

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



HEDER FRANK GIANOTTO ESTRELA

REATIVIDADE VASCULAR DE ANÉIS DE AORTA ISOLADA DE
RATOS NORMO OU HIPERLIPIDÊMICOS, SEDENTÁRIOS OU
SUBMETIDOS À NATAÇÃO

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Heder Frank Gianotto Estrela
[Signature]
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Biologia
Funcional e Molecular, área de
Fisiologia, para obtenção do título de
Mestre.

Orientadora: Profa Dra Dora Maria Grassi-Kassisse

Co-Orientadora: Profa Dra Regina Célia Spadari

Campinas, 2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

| | |
|--------------|---|
| Es88r | <p>Estrela, Heder Frank Gianotto Reatividade vascular de anéis de aorta isolada de ratos normo ou hiperlipidêmicos, sedentários ou submetidos à natação / Heder Frank Gianotto Estrela. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.</p> <p>Orientadora: Dora Maria Grassi-Kassisse. Co-orientadora: Regina Célia Spadari-Bratfisch. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. Rato - Exercícios. 2. Reatividade vascular. 3. Dieta hiperlipídica. 4. Rato - Fisiologia. I. Grassi-Kassisse, Dora Maria. II. Spadari-Bratfisch, Regina Célia. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.</p> <p>(rcdt/ib)</p> |
|--------------|---|

Título em Inglês: Vascular reactivity of isolated aortic rings from norm or hyperlipidemic rats, sedentary or submitted to swimming.

Palavras-chave em Inglês: Rats - Exercise; Vascular reactivity; Hyperlipidic diet; Rats - Physiology.

Área de concentração: Fisiologia.

Titulação: Mestre em Biologia Funcional e Molecular.

Banca examinadora: Dora Maria Grassi-Kassisse, Miguel Arcanjo Áreas, Wilson Nadruz Junior.

Data da defesa: 27/06/2007.

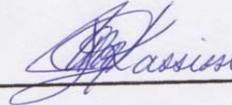
Programa de Pós-Graduação: Biologia Funcional e Molecular.

Data da defesa: 27 de junho de 2007

BANCA EXAMINADORA:

TITULARES

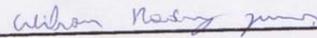
Profª. Dra. Dora Maria Grassi-Kassisse (orientadora)



Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas



Prof. Dr. Wilson Nadruz Junior



SUPLENTES

Profª. Dra. Eliana Cotta de Faria

Profª. Dra. Iraides Nunes dos Santos

"A fé e a razão são como as duas asas com as quais o espírito humano se eleva à contemplação da verdade. Deus colocou no coração do homem o desejo de conhecer a verdade e, definitivamente, de conhecê-lo para que, conhecendo-o e amando-o, possa alcançar também a plena verdade sobre si mesmo"

João Paulo II

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Manoel e Nirce, que nunca mediram esforços e acreditaram neste meu sonho. Sempre me apoiaram e me deram condições para a realização de meus ideais.

Esta vitória é tão minha quanto de vocês.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas dificuldades encontradas ao longo de minha formação, que me fizeram forte e me deram coragem para vencer e pela fé que me fez acreditar em meus sonhos.

À Profa. Dra. Dora Maria Grassi-Kassisse, minha orientadora, a quem devo minha admiração, respeito e agradecimento. Muito mais que uma oportunidade, ela concedeu-me confiança, e com muita paciência ensinou-me a fazer ciência. Peço desculpas pelos erros que cometi e agradeço pelas correções que recebi, finalizo esta etapa com muita satisfação, pois você não foi apenas uma orientadora e sim uma educadora, que muito contribuiu para minha formação profissional e pessoal. Muito obrigado.

À Profa. Dra. Regina Célia Spadari-Bratfisch, minha co-orientadora. Nunca precisou de palavras para mostrar-me a beleza do conhecimento, com muita competência e atitude, ela sempre me mostrava a melhor maneira de resolver as diversas dificuldades encontradas no desenvolvimento deste trabalho. Muito mais que conhecimentos técnicos ela me ensinou a ter responsabilidade e adquirir valores que jamais serão perdidos. Muito obrigado.

À Profa Dra. Ana Célia Ruggiero, minha primeira orientadora, quem me colocou a “gatinhar” pelos caminhos da pesquisa e do conhecimento. Parece que foi ontem que realizei meus primeiros experimentos da iniciação científica, que entreguei meu primeiro relatório científico, que falei em um auditório no congresso de iniciação científica da Unimep. Muito obrigado por ter me mostrado esse lado magnífico da ciência.

À Profa Dra. Claudia Regina Cavagliere, minha professora de fisiologia, quem me apresentou os primeiros conceitos dessa ciência pela qual me apaixonei e mostrou-me os caminhos para o crescimento pessoal e profissional. Muito obrigado.

Ao meu irmão Breno, minha cunhada Silvia e minhas sobrinhas Bruna e Beatriz, que mesmo estando alguns quilômetros daqui me deram muita força. Amo vocês.

À Renata, minha namorada. A mulher que tive a felicidade de conhecer quando estava finalizando este trabalho e que trouxe brilho a tudo isso. Te amo.

À Ana Euci, técnica do laboratório que comecei minha iniciação científica. Competência e força de vontade sempre foram qualidades admiradas pelos alunos que por lá passaram.

Aos amigos da graduação e da vida, Ana Flávia, Gislaine (Gi), Juliana (Juju), Maíra, Milena (Mii) e William e vários outros que sempre me incentivaram a lutar pelos meus ideais.

Aos amigos de Tanabi, Carina (Ca), Christine (Chris), Élson, João Paulo (Jota) e Regiane (Re), vocês foram imprescindíveis durante essa etapa da minha vida. Muito obrigado.

Aos amigos do Laboratório de Estudos do Estresse (LABEEST): Aglécio, Alexandre, Danilo, Edgar, Edla, Elaine, Gerusa, Juliana, Karina, Márcia, Tim, Marília pelo apoio, ajuda, ensinamentos, companheirismo e tantos momentos de alegria que fizeram história.

Aos estagiários do LABEEST: Aline, Danusa, Débora (Carpim) e Marcelinho (mininin), pelo empenho e dedicação para manter a ordem no laboratório.

À Marília, que participou ativamente no desenvolvimento deste trabalho. Nunca esquecerei aquele marcante primeiro de abril no laboratório e os diversos episódios que ocorreram a cada dia experimental. Muito obrigado pela força.

À Kaka, no início apenas uma vizinha e colega de laboratório muito engraçada, agora uma grande amiga. Não apenas companheira de trabalho, mas uma pessoa muito especial que posso contar nas horas de grande alegria e nos momentos mais difíceis. Agradeço a Deus por ter te conhecido.

Ao Danilin, o santo, com sua agenda sempre cheia de reuniões científicas, especialmente quando há show do Chiclete. Um dia eu ainda consigo fazer tudo o que ele faz sem fugir de prazos e deveres. Sempre serei grato pela força que você me deu na qualificação.

À Elaine, que apesar de querer me cobrar o material de consumo que utilizei durante o estágio no laboratório sempre me recebeu com muita simpatia e paciência. É um grande prazer trabalhar com você.

À tia Edla (Esdras) e Marcinha, grandes amigas e conselheiras, muito contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

À Juliana, sempre veterana, da graduação à pós-graduação. Lembro-me a primeira vez que fui ao laboratório e voltamos no mesmo ônibus para Piracicaba, antes mesmo de iniciar esse trabalho. Sempre serei grato pelos conselhos e dicas transmitidos naquele dia.

Aos amigos do laboratório 4, 10 e 13, Amarylis, Viviane (Vivis), Leandro (Balboa), Carol, José Antônio, Rodrigo, Claudinha, Emiliane, Gislaine (Gi), Bread, Fer e Rafa, vocês foram muito mais que companheiros e colaboradores, foram amigos verdadeiros e essenciais para finalização deste trabalho. Estarei sempre torcendo por vocês.

Aos amigos da república 51, Alessandro, Camboja, Glaycon, José Bola, Mandrak, Panaminho e Regis, sempre dispostos a ouvir minhas histórias, especialmente enquanto trabalhava na drogaria Pharmoderna. Vocês foram minha segunda família e são como irmãos.

Aos amigos Ale, Fer, Mari, Leandro, Lucas, Ludmila e Rafa, sempre me lembrarei dos encontros pelo corredor do departamento e dos vários momentos que nos reuníamos para trocar não apenas conhecimento mas experiências de vida, momentos que jamais serão esquecidos. Estarei sempre torcendo por vocês.

Aos amigos de trabalho e agora da vida, Iraídes, Ivani, Paula e Ricardo. Obrigado pela força.

À Luciana, minha english teacher, sempre disposta a ouvir minhas histórias e lamentações, em inglês lógico. Obrigado pela força.

À Gilda e ao Zé, pais do Danilo, pelas tantas vezes que me acolheram em casa, inclusive em um dia das mães. Muito obrigado pela força.

À Profa Dra. Marta Helena Krieger pelo auxílio tanto com a infra-estrutura necessária para alguns ensaios, quanto pelas discussões e ensinamentos. Muito Obrigado.

Ao Prof Dr. Douglas Wagner Franco e Dra. Patrícia Graça Zanichelli, pela colaboração e enriquecimento de trabalhos científicos.

A todos os funcionários do departamento de Fisiologia, em especial a Alexandra, Andréia, Chico, Ivo, Marina e Dona Zefa que de alguma forma auxiliaram e deram suporte necessário para o desenvolvimento deste trabalho.

A todo corpo docente do Departamento de Fisiologia e Biofísica e do Departamento de Bioquímica, pelos ensinamentos transmitidos e pelo esforço em manter este curso de Pós-graduação em alto nível.

Ao Centro Universitário Padre Anchieta, pelo crescimento e amadurecimento profissional nestes últimos meses.

A todos os amigos que compartilharam comigo importantes momentos de resiliência, e hoje podemos celebrar mais essa vitória. Muito obrigado.

Ao CNPq pela bolsa de estudos durante todo o período de pós-graduação.

Aos animais agradeço e sinto muito por nos doarem a vida.

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| RESUMO | xi |
| ABSTRACT | xiii |
| LISTA DE ABREVIATURAS | xv |
| LISTA DE TABELAS | xvii |
| LISTA DE FIGURAS | xix |
| 1. INTRODUÇÃO | 01 |
| 2. OBJETIVOS | 10 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 11 |
| 3.1. Animais..... | 11 |
| 3.2. Grupos experimentais..... | 11 |
| 3.3. Protocolo de atividade física (natação)..... | 12 |
| 3.4. Coleta de sangue e análises plasmáticas..... | 12 |
| 3.4.1. Análise da concentração plasmática de colesterol..... | 12 |
| 3.4.2. Análise da concentração plasmática de triacilgliceróis..... | 12 |
| 3.4.3. Análise da concentração plasmática de lipoproteínas..... | 13 |
| 3.5. Preparação dos anéis de aorta isolada..... | 13 |
| 3.6. Obtenção de curva concentração-efeito..... | 14 |
| 3.7. Drogas e reagentes..... | 15 |
| 3.8. Análise estatística..... | 15 |
| 4. RESULTADOS | 17 |
| 5. DISCUSSÃO | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 6. CONCLUSÃO..... | 42 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 43 |
| 8. ANEXOS | 62 |

Resumo

Lipídios provenientes da dieta têm importante participação nas alterações vasculares observadas na síndrome plurimetabólica. O objetivo desta tese foi analisar a reatividade vascular de anéis de aorta com e sem endotélio isoladas de ratos normo ou hiperlipidêmicos, sedentários ou submetidos à natação. Ratos Wistar machos adultos foram usados após uma semana de adaptação em salas climatizadas $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e com ciclo claro-escuro de 12 h (luzes acendendo as 6:30 da manhã). Os experimentos foram realizados de acordo com os princípios para utilização de animais em pesquisa e educação e adotados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Os animais foram randomicamente distribuídos em dois grupos: sedentários (S) e que praticaram exercício físico (T). O exercício constou de sessões de natação na frequência de 5 dias na semana com 50 minutos de duração durante 20 dias em tanque de água com temperatura de $34 \pm 2^\circ\text{C}$. Estes dois grupos foram ainda subdivididos em 2 subgrupos, o que recebia ração padrão (N) e outro que recebia dieta rica em lipídios (H). Anéis de aorta com e sem endotélio foram isoladas e curvas cumulativas concentração-efeito à noradrenalina (NA), à acetilcolina (ACh) e ao nitroprussiato de sódio (SNP) foram obtidas, na ausência ou presença de L-NAME ou indometacina. Os ratos sedentários e tratados com dieta hiperlipídica (HS) apresentaram aumento das concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, colesterol total e das frações LDL e VLDL, determinados ao final da quarta semana de tratamento. O protocolo de natação não induziu qualquer alteração no perfil lipídico dos ratos normolipidêmicos (NT vs NS). Entretanto este programa de atividade física impediu o aumento das concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, colesterol total, e suas frações LDL e VLDL, induzidos pela dieta hiperlipídica. A remoção do endotélio promoveu aumento da resposta máxima (gf) e dos valores pD_2 à noradrenalina em todos os grupos [$2,13 \pm 0,18$ e $7,19 \pm 0,14$ (NScom) - $3,60 \pm 0,20^*$ e $7,69 \pm 0,09^*$ (NSsem); $1,46 \pm 0,14$ e $7,31 \pm 0,09$ (NTcom) - $3,14 \pm 0,10^*$ e $7,86 \pm 0,10^*$ (NTsem); $2,02 \pm 0,08$ e $7,09 \pm 0,13$ (HScom) - $3,52 \pm 0,10^*$ e $7,89 \pm 0,06^*$ (HSsem); $2,08 \pm 0,19$ e $7,37 \pm 0,10$ (HTcom) - $3,17 \pm 0,19^*$ e $7,82 \pm 0,13^*$ (HTsem)]. Estatisticamente diferente ($p < 0,05$) em: * comparado aos anéis com endotélio (Teste t de student)]. A dieta hiperlipídica não promoveu alterações vasculares aos diferentes agonistas, em animais sedentários (NS vs HS). O programa de exercício físico proposto induziu redução da resposta máxima à noradrenalina e aumento da resposta

máxima à acetilcolina em ratos normolipidêmicos (NS *vs* NT). A resposta máxima (%) e os valores pD_2 à acetilcolina foram respectivamente: $61,87 \pm 6,13$ e $6,91 \pm 0,06$ (NS), $90,35 \pm 3,15^{abc}$ e $7,11 \pm 0,08^a$ (NT), $53,22 \pm 2,80$ e $6,78 \pm 0,06$ (HS); $69,70 \pm 4,63$ e $6,94 \pm 0,11$ (HT), ^a comparado ao grupo NS; ^b comparado ao grupo HS e ^c comparado ao grupo HT ($p < 0,05$ ANOVA seguida de teste de Tukey). A associação da dieta hiperlipídica e a atividade física fez com que não fossem observadas redução da resposta máxima à noradrenalina e aumento da resposta à acetilcolina nos animais exercitados (NT *vs* HT). Estes efeitos induzidos pelas sessões de natação foram abolidos pela remoção do endotélio ou tratamento com L-NAME, indicando a participação do NO derivado do endotélio. Nenhuma alteração foi observada na curva concentração-efeito ao SNP nos diferentes grupos: 100% e $7,83 \pm 0,11$ (resposta máxima e valores pD_2 , respectivamente). Assim podemos sugerir que o programa de exercício físico proposto diminui a resposta vascular à noradrenalina e aumenta a resposta vasorelaxante à acetilcolina por aumento do NO derivado do endotélio, e que a dieta hiperlipídica embora não cause alterações vasculares nos animais sedentários, impede os efeitos benéficos do exercício.

Abstract

Ingesting a lipid diet has an important effect on vasomotor changes found in metabolic syndrome. The aim of this work was to analyze the vascular reactivity on isolated aortic rings with or without endothelium from normo or hyperlipidemic rats, sedentary or submitted to swimming. Adult male Wistar rats were used after one week of adaptation in acclimated room at $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ and 12h light-dark cycle (lights on at 6:30 a.m.). The experiments were carried out in accordance to the principles for animals use in research and education and adopted by COBEA (Brazilian College for Animal Experimentation). The animals were randomly distributed into two groups, sedentary (S) and exercised (T) with swimming sessions, 5 days a week (50 min. session) for 20 days in a glass tank with water at $34 \pm 2^{\circ}\text{C}$. These two groups were divided into two subgroups; one of them fed with a standard chow (N) and the other, a high fat-CHO diet (H). Aortic rings with or without endothelium were isolated and cumulative concentration-effect curves to noradrenaline (NA), acetylcholine (ACh), and sodium nitroprusside (SNP) were obtained, in presence or absence of L-NAME or indomethacin. High fat-CHO diet ingestion during four weeks induced a significant increase in triglyceride, total cholesterol, low density lipoprotein and, very low density lipoprotein plasma levels. The physical exercise program did not altered blood lipid levels in normolipidemic rats however avoided the increase in triglyceride, total cholesterol, low density lipoprotein and, very low density lipoprotein blood levels induced by high fat-CHO diet. The absence of endothelium increased the maximum response (gf) and pD_2 values to noradrenaline in all groups [2.13 ± 0.18 e 7.19 ± 0.14 (NSwith) – $3.60\pm 0.20^*$ e $7.69\pm 0.09^*$ (NSwithout); 1.46 ± 0.14 e 7.31 ± 0.09 (NTwith) – $3.14\pm 0.10^*$ e $7.86\pm 0.10^*$ (NTwithout); 2.02 ± 0.08 e 7.09 ± 0.13 (HSwith) – $3.52\pm 0.10^*$ e $7.89\pm 0.06^*$ (HSwithout); 2.08 ± 0.19 e 7.37 ± 0.10 (HTwith) – $3.17\pm 0.19^*$ e $7.82\pm 0.13^*$ (HTwithout)]. Statistically difference ($p<0.05$) in: * compared to rings with endothelium (student's *t* test)]. The high fat-CHO diet didn't promote any changes in the vasomotor response to any of the compounds, in sedentary rats (NS vs HS). The physical exercise program induced decrease of the maximum response to noradrenaline and increase of maximum response to acetylcholine in normolipidemic rats (NS vs NT). The maximum response (%) and pD_2 values to acetylcholine were respectively: 61.87 ± 6.13 e 6.91 ± 0.06 (NS), $90.35 \pm 3.15^{\text{abc}}$ e $7.11 \pm 0.08^{\text{a}}$ (NT), 53.22 ± 2.80 e 6.78 ± 0.06 (HS); 69.70 ± 4.63 e 6.94 ± 0.11 (HT); ^a compared to NS group; ^b compared to HS group, and ^c

compared to HT group ($p < 0.05$ ANOVA, after by Tukey's test). The high fat-CHO diet avoided the decrease of maximum response to noradrenaline and increase to acetylcholine on exercised rats (NT *vs* HT). Those effects induced by the swimming program were prevented by the endothelium removal or tissue treatment with L-NAME, suggesting the participation of endothelium derived NO. No changes were observed in the concentration-effect curves to SNP in aorta of rats from any group: 100% e 7.83 ± 0.11 (maximum response and pD_2 value, respectively). We suggest that the physical exercise program decreased vasomotor response to noradrenaline and increased the vasorelaxant response to acetylcholine by increasing of endothelium derived NO, and that the high fat-CHO diet avoids the benefit effects from physical exercise, although it doesn't cause vasomotor changes in sedentary rats.

Lista de abreviaturas

| | |
|------------------|--|
| ACh | Acetilcolina |
| AMPC | Adenosina Monofosfato cíclica |
| Ang II | Angiotensina do tipo II |
| ANOVA | Análise de variância |
| ATP | Trifosfato de adenosina |
| Ca ²⁺ | Íons cálcio |
| CCE | Curva concentração-efeito |
| CT | Colesterol total |
| D-arg | Aminoácido D-arginina |
| EC ₅₀ | Concentração molar do agonista que determina resposta igual a 50% da resposta máxima |
| eNOS | Óxido nítrico sintase endotelial |
| EROS | Espécies reativas de oxigênio |
| ET-1 | Endotelina do tipo 1 |
| FHDE | Fator hiperpolarizante dependente do endotélio |
| FRDE | Fator de relaxamento derivado do endotélio |
| GH | Hormônio de crescimento |
| HDL | Lipoproteína de alta densidade |
| HS | Rato adulto hiperlipidêmico sedentário |
| HT | Rato adulto hiperlipidêmico submetido à natação |
| iNOS | Óxido nítrico sintase induzível |
| L-arg | Aminoácido L-arginina |

| | |
|------------------|--|
| LDL | Lipoproteína de baixa densidade |
| L-NAME | N _ω -nitro-L-arginina metil éster |
| L-NMMA | Monometil L-arginina |
| NA | Noradrenalina |
| nNOS | Óxido nítrico sintase neuronal |
| NO | Óxido nítrico |
| NOS | Óxido nítrico sintase |
| NS | Rato adulto normolipidêmico sedentário |
| NT | Rato adulto normolipidêmico submetido à natação |
| pD ₂ | Logarítmo negativo da concentração molar do agonista que determina resposta igual a 50% da resposta máxima |
| PGI ₂ | Prostaciclina |
| PKA | Proteína kinase A dependente de AMPc |
| R _{máx} | Resposta máxima |
| RNA _m | RNA mensageiro |
| SNP | Nitroprussiato de sódio |
| TAG | Triacilglicerol |
| VLDL | Lipoproteína de muito baixa densidade |
| 5-HT | Serotonina |

Lista de tabelas

- Tabela 1** -Concentrações séricas de colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triacilgliceróis (mg / dL) de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana**pág. 18**
- Tabela 2** -Valores pD_2 , resposta máxima (Rmax) e resposta à concentração $10 \mu\text{M}$ das curvas concentração-efeito à noradrenalina em anéis com e sem endotélio, tratados ou não com indometacina ($5,6 \mu\text{M}$) ou L-NAME ($300 \mu\text{M}$), de aorta de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana**pág. 25**
- Tabela 3** -Valores pD_2 e resposta máxima (Rmax) à acetilcolina em anéis de aorta com endotélio, tratados ou não com indometacina ($5,6 \mu\text{M}$), isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana **pág. 28**

Tabela 4 - Valores pD_2 e resposta máxima (R_{max}) ao nitroprussiato de sódio em anéis de aorta com e sem endotélio isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana.....**pág. 30**

Lista de figuras

- Figura 1** - Curvas concentração-efeito à noradrenalina em anéis de aorta com (A) e sem (B) endotélio, isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana..... **pág. 20**
- Figura 2** - Curvas concentração-efeito à noradrenalina em anéis de aorta com (NSc e NTc) e sem (NSs e NSs) endotélio, tratados ou não com indometacina ($5,6 \mu\text{M}$), isolada de ratos sedentários (NS, painel A) ou submetidos à natação (NT, painel B). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana..... **pág. 22**
- Figura 3** - Curvas concentração-efeito à noradrenalina em anéis de aorta com (NSc e NTc) e sem (NSs e NTs) endotélio, tratados ou não com L-NAME ($300 \mu\text{M}$), isolada de ratos sedentários (NS, painel A) ou submetidos à natação (NT, painel B). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana..... **pág. 24**

Figura 4 - Curvas concentração-efeito à acetilcolina em anéis de aorta com endotélio, tratados (B) ou não (A) com indometacina (5,6 μ M), isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana.....**pág. 27**

Figura 5 - Curvas concentração-efeito ao nitroprussiato de sódio (SNP) em anéis de aorta com (A) e sem (B) endotélio, isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana**pág. 29**

1- INTRODUÇÃO

De acordo com a “American Heart Association”, as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte nos Estados Unidos, afetando mais de 79 milhões de indivíduos, resultando em aproximadamente 871.517 mortes por ano, e gerando mais de 431,8 bilhões de dólares em custos econômicos anuais. No Brasil, o quadro é muito semelhante, uma vez que as doenças cardiovasculares são responsáveis por 31 % das mortes, sendo a principal causa de morte no país, de acordo com o “Ministério da Saúde”. Anormalidades no metabolismo de lipoproteínas plasmáticas desempenham um papel central na patogênese da aterosclerose e hipertensão arterial, positivamente associada ou não com doença cardíaca coronariana (SHURTLEFF, 1970; SHEP, 1991).

Estudos realizados em Framingham (EUA), a partir de 1948, demonstraram que determinados fatores de risco como a concentração sérica de colesterol, o tabagismo e a hipertensão arterial estão associados à existência de cardiopatia isquêmica (WONG *et al.*, 1991), inaugurando uma nova etapa de estudos sobre as doenças cardiovasculares. Dados deste estudo demonstraram ainda que a hipertensão tende a ocorrer em associação com vários fatores de risco aterogênico, sendo que 78% de homens hipertensos e 82% de mulheres hipertensas apresentaram múltiplos fatores de risco associados, o que aumenta as chances de eventos cardiovasculares (BORGHI, 2002).

Os fatores de risco para as cardiopatias são o tabagismo (25%), a hipertensão (25%), o colesterol plasmático (20%), a inatividade física (60%), a idade acima de 65 anos (13%), o diabetes mellitus (7%), a obesidade (33%) e em porcentagens menores, o gênero masculino, o estresse e a hereditariedade (ROSAMONG *et al.*, 2006).

O quadro clínico no qual as concentrações plasmáticas de triacilgliceróis (TAG) e de colesterol total (CT) e/ou suas frações estão acima da faixa considerada normal é denominado hiperlipidemia. Esta pode ter origem primária, ou seja, ocorrer como resultado de predisposição genética, ou ser de origem secundária, desenvolvida a partir de condições ambientais como, por exemplo, uma dieta desequilibrada e sedentarismo; pode, ainda, ser consequência da combinação de ambas (GINSBERG, 1990; HAVEL & KANE, 1999). Portanto, o consumo de dieta contendo quantidade de gordura acima do recomendado, pode alterar a composição dos lipídios

sanguíneos, favorecendo o desenvolvimento das hiperlipidemias. De fato, alto conteúdo de gordura na dieta, especialmente gordura saturada e colesterol, resulta em elevada adiposidade que pode conduzir à obesidade e à resistência à insulina o qual pode progredir para diabetes mellitus tipo II (HOWARD & HANNAH, 1995). Ambas contribuem para aumento da incidência de doenças ateroscleróticas e cardíacas (BRUMMELEN, 1983; HAVEL & KANE, 1999). Desta forma, a hiperlipidemia caracteriza-se como um dos principais fatores de risco para as doenças cardiovasculares, por alterar a função cardíaca e a responsividade vascular (MOKLER *et al.*, 1985).

Numerosos estudos indicam que as dietas ricas em colesterol e em gorduras saturadas elevam o colesterol sérico em animais “suscetíveis”, acarretando um processo degenerativo, caracterizado pela formação de depósitos ricos em colesterol, denominados placas, sobre o revestimento interno das artérias de médio e grande calibre. Esse processo degenerativo é designado aterosclerose, termo utilizado para denominar um grupo de distúrbios que resulta no espessamento e perda de elasticidade das paredes arteriais, estreitamento e eventual fechamento desses vasos, diminuindo o fluxo sanguíneo para os órgãos, podendo causar angina, infarto do miocárdio, acidentes vasculares cerebrais, doença vascular periférica e morte súbita (OLIVEIRA *et al.*, 1995).

É evidente a relação entre a aterosclerose e as lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (LDL e VLDL). A lipoproteína VLDL contém um alto percentual de gordura (95%), do qual 60% está na forma de triacilgliceróis. Esta lipoproteína é responsável pelo transporte dos triacilgliceróis, formados no fígado a partir das gorduras, carboidratos, álcool e colesterol, para os músculos e tecido adiposo. Sob a ação da enzima lipoprotéica lipase, a VLDL se converte em LDL, com menos gordura. Entre as lipoproteínas, as LDLs transportam 60 a 80% do colesterol sérico total e possuem maior afinidade pelas células da parede arterial, ajudando a levar o colesterol para dentro do tecido arterial, onde será oxidado para participar na proliferação das células musculares lisas e em outras alterações desfavoráveis que estreitam e lesam a luz arterial (SLYPER, 1994).

Em contrapartida, as lipoproteínas de alta densidade (HDLs) produzidas no fígado e no intestino delgado contêm um maior percentual de proteína (50%), menor quantidade de gordura total (20%) e menor quantidade de colesterol (20%). As lipoproteínas HDLs removem o

colesterol da parede arterial, transportando-o para o fígado, onde é utilizado na síntese dos sais biliares, e excretado.

O metabolismo do colesterol é regulado e influenciado por diversos fatores como ingestão alimentar, hormônios tireoideanos, estrógenos, beta-endorfina e insulina. Hormônios tireoideanos e estrógenos reduzem o colesterol, enquanto a falta de insulina aumenta as concentrações séricas da fração VLDL do colesterol e dos triacilgliceróis. A melatonina tem influência sobre o metabolismo do colesterol, pois promove a liberação de hormônios tireoideanos, insulina e beta-endorfina (SANDYK & AWERBUCH, 1994), regula a serotonina, que funciona como mediador entre a melatonina e seus efeitos sobre o colesterol.

A hipercolesterolemia pode ser também causada por defeito no metabolismo das lipoproteínas e, além de ser encontrada em diversas patologias como doenças do sistema endócrino, hepático e renal, é o principal fator de risco para as doenças cardiovasculares, por alterar a contratilidade cardíaca e a responsividade vascular (MOKLER *et al.*, 1985). Bonora *et al.*, (1998) constataram que a hipertrigliceridemia e a diminuição de HDL não ocorrem como distúrbios isolados e sim como uma síndrome plurimetabólica.

A atividade nervosa simpática também modula o metabolismo lipoprotéico. O seu aumento resulta em aumento da liberação de noradrenalina, que estimula os adrenoceptores localizados nas membranas de células alvo. O adrenoceptor α_1 , além de mediar mudanças no tônus dos esfíncteres pré-capilares, é responsável pelo aumento nas concentrações séricas de LDL e VLDL, pois diminui sua oferta para ação da lipase endotelial, conseqüentemente, diminuindo seu metabolismo. A frequência cardíaca está correlacionada positivamente com concentrações séricas de LDL e inversamente com HDL (BØNAA & ARNESEN, 1992). Artérias coronárias de porcos, incubadas em concentrações moderadamente elevadas de LDL, mostraram redução na densidade dos adrenoceptores β , com concomitante aumento da atividade da enzima adenilil ciclase, comprovando alteração da vasoregulação em concentrações séricas elevadas de colesterol (BREHM *et al.*, 1998).

Nosso laboratório vem estudando a indução de hiperlipidemia pela dieta em ratos desde 1996. Os resultados obtidos até o momento demonstraram que a ingestão de dieta hiperlipídica, por seis semanas, levou a um quadro de dislipidemia, elevando consideravelmente o colesterol total e a fração LDL-colesterol, além de promover subsensibilidade da resposta cronotrópica a agonistas de adrenoceptores β_1 e β_2 em átrios direitos isolados destes animais sem conduzir à

obesidade nem hiperglicemia (MIOTTO, 2001). Esta subsensibilidade poderia ser decorrente de vários fatores, como o aumento da atividade simpática em resposta à dieta, que aumentaria a concentração de catecolaminas circulantes, as quais promoveriam dessensibilização da resposta adrenérgica, seja por seqüestro ou por *downregulation* dos receptores (STROSBURG & PIETRI-ROUXEL, 1996; CASTELLANO & BÖHM, 1997; BÜNEMANN *et al.*, 1999), ou ainda por uma alteração da via de sinalização intracelular iniciada pelos β adrenoceptores cardíacos (DAAKA *et al.*, 1997). Além disso, dados de nosso laboratório indicam que, já na quarta semana ingerindo dieta hiperlipídica, ratos apresentaram concentrações séricas de colesterol total, especialmente da fração LDL, aumentadas significativamente (MOREIRA, 2005).

A manutenção de níveis de atividade física inferiores ao necessário para a manutenção de um estado de saúde desejável é denominada sedentarismo, e foi caracterizada como um fator de risco independente para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares (FORJAZ *et al.*, 1999). No estado de São Paulo a prevalência de sedentarismo atinge 69% da população, sendo mais prevalente que o tabagismo (38%), a hipertensão arterial (22%), a obesidade (18%) e o alcoolismo (8%) (REGO *et al.*, 1990).

Pesquisas desenvolvidas com humanos (WETZTEIN *et al.*, 1998; PESCATELLO, 1999; DURSTINE, 2001; KIM *et al.*, 2001) e em modelos animais (DESHAIES *et al.*, 1983) comprovam o efeito benéfico do exercício físico sobre o metabolismo lipídico.

Pels e colaboradores (1985) observaram que ratos tratados com dieta rica em colesterol apresentaram aumento nas concentrações séricas de HDL-colesterol quando submetidos ao exercício, e nenhuma modificação do perfil lipídico foi observada em ratos normocolesterolêmicos. Além disso, o exercício físico é um componente indispensável na terapia do diabetes mellitus tipo II, pois está relacionado ao aumento da sensibilidade à insulina (FEUERSTEIN & WENSTOCK, 1997; RIGLA, 1997). Isto é importante, pois estes dois fatores de risco, diabetes tipo II e dislipidemias, estão intimamente associados em uma relação causa-efeito.

Considerando os benefícios da prática de exercícios aeróbicos sobre o perfil lipídico, estes vêm sendo utilizados como recomendação não farmacológica coadjuvante no tratamento da síndrome plurimetabólica (PESCATELLO, 1999; ERIKSSON *et al.*, 2000). A atividade física junto a uma orientação dietética e conseqüente diminuição de peso corpóreo, reduz as concentrações plasmáticas de colesterol total, de LDL-colesterol, aumenta a atividade insulínica,

a liberação do hormônio de crescimento (GH), do hormônio tireóideo, das catecolaminas e de neuro-hormônios, responsáveis pela estabilidade psíquica, aumenta a atividade fibrinolítica, diminuindo a tendência à agregação plaquetária responsável pela aterosclerose (LAVIE *et al.*, 1993). Indivíduos treinados apresentam concentrações plasmáticas de HDL colesterol 20 a 30 % maiores que os sedentários (HARDMAN, 1996), redução nas concentrações plasmáticas de triacilgliceróis em 16 mg/dL, de colesterol total em 10 mg/dL, de LDL colesterol em 5 mg/dL, enquanto que as concentrações plasmáticas de HDL colesterol aumentam 1 mg/dL com o treinamento físico. Esses efeitos são ainda maiores em indivíduos que apresentam concentrações lipídicas elevadas (HARDMAN, 1996) ou quando o exercício é associado à ingestão de dieta hipocalórica (DEPRÉS *et al.*, 1991).

Existem algumas controvérsias em relação à frequência, intensidade e duração ideais do treinamento. As alterações lipídicas dependem, principalmente, do gasto energético. Segundo Hardman (1996), a baixa intensidade associada à maior duração do exercício tem se mostrado mais eficaz em reduzir as frações lipídicas, supondo que intensidades elevadas, por diminuírem o tempo de atividade, gerem um menor gasto calórico total. Porém Hagberg (1991) acredita que uma alta intensidade também apresenta resultados positivos. Já, Stubbe *et al.* (1983) observaram elevações de HDL colesterol somente em indivíduos que praticaram exercícios de baixa intensidade. E, segundo o “*American College of Sports and Medicine*” (1987), uma atividade moderada de quinze minutos, três vezes por semana é suficiente para gerar benefícios. Apesar de todos os dados apresentados, Forjaz *et al.* (1999) relatam que, quanto a dislipidemia, o protocolo de treinamento necessário para produzir as alterações relatadas anteriormente ainda não está definido.

Apesar desta dificuldade, a prática de exercício físico vem sendo utilizada com frequência crescente como medida não-medicamentosa na prevenção e tratamento de patologias como a hipertensão, diabetes do tipo II, obesidade e dislipidemias. As diretrizes para uma prescrição de exercício físico são baseadas na intensidade, frequência, duração e tipo de exercício praticado, e devem seguir um programa planejado de exercícios, precedido de um teste de esforço para detecção de problemas, principalmente cardiovasculares, além de determinar o limiar correto de treinamento (FRANCIS, 2000; GIBBONS, 2000; STEWARD *et al.*, 2000).

Há mais de duas décadas tornou-se evidente que o endotélio não é uma simples camada de células inertes recobrando a superfície interna dos vasos sanguíneos, mas de fato, ele desempenha

um papel crucial na homeostase vascular, incluindo regulação do tônus vascular, inflamação, metabolismo lipídico, crescimento e remodelagem de vasos, além da participação na trombogênese, ativação plaquetária e regulação de monócitos (VANE *et al.*, 1990; LIBBY, 2002). O endotélio é o órgão mais extenso do corpo com funções autócrinas, parácrinas e endócrinas, com cerca de 700 m² e pesando cerca de 1,5 Kg (VOGEL, 1999). Estruturalmente é uma monocamada de células alongadas, estrategicamente localizadas entre a parede dos vasos sanguíneos e a corrente sanguínea (LAROIA *et al.*, 2003). É um órgão dinâmico que responde a estímulos mecânicos, como pressão e *shear stress* e estímulos de substâncias vasoativas. Em resposta, o endotélio secreta uma variedade de substâncias biologicamente ativas, como agentes vasoconstritores e vasodilatadores. Entre as principais substâncias vasodilatadoras produzidas pelo endotélio estão o óxido nítrico (NO), a prostaciclina (PGI₂), o fator hiperpolarizante dependente do endotélio (FHDE) e o peptídeo natriurético tipo C. As vasoconstritoras incluem endotelina-1 (ET-1), angiotensina II (Ang II), tromboxano A₂ e as espécies reativas de oxigênio (EROS) (SCHIFFRIN, 2001; VERMA & ANDERSON, 2002).

O óxido nítrico é a principal substância vasodilatadora produzida pelo endotélio. Foi inicialmente descrito por Furchgott & Zawadzki (1980) como fator de relaxamento derivado do endotélio. A molécula de NO é um radical livre (pois apresenta um elétron desemparelhado na última camada) em estado gasoso, com uma meia-vida de alguns segundos. É livremente difusível e cruza com facilidade as membranas celulares. Esta natureza confere ao NO a capacidade de reagir com outros radicais livres ou com o oxigênio molecular, que é um di-radical (KOJDA & HARRISON, 1999).

O NO é sintetizado nas células endoteliais por uma família de enzimas denominadas NO sintase (NOS). Este processo envolve a oxidação de cinco elétrons a partir de um nitrogênio guanido-terminal do aminoácido L-arginina (L-Arg), tendo a L-citrulina como co-produto da reação (BREDT & SNYDER, 1994).

Três isoformas de NO sintases foram identificadas em humanos e em outros organismos. Duas destas isoformas são expressas constitutivamente: a neural (nNOS, também conhecida como NOS-1, porque foi a primeira isoforma descoberta) e a endotelial (eNOS, NOS-3). Ambas as enzimas são reguladas pelo cálcio-calmodulina. A terceira isoforma é a induzível (iNOS; NOS-2). Esta última é regulada por estimulação de citocinas e produz grandes quantidades de

NO, excedendo em muito as quantidades produzidas pelas outras duas isoformas (WALFORD & LOSCALZO, 2003).

Em 1953, Palade detectou a presença de pequenas vesículas ou invaginações na membrana luminal da célula endotelial. Naquela época, acreditava que a função daquelas vesículas seria a de realizar somente o transporte transcelular de substâncias, solutos e moléculas. Posteriormente, aquelas vesículas foram denominadas cavéolas (YAMADA, 1955). Sabe-se que elas contêm uma variedade de moléculas envolvidas na transdução de sinais, sendo a cavéola responsável por compartimentalizar, integrar e modular a sinalização na célula. As cavéolas podem assumir uma variedade de formas como vesicular e tubular. Sua composição inclui glicoesfingolipídios, colesterol, esfingomiélinina e proteínas de membrana. O colesterol parece exercer importante papel na formação estrutural da cavéola, já que a depleção intracelular de colesterol ou seu seqüestro da membrana causa desaparecimento da estrutura invaginada. A proteína presente em maior abundância nesta estrutura foi chamada de caveolina. Pelo menos quatro isoformas de caveolina foram identificadas em mamíferos, caveolinas-1 α e 1 β , que são as mais estudadas, caveolina-2 e caveolina-3. A caveolina-1 está ancorada na membrana e seus domínios terminais NH₂ e COOH interagem diretamente com o domínio oxigenase da eNOS e inibem sua atividade catalítica. O principal modulador da função da NOS é o complexo Ca²⁺-calmodulina. O aumento da concentração de cálcio favorece a formação deste complexo, que pode romper a interação entre eNOS e caveolina, levando ao aumento da sua atividade enzimática (SHAUL & ANDERSON, 1998). Alguns compostos que induzem ativação da eNOS por aumentar a concentração do Ca²⁺ citosólico incluem acetilcolina, bradicinina, serotonina e histamina (GOVES, 2004).

Além do NO, o endotélio vascular é capaz de sintetizar outro importante vasodilatador e inibidor da função plaquetária, a prostaciclina (PGI₂), um eicosanóide oriundo da ciclo-oxigenação do ácido araquidônico. A PGI₂ age através da ativação da enzima adenilil ciclase, levando ao aumento da concentração intracelular de AMPcíclico (MONCADA *et al.*, 1976).

Ao conjunto de respostas vasodilatadoras e vasoconstritoras a estímulos físicos como o *shear stress* e farmacológicos como a acetilcolina, bradicinina, serotonina, substância P, nitroprussiato de sódio, noradrenalina, adrenalina, fenilefrina, entre outros, chamamos de reatividade vascular e é uma importante ferramenta para o estudo da função vascular dependente ou não do endotélio (LUZ *et al.*, 2003).

Está bem relatado na literatura que a hipercolesterolemia induz disfunção endotelial em artérias coronárias e periféricas de humanos e animais (COHEN *et al.*, 1988; CASINO *et al.*, 1993; BEST *et al.*, 1999). Esta disfunção é caracterizada pela diminuição da resposta vasodilatadora dependente do endotélio. A disfunção endotelial parece ser um dos primeiros eventos fisiopatológicos do processo aterosclerótico e possui uma importante relação com algumas doenças como hipertensão, insuficiência renal crônica, diabetes e elevado risco de eventos cardiovasculares (CELERMAJER *et al.*, 1992; SUWAIDE *et al.*, 2000).

A disfunção endotelial foi primeiramente descrita em vasos do antebraço de humanos hipertensos (PANZA *et al.*, 1990) e, posteriormente comprovada em outros leitos vasculares, incluindo as pequenas artérias de resistência (SCHIFFRIN *et al.*, 2000; PARK *et al.* 2001). Cerca de 60 % dos pacientes num primeiro estágio da hipertensão possuem prejuízo da dilatação de pequenas artérias (PARK *et al.*, 2001). O mesmo foi encontrado em diabéticos tipo I e II (RIZZONI *et al.*, 2001; SCHOFIELD *et al.*, 2002; BECKMAN *et al.*, 2003) e em portadores da síndrome metabólica (ENGLER *et al.*, 2003). Acredita-se que a disfunção endotelial pode estar associada à obesidade (RAITAKARI *et al.*, 2004), hiper-homocisteinemia (VIRDIS *et al.*, 2001), sedentarismo (GREEN *et al.*, 2003) e tabagismo (OIDA *et al.*, 2003).

Sabe-se que o exercício regular tem ação protetora contra doenças cardiovasculares. Assim, vários pesquisadores estudam os efeitos do exercício sobre a função endotelial, proteção miocárdica e fatores de risco como pressão arterial, lipídios séricos e obesidade (SESSO *et al.*, 2000; MYERS *et al.*, 2002). Como o endotélio está constantemente exposto a vários estressores químicos e mecânicos, as células endoteliais desenvolveram uma variedade de defesas. Quando estas defesas ficam prejudicadas, surgem vários distúrbios associados com doenças cardiovasculares. A complexidade e importância do endotélio nas doenças cardiovasculares sugerem que múltiplos processos estejam envolvidos nas adaptações endoteliais induzidas pelo exercício (MARSH & COOMBES, 2005) e nem todos estes processos estão ainda totalmente esclarecidos.

Os resultados obtidos em nosso laboratório até o momento mostraram que a ingesta de dieta hiperlipídica durante seis (WOLF-NUNES, 2004; MIOTTO, 2001) ou quatro semanas (MOREIRA, 2005), iniciando-se na sexta semana de vida, induz um quadro de dislipidemia em ratos, caracterizado por altas concentrações de CT, LDL, VLDL e TAG. Considerando-se que

ratos não desenvolvem aterosclerose, este modelo proporciona a oportunidade para se estudar os efeitos da dislipidemia isoladamente do processo de deterioração da parede vascular e a ação de tratamentos preventivos do quadro.

Portanto, frente ao exposto os objetivos deste trabalho foram analisar a reatividade vascular de anéis de aorta, com e sem endotélio, isolada de ratos normo ou hiperlipidêmicos, sedentários ou submetidos à natação e avaliar o efeito das sessões de natação sobre as concentrações plasmáticas de lipídios em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

2 – OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- Analisar a reatividade vascular de anéis de aorta, com e sem endotélio, isolada de ratos normo ou hiperlipidêmicos, sedentários ou submetidos à natação;
- Avaliar o efeito das sessões de natação sobre as concentrações plasmáticas de lipídios em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Utilizamos ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. Albina, Rodentia, Mammalia, S.P.F.), com idade de 5 semanas, os quais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas, sendo mantidos no biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pelo menos por uma semana antes do início do tratamento.

Os animais foram alojados, em gaiolas coletivas, 6 animais cada. A sala era dotada de controle de temperatura, a qual era mantida constante (22 ± 2 °C) e com ciclo claro-escuro de 12/12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às 6:30 horas. Durante os experimentos, os ratos foram tratados de acordo com as normas descritas por Olfert *et al.* (1993), para uso de animais para pesquisa e ensino e os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia (Protocolo número: 846-1; UNICAMP).

3.2. Grupos experimentais

Os ratos foram alimentados com ração padrão para animais de laboratório contendo 4% de gordura e 0% de colesterol, marca Labina-Purina, Brasil (ratos normolipidêmicos, N) ou com ração hiperlipídica contendo 15% de gordura monoinsaturada, 1,25% de colesterol e 0,5% de ácido cólico (ratos hiperlipidêmicos, H) (WOLF-NUNES *et al.*, 2000; MIOTTO, 2001; MOREIRA, 2005).

Cada grupo de ratos foi dividido em dois subgrupos, um deles foi submetido ao exercício físico de natação e o outro permaneceu sedentário, formando um total de quatro grupos: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). Estes tratamentos (dieta e natação) foram mantidos por quatro semanas. A ração e a água foram oferecidas diariamente, *ad libitum*.

3.3. Protocolo de atividade física (natação)

Os ratos dos grupos exercitados foram submetidos à sessões diárias de natação, durante 50 minutos, em tanque de vidro (95 cm x 50 cm x 43,5 cm; comprimento x largura x profundidade) com água à temperatura de $34 \pm 2^\circ\text{C}$, 5 dias por semana, durante 4 semanas (MOREIRA, 2005). A cada sessão foram colocados 6 ratos juntos no mesmo tanque para evitar que os animais bóiem. A profundidade utilizada garantiu que os animais não alcançasse a cauda no fundo do tanque, impedindo a utilização desta como suporte.

3.4. Coleta de sangue e análises plasmáticas

Quando os ratos completaram 10 semanas de vida, no final da 4ª semana de tratamento, foram colocados individualmente em gaiolas metabólicas e mantidos em jejum por 16 horas.

No dia seguinte, os ratos foram anestesiados com tiopental sódico (60 mg/Kg; i.p.; Thiopentax, Cristália, Itapira, SP, Brasil). Após 45 minutos, tempo necessário para o efeito do anestésico, foi realizada a coleta de 5 mL de sangue, por punção cardíaca, com seringa descartável heparinizada e agulha hipodérmica (BD) 0,80 x 25 mm. Em seguida, o sangue foi centrifugado (3000 rpm por 10 min) e o plasma obtido armazenado em geladeira e freezer a -20°C até a dosagem de colesterol total, HDL e TAG. Os valores de LDL e VLDL foram obtidos indiretamente a partir da fórmula de Friedewald (1972) e Alonso (2001).

3.4.1. Análise da concentração plasmática de colesterol

As concentrações plasmáticas de colesterol total foram avaliadas pelo método enzimático-colorimétrico utilizando *kit* para dosagem de colesterol (Laborlab, Guarulhos, SP, Brasil) em plasma. O método se baseia em uma reação enzimática utilizando-se as enzimas lipase, colesterol oxidase e peroxidase. A leitura das amostras foi feita em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Amersham Pharmacia Biotech, Cambridge, Inglaterra).

3.4.2. Análise da concentração plasmática de triacilgliceróis

As concentrações plasmáticas de triacilgliceróis foram avaliadas pelo método enzimático utilizando *kit* para dosagem de triacilgliceróis (Laborlab, Guarulhos, SP, Brasil). O método possui o seguinte fundamento: a hidrólise dos triacilgliceróis é catalisada por uma lipase que induz a produção de glicerol e ácidos graxos livres. O glicerol gerado é posteriormente

fosforilado por adenosina 5-trifosfato em presença de gliceroquinase, resultando em glicerol-3-fosfato. Este por sua vez, sofre uma oxidação catalisada pela enzima L-glicerol-3-fosfato oxidase produzindo água oxigenada. Um intenso cromógeno vermelho é produzido pela peroxidase que catalisa a copulação oxidativa da 4-aminoantipirina e 2-hidroxi-3,5-diclorobenzenosulfonato de sódio com água oxigenada. A leitura das amostras foi feita em espectrofotômetro (Ultrospec 2000, Amersham Pharmacia Biotech, Cambridge, Inglaterra).

3.4.3. Análise da concentração plasmática de lipoproteínas

As concentrações plasmáticas de HDL foram avaliadas por espectrofotometria utilizando-se um *kit* de dosagem (Laborlab, Guarulhos, SP, Brasil) de HDL colesterol precipitante. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) são separadas seletivamente, por precipitação, das de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL, respectivamente), usando-se o sulfato de dextrana em presença de íons Mg^{2+} .

Todas as leituras foram realizadas em espectrofotômetro com comprimento de onda (λ) = 505 nm.

Após a obtenção direta dos valores de HDL calculamos as concentrações de LDL e VLDL a partir da fórmula de FRIEDEWALD (1972), no qual:

$$VLDL \text{ colesterol (mg/dL)} = \text{triacilgliceróis (mg/dL)} / 5$$

$$LDL \text{ colesterol (mg/dL)} = \text{colesterol total} - (\text{HDL colesterol} + \text{VLDL colesterol})$$

3.5. Preparação dos anéis de aorta isolada

Para o estudo da reatividade vascular os anéis de aorta foram isolados e preparados de acordo com Furchgott e Zawadzki (1980) e adaptado por Zanichelli e colaboradores (2004, 2007). Os ratos foram sacrificados por imediata secção dos vasos e coluna cervical (exanguinação). O tórax foi aberto por meio de uma incisão mediana, a porção torácica da aorta foi removida e dividida em quatro anéis de aproximadamente 4 mm de comprimento cada. Dois anéis tiveram o endotélio mecanicamente removido da superfície interna da aorta, com o auxílio de uma haste com algodão enquanto nos outros dois anéis restantes a camada endotelial permaneceu íntegra. Cada anel foi montado em 2 ganchos de aço inox em foma de *L*, com a parte menor atravessando a parte interna do anel. Estes ganchos foram colocados individualmente em

uma cuba contendo 20 mL de solução fisiológica de Krebs-Henseleit da seguinte composição (em mMol.L^{-1}): NaCl, 115,0; KCl, 4,6; NaHCO_3 , 25,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2,5; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2,5; KH_2PO_4 , 1,2; glicose, 11,0 e ácido ascórbico, 0,11 e constantemente borbulhada com O_2 (95%) e CO_2 (5%). A temperatura do banho foi mantida em $36,5 \pm 0,1$ °C, com o auxílio de uma bomba de perfusão (Ética Equipamentos Científicos S.A., São Paulo, SP, Brasil). Após a instalação do anel de aorta na cuba foi induzida mecanicamente uma tensão de 2 g, a qual foi mantida durante todo o experimento.

Para registro das tensões desenvolvidas utilizamos um transdutor isométrico de tensão Narco Bio-System (modelo F-60), conectado a um polígrafo de 4 canais Narco Bio-System (modelo DMP-4, Houston, Tx, EUA). Os anéis permaneceram por um período de 50 minutos para estabilização, durante os quais a solução de Krebs-Hanseleit foi substituída a cada 20 minutos. Em seguida, foram traçadas curvas concentração efeito à noradrenalina, acetilcolina e nitroprussiato de sódio, na presença ou ausência de inibidores enzimáticos (L-NAME e indometacina).

3.6. Obtenção de curva concentração-efeito

Curvas concentração-efeito (CCE) foram obtidas pelo método cumulativo, com incrementos sucessivos de 0,5 unidade logarítmica na concentração molar de agonista (VAN ROSSUM, 1963). A resposta máxima foi determinada quando três concentrações sucessivas crescentes do agonista não promoveram respostas maiores que a obtida com a concentração imediatamente anterior.

A sensibilidade dos anéis da aorta foi avaliada pela determinação do valor pD_2 de cada agonista. Este corresponde ao logaritmo negativo da concentração molar do agonista que determina uma resposta igual a 50% da resposta máxima (EC_{50}), em cada experimento.

Em cada anel de aorta foi obtida uma CCE para a noradrenalina (10^{-11} – 10^{-5} M). Ao final desta, iniciou-se a administração de acetilcolina (10^{-11} – 10^{-4} M). Este anel de aorta foi lavado com solução de Krebs-Henseleit e aguardado um tempo de aproximadamente 40 minutos para uma nova estabilização. Em seguida o anel foi pré-contráido com noradrenalina (10^{-6} M) e obtida CCE para o nitroprussiato de sódio (10^{-11} – 10^{-5} M).

Foram também avaliados os efeitos do óxido nítrico e da prostaciclina nas respostas vasculares aos compostos acima citados. Para tal, anéis de aorta foram incubados por um período

de 30 minutos com L-NAME (300 μ M), análogo da L-arginina, inibidor da NOS (GRASSI-KASSISSE *et al.*, 1995) e indometacina (5,6 μ M), inibidor da cicloxigenase (GRASSI-KASSISSE *et al.*, 1994). Logo em seguida iniciamos as CCE aos agonistas, na presença destes fármacos.

3.7. Drogas e reagentes

Anestésico: Thiopentax (tiopental sódico), marca Fontoveter – Divisão Veterinária da Cristália – Produtos Farmacêuticos Ltda.

Kits para análise de triacilgliceróis, colesterol total e fração HDL colesterol, marca Laborlab S/A Produtos para Laboratório.

Agonistas: (\pm) arterenol (bitartarato de noradrenalina), acetilcolina (iodeto de acetilcolina) e nitroprussiato de sódio, Sigma Chemical Company – Sigma-Aldrich Química do Brasil Ltda.

Inibidores enzimáticos: L-NAME (N_{ω} -Nitro-L-arginina metil ester hidrocloreto) e Indometacina, Sigma Chemical Company – Sigma-Aldrich Química do Brasil Ltda.

Todos os sais utilizados para o preparo da solução de Krebs Hanseliet foram de padrão ACS.

As soluções estoque foram preparadas em solução de ácido ascórbico a 2% e armazenadas a -20°C , por no máximo sete dias. Na preparação da solução de indometacina, foi utilizado tampão de bicarbonato de sódio 5%.

As diluições foram feitas em solução de Krebs-Hanseleit imediatamente antes do uso, e descartadas em seguida.

3.8. Análise Estatística

Os dados foram apresentados como médias \pm erro padrão da média (EPM).

As comparações das concentrações plasmáticas de triacilgliceróis e de lipoproteínas entre os diferentes grupos foram feitas por meio de Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey.

Análise de regressão não-linear foi usada para determinar os valores pD_2 dos agonistas. As curvas concentração-efeito foram realizadas através do *software* Graph-Pad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA), com valores para resposta na ausência de agonista iguais a zero.

Análise de Variância seguida pelo teste de Tukey foi utilizada para comparar a resposta máxima e os valores pD_2 entre os diferentes grupos.

O teste t de Student foi utilizado para comparar os diferentes tratamentos dentro de um mesmo grupo ou comparar dois grupos distintos.

Em todos os casos valores de P menores que 5% foram aceitos como indicativos de diferenças estatisticamente significativas.

4 – RESULTADOS

A tabela 1 apresenta as concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, colesterol total e das suas frações HDL, LDL e VLDL, de ratos sedentários ou submetidos à natação, alimentados com ração padrão ou com ração hiperlipídica.

Os ratos sedentários e tratados com dieta hiperlipídica (grupo HS) apresentaram aumento significativo do colesterol total e das frações LDL e VLDL, determinados ao final da quarta semana de tratamento, comparados aos ratos que receberam dieta padrão (grupo NS) ($p < 0,05$, ANOVA, seguida de teste de Tukey).

Nenhuma alteração na concentração sérica da fração HDL de colesterol foi observada nos ratos ao final da quarta semana de tratamento (Tabela 1). Isto indica que o aumento na concentração plasmática de colesterol total, observado nos ratos que receberam dieta hiperlipídica, foi decorrente do aumento significativo das frações LDL e VLDL do colesterol.

As concentrações plasmáticas de triacilgliceróis apresentaram um aumento significativo nos animais sedentários e tratados com dieta hiperlipídica (HS *vs* NS).

O nosso protocolo de natação não induziu qualquer alteração no perfil lipídico dos ratos normolipidêmicos (NT *vs* NS). Entretanto este programa de atividade física impediu o aumento das concentrações séricas de triacilgliceróis, colesterol total e suas frações LDL e VLDL induzido apenas pela dieta hiperlipídica.

Tabela 01

Concentrações séricas de colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triacilgliceróis (mg / dL) de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana.

| Grupos | Colesterol Total | HDL | LDL | VLDL | TAG |
|--------|---------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| NS | $37,51 \pm 3,2$ (4) | $12,66 \pm 0,9$ (4) | $19,99 \pm 2,6$ (4) | $4,89 \pm 0,6$ (4) | $24,52 \pm 2,8$ (4) |
| HS | $92,11 \pm 13,8^a$ (8) | $11,00 \pm 0,7$ (8) | $74,35 \pm 13,9^a$ (8) | $6,76 \pm 0,5^a$ (8) | $34,08 \pm 2,4^a$ (8) |
| NT | $46,00 \pm 4,9^b$ (5) | $17,11 \pm 2,4$ (5) | $22,35 \pm 3,5^b$ (5) | $6,55 \pm 0,4$ (5) | $32,73 \pm 1,95$ (5) |
| HT | $57,16 \pm 7,6^b$ (6) | $14,03 \pm 1,2$ (6) | $36,78 \pm 6,4^b$ (6) | $6,35 \pm 0,6$ (6) | $31,77 \pm 2,8$ (6) |

As coletas de sangue para análise das concentrações séricas foram realizadas após jejum de 16 horas. Os dados estão apresentados como médias \pm EPM. O número de animais utilizados está representado entre parênteses. Estatisticamente diferente ($p < 0,05$) em: ^a comparado ao grupo NS; ^b comparado ao grupo HS (ANOVA, seguida de teste de Tukey).

Reatividade Vascular

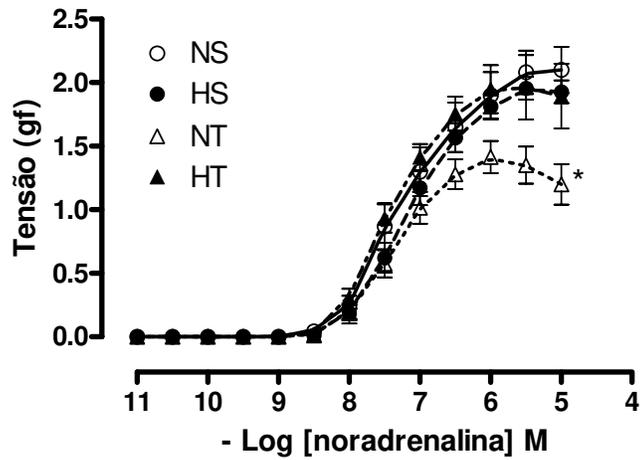
Analisamos o efeito da dieta hiperlipídica e das sessões de natação sobre a reatividade vascular à noradrenalina de anéis de aorta isolada de ratos. Curvas concentração-efeito (CCE) foram obtidas para a noradrenalina em anéis cujo endotélio permaneceu íntegro (Figura 1A) e anéis que tiveram as células endoteliais mecanicamente removidas (Figura 1B). As respostas vasoconstritoras à noradrenalina são apresentadas como o aumento da tensão em gramas-força.

A remoção do endotélio promoveu deslocamento das curvas concentração-efeito à noradrenalina para a esquerda em todos os grupos, além de aumentar significativamente a resposta máxima ($p < 0,05$, teste *t* de Student), indicando a importante participação do endotélio na modulação do tônus vascular (Figura 1B e Tabela 2).

Anéis de aorta isolada de ratos normolipidêmicos submetidos às sessões de natação (NT) apresentaram significativa redução na resposta máxima à noradrenalina, comparados aos anéis de aorta do grupo normolipidêmico sedentário (NS) ($p < 0,05$, ANOVA, seguida de teste de Tukey) (Tabela 2). Além disso, no grupo NT, a curva concentração-efeito à noradrenalina foi bifásica ($p < 0,05$, teste t de Student), caracterizada por uma fase de contração até atingir a resposta máxima seguida por uma fase de relaxamento. Ambos os efeitos foram abolidos pela remoção do endotélio (Figura 1).

A dieta hiperlipídica não promoveu qualquer alteração nas curvas concentração-efeito à noradrenalina em anéis de aorta de ratos sedentários (Figura 1 e Tabela 2). Porém, em aorta de ratos submetidos à natação e alimentados com a dieta hiperlipídica (grupo HT) o efeito da atividade física sobre a resposta máxima da noradrenalina não foi observado e foi similar àquele observado nos grupos NS e HS (Figura 1 e Tabela 2).

A



B

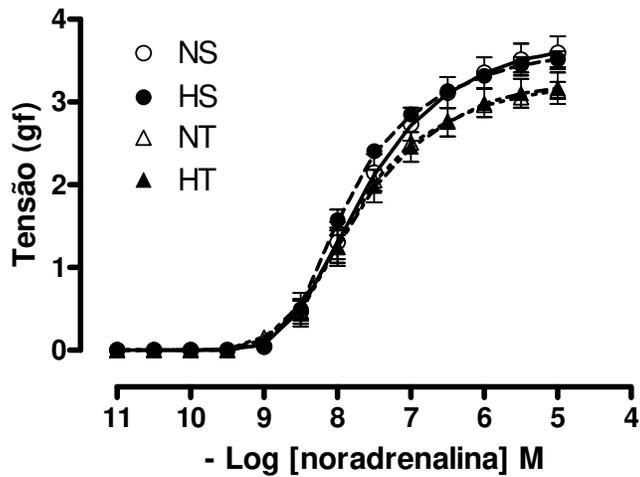
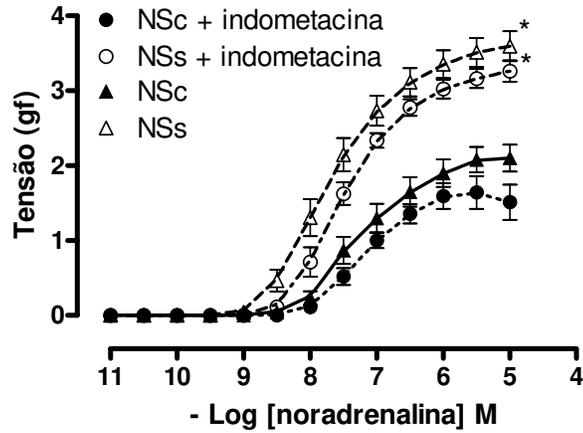


Figura 1 – Curvas concentração efeito à noradrenalina em anéis de aorta com (A) e sem (B) endotélio, isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana. * comparado aos grupos NS, HS e HT ($p < 0,05$, ANOVA seguida de teste de Tukey).

Para estudar um possível envolvimento dos prostanóides nos efeitos da noradrenalina, os anéis com e sem endotélio de aorta dos grupos controle (Figura 2A) e submetidos às sessões de natação (Figura 2B), foram tratados *in vitro* com indometacina (5,6 μM), a qual inibe a produção de prostanóides endógenos. Em seguida, foram obtidas curvas concentração-efeito à noradrenalina.

O pré-tratamento dos anéis de aorta com indometacina não promoveu qualquer alteração nas curvas concentração-efeito à noradrenalina nos anéis com e sem endotélio, quando comparados aos anéis sem o tratamento, seja no grupo sedentário ou no grupo treinado (Figura 2).

A.



B.

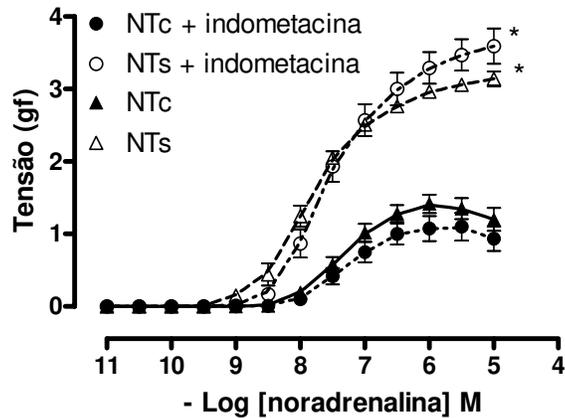
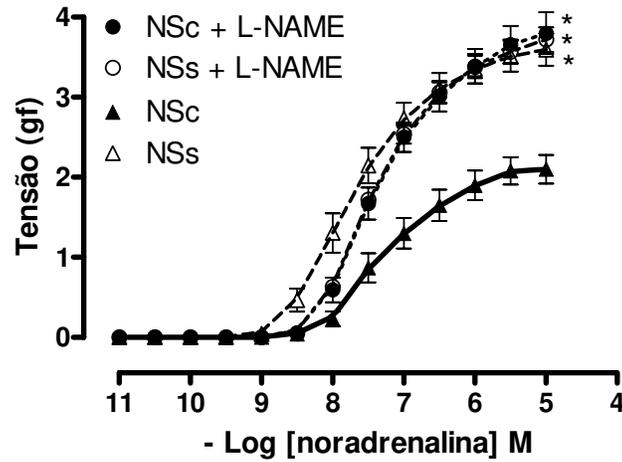


Figura 2 – Curvas concentração efeito à noradrenalina em anéis de aorta com (NSc e NTc) e sem (NSs e NSs) endotélio, tratados ou não com indometacina (5,6 μ M), isolada de ratos sedentários (NS, painel A) ou submetidos à natação (NT, painel B). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a 34 ± 2 °C durante 4 semanas, 5 dias por semana. * comparado aos anéis com endotélio ($p < 0,05$, teste t de Student).

Para o estudo de uma possível influência do óxido nítrico (NO) nas respostas à noradrenalina, anéis de aorta de ratos dos grupos NS e NT, com endotélio e sem endotélio (Figura 3), foram tratados *in vitro* com L-NAME (300 μ M), inibidor da NO sintase, antes da obtenção de curvas concentração-efeito à noradrenalina.

O pré-tratamento com L-NAME promoveu aumento significativo na resposta máxima à noradrenalina e deslocou as curvas concentração-efeito de ambos os grupos, NS e NT, para a esquerda (Figura 3), quando comparado aos anéis com endotélio sem o pré-tratamento ($p < 0,05$, teste *t* de Student). A reatividade do tecido à noradrenalina após tratamento com L-NAME foi semelhante à resposta obtida nos anéis cujo endotélio havia sido removido, isto demonstra a importante participação do NO derivado do endotélio na modulação da resposta vasoconstritora à noradrenalina. Além disso, o pré-tratamento com L-NAME aboliu a redução da resposta máxima à noradrenalina e o relaxamento do tecido após atingir a resposta máxima, que era observado nos anéis do grupo de ratos submetidos à natção, sugerindo fortemente a participação do NO nestes efeitos (Figura 3 e Tabela 2).

A



B

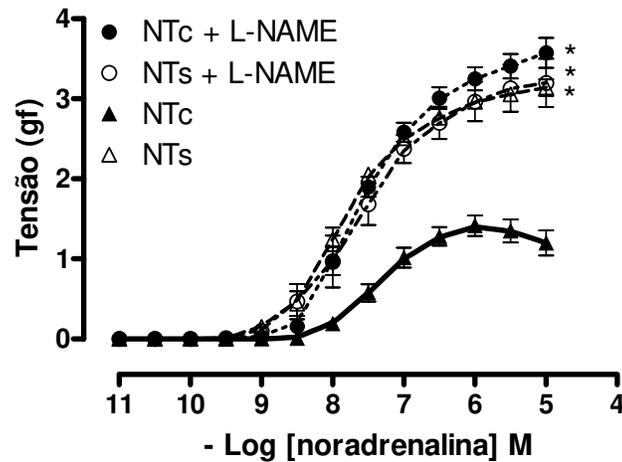


Figura 3 – Curvas concentração-efeito à noradrenalina em anéis de aorta, com (NSc e NTc) e sem (NSs e NTs) endotélio, tratados ou não com L-NAME (300 μ M), isolada de ratos sedentários (NS, painel A) ou submetidos à natação (NT, painel B). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a 34 ± 2 °C durante 4 semanas, 5 dias por semana. * comparado aos anéis com endotélio e sem o pré-tratamento ($p < 0,05$, teste *t* de Student).

TABELA 02

Valores pD_2 , resposta máxima (Rmax) e resposta à concentração 10 μM das CCE à NA em anéis com e sem endotélio, tratados ou não com indometacina (5,6 μM) ou L-NAME (300 μM), de aorta de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ C$ durante 4 semanas, 5 dias por semana.

Os dados são apresentados como médias \pm EPM e o número de experimentos realizados está entre parêntese.

| | NORADRENALINA | | | NORADRENALINA + INDOMETACINA | | | NORADRENALINA + L-NAME | | |
|----------------------|-------------------------|---|---|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | pD_2 | Rmax | 10 μM | pD_2 | Rmax | 10 μM | pD_2 | Rmax | 10 μM |
| Com endotélio | | | | | | | | | |
| NS | 7,19 \pm 0,1 (8) | 2,13 \pm 0,2 (8) | 2,10 \pm 0,2 (8) | 7,11 \pm 0,1 (8) | 1,85 \pm 0,1 (8) | 1,69 \pm 0,2 (8) | 7,35 \pm 0,1 (7) | 3,80 \pm 0,3 [#] (7) | 3,80 \pm 0,3 [#] (7) |
| NT | 7,31 \pm 0,1 (10) | 1,46 \pm 0,1 ^{a,b,c} (10) | 1,20 \pm 0,2 ^{a,b,c§} (8) | 7,13 \pm 0,2 (6) | 1,23 \pm 0,2 ^a (6) | 0,93 \pm 0,2 ^{a§} (6) | 7,57 \pm 0,1 (6) | 3,58 \pm 0,2 [#] (6) | 3,58 \pm 0,2 [#] (6) |
| HS | 7,09 \pm 0,1 (9) | 2,02 \pm 0,1 (9) | 1,93 \pm 0,1 (9) | - | - | - | - | - | - |
| HT | 7,37 \pm 0,1 (8) | 2,08 \pm 0,2 (8) | 1,89 \pm 0,3 (8) | - | - | - | - | - | - |
| Sem endotélio | | | | | | | | | |
| NS | 7,69 \pm 0,1* (11) | 3,60 \pm 0,2* (11) | 3,60 \pm 0,2* (11) | 7,48 \pm 0,1* (4) | 3,26 \pm 0,1* (4) | 3,26 \pm 0,1* (4) | 7,70 \pm 0,1 (5) | 3,72 \pm 0,2 (5) | 3,72 \pm 0,2 (5) |
| NT | 7,86 \pm 0,1* (11) | 3,14 \pm 0,1* (11) | 3,14 \pm 0,1* (11) | 7,52 \pm 0,1* (5) | 3,59 \pm 0,3* (5) | 3,59 \pm 0,3* (5) | 7,70 \pm 0,2 (6) | 3,20 \pm 0,3 (6) | 3,20 \pm 0,3 (6) |
| HS | 7,89 \pm 0,1* (9) | 3,52 \pm 0,1* (9) | 3,52 \pm 0,1* (9) | - | - | - | - | - | - |
| HT | 7,82 \pm 0,1* (9) | 3,17 \pm 0,2* (9) | 3,17 \pm 0,2* (9) | - | - | - | - | - | - |

^a $p < 0,05$ vs NS (ANOVA, seguida de teste de Tukey)

^b $p < 0,05$ vs HS (ANOVA, seguida de teste de Tukey)

^c $p < 0,05$ vs HT (ANOVA, seguida de teste de Tukey)

* comparado aos anéis com endotélio (Teste t de Student)

[#] comparado aos anéis sem o pré-tratamento (Teste t de Student)

[§] comparado a resposta máxima (Teste t de Student)

Nos anéis pré-contraídos pela noradrenalina, foram obtidas curvas concentração-efeito de relaxamento à acetilcolina. Os anéis cujo endotélio foi mecanicamente removido ou que foram tratados com L-NAME, não apresentaram qualquer relaxamento à acetilcolina, confirmando a participação do NO no efeito deste agonista (dados não mostrados). As respostas vasodilatadoras expressas como porcentagem de diminuição da tensão na parede do anel (relaxamento), em relação à contração prévia com noradrenalina, são apresentadas na Figura 4A e na Tabela 3.

Em anéis de aorta de ratos normolipidêmicos sedentários (NS), pré-contraídos com noradrenalina na concentração 10 μ M, a acetilcolina promoveu relaxamento de $61,87 \pm 6,13$ % (Tabela 3 e Figura 4A).

A dieta hiperlipídica não promoveu qualquer alteração significativa na curva concentração-efeito à acetilcolina em anéis com endotélio intacto, de aorta de ratos sedentários (NS vs HS) e causou relaxamento máximo de $53,22 \pm 2,8$ %.

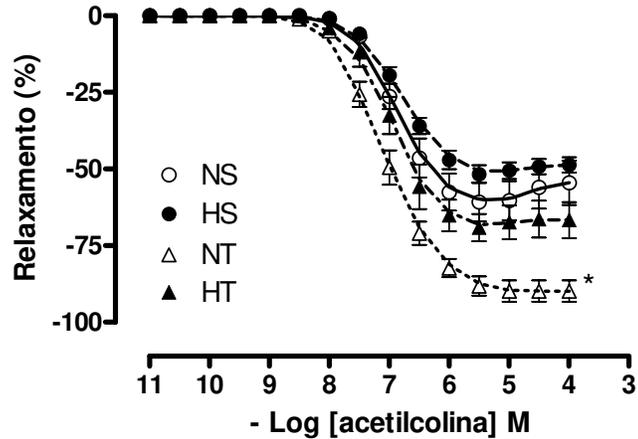
As curvas concentração-efeito obtidas em anéis de aorta isolada de ratos submetidos às sessões de natação e dieta normolipídica (grupo NT) apresentaram significativo aumento na resposta máxima à acetilcolina quando comparadas aos demais grupos, atingindo relaxamento igual a $90,35 \pm 3,15$ % ($p < 0,05$, ANOVA, seguida de teste de Tukey). Porém, em aorta de ratos submetidos à natação e alimentados com a dieta hiperlipídica (grupo HT) este efeito da atividade física sobre a resposta máxima da acetilcolina não foi observado. Os anéis de aorta dos ratos HT apresentaram relaxamento máximo de $69,70 \pm 4,63$ %, que foi similar àquele observado nos grupos NS e HS (Tabela 3 e Figura 4A).

Foram obtidas curvas concentração-efeito à acetilcolina em anéis tratados com indometacina (5,6 μ M), para investigar uma possível participação de prostanóides endógenos no vasorelaxamento em resposta à acetilcolina. As curvas foram obtidas após contração prévia pela noradrenalina (10 μ M).

O tratamento com indometacina aumentou a resposta máxima à acetilcolina nos anéis de aorta de ratos normolipidêmicos sedentários (NS), quando comparada aos anéis de aorta que não sofreram tratamento com indometacina ($p < 0,05$, teste *t* de Student) (Figura 4 e Tabela 3). Nos demais grupos, o tratamento com indometacina não promoveu nenhuma alteração nas curvas concentração-efeito à acetilcolina, quando comparados aos anéis de aorta que não sofreram o tratamento. Os anéis de aorta de ratos submetidos às sessões de natação apresentaram resposta máxima aumentada à acetilcolina quando comparada aos grupos HS e HT ($p < 0,05$, ANOVA,

seguida de teste de Tukey). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os grupos NS e NT.

A



B

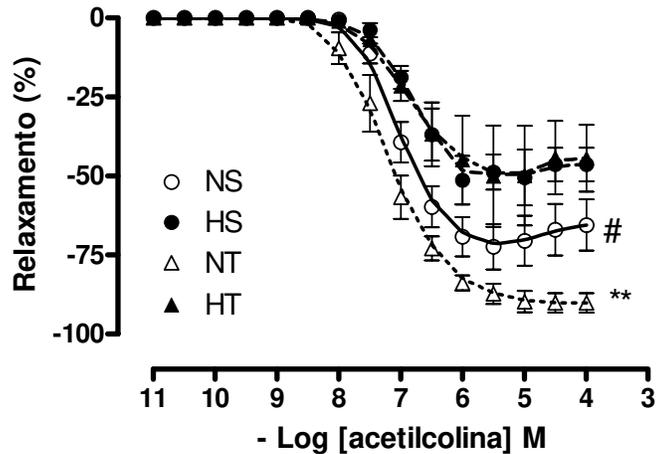


Figura 4 – Curvas concentração-efeito à acetilcolina em anéis de aorta com endotélio, tratados (B) ou não (A) com indometacina ($5,6 \mu\text{M}$), isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana. * comparado aos grupos NS, HS e HT, ** comparado aos grupos HS e HT ($p < 0,05$, ANOVA seguida de teste de Tukey), e # comparado aos anéis sem o pré-tratamento ($p < 0,05$, teste *t* de Student).

Tabela 3

Valores pD_2 e resposta máxima (Rmax) à acetilcolina em anéis de aorta com endotélio, tratados ou não com indometacina (5,6 μ M), isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana.

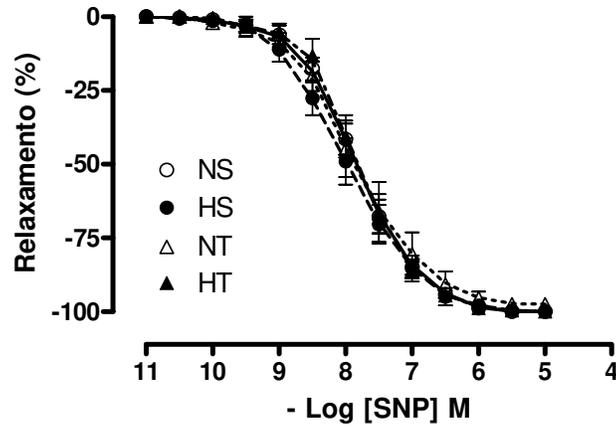
| | pD_2 | Rmax (%) | N |
|--|-------------------|--------------------------|----|
| ACETILCOLINA | | | |
| NS | $6,91 \pm 0,06$ | $61,87 \pm 6,13$ | 7 |
| HS | $6,78 \pm 0,06$ | $53,22 \pm 2,80$ | 8 |
| NT | $7,11 \pm 0,08^b$ | $90,35 \pm 3,15^{a,b,c}$ | 10 |
| HT | $6,94 \pm 0,11$ | $69,70 \pm 4,63$ | 7 |
| ACETILCOLINA + INDOMETACINA | | | |
| NS | $7,06 \pm 0,04$ | $79,09 \pm 5,6^\#$ | 7 |
| HS | $6,76 \pm 0,07$ | $54,14 \pm 7,6$ | 4 |
| NT | $7,22 \pm 0,12^b$ | $90,68 \pm 3,1^{b,c}$ | 6 |
| HT | $6,91 \pm 0,12$ | $52,49 \pm 14,8$ | 3 |

Os dados são apresentados como médias \pm EPM, sendo N o número de animais utilizados. Resposta Máxima (Rmax) esta apresentada como porcentagem de diminuição na tensão desenvolvida pelo vaso em resposta à 10 μ M de noradrenalina. Estatisticamente diferente ($p < 0,05$) em: $^\#$ comparado aos anéis sem o pré-tratamento (teste t de Student) a comparado ao grupo NS, b comparado ao grupo HS e c comparado ao grupo HT. (ANOVA, seguida de teste de Tukey).

Curvas concentração-efeito ao nitroprussiato de sódio em anéis de aorta previamente contraídos pela noradrenalina (1 μ M) são apresentadas na Figura 5. A remoção do endotélio não promoveu qualquer alteração na curva concentração-efeito ao nitroprussiato de sódio (Figura 5B e Tabela 4). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada nas curvas

concentração-efeito ao nitroprussiato nos anéis de aorta isolada, com e sem endotélio, de ratos submetidos aos diferentes tratamentos (Figura 5 e Tabela 4). As respostas vasodilatadoras expressas como porcentagem de diminuição da tensão na parede do anel (relaxamento), em relação à contração prévia com noradrenalina, são apresentadas na Figura 5 e na Tabela 4.

A



B

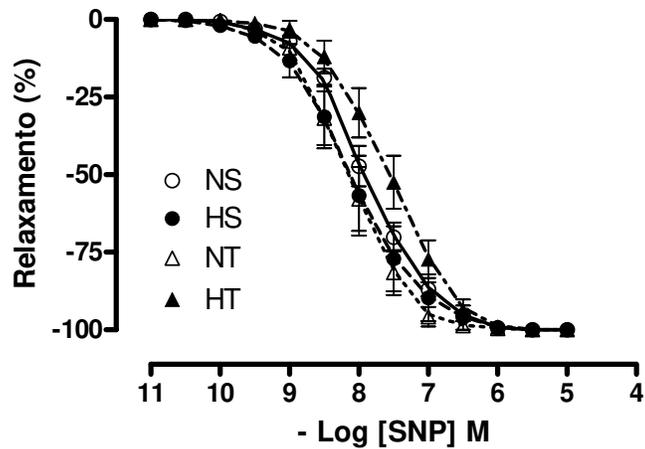


Figura 5 – Curvas concentração efeito ao nitroprussiato de sódio (SNP) em anéis de aorta com (A) e sem (B) endotélio, isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a 34 ± 2 °C durante 4 semanas, 5 dias por semana. As diferenças estatísticas e os números de experimentos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4

Valores pD_2 e resposta máxima (Rmax) ao nitroprussiato de sódio em anéis de aorta com e sem endotélio isolada de ratos após quatro semanas de tratamento: normolipidêmicos sedentários (NS), hiperlipidêmicos sedentários (HS), normolipidêmicos submetidos à natação (NT) e hiperlipidêmicos submetidos à natação (HT). O protocolo de natação constou de sessões diárias de natação de 50 min em tanque de vidro com água a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 semanas, 5 dias por semana.

| | pD_2 | Rmax (%) | N |
|----------------------|-----------------|------------------|---|
| Com endotélio | | | |
| NS | $7,83 \pm 0,11$ | 100 | 5 |
| HS | $7,98 \pm 0,16$ | 100 | 6 |
| NT | $7,85 \pm 0,22$ | $97,41 \pm 1,83$ | 5 |
| HT | $7,82 \pm 0,13$ | 100 | 4 |
| Sem endotélio | | | |
| NS | $7,93 \pm 0,10$ | 100 | 5 |
| HS | $8,08 \pm 0,21$ | 100 | 4 |
| NT | $8,12 \pm 0,18$ | 100 | 6 |
| HT | $7,58 \pm 0,18$ | 100 | 4 |

Os dados são apresentados como médias \pm EPM, sendo N o número de animais utilizados. Resposta Máxima (Rmax) esta apresentada como porcentagem de diminuição na tensão desenvolvida pelo vaso em resposta à $1 \mu\text{M}$ de noradrenalina. Não foi encontrada qualquer alteração estatisticamente significativa (ANOVA, seguida de teste de Tukey).

5 - DISCUSSÃO

Neste trabalho demonstramos que ratos que ingeriram dieta hiperlipídica durante quatro semanas apresentaram dislipidemia, que se caracteriza por aumento significativo nas concentrações séricas de colesterol total, LDL, VLDL e triacilgliceróis quando comparados aos ratos que ingeriram uma dieta padrão. Nenhuma alteração na fração HDL de colesterol foi observada com este período de tratamento. Estes resultados confirmam aqueles obtidos previamente (WOLF-NUNES *et al.*, 2004; MIOTTO, 2001) que indicavam que a administração de dieta rica em gordura e colesterol durante seis semanas ou quatro semanas (MOREIRA, 2005) induz um quadro de hiperlipidemia e demonstram que este quadro se instala ainda mais precocemente. Nossos resultados também estão de acordo com aqueles obtidos por Ghatta & Ramarao (2004) que demonstraram elevações significativas nas concentrações séricas de glicose, colesterol total e triacilgliceróis em ratos que ingeriram dieta rica em lipídios durante quatro semanas. Por outro lado, este grupo também demonstrou um aumento significativo de peso nos ratos. Nós não determinamos o peso corporal dos animais; porém, resultados prévios de nosso laboratório demonstraram que a ingestão desta dieta hiperlipídica durante 6 ou 4 semanas não levou a qualquer alteração no peso corporal, quando comparado aos animais normolipidêmicos. Os ratos que ingeriram dieta hiperlipídica apresentaram diminuição da ingesta alimentar. Porém, o consumo calórico não diferiu significativamente, já que a dieta hiperlipídica é hipercalórica, o que pode ter contribuído para a semelhança no peso corporal dos ratos normo ou hiperlipidêmicos. (WOLF-NUNES, 2004; MIOTTO, 2001).

Estes resultados estão de acordo com trabalhos clássicos da literatura que demonstraram diminuição na ingesta alimentar quando lipídios são administrados intraduodenalmente (NOVIN *et al.*, 1979; REIDELBERGER, 1983; GREENBERG *et al.*, 1990). Os autores sugerem que existem receptores de nutrientes no duodeno que enviam para o cérebro sinais nervosos que desencadeiam a sensação de saciedade e que este efeito acontece ainda no período pré-absortivo (GREENBERG *et al.*, 1990). A colecistocinina por exemplo, é um importante hormônio liberado em resposta à presença de gordura no duodeno, possuindo um efeito direto sobre os centros da fome a fim de reduzir a ingestão subsequente (WOODS, 2004).

Ghatta & Ramarao (2004) também relataram que após o período de administração da dieta em ratos, os mesmos apresentam um quadro de resistência à insulina, acompanhando o aumento de peso e a dislipidemia. Embora neste trabalho não tenhamos analisado os níveis glicêmicos desses animais, Moreira (2005) observou um aumento significativo na concentração sérica de glicose nos ratos que ingeriram dieta hiperlipídica, durante quatro semanas. Estudos prévios demonstraram que esta elevação é devido à resistência à insulina causada pelo aumento da concentração de ácidos graxos livres que uma vez captado e metabolizado pelas ilhotas pancreáticas leva a uma ativação da enzima piruvato desidrogenase quinase (PDH). A ativação desta enzima por sua vez, inibe o complexo PDH, inibindo assim a oxidação da glicose e conseqüentemente a secreção de insulina dependente de glicose. Estes autores também demonstraram a reversão deste efeito utilizando bloqueadores da oxidação de ácidos graxos comprovando assim a relação entre ácidos graxos e resistência à insulina (BERNE, 1975; SAKO & GRILL, 1990; RANDLE 1998; QVIGSTAD, 2003).

Atarashi e colaboradores (2004) demonstraram que ratos tratados com dieta hipercolesterolêmica, por 8 semanas, apresentaram aumento da pressão sistólica. Em nosso trabalho não analisamos a pressão arterial dos ratos submetidos aos diferentes tratamentos, porém estudos prévios em nosso laboratório demonstraram que a administração de dieta hiperlipídica, durante 6 semanas, promoveu aumento significativo da pressão arterial média, pressão diastólica e pressão sistólica em ratos sedentários (MIOTTO, 2006).

A prática da atividade física regular é adotada e recomendada, pela maioria dos médicos, como uma estratégia terapêutica importante para normalização das dislipidemias e para redução de doenças cardiovasculares. Estudos em humanos já vêm sendo feitos há muitos anos. Existem muitas variáveis quanto à intensidade e frequência das atividades físicas propostas e a relação das mesmas com a melhora do perfil lipídico. Além disto, questiona-se se o índice de melhora no perfil lipídico estaria mais relacionado à perda de peso que o exercício proporciona do que com alterações enzimáticas relacionadas ao aumento na degradação dos triacilgliceróis, colesterol total e suas frações (HUTTUNEN, 1979; GRANDJEAN *et al.*, 2000; NIEMAN, 2002).

Em nossos estudos, o protocolo de treinamento não alterou o perfil lipídico de ratos normolipidêmicos. Deshaies e colaboradores (1983) também demonstraram não haver alterações no perfil lipídico de ratas Wistar normolipidêmicas após exercício físico.

Existe um consenso de que o exercício físico em diferentes intensidades eleva a fração HDL de colesterol, sendo esta, uma prática extremamente saudável (KING *et al.*, 1995; FERGUSON, 1998). Embora em nosso trabalho não observamos aumento estatisticamente significativo da fração HDL do colesterol no grupo NT, podemos notar uma tendência ao aumento desta fração nestes animais, porém novos ensaios devem ser realizados para confirmar tal hipótese.

Em relação aos ratos que receberam a dieta hiperlipídica associada ao treinamento físico, observamos que o protocolo de exercício proposto evitou o aumento significativo nas concentrações séricas de triacilgliceróis, de colesterol total e das frações LDL e VLDL de colesterol.

Nossos resultados estão de acordo com Burneiko e colaboradores (2006) que observaram que sessões de natação, durante oito semanas, impedem o aumento das concentrações plasmáticas de CT, VLDL-C e TAG em ratos tratados com dieta hipercalórica.

A diminuição da concentração plasmática de triacilgliceróis e da lipoproteína VLDL de colesterol, observada nos ratos alimentados com dieta hiperlipídica e submetidos às sessões de natação provavelmente está relacionada ao aumento da captação de glicose estimulada pela insulina observada em músculos esqueléticos perfundidos de ratos treinados (BERGER *et al.*, 1979; ZAVARONI, 1981). O aumento da eficiência da captação de glicose causada pelo exercício, leva à redução nas concentrações plasmáticas de insulina. Como o aumento na concentração sérica de insulina está associado à maior secreção hepática de VLDL-TG, uma diminuição na concentração de insulina resulta na diminuição da secreção de VLDL-TG (BERGER *et al.*, 1979; ZAVARONI *et al.*, 1981).

Resultados semelhantes foram relatados por Deshaies e colaboradores. (1983), nos quais ratos alimentados com dieta enriquecida com sacarose apresentaram aumento significativo do colesterol total e das frações LDL e VLDL, além dos triacilgliceróis, e este quadro foi abolido, quando a dieta foi associada ao exercício físico.

A função endotelial tem sido estudada primeiramente em termos de vasomotricidade dependente do endotélio, amplamente embasada na hipótese de que prejuízo vasomotor dependente do endotélio reflete alterações de diversas funções endoteliais. De acordo com esta hipótese, o óxido nítrico (NO) derivado do endotélio, sintetizado pela NO sintase endotelial (eNOS) a partir do precursor L-arginina, não é apenas o principal mediador da vasodilatação

dependente do endotélio, mas também está criticamente envolvido na regulação de outros fatores protetores que garantem um endotélio saudável (LANDMESSER *et al.*, 2004).

Analisamos o efeito da dieta hiperlipídica e das sessões de natação sobre a reatividade à noradrenalina em anéis de aorta isolada de ratos. Admite-se que a noradrenalina induz vasoconstrição por ativar adrenoceptores α_1 no músculo liso vascular que, através da ativação de proteína G, aciona pelo menos duas diferentes vias de transdução do sinal: quebra do fosfoinositol tri-fosfato induzida pela fosfolipase C com subsequente liberação de cálcio de estoques intracelulares e ativação de canais de cálcio na membrana plasmática levando ao influxo de cálcio (NISHIZUKA, 1984).

Os resultados aqui apresentados mostraram que em todos os grupos experimentais, a remoção do endotélio promoveu deslocamento das curvas concentração efeito à noradrenalina para a esquerda, além de aumentar significativamente a resposta máxima, evidenciando o importante papel do endotélio na modulação do tônus vascular, já amplamente demonstrado na literatura (FURCHGOTT & ZAWADZKI, 1980; GRYGLEWSKI *et al.*, 1986; PALMER *et al.*, 1987; IGNARRO *et al.*, 1987; NIGRO *et al.*, 1990).

Miller e Vanhoutte (1985) observaram que a diminuição promovida pela presença de endotélio na resposta contrátil a agonistas adrenérgicos, ocorre devido à liberação de FRDE após ativação de adrenoceptores presentes nas células endoteliais. Alguns autores ainda sugerem que o NO regula as ações vasomotoras de agonistas α_1 – adrenérgicos, promovendo antagonismo fisiológico (BULLOCK *et al.*, 1986, VINET *et al.*, 1991).

A curva concentração-efeito à noradrenalina apresentou-se bifásica nos animais submetidos às sessões de natação (NT), caracterizada por contração até atingir a resposta máxima, seguida por relaxamento à medida que a concentração de noradrenalina foi aumentada acima de 1 μ M. Esse período de relaxamento foi totalmente abolido pela remoção do endotélio.

Está bem descrito na literatura que o endotélio participa da regulação do tônus vascular liberando fatores contráteis e relaxantes em resposta a estímulos (RUBANYI & VANHOUTTE, 1985; HICKEY *et al.*, 1985; LUSCHER & VANHOUTTE, 1986; YANAGISAWA *et al.*, 1988; CORDELLINI *et al.*, 1990) e o desequilíbrio na produção destes fatores pode levar a alterações na resposta vascular (NIGRO *et al.*, 1990). Juntamente com outros resultados discutidos na seqüência, podemos sugerir que essa fase de relaxamento da curva bifásica seja resultado de uma maior produção de fatores de relaxamento derivado do endotélio. Brawley e colaboradores

(2000) descreveram ainda a participação de adrenoceptores beta no relaxamento de anéis de aorta torácica de ratos sedentários. Nós não estudamos a participação destes receptores em nosso trabalho, porém novos ensaios devem ser feitos para verificar uma possível participação dos receptores beta adrenérgicos nos efeitos promovidos pela exercício físico.

Nossos resultados mostraram que a dieta hiperlipídica não promoveu qualquer alteração na resposta máxima e valor pD_2 da noradrenalina, em anéis de aorta cujo endotélio permaneceu intacto ou foi mecanicamente removido, comparados àqueles anéis de aorta isolada de ratos sedentários (NS *vs* HS). Ghatt e colaboradores (2004) demonstraram que a resposta contrátil da aorta torácica de ratos Sprague-Dawley alimentados com dieta hiperlipídica está aumentada à 5-HT, à Ang II e à fenilefrina. Nossos resultados não foram semelhantes aos resultados observados por Ghatt e colaboradores (2004), porém nós utilizamos ratos Wistar como modelo e Ghatt e colaboradores (2004) utilizaram ratos Sprague-Dawley, é possível que a diferença de cepas, resulte em respostas diferentes.

Aorta de ratos submetidos às sessões de natação e tratados com dieta normolipídica (NT) apresentou diminuição na resposta máxima à noradrenalina e queda nas tensões desenvolvidas em resposta a concentrações supramáximas de noradrenalina. Estes efeitos foram impedidos pela remoção do endotélio. A vasoconstrição induzida pela noradrenalina ou pela fenilefrina resulta da estimulação de adrenoceptores α_1 , e é modulada por substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras produzidas localmente, tais como NO derivado do endotélio, prostanóides e fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio (VINET *et al.*, 1991; SRIVASTAVA *et al.*, 1998; ASBUN-BOJALIL *et al.*, 2002; Ricksen *et al.*, 2003). Esta modulação local da vasoconstrição induzida por agonistas simpáticos pode ser influenciada pelo exercício físico que, em geral promove redução da resposta vascular à noradrenalina em diversas artérias, depois de treinamento físico (DELP *et al.*, 1993; CHEN *et al.*, 1994; PARKER *et al.*, 1994; SPIER *et al.*, 1999; IZAWA *et al.*, 1996).

Do ponto de vista fisiológico, estas alterações podem resultar em mudanças importantes na distribuição do fluxo sangüíneo que ocorrem durante exercício físico (LAUGHLIN & ARMSTRONG, 1982; LAUGHLIN & ARMSTRONG, 1983), as quais envolvem ações vasculares de agonistas α_1 -adrenérgicos, que são moduladas por mediadores produzidos localmente (CHIES *et al.*, 2004).

Weigman e colaboradores (1981) observaram diminuição da sensibilidade à noradrenalina na microcirculação de ratos submetidos à natação. Delp e colaboradores (1993) demonstraram que a resposta diminuída à noradrenalina em aorta abdominal de ratos treinados por dez semanas é devida a um mecanismo dependente do endotélio e envolve receptores α_2 -adrenérgicos presentes nas células endoteliais, os quais causam liberação de NO derivado do endotélio (VANHOUTTE & MILLER, 1989).

Nossos resultados mostraram também que a dieta hiperlipídica impediu a diminuição da resposta máxima à noradrenalina nos ratos submetidos à natação (HS vs HT), embora não tenha efeito em aorta de ratos sedentários.

De Las Heras e colaboradores (2003) identificaram que a hiperlipidemia pode conduzir à vasoconstrição por elevar as concentrações sanguíneas de endotelina e de tromboxano A_2 , que são potentes fatores vasoconstritores e que podem se opor aos efeitos do NO. Existe uma forte correlação entre a concentração plasmática de triacilgliceróis e de endotelina em pacientes com diabetes tipo 2 e dislipidemia, e pacientes com hipercolesterolemia apresentam elevada taxa de excreção de TXA_2 . Portanto, embora os fatores vasoconstritores não tenham causado alterações em animais sedentários, eles poderiam se opor aos efeitos dos fatores de relaxamento derivado do endotélio que estariam aumentados pelo treinamento. Embora os animais do grupo HT não tenham desenvolvido o quadro dislipidêmico, não identificamos até o momento de que maneira a dieta hiperlipídica poderia impedir os efeitos vasculares observados nos animais do grupo NT, ou seja, diminuição da resposta máxima à noradrenalina e relaxamento vascular em concentrações supramáximas deste agonista.

Ainda permanece a questão se sessões repetidas de natação reduzem a atividade vasomotora induzida pela noradrenalina exclusivamente pelo aumento do NO ou também envolve a redução ou o aumento de prostanóides vasoconstritores ou vasodilatadores, respectivamente.

Assim, os anéis de aorta isolada de ratos sedentários e de ratos submetidos às sessões de natação foram tratados *in vitro* com indometacina (5,6 μ M), para inibir a produção de prostanóides endógenos ou com L-NAME (300 μ M), para inibir a produção endógena de NO. Em seguida, foram obtidas curvas concentração-efeito à noradrenalina.

O endotélio vascular é capaz de sintetizar além do NO, um importante vasodilatador e inibidor da função plaquetária, a prostaciclina (PGI_2), um eicosanóide oriundo da ciclo-

oxigenação do ácido araquidônico (MONCADA *et al.*, 1976). O endotélio também libera um fator hiperpolarizante capaz de causar vasorrelaxamento por induzir hiperpolarização de membranas celulares de músculo liso vascular (CHEN & SUZUKI, 1989; FELETOU & VANHOUTTE, 1988).

O tratamento com a indometacina manteve as mesmas alterações observadas nos anéis sem o tratamento, ou seja, em anéis de aorta de ratos do grupo NT a curva concentração efeito à noradrenalina apresentou característica bifásica, com redução da resposta e significativa diminuição da tensão na segunda fase da curva. Portanto, podemos descartar a participação de prostanoídes nestes efeitos do exercício físico.

Nigro e colaboradores (1990) observaram que anéis de aorta de ratos sedentários após tratamento *in vitro* com indometacina, apresentaram uma curva bifásica à noradrenalina, quando essa última era adicionada na cuba em dose supramáxima. De acordo com os autores, este efeito possivelmente aconteceu pela inibição dos fatores contráteis derivados do endotélio. Nossos resultados não indicaram diferença significativa entre a resposta máxima e o último ponto da curva concentração-efeito à noradrenalina dos anéis do grupo controle (NS), porém o valor de p foi igual a 0,0789, ou seja, muito próximo de 0,05, o que nos permite sugerir a tendência para uma curva bifásica.

O pré-tratamento com L-NAME promoveu aumento significativo na resposta máxima à noradrenalina e deslocou as curvas concentração-efeito de ambos os grupos para a esquerda, quando comparado aos anéis com endotélio sem o pré-tratamento. O aumento da reatividade do tecido à noradrenalina com o pré-tratamento foi semelhante à resposta obtida nos anéis cujo endotélio havia sido removido com ou sem o pré-tratamento, confirmando a importante participação do NO na modulação da resposta vasoconstritora à noradrenalina mediada pelo endotélio.

Os análogos da L-Arg, como a monometil-L-arginina (L-NMMA) e N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), inibem especificamente a síntese de óxido nítrico e a formação de L-citrulina em macrófagos (MARLETTA, 1988). Esta inibição é revertida pela L-Arg (mas não pela D-Arg), sugerindo que tais análogos inibem a formação de óxido nítrico por competir com a L-Arg pelo sítio ativo da enzima. Igualmente, o L-NMMA inibe a liberação de óxido nítrico *in vitro* (PALMER 1988) e *in vivo* (REES, 1990), sendo este efeito revertido pela L-Arg. Além do L-NMMA, outros análogos da L-Arg (nitro-L-arg e N^ω – aminos-arginina) são atualmente

descritos como inibidores mais potentes da liberação de óxido nítrico (FUKUTO, 1990). Rees e colaboradores (1990) demonstraram ainda que o L-NAME é cerca de 10 vezes mais potente do que o L-NMMA. Estes compostos são muito utilizados como ferramentas na investigação da função biológica da via L-arginina – NO no sistema cardiovascular.

Zonta e colaboradores (1998) observaram que a adição de L-NAME em preparações de aorta isolada de ratos, potencializava a contração induzida pela noradrenalina em anéis com endotélio e não promovia qualquer alteração em anéis cujo endotélio havia sido removido.

O pré tratamento com L-NAME aboliu a redução da resposta máxima à noradrenalina observada em anéis de ratos submetidos às sessões de natação, indicando fortemente a participação do NO neste efeito.

O relaxamento do músculo liso vascular mediado pelo NO ocorre em vasos expostos por longo prazo a elevado fluxo sanguíneo (NADAUD *et al.*, 1996), como ocorre no exercício físico. A maior liberação de NO que é evocada pela noradrenalina no treinamento poderia ser decorrente de aumento da expressão do NOS endotelial (eNOS) (CHEN, 1994). Entretanto, nós não investigamos esta hipótese.

Delp e colaboradores (1997) observaram aumento na expressão da eNOS em aorta de ratos submetidos ao treinamento físico por 4 a 10 semanas. Esses resultados são consistentes com outros estudos que também comprovam aumento da concentração do RNAm da NOS em aorta de cães (OVERTON *et al.*, 1988) e de porcos treinados (WOODMAN *et al.*, 1997).

A função endotelial é comumente estudada medindo-se a resposta vasodilatadora a estímulos químicos e farmacológicos (FURCHGOTT & ZAWADZKI, 1980; LUDMER *et al.*, 1986; DZAU *et al.*, 1993; VOGEL *et al.*, 1998; TREASURE *et al.*, 1995). Muitos compostos cujo efeito é dependente do endotélio foram identificados, incluindo acetilcolina, serotonina, bradicinina, trombina e substância P, que agem em receptores de membrana ligados à proteína G (EGASHIRA *et al.*, 1994). *In vitro*, a função endotelial pode ser avaliada pela tensão desenvolvida em anéis vasculares em resposta a diferentes concentrações de acetilcolina.

Nós obtivemos curvas concentração-efeito à acetilcolina em anéis de aorta isolada de ratos submetidos aos diferentes tratamentos, os quais foram pré-contraídos por noradrenalina em concentração supramáxima (10 μ M). Os anéis provenientes de ratos NS que apresentaram relaxamento inferior a 50 %, foram descartados. Para o estudo da função endotelial, em geral se considera somente os anéis que apresentam relaxamento igual ou superior a 80 %, porém nestes

ensaios os anéis são pré-contraídos com noradrenalina a 0,1 μ M, concentração que induz 60-80 % do efeito máximo (NUNES *et al.*, 2000).

Os anéis cujo endotélio foi mecanicamente removido ou submetido ao pré-tratamento com L-NAME, como descrito anteriormente não apresentaram qualquer relaxamento à acetilcolina, confirmando assim a remoção do mesmo.

A dieta hiperlipídica não promoveu qualquer alteração na curva concentração-efeito à acetilcolina em anéis de aorta de ratos sedentários. De Las Heras e colaboradores (2003) observaram que uma dieta hiperlipídica administrada em coelhos promovia redução no relaxamento induzido por acetilcolina em anéis de aorta. Resultados parecidos foram observados em porcos adultos (WOODMAN, 1997). Entretanto, dois aspectos fundamentais podem ter determinado as diferenças nos resultados: o prazo de administração da dieta para o desenvolvimento das alterações funcionais e estruturais verificados por aqueles autores foi de 12-14 semanas, enquanto nosso estudo durou apenas 4 semanas; eles usaram coelhos ou porcos como modelos experimentais que, reconhecidamente, possuem maior predisposição aos efeitos de uma dieta hiperlipídica e ao desenvolvimento da aterosclerose do que ratos.

As curvas concentração-efeito obtidas em anéis de aorta isolada de ratos submetidos às sessões de natação e dieta normolipídica apresentaram significativo aumento na resposta máxima à acetilcolina quando comparadas aos demais grupos. Este efeito foi totalmente abolido pelo pré-tratamento com L-NAME. Estes dados, juntamente com os dados observados na resposta vasomotora à noradrenalina, no mesmo grupo, permitem-nos supor que o NO é o principal fator de relaxamento derivado do endotélio capaz de aumentar a resposta de vasorrelaxamento à acetilcolina em ratos submetidos às sessões de natação. Estes resultados estão de acordo com Chen e colaboradores (1993, 1994, 1996), Delp e colaboradores (1993) e Parker e colaboradores (1994) que observaram que o exercício físico aumenta o vasorrelaxamento em resposta à acetilcolina, e que este efeito é dependente do endotélio, e diminui a vasoconstrição induzida pela noradrenalina, pelo aumento da produção de NO.

Postula-se que efeitos benéficos do treinamento aeróbico regular, incluindo suas propriedades antiaterogênicas, possam ser mediados em parte pelo aumento da secreção de NO e da expressão de eNOS induzida pelo *shear-stress*. Este aumento da expressão da eNOS foi identificado em cães (MULLER & VANHOUTTE, 1991) e em ratos (NADAUD *et al.*, 1996). A estimulação da expressão de eNOS induzida pelo *shear stress* é dependente da ativação da

tirosina quinase c-Src em cultura de células endoteliais (DAVIS *et al.*, 2001). Em camundongos c-Src heterozigotos, o efeito benéfico do exercício de treinamento sobre a expressão da eNOS vascular é perdido, sugerindo importante papel desta via durante o treinamento (DAVIS *et al.*, 2003). O treinamento físico melhora a vasodilatação mediada pelo NO, dependente do endotélio, em pacientes com falência cardíaca crônica ou doença coronariana (DAVIS *et al.*, 2003; HAMBRECHT *et al.*, 2000).

Nos ratos submetidos à natação e alimentados com dieta hiperlipídica não foi observada qualquer alteração na resposta máxima à acetilcolina, indicando que a dieta hiperlipídica impede o aumento da resposta máxima à acetilcolina observada em ratos normolipidêmicos submetidos ao treinamento. Este resultado está de acordo com os dados observados na curva à noradrenalina, em que a dieta também impediu a redução da resposta máxima em aorta de ratos exercitados.

O exercício produz aumento do fluxo sangüíneo nos membros exercitados e na circulação coronariana. Na ausência de aterosclerose essas artérias dilatam em resposta ao aumento do fluxo, mas podem contrair quando a aterosclerose está presente (MOYMA & THOMPSON, 2004).

Para investigar uma possível participação de prostanóides endógenos na resposta relaxante dos vasos à acetilcolina, foram obtidas curvas concentração-efeito a esse agonista muscarínico em anéis de aorta tratados com indometacina e pré-contraídos com noradrenalina em concentrações supra-máximas.

O tratamento com indometacina aumentou a resposta máxima à acetilcolina nos anéis de aorta de ratos normolipidêmicos sedentários (NS), quando comparada aos anéis de aorta que não sofreram tratamento com indometacina ($p < 0,05$, teste *t* de Student). Nossos resultados estão de acordo com Angelis *et al.* (2004) que observaram aumento significativo do relaxamento induzido pela acetilcolina, em anéis de aorta de ratos tratados com indometacina. Os autores observaram que esse aumento foi decorrente de uma aumentada produção de peroxinitrito (formado pela interação de EROS e NO) . Nos demais grupos nenhuma alteração foi encontrada com o tratamento de indometacina. Os mecanismos celulares envolvidos com estes efeitos ainda devem ser investigados.

Os anéis de aorta de ratos submetidos às sessões de natação apresentaram resposta máxima aumentada à acetilcolina quando comparada aos grupos HS e HT ($p < 0,05$, ANOVA, seguida de teste de Tukey). A resposta máxima à acetilcolina em anéis de aorta de ratos

normolipidêmicos e sedentários (NS) tornou-se semelhante àquela observada em anéis de aorta dos ratos normolipidêmicos e submetidos às sessões de natação (NT). O tratamento com indometacina manteve aumentada a resposta máxima à acetilcolina nos anéis de aorta de ratos submetidos às sessões de natação (NT) e este efeito foi abolido pela associação desta atividade com a ingestão de dieta hiperlipídica (HT). A dieta hiperlipídica não promoveu qualquer alteração nas curvas concentração-efeito à acetilcolina nos anéis de aorta de ratos sedentários (HS). Portanto podemos sugerir que os prostanóides vasodilatadores não estão envolvidos no aumento da resposta máxima à acetilcolina nos anéis de aorta de ratos submetidos ao exercício físico.

Há várias evidências que a atividade física pode causar mudanças nas propriedades funcionais não só do endotélio, como também do próprio músculo liso vascular em humanos e ratos (BOWLES, 2000; BOWLES *et al.*, 2000; LAUGHLIN, 2003). Para o estudo das possíveis alterações no músculo liso vascular, foram obtidas curvas concentração-efeito ao nitroprussiato de sódio, em anéis de aorta com e sem endotélio. A remoção do endotélio não promoveu qualquer alteração na curva concentração-efeito ao nitroprussiato de sódio. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada nas curvas concentração-efeito ao nitroprussiato nos anéis de aorta isolada, com e sem endotélio, de ratos submetidos aos diferentes tratamentos.

O nitroprussiato de sódio é um potente vasodilatador (BUTLER & GLIDEWELL, 1987), que promove relaxamento do músculo liso vascular liberando NO no meio, este processo ocorre por conversão redox do nitroprussiato em uma ou duas formas eletrônicas reduzidas (WOLAK *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2002; SMITH & DASGUPTA, 2001). Portanto, o nitroprussiato é bastante utilizado como vasodilatador não dependente do endotélio.

Nossos resultados são semelhantes aos observados por Kingwell e colaboradores (1996) em atletas, no qual a reatividade vascular ao nitroprussiato de sódio foi igual àquela encontrada em sujeitos sedentários, indicando que a sensibilidade do músculo liso vascular ao NO não foi alterada pelo exercício ou pela dieta.

6 – CONCLUSÃO

Nossos resultados permitem concluir que:

1. O programa de exercício físico proposto impediu a instalação da dislipidemia induzida pela dieta em ratos;
2. A dislipidemia não causou alterações de reatividade da aorta à noradrenalina, à acetilcolina ou ao nitroprussiato de sódio;
3. O programa de exercício físico por natação resultou em redução na resposta vasomotora à noradrenalina, além de tornar bifásica a curva concentração-efeito à este agonista. O programa de exercício físico também promoveu aumento na resposta vasorrelaxante à acetilcolina, mas não ao nitroprussiato de sódio em aorta de ratos normolipidêmicos.
4. O tratamento dos anéis de aorta do grupo NT com indometacina não promoveu qualquer alteração na resposta vasomotora aos diferentes agonistas. Porém o tratamento destes anéis com L-NAME aboliu os efeitos vasculares observados nos anéis do ratos submetidos à natação. Portanto estas alterações foram decorrentes do aumento do NO derivado do endotélio.
5. A dieta hiperlipídica impediu a verificação dos efeitos vasculares promovidos pela atividade física por natação por mecanismo ainda desconhecido.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências desta tese estão de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas para documentação. NBR 6023 Agosto de 2002, pág 14, item 8.1.1.1.

ALONSO R, GRANT G, MARZO F. Thermal treatment improves nutritional quality of pea seeds (*Pisum sativum* L.) without reducing their hypocholesterolemic properties. **Nutr. Res.** 2001; 21: 1067-1077.

ANGELIS AD, RINALDI B, CAPUANO A, ROSSI F, and FILIPALLI A. Indomethacin potentiates acetylcholine-induced vasodilation by increasing free radical production. **British Journal Pharmacology.** 2004; 142: 1233-1240.

ASBUN-BOJALI LJ, CASTILLO EF, ESCALANTE BA, CASTILLO, C. Does segmental difference in alpha 1-adrenoceptor subtype explain contractile difference in rat abdominal and thoracic aortae? **Vascul. Pharmacol.** 2002; 38: 169-175.

ATARASHI K, ISHIYAMA A, MINAMI M, TAKAGI M, and OMATA M. Effects of cute hypercholesterolemia on blood pressure and pressor response to norepinephrine in rats. **Blood Press.** 2004; 13: 56-61.

BECKMAN JA, GOLDFINE AB, GORDON MB, GARRETT LA, KEANEY JF, CREAGER MA. Oral antioxidant therapy improves endothelial function in type I but not type II diabetes mellitus. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** 2003; 285: H2392-H2398.

BERGER M, KEMMER FW, BECKER, K. Effect of physical training on glucose tolerance and on glucose metabolism of skeletal muscle in anesthetized normal rats. **Diabetologia.** 1979; 16: 179-84.

BERNE C. The oxidation of fatty acids and ketone bodies in mouse pancreatic islets. **Biochem. J.** 1975; 152: 661.

BEST PJM, LERMAN LO, ROMERO JC, RICHARDSON D, HOLMES DR, and LERMAN A. Coronary endothelial function is preserved with chronic endothelium receptor antagonism in experimental hypercholesterolemia in vitro. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** 1999; 19: 2769-2775.

BØNAA KH & ARNESEN E. Association between heart rate and atherogenic blood lipid fractions in a population (The Tromso Study). **Circulation.** 1992; 86: 394-405.

BONORA E, KIECHL S, and WILLEIT J. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders - The Bruneck study. **Diabetes.** 1998; 47: 1643-1649.

BORGHI C. Interactions between hypercholesterolemia and hypertension: implications for therapy. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.** 2002; 11: 489-496.

BOWLES DK. Adaptation of ion channels in the microcirculation to exercise training. **Microcirculation.** 2000; 7: 25-40.

BOWLES DK, WOODMAN CR, and LAUGHLIN MH. Coronary smooth muscle and endothelial adaptations to exercise training. **Exerc. Sport. Sci. Rev.** 2000; 28: 57-62.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Uma análise da mortalidade no Brasil e regiões.** 2004. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/SVS/visualizar_texto.cfm?idtxt=24421 > Acesso em: 19 jan. 2007, 16:15.

BRAWLEY L, SHAW AM, MACDONALD A. Beta 1-, beta 2- and atypical beta-adrenoceptor-mediated relaxation in rat isolated aorta. **Br. J. Pharmacol.** 2000; 129: 637-44.

BRETT DS, and SNYDER SH. Nitric Oxide: a physiologic messenger molecule. **Annu. Rev. Biochem.** 1994; 63: 175-95.

BREHM BR, MEERGANS M, AXEL DI, HEINLE H, and KARSCH KR. Downregulation of beta⁻adrenergic receptors by low-density lipoproteins and its prevention by beta⁻adrenergic receptor antagonists. **Cardiovascular Research.** 1998; 38: 522-530.

BRUMMELEN PV. The relevance of intrinsic sympathomimetic activity for β -blocker-induced changes in plasma lipids. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** 1983; 5: S51-S55.

BULLOCK GR, TAYLOR SG, and WESTON AH. Influence of the vascular endothelium on agonist-induced contractions and relaxations in rat aorta. **Br. J. Pharmacol.** 1986; 9: 819-830.

BUNEMANN M, LEE KB, PALS-RYLAARSDAM R, ROSEBERRY AG, and HOSEY MM. Desensitization of G-protein-coupled receptors in the cardiovascular system. **Annu. Rev. Physiol.** 1999; 61: 169-192.

BURNEIKO RC, DINIZ YS, GALHARDI CM, RODRIGUES HG, EBAID GM, FAINE LA, PADOVANI CR, CICOGNA AC, and NOVELLI EL. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. **Food Chem. Toxicol.** 2006; 44: 1167-72.

BUTLER R, GLIDEWELL C. Recent chemical studies of sodium nitroprusside relevant to its hypotensive action. **Chem. Soc. Rev.** 1987; 16: 361-380.

CASINO PR, KILCOYNE CM, QUYYUMI AA, HOEG JM, and PANZA JA. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. **Circulation.** 1993; 88: 2541-2547.

CASTELLANO M & BOHM M. The cardiac beta-adrenoceptor-mediated signaling pathway and its alterations in hypertensive heart disease. **Hypertension.** 1997; 29: 715-722.

CELERMAJER DS, SORENSEN KE, GOOCH VM, SPEGELHALTER DJ, MILLER OI, SULLIVAN ID LLOYD JK, DEANFIELD JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. **Lancet.** 1992; 340: 1111-1115.

CHEN G, and SUZUKI H. Some electrical properties of the endothelium-dependent hyperpolarization recorded from rat arterial smooth muscle cells. **J. Physiol.** 1989; 410: 91-106.

CHEN H, and LI HT. Physical conditioning can modulate endothelium-dependent vasorelaxation in rabbits. **Arterioscler. Thromb.** 1993; 13: 852-856.

CHEN H, LI HT, CHEN CC. Physical conditioning decreases norepinephrine-evoked endothelium-derived relaxing factor. **Circulation.** 1994; 90: 970-975.

CHEN HI, CHIANG IP, and JEN CJ. Exercise training increases acetylcholine-stimulated endothelium-derived nitric oxide release in spontaneously hypertensive rats. **J. Biomed. Sci.** 1996; 3: 454-460.

CHIES AB, OLIVEIRA AM, PEREIRA FC, ANDRADE CR, CORREA FMA. Phenylephrine-induced vasoconstriction of the rat superior mesenteric artery is decreased after repeated swimming. **J. Smooth Muscle Res.** 2004; 6: 249-258.

COHEN RA, ZITNAY KM, HAUDENSCHILD CC, and CUNNINGHAM LD. Loss of selective endothelial cell vasoactive functions caused by hypercholesterolemia in pig coronary arteries. **Circ. Res.** 1988; 63: 903-910.

CORDELLINI S, CARVALHO MHC, SCIVOLETTO R, FORTES ZB, and NIGRO D. Indirect evidence for an endothelium-derived contracting factors (EDCF) release in aorta of DOCA-salt hypertensive rats. **J. Hypertens.** 1990; 18: 673-78.

DAAKA Y, LUTTRELL LM, and LEFKOWITZ RJ. Switching of the coupling of the α_2 -adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. **Nature.** 1997; 390: 88-91.

DAVIS ME, CAI H, DRUMMOND GR. Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase expression through c-Src by divergent signaling pathways. **Circ. Res.** 2001; 89: 1073-1080.

DAVIS ME, CAI H, MCCANN L *et al.* Role of c-Src in regulation of endothelial nitric oxide synthase expression during exercise training. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** 2003; 284: H1449-H1453.

DE LAS HERAS N, CEDIEL E, OUBINA MP, ARAGONCILLO P, SANZ-ROSA D, LAHERA V, and CACHOFEIRO V. Comparison between the effects of mixed dyslipidaemia and hypercholesterolaemia on endothelial function, atherosclerotic lesions and fibrinolysis in rabbits. **Clin. Sci. Lond.** 2003; 104: 357-65.

DELP MD, MCALLISTER RM, LAUGHLIN MH. Exercise training alters endothelium-dependent vasoreactivity of rat abdominal aorta. **J. Appl. Physiol.** 1993; 75: 1354-1363.

DELP MD, and LAUGHLIN MH. Time course of enhanced endothelium-mediated dilation in aorta of trained rats. **Med. Sci. Sports. Exerc.** 1997; 29: 1454-1461.

DEPRÉS JP, POULIOT MC, MOORJANI S. Loss abdominal fat and metabolic response to exercise training in obese women. **Am. J. Physiol.** 1991; 261: E159-E157.

DESHAIES Y, VALLERAND AL, and BUKOWIECKI LJ. Serum lipids and cholesterol distribution in lipoproteins of exercise-trained female rats fed sucrose. **Life Sci.** 1983; 33: 75-82.

DURSTINE JL. Effect of short-duration and long-duration exercise on lipoprotein. **Medicine & Science in Sports & Exercise.** 2001; 9: 1511-1516.

DZAU VJ, GIBBONS GH, COOKE JP, OMOIGUI N. Vascular biology and medicine in the 1990s. Scope: concepts, potential, and perspectives. **Circulation.** 1993; 87: 705-19.

EGASHIRA K, HIROOKA Y, KAI H. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. **Circulation.** 1994; 89: 2519-24.

ENGLER MM, ENGLER MB, MALLOY MJ, CHIU EY, SCHLOETTER MC, PAUL SM, STUEHLINGER M, LIN KY, COOKE JP, MORROW JD, RIDKER PM, RIFAI N, MILLER E, WITZTUM JL, MIETUS-SNYDER M. Antioxidant vitamins C and E improve endothelial function in children with hyperlipidemia: endothelial assessment of risk from lipids in youth trial. **Circulation.** 2003; 108: 1059-1063.

ERIKSSON BE, TYNI-LENNE R, SVEDENHAG J, HALLIN R, JENSEN-URSTAD K, JENSEN-URSTAD M, BERGMAN K, and SELVEN C. Physical Training in Syndrome X: physical training counteracts deconditioning and pain in Syndrome X. **Journal of the American College of Cardiology.** 2000; 36: 1619-1625.

FELETOU M, and VANHOUTTE PM. Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. **Br. J. Pharmacol.** 1988; 41: 164-6.

FERGUSON MA. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. **J. Appl. Physiol.** 1998; 85: 1169-1174.

FEUERSTEIN BL, & WEINSTOCK RS. Diet and exercise in type 2 Diabetes Mellitus. **Nutrition.** 1997; 13: 95-99.

FORJAZ CL, RAMIRES PR, TINUCCI T, ORTEGA KC, SALOMAO HE, IGNES EC, WAJCHENBERG BL, NEGRAO CE, MION D JR. Postexercise responses of muscle sympathetic nerve activity and blood flow to hyperinsulinemia in humans. **J. Appl. Physiol.** 1999; 87: 824-829.

FRANCIS DP. Low-cost shuttle walk test for assessing exercise capacity in chronic heart failure. **International Journal of Cardiology.** 2000; 76: 105-106.

FRIEDWALD WT, LEVY RI, FREDRICKSON DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin. Chem.** 1972; 18: 499-502.

FUKUTO JM, WOOD KS, BYRNS RE, and IGNARRO LJ. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 1990; 168: 458-465.

FURCHGOTT RF & ZAWADZKI JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature.** 1980; 288: 373-376.

GHATTA S, and RAMARAO P. Increased contractile responses to 5-hydroxytryptamine and angiotensin II in high fat diet fed rat thoracic aorta. **Lipids in Health and Disease.** 2004; 3.

GIBBONS LW. Maximal Exercise test as a predictor of risk for mortality from coronary heart disease in asymptomatic men. **The Am. J. Cardiol.** 2000; 86: 53-58.

GRANDJEAN PW, STEPHEN FC, ROHACK J. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. **J. Appl. Physiol.** 2000; 89: 472-480.

GRASSI-KASSISSE DM, FARO R, WITHRINGTON PG, ZATZ R, OPGENORTH TJ, ANTUNES E, and DE NUCCI G. Characterisation of functional endothelin receptors in the canine isolated perfused spleen. **Eur. J. Pharmacol.** 1995; 282: 57-63.

GRASSI-KASSISSE DM, ANTUNES E, WITHRINGTON PG, and DE NUCCI G. Modulation by endogenous prostanoids of the vasoconstrictor activity of endothelin-1 in the canine isolated, perfused spleen. **Br. J. Pharmacol.** 1994; 113: 675-80.

GREEN DJ, WALSH JH, MAIORANA A, BEST MJ, TAYLOR RR, O'DRISCOLL JG. Exercise-induced improvement in endothelial dysfunction is not mediated by changes in CV risk factors: pooled analysis of diverse patient populations. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.** 2003; 285: H2679-H2687.

GREENBERG D, SMITH GP, GIBBS J. Intraduodenal infusions of fats elicit satiety in sham-feeding rats. *Am. J. Physiol.* 1990; 259: R110-118.

GRYGLEWSKI RJ, PALMER, RMJ, and MONCADA S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* 1986; 320:454-456.

HAMBRECHT R, WOLF A, CLEN S, *et al.* Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 454-460.

HARDMAN A. Exercise in the prevention of atherosclerotic, metabolic and hypertensive diseases: a review. *J. Sports Sci.* 1996; 14: 201-218.

HAVEL RJ & KANE JP. Introduction: structure and metabolism of plasma lipoproteins. in: SCRIVER CR, BEUDET AL, SLY WS, VALLE D **The metabolic and molecular bases of inherited disease.** 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1999. p. 1841-1851.

HAGBERG JM. Physiologic adaptations to prolonged high-intensity exercise training in patients with coronary artery disease. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1991; 23: 661-667.

HICKEY KA, RUBANYI G, PAUL RJ, and HIGHSMITH RF. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 1985; 248: C550-556.

HOWARD BV & HANNAH JS. Dietary fat intake and diabetes. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes.** 1995; 2: 530-537.

HUTTUNEN JK. Effect of moderate physical exercise on serum lipoproteins. A controlled clinical trial with special reference to serum high-density lipoprotein. *Circulation.* 1979; 60: 1220-9.

IGNARRO LJ, BUGA GM, WOOD KS, BYRNS RE, and CHAUDHURI G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987; 84: 9265-9269.

IMAMURA Y & SHIMADA H. Differential Pharmacokinetics of Acetohexamide in Male Wistar–Imamichi and Sprague–Dawley Rats: Role of Microsomal Carbonyl Reductase. **Biol. Pharm. Bull.** 2005; 28:185-187.

IZAWA T, MORIKAWA M, MIZUTA T, NAGASAWA JI, KIZAKI T, OH-ISHI S, OHNO H, KOMABAYASHI T. Decreased vascular sensitivity after acute exercise and chronic exercise in rat thoracic aorta. **Res. Com. Mol. Pathol. Pharmacol.** 1996; 93: 331-342.

JOHSON LR, PARKER JL, and LAUGHLIN H. Chronic exercise training improves Ach-induced vasorelaxation in pulmonary arteries of pigs. **J. Appl. Physiol.** 2000; 88: 443-451.

KANNEL WB. Fifty years of Framingham Study contributions to understanding hypertension. **J. Hum. Hypertens.** 2000; 14: 83-90.

KIM JR, OBERMAN A, FLETCHER GF, and LEE JY. Effect of exercise intensity and frequency on lipid levels in men with coronary heart disease: training level comparison trial. **The Am. J. Cardiol.** 2001; 87: 942-946.

KING AC, HASKELL WL, YOUNG DR, OKA RK, and STEFANICK, ML. Long-term effects of varying intensities and formats of physical activity on participation rates, fitness, and lipoproteins in men and women aged 50 to 65 years. **Circulation.** 1995; 91: 2596-2604.

KINGWELL BA, TRAN B, CAMERON JD, JENNINGS GL, and DART AM. Enhanced vasodilation to acetylcholine in athletes is associated with lower plasma cholesterol. **Am. J. Physiol.** 1996; 290: H2008 – H2013.

KOJDA G, HARRISON D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. **Carciovasc. Res.** 1999; 43: 562-571.

LANDMESSER U, HORNIG B, and DREXLER H. Endothelial function. A critical determinant in atherosclerosis?. **Circulation.** 2004; 109: II-27 – 33.

LAROIA ST, GANTI AK, LAROIA AT, and TENDULKAR KK. Endothelium and the lipid metabolism: the current understanding. **International Journal of Cardiology**. 2003; 88: 1-9.

LAUGHLIN MH. Physical activity in prevention and treatment of coronary disease: the battle line is in exercise vascular cell biology. **Medicine and Science in sports and exercise**. 2003; 35:2-62.

LAUGHLIN MH and ARMSTRONG RB. Muscular blood flow distribution patterns as a function of running speed in rats. **Am. J. Physiol**. 1982; 243: H296-036.

LAUGHLIN MH, and ARMSTRONG RB. Rat muscle blood flows as a function of time during prolonged slow treadmill exercise. **Am. J. Physiol**. 1983; 244: H814-24.

LAVIE CJ, MILANI RV, LITTIMAN AB. Benefits of cardiac rehabilitation and exercise training in secondary prevention in the elderly. **J. Am. Coll. Cardiol**. 1993; 22: 678-683.

LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**. 2002; 420: 868-874.

LUDMER PL, SELWYN AP, SHOOK TL, *et al*. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. **N. Engl. J. Med**. 1986; 315: 1046-1051.

LUSCHER TF, and VANHOUTTE PM. Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of spontaneously hypertensive rat. **Hypertension**. 1986; 8: 344-358.

LUZ PL, LAURINDO FRM e CHAGAS ACP. **Endotélio: doenças cardiovasculares**. 2003;

MARLETTA MA, YOON OS, IYENGAR R, LEAF CD, and WISHNOK JS. **Biochemistry**. 1988; 24: 8706-8711.

MARSH SA, and COOMBES JS. Exercise and the endothelial cell. **International Journal of Cardiology**. 2005; 99: 165-169.

MILLER VM, and VANHOUTTE PM. Endothelial α_2 – adrenergic stimulation in systemic canine arteries and veins. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 1991; 257: 290-293.

MILLER VM, and VANHOUTTE PM. Endothelium-dependent contractions to arachidonic acid are mediated by products of cyclo-oxygenase in canine veins. **Am. J. Physiol.** 1985; 284: H432-437.

MIOTTO AM. **Alterações cardiovasculares e metabólicas induzidas pela dieta hiperlipídica em ratos.** Campinas, 2006. Tese – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

MIOTTO AM. **Perfil lipídico e sensibilidade adrenérgica em átrio direito de ratos normo e hipercolesterolêmicos tratados ou não com infuso das cascas de *Croton cajucara* Benth.** Campinas, 2001. Dissertação - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

MYERS J, PRAKASH M, FROELICHER V, DO D, PARTINGTON S, ATWOOD JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. **N. Engl. J. Med.** 2002; 346: 793-801.

MOYNA NM, and THOMPSON PD. The effect of physical activity on endothelial function in man. **Acta Physiol. Scand.** 2004; 180: 113-123.

MOKLER CM, ABDEL-AZIZ MT, HERIC E. Effects of hypercholesterolemia on beta adrenoceptors in the rabbit heart. **Drug-Nutrient Interactions.** 1985; 3: 165-172.

MONCADA S, GRYGLEWSKI R, BUNTING S, VANE JR. Na enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to na unstable substance that inhibits platelet aggregation. **Nature.** 1976; 263: 663-665.

MOREIRA MF. **Sensibilidade adrenérgica de átrios direitos isolados de ratos normo ou hiperlipidêmicos sedentários ou submetidos a natação.** Campinas, 2005. Dissertação - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

MULLER VM, and VANHOUTTE PM. Enhanced release of endothelium-derived factor(s) by chronic increases in blood flow. **Am. J. Physiol.** 1988; 255: 446-451.

NADAUD S, PHILIPPE M, ARNAL JF, MICHEL JB, and SOUBRIER F. Sustained increase in aortic endothelial nitric oxide synthase expression in vivo in a model of chronic high blood flow. **Circ. Res.** 1996; 79: 857-863.

NIEMAN DC, *et al.* Reducing diet and/or exercise training decreases the lipid and lipoprotein risk factors of moderately obese women. **J. Am. Coll. Nut.** 2002; 21: 344-350.

NIGRO D, FORTES ZB, SCIVOTETTO R, and CARVALHO MHC. Simultaneous release of endothelium-derived relaxing and contracting factors induced by noradrenaline in normotensive rats. **Gen. Pharmac.** 1990; 21: 443-6.

NISHIZUKA Y. Turnover of inositol phospholipids and signal transduction. **Science.** 1984; 225: 1365-70.

NOVIN F, SANDERSON JD, GONZALEZ M. Feeding after nutrient infusion: effect of hypothalamic lesion and vagotomy. **Physiol. Behav.** 1979; 22: 107-113.

NUNES VW, FORTES ZB, NIGRO D, CARVALHO MHC, ZORN TMT, SCIVOLETTO R. Influence of enalapril on the endothelial function of DOCA-salt hypertensive rats. **General Pharmacology.** 2000; 34: 117-125.

OLIVEIRA MC, BORRAS MRL, SILVA EA, and ROLAND IA. Efeito da sacaca-Croton cajucara sobre os níveis plasmáticos de lipídeos em coelhos hipercolesterolêmicos. *In:* REUNIAO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), X., 1995, Caxambu. **Livro de Resumos.** 1995. p. 224.

OIDA K, EBATA K, KANEHARA H, SUZUKI J, MIYAMORI I. Effect of cilostazol on impaired vasodilatory response of the brachial artery to ischemia in smokers. **J. Atheroscler. Thromb.** 2003; 10: 93-98.

OVERTON JM, JOYNER MJ, and TIPTON CM. Reductions in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. **J. Appl. Physiol.** 1988; 64: 748-752.

PALADE GE. Fine structures of blood capillares. **J. Appl. Physics.** 1953; 24: 1424.

PALMER RMJ, FERRIGE AG, and MONCADA S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature.** 1987; 327: 524-526.

PALMER RMJ, ASHTON DS, and MONCADA. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature.** 1988; 333: 664-666.

PANZA JA, QUYYUMI AA, BRUSH JE, EPSTEIN SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **N. Engl. J. Med.** 1990; 323: 22-27.

PARK JB, CHARBONNEAU F, SCHIFFRIN EL. Correlation of endothelial function in large and small arteries in human essential hypertension. **J. Hypertens.** 2001; 19: 415-420.

PARKER JL, OLTMAN CL, MULLER JM, MYERS PR, RICHARD-ADAMS H, LAUGHILIN H. Effects of exercise training on regulation of tone in coronary arteries and arterioles. **Med. Sci. Sports. Exerc.** 1994; 26: 1252-1261.

PELS AE, WHITE TP, BLOCK WD. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins in rats. **J. Appl. Physiol.** 1985; 58: 612-618.

PERRIN D. Resistance to obesity in Lou/C rats prevents ageing-associated metabolic alterations. **Diabetologia.** 2003; 46:1489-1496.

PESCATELLO LS. Physical activity, cardiometabolic health and older adults: recent findings. **Sports Med.** 1999; 28: 315-323.

QVIGSTAD E. Acute lowering of circulating fatty acids improves insulin secretion in a subset of type 2 diabetes subjects. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 2003; 284: E129-E137.

RANDLE PJ. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. **Diabetes Metab. Rev.** 1998; 14: 263-283.

RAITAKARI M, ILVONEN T, AHOTUPA M, LEHTIMAKI T, HARMOINEN A, SUOMI P, ELO J, HARTIALA J, RAITAKRI OT. Weight reduction with adults: role of plasma glucose. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** 2004; 24: 124-128.

REES DD, PALMER RMJ, SCHULZ R, HODSON HF, and MONCADA S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. **Br. J. Pharmacol.** 1990; 101: 746-752.

REGO RA, BERARDO FA, RODRIGUES SS, OLIVEIRA ZM, OLIVERIRA MB, VASCONCELLOS C, AVENTURATO LV, MONCAU JE, and RAMOS LR. Risk factors for chronic non-communicable diseases: a domiciliary survey in the municipality of Sao Paulo, SP (Brazil). Methodology and preliminary results. **Rev Saude Publica.** 1990; 24: 277-285.

REIDELBERGER RD. Postgastric satiety in the sham-feeding rat. **Am. J. Physiol.** 1983; 244: R872-R881.

RIGLA M. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHROSCLEROSIS, 11th.* Paris. , 1997.

RIKSEN NP, ELENBROEK B, COOLS AR, SIERO H, RONGEN GA, SMITS BW, RUSSEL FG, SMITS P. Stress susceptibility as a determinant of endothelium-dependent vascular reactivity in rat mesenteric arteries. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** 2003; 41: 625-631.

RIZZONI D, PORTERI E, GUELFY D, MUIESAN ML, VALENTINI U, CIMINO A, GIRELLI A, RODELLA L, BIANCHI R, SLEIMAN I, ROSEI EA. Structural alterations in subcutaneous small arteries of normotensive and hypertensive patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Circulation.** 2001; 103: 1238-1244.

ROSAMOND W, FLEGAL K, FRIDAY G, FURIE K, GO A, GREENLUND K, HAASE N, HO MICHAEL, HOWARD V, KISSELA B, KITTNER S, LLOYD-JONES D, MCDERMOTT M, MEIGS J, MOY C, NICHOL G, O'DONNELL CJ, ROGER V, and RUMS J. Heart disease and stroke statistic – 2007 update. A report from the American heart association statistics committee and stroke statistics subcommittee. **Circulation.** 2006. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/cgi/reprint/CIRCULATIONAHA.106.179918V1>> Acesso em: 19 jan. 2007, 15:30.

RUBANYI GM, and VANHOUTTE PM. Hypoxia releases a vasoconstrictor substance from the canine vascular endothelium. **J. Physiol.** 1985; 364: 45-46.

SAKO Y, and GRILL VE. A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B Cell Oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation. **Endocrinology.** 1990; 127: 1580-9.

SANDYK R & AWERBUCH GI. The relationship between melatonin secretion and serum cholesterol in patients with multiple sclerosis. **Intern. J. Neuroscience.** 1994; 76: 81-86.

SCHIFFRIN EL, PARK JB, INTENGAN HD, TOUYZ RM. Correction of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by the angiotensin receptor antagonist losartan. **Circulation.** 2000; 101: 1653-1659.

SCHIFFRIN EL. A critical review of the role of endothelial factors in the pathogenesis of hypertension. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** 2001; 38: S3-S6.

SCHOFIELD I, MALIK R, IZZARD A, AUSTIN C, HEAGERTY A. Vascular structural and functional changes in type 2 diabetes mellitus: Evidence for the roles of abnormal myogenic responsiveness and dyslipidemia. **Circulation.** 2002; 106: 3037-3043.

SESSO HD, PAFFENBARGER RS, LEE IM. Physical activity and coronary heart disease in men: the Harvard Alumni Healthy Study. **Circulation.** 2000; 102: 975-80.

SHAUL PW, and ANDERSON RGW. Role of plasmalemmal caveolae in signal transduction. **Am. J. Physiol.** 1998; 275: L843-L851.

SHEP COOPERATIVE RESEARCH GROUP. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension. **JAMA.** 1991; 265: 3255-3264.

SHURTLEFF, D. The Framingham Study: An Epidemiologic Investigation of Cardiovascular Disease. **US Government Printing Office**, Washington, DC, 1970.

SLYPER, AH. Low-density lipoprotein density and atherosclerosis. Unraveling the connection. **JAMA.** 1994; 272: 305-308.

SMITH JN, AND DASGUPTA TP. Mechanisms of nitric oxide release from nitrovasodilators in aqueous solution: reaction of the nitroprusside ion ($[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$) with L-ascorbic acid. **J. Inorg. Biochem.** 2001; 87: 165-173.

SPIER SA, LAUGHLIN MH, DELP MD. Effects of acute and chronic exercise on vasoconstrictor responsiveness of rat abdominal aorta. **J. Appl. Physiol.** 1999; 87: 1752-1757.

SRIVASTAVA P, HEGDE LG, PATNAIK GK, DIKSHIT M. Role of endothelial-derived reactive oxygen species and nitric oxide in norepinephrine-induced rat aortic ring contractions. **Pharmacol. Res.** 1998; 38: 265-274.

STEWART RAH, KETTELSON J, KAY P. Statistical Methods to improve the precision of the treadmill exercise test. **J. Am. Coll. Cardiol.** 2000; 36: 1274-1279.

STROSBERG AD & PIETRI-ROUXEL F. Function and regulation of the β -adrenoceptor. **Trends in Pharmacological Sciences (TiPS)**. 1996; 17: 373-381.

STUBBE I, HANSSON P, GUSTAFSON A, and NILSSON-EHLE P. Plasma lipoproteins and lipolytic enzyme activities during endurance training in sedentary men: changes in high-density lipoprotein subfractions and composition. **Metabolism**. 1983; 12: 1120-8.

SUWAIDE JA, HAMASAKI S, HIGANO ST, NISHIMURA RA, HOLMES DR, LERMANA A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. **Circulation**. 2000; 101: 948-954.

TREASURE CB, KLEIN JL, WEINTRAUB WS. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. **N. Engl. J. Med.** 1995; 332: 481-7.

VANE JR, ANGGARD EE and BOTTING RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. **N. Engl. J. Med.** 1990; 323: 27-36.

VANHOUTTE PM, and MILLER VM. Alpha₂ – adrenoceptors and endothelium-derived relaxing factor. **Am. J. Med.** 1989; 87: 3C-1S.

VERMA S, and ANDERSON TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. **Circulation**. 2002; 105: 546-549.

VINET, R., BRIEVA, C., PINARD, G., PENNA, M. Modulation of alpha adrenergic-induced contraction by endothelium-derived relaxing factor in rat aorta. **Gen. Pharmacol.** 1991; 22: 137-142.

VIRDIS A, GHIADONI L, CARDINAL H, FAVILLA S, DURANTI P, BIRINDELLI R, MAGAGNA A, BERNINI G, SALVETTI G, TADDEI S, SALVETTI A. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction induced by fasting hyperhomocystinemia in normotensive subjects and patients with essential hypertensive. **J. Am. Coll. Cardiol.** 2001; 38: 1106-1115.

VITA JA, and KEANEY JF. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? **Circulation.** 2002; 106: 640-642.

VOGEL RA, CORRETTI MC, GELLMAN J. Cholesterol, cholesterol lowering, and endothelial function. **Prog. Cardiovasc. Dis.** 1998; 41: 117-36.

VOGEL RA. Cholesterol lowering and endothelial function. **Am. J. Med.** 1999; 107: 479-87.

WALFORD G, and LOSCALZO J. Nitric oxide en vascular biology. **J. Thromb. Haemost.** 2003; 1: 2112-2118.

WANG PG, XIAN M, TANG XP, XJ WU, WEN Z, CAI TW, JANCZUK AJ. Nitric oxide donors: chemical activities and biological applications. **Chem. Rev.** 2002; 102: 1091-1134.

WEIGMAN DL, HARRIS PD, JOSHUA IG, and MILLER FN. Decreased vascular sensitivity to norepinephrine following exercise training. **J. Appl. Physiol.** 1981; 51: 282-287.

WETZSTEIN CJ, SHERN-BREWER RA, SANTANAM N, GREEN NR, WHITE-WELKLEY JE, PARTHASARATHY S. Does acute exercise affect the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation? **Free Radic Biol Med.** 1998; 24: 679-82.

WOLAK M, STOCHEL G, ELDIK R. Mechanistic studies on the interaction of reduced cobalamin (vitamin B-12) with nitroprusside. **J. Am. Chem. Soc.** 2003; 125: 1334-1351.

WOLF-NUNES, V. **Efeito do tratamento com infuso de Croton cajucara Benth em ratos wistar jovens e adultos normo- ou hiperlipidêmicos.** Tese de doutorado. Biologia Funcional e Molecular, área de Fisiologia. Instituto de Biologia-UNICAMP, 2004.

WONG ND, WILSON PWF, KANNEL WB. Serum cholesterol as a prognostic factor after myocardial infarction: the Framingham Study. **Ann. Intern. Med.** 1991; 115: 687-693.

WOODMAN CR, MULLER JM, LAUGHLIN MH, and PRICE EM. Induction of nitric oxide synthase RNAm in coronary resistance arteries from exercise-trained pigs. **Am. J. Physiol.** 1997; 273: H2575-79.

WOODS SC. Gastrointestinal satiety signals I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.** 2004; 286: G7-13.

YAMADA E. The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. **J. Biophys Biochem. Cytol.** 1955; 1: 445-458.

YANAGISAWA M, KURIHARA H, KIMURA S, TOMOBE Y, KOGAYASHI M, MITSUI Y, YASAKI Y, GOTA K, and MASAKI T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature.** 1988; 322: 411-415.

ZANICHELLI PG, ESTRELA HFG, SPADARI-BRATFISCH RC, GRASSI-KASSISSE DM, FRANCO DW. The effects of ruthenium tetraammine compounds on vascular smooth muscle. **Nitric oxide.** 2007; 6: 189-196.

ZANICHELLI PG, MIOTTO AM, ESTRELA HFG, SOARES FR, GRASSI-KASSISSE DM, SPADARI-BRATFISCH RC, CASTELLANO EE, RONCAROLI F, PARISE AR, OLABE JA, de BRITO AR, FRANCO DW. The [Ru(Hedta)NO](0.1-) system: structure, chemical reactivity and biological assays. **J. Inorg. Biochem.** 2004; 98: 1921-1932.

ZAVARONI I. Ability of exercise to inhibit carbohydrate-induced hypertriglyceridemia in rats. **Metabolism**. 1981; 30: 476-80.

ZONTA F, BARBIERE A, REGUZZONI M, CALLIGARO A. Quantitative changes in pharmacodynamic parameters of noradrenalina in different rat aorta preparations: influence of endogenous EDRF. **J. Auton. Pharmacol.** 1998; 18: 129-38.

8. ANEXOS

2005

FeSBE  20 ANOS

Federação de Sociedades de Biologia Experimental
24 a 27 de agosto - Águas de Lindóia - SP - Brasil

Certificamos que:

o resumo 16.051

EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE AND HYPERLIPIDIC DIET IN THE RAT AORTA SENSITIVITY TO NORADRENALINE AND ACETILCHOLINE. Estrela, H. F. G.; Moreira, M. F.; Spadari Bratfisch, R. C.; ⁴ Grassi-Kassisse, D. M. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP foi apresentado sob a forma de painel na

64

**XX Reunião Anual da
Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FeSBE, realizada
na cidade de Águas de Lindóia - São Paulo, de 24 a 27 de agosto de 2005**

Comissão Organizadora

Gerhard Malin

- 16.046**
CHANGES IN SKIN TEMPERATURE REVEALED BY INFRARED THERMOGRAPHY DURING AND AFTER CONDITIONED FEAR TO CONTEXT IN THE RAT. Vianna, D. M. L.; Carrive, P. Anatomia University of New South Wales
- 16.047**
EXERCISE TRAINING PROTECTS THE RENAL CIRCULATION AGAINST HIGH GLUCOSE CHALLENGE. ¹de Moraes, R.; ¹Gioseffi, G.; ²Gomes, M. B.; ⁴Nóbrega, A. C. L.; ¹Tibiriçá, E.; ¹Fisiologia e Farmacodinâmica FIOCRUZ; ²Ciências Médicas UERJ; ³Fisiologia e Farmacologia UFF
- 16.048**
ESTUDO DOS EFEITOS AGUDOS DO EXTRATO BRUTO DE *OTTONIA ANISUM* SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS. ¹Souza, P.; ²Ponciano, F.; ²Conceição, F.; ³Santos, M. H.; ²Soncini, R.; ²Singí, G. ¹Fisiologia EFOA; ²Ciências Biológicas EFOA; ³Farmácia, EFOA
- 16.049**
VITAMIN K₁ (PHYLLOQUINONE) INDUCES VASCULAR ENDOTHELIAL DYSFUNCTION. ¹Tirapelli, C. R.; ¹de Andrade, C. R.*; ²Lieberman M.*; ²Laurindo, F. R. M.; ²Souza, H. P.; ³Oliveira, A. M.; ¹Farmacologia FMRP-USP; ²Investigação Médica USP; ³Física e Química FCFRP-USP
- 16.050**
METFORMIN PREVENTS ENDOTHELIAL DYSFUNCTION INDUCED BY HIGH GLUCOSE CHALLENGE IN RABBIT ISOLATED PERFUSED KIDNEYS. ¹Gomes, M. B.; ²Cailleaux, S.; ³Tibiriçá, E.; ¹Ciências Médicas UERJ; ²Farmácia e Farmacologia FIOCRUZ; ³Fisiologia e Farmacodinâmica FIOCRUZ
- 16.051**
EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE AND HYPERLIPIDIC DIET IN THE RAT AORTA SENSITIVITY TO NORADRENALINE AND ACETYLCHOLINE. Estrela, H. F. G.; Moreira, M. F.*; Spadari Bratfisch, R. C.; ⁴Grassi-Kassisse, D. M. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP
- 16.052**
INHIBITION OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME OR BLOCKADE OF ANGIOTENSIN AT₁ RECEPTORS PREVENTS THE HEPATIC ALTERATIONS CAUSED BY CHRONIC TREATMENT WITH NW-NITRO-L-ARGININE METHYL ESTER IN RATS. ¹Badin Tarsitano, C. A.; ²Paffaro Jr., V. A.*; ²Cruz-Höfling, M. A.; ¹Hyslop, S. ¹Farmacologia UNICAMP; ²Histologia e Embriologia UNICAMP
- 16.053**
ALTERAÇÃO DO PADRÃO CARDIOFISIOLÓGICO DE CAMUNDONGOS "KNOCKOUT" PARA O RECEPTOR B₁ PARA BRADICININA. ¹Lauton-Santos, S.; ¹Cruz, J. C.; ¹Meneses, M. G. M*; ¹Araújo, I. C.*; ²Pesquero, J. L.; ³Almeida, A. P. ¹Bioquímica e Imunologia, ICB-UFMG; ²Fisiologia e Biofísica UMC; ³Biofísica e Fisiologia UFMG
- 16.054**
MECANISMOS DE RELAXAMENTO VASCULAR INDUZIDOS PELO 17 β -ESTRADIOL NO LEITO CORONARIANO DE RATOS SHR. Santos, R. L.; Marin, E. B.*; Moyses, M. R. Ciências Fisiológicas, UFES
- 16.055**
EFFECT OF BAY 41-2272 IN THE PULMONARY HYPERTENSION INDUCED BY HEPARIN-PROTAMINE COMPLEX IN ANAESTHETIZED DOGS. ¹Freitas, C. F.; ²de Nucci, G.; ³Antunes, E.; ¹Medicina Veterinária PUC-MG / Farmacologia UNICAMP; ²Farmacologia Básica e Clínica ICB-USP; ³Farmacologia UNICAMP
- 16.056**
ACUMULAÇÃO CITOSÓLICA DE CA²⁺ EM MIÓCITOS VENTRICULARES ESTIMULADOS COM CAMPOS ELÉTRICOS DE ALTA INTENSIDADE (HEF). Oliveira, P. X.; Bassani, R. A.; Bassani, J. W. M. Engenharia Biomédica FECC-UNICAMP
- 16.057**
AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RELAXAMENTO MUSCULAR DE NOVOS DERIVADOS METILENODIOXIFENILSULFONAMÍDICOS FUNCIONALIZADOS ¹Frederico, P. M.*; ¹Silva, A. G.; ²Lima, L. M.; ²Fraga, C. A. M.; ²Barreiro, E. J.; ³Sudo, R. T.; ³Zapata-Sudo, G. ¹Farmacologia Básica e Clínica ICB-UFRJ; ²Farmácia UFRJ
- 16.058**
A DIETA À BASE DE PROTEÍNA DE SOJA MELHORA DISFUNÇÃO VENTRICULAR PÓS-INFARTO. Gonçalves, L.; Hagen, M. E. K.*; Belló-Klein, A.; Fernandes, T. R. G.; Schenkel, P.*; Paludo, A. C. C.*; Lehenbauer, A. R.*; Caron, R.* Fisiologia UFRGS
- 16.059**
PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE TONINA SÍMILE A PARTIR DE PLACENTA DE HUMANO. ¹Lima, M. P.*; ¹Camargos, L. A. A. V.; ²Pesquero, J. L. ¹ICB-UFMG; ²CIIB-UMC
- 16.060**
ATORVASTATIN REDUCES PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION INDUCED BY ACUTE PULMONARY EMBOLISM (APE) IN RATS. Semprini, M. C.; Souza-Costa, D. C.*; Tanus-Santos, J. E. Farmacologia FMRP-USP
- 16.061**
CONSTRUCTION OF EXPRESSION VECTORS FOR EOSINOPHIL GRANULE PROTEINS EXPRESSION AND THEIR APPLICATION IN THE STUDY OF PLATELET INHIBITORY EFFECT. Maziero, A. M.; Donato, J. L.; de Nucci, G. Farmacologia UNICAMP
- 16.062**
INFLUENCE OF RENIN ANGIOTENSIN SYSTEM (RAS) IN THE THYROID HORMONE-INDUCED CARDIAC HYPERTROPHY. STUDY USING PRIMARY CULTURES OF NEONATAL CARDIOMYOCYTES. ¹Diniz, G. P.; ²Carneiro-Ramos, M. S.; ¹Barreto-Chaves, M. L. M. ¹Anatomia USP; ²Biologia Celular USP
- 16.063**
EFFECT OF BAY 41-2272 IN THE PULMONARY HYPERTENSION INDUCED BY HYPOXIA IN ANAESTHETIZED BEAGLES. ¹Freitas, C. F.; ²de Nucci, G.; ³Antunes, E.; ¹Medicina Veterinária PUC-MG / Farmacologia UNICAMP; ²Farmacologia USP ³Farmacologia UNICAMP
- 16.064**
ANGIOTENSIN I METABOLISM: DIFFERENCES BETWEEN THE RAT MESPENTERIC BED AND CARDIAC PERFUSATES. ¹Sivieri Jr., D. O.; ¹Bispo-da-Silva, L. B.*; ²Oliveira, E. B.; ¹Salgado, M. C. O. ¹Farmacologia FMRP-USP ²Bioquímica e Imunologia FMRP-USP



Certificamos que:

o resumo 16.023 NORADRENALINE-INDUCED CONSTRICTION IN RAT AORTIC RINGS IS DECREASED AFTER SWIMMING EXERCISE. ¹Estrela, H. F. G.; ²Moreira, M.F^{**}; ³Spadari-Bratfisch, R. C.; ⁴Grassi-Kassisse, D. M. ^{1,2,4}Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP; ³Ciências da Saúde, UNIFESP foi apresentado sob a forma de painel na

**XXI Reunião Anual da
Federação de Sociedades de Biologia Experimental-FeSBE, realizada
na cidade de Águas de Lindóia - São Paulo, de 23 a 26 de agosto de 2006**

Gerhard Malusch

Comissão Organizadora

2006

16.021

METABOLISMO INTRAVASCULAR DE LÍPIDES NO DIABETES MELLITUS TIPO 2 : UM ESTUDO COM MODELOS ARTIFICIAIS DE LIPOPROTEÍNAS. ¹Silva, V. M.**; ²Pozzi, F. S.; ³Chacra, A. P.; ⁴Vinagre, J.; ⁵Maranhão, R. C.; ⁶Vinagre, C. G. C. M. ¹Lípides, HCFMUSP; ^{2,3,4,6}Lípides, InCor - HCFMUSP; ⁵Lípides, INCOR

16.022

NANOCÁPSULAS DE HALOFANTRINO: EFEITOS SOB O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS WISTAR INFECTADOS PELO *PLASMODIUM BERGHEI*. ¹Leite, E. A.; ²Mosqueira, V. C. F.; ³Guimarães, H.N.; ⁴Grabe-Guimarães, A. ^{1,2,4}Farmácia, UFOP; ³Engenharia Elétrica, UFMG

16.023

NORADRENALINE-INDUCED CONSTRICTION IN RAT AORTIC RINGS IS DECREASED AFTER SWIMMING EXERCISE. ¹Estrela, H. F. G.; ²Moreira, M.F.**; ³Spadari-Bratfisch, R. C.; ⁴Grassi-Kassisse, D. M. ^{1,2,4}Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP; ³Ciências da Saúde, UNIFESP

16.024

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES DE NUCLEOTÍDEO NA MODULAÇÃO DO SUPERÓXIDO VASCULAR APÓS ATIVAÇÃO DE TLR4. ¹Barbeiro, H. V.; ²Guido, M. C.**; ³Barbeiro, D. F. ¹Clínica Médica, Fundação Faculdade de Medicina; ²Emergências Clínicas - FMUSP, USP; ³Clínica Médica - FMUSP, USP; ⁴Clínica Médica - FMUSP, FMUSP

16.025

PERFIL ELETROFISIOLÓGICO DAS CORRENTES DE POTÁSSIO EM ANIMAIS NOCAUTE PARA O RECEPTOR B1 DE CININAS. ¹Araujo, I. C.; ²Lauton-Santos, S.**; ³Pesquero, J.L.; ⁴Bader M.; ⁵Cruz, J. S. ^{1,2}Bioquímica e Imunologia, UFMG - ICB; ³Bioquímica e Biologia Molecular, UMC; ⁴Molecular Biology, MDC; ⁵Bioquímica e Imunologia, UFMG

16.026

QUALIDADE DA HDL EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2 OBESOS E NÃO OBESOS. ¹Seydell, T. M.; ²Feitosa-Filho, G.S.**; ³Azevedo, C.H.M.**; ⁴Lo Prete, A.C.**; ⁵Goes PUK, C.**; ⁶Ramires, J. A. F.; ⁷Maranhão, R. C. ¹Lípides, InCor - HCFMUSP; ^{2, 3, 4, 5, 6}Cardiologia, InCor - HCFMUSP; ⁷Lípides, INCOR

16.027

QUANTIFICAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO PELA CONVERSÃO DE DAF-2T EM MICROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA. ¹Carvalho, H.; ²Sellergren, A. *; ³Murray, L. *; ⁴Pittman, R. ¹Medicina,

UNIGRANRIO; ^{1,2,3,4}Physiology, Virginia Commonwealth University

16.028 67

RELAÇÃO ENTRE O INTERVALO ESTIMULATÓRIO E A AMPLITUDE DE CONTRAÇÃO DE MIÓCITOS VENTRICULARES DE RATO. ¹Ricardo, R. A.; ²Bassani, R. A.; ³Bassani, J. W. M. ¹Engenharia Biomédica, UNICAMP; ²Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP; ³Engenharia Biomédica - FEEC, UNICAMP

16.029

SENSIBILIDADE BETA ADRENÉRGICA EM TECIDO CARDÍACO DE CAMUNDONGOS LDLR^{-/-}. ¹Caceres, V. M.; ²Moura, A. L.**; ³Graci, J. A. D.**; ⁴Spadari-Bratfisch, R. C.; ⁵Krieger, M. H. ¹Biofísica e Fisiologia, UNICAMP; ^{2, 5}Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP; ³Fisiologia e Biofísica, UNICAMP; ⁴Ciências da Saúde, UNIFESP

16.030

SOME ASPECTS ON THE ELECTRIC HEART ACTIVITY OF EARLY CHICK EMBRYOS. ¹Cortez, C. M.; ³Silva, D.; ⁴Costa, L. F. ^{1,3}Ciências Fisiológicas - Centro Biomédico, UERJ; ⁴Instituto de Física de São Carlos, USP

16.031

SUBSENSIBILIDADE ADRENÉRGICA APÓS STRESS POR IMOBILIZAÇÃO REPETIDA OCORRE EM MIOCÁRDIO ATRIAL, MAS NÃO VENTRICULAR. ¹Bassani, R. A.; ²Silveira, A.C.*; ³Boer, D.C.**; ⁴Vieira, E. S. O. ^{1,2}Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP; ³Engenharia Biomédica - FEEC, UNICAMP; ⁴CEB, UNICAMP

16.032

SUPERSENSIBILIDADE A NORADRENALINA (NA) EM MIÓCITOS VENTRICULARES DE RATOS SUBMETIDOS A CHOQUE NAS PATAS. ¹Penna, L.B.**; ²Bassani, R. A. ¹Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP; ²Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP

16.033

SUPERSENSIBILIDADE AO ISOPROTERENOL (ISO) EM MIÓCITOS VENTRICULARES DE RATO NA FASE AGUDA DE SOBRECARGA DE PRESSÃO. ¹Bassani, R. A.; ²Theizen, T.H.**; ³Carvalho, B.M.R.**; ⁴Franchini, K.G.; ⁵Bassani, J. W. M. ¹Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP; ^{2, 4}Clínica Médica - FCM, UNICAMP; ^{3, 5}Engenharia Biomédica - FEEC, UNICAMP

16.034

THE DISTINCTLY DIFFERENT EFFECT OF TURBULENT FLOW/LOW WALL SHEAR

STRESS AND STRETCH ON AORTA REMODELING IN RATS. ¹Prado, C. M. ¹Patologia, USP; ²Patologia - FMRP, USP

16.035

THE HEART AS A COMPLEX ADAPTIVE SYSTEM AND THE IMPLICATIONS FOR RESPIRATORY INTERVENTIONS: DOES OUR HEART LIKE DEEP BREATHING?. ¹Perakakis, P.; ²Taylor, M.; ³Muñoz, M.A.**; ⁴Vila, J. ^{1,3,4}Psicologia, Universidad de Granada; ²FÍSICA E MATEMÁTICA, Universidad Autónoma de Madrid, Espanha

16.036

THE RELAXATION EFFECT OF NON-DONORS IN RAT AORTIC RINGS WITHOUT ENDOTHELIUM. ¹Estrela, H. F. G.; ²Zanichelli, P.G.**; ³Spadari-Bratfisch, R. C.; ⁴Franco, D.W.; ⁵Grassi-Kassisse, D. M. ^{1,5}Fisiologia e Biofísica - IB, UNICAMP; ^{2, 4}Instituto de Química, USP; ³Ciências da Saúde, UNIFESP

16.037

TIPOS DE ADRENOCEPTORES CARDÍACOS ENVOLVIDOS NA MEDIAÇÃO DO EFEITO ARRITMOGÊNICO DE CATECOLAMINAS EM ÁTRIO E VENTRÍCULO DE RATO. ¹Boer, D.C.**; ²Bassani, J. W. M.; ³Bassani, R. A. ^{1,2}Engenharia Biomédica - FEEC, UNICAMP; ³Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP

16.038

TRATAMENTO CRÔNICO COM OLMEZARTAN TEM EFEITO BENÉFICO INDEPENDENTE DA REDUÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL NA AORTA DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS. ^{1,2,3}Anatomia, UERJ

16.039

USE OF ELECTRICAL STIMULUS STRENGTH IN RAT ATRIUM AS PARAMETER FOR IN VITRO QUANTIFICATION OF DRUG ANTI-ARRHYTHMIC EFFECT. ¹Duarte, J.; ²Caricati-Neto, A.; ³Godoy, C. M. G. ^{1, 3}Núcleo de Pesquisas Tecnológicas, UMC; ²Farmacologia, UNIFESP

23. Crescimento e Morte Celular

23.015

EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *ONCIDIUM FLEXUOSUM* SIMS. ASSOCIADO À APLICAÇÃO DE MICROCORRENTE NO REPARO DE FERIMENTOS CIRÚRGICOS EXPERIMENTAIS. ¹Gaspi, F. O. G. D.; ²Esquisatto, M. A. M.; ³Testa, M.; ⁴Passarini, J.R.*; ⁵Moraes, C. ¹Faculdade de Farmácia, UNIARARAS - Centro Univ. Hermínio Ometto; ²Morfologia, UNIARARAS - Centro Univ. Hermínio Ometto; ^{3, 6, 7}Fisiologia, UNIARARAS - Centro Univ.

Programme and Abstracts

White paper

**41st Meeting of the
Brazilian Physiological Society**

&

**Joint Meeting with
The Physiological Society**

**27-30 August 2006
Convention Centre
Ribeirão Preto, SP, Brazil**

02.146 TRAINING (T) DIFFERENTIALLY AFFECTS HYPOTHALAMIC DOPAMINE B-HYDROXYLASE (DBH) IMMUNOREACTIVITY IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS.

Silva, F. C. P.¹; Higa, K. T.¹; Michelini, L. C.¹; Stern, J. E.² - ¹ICB - USP - Fisiologia e Biofísica; ²University of Cincinnati - Psychiatry

We showed previously that T augmented intrinsic excitability of hypothalamic preautonomic neurons in normotensive and that T-induced improvement on oxytocinergic (OT) modulation of cardiovascular control was more effective in normotensive than hypertensive rats. In the present study we investigated whether hypertension and T are able to change afferent catecholaminergic input getting into the hypothalamus. Male WKY and SHR (2-month) were submitted to training (T=55% maximal exercise capacity, 1 h/day, 5 d/week) or kept sedentary (S) for 3 months. At the end of protocols, Fluorogold (FG, 200 nL) was injected into the NTS; 4 days later rats were deeply anesthetized for transcardiac perfusion (BS+4% paraformaldehyde). Brains were removed, post-fixed and cryoprotected. Free-floating sections (20µm) of hypothalamus were processed for DBH, FG and OT immunohistochemistry and analyzed by confocal microscopy using Volocity software. T was equally effective to improve running performance and to reduce basal heart rate in both groups. T increased DBH density in the PVN dorsal and medial parvocellular groups projecting to the dorsal brainstem) of WKY (18606±3390 to 30307±3350 AU), but not the trained SHR rats. High magnification analysis showed a significant T-induced increase on DBH overlapping oxytocinergic FG-PVN boutons only in the Y group (+29%). Data showed that hypertension blunts the efficacy of T to augment catecholaminergic afferent signaling to preautonomic neurons. **Supported by:** FAPESP, CNPq

02.147 TRAINING - INDUCED CARDIOVASCULAR ADJUSTMENTS IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS: ROLE OF BARORECEPTORS.

Michelini, A.¹; Bombeim, R. L.¹; Chaar, L. J.¹; Silva, B. B.¹; Voltarelli, V.¹; Michelini, L. C.¹ - ¹ICB - USP - Fisiologia e Biofísica

Swimming training (T) has been shown to increase arterial pressure (AP) in hypertensive and to reduce resting bradycardia in hypertensive and normotensive individuals. One question that remains unanswered is what drives these adjustments. We investigate now the role of baroreceptor afferents on T-induced cardiovascular adjustments. Sinoaortic

denervated (SAD) SHR and WKY were submitted to T (55% maximal exercise capacity, 1 h/day, 5 d/week) or kept sedentary (S) for 3 months. Rats were then instrumented with arterial/venous catheters for AP and heart rate (HR) measurements and drug injection during baroreceptors loading/unloading. At the beginning of experiments, treadmill performance (measured by maximal exercise tests) was higher in SHR than WKY (1.42±0.06 vs 0.9±0.05 km/h), but the improvement was blocked in SHR-SAD (0.89±0.07 km/h), without changes in WKY; SAD did not further interfere with performance gain exhibited by T-groups (+0.71±0.09 km/h). SAD (confirmed by the absence of reflex bradycardia and tachycardia) exhibited great AP lability when compared to sham rats. Both T and SAD did not change resting MAP in the WKY group; on the other hand SAD blocked both T-induced pressure-lowering effect in the SHR (SHR₁=183±3, SHR₂=165±5 mmHg, an increase of 11%, p<0.05) and resting bradycardia in both groups (HR was increased by 13% in SHR, vs SHR₂). Our data showed that afferent peripheral information conveyed by baroreceptors is crucial for the appearance T-induced cardiovascular adjustments in both groups. **Supported by:** FAPESP, CAPES e CNPq

02.148 CARDIOVASCULAR EFFECTS OF BICUCULLINE IN THE PVN OF CONSCIOUS RATS SUBMITTED TO SWIMMING TRAINING

De Abreu, S.¹; Vhieska, P.¹; Lenhard, A.¹; Martins-Pinge, M. C.¹ - ¹UEL - Ciências Fisiológicas

Introduction: during exercise training (ET) dynamic cardiovascular adjustments take place to maintain proper blood pressure and to efficiently adjust blood supply to different vascular beds according to regional metabolic demands. Although these changes are known to be mediated by adjustments in autonomic control of the heart, the central mechanisms underlying exercise-induced changes in cardiovascular control have yet to be characterized. The paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus is considered an important site for autonomic and neuroendocrine regulation, where gamma-aminobutyric acid (GABA) system plays an important role. The aim of this study was to analyze the cardiovascular effects of microinjection of bicuculline (BIC), a GABA_A antagonist, into the PVN of conscious rats submitted to swimming training (ST), characterizing the GABAergic tonus in PVN. **Methodology and Results:** after the protocol of 20 sessions of swimming training, adult male Wistar rats (250 to 300 g) were anesthetized for implantation of guide cannulas to PVN. After 5

days, a femoral artery and a femoral vein were catheterized for recording mean arterial pressure (MAP) and injection of drugs, respectively. The experiments were conducted one day after catheterization. Unilateral microinjection of BIC (n=8) in the control rats produced an increase in MAP (23±3 mmHg) and HR (93±12 bpm). After ST (n=9) the cardiovascular effects of BIC were attenuated for MAP and did not change for HR (DMAP=15±2 mmHg; DHR=88±19 bpm). The efficacy of exercise training was evaluated by the resting bradycardia (C=364±6, ST=328±5 bpm). **Conclusion:** these data suggest that in ST rats the PVN is also tonically inhibited by GABA and this effect seems to be attenuated when compared with control conditions. **Supported by:** FAEP/UEL

02.149 SWIMMING EXERCISE INCREASES DILATATION INDUCED BY ACETYLCHOLINE, BUT NOT BY SODIUM NITROPRUSSIDE IN RAT AORTIC RINGS.

Estrela, H. F. G.¹; Moreira, M. F.¹; Bratfisch, R. C. S.²; Grassi-Kassisse, D. M.¹ - ¹UNICAMP - Fisiologia e Biofísica; ²UNICAMP - UNIFESP

The aim of this work was to investigate the effects of swimming exercise on the dilatation induced by acetylcholine and sodium nitroprusside in rat aortic rings. **Methods:** Male six week old Wistar rats were submitted to swimming sessions (SS; 50 min, 5x/w during 4 w). Naïve rats were used as controls (CO). After 16h fasting, the rats were anesthetized (thiopental sodium, 60 mg/Kg, ip) and blood samples were collected through cardiac puncture. The rat aortic rings were prepared as described by Zanichelli, PG in J Inorg Biochem, 11, 1921, 2004. The rings were contracted with noradrenaline and concentration-response curves (CRC) to acetylcholine (ACh) and sodium nitroprusside (SNP), in the absence or presence of L-NAME were obtained. Data are expressed as the percentage of decrease in the wall tension and presented as means±SEM. Statistical analyses were performed by Student's t test (p<0.05). **Results:** In aortic rings of SS rats, there was an increase of the maximal response to ACh [86.7±3.7, n=9 (SS) vs 61.9±6.1, n=7 (CO), p<0.05], but there wasn't any relaxation in rings treated with L-NAME or without endothelium. The CRC to SNP in aortic rings weren't different among groups and weren't influenced by the endothelium. the pD₂ values in CO were, 7.8±0.1 (n=5) with and 7.9±0.1 (n=5) without endothelium, and both had 100% of maximal response. **Conclusion:** Swimming exercise increased vasorelaxant response to ACh in rat aortic rings by mechanisms involving endothelial NO. **Supported by:** CNPq



Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 846-1, sobre "REATIVIDADE VASCULAR DE ANÉIS DE AORTA COM E SEM ENDOTÉLIO ISOLADAS DE RATOS NORMO OU HIPERLIDÊMICOS, SEDENTÁRIOS OU SUBMETIDOS A TREINAMENTO FÍSICO" sob a responsabilidade de Profa. Dra. Dora Maria Grassi-Kassisse / Helder Frank Gianotto Estrela está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 08 de junho de 2005.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 846-1, entitled "VASCULAR REACTIVITY OF EXCISED AORTIC RINGS WITH OR WITHOUT ENDOTELIUM OF NORM OR HYPERLIPIDEMIC RATS, SEDENTARY OR SUBMITTED TO PHYSICAL EXERCISE", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on June 8, 2005.

Campinas, 08 de junho de 2005.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP