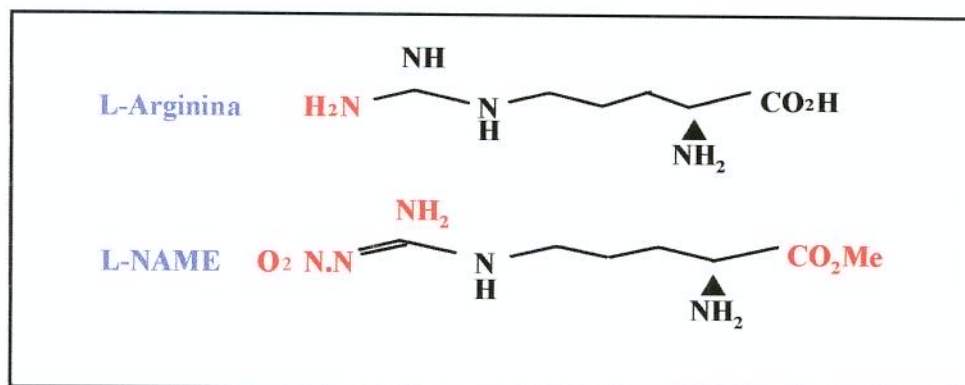


Figura 2: Estrutura química da L-arginina e do L-NAME

A administração aguda de L-NAME em diversas espécies animais resulta em hipertensão arterial a qual é acompanhada por aumento da resistência vascular sistêmica, bradicardia e redução do débito cardíaco (GARDINER *et al.*, 1990; RICHARD *et al.*, 1991; KLABUNDE, RITGER, HELGREN, 1991; VAN GELDEREN, DEN BOER, SAXENA, 1993; BOWER & LAW, 1993; ZAPPELLINI *et al.*, 1996). Embora vários autores sugiram que o aumento da resistência vascular (vasoconstrição) e, conseqüentemente, variações da pré-carga e pós-carga, seja o principal determinante da queda de débito cardíaco, os resultados ainda são contraditórios. No cão anestesiado, por exemplo, a infusão de vasodilatadores tais como o iloprost (análogo de prostaciclina) praticamente inibe o aumento da resistência vascular sistêmica causado pelo L-NAME, mas não modifica a queda de débito cardíaco, indicando assim, que ambos os fenômenos são dissociados (ZAPPELLINI *et al.*, 1996). A possibilidade que a redução do débito cardíaco pelo L-NAME seja secundária à bradicardia também foi descartada em ratos visto que o tratamento dos animais com atropina não modifica esta resposta (WIDOPP *et al.*, 1992). Além disso, o tratamento agudo de animais com inibidores de síntese de NO causam vasoconstrição coronariana associada à diminuição da função inotrópica do miocárdio, indicando assim a importância do NO na perfusão miocárdica (KLABUNDE *et al.*, 1991). Embora tenha sido postulado que a queda de débito cardíaco pelos inibidores de NO seja devido a perfusão coronariana inadequada (KLABUNDE *et al.*, 1991), os resultados ainda são controversos (STAMLER *et al.*, 1994; CLARKSON, LIN, MACDONALD, 1995).

A administração diária de L-NAME (20 mg/dia/rato) a ratos leva a inibição crônica da síntese de NO produzindo elevação de pressão arterial que é acompanhada por alterações funcionais e estruturais do rim (BAYLIS, MITRUKA, DENG, 1992; RIBEIRO *et al.*, 1992) e do coração (MORENO-Jr. *et al.*, 1996). No coração, as anormalidades cardíacas incluem principalmente hipertrofia ventricular, e focos de necrose e fibrose (MORENO-Jr. *et al.*, 1996; BATAL, *et al.* 1997; DEVLII *et al.*, 1998; LUVARA *et al.*, 1998). As lesões cardíacas parecem ser decorrentes da intensa vasoconstrição coronariana provocada pelo L-NAME que leva a menor oferta de oxigênio e nutrientes ao cardiomiócito provocando a morte do mesmo. O miócito morto dá então origem a um tecido conjuntivo cicatricial do tipo fibrótico. Contrariamente à inibição aguda (NAFRIALDI & MIMRAM, 1993; ZAPPELLINI *et al.*, 1996), a hipertensão induzida pelo bloqueio crônico da síntese de NO é marcadamente reduzida por inibidores da enzima conversora de angiotensina e antagonistas de receptores AT₁ de angiotensina II (RIBEIRO *et al.*, 1992; POLLOCK *et al.*, 1993; MORENO-Jr *et al.*, 1995; PECHANOVA *et al.*, 1997; AKUZAWA *et al.*, 1998). Isto indica a importância do sistema renina-angiotensina no desenvolvimento da hipertensão oriunda do tratamento crônico de ratos com L-NAME.

FATOR HIPERPOLARIZANTE DERIVADO DO ENDOTÉLIO (EDHF)

O distribuição do fluxo sanguíneo e o controle da pressão arterial são determinados pela integração de mecanismos de controle neural, humoral e local do sistema cardiovascular. As células endoteliais desempenham importante função no controle local do músculo liso vascular pela liberação de pelo menos dois agentes vasodilatadores, o NO e o EDHF (COHEN & VANHOUTTE, 1995). O mecanismo pelo qual o EDHF causa relaxamento é controverso. Acredita-se que a hiperpolarização da membrana celular da musculatura lisa induzida pelo EDHF através do aumento na condutância aos íons potássio, associado ou não à diminuição dos níveis intracelulares de cálcio resulta em relaxamento vascular (QUAST, 1993).

A importância do NO na regulação da pressão arterial e do tônus vascular já está bem estabelecida, no entanto, o papel do EDHF é, ainda, discutível. Estudos

demonstram que a inibição de óxido nítrico por inibidores específicos ou por radicais livres não abole a vasodilatação induzida por bradicinina ou acetilcolina em músculo liso vascular, confirmando que outros mediadores endoteliais devem participar do controle do tônus vascular, além do NO (FLAVAHAN & VANHOUTTE, 1995). O papel do EDHF em estados patológicos ou no exercício permanece ainda a ser esclarecido. GRIFFIN *et al.*, (1999), demonstraram que o exercício físico regular aumenta o relaxamento vascular em resposta à bradicinina e ao ADP e que este aumento decorre da maior produção de NO e também de EDHF em resposta à atividade física resultando em redução de pressão arterial.

PEPTÍDEO RELACIONADO AO GENE DA CALCITONINA (CGRP)

O peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) é um composto de 37 aminoácidos com potente efeito cardiovascular em humanos, ratos e cobaias (FISHER *et al.*, 1983; TIPPINS *et al.*, 1984; LUNDBERG *et al.*, 1985). O CGRP foi sequenciado através de análises de nucleotídeos do gene da calcitonina de ratos (AMARA *et al.*, 1982). Ele é encontrado no sistema nervoso central, bem como em órgãos periféricos como o coração, vasos sanguíneos, fibras nervosas ao redor dos vasos coronarianos e do miocárdio, glândula pituitária e tireóide (AMARA *et al.*, 1982; LUNDBERG *et al.*, 1985).

A administração de CGRP *in vivo* ou *in vitro* em humanos causa hipotensão, vasodilatação e efeito inotrópico e cronotrópico positivo no coração (FISHER *et al.*, 1983; GENARI & FISCHER, 1985; ZANESCO *et al.*, 1999). Acredita-se que essas ações sejam mediadas através de receptores específicos denominados CGRP1 e CGRP2 (SIGRIST *et al.*, 1986). Assim, CGRP é considerado um potente vasodilatador endógeno. Além disso, foi observado que o conteúdo de CGRP em alguns tecidos apresenta-se aumentado após treinamento físico mostrando que esse peptídeo pode ter um papel importante no controle da pressão arterial em resposta ao exercício (SCHIFTER *et al.*, 1995; LIND *et al.*, 1996).

ADENOSINA E O SISTEMA CARDIOVASCULAR

O grupo das purinas compreende a adenosina e nucleotídeos purinérgicos como adenosina difosfato (ADP), uridina difosfato (UDP), 5'-adenosina trifosfato (ATP) e uridina trifosfato (UTP). Além de seus papéis energéticos, estas substâncias causam uma ampla variedade de efeitos farmacológicos como, redução da frequência cardíaca e pressão arterial, inibição dos movimentos intestinais (DRURY & SZENT-GYORGY, 1929), regulação do fluxo coronariano, vasodilatação, agregação plaquetária e participação em mecanismos de transmissão autonômica (BURNSTOCK, 1978). Além disso, na última década, numerosos trabalhos mostram que a adenosina (e nucleotídeos relacionados), juntamente com a substância P e CGRP, são importantes moduladores endógenos da atividade neuronal de terminações nervosas sensoriais (DUNWIDDIE & FREDHOLM, 1988; NISHIMURA *et al.*, 1990; SAWYNOK *et al.*, 1997; KHAKH, HUMPREY, HENDERSON, 1997; DOWD *et al.*, 1998; KAKUYAMA, VALLANCE, AHLUWALIA, 1998) e, dessa forma, dependendo do receptor, local e espécie animal, as purinas participam de processos neurogênicos como agente inibitórios ou excitatórios (AHLUWALIA & CELLEK, 1997).

Os purinoceptores estão presentes em uma grande variedade de tecidos e tipos celulares (células hematopoiéticas, mastócitos, células miocárdicas, epitélio intestinal, células musculares, endotélio, células secretoras), quer em animais de experimentação, quer em humanos (MARTIN, 1992; CASADO *et al.*, 1992; MOGUL, 1993; PEAKMAN & HILL, 1994; 1996; BRACKETT & DALY, 1994; IWAMOTO *et al.*, 1994; MARQUARDT, WALKER, HEINEMANN, 1994; PORZIG *et al.*, 1995; PUFFINBARGER *et al.*, 1995; LIANG & HALTIWANGER, 1995; DIXON *et al.*, 1996; PRENTICE & HOURANI, 1996).

Os receptores da adenosina (e nucleotídeos relacionados) foram, durante muito tempo, classificados em subtipos P₁ e P₂, onde os primeiros eram tidos como os responsáveis pelos efeitos biológicos da adenosina, enquanto os últimos, pelos efeitos do ADP e ATP (BURNSTOCK, 1978). Entretanto, em vista do grande avanço na clonagem e expressão molecular dos sub-tipos de receptores purinérgicos, uma nova avaliação e classificação desses receptores foi recentemente feita pelo *Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification* pela IUPHAR (FREDHOLM *et al.*, 1997).

De acordo com essa nova classificação, os receptores P_1 foram divididos em 3 novas classes, denominados A_1 , A_2 e A_3 . O receptor A_2 foi ainda sub-dividido em dois sub-tipos: A_{2A} e A_{2B} (ONGINI & FREDHOLM, 1996). Em relação ao mecanismo de transdução desses receptores, sabe-se que a ativação dos receptores A_1 e A_3 determina inibição da adenil ciclase, reduzindo a formação do AMPc intracelular (CARRUTHERS & FOZARD, 1993). Ao contrário, os sub-tipos A_{2A} e A_{2B} são acoplados à proteína G e, uma vez estimulados, determinam ativação da adenil ciclase. Mais recentemente, foi relatado que algumas das ações mediadas pelos receptores A_{2B} são moduladas por outras vias que não a do AMPc (FREDHOLM, ZHANG, VAN DER PLOEG, 1996; FEOKTISTOV & BIAGGIONI, 1997).

Os receptores P_2 permanecem com a mesma denominação, divididos em duas classes, segundo seus mecanismos de acoplamento e estrutura molecular: P_{2X} (aqueles ligados à canais iônicos) e P_{2Y} (receptores com 7 domínios de membrana acoplado à proteína G). Dessas duas classes, vários sub-tipos já foram clonados tais como P_{2X1} , P_{2X2} , P_{2X3} e P_{2Y1} , P_{2Y2} , P_{2Y3} , P_{2Y4} , P_{2Y5} , P_{2Y6} , P_{2Y7} e P_{2Y11} (KHAKH *et al.*, 1997). O RNA mensageiro dos vários sub-tipos de receptores P_{2X} estão expressos em gânglios sensoriais (COLLO *et al.*, 1996).

A adenosina exerce efeitos inotrópicos e cronotrópicos negativos no coração. Os receptores A_1 e A_3 parecem ser os responsáveis pelos efeitos depressores da atividade rítmica do coração, através da inibição da adenilato ciclase ou ativação de canais de potássio acoplado ao receptor (TAWFIK-SCHLIEPER *et al.*, 1989; HORI & KITAKAZE, 1991). A infusão de adenosina no nodo sinoatrial induz diminuição da frequência cardíaca em cães (BELLONI, 1985), coelhos (WEST & BELARDINELLI, 1985) e em humanos (DRURY & SZENT-GYORGYL, 1929).

A adenosina é liberada quando ocorre deficiência no aporte de oxigênio para o tecido, como por exemplo: isquemia, hipoxia e durante o exercício (BERNE, 1971; SCHRADER, HADDY, GERLACH, 1977; BARDENHEUER & SCHRADER, 1986). O exercício é o único agente estressor que desencadeia adaptações positivas no coração. Durante o exercício, ocorre um aumento na demanda de oxigênio em vários tecidos e no coração e consequente elevação dos níveis de adenosina no miocárdio e no efluxo

coronariano, indicando que a maior liberação de adenosina no tecido cardíaco seria um mecanismo protetor em resposta à isquemia.

Além disso, a adenosina produz dilatação dos vasos coronarianos e da musculatura lisa vascular sistêmica promovendo hipotensão (JAMES, 1965; ENDOH, MARUYAMA, TAIRA, 1983). Acredita-se que a vasodilatação em resposta a liberação de adenosina, proporciona um aumento na liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio. (RUBANYI, ROMERO, VANHOUTTE, 1986). A dilatação arteriolar induzida pela adenosina aumenta o fluxo sanguíneo dos tecidos envolvidos (BELLARDINELLI, LINDEN, BERNE, 1989). Desta maneira, a adenosina desempenha um importante papel no controle da pressão arterial.

SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

O sistema nervoso simpático e parassimpático têm papel fundamental na gênese e/ou manutenção do estado hipertensivo. Diversos trabalhos mostram que as respostas adrenérgicas e colinérgicas do sistema cardiovascular são afetadas em resposta ao exercício (CHANDLER *et al.*, 1997; KRIEGER *et al.*, 1998).

NEUROTRANSMISSÃO ADRENÉRGICA

As catecolaminas são os mediadores endógenos do sistema nervoso simpático, os quais iniciam suas ações por interação com receptores de membrana, denominados adrenoceptores (AHLQUIST, 1948). Esses mediadores são representados pela noradrenalina (liberada das terminações nervosas pós-ganglionares simpáticas), adrenalina (liberada da medula adrenal) e dopamina. A ocupação dos adrenoceptores pelas catecolaminas é rápida, reversível, saturável, estereoseletiva e leva à formação de segundos mensageiros intracelulares que desencadeiam as respostas fisiológicas.

Os adrenoceptores foram inicialmente divididos em duas grandes categorias, α e β (LANDS *et al.*, 1967). Posteriormente, os adrenoceptores foram subdivididos em α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3 e β_4 pelo uso de antagonistas seletivos e sequenciamento dos aminoácidos que

participam de suas estruturas proteicas. Os subtipos α são ainda subdivididos em α_{1a} , α_{1b} , α_{1D} , α_{2a} , $\alpha_{2b'}$ e α_{2c} (LANDS *et al.*, 1967; LANGER, 1974; BERTHELSEN & PETTINGER, 1977; STARKE, 1981; FORD *et al.*, 1994).

Os adrenoceptores pertencem a uma super família de receptores de membrana estritamente relacionados e acoplados às proteínas G. Todas essas proteínas receptoras compartilham uma estrutura peptídica comum na qual a porção amino terminal (N) no lado extracelular da membrana é conectada à uma cadeia carboxilica terminal (C) no lado intracelular da membrana, por sete domínios transmembrana. O tamanho relativo das cadeias N- e C-terminais e da terceira alça intracelular varia consideravelmente de receptor para receptor (RAYMOND *et al.*, 1990; BIRNBAUMER, 1992). A terceira alça intracelular dos adrenoceptores β é o sítio de acoplamento desses receptores com a proteína G.

As proteínas G são heterotrímeros consistindo de uma subunidade hidrofílica α , e duas subunidades hidrofóbicas β e γ . Baseadas na presença de isoformas da subunidade α , foram identificadas vinte e cinco proteínas G distintas: quatro isoformas de Gs; três de Gi; duas isoformas de Go; uma Gz; duas Gq e duas transducinas. Destas, somente oito foram purificadas livres e não associadas a outros elementos da membrana. Na ausência de agonista, quando a proteína G está na forma inativa, uma molécula de guanosina difosfato (GDP) encontra-se ligada à subunidade α formando um complexo associado às subunidades β e γ . Na presença do agonista, o receptor ativado interage com a proteína G e induz a troca de GDP por guanosina trifosfato (GTP) na subunidade α . Após ligar-se ao GTP, a subunidade α dissocia-se das subunidades $\beta\gamma$ e torna-se ativada. A subunidade α permanece livre até que ocorra a hidrólise de GTP e a formação novamente de GDP, levando à sua reassociação com as subunidades $\beta\gamma$ (BIRNBAUMER, 1990, 1992). A subunidade α da proteína Gs, quando ativada, leva à estimulação da adenilato ciclase (RODBELL, 1980; GILMAN, 1987).

Os adrenoceptores α_1 , quando acoplados a proteína Gq, ativam a fosfolipase C levando à formação dos segundos mensageiros inositol trifosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG), os quais resultam no aumento de cálcio intracelular e na ativação da proteína

quinase C (EXTON, 1985). Os adrenoceptores α_2 parecem mediar a resposta fisiológica através da inibição da adenilato ciclase (DOCHERTY, 1998).

As respostas dos adrenoceptores β são mediadas através da ativação da adenilato ciclase (EMORINE *et al.*, 1989, COHEN *et al.*, 1999) e consequente estimulação de uma proteína G, denominada Gs, a qual leva a um aumento de AMP cíclico intracelular e ativação da proteína quinase A (BRODDE, 1993). Também sob determinadas condições, o adrenoceptor β_2 pode estar acoplado a uma proteína G (G_i) inibitória de adenilato ciclase (DAAKA *et al.*, 1997; XIAO *et al.*, 1999).

O adrenoceptor β_1 é o subtipo mais abundante (75-85%) no coração do mamífero e o receptor β_2 também é detectável no tecido cardíaco (BRISTOW *et al.*, 1986; BRODDE, 1993; KAUMANN & MOLENNAR, 1997). Estudos recentes têm demonstrado a existência de receptores β_3 e β_4 no miocárdio de ratos e humanos (GAUTHIER *et al.*, 1996; MOLENAAR *et al.*, 1997; KAUMANN *et al.*, 1998; COHEN *et al.*, 1999). O receptor adrenérgico β_3 parece promover efeito inotrópico negativo (GAUTHIER *et al.*, 1996), ao contrário do β_4 que semelhante ao β_1 e β_2 promovem efeito inotrópico positivo (KAUMANN & MOLENNAR, 1997; KAUMANN *et al.*, 1998). A estimulação dos receptores β -adrenérgicos por catecolaminas circulantes ou agonistas adrenérgicos leva ao aumento da frequência cardíaca (cronotropismo positivo), força de contração (inotropismo positivo), frequência de relaxamento cardíaco e automaticidade (POST *et al.*, 1999).

Os adrenoceptores β podem ser regulados por diferentes estímulos, aumentando ou diminuindo sua expressão funcional e/ou numérica. O aumento do efluxo de catecolaminas promove diminuição na expressão e no acoplamento dos receptores aos seus efetores enquanto que a diminuição dos níveis de catecolaminas produz aumento na expressão e/ou na eficácia da resposta celular (STYLES *et al.*, 1984).

NEUROTRANSMISSÃO COLINÉRGICA

Os receptores colinérgicos são classificados em dois tipos principais: nicotínicos que respondem à nicotina e muscarínicos que exibem resposta excitatória à muscarina). Os receptores nicotínicos compreendem dois subtipos: Nn (neuronal) e Nm (muscular e ganglionar), os quais estão presentes no sistema nervoso central, na junção neuromuscular e nos gânglios autonômicos. São constituídos por quatro ou cinco subunidades alojadas na membrana, formando um canal iônico central, que atua como o sítio de ligação da acetilcolina, e está situado no domínio extracelular da molécula do receptor (EGLEN *et al.*, 1996).

Os receptores muscarínicos são classificados em cinco subtipos distintos, denominados M₁, M₂, M₃, M₄ e M₅ (BONNER *et al.*, 1987; GOYAL, 1988; DORJE *et al.*, 1991; CAULFIELD, 1993).

Em coração de mamíferos, a população predominante de receptores muscarínicos é do subtipo M₂ (HAMMER & GIACHETTI, 1982), cujos efeitos cronotrópicos e inotrópicos negativos estão associados à inibição da atividade da adenilato ciclase ocasionada pelo acoplamento do receptor às proteínas Gi ou GK (PETERSON *et al.*, 1984; MAEDA *et al.*, 1988; EGLEN *et al.*, 1996). Nas células endoteliais do tecido vascular estão presentes os receptores muscarínicos M₃, os quais, após estimulação, induzem a liberação do óxido nítrico que se difunde para as células adjacentes do músculo liso causando relaxamento. A vasodilatação também pode ocorrer pela ação da acetilcolina em receptores pré-sinápticos dos terminais nervosos adrenérgicos, que promovem a inibição da liberação de noradrenalina (FURCHGOTT, 1984; PALMER *et al.*, 1988; MONCADA *et al.*, 1991).

As fibras parassimpáticas colinérgicas estão distribuídas extensamente nos átrios e nos tecidos especializados de condução (nodos sinoatrial, atrioventricular e fibras de Purkinje), enquanto que no miocárdio ventricular, esta inervação é esparsa (KENT *et al.*, 1974; LEVY & SCHWARTZ, 1994). O impulso cardíaco normal é iniciado no nodo sinoatrial, pela despolarização espontânea das células do marca-passo. O potencial de ação é conduzido pelas fibras do músculo atrial do nodo atrioventricular e, em seguida, pelas fibras de Purkinje no músculo ventricular.

A acetilcolina diminui a frequência cardíaca (efeito cronotrópico negativo) e a frequência de condução em tecidos especializados dos nodos sinoatrial e atrioventricular (efeito dromotrópico negativo) através da diminuição da frequência de despolarização diastólica espontânea (a corrente do marca-passo) e pelo aumento da corrente de repolarização no nodo sinoatrial; retardando assim, o limiar do potencial e os sucessivos efeitos do ciclo cardíaco (DI FRANCESCO, 1993).

ESTRUTURA CARDÍACA

O tecido cardíaco é constituído por células cardíacas denominadas cardiomiócitos, essas células compreendem 70% do tecido miocárdico. Além dos cardiomiócitos existem, os vasos sanguíneos, as substâncias amorfas intersticiais e a rede fibrilar de colágeno, também chamada matriz colágena intersticial miocárdica (PFEFFER, 1995). O colágeno encontrado nesta matriz, é sintetizado pelos fibroblastos, que são células também presentes no interstício miocárdico. A função do colágeno é manter a posição espacial dos cardiomiócitos durante o ciclo cardíaco, impedindo estiramentos excessivos da câmara ventricular, permitir a transmissão de força gerada pelo sarcômero para a câmara ventricular e possibilitar a restauração do comprimento diastólico do cardiomiócito após o relaxamento miocárdico (BORG & CAUFIELD, 1981; KLASSEN, BARCKAY, WONG, 1996). O colágeno é uma proteína cujas características físicas e químicas dependem da composição de suas cadeias polipeptídicas, tendo sido descrito 18 tipos de colágeno. No miocárdio, foram identificados os tipos I, III, IV, V e VI. Os colágenos I, III e V assumem a forma fibrilar e os outros dois tipos estão intimamente ligados às células e à adventícia dos vasos (MEDURAC, 1982; BASHEY, MARTINEZ-FERNANDEZ, JIMENEZ, 1992). O colágeno tipo I representa 85% da rede fibrilar intersticial, possui característica densa, portanto, modificações de sua concentração no tecido resultam em alterações das propriedades físicas do miocárdio. As fibras colágenas tipo III representa 11% da rede intersticial. Elas possuem maior elasticidade quando comparado com as fibras colágeno tipo I (BURTON, 1954).

Alterações estruturais e anatômicas da parede do ventrículo ocorrem ao longo do tempo, após agressões de diferentes etiologias. Tais alterações correspondem à condição de reestruturação e remodelação ventricular ou hipertrofia do miocárdio (ANVERSA, RICCI, OLIVETTI, 1985). Na hipertrofia cardíaca podem ocorrer modificações dos cardiomiócitos e/ou das fibras colágenas em decorrência de sobrecarga de pressão e/ou volume sobre o miocárdio (KRIEGER, 1994). Na sobrecarga de pressão desenvolve-se a hipertrofia concêntrica com aumento em paralelo das miofibrilas, reduzindo o raio ventricular. Esta hipertrofia é denominada de patológica, e normalmente, acompanha o desenvolvimento da hipertensão arterial. MORENO-Jr *et al.*, (1996) demonstraram que a hipertensão crônica desenvolvida através da inibição da síntese de óxido nítrico com L-NAME (dose 20 mg/dia/rato) promove hipertrofia ventricular acompanhada de necrose e fibrose celular. A sobrecarga de volume sanguíneo sobre o miocárdio, desenvolve a hipertrofia excêntrica, também denominada, hipertrofia fisiológica. Ela é caracterizada por aumento dos sarcômeros em série e alongamento das fibras, resultando em aumento da dimensão diastólica final do ventrículo esquerdo (enchimento venoso), melhorando seu desempenho e sua função como bomba. Estudos em animais e humanos demonstram que o treinamento físico favorece o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca fisiológica (SCHEUER & TIPTON, 1977; MOLE, 1978).

MODELOS DE HIPERTENSÃO E ATIVIDADE FÍSICA

Na tentativa de avaliar os efeitos da atividade física sobre a função cardiovascular, diferentes modelos de hipertensão experimental têm sido empregados. Em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) verificou-se que a atividade física por corrida durante 8 semanas retarda (mas não previne) o aparecimento do estado hipertensivo nos animais jovens, enquanto que nos animais em que a hipertensão já está estabelecida, o treinamento não altera os valores de pressão arterial (HOFFMAN, 1987). Enquanto que na hipertensão renovascular, observou-se que o treinamento físico por natação não produz qualquer mudança nos valores de pressão arterial após 4, 8 ou 12 semanas de treinamento (MORENO-Jr, CEZARETI, PIÇARRO, 1995).

Em relação ao modelo de hipertensão arterial induzido pelo bloqueio crônico da síntese de óxido nítrico, os trabalhos com treinamento físico ainda foram pouco explorados. Este modelo de hipertensão arterial foi descrito por RIBEIRO *et al.* (1992) e a partir de então vêm sendo intensamente empregado para avaliar o papel do óxido nítrico no controle da hipertensão arterial (ZATZ & BAYLIS, 1998). Em nosso grupo de trabalho temos usado este modelo principalmente para compreensão do papel do óxido nítrico no músculo cardíaco (MORENO-Jr *et al.*, 1995; 1996, OLIVEIRA *et al.*, 1999; RIADO *et al.*, 1999).

OBJETIVOS

Assim o presente trabalho procurou avaliar o papel da atividade física regular por natação prévia ou concomitante ao tratamento com L-NAME sobre a pressão arterial e possíveis alterações na função cardíaca.

Os objetivos específicos desse trabalho foram:

- Avaliar os valores de pressão arterial antes, durante e após os diferentes tratamentos experimentais.
- Avaliar alterações cronotrópicas positivas e negativas em átrios direitos isolados de ratos através da potência ao agonista β adrenérgico, isoproterenol e ao agonista muscarínico, carbachol.
- Avaliar as possíveis alterações morfológicas (diâmetro do cardiomiócito e tecido conjuntivo) em átrios e ventrículos após os diferentes tratamentos experimentais.
- Caracterizar o estado de treinamento físico por natação através dos níveis de lactato plasmáticos.

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS

Foram usados em todos os experimentos ratos Wistar, pesando entre 150 g a 400 g. provenientes do Centro Multiinstitucional de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB-UNICAMP, Campinas, SP) Os ratos foram alojados, pelo menos por uma semana, no biotério de manutenção do Departamento de Farmacologia UNICAMP, em gaiolas coletivas. Ração foi fornecida *ad libitum*.

GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos para cada protocolo experimental :

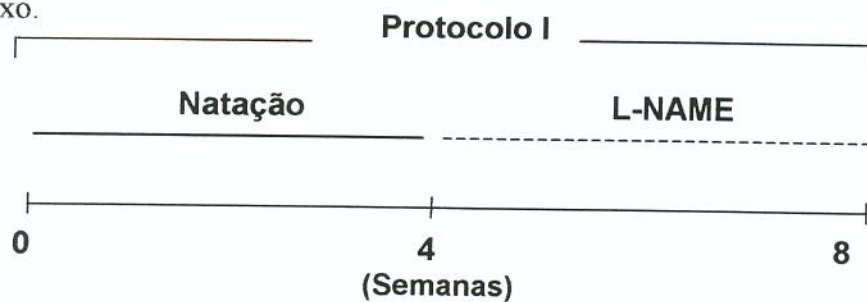
1. Controle, sem qualquer manipulação (sedentário);
2. Tratados com N^ω-nitro-L-arginina metil éster, sem treinamento (L-NAME);
3. Treinados por natação (treinado);
4. Treinados por natação previamente e/ou simultaneamente ao tratamento com L-NAME (treinado + L-NAME).

PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Neste estudo foram desenvolvidos três protocolos experimentais:

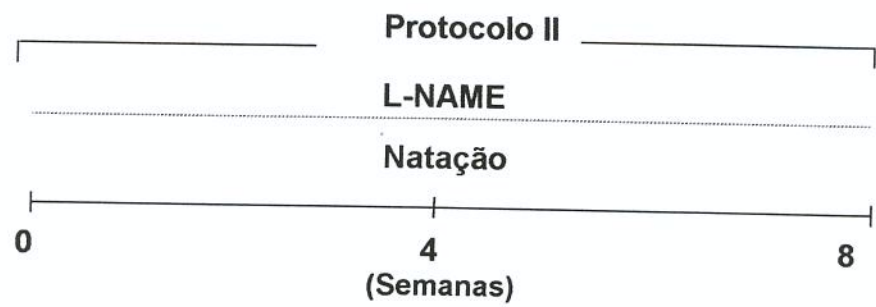
PROTOCOLO I

Os animais foram submetidos ao treinamento físico por natação durante 4 semanas previamente ao tratamento com L-NAME. O tratamento com L-NAME durante 4 semanas, foi iniciado logo após o término do treinamento, conforme pode ser obserado no diagrama abaixo.



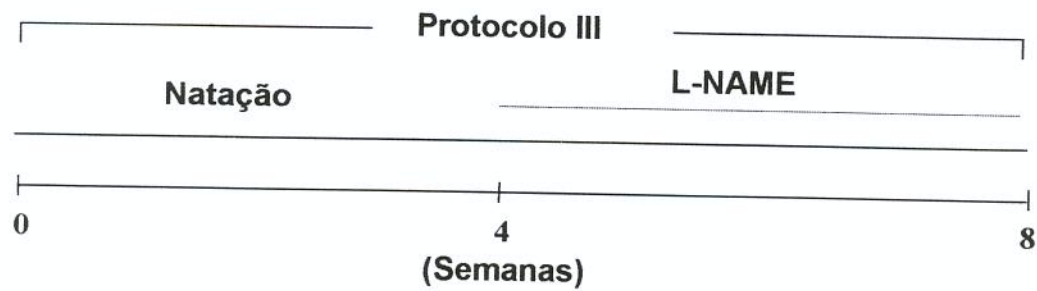
PROTOCOLO II

Os animais foram submetidos ao treinamento físico por natação durante 8 semanas simultâneo ao tratamento com L-NAME.



PROTOCOLO III

Os animais foram submetidos ao treinamento físico por natação prévio e posteriormente simultâneo ao tratamento com L-NAME, com um período total de oito semanas. O tratamento com L-NAME, neste protocolo, foi iniciado na quinta semana do estudo com duração de quatro semanas.



TREINAMENTO FÍSICO

Na primeira semana de estudo, os animais passaram por um período de adaptação ao ambiente aquático que consistiu de aumentos progressivos no tempo de natação, iniciando-se com 15 minutos, na primeira sessão, aumentando-se 15 minutos a cada dia, até completar o tempo total de 60 minutos.

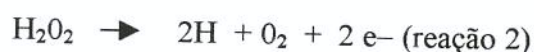
Os animais foram submetidos então, a sessões de natação de sessenta minutos cada, 5 vezes por semana, durante quatro ou oito semanas consecutivas, conforme os protocolos experimentais empregados. As sessões foram realizadas num tanque de amianto com 100 cm de comprimento, 70 cm de largura e 60 cm de altura. A profundidade da água foi de 40 cm, para evitar que os ratos apoiassem a cauda no fundo do tanque. A temperatura da água foi de $32 \pm 1^\circ \text{C}$. Os animais foram treinados em grupos de 10 ratos.

AValiação DO Condicionamento Físico DOS Animais:

Para controle do efeito do treinamento no condicionamento físico dos animais submetidos à natação foi realizado um teste de esforço para a determinação do lactato sanguíneo que consistiu de uma única sessão de 1 hora. O teste foi realizado em todos os grupos estudados sendo que para os animais treinados, a coleta de sangue foi efetuada somente 48 horas após o término última sessão de treinamento para evitar a interferência da última sessão de natação na análise. Foram coletadas amostras de sangue da extremidade da cauda dos ratos para determinação de teores de lactato sanguíneo a cada 20 minutos.

Coletou-se 25 μl sangue desprezando-se a primeira gota para obtenção dos valores de lactato sanguíneo. Imediatamente, o sangue foi diluído em 50 μl de solução de fluoreto de sódio (1%), contida em tubos de Eppendorf. As amostras coletadas foram estocadas em freezer para posterior análise que foi feita através do método eletroquímico segundo YSL 2300 STAT (Yellow Spring, Inc. E.U.A) e expressos em mM.

A determinação do ácido láctico baseia-se primariamente na existência de um sensor de prova e três camadas de membranas. A camada média contém a enzima L-lactato oxidase numa forma imobilizada. A face da prova, coberta pela membrana, está situada em uma câmara contendo tampão na qual é injetada a amostra. Uma parte do substrato difunde-se através da membrana e quando ocorre o contato entre a amostra e a enzima L-lactato oxidase produz-se peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (reação 1) que é então oxidado, no ânodo de platina, produzindo elétrons (reação 2).



O fluxo de elétron é linearmente proporcional a concentração de equilíbrio de peróxido de hidrogênio e, portanto, proporcional à concentração de lactato. Os valores de lactato são lidos então no aparelho

TRATAMENTO COM L-NAME

O tratamento com o N^o -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) foi realizado segundo RIBEIRO *et al.* (1992). L-NAME foi acrescentado à água a ser ingerida pelos animais, numa concentração de aproximadamente 40 mg/L com uma dose diária de 2 mg para cada rato durante quatro ou oito semanas, seguindo os tratamento experimentais.

MEDIDA DE PRESSÃO ARTERIAL

A pressão arterial foi verificada em todos os grupos experimentais através da medida indireta de pressão arterial de cauda modificada por ZATZ (1990). Os ratos foram colocados em uma gaiola plástica pré-aquecida a uma temperatura média de 37-39 °C, para que houvesse uma dilatação dos vasos caudais, facilitando a captação das pulsações, onde

permaneceram por aproximadamente 20 minutos. Passado este tempo, cada animal foi colocado num contensor (Modelo 1262. NARCO Bio Systems, Inc. Houston, Texas, EUA). Um manguito adaptado foi colocado na cauda do animal, que foi untada com graxa (evitando interferências na captação do som), sendo então introduzida em um tudo de borracha acoplado a um microfone, capaz de captar sinais com amplitude máxima de 0.5 mV. O registro produzido por este microfone era visualizado em um osciloscópio (Modelo CS 4025, Kenwood Corporation, Japão). O manguito era insuflado até 20-30 mmHg acima do valor de registro, onde as pulsações não eram mais visualizadas no osciloscópio. O manguito era, então, desinsuflado e quando as pulsações recomeçavam continuamente, a primeira pulsação era considerada como valor da pressão sistólica que era determinada por visualização direta das pulsações no osciloscópio e lidas em um manômetro externo. Para minimizar os efeitos do estresse sofrido pelos animais, as leituras eram consideradas válidas quando três determinações consecutivas com variações não maiores que 2 mmHg eram registradas. As medidas foram realizadas antes do início do estudo (tempo zero), repetidas semanalmente e a última medida foi efetuada 48 horas após a última sessão de natação dos animais

ANÁLISE HISTOLÓGICA DO CORAÇÃO

O estudo para análise de possíveis alterações histopatológicas dos ventrículos e átrios foi feito após o período de treinamento e/ou tratamento comparados com os animais controles. Após o sacrifício, os corações foram retirados e colocados em solução de formol 10%. Os ventrículos e os átrios foram cortados em cinco níveis equidistantes (anéis) ao longo de seu maior eixo. Os anéis foram embebidos em parafina, em cortes longitudinais de 5 μ m, e corados com tricromo de Masson. A seguir, o grau de fibrose do miocárdio foi avaliado quantitativamente pelo método de volumetria de pontos. A análise histológica foi feita em microscópio óptico (Zeiss, Alemanha), e o volume relativo ocupado por tecido conjuntivo em ventrículos e átrios foi medido com uma ocular especial contendo um retículo de integração de 25 pontos (5 linhas paralelas com 5 pontos cada). Aleatoriamente, em uma lâmina, os elementos do coração de cada um dos animais foram contados. Assim,

avaliamos o número de vezes em que os pontos caem sobre tecido conjuntivo em 25 campos microscópicos. A fim de se obter a fração de volume ocupada, por tecido conjuntivo (Ppi), o seguinte cálculo foi usado:

$$Ppi = p/P$$

Onde, p é a soma do número de pontos que caem sobre áreas preenchidas com tecido conjuntivo, P é o número total de pontos que caem no campo total da lâmina.

Os cardiomiócitos foram medidos usando um sistema de luz óptica através de um micrômetro com uma objetiva de 40x (400 ampliações). Dez células foram selecionadas ao acaso e o diâmetro das fibras subepicárdica, mediomiocárdica e subendocárdica foram medidas em cada animal dos diferentes grupos experimentais.

ÁTRIOS DIREITOS ISOLADOS

Após o período de treinamento e/ou tratamento com L-NAME , os animais foram anestesiados e sacrificados por secção dos vasos cervicais. Os corações foram rapidamente removidos e colocados em Krebs-Henseleit, previamente oxigenado. Os átrios direitos foram isolados e montados em câmaras de incubação de tecido (20 ml volume) contendo Krebs-Henseleit, pH 7,3 a 7,5, 37°C e aerado com 95% O₂-5% CO₂. A composição da solução de Krebs-Henseleit foi (milimolar): NaCl, 124; KCl, 4,75; MgSO₄, 1,30; CaCl₂, 2,25; NaHCO₃, 25,0; NaH₂PO₄, 0,6; glicose, 10,0; ascorbato, 0,3; e EDTA, 0,03. Ascorbato e EDTA foram adicionados para evitar a oxidação das catecolaminas (HUGHES & SMITH, 1978). Nesta solução de Krebs-ringer bicarbonato, o 17-β-estradiol foi adicionado para evitar a metabolização do isoproterenol (HUGHES & SMITH, 1978).

OBTENÇÃO E ANÁLISE DAS CURVAS CONCENTRAÇÃO-EFEITO

Curvas concentração-efeito para as ações cronotrópicas negativas ao agonista muscarínico, carbacol, e para as ações cronotrópicas positivas ao agonista β adrenérgico, isoproterenol foram obtidas através do aumento cumulativo das concentrações do agonista em meia unidade logarítmica entre doses sucessivas (VAN ROSSUM, 1963).

Todos os dados das curvas concentração-efeito foram avaliados segundo a equação:

$$E = E_{\max}/((1+(10^c/10^x)^n) + \Phi)$$

onde E é o aumento da frequência de batimentos atriais em resposta ao agonista (efeito); $E_{\max}$ é a resposta máxima que o agonista pode produzir; c é o logaritmo da EC_{50} , definida como a concentração do agonista que produz metade da resposta máxima; x é o logaritmo das concentrações do agonista; o exponencial, n, é o coeficiente angular ou inclinação, que define o tipo de curva concentração-efeito obtida, e Φ é a resposta observada na ausência do agonista. Análise de regressão não linear para determinar os parâmetros $E_{\max}$, log EC_{50} e n foi empregada usando o programa GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA) com o valor basal dos batimentos valendo zero, ($\Phi =$ zero).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados como média $\pm$ erro padrão das médias (E.P.M.). O programa InStat (GraphPad Software) foi usado para as análise estatísticas. A análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni foram utilizados para comparações múltiplas das variáveis independentes. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

Protocolo Experimental I



CONCENTRAÇÃO DE LACTATO SANGUÍNEO

Observamos que os animais que foram submetidos à natação por 4 semanas, apresentaram valores de lactato sanguíneo significativamente menores a partir dos 20 minutos de coleta, quando comparados com os animais do grupo sedentário ou tratados com L-NAME (figura 3).

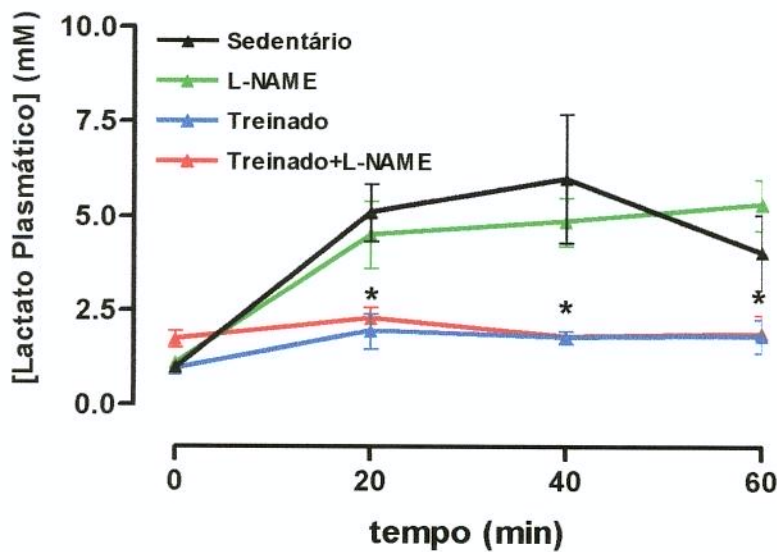


Figura 3: Efeito do treinamento por natação durante 4 semanas na concentração plasmática de lactato em ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 5 animais. *, $P < 0.05$ ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

Os animais sedentários e treinados não apresentaram qualquer alteração de pressão arterial no decorrer das oito semanas, enquanto que os animais tratados com L-NAME apresentaram aumento significativo de pressão arterial. À partir da segunda semana de tratamento os animais que treinaram previamente à administração de L-NAME, apresentaram significativa atenuação da elevação da pressão arterial a partir da sétima semana quando comparados aos animais não treinados ou que receberam L-NAME (figura 4).

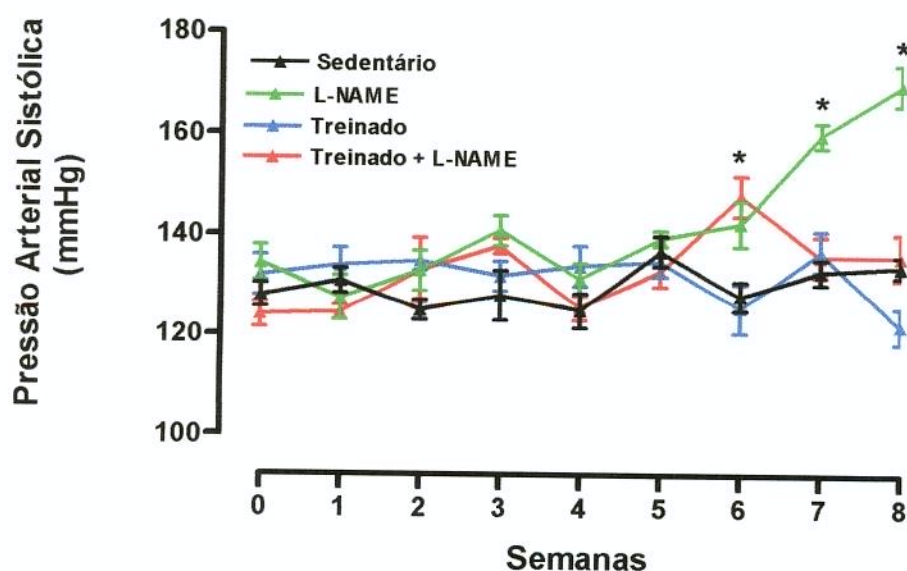


Figura 4: Evolução temporal dos valores de pressão arterial sistólica de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 10 animais. * $P < 0.05$, ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

PESO CORPORAL

Não verificamos qualquer alteração no ganho de peso corporal dos animais entre os grupos estudados (figura 5).

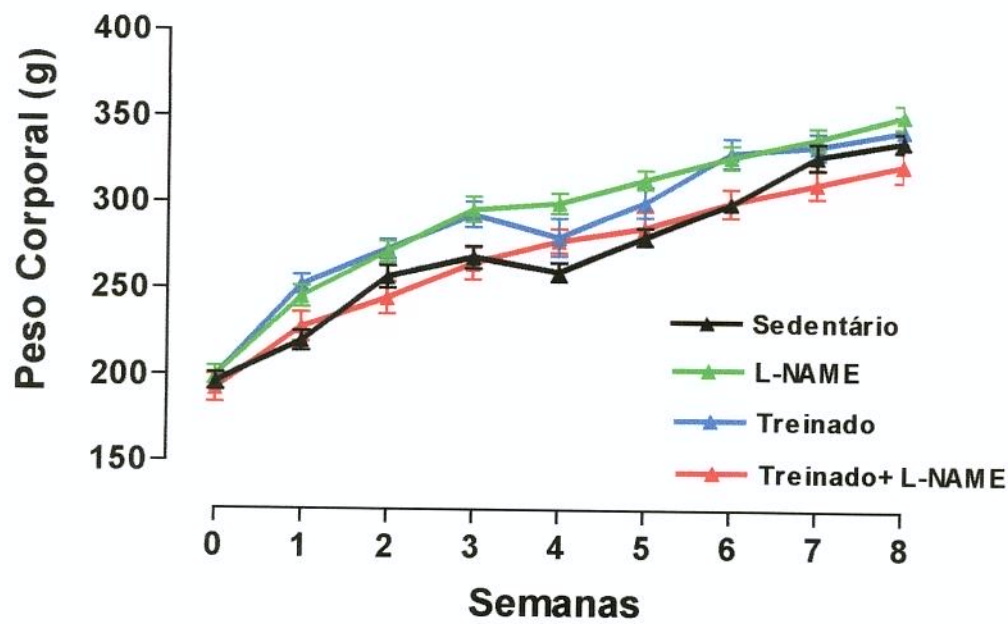


Figura 5: Evolução temporal dos valores de peso corporal de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias ± E.P.M. de 6 a 10 animais.

FREQUÊNCIA ATRIAL BASAL

A frequência atrial basal dos animais foi verificada antes da realização das curvas concentração-efeito. Não observamos qualquer diferença entre os valores dos batimentos espontâneos dos átrios isolados entre os grupos estudados (tabela 1).

Tabela 1: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na frequência basal de átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Frequência basal (bat/min)	N
Sedentário	300 ± 19.5	7
L-NAME	268 ± 12	7
Treinado	318 ± 12.5	6
Treinado + L-NAME	296 ± 19	8

Os dados são médias $\pm$ E.P.M. , N números de animais.

RESPOSTA CRONOTRÓPICA AO AGONISTA β -ADRENÉRGICO: ISOPROTERENOL

O efeito do treinamento físico por natação e da inibição da síntese de óxido nítrico por L-NAME na sensibilidade da resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados foi avaliado ao final do tratamento. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa na potência ao isoproterenol entre os grupos experimentais (L-NAME e Treinado e posteriormente tratado com L-NAME) quando comparados com os grupos controles (Sedentário e Treinado). As curvas concentração-efeito estão ilustradas na figura 6 e os valores de pEC₅₀ do agonista estão sumarizados na tabela 2.

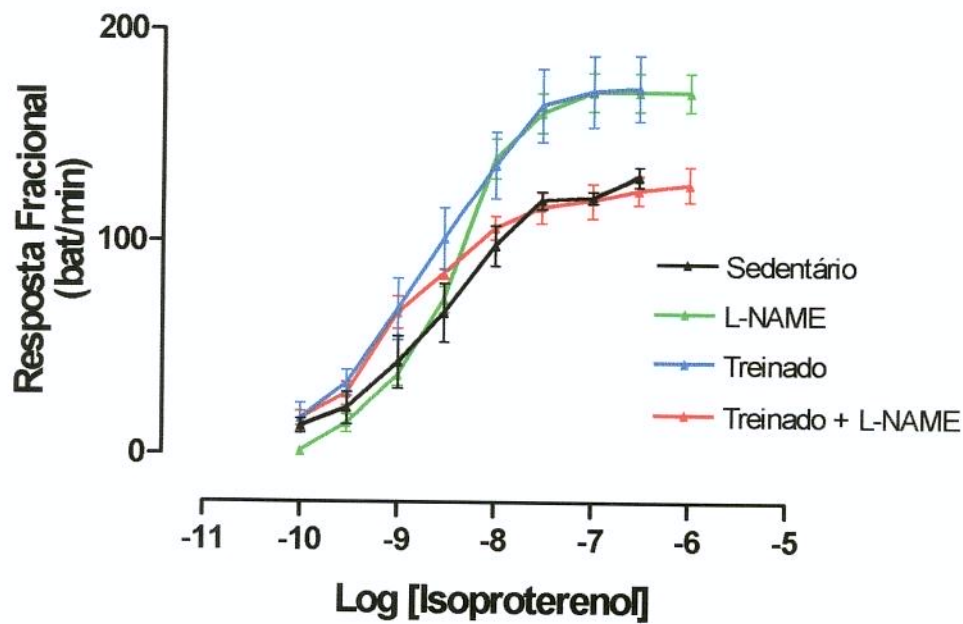


Figura 6: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 8 animais.

Tabela 2: Efeito do treinamento físico por natação prévio ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	pEC ₅₀	DESVIO ^a	N
Sedentário	8.53 ± 0.17		7
L-NAME	8.47 ± 0.05	1.1	7
Treinado	8.65 ± 0.17	1.3	6
Treinado + L-NAME	8.98 ± 0.09	2.8	7

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

a, antilogarítimo da diferença entre os valores da pEC₅₀

Tabela 3: Efeito do treinamento físico por natação prévio ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	pEC ₅₀	DESVIO ^a	N
Sedentário	6.7 ± 0.17		7
L-NAME	6.38 ± 0.11	2.0	7
Treinado	6.69 ± 0.10	1.0	6
Treinado + L-NAME	6.62 ± 0.17	1.2	8

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

a, antilogarítimo da diferença entre os valores da pEC₅₀

RESPOSTA MÁXIMA AO ISOPROTERENOL E CARBACOL

A influência da atividade física na resposta máxima ao isoproterenol e ao carbacol foi analisada após obtenção das curvas concentração-efeito a cada agonista. Não observamos qualquer diferença estatisticamente significativa nos valores de resposta máxima ao agonista carbacol entre os grupos estudados. No entanto, para o isoproterenol, a resposta máxima foi significativamente aumentada nos animais treinados e no grupo que recebeu apenas L-NAME, quando comparados com os animais dos outros grupos (Treinado e tratado com L-NAME e Sedentário), (tabela 4).

Tabela 4: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na resposta máxima aos agonistas isoproterenol e carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Carbacol (bat/min)	N	Isoproterenol (bat/min)	N
Sedentário	- 154 ± 23	7	132 ± 5	6
L-NAME	- 147 ± 14	7	171 ± 9*	7
Treinado	- 197 ± 22	6	173 ± 16*	6
Treinado + L-NAME	- 169 ± 18	8	126 ± 7	7

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

* P<0.05, ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

DIMENSÕES DOS CARDIOMIÓCITOS VENTRICULARES

O diâmetro dos cardiomiócitos ventriculares foi analisado após o período de tratamento e/ou treinamento dos animais e comparados com os animais do grupo sedentário. Não verificamos diferenças significativas nas dimensões dos cardiomiócitos nos diversos grupos estudados (tabela 5).

Tabela 5. Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico no diâmetro dos cardiomiócitos de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Ventrículos (μm)	N
Sedentário	12 ± 0.4	6
L-NAME	12 ± 0.4	6
Treinado	12.2 ± 0.3	6
Treinado + L-NAME	12.1 ± 0.5	6

Os dados são médias $\pm$ E.P.M. , N números de animais.

TECIDO CONJUNTIVO CARDÍACO

A porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco foi avaliada em todos os grupos. O treinamento físico por natação induziu um aumento significativo na quantidade de tecido conjuntivo em átrios direitos bem como em ventrículos de ratos, quando comparados com o grupo sedentário e o grupo que recebeu somente L-NAME. Observamos ainda, que a administração de L-NAME não interferiu no aumento da porcentagem de tecido conjuntivo induzido pelo treinamento físico (tabela 6).

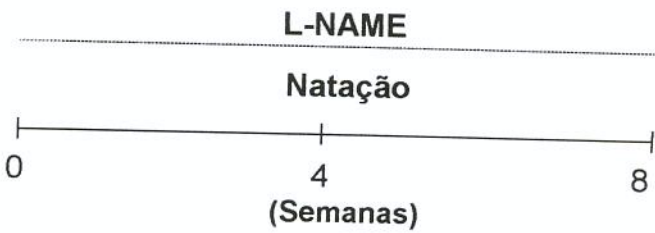
Tabela 6: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Átrio direito (%)	N	Ventrículos (%)	N
Sedentário	23.6 ± 1	6	8.3 ± 0.4	6
L-NAME	22.5 ± 1	6	9.8 ± 0.6	7
Treinado	29.3 ± 1*	6	12.2 ± 0.7*	7
Treinado + L-NAME	29.8 ± 1*	6	12 ± 0.6*	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

*, P<0.05 ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

Protocolo Experimental II



CONCENTRAÇÃO DE LACTATO SANGUÍNEO

Após oito semanas observamos que os animais que foram submetidos ao treinamento físico, apresentaram valores de lactato sanguíneo significativamente menores a partir dos 20 minutos de coleta, quando comparados com os animais dos grupos sedentários com ou sem tratamento com L-NAME (figura 8).

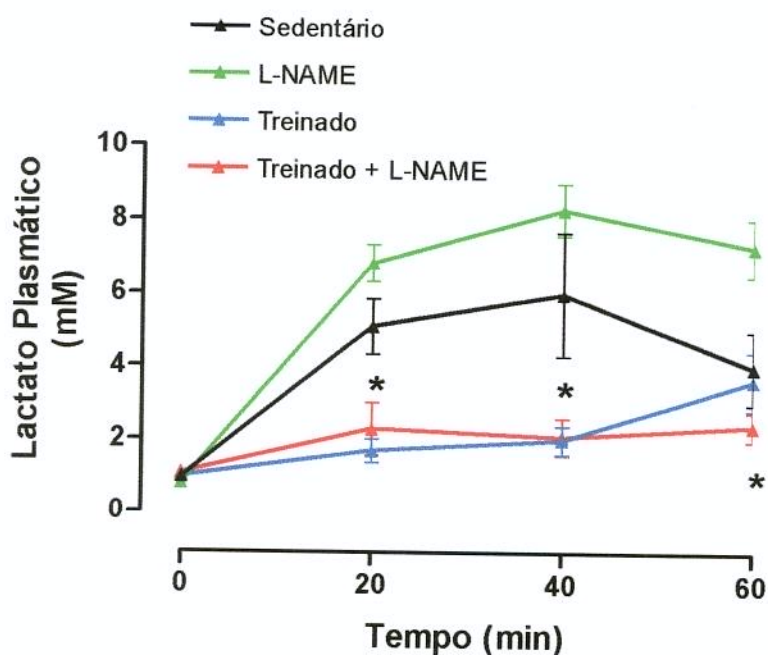


Figura 8: Efeito do treinamento por natação durante 8 semanas na concentração plasmática de lactato em ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 5 animais. *, $P < 0.05$ ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

Como esperado, o tratamento crônico com L-NAME, durante 8 semanas, produziu aumento significativo da pressão arterial quando comparados com os animais que receberam apenas água. O treinamento não alterou o estado hipertensivo promovido pelo tratamento com o L-NAME. O desenvolvimento da pressão arterial sistólica é mostrada na figura 9.

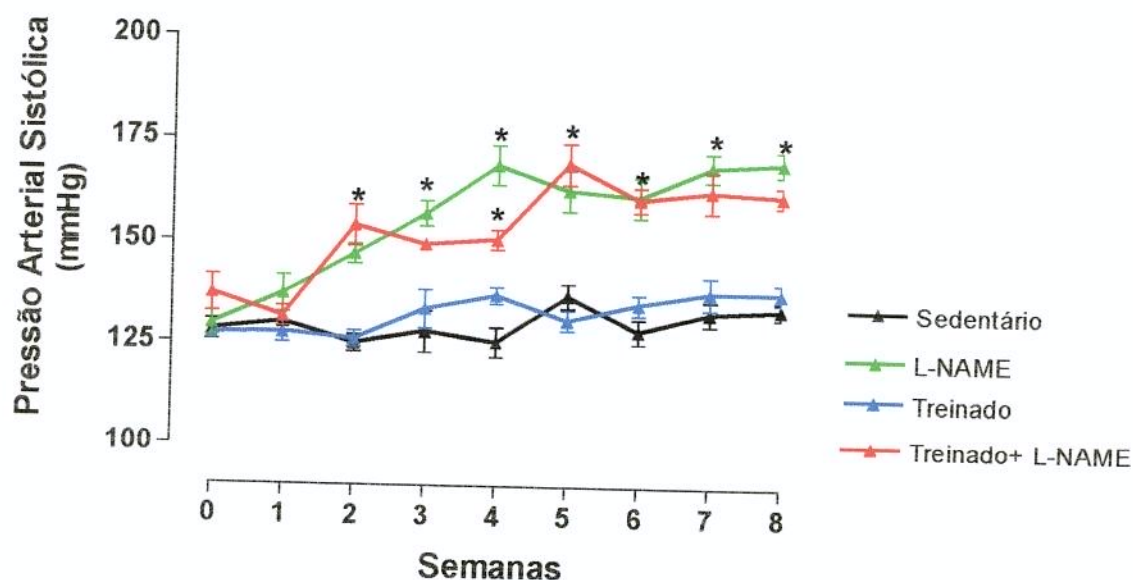


Figura 9: Evolução temporal dos valores de pressão arterial sistólica de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 10 animais. * $P < 0.05$, ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

PESO CORPORAL

Não verificamos qualquer alteração no ganho de peso corporal dos animais entre os grupos estudados (figura 10).

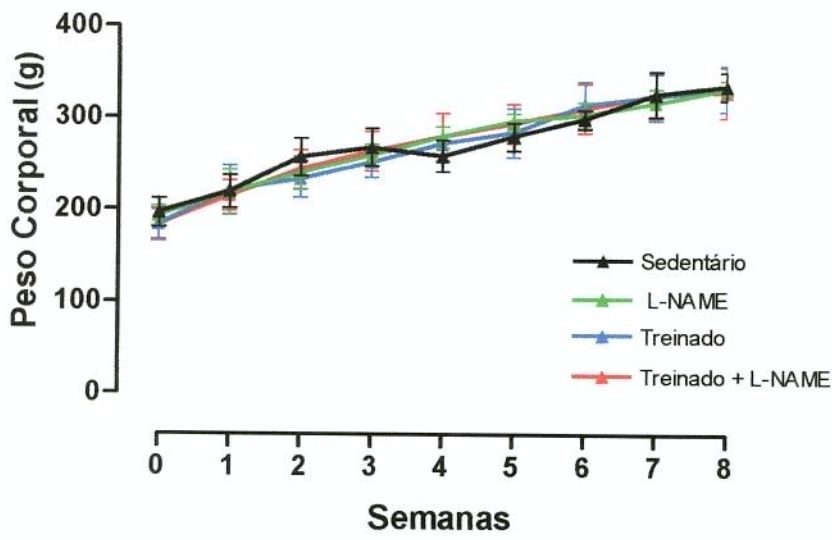


Figura 10: Evolução temporal dos valores de peso corporal de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias ± E.P.M. de 6 a 10 animais.

FREQUÊNCIA ATRIAL BASAL

A frequência atrial basal dos animais foi verificada antes da realização das curvas concentração-efeito. Os animais submetidos ao treinamento físico por natação (treinado e treinado + L-NAME) apresentaram diminuição significativa na frequência atrial basal quando comparado aos animais sedentários (sedentário e L-NAME). (tabela 7).

Tabela 7: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na frequência basal de átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Frequência basal (bat/min)	N
Sedentário	300 ± 19.5	7
L-NAME	258 ± 12	8
Treinado	$233 \pm 15^*$	8
Treinado + L-NAME	$224 \pm 11^*$	7

Os dados são médias $\pm$ E.P.M. , N números de animais.

* $P < 0.05$, ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

RESPOSTA CRONOTRÓPICA AO AGONISTA β -ADRENÉRGICO: ISOPROTERENOL

O efeito do treinamento e da inibição da síntese de óxido nítrico por L-NAME na sensibilidade da resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados foi avaliado ao final do tratamento. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa nas curvas concentração-efeito ao isoproterenol entre os grupos estudados. As curvas concentração-efeito estão ilustradas na figura 11 e os valores de pEC_{50} do agonista estão sumarizados na tabela 8.

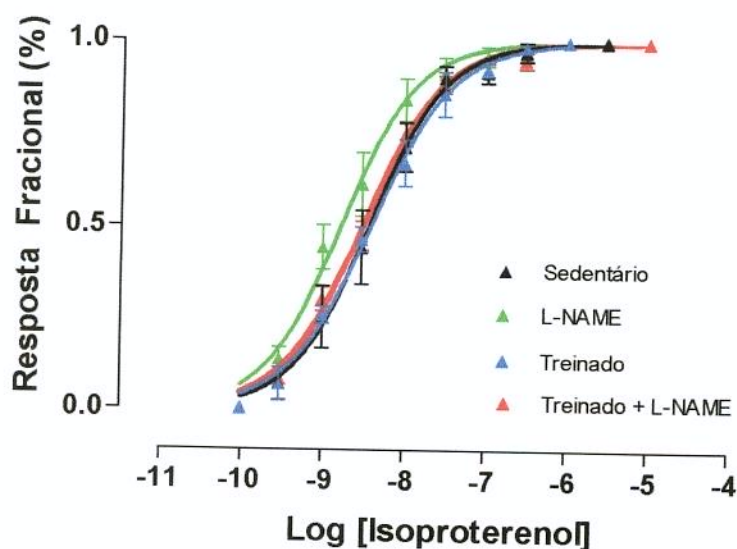


Figura 11: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 8 animais.

Tabela 8: Efeito do treinamento físico por natação simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	pEC ₅₀	DESVIO ^a	N
<i>Sedentário</i>	8.57 ± 0.19		6
L-NAME	8.9 ± 0.11	2.1	8
Treinado	8.44 ± 0.14	-1.3	6
Treinado + L-NAME	8.48 ± 0.15	-1.2	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

a, antilogarítimo da diferença entre os valores da pEC₅₀

RESPOSTA CRONOTRÓPICA NEGATIVA AO AGONISTA MUSCARÍNICO: CARBACOL

O efeito do treinamento e da inibição da síntese de óxido nítrico por L-NAME na sensibilidade da resposta cronotrópica negativa ao agonista carbacol em átrios direitos isolados foi avaliado ao final do estudo. Os animais submetidos ao treinamento apresentaram desvio à direita da curva concentração-efeito de 4 vezes, ocorrendo diminuição significativa na potência ao carbacol nos animais submetidos ao treinamento (treinado e treinado + L-NAME) quando comparados aos animais sedentários (sedentário e L-NAME). As curvas concentração-efeito estão ilustradas na figura 12 e os valores de pEC_{50} do agonista estão sumarizados na tabela 9.

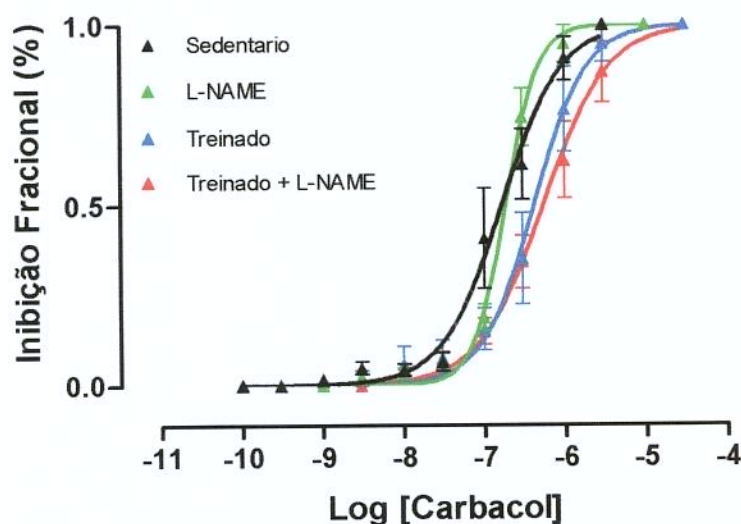


Figura 12: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 8 animais.

Tabela 9: Efeito do treinamento físico por natação simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao carbachol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME..

GRUPOS	pEC ₅₀	DESVIO ^a	N
<i>Sedentário</i>	6.7 ± 0.17		7
<i>L-NAME</i>	6.68 ± 0.07	-1.0	7
Treinado	6.12 ± 0.13*	-3.8	6
Treinado + L-NAME	6.10 ± 0.14*	-3.9	8

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais. a, antilogaritmo da diferença entre os valores da pEC₅₀ *, P<0.05 ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

RESPOSTA MÁXIMA AO ISOPROTERENOL E CARBACOL

A influência da atividade física na resposta máxima ao isoproterenol e ao carbacol foi analisada após obtenção das curvas concentração-efeito a cada agonista. Não observamos qualquer diferença estatisticamente significativa nos valores de resposta máxima a ambos agonistas entre os grupos estudados (tabela 10).

Tabela 10: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na resposta máxima aos agonistas isoproterenol e carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Carbacol (bat/min)	N	Isoproterenol (bat/min)	N
Sedentário	- 154 ± 23	7	131 ± 12	6
L-NAME	- 153 ± 14	8	117 ± 17	8
Treinado	- 116 ± 17	8	138 ± 16	6
Treinado + L-NAME	- 155 ± 8	8	161 ± 12	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

DIMENSÕES DOS CARDIOMIÓCITOS VENTRICULARES

Não verificamos diferenças significativas no diâmetro dos cardiomiócitos nos diversos grupos estudados (tabela 11) .

Tabela 11: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico no tamanho dos cardiomiócitos de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Ventrículos (μm)	N
Sedentário	12.8 ± 0.4	6
L-NAME	13.7 ± 0.6	6
Treinado	12.8 ± 0.4	6
Treinado + L-NAME	11.2 ± 0.4	6

Os dados são médias $\pm$ E.P.M. , N números de animais.

TECIDO CONJUNTIVO CARDÍACO

A percentual de tecido conjuntivo cardíaco foi avaliada em todos os grupos. O treinamento físico por natação induziu um aumento significativo na quantidade de tecido conjuntivo em átrios direitos quando comparados com os grupos sedentários com ou sem tratamento com L-NAME. O tecido conjuntivo ventricular não foi alterado em todos os grupos estudados (tabela 12).

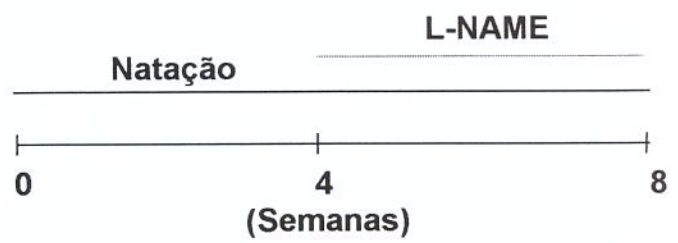
Tabela 12: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Átrio direito (%)	N	Ventrículos (%)	N
Sedentário	23.5 ± 1	6	8.3 ± 0.4	6
L-NAME	30 ± 2		9.8 ± 0.6	7
Treinado	35.5 ± 1*	6	8.7 ± 0.8	7
Treinado + L-NAME	33.5 ± 3*	6	10.3 ± 1	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

*, P<0.05 ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

Protocolo Experimental III



CONCENTRAÇÃO DE LACTATO SANGUÍNEO

Observamos que os animais que foram submetidos ao treinamento físico, apresentaram valores de lactato sanguíneo significativamente menores no tempo de 20 e 60 minutos de coleta, quando comparados com os animais dos grupos sedentário ou sedentário + L-NAME (figura 13).

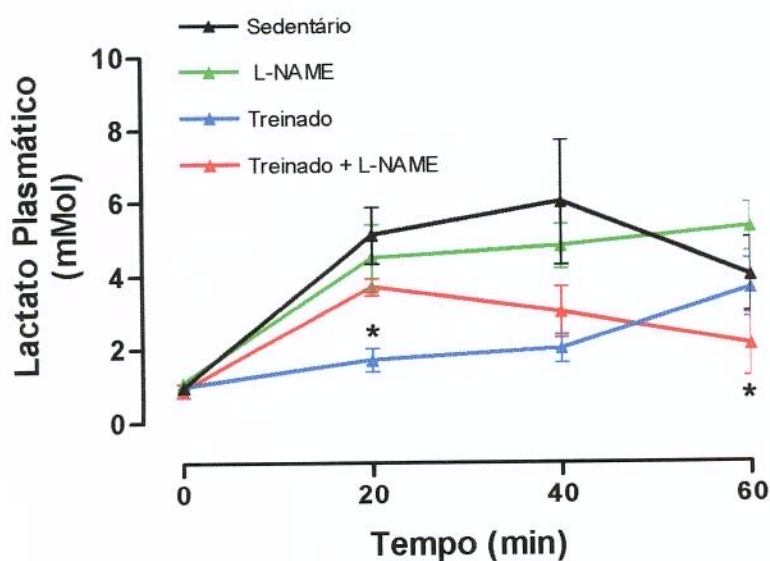


Figura 13: Efeito do treinamento por natação durante 8 semanas na concentração plasmática de lactato em ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 5 animais. *, $P < 0.05$ ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA

O tratamento crônico com L-NAME durante 4 semanas, produziu aumento significativo da pressão arterial quando comparados com os animais que receberam apenas água. O treinamento prévio e simultâneo ao tratamento atenuou o estabelecimento da hipertensão promovido pelo tratamento com o L-NAME. O desenvolvimento da pressão arterial sistólica é mostrada na figura 14.

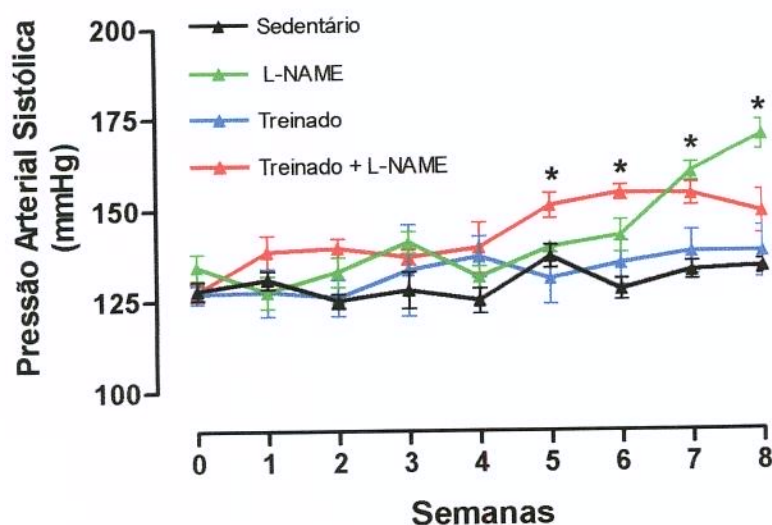


Figura 14: Evolução temporal dos valores de pressão arterial sistólica de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 10 animais. *, $P < 0.05$ ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

PESO CORPORAL

Não verificamos qualquer alteração no ganho de peso corporal dos animais entre os grupos estudados (figura 15).

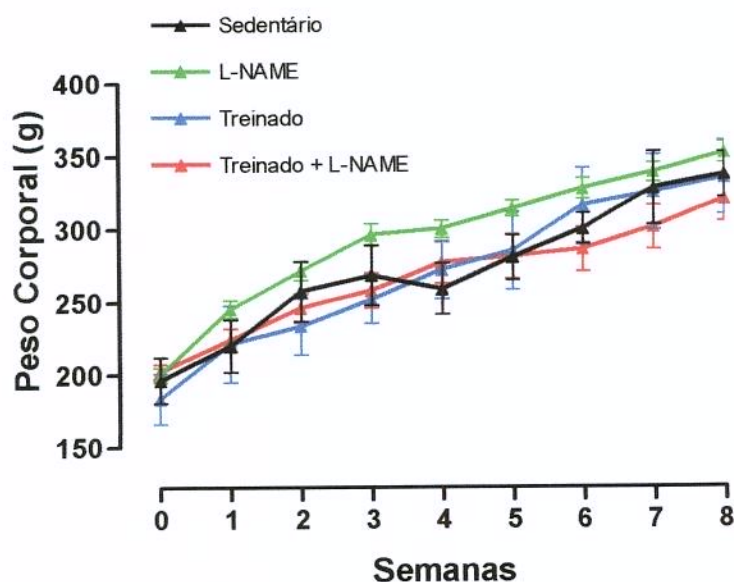


Figura 15: Evolução temporal dos valores de peso corporal de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 10 animais.

FREQUÊNCIA ATRIAL BASAL

A frequência atrial basal dos animais foi verificada antes da realização das curvas concentração-efeito. Os animais submetidos ao treinamento físico por natação apresentaram diminuição significativa na frequência atrial basal quando comparados aos animais sedentários (sedentário e L-NAME). A associação do exercício ao tratamento com L-NAME aos demais grupos não alterou a frequência atrial basal (tabela 13).

Tabela 13: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na frequência basal de átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Frequência basal (bat/min)	N
Sedentário	300 ± 19.5	7
L-NAME	268 ± 12	8
Treinado	233 ± 15*	8
Treinado + L-NAME	255 ± 11	7

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

* P<0.05, ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

RESPOSTA CRONOTRÓPICA AO AGONISTA β -ADRENÉRGICO: ISOPROTERENOL

O efeito do treinamento físico e da inibição da síntese de óxido nítrico por L-NAME na sensibilidade da resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados foi avaliado ao final do tratamento. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais. As curvas concentração-efeito estão ilustradas na figura 16 e os valores de pEC_{50} do agonista estão sumarizados na tabela 14.

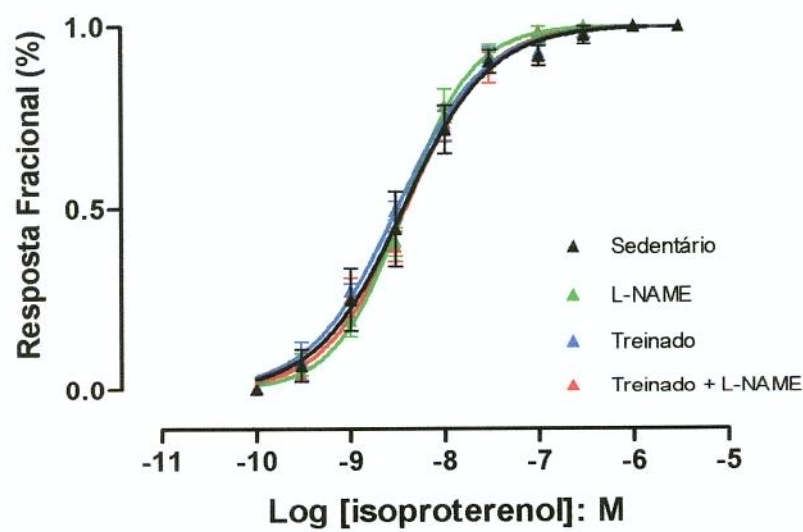


Figura 16: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 8 animais.

Tabela 14: Efeito do treinamento físico por natação prévio e simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	pEC ₅₀	DESVIO ^a	N
Sedentário	8.57 ± 0.19		6
L-NAME	8.47 ± 0.11	-1.3	8
Treinado	8.43 ± 0.14	-1.4	6
Treinado + L-NAME	8.39 ± 0.15	-1.5	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

a, antilogarítimo da diferença entre os valores da pEC₅₀

RESPOSTA CRONOTRÓPICA NEGATIVA AO AGONISTA MUSCARÍNICO: CARBACOL

O efeito do treinamento de oito semanas e da inibição da síntese de óxido nítrico por L-NAME na sensibilidade da resposta cronotrópica negativa ao agonista carbacol em átrios direitos isolados foi avaliado ao final do tratamento. Os animais submetidos ao treinamento apresentaram desvio à direita da curva concentração-efeito de 4 vezes, ocorrendo diminuição significativa na potência ao carbacol nos animais submetidos ao treinamento quando comparados aos animais sedentários. No entanto, quando o treinamento foi associado ao tratamento com o L-NAME nenhuma alteração foi verificada. As curvas concentração-efeito estão ilustradas na figura 17 e os valores de pEC_{50} do agonista estão sumarizados na tabela 15.

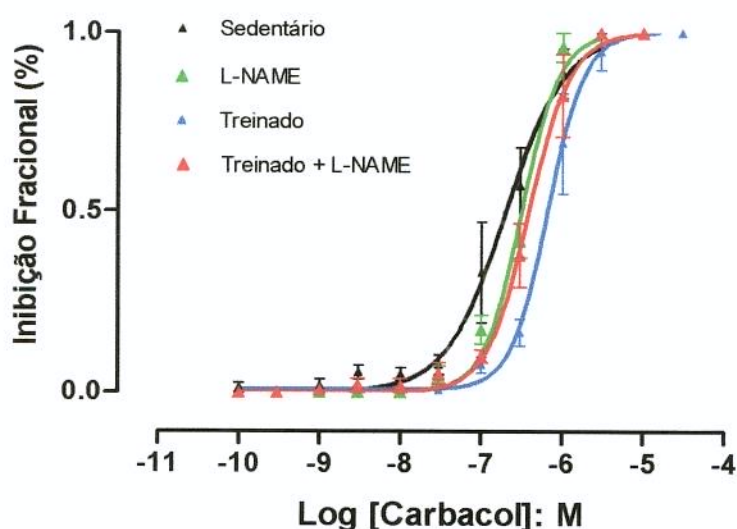


Figura 17: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na potência ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários (▲), L-NAME (▲), treinados (▲) ou treinados + L-NAME (▲). Os dados representam as médias $\pm$ E.P.M. de 6 a 8 animais.

Tabela 15: Efeito do treinamento prévio e simultâneo ao tratamento com L-NAME na resposta cronotrópica ao carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	pEC ₅₀	DESVIO ^a	N
Sedentário	6.70 ± 0.17		7
L-NAME	6.38 ± 0.07	-2.0	7
Treinado	6.12 ± 0.13*	-3.8	6
Treinado + L-NAME	6.41 ± 0.14	-1.9	8

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais. a, antilogarítimo da diferença entre os valores da pEC₅₀ * P<0.05, ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

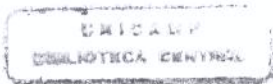
RESPOSTA MÁXIMA AO ISOPROTERENOL E CARBACOL

A influência da atividade física na resposta máxima ao isoproterenol e ao carbacol foi analisada após obtenção das curvas concentração-efeito a cada agonista. Não observamos qualquer diferença estatisticamente significativa nos valores de resposta máxima a ambos os agonistas entre os grupos estudados (tabela 16).

Tabela 16: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na resposta máxima aos agonistas isoproterenol e carbacol em átrios direitos isolados de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Carbacol (bat/min)	N	Isoproterenol (bat/min)	N
Sedentário	- 154 ± 23	7	131 ± 12	6
L-NAME	-147 ± 14	8	171 ± 9	8
Treinado	- 116 ± 17	8	152 ± 11	6
Treinado + L-NAME	- 150 ± 16	8	145 ± 15	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.



DIMENSÕES DOS CARDIOMIÓCITOS VENTRICULARES

Verificamos que os animais treinados em associação ao tratamento com L-NAME apresentaram redução significativa no diâmetro dos cardiomiócitos quando comparado aos outros grupos (tabela 17) .

Tabela 17: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico no tamanho dos cardiomiócitos de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Ventrículos (µm)	N
Sedentário	12.8 ± 0.4	6
L-NAME	12.3 ± 0.7	6
Treinado	12.8 ± 0.4	6
Treinado + L-NAME	11.1 ± 0.3*	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

*, P<0.05 ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

TECIDO CONJUNTIVO CARDÍACO

A porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco foi avaliada em todos os grupos. O treinamento físico por natação induziu um aumento significativo na quantidade de tecido conjuntivo em átrios direitos quando comparados com o grupo sedentário com ou sem tratamento com L-NAME. O tecido conjuntivo ventricular aumentou apenas nos animais treinados e tratados com L-NAME (tabela 18).

Tabela 18: Efeito da inibição da síntese de óxido nítrico na porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco de ratos sedentários, tratados com L-NAME, treinados ou treinados e tratados com L-NAME.

GRUPOS	Átrio direito (%)	N	Ventrículos (%)	N
Sedentário	23.5 ± 1	6	8.3 ± 0.4	6
L-NAME	22 ± 2	6		7
Treinado	35.5 ± 3*	6		7
Treinado + L-NAME	31 ± 3*	6	13 ± 0.5*	6

Os dados são médias ± E.P.M. , N números de animais.

*, P<0.05 ANOVA seguida de pós-teste para comparação múltipla (Bonferroni).

DISCUSSÃO

O efeito do treinamento físico sobre as doenças cardiovasculares tem sido amplamente estudado, sendo que a prática de atividade física regular é recomendada por diferentes profissionais de saúde como fator de prevenção e/ou tratamento da hipertensão arterial. No entanto, os resultados obtidos em animais de laboratório e em humanos mostram que nem sempre a atividade física melhora e/ou previne o quadro hipertensivo (BLAIR *et al.*, 1984; PAFFENBARGER *et al.*, 1986; PANICO *et al.*, 1987).

Estudos prévios mostram que os possíveis mecanismos envolvidos no controle da pressão arterial pelo exercício seriam atenuação da atividade simpática associada ou não à elevação da atividade do sistema parassimpático (SCHEUER & TIPTON, 1977; NOMA, RUPP, JACOB, 1987; OVERTON, JOYNER, TIPTON, 1988, KRIEGER, BRUM, NEGRÃO, 1998). Além disso, recentemente alguns trabalhos têm enfatizado o papel do NO na redução dos valores de pressão arterial pelo exercício (SESSA *et al.*, 1994; SHEN *et al.*, 1994; GRIFTIN *et al.*, 1999).

Nossos resultados mostram que a realização de atividade física durante quatro semanas previamente à inibição da síntese de óxido nítrico, atenua os efeitos hipertensivos do tratamento com L-NAME. No entanto, quando o treinamento é iniciado simultaneamente ao tratamento com o L-NAME, a hipertensão não é revertida, sugerindo que o exercício prévio estimula a formação de diferentes agentes vasodilatadores presentes no organismo prevenindo o quadro hipertensivo por redução do tônus vascular, enquanto que a indução de hipertensão por L-NAME concomitante com a atividade física impede que essas substâncias vasodilatadoras possam atuar de maneira eficaz, uma vez que muitas delas têm o óxido nítrico como mecanismo de ação na sua resposta celular.

Dentre as substâncias vasodilatadoras liberadas durante o exercício, temos os fatores relaxantes derivados do endotélio (NO e EDHF), íons potássio, íons hidrogênios, fosfato inorgânico, prostaciclina, CGRP e adenosina (HINTZE *et al.*, 1990; POUCHER, NOWELL, COLLINS & DiCARLO, 1990; KOBZIK *et al.*, 1994; BODE-BOGER *et al.*, 1994; FLAVAHAN & VANHOUTTE, 1995; BRETT *et al.*, 1998).

O NO é o maior regulador do tônus muscular liso e do fluxo sanguíneo. Além do NO, EDHF é também capaz de induzir relaxamento da musculatura lisa vascular através do processo de hiperpolarização celular. Recentemente foi demonstrado que o treinamento físico aumenta o relaxamento das artérias coronárias, e que esse maior relaxamento seria devido ao aumento na formação de EDHF e NO pelas células endoteliais em resposta ao exercício físico (GRIFTIN *et al.*, 1999). Foi verificado também em outro trabalho que o exercício crônico potencializa a dilatação mediada pelo endotélio de artérias aorta e mesentérica de ratos, e que o EDHF seria um dos fatores responsáveis por esta dilatação, uma vez que o L-NAME reverteu só parcialmente o relaxamento induzido pela bradicinina em animais treinados (YEN *et al.*, 1995). Assim, estes resultados mostram que além do NO, EDHF também participa do controle do tônus vascular e reforça nossa hipótese de que o exercício estimula a liberação de diferentes fatores relaxantes reduzindo os valores de pressão arterial e que estes agentes dilatadores estariam envolvidos nos efeitos benéficos da atividade física no sistema cardiovascular.

Além de NO e EDHF, outras substâncias vasodilatadoras como adenosina, CGRP e substância P estão envolvidas na modulação do tônus vascular.

CGRP e substância P são transmissores das fibras não-adrenérgicas não-colinérgicas e eles são encontrados na maioria dos tecidos, principalmente no sistema cardiovascular, onde agem como vasodilatadores endógenos (BURNSTOCK, 1979). Trabalhos prévios demonstram que o exercício físico aumenta o nível de CGRP e que este poderia contribuir para os efeitos benéficos da atividade física na prevenção das doenças cardiovasculares, enquanto que a substância P parece não participar no controle da pressão arterial em resposta ao exercício (SCHIFTER *et al.*, 1995; LIND *et al.*, 1996).

Alguns estudos mostram que o aumento da demanda metabólica pelo exercício, principalmente na musculatura esquelética e músculo cardíaco, induz quebra de ATP estocados nessas células e maior formação de adenosina. A maior oferta de adenosina nas células musculares esqueléticas estimularia a ativação de seus receptores produzindo redução do tônus vascular que contraporaria as ações do L-NAME. Esta ação relaxante da adenosina na musculatura vascular poderia explicar a atenuação da pressão arterial observada em nosso estudo em ratos treinados previamente ao tratamento com L-NAME.

Além disso, a adenosina, no coração, possui ação cronotrópica negativa, o que poderia influenciar na redução da pressão arterial uma vez que esta é resultado de três fatores: resistência periférica, volume sistólico e frequência cardíaca. Assim, a associação dos efeitos da adenosina sobre o músculo vascular e sobre o marca-passo atrial poderiam explicar os efeitos benéficos do exercício no controle da pressão arterial em ratos tratados com L-NAME.

O treinamento físico por natação realizado simultaneamente ao tratamento com L-NAME não promoveu redução dos valores de pressão arterial, sugerindo que o programa de exercício físico empregado em nosso estudo não foi capaz de contrapor as alterações induzidas pela inibição da síntese de NO. Trabalhos prévios mostram que indivíduos hipertensos não exibiram qualquer mudança nos valores de pressão arterial após terem participado de programas de exercício físico (DUNCAN *et al.*, 1985; ATTINA, *et al.*, 1986; HAGBERG *et al.*, 1990). Além disso, De ANGELIS *et al.* (1999) estudando animais tratados com L-NAME e treinados através da corrida em esteira não observaram alterações nos valores de pressão arterial, na frequência cardíaca ou na sensibilidade baroreflexa desses animais, confirmando assim nossos resultados.

A participação da atividade do sistema nervoso autônomo no controle da pressão arterial tem sido extensivamente estudada. Diversos trabalhos têm mostrado que a atividade física regular reduz a descarga simpática no organismo tanto em animais de laboratório quanto em humanos, através do aumento da atividade aferente dos barorreceptores arteriais sobre o núcleo do trato solitário no hipotálamo (NEGRÃO *et al.*, 1993; GRASSI *et al.*, 1994; KRIEGER *et al.*, 1998). A diminuição do tônus simpático produzido pelo treinamento físico é considerado como um dos mecanismos envolvidos na atenuação da hipertensão, sendo que a resposta cronotrópica mediada dos adrenoreceptores β é um dos determinantes da atividade simpática. Nós, portanto, avaliamos se a atividade física e/ou tratamento com L-NAME poderia causar alguma alteração na resposta cronotrópica mediada por adrenoreceptores β em átrios isolados. Nossos resultados mostram que a atividade física associada ou não com o tratamento de L-NAME não afeta os valores da pEC₅₀ ao isoproterenol em átrios direitos isolados, sugerindo que a atividade do sistema simpático não foi modificada pelos diferentes procedimentos empregados, uma vez que, a

potência ao isoproterenol não foi alterada em nenhum dos grupos estudados. No entanto, a resposta máxima ao isoproterenol apresentou-se aumentada nos animais treinados ou tratados com L-NAME no protocolo I. A razão para esse aumento da resposta máxima ao isoproterenol sem alteração na potência ao agonista não é clara para nós. No entanto, dentro do estudo de afinidade e eficácia de agonistas, podemos especular que o tratamento com L-NAME ou o treinamento físico por natação podem provocar mudanças ou na eficiência do acoplamento entre agonista-receptor-efetor (aumentando sua eficiência), ou diminuição no metabolismo de remoção do agonista; e/ou mudanças na estrutura da membrana citoplasmática, por exemplo, a modificação de proteínas de membrana que modulam o acoplamento do agonista ao receptor, sem contudo produzir alteração da afinidade aparente do receptor pelo agonista.

A potência ao agonista muscarínico, carbacol foi reduzida somente nos animais que treinaram por oito semanas, mostrando que a participação do sistema parassimpático está aumentada nesse grupo de animais. Essa maior ativação do sistema parassimpático sobre o nodo sinoatrial é confirmada pela frequência dos batimentos espontâneos atriais que também se apresentaram reduzidas nos animais treinados por oito semanas. Estudos realizados em humanos (SCHEUER & TIPTON, 1977), bem como em animais (TIPTON, 1965) mostram que o treinamento físico regular promove bradicardia de repouso. Alguns autores têm proposto que a bradicardia de repouso em resposta ao exercício reflete aumento da atividade parassimpática sobre o coração (BOLTER & ATKINSON, 1988).

O treinamento por natação durante quatro ou oito semanas determinou diminuição na concentração do lactato plasmático mostrando que o programa empregado em nosso estudo foi eficaz. No entanto, o treinamento físico não induziu alteração no diâmetro dos cardiomiócitos. Estudos prévios mostram que o exercício físico induz hipertrofia cardíaca em animais de laboratório e em humanos (SCHEUER & TIPTON, 1977; MOLE, 1978; MALHOTRA *et al.*, 1981; SCHAIBLE & SCHEUER, 1981; 1985). Entretanto, outros estudos falharam em detectar hipertrofia cardíaca em consequência da realização de exercício (SCHAIBLE & SCHEUER, 1979). Esses autores sugerem que algumas variáveis não controladas, como diferenças na idade e no sexo poderiam explicar as diferenças nos resultados. Além disso, alguns investigadores, usam o índice cardíaco

(peso do coração relacionado ao peso corporal) para mensurar a hipertrofia cardíaca, método que possui sérias limitações metodológicas (SCHAIBLE & SCHEUER, 1981, PERRAUT & TURCOTTE, 1994). Portanto, o programa usado em nosso estudo não produziu hipertrofia do cardiomiócito. Diminuição do diâmetro do cardiomiócito foi observada nos animais que foram submetidos ao treinamento físico prévio e simultâneo ao tratamento com o L-NAME. A razão dessa hipotrofia cardíaca não é ainda clara para nós.

O tecido conjuntivo presente no coração possui importante papel durante o ciclo cardíaco. Ele mantém a posição espacial dos cardiomiócitos durante a sístole, impedindo estiramentos excessivos das câmaras cardíacas; permite a transmissão da força gerada pelo sarcômero para a câmara ventricular e possibilita a restauração do comprimento diastólico do cardiomiócito após o relaxamento miocárdico (BORG & CAUFIELD, 1981; KLASSEN *et al.*, 1996). Trabalho prévio mostra que o exercício pode alterar a proporção de tecido conjuntivo no coração de ratos treinados induzindo aumento das fibras colágenas em resposta à maior demanda cardíaca com aumento da força de contração (PERHONEN & TURCOTT, 1997). Nossos resultados mostram que o treinamento físico por natação determinou aumento da porcentagem de tecido conjuntivo cardíaco em todos os protocolos experimentais, sendo que o tratamento com L-NAME não modificou esse aumento. A quantidade de tecido conjuntivo nos ratos treinados por quatro semanas aumentou cerca de 26 % em átrios direitos e 44% em ventrículos, enquanto que nos animais treinados por oito semanas o aumento do tecido conjuntivo foi de aproximadamente 51% e ocorreu somente nos átrios direitos, sem alteração do tecido conjuntivo ventricular. Assim, a porcentagem de tecido conjuntivo nos átrios direitos de animais treinados por natação mostrou ser tempo dependente, enquanto que o percentual de tecido conjuntivo nos ventrículos não parece estar relacionado ao período de treinamento.

CONCLUSÕES

1. O exercício físico prévio ao desenvolvimento da hipertensão induzida pela inibição da síntese de óxido nítrico atenua a elevação dos valores de pressão arterial. No entanto, quando a hipertensão está em desenvolvimento ou já estabelecida, a atividade física não melhora o quadro hipertensivo.

2. A potência ao agonista β adrenérgico, isoproterenol não foi modificada, mostrando que a atividade do sistema simpático não se apresenta alterada nos diferentes grupos estudados em todos os protocolos empregados .

3. A potência ao agonista muscarínico, carbacol e a frequência atrial basal foram significativamente diminuídas nos animais treinados por oito semanas, sugerindo que o treinamento físico por natação produz aumento da atividade parassimpática sobre o marca-passo atrial.

4. A porcentagem de tecido conjuntivo nos átrios direitos dos animais treinados ou treinados e tratados com L-NAME foi significativamente e esse aumento foi independente da associação com a administração de L-NAME.

5. O tamanho dos cardiomiócitos não foi alterado nos animais treinados, mostrando que o programa de treinamento físico por natação empregado por nós não induz hipertrofia dos cardiomiócitos.

SUMMARY

Chronic nitric oxide inhibition by L-NAME treatment leads to hypertension. Regular exercise has been used as a nonpharmacological approach to prevent or to treat hypertension. The aim of this study was to investigate the effect of physical preconditioning and or physical activity simultaneously to LNAME treatment by swim training on the blood pressure, cardiomyocyte size, amount of connective tissue in the heart and chronotropic responses from right atria in L-NAME-treated rats. Our study shows that physical preconditioning by swim training attenuates the increase in blood pressure in L-NAME-treated rats. However, physical activity simultaneously to L-NAME treatment does not attenuate the rise of blood pressure induced by long-term treatment with L-NAME. The potency of isoproterenol was not altered in all studied groups while the potency of carbachol was significantly lower in trained groups. Swim training by itself increased the amount of connective tissues in right atria and ventricles and it was not modified by L-NAME treatment. No changes were observed in cardiomyocytes size in trained groups. It is concluded that preconditioning physical can prevent or attenuate the hypertension induced by L-NAME treatment, but it can not improve the blood pressure values when hypertension is establishing or is already established.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLQUIST, R.P. - A study of adrenergic receptors. **Am J Physiol**, **153**: 586-600, 1948.
- AHLUWALIA, A. & CELLEK, S. - Regulation of the cardiovascular system by non-adrenergic and non-cholinergic nerves. **Curr Opin Neph Hypert**, **6**: 74-79, 1997.
- AKUZAWA, N.; NAKAMURA, T.; KURASHINA, T.; SAITO, Y.; HOSHINO, J.; SAKAMOTO, H.; SUMINO, H.; ONO, Z.; NAGAI, R.; - Antihypertensive agents prevent nephrosclerosis and left ventricular hypertrophy induced in rats by prolonged inhibition of nitric oxide synthesis. **Am J Hypertens**, **11**: 697-707, 1998.
- AMARA, S.G.; JONAS, V.; ROSENFELD, M.G.; ONG, E.S.; EVANS, R.M. - Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. **Nature (Lond)**, **298**: 240-246, 1982.
- AMERY, A.; JULIUS, S.; WHITLOCK, L.S.; CONWAY, J. - Influence of hypertension on the hemodynamic response to exercise. **Circulation**, **36**: 231-237, 1967.
- ANVERSA, P.; RICCI, R.; OLIVETTI, G. - Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. **J Am Coll Cardiol**, **7**: 1140-1151, 1985.
- ATTINA, D.A.; GUILIANO, G.; ARCHANGELI, G.; MUSANTE, R.; CUPELLI, V. - Effects of one year of physical training on borderline hypertension: an evaluation by bicycle ergometer exercise testing. **J Cardiovasc Pharmacol**, **8**: S145-S147, 1986.
- BALLARD, H.J. - The influence of lactic acid on adenosine release from skeletal muscle in anaesthetized dogs. **J Physiol**, **433**: 95-108, 1991.
- BALLIGAND, J.L.; KOBZIK, L.; HAN, X.; KAYE, D.M.; BELHASSEN, L.; O'HARA, D.S.; KELLY, R.A.; SMITH, T.W.; MICHEL, T. - Nitric oxide-dependent parasympathetic signalling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes. **J Biol Chem**, **270**: 14582-14586, 1995.

- BARDENHEUER, H.; & SCHRADER, J.; - Supply to-demand ration for oxygen determines formation of adenosine by the heart. **Am J Physiol**, **250** (2 Pt 2): H173-H180, 1986.
- BARNES, K.L.; FERRARIO, C.M.; CONOMY, J.P. - Comparison of the hemodynamic changes produced by electrical stimulation of the area postrema and nucleus tractus solitarii in the dog. **Circ Res**, **45**: 136-143, 1979.
- BASHEY, R.I.; MARTINEZ-HERNANDEZ, A. JIMENEZ, S.A.; Isolation, characterization and localization of cardiac collagen type VI. Association with other extracellular matrix components. **Circ Res**, **70**: 1006-1017, 1992.
- BATAL, P.; PECHANOVA, O.; BERNATOVA, I.; STVRTINA, S. - Chronic inhibition of NO synthesis produces myocardial fibrosis and arterial media hyperplasia. **Histol Histoplathol**, **12**: 623-629, 1997.
- BAYLIS, C.; MITRUKA, B.; DENG, A.; - Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. **J Clin Invest**, **90**: 278-281, 1992.
- BELARDINELLI, L.; LINDEN, J.; BERNE, R.M. - The cardiac effects of adenosine. **Prog Cardio Dis**, **32**(1): 73-97, 1989.
- BELLONI, F.L. - The mechanism of adenosine release from hypoxic rat liver cells. **Br J Pharmacol**, **85** (2): 441-446, 1985.
- BERNE, R.M.; RUBIO, R.; DOBSON, J.G.; CURNISH, R.R. - Adenosine and adenine nucleotides as possible mediators of cardiac and skeletal muscle blood flow regulation. **Cir Res**, **28** (suppl 1): 115-119, 1963.
- BERTHELSEN, S. & PETTINGER, W.A. - A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptor. **Life Sci**, **21**: 595-606, 1977

- BHARDWAJ, R.; MOORE, P.K. - Endothelium-derived relaxing factor and the effects of acetylcholine and histamine on resistance blood vessels. **Br J Pharmacol**, **95**: 835-843, 1988.
- BIRNBAUMER, L.G. - Proteins and the modulation of potassium channels. In: **Potassium Channel Modulators**. Ed. by A. H. Weston and J. C. Hamilton. pp 44-71, Blackell Scientific Publications, New york, 1992.
- BLAIR, S.N.; GOODYEAR, N.N.; GIBBONS, L.W.; COOPER, K.H. - Physical fitness and incidence of hypertension in healthy normotensive men and women. **Jama**, **252**: 487-490, 1984.
- BODE-BOGER, S.M., BOGER, R.H.; SCHROEDER, E.P.; FROLISH, J.C. - Exercise increases systemic nitric oxide production in men. **J Cardiovasc Risk**, **1**: 173-178, 1994.
- BOHM, M.; GIERSECHIK, P.; KNORR, A.; SCHMIDT, U.; WEISMANN, K.; ERDMANN E. - Cardiac adenyl cyclase, beta-adrenergic receptor, and G proteins in salt-sensitive hypertension. **Hypertension**, **22**(5): 715-727, 1993.
- BOLOTINA, V.M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J.J.; PAGANO, P.J.; COHEN, R.A. - Nitric oxide activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, **368**: 850-853, 1994.
- BOLTER, C.P. & ATKINSON, K.L. - Influence of temperature and adrenergic stimulation on rat sinoatrial frequency. *Am J Physiol*, **254** (5): R840-R844, 1988.
- BONNER, T.I.; BUCKLEY, N.J.; YOUNG, A.C.; BRANN, M.R. - Identification of a family of muscarinic receptor genes. **Science**, **237**: 527-531, 1987.
- BORGER, T.K. & CAUFIELD, J.B. - The collagen network of the heart. **Fed Proc**, **40**: 2037-2041, 1981.

- BOWER, E.A. & LAW, A.C.K. - The effects of N^ω-nitro L-arginine methyl ester, sodium nitroprusside and noradrenaline on venous return in the anesthetized cat. **Br J Pharmacol**, **108**: 933-940, 1993.
- BRACKETT, L.E. & DALY, J.W. - Functional characterization of the A2b adenosine receptor in NIH 3T3 fibroblasts. **Biochem Pharmacol**, **47** (5): 801-14, 1994.
- BREDT, D.S.; HWANG, P.M.; GLATT, C.E.; LOWENSTEIN, C.; REED, R.R.; SNYDER, S.H. - Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. **Nature**, **351**: 714-718, 1991.
- BRETT, S.E.; COCKCROFT, J.R.; MANT, T.G.; RITTER, J.M.; CHOWIENCZYK PJ. - Haemodynamic effects of inhibition of nitric oxide synthase and of L-arginine at rest and during exercise. **J Hypert**, **16**: 429-435, 1998.
- BRISTOW, M.R.; GINSBURG, R.; UMANS, V.; FOWLER, M.; MINOBE, W.; RASMUSSEN, R.; ZERA, P.; MENLOVE, R.; SHAH, P.; JAMIESON, S. - Beta 1- and beta 2- adrenergic receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1- receptor down-regulation in heart failure. **Circ Res**, **59**: 297-309, 1986.
- BRODDE, O.E. - Beta-adrenoceptors in cardiac disease. **Pharmacol Ther**, **60**: 405-30, 1993.
- BURNSTOCK, G. - Do some sympathetic neurones synthesize and release both noradrenaline and acetylcholine? **Prog Neurobiol**, **11**(4): 205-22, 1978.
- BURTON, A.C. - Relation of structure and function of the tissues of the wall of blood vessels. **Physiol Rev**, **34**: 619-642, 1954.
- CADE, R.; MARS, D.; WAGEMARKER, H.; ZAUNER, C.; PACKER, D.; PRIVETTE, M.; CADE, M.; PETERSON, J.; HOOD-LEWIS, D. - Effect of aerobic exercise training on patients with systemic arterial hypertension. **Am J Med**, **77** (5): 785-90, 1984.

- CARLSSON, E.; ABLAD, B.; BRANDSTROM, A.; CARLSON, B. - Differentiated blockade of the chronotropic effects of various adrenergic stimuli in the cat heart. **Life Sci**, **11** (part I): 953-958, 1972.
- CARRUTHERS A.M. & FOZARD J. R. - Adenosine A3 receptors: two into one won't go. **Trends Pharmacol Sci** **14**(8): 290-301, 1993.
- CASADO,V., LUIS, C.; CANELA, E.; FRANCO, R.; MALLOL, J. - The distribution of A1 adenosine receptor and 5' nucleotidase in pig brain cortex subcellular fractions. **Neurochem Res**, **17** (2): 129-139, 1992.
- CAULFIELD, M.P. - Muscarinic receptors - characterization, coupling and function. **Pharmacol Ther**, **58**: 319-379, 1993.
- CHANDLER, M.P. & DI CARLO, S.E. - Acute exercise and gender alter cardiac autonomic tonus differently in hypertensive and normotensive rats. **Am J Physiol**, **274**: R510-R516, 1998.
- CHANDLER, M.P. & DiCARLO, S.L. - Sinoaortic denervation prevents post-exercise reductions in arterial pressure and cardiac sympathetic tonus. **Circulation**, **273** (6): H2738-H2745, 1997.
- CHEN, Y.; CHANDLER, M.P.; DiCARLO, S.E. - Acute exercise attenuates cardiac autonomic regulation in hypertensives rats. **Hypertension**, **26**: 676-683, 1995.
- CHEN, Y.; CHANDLER, M.P.; DiCARLO, S.E. - Daily exercise and gender influence post exercise cardiac autonomic responses in hypertensive rats. **Am J Physiol**, **272** (Heart Circ. Physiol. 41): H1412-1418, 1997.
- CHOQUETTE, G. & FERGUSON, R.J. - Blood pressure reduction in boderline hypertension following physical training. **Can Med Assoc J**, **108** (6): 699-703, 1973.
- CLARKSON, P.B.; LIM, P.O.; MACDONALD, T.M. - Influence of basal nitric oxide secretion on cardiac function in man. **Br J Clin Pharmacol**, **40** (4): 299-305, 1995.

- COHEN, L.; G., ZIEMANN, U.; CHEN, R. - Mechanisms, functional relevance and modulation of plasticity in the human central nervous system. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol**, **51**: 174-182, 1999.
- COHEN, R.A. & VANHOUTTE P.M. - Endothelium-dependent hyperpolarization: beyond nitric oxide and cyclic GMP. **Circulation**, **92**: 3337-3349, 1995.
- COLLINS, H.L. & DiCARLO, S.E. - Daily exercise attenuates the sympathetic component of the arterial baroreflex control of heart rate. **Am J Physiol**, **273** (6): H2613-2619, 1997.
- COLLO, G.; NORTH, R.A.; KAWASHIMA, E.; MERLO-PICH, E.; NEIDHART, S.; SURPRENANT, A.; BUELL, G. - Cloning of P2x5 and P2x6 receptors and the distribution and properties of the extended family of ATP-gated ion channels. **J Neurosci**, **16** (8): 2495-2507, 1996.
- COX, R.H.; HUBBARD, J.N.; LAWER, J.E.; SANDURS, J.B.; MITCHELL, U.P. - Cardiovascular and sympathoadrenal responses to stress in swim-trained rats. **J Appl Physiol**, **58** (4): 1207-1214, 1985.
- DAAKA, Y.; LUTTRELL, L.M.; LEFKOWITZ, R.J. - Switching of the coupling of the beta 2- adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. **Nature**, **390**: 88-91, 1997.
- DeANGELIS, L.A.K.; GADONSKI, G.; FANG, J.; DALL'AGO, P.; ALBUQUERQUE, V.L.; PEIXOTO, L.R.A.; FERNANDES, T.G.; IRIGOYEN, M.C. - Exercise reversed peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension**, **34** (2): 768-772, 1999.
- DEVLIN, A.M.; BROSNAN, M.J.; GRAHAM, D.; MORTON, J.J.; MCPHADEN, A.R.; MCINTYRE, M.; HAMILTON, C.A.; REID, J.L.; DOMINICZAK, A.F. - Vascular smooth muscle cell polyploidy and cardiomyocyte hypertrophy due to chronic NOS inhibition in vivo. **Am J Physiol**, **274**: H52-H59, 1998.

- DI FRANCESCO, D. - Pacemaker mechanisms in cardiac tissue. **Annu Rev Physiol**, **55**: 455-472, 1993.
- DiCARLO, S.E.; COLLINS, H.L.; CHEN, C.Y. - Vagal afferents reflexly inhibit-exercise in conscious rats. **Med Sci Sports Exerc**, **26** (4):459-462, 1994.
- DIXON, A.K.; GUBITZ, A.K.; SIRINATHSINGHI, D.J.; RICHARDSON, P.J.; FREEMAN, T.C. - Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat. **Br J Pharmacol**, **118** (6): 1461-1468, 1996.
- DOCHERTY, J.R. - Subtypes of functional alpha 1- and alpha 2- adrenoceptors. **Eur J Pharmacol**, **361**: 1-15, 1998.
- DOMINICZACK, A.F. & BOHR, D.F. - Nitric oxide and its putative role in hypertension. **Hypertension**, **25**: 1202-1211, 1995. DORJE, F. WESS, J. LAMBRECHT, G.; TACKE, R.; MUTSCHLER, E., BRANN, M.R. - Antagonist binding profiles of five cloned human muscarinic receptor subtypes. **J Pharmacol Exp Ther**, **256**: 727-733, 1991.
- DOWD, E. MCQUEEN, D.S.; CHESSELL, I.P.; HUMPHREY, P.P. - Adenosine A1 receptor-mediated excitation of nociceptive afferents innervating the normal and arthritic rat knee joint. **Br J Pharmacol**, **125** (6): 1267-1271, 1998.
- DRURY, A.W. & SZENT-GYORGYI, A - The physiological activity of adenosine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. **J Physiol**, **68**: 213-237, 1929.
- DUNCAN, J.J.; FARR, J.E.; UPTON, J.; HAGAN, R.D.; OGLESBY, M.E.; BLAIR, S.N. - The effects of aerobic exercise on plasma catecholamines and blood pressure in patients with mild essential hypertension. **Jama**, **254**: 2609-2613, 1985.
- DUNWIDDIE T.V. & FREDHOLM, B.B. - How does adenosine inhibit transmitter release? **Trends Pharmacol Sci**, **9** (4): 130-134, 1988.

- EGLEN, R.M.; HEGDE, S.S.; WATSON, N. - Muscarinic receptor and smooth muscle function. **Pharmacol Rev**, **48** (4): 532-556, 1996.
- EMORINE, L.; BLIN, N.; STROSBURG, A.D. - The human β_3 -adrenoceptor: the search for a physiological function. **Trends in Pharmacol Sci**, **15**: 3-7, 1994.
- EMORINE, L.; MARULLO, S.; BRIEND-SUTREN, M.M.; PATEY, G.; TATE, K.; DELAVIER-KLUTCHKO, C.; STROSBURG, A.D. - Molecular characterization of the human β_3 -adrenergic receptor. **Science**, **245**: 1118-1121, 1989.
- ENDO, M.; MARUYAMA, M.; TAIRA, N. - Modification by islet-activating protein of direct and indirect inhibitory actions of adenosine on rat atrial contraction in relation to cyclic nucleotide metabolism. **J Cardiovasc Pharmacol**, **5**(1): 31-42, 1983.
- ENGELS, R.C. & JONES, J.B. - Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD⁺ in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for assays of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Ann Biochem**, **88**: 475-484, 1978.
- EXTON, J. H. - Role of calcium and phosphoinositides in the actions of certain hormones and neurotransmitters. **J Clin Invest**, **75**: 1753-7, 1985.
- FELDER, C.C. - Muscarinic acetylcholine receptors: signal transduction through multiple effectors. **FASEB**, **9**: 619-625, 1995.
- FEOKTISTOV, I. & BIAGGIONI, I. - Adenosine A2B receptors. **Pharmacol Rev**, **49**(3): 381-402, 1997.
- FISCHER, L.A.; KIKKAWA, D.O.; RIVIER, J.E.; AMARA, S.G.; EVANS, R.M.; ROSENFELD, M.G.; VALE, W.W.; BROWN, M.R. - Stimulation of noradrenergic sympathetic outflow by calcitonin gene-related peptide. **Nature (Lond)**, **305**: 534-542, 1983.
- FLAVAHAN, N.A. & VANHOUTTE, P.M. - Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. **Am J Hyperten**, **8** (5Pt 2): 28S-41S, 1995.

- FORD, A.P.; WILLIAMS, T.J.; BLUE, D.R.; CLARKE, D.E. - β -adrenoceptor classification: sharpening Occam's razor. **Trends Pharmacol Sci**, **15**: 167-170, 1994.
- FRANKLIN, B.A.; SEYMOUR, G.; TIMMIS, G.C. - Exercise prescription for hypertensive patients. **Ann Med**, **23**: 279-287, 1991.
- FRASER, G.E.; PHILLIPS, R.L.; HARRIS, R. - Physical fitness and blood pressure in children. **Circulation**, **67**: 405-412, 1983.
- FREDHOLM, B.B.; ABBRACCHIO, M.P.; BURNSTOCK, G.; DUBYAK, G.R.; HARDEN T.K.; JACOBSON, K.A.; SCHWABE, U; WILLIAMS, M; - Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors. **Trends Pharmacol Sci**, **18** (3): 79-82, 1997.
- FREDHOLM, B.B.; ZHANG, Y.; VAN DER PLOEG, I. - Adenosine A2A receptors mediate the inhibitory effects of adenosine on formyl-Met-Leu-Phe-stimulated respiratory burst in neutrophil leucocytes. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, **354** (3): 262-267, 1996.
- FREUD, B.J.; WADE, G.E.; CLAUBAUGH, J.R. - Effect of exercise on atria natriuretic factor. **Sport Med**, **6**: 346-364, 1988.
- FURCHGOTT, R.F. - The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. **Ann Rev Pharmacol Toxicol**, **24**: 175-197, 1984.
- FURCHGOTT, R.F. - The role of the endothelium in responses of vascular smooth muscle. **Circ Res**, **53**: 557-573, 1983.
- FURCHGOTT, R.F. & ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, **288**: 373-376, 1980.
- GARDINER, S.M.; COMPTON, A.M.; KEMP, P.A.; BENNETT, T. Regional and haemodynamic effects of N^G-nitro-L-arginine methyl ester in conscious Long Evans rats. **Br J Pharmacol**, **101**: 625-631, 1990.

- GARDNER N.M. & BROADLEY K.J. - Analysis of the atypical characteristics of adenosine receptors mediating negative inotropic and chronotropic responses of guinea-pig isolated atria and papillary muscles. **Br J Pharmacol**, **127** (7): 1619-1626, 1999.
- GAUTHIER, C.; TAVERNIER, G.; CHARPENTIER, F.; LANGIN, D.; LE MAREC, H. - Functional beta 3-adrenoceptor in the human heart. **J Clin Invest**, **98**: 556-562, 1996.
- GENNARI, C. & FISCHER, J.A. - Cardiovascular action of calcitonin gene-related peptide in humans. **Calcif Tissue Int.**, **37** (6):581-584, 1985.
- GILMAN, A.G. G proteins: transducer of receptor-generated signal. **Annu Rev Biochem**, **56**: 615-649, 1987.
- GOYAL, R.K. - Identification, localization and classification of muscarinic receptor subtypes in the gut. **Life Sci**, **43**: 2209-2220, 1988.
- GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CALBOUN, D.A.; MANCIA, G. - Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. **Hypertension**, **23**: 294-301, 1994.
- GRIFTIN, K.L.; LAUGHLIN, M.H.; PARKER, J.L. - Exercise training improves endothelium-mediated vasorelaxation after chronic coronary occlusion. **J Appl Physiol**, **87**(5):1948-1956, 1999
- GRYGLEWSKI, R.J.; BOTTING R.M.; VANE, J.R. - Mediators produced by the endothelial cell. **Hypertension**, **12**: 530-548, 1988.
- HAGBERG, J.M. - Exercise, fitness, and hypertension. In: **Exercise, fitness and healthy**, Bouchard, C.; Shephard, R.J.; Stephens, T.; Sutton, J.R.; McPherson, B.D. Eds. Champaign, I.L.: Humans Kinetics, 455-456, 1990.

- HAMMER, R. & GIACHETTI, A - Muscarinic receptor subtypes: M₁ and M₂.
Biochemical and functional characterization. *Life Sci*, 31: 2991-2998, 1982.
- HAN, X.; KOBZIK, L.; BALLIGAND, L.; KELLY, R.A.; SMITH, T.W. - Nitric oxide synthase (NOS3)-mediated cholinergic modulation of Ca²⁺ current in adult rabbit atrioventricular nodal cells. *Circ Res*, 78 (6): 998-1008, 1996.
- HARDMAN, A.E. - Exercise in the prevention of atherosclerotic, metabolic and hypertensive diseases: a review. *J Sport Sci*, 14 (3): 201-218, 1996.
- HARTLEY, L.H.; MASON, J.W.; HOGAN, R.P. - Multiple hormonal responses to prolonged exercise in relation to physical training. *J Appl Physiol*, 33: 607-610, 1972.
- HITZE, T.H.; WANG, J.; PATEL, M.; SCHUSTEK, M.; OCHOA, R.; DEAN, F.; CHIRUZZO, ZEBALLOS, G. - Dynamics of atrial peptide secretion in the coronary circulation of the conscious dog. *Cir Res*, 67: 609-614, 1990.
- HOFFMAN, A. - Blood pressure and physical fitness in children. *Hypertension*, 9: 188-191, 1987.
- HORI, M. & KITAKAZE, M. - Adenosine, the heart, and coronary circulation. *Hypertension*, 18 (5): 565-574, 1991.
- HU, C.T.; KUO, C.C.; CHIA, Y.W.; CHEN, H.I. - Acute effects of nitric oxide blockade with L-NAME on arterial haemodynamics in the rat. *Br J Pharmacol*, 122 (6): 1237-1243, 1997.
- HUGHES, I.E. & SMITH, J. A. - The stability of noradrenaline in physiological salt solutions. *J Pharmac Pharmacol*, 30: 124-126, 1978.
- IGNARRO, L.J.; BYRNS, R.E.; BUGA, G.M.; WOOD, K.S. - Endothelium-derived relaxing factor pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*, 61: 866- 879, 1987.

- IWAMOTO, T.; UMEMURA, S.; TOYA, Y.; UCHIBORI, T.; KOGI, K.; TAKAGI, N.; ISHII, M. - Identification of adenosine A2 receptor-cAMP system in human aortic endothelial cells. **Biochem Biophys Res Commun**, **199** (5): 905-910, 1994.
- JAMES, T. N. - The chronotropic action of ATP and related compounds studied by direct perfusion of the sinus node. **J Pharmacol Exp Ther**, **149** (2): 233-247, 1965.
- JANSAKUL, C & HIRUPAN, P. - Effects of exercise training on the responsiveness of the mesenteric arterial bed to phenylephrine and KCL in male rats. **Br J Pharmacol**, **127**: 1559-1566, 1999.
- KAKUYAMA, M; VALLANCE, P; AHLUWALIA, A - Endothelium-dependent sensory NANC vasodilatation: involvement of ATP, CGRP and a possible NO store. **Br J Pharmacol**, **123** (2): 310-316, 1998.
- KAUMANN, A. J. & MOLENNAR P. - Modulation of human cardiac function through 4 beta- adrenoceptor population **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, **355**: 667-81, 1997.
- KAUMANN, A. J.; PREITNER, F.; SARSERO, D.; MOLENAAR, P.; REVELLI, J. P.; GIACOBINO, J. P. (-) – C-GP 12177 causes cardiostimulation and binds to cardiac putative beta 4-adrenoceptors in the wild-type and beta 3-adrenoceptor knockout mice. **Mol Pharmacol**, **53**: 670-5, 1998.
- KELLY, R.A.; BALLIGAND, J.; SMITH, T.W. - Nitric oxide and cardiac function. **Circ Res**, **79**: 363-380, 1996.
- KENNEY, M.J. & SEALS, D.R. - Postexercise hypotension, **Hypertension**, **22**: 653- 664, 1993.
- KENT, K. M.; EPSTEIN, S. E.; COOPER, T.; JACOBWITZ, D. M. - Cholinergic innervation of the canine and human ventricular conducting system, anatomic and electrophysiologic correlation. **Circulation**, **58**: 948-955, 1974.

- KHAKH, B.S.; HUMPREY, P.P; HENDERSON G. - ATP-gated cation channels (P2x purinoceptors in trigeminal mesencephalic nucleus of the rat. **J Physiol (Lond)**, **498** (3): 709-715, 1997
- KLABUNDE, R.E.; RITGER, R.C.; HELGREN, M.C. - Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium-derived relaxing factors (nitric oxide) formation release in anesthetized dogs. **Eur J Pharmacol**, **199**: 51-59, 1991.
- KLASSEN, G.; BARCKAY, K.; WONG , R. – Canine myocardial capillary blood flow during systole and diastole: the effects of regional collagenase. **FASEB J**, **10**:A324, 1996.
- KNOWLES, R.G.; PALACIOS, M.; PALMER, R.M. MONCADA, S. – Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. **Proc Natl Acad Sci USA**, **86** (13):5159-5162, 1989.
- KOBZIK, L.; REID, M.B; BREDET, D.S.; STAMLER, J.S. - Nitric oxide in skeletal muscle. **Nature**, **373**: 546-548, 1994.
- KRIEGER, E.M.; BRUM, P.C.; NEGRAO, C.E. - Role of arterial baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. **Biol Res** **31**(3): 273-279, 1998.
- KRIEGER, J.E. - Biologia molecular na hipertrofia cardíaca. **Rev Soc Cardiol Estado São Paulo**, **4**: 347-352, 1994.
- LANDS, A.M.; ARNOLD, A.; MCAULIFF, J.P.; LUDUENA, F.R.; BROWN, - T.B.; Differentiation of receptors systems activated by sympatomimetic amines. **Nature (London)**, **214**: 597-598, 1967.
- LANGER, S. Z. - Presynaptic regulation of catecholamine release. **Biochem. Pharmacol**, **23**: 1793-1800, 1974.

- LEBLANC, J.; BOULAY, M.; DULAC, S.; JOBIN, M.; LABRIE, A.; ROUSSEAN-MIGNERON, S. - Metabolic and cardiovascular response to norepinephrine in trained and nontrained human subjects. **J Appl Physiol**, **42**: 166-173, 1977.
- LEE, I.; PAFFENBARGER, R.S.; HSIEH, C.; Physical activity and risk of development colo rectal cancer among college alumni. **J Natl Cancer Inst**, **83**: 1324-1329, 1991.
- LEON, A.S.; CONNET, J.J.; RAURAMA, R. - Leisure-time physical activity levels and risk of coronary heart disease and death: the multiple risk factors intervention trials, **Jama**, **258**: 2388-2395, 1987.
- LEVY, M.N. & SCHWARTZ P.J., - **Vagal Control of the Heart: Experimental Basis and Clinical implications**. N.Y. Futura Publishing CO., Armonk, 1994.
- LIANG, B.T. & HALTIWANGER, B. - Adenosine A2a and A2b receptors in cultured fetal chick heart cells. High- and low-affinity coupling to stimulation of myocyte contractility and cAMP accumulation. **Circ Res**, **76** (2): 242-251, 1995.
- LIN, Y.C. & HORVATH, S. M. - Autonomic nervous control of cardiac frequency in the exercise-trained rats. **J Appl Physiol**, **33** (6): 796-799, 1972.
- LIND, L.; BERNE, C.; ANDREN, B.; LITHEL, H. - Relationship between diastolic hypertension and myocardial morphology and function in elderly males with diabetes mellitus. **Diabetologia**, **39** (12): 1603-1606, 1996.
- LINDSEY, C.J. - Central bradykinin receptor in the SHR and blood pressure. **Progr in Hypertension**, **3**: 109-125, 1995.
- LUNDBERG, J.M.; FRANCO-CERECEDA, A., HUA, X.; HOKFELT, T.; FISCHER, J.A. - Co-existence of substance P and calcitonin gene-related peptide immunoreactivities in sensory nerves in relation to cardiovascular and bronchoconstrictor effects of capsaicin. **Eur J Pharmacol**, **108**: 315-321, 1985.
- LUND-JOHANSEN, P. - Hemodynamics in essential hypertension. **Clin Sci**, **59**: 343s-354s, 1980.

- LUVARA, G.; PUEYO, M.E.; PHILLIPPE, M.; MANDET, C.; SAVOIE, F.; HENRION, D.; MICHEL, J.B. - Chronic blockade of NO synthase activity induces a proinflammatory phenotype in the arterial wall: prevention by angiotension II antagonism. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, **18**: 1408-1416, 1998.
- MAEDA, A.; KUBO, T.; MISHINA, M.; NUMA, S. - Tissue distribution of mRNAs encoding muscarinic acetylcholine receptors subtypes. **FEBS Lett**, **239**: 339-342, 1988.
- MALHOTRA AS., PENPARGKUL S., SCHAIBLE T., SCHEUER J. Contractile proteins and sarcoplasmic reticulum in physiologic cardiac hypertrophy. **Am J Physiol** **241** (10): H263-H267, 1981.
- MANSON, J.E.; RIMM, E.B.; STAMPFER, M.J. - Physical activity and incidence of non-insuline-dependent diabetes mellitus in women. **Lancet**, **338**: 774-778, 1991.
- MARQUARDT, D.L.; WALKER L.L.; HEINEMANN S. Cloning of two adenosine receptor subtypes from mouse bone marrow-derived mast cells. **J Immunol**, **152** (9): 4508-4515, 1994.
- MARTIN, P.L. - Evidence that adenosine receptors in the dog left atrium are not typical A1 or A2 adenosine receptor sutypes. **Eur J Pharmacol**, **214** (3): 199-205, 1992.
- McCRIMMON, D.R.; CUNNINGHAM, D.A.; RECHNITZER, P.A. - Effets of training on plasma catecholamines in post-myocardial infarction patients, **Med Sci Sport**, **8**: 152-156, 1976.
- McGINNIS, J.M. & FOEGE, W.H. - Actual causes of death in the United States. **Jama**, **270**: 2207-2212, 1993.
- MEDURAC, I. Characterization of instrumuscular collagen in the mammalian left ventricle. **Bas Res Cardiol**, **77**:589-598, 1982

- MELIN, B.; ECLACHE, J.P.; GEELLEN, G. - Plasma avp, neurophysin, renin activity, and aldosterone during submaximal exercise performed until exhaustion in trained and untrained men. **Eur J Appl Physiol**, **44**: 141-151, 1980.
- MINNEMAN, K.P. - α - β Adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates, and sources of cell Ca^{2+} . **Pharmacol Rev.**, **40**: 87-119, 1988.
- MINNEMAN, K.P. & MOLINOFF, P.B. - Classification and quantification of *beta* adrenergic receptor subtypes. **Biochem, Pharmacol**, **29**: 1317-1323, 1980.
- MOGUL D. J. - Differential activation of adenosine receptors decreases N-type but potentiates P-type Ca^{2+} current in hippocampal CA3 neurons. **Neuron**, **10** (2): 327-334, 1993.
- MOLE, P.A. - Increased contractile potencial of papillary muscle from exercise trained rats hearts. **Am J Physiol**, **234**: H421-H425, 1978.
- MOLENNAR, P.; SARSERO, D.; KAUMANN, A.J. Proposal for the interaction of non-conventional partial agonist and catecholamines with the 'putative beta 4-adrenoceptor in mamalian heart. **Clin Ex Pharmacol Physiol**, **24**: 647-56, 1997.
- MONCADA, S.; PALMER R.M.; HIGGS, E.A. - Nitric oxide: physiology pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol Rev**, **43**:109-142, 1991.
- MOORE, P.K.; AL-SWAYEH, O.A.; CHONG, N.W.S.; EVANS, R.A.; GIBSON, A. - L-N^G -nitro arginine (L-NOARG), a novel, L-arginine reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation "in vitro". **Br J Pharmacol**, **99**: 408- 412, 1990.
- MORENO Jr., H.; CEZARETI, L.R.M.; PIÇARRO,I.V. The influence of isotonic exercise on cardiac hypertrophy in arterial hypertension: impact on cardiac function and on the capacity for aerobic work. **Comp Biochem Physiol**, **11** (2): 313-320, 1995.

- MORENO Jr., H.; METZE, K.; BENTO, A.C.; ANTUNES, E.; ZATZ, R.; De NUCCI, G.
Chronic nitric oxide inhibition as a model of hypertensive heart muscle disease. **Bas Res Cardiovasc**, **91**: 248-255, 1996.
- MORENO, Jr., H.; NATHAN, L.P.; COSTA, S.K.P.; METZE, K.; ANTUNES, E.; ZATZ, R.; DE NUCCI, G. - Enalapril does not prevent the myocardial ischemia caused by the chronic inhibition of nitric oxide synthesis. **Eur J Pharmacol**, **287**: 93-96, 1995.
- MULSCH, A. & BUSSE, R. - N^G -nitro-L-arginine (N5-imino(nitroamino)methyl-L-ornithine) impairs endothelium-dependent dilations by inhibiting cytosolic nitric oxide synthesis from L-arginine. **Naunyn Schmieddeberg's Arch Pharmacol**, **341**: 143-147, 1990.
- MURAD, F.; FORSTERMANN, U.; NAKANE, M.; SCHIMIDT, H.; POLLOCK, J.; SHENG H.; MATSUMOTO, T.; WARNER, T.; MITCHELL, J.; TRACEY., *et al.* - The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction pathway in vascular smooth muscle preparations and other tissues. **Jpn J Pharmacol**, **58** (2):150P-157P, 1992.
- NAFRIALDI, B.J. & MIMRAM, A. - Renin-angiotensin system in the pressor effect of acute N^ω-nitro arginine methyl ester. **J Hypertension**, **11** (Suppl. 5): S324-S325, 1993.
- NATHAN, C. - Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. **Faseb J**, **6** :3051-3064, 1992.
- NEGRÃO, C.E.; IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; FREIRE, P.M.; KRIEGER, E.M. - Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control and blood pressure responsiveness. **Am J Physiol**, **265**: R365-R370, 1993.
- NISHIMURA, S.; MOHRI, M.; OKADA, Y.; MORI, M. - Excitatory and inhibitory effects of adenosine on the neurotransmission in the hippocampal slices of guinea pig. **Brain Res**, **525** (1): 165-169, 1990.

- NOMA, K.; RUPP, H.; JACOB, R. - Subcute and long term effect of swimming training on blood pressure in young and old spontaneously hypertensive rats. **Cardiovasc Res**, **21**: 871-877, 1987.
- OLIVEIRA, C.F.; CINTRA, K.A.; TEIXEIRA, S.A.; DE LUCA I.M.; ANTUNES, E.; DE NUCCI G. - Development of cardiomyocyte hypotrophy in rats under prolonged treatment with a low dose of a nitric oxide synthesis inhibitor. **Eur J Pharmacol**, **391** (1-2):121-126, 2000.
- OLIVEIRA, C.F.; NATHAN, L.P.; METZE, K.; MORENO, Jr; DE LUCA, I.M.S., SUCUPIRA, M.; ZATS, R.; ZAPELLINE, A.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. - Effect of Ca^{+} channel blockers on arterial hypertension and heart ischaemic lesions induced by cronic inhibition of nitric oxide synthesis in the rat. **Eur J Pharmacol**, **388** (3): 143-145, 1999.
- ONGINI, E. & FREDHOLM, B.B. - Pharmacology of adenosine A2A receptors. **Trends Pharmacol Sci**, **17** (10): 364-372, 1996.
- OVERTON, J.M.; JOYNER, M.J.; TIPTON, C.M.; - Reductions in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. **J Appl Physiol**, **64**: 748-752, 1988.
- PAFFENBARGER, R.S.; WING, AL.; HYDE, R.T.; JUNG, D.L. - Physical activity in incidence of hypertension in college alumni. **Am J Epidemiol**, **117**:245-257, 1983.
- PALMER, R.M.J.; ASHTON, D.S.; MONCADA, S. - Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, **333**: 664-666, 1988.
- PALMER, R.M.J.; FERRIGE, A.G.; MONCADA, S. - Nitric ocide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. **Nature**, **327**: 524-526, 1987.
- PANICO, S.; CELENTANO, E.; KROGH, V. – Physical activity and its relationship to blood pressure in children. **J Chron Dis**, **40**: 925-930, 1987.

- PEAKMAN, M.C.; HILL, S.J.; - Adenosine A2B-receptor-mediated cyclic AMP accumulation in primary rat astrocytes. **Br J Pharmacol**, **111** (1): 191-198, 1994.
- PEAKMAN, M.C.; HILL, S.J. - Adenosine A1 receptor-mediated inhibition of cyclic AMP accumulation in type-2 but not type-1 rat astrocytes. **Eur J Pharmacol**, **306** (1-3): 281-289, 1996.
- PECHANOVA, O; BERNATOVA, I.; PELOUCH, V.; SIMKO, F. - Protein remodelling of the heart in NO-deficient hypertension: the effect of captopril. **J Mol Cell Cardiol**, **29** (12): 3365-3374, 1997
- PERHONEN, M.; WANG, W.; HAN, X.; RUSKOAHO, H.; TAKALA, T.E.S. - Right ventricular collagen type III and IV gene expression increases during early phases of endurance training in hypobaric hypoxic condition. **Basic Res Cardiol**, **92**: 299-309, 1997.
- PERRAUT, H. & TURCOTTE, R.A. - Exercise-induced cardiac hypertrophy. Fact ou fallacy? **Sports Med**, **17** (5): 288-308, 1994.
- PETERSON, G.L.; HERRON, G.S.; YAMAKI, M.; FULLERTON, D.S., SCHIMERLIK, M.I. - Purification of the muscarinic acetylcholine receptor from porcine atria. **Proc Natl Acad Sci U.S.A.**, **81**:4993-4997, 1984.
- PFEFFER, M.A. – Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. **Ann Rev Med**, **46**: 455-466, 1995
- POLLOCK, D.M.; POLAKOWSKI, J.S.; DIVISH, B.J.; OPGENORTH, T.J. - Angiotensin blockade reverses hypertension during long-term nitric oxide synthase inhibition. **Hypertension**, **21**: 660-666, 1993.
- PORZIG H.; GUTKNECHT R.; KOSTOVA G.; THALMEIER K. - G-protein-coupled receptors in normal human erythroid progenitor cells. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, **353** (1): 11-20, 1995.

- POST, S.R.; HAMMOND, H.K.; INSEL, P.A. - Beta-Adrenergic receptors and receptor signaling in heart failure. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, **39**: 343 - 360, 1999.
- POUCHER, S.M.; NOWELL, C.G.; COLLIS, M.G. - The role of adenosine in exercise hyperaemia of the gracilis muscle in anaesthetized cats. **J Physiol Lond**, **427**: 19-29, 1990.
- PRENTICE, D.J. & HOURANI, S.M. - Activation of multiple sites by adenosine analogues in the rat isolated aorta. **Br J Pharmacol**, **118** (6): 1509-1517, 1996.
- PRIVITERA, P.J.; THIODEAUX, H.; YATES, P. - Rostral ventrolateral medulla as a site for the central hypertensive action of kinins. **Hypertension**, **23**: 52-57, 1994.
- PUFFINBARGER, N.K.; HANSEN, K.R.; RESTA, R.; LAURENT A.B.; KNUDSEN T.B.; MADARA, J.L.; THOMPSON, L.F.; - Production and characterization of multiple antigenic peptide antibodies to the adenosine A_{2b} receptor. **Mol Pharmacol**, **47** (6): 1126-1132, 1995.
- QUAST U. - Do the K⁺ channel openers relax smooth muscle by opening K⁺ channels? **Trends Pharmacol Sci**, **14**: 332-337, 1993.
- RAYMOND, J.R.; HNATOWICH, M.; LEFKOWITZ, R.J.; CARON, M.G. - Models for regulation of signal transduction processes. **Hypertension**, **15**: 119-131, 1990.
- REES, D.D.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. - Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. **Proc Natl Acad Sci USA**, **86**: 3375-3378, 1989.
- REISIN, E. - Nonpharmacologic approaches to hypertension weight, sodium, alcohol, exercise and tobacco, considerations. **Med Clin North Am**, **81** (6): 1289-1303, 1996.
- RIADO, S.R.; ZANESCO, A.; BARKER, L.A.; De LUCCA, I.M.S.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. Long-term nitric oxide inhibition and chronotropic responses in rat isolated right atria. **Hypertension**, **34** (2): 802-807, 1999.

- RIBEIRO, A. B. - **Atualização em Hipertensão Arterial: clínica, diagnóstico e terapêutica**. São Paulo:Ed. Atheneu, 496p., 1996.
- RIBEIRO, M.O.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G.; LOVISOLO, S.M.; ZATZ, R. - Chronic inhibition of nitric oxide synthesis - A new model of arterial hypertension. **Hypertension**, **20**: 298- 303, 1992.
- RICHARD, V., BERDEAUX, A., LA ROCHELLE, C.D. & GIUDICELLI, J.F. Regional coronary haemodynamic effects of two inhibitors of nitric oxide synthesis in anesthetized, open-chest dogs. **Br J Pharmacol**, **104**: 59-64, 1991.
- RODBELL, M. - The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. **Nature**, **284**: 17-22, 1980.
- RUBANYI, G.M.; ROMERO, J.C.; VANHOUTTE, P.M. - Flow-induced release of endothetium-derived relaxing factor. **Am J Physiol**, **250**: H1145-H1149, 1986.
- RYAN, A.J.; WEITZEL, P.F.; BENNESS, G.T.; - The metabolism and excretion of methylglacamine (N-methyl-D- Glucamine) in rat. **Life Sci**, **15** (12): 1925-1927, 1976.
- SAWYNOK, J.; ZARRINDAST, M.R.; REID, A.R.; DOAK, G.J.; - Adenosine A3 receptor activation produces nociceptive behaviour and edema by release of histamine and 5-hydroxytryptamine. **Eur J Pharmacol**, **333** (1): 1-7, 1997.
- SCHAIBLE, T.F. & SCHEUER J. - Effects of physical training by running or swimming on ventricular performance of rat hearts. **J Appl Physiol**, **46** (4): 854-860, 1979.
- SCHAIBLE, T.F. & SCHEUER, J. - Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. **J Appl Physiol**, **50**: 1140-1145, 1981.
- SCHEUER, J. & TIPTON, C.M. - Cardiovascular adaptation to physical training. **Annu Rev Physiol**, **39**: 221-251, 1977.

- SCHIFTER, S.; BREUM, L.; NICLASSEN, B.; VOLLMER-LARSEN, A.; RASMUSSEN, H.S.; GRAFF-LARSEN, O.; - Calcitonin gene related peptide during exercise and training **Horm Metab Res**, **27**:473-475, 1995.
- SCHRADER, J.; HADDY, F.J.; GERLACH, E. - Release of adenosine, inosine and hypoxanthine from the isolated guinea pig heart during hypoxia, flow-autoregulation and reactive hyperemia. **Pflugers Arch**, **369** (1): 1-6, 1977.
- SCHULZ, R.; TRIGGLE, C.R. - Role of NO in vascular smooth muscle and cardiac muscle function. **Trends Pharmacol Sci**, **15** (7): 255-259, 1994.
- SESSA, W.C.; PRITCHARD, K.; SEYEDI, N.; WANG, J.; HINTZE, T.H. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. **Circ Res**, **74**: 349-353, 1994.
- SHAEFER, M.E.; ALLERT, J.A.; ADAMS, T.R.; LAUGHLIN, M.H. Adrenergic responsiveness and intrinsic sinoatrial automaticity of exercise trained rats. **Med Sci Sports Exerc**, **24** (8): 887-894, 1992.
- SHEN, W.; RUNDBORG, M.; WANG, J.; STEWART, J.M.; XU, X.; OCHOA, M.; HINTZE, T.H. - Role of EDRF in the regulation of regional blood flow and vascular resistance at rest and during exercise in conscious dog. **J Appl Physiol**, **77** (1): 165-172, 1994.
- SHEN, Y.T. - Atrial natriuretic factor induced systemic vasoconstriction in conscious dogs, rats and monkeys. **Circ Res**, **66**: 647-661, 1990.
- SIGRIST, S.; FRANCO-CERECEDA, A.; MUFF, R.; HERMANN, F.; LUNDBERD, G.; FISCHER, J.A. - Specific receptor and cardiovascular effect of calcitonin gene-related peptide. **Endocrinology**, **119** (1): 381-389, 1986.
- SMITH, J.A.; SHAH, A.M.; LEWIS, M.J. - Factors released from the endocardium of the ferret and the pig modulate myocardial contraction. **J Physiol (Lond)**, **439**: 1-4, 1991.

SNOW-HARTER, C.; & MARCUS, R. - Exercise, bone mineral density, and osteoporosis.

Exerc Sport Sci Rev, 19: 351-388, 1991.

STAMLER, J.S.; LOH, E.; RODDY, M.A.; CURRIE, K.E.; CREAGER, M.A. Oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans.

Circulation, 89: 2035-2040, 1994.

STARKE, K. - Presynaptic receptor of central catecholamine neurones. **Postgrad Med J**, 57 Suppl. 1:30-5, 1981.

STYLLES, G. L.; CARON, M. G.; LEFKOWITZ, R. J. - Beta-adrenergic receptors: biochemical mechanisms of physiological regulation. **Physiol Rev**, 64: 661-743, 1984.

TAWFIK-SCHLIEPER, H; KLOTZ, K.N.; KREYE, V.A.; SCHWABE U. Characterization of the K(+) – channel coupled adenosine receptor in guinea pig atria. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, 340 (6): 684-688, 1989.

TIPPINS, J.R.; MORRIS, H.R.; PANICO, M.; ETIENNE, T.; BEVIS, P.; GIRGIS, S.; MACINTYRE, I.; AZRIA, M.; ATTINGER, M. The myotropic and plasma-calcium modulating effects of calcitonin gene-related peptide. **Neuropeptides**, 4: 425-429, 1984.

TIPTON, C.M., MATHEES, R.D., MARCUS, K.D.; ROWLETT, K.A; LEININGER, J.R. - Influences of exercise intensity, age, and medication on resting systolic blood pressure of SHR populations. **J Appl Physiol (Respirat Environ Exercise Physiol)**, 55 (4): 1305-1310, 1983.

TIPTON, C.M.; MATHEES, R.D.; CALLAHAN, A. ;TCHENG, T. - The role of chronic exercise on resting blood pressures of normotensive and hypertensive rats. **Med Sci Sports Exerc**, 9: 168-177, 1977.

TIPTON, C.M.; MATHEES, R.D.; BEDFORD, T.G. - Influence of training on the blood pressure changes during lower body negative pressure in rats. **Med Sci Sports Exerc**, 14: 81-90, 1982.

- VAN GELDEREN, E.M.; DEN BOER, M.O.; SAXENA, P.R. - N^G-nitro L-Arginine methyl ester: systemic and pulmonary haemodynamics, tissue blood flow and arteriovenous shunting in the pig. **Naunyn Schmiedeberges Arch Pharmacol**, **348** (4): 417-423, 1993.
- VAN ROSSUM, J.M. - Cumulative dose-response curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of the drug parameters. **Arch Internat Pharmacod Ther**, **143**: 229-330, 1963.
- VOGT, M.; OTT, B.; RUPP, H.; JACOB, R. - Significance of physical exercise in hypertension. Influence of water temperature and beta-blockade on blood pressure degree of cardiac hypertrophy and cardiac function in swimming training of spontaneously hypertensive rats. **Basic Res Cardiol**, **81** (suppl 1): 157-169, 1986.
- WEST, G.A.; & BELARDINELLI, L. - Sinus slowing and pacemaker shift caused by adenosine in rabbit AS node. **Pflugers Arch**, **403** (1): 66-74, 1985.
- WIDOPP, R.E.; GARDINER, S.M.; KEMP, P.A.; BENNETT, T. - The influence of atropine and atenolol on the cardiac haemodynamic effects of N^o-nitro L-arginine methyl ester in conscious, Long Evans rats, **Br J Pharmacol**, **105**: 653-656, 1992.
- XIAO, R. P.; AVDONIN, P.; ZHOU, Y. Y.; CHENG, H.; AKHTER, S. A.; ESCHENHAGEN, T.; LEFKOWITZ, R. J.; KOCH, W. J.; LAKATTA, E. G. - Coupling of beta 2-adrenoceptor to G: proteins and its physiological; relevance in murine cardiac myocytes. **Circ Res**, **84**: 43-52, 1999.
- YATANI, A.; OKABE, K.; CODINA, J.; BIRNBAUMER, L.; BROWN, A. M. - Heart rate regulation by G proteins acting on the cardiac pacemaker channel. **Science**, **249**: 1163-1166, 1990.
- YEN, M.H.; YANG, J.H.; SHEN, J.R.; LEE, Y.M.; DING, Y.A; Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilatation in spontaneously hypertensive rats. **Life Sci**, **57** (24): 2205-2213, 1995.

- ZANESCO, A.; COSTA, S.K.P.; RIADO, S.R.; OLIVEIRA, C.F.; DE LUCA, I. M.S. ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. - Modulation of coronary flow and cardiomyocyte size by sensory nerve fibres in rats. **Hypertension**, **34**: 790-794, 1999.
- ZAPPELLINI, A.; TEIXEIRA, S.A; MUSCARA; M.N.; ZATZ, R.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. - In vivo inhibition of nitric oxide synthesis does not depend on renin-angiotensin system activation. **Eur J Pharmacol**, **19** (2-3): 285-291, 1996.
- ZATZ, R. - A low cost tail-cuff method for the estimation of mean arterial pressure in conscious rats. **Laborat Anim Sci**, **40** (2), 198-201, 1990.
- ZATZ, R. & BAYLIS, C.- Chronic nitric oxide inhibition model six years on. **Hypertension**, **32**(6):958-964, 1998.