



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VINICIUS LUCCA VOLPINI

**EFEITOS DO ESTRESSE REPETIDO E DA ATIVIDADE
FÍSICA SOBRE A FUNÇÃO CARDIOVASCULAR E
AUTONÔMICA EM RATOS ACORDADOS**

Londrina
2016



Vinicius Lucca Volpini

**EFEITOS DO ESTRESSE REPETIDO E DA ATIVIDADE
FÍSICA SOBRE A FUNÇÃO CARDIOVASCULAR E
AUTONÔMICA EM RATOS ACORDADOS**

Londrina

2016

VINICIUS LUCCA VOLPINI

**EFEITOS DO ESTRESSE REPETIDO E DA ATIVIDADE
FÍSICA SOBRE A FUNÇÃO CARDIOVASCULAR E
AUTONÔMICA EM RATOS ACORDADOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia, associado à Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção de título de mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gislaine Garcia Pelosi
Gomes

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Volpini, Vinicius Lucca .

Efeitos do estresse repetido e da atividade física sobre a função cardiovascular e autonômica em ratos acordados / Vinicius Lucca Volpini. - Londrina, 2016.
45 f. : il.

Orientador: Gislaine Garcia Pelosi Gomes.
Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas - Multicêntrico) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Multicêntrico, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Sistema cardiovascular - Teses. 2. Estresse - Teses. 3. Treinamento físico - Teses. I. Gomes, Gislaine Garcia Pelosi. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Multicêntrico. III. Título.

VINICIUS LUCCA VOLPINI

**EFEITOS DO ESTRESSE REPETIDO E DA ATIVIDADE FÍSICA
SOBRE A FUNÇÃO CARDIOVASCULAR E AUTÔNOMICA EM
RATOS ACORDADOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia, associada à Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção de título de mestre em Ciências Fisiológicas.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Gislaine Garcia Pelosi
Gomes
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Marli Cardoso Martins Pingé
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Londrina, 25 de fevereiro de 2016.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Gostaria de agradecer às pessoas que fizeram parte da realização deste trabalho. Agradeço à prof^a Dr^a Gislaine pelo apoio e orientação ao longo desses anos, além dos ensinamentos e conhecimentos passados. Agradeço aos colaboradores deste estudo os quais sem a ajuda não geraria este trabalho. Agradeço a todos os colegas, técnicos e professores do departamento que, de forma direta ou indireta, contribuíram com a minha formação e com o presente trabalho.

VOLPINI, Vinicius Lucca. **Efeitos do estresse repetido e da atividade física sobre a função cardiovascular e autonômica em ratos acordados.** 2016. 45f. Dissertação de Mestrado (Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

O estresse é descrito como um fator de risco para doenças cardiovasculares, intensificando respostas simpáticas, principalmente direcionadas ao sistema cardiovascular, contribuindo para o aumento da contratilidade e frequência cardíaca. A prática de exercício físico regular gera benefícios para o sistema cardiovascular e modifica a resposta cardiovascular de ratos treinados, gerando uma bradicardia de repouso. Assim, nosso objetivo foi avaliar o efeito do estresse repetido sobre a função autonômica e a atividade do barorreflexo de ratos, assim como a associação prévia do treinamento físico. Para isso, foi realizada a análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e da pressão sistólica (VPS) para avaliação da atividade do sistema nervoso autônomo no coração, e as oscilações rápidas da pressão arterial entre os batimentos, respectivamente; e a infusão de drogas vasoativas para ativação do barorreflexo. Os animais foram divididos em três grupos: ratos submetidos ao estresse de restrição repetido por 1 hora durante 5 dias (GE); ratos treinados no protocolo de natação de 20 sessões (5 sessões por semana, 1 hora por dia; grupo GT), classificado como treinamento de intensidade moderada; e, animais submetidos aos dois protocolos, ou seja, foram treinados e no 4º dia antes do final do treinamento físico iniciaram o estresse repetido (GTE). Foi realizado o cateterismo da artéria e veia femoral para posterior registro da pressão arterial e administração endovenosa de drogas. No presente estudo, a análise espectral da VFC e da VPS não demonstrou diferença estatística no domínio do tempo (DT) e da frequência (DF) ($p > 0,05$) entre os grupos analisados. Entretanto, o estresse influenciou a atividade do barorreflexo através de um aumento na resposta bradicárdica imediatamente após o término do estresse e uma diminuição da resposta taquicárdica 30 minutos ao término do estresse de restrição (Pós30). Já o treinamento físico gerou aumento da bradicardia reflexa. Além disso, a associação do treinamento físico ao estresse desencadeou uma resposta parassimpática menor imediatamente após estresse e maior atividade simpática no momento Pós30. Diante disso, nossos dados indicam que o estresse de restrição repetido modifica a atividade do barorreflexo e que o treinamento físico prévio tem papel relevante nessa modulação.

Palavras-chave: Estresse repetido. Barorreflexo. Treinamento físico. Variabilidade da pressão sistólica. Variabilidade da frequência cardíaca. Restrição. Rato.

VOLPINI, Vinicius Lucca. **Repeated stress and physical exercise effects over cardiovascular and autonomic function in awake rats.** 2016. 45p. Masters dissertation (Multicentric Post Graduation Program on Physiological Sciences) – Londrina State University, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Stress is described as risk factor for cardiovascular diseases, intensifying sympathetic responses, mainly to cardiovascular system, contributing to increase on contractility and heart rate. Regular physical exercise practice causes benefits on the cardiovascular system characterized by a resting bradycardia in trained rats. Thus, our aim was to evaluate the effect of repeated restraint stress on autonomic function and baroreflex activity in rats, as soon as that prior association with physical training. Thus, we used the heart rate variability (HRV) and systolic pressure variability (SPV) to evaluate the cardiac autonomic nervous system and rapid oscillations of arterial pressure between heart beats, respectively; and vasoactive drug infusion for baroreflex activation. Animals were divided in three groups: rats submitted to repeated restraint stress for 1 hour during 5 days (EG); rats trained on 20 session swimming protocol (5 sessions per week, 1hour/day; TG), classified as moderate intensity training; and, animals submitted on both protocols, that is, were trained and on 4th day before the physical training end they started repeated restraint stress (TEG). The rats were submitted to artery and femoral vein catheterism for further arterial pressure recording and intravenous drug administration. On the present study, HRV and SPV spectral analysis did not show statistic difference on time domain (TD) and frequency (FD) ($p>0,05$) between the analyzed groups. However, stress influenced on baroreflex activity by increase on bradycardic response immediately after stress end (Post1) and a decrease on tachycardic response 30 minutes later the stress end (Post30). On the other hand, physical training generated increased baroreflex bradycardic activity. Besides, physical training and stress association caused a decreased parasympathetic response immediately after stress end and an increased sympathetic activity Post30. Before that, our data indicates that repeated restraint stress modifies the baroreflex activity and that physical training has relevant role on this modulation.

Keywords: Repeated Stress. Baroreflex. Physical training. Systolic Pressure variability. Heart rate variability. Restraint. Rat.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 –** Ganho de peso (g) dos animais durante o protocolo de natação de 20 sessões. GT: grupo apenas submetido ao treinamento físico por natação; GTE: grupo submetido ao treinamento físico por natação e ao estresse de restrição repetido. Valores são médias \pm EPM. ANOVA para medidas repetidas, $p > 0,05$ 23
- Figura 2 –** Pressão arterial média basal (PAMb; painel A) e frequência cardíaca basal (FCb; painel B) dos grupos controle (GC), estressado (GE), treinado (GT) e treinado estressado (GTE). Valores são médias \pm EPM. ANOVA (1 via), $*p < 0,05$ vs GC.24
- Figura 3 –** Análise temporal dos valores de variação de pressão arterial (Δ PAM, painel A) e variação de frequência cardíaca (Δ FC, painel B) durante a última sessão do estresse de restrição repetido nos animais do grupo estressado GE; n=10) e treinado estressado (GTE; n=10). Círculos representam a variação média. $* p < 0,05$ ANOVA de duas vias24
- Figura 4 –** A) Curva sigmóide barorreflexa correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos controle (GC), grupo estressado no momento logo após o término do estresse (GE Pós1) e estressado 30 min após o término do estresse (GE Pós 30). B) Regressão linear das curvas do barorreflexo correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos GC e GE (Pós1 e Pós 30) Aumento ou diminuição na PAM foram induzidas através da administração i.v de fenilefrina (Phe) e nitroprussiato de sódio (NPS), respectivamente. Os valores de r^2 para a regressão linear em resposta à Phe foram 0.7 (GC), 0.8 (GE Pós1), 0.8 (GE Pós30), em resposta ao NPS foram 0.6 (GC), 0.7 (GE Pós1) e 0.7 (GE Pós30)28
- Figura 5 –** A) Curva sigmóide barorreflexa correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos controle (GC) e treinado (GT). B)

Regressão linear das curvas do barorreflexo correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos GC e GT. Aumento ou diminuição na PAM foram induzidas através da administração i.v de fenilefrina (Phe) e nitroprussiato (NPS), respectivamente. Os valores de r^2 para a regressão linear em resposta à Phe foram 0.7 (GC), 0.6 (GT), em resposta ao NPS foram 0.6 (GC), 0.6 (GT).....30

Figura 6 – A) Curva sigmóide barorreflexa correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos estressado (GE) e treinado e estressado (GTE) logo após o término do estresse (GE Pós1 e GTE Pós1, respectivamente) e 30 minutos após o fim do estresse (GE Pós30 e GTE Pós30, respectivamente). Aumento ou diminuição na PAM foram induzidas através da administração i.v de fenilefrina (Phe) e nitroprussiato (NPS), respectivamente. B) Regressão linear das curvas do barorreflexo correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos GE Pós Estresse, GE Pós30, GTE PósEstresse, GTE Pós30. Os valores de r^2 para a regressão linear em resposta à Phe foram 0.8 (GE PósEstresse), 0.8 (GE Pós30), 0.6 (GTE Pós Estresse), 0.7 (GTE Pós30), em resposta ao NPS foram 0.7 (GE Pós Estresse), 0.7 (GE Pós30), 0.7 (GTE Pós Estresse) e 0.4 (GTE Pós30)32

Figura 7 – . Resumo dos resultados obtidos a partir da análise da atividade do barorreflexo para o efeito do treinamento físico (Grupo Treinamento – GT), estresse repetido (Grupo Estresse – GE), e efeito do treinamento sobre o estresse repetido (Grupo Treinamento + Estresse – GTE).....34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 –** Valores obtidos através da análise espectral da VFC e VPS no Ciclo Cardíaco (CC) e PressãoSistólica (PS) no âmbito do Domínio do Tempo (DT) e Domínio da Frequência (DF) para os grupos controle (GC), treinado (GT), grupo estressado (GE durante o estresse e 30min pós término)e treinado e estressado (GTE durante o estresse e 30min pós término). Valores são médias \pm EPM. ANOVA (2 vias), $p>0,05$. POS30: 30 min após o término da última sessão do estresse de restrição repetido (5ºdia); INT: interação entre momentoe treinamento; M: análise entre momentos Estresse e Pós 30; T: análise sobre o efeito do treinamento).26
- Tabela 2 –** Parâmetros derivados da curva sigmóide dos grupos controle (GC), grupo estressadono momento imediatamente após o fim do estresse (GE Pós1) e estressado 30min após o fimdo estresse (GE Pós30). Valores são médias \pm EPM ($p<0,05$). Teste ANOVA de 1 via, $p<0,05$. *comparação com Controle; †comparação ao GE Pós30; #comparação ao GE Pós1.29
- Tabela 3 –** Slope derivado da regressão linear em resposta às infusões das drogas vasoativasfenilefrina (Phe) e nitroprussiato sódico (NPS) nos grupos controle (GC), grupo estressado nomomento logo após o fim do estresse (GE Pós1) e estressado 30min após o fim do estresse (GE Pós30). Valores são médias \pm EPM, ANOVA de 1 via, $p<0,05$ *comparação com Controle; † comparação ao GE Pós30; # comparação ao GE Pós1.29
- Tabela 4 –** Parâmetros derivados da curva sigmoide dos grupos controle (GC) e grupo treinado (GT). Valores são médias \pm EPM ($p<0,05$). Teste t de Student, * $p<0,05$31
- Tabela 5 –** Slope derivado da regressão linear em resposta às infusões das drogas vasoativasfenilefrina (Phe) e nitroprussiato sódico (NPS) nos grupos controle (GC) e treinado (GT). Valores são médias \pm EPM, teste t de Student, * $p<0,05$31

Tabela 6 – Parâmetros derivados da curva sigmóide dos grupos estressado (GE) e treinado eestressado (GTE) logo após o término do estresse (GE Pós1 e GTE Pós1, respectivamente) e 30 minutos após o fim do estresse (GE Pós30 e GTE Pós30, respectivamente). Valores são médias± EPM. Teste ANOVA de 1 via; p<0,05 *comparação com GE Pós1; °comparação ao GE Pós30; † comparação ao GTE Pós30; # comparação ao GTE Pós1.....33

Tabela 7 – Slopes derivados da regressão linear em resposta às infusões das drogas vasoativasfenilefrina (Phe) e nitroprussiato sódico (NPS) nos grupos estressado (GE) e treinado eestressado (GTE) logo após o término do estresse (GE Pós1 e GTE Pós1, respectivamente) e30 minutos após o fim do estresse (GE Pós30 e GTE Pós30, respectivamente). Valores são médias ± EPM, ANOVA de 1 via, p<0,05 *comparação com GE Pós Estresse; °comparação aoGE Pos30; † comparação ao GTE Pós30; # comparação ao GTE Pós Estresse...33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VPS	Variabilidade da pressão sistólica
GE	Grupo estressado
GC	Grupo controle
GT	Grupo treinado
GTE	Grupo treinado estressado
DT	Domínio do tempo
DF	Domínio da frequência
Pós1	Momento logo após o fim do estresse de restrição
Pós30	Momento 30 minutos após o fim do estresse de restrição
RVLM	Região Rostroventrolateral do bulbo
SNA	Sistema nervoso autônomo
I.P	Intra-peritoneal
SC	Subcutânea
Phe	Fenilefrina
NPS	Nitroprussiato sódico
PAM	Pressão arterial média
FC	Frequência cardíaca
IP	Intervalo de pulso
PAS	Pressão arterial sistólica
LF	Banda de baixa frequência
HF	Banda de alta frequência
Δ PAM	Varição da pressão arterial média
Δ FC	Varição da frequência cardíaca
P1	Menor platô da frequência cardíaca
P2	Maior platô da frequência cardíaca
BP50	Pressão arterial média equivalente a 50% da variação da frequência cardíaca
G	Ganho do barorreflexo
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	17
2.1	GERAL	17
2.2	ESPECÍFICOS	17
3.	METODOLOGIA	18
3.1	ANIMAIS	18
3.2	ESTRESSE DE RESTRIÇÃO REPETIDO	18
3.3	NATAÇÃO	19
3.4	REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA	19
3.5	AValiação DA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO	20
3.6	MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO BARORREFLEXO	20
3.7	ANÁLISE ESPECTRAL DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA	21
3.8	DROGAS	22
3.9	ANÁLISE DOS DADOS	22
4.	RESULTADOS	22
4.1	PESO CORPORAL DOS ANIMAIS UTILIZADOS NOS PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	22
4.2	PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA BASAIS DOS ANIMAIS	23
4.3	ANÁLISE TEMPORAL DA VARIAÇÃO DE PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA DOS ANIMAIS DURANTE O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO	24
4.4	ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO SISTÓLICA	25
4.5	AValiação DA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO APÓS O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO REPETIDO	27
4.6	EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO POR NATAÇÃO SOBRE A ATIVIDADE DO BARORREFLEXO	30
4.7	AValiação DO EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO POR NATAÇÃO NA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO APÓS O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO REPETIDO	31
5.	DISCUSSÃO	34
6.	CONCLUSÃO	41
7.	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

O estresse gera respostas fisiológicas, que podem abranger vários sistemas, frente a uma ameaça real ou potencial, a fim de manter a homeostase (RADLEY et al., 2015). O estresse gera ativação de múltiplos processos, incluindo reações comportamentais, endócrinas, imunes e cardiovasculares, gerando uma resposta integrada entre eles (HERMAN et al., 2013).

O estresse aumenta a liberação de glicocorticóides, que por sua vez geram estimulação hepática da gliconeogênese, inibição da recaptura de glicose em tecidos periféricos, supressão da inflamação e aumento da excreção hídrica (MUNCK et al., 1984). O estresse também está associado com aumento da atividade simpática cardíaca, através da interação entre o sistema nervoso central e coração, levando a liberação de catecolaminas nos terminais nervosos simpáticos no tecido cardíaco. Desse modo, se persistente, essa resposta adaptativa torna-se maléfica para o sistema cardiovascular (ADAMEOVA et al., 2009). O estresse ativa áreas suprabulbares que emitem projeções ao centro vasomotor bulbar, influenciando áreas como o núcleo do trato solitário (NTS), região caudoventro lateral (CVLM) e rostroventro medial (RVMM). Sendo assim, a exposição ao estresse psicológico gera adaptações no sistema cardiovascular, sendo evidenciada taquicardia e aumento da pressão arterial (DAMPNEY et al., 2014).

Inicialmente a resposta ao estresse objetiva a busca de uma adaptação do organismo àquele estímulo naquele momento, porém a ativação prolongada (como no estresse repetido) aumenta a secreção de glicocorticóides e intensifica a estimulação simpática, afetando diretamente o sistema cardiovascular e, conseqüentemente, aumentando o risco do surgimento de doenças cardiovasculares (HERMAN et al., 2013; WITTSTEIN et al., 2012). Além disso, o estresse repetido causa neuroplasticidade com diminuição do comprimento dendrítico apical e a densidade dendrítica apical no córtex pré-frontal, podendo ser fator de surgimento de doenças neurodegenerativas (RADLEY et al., 2011).

Animais com comportamento mais agressivo estão mais suscetíveis a desencadear determinadas doenças, especialmente cardiovasculares (CARNEVALI et al., 2013); sendo assim, quando frequentemente expostos a uma situação estressante o risco de desenvolvimento de uma doença cardiovascular é alto. Os efeitos cumulativos do estresse repetido estão relacionados com uma série de

doenças, tais como: hipertensão, aterosclerose, síndrome metabólica, diabetes e doenças neurodegenerativas (RADLEY et al.,2015).

O organismo possui diferentes níveis de regulação da pressão arterial, sendo eles classificados como a longo (hormonal) ou a curto prazo (neural). Dentro dos mecanismos neurais podemos citar o controle da pressão arterial através de núcleos bulbares e suprabulbares. Quando há aumento ou queda na pressão arterial, o mecanismo barorreflexo promove ajustes rápidos na pressão arterial, a fim de manter a pressão em nível basal, por meio da comunicação entre barorreceptores e o centro vasomotor (DAMPNEY et al.,2002; DAMPNEY, 1994).

A região rostroventrolateral do bulbo (RVLM) modula a saída simpática direcionada para o sistema cardiovascular e, além das projeções dos núcleos do centro vasomotor (núcleo do trato solitário, região caudoventrolateral bulbar), ele sofre influência de regiões hipotalâmicas e límbicas (como a substância cinzenta periaquedutal, núcleo paraventricular do hipotálamo, hipotálamo dorsomedial e amígdala). As áreas suprabulbares podem modular neurônios do NTS, RVLM, CVLM e de outras regiões bulbares durante diferentes situações influenciando com a resposta do sistema cardiovascular. Durante uma situação de estresse ou exercício físico, por exemplo, os barorreceptores são momentaneamente dessensibilizados e ajustados a níveis mais elevados de pressão arterial (DAMPNEY et al., 1994; DAMPNEY et al., 2002).

Nesse contexto, estudos mostram uma ativação da substância cinzenta periaquedutal (PAG) e do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) durante o estresse psicológico interferindo na resposta cardiovascular (FURLONG et al.,2014). Além disso, neurônios pré-motores simpáticos contidos no RVLM não sofrem influência do estresse psicológico, indicando que o aumento da resposta simpática cardíaca em resposta a esse estímulo aversivo não tem origem no RVLM (FURLONG et al., 2014).

Mudanças contínuas na intensidade dos impulsos no sistema simpático e parassimpático causam alterações na frequência cardíaca e oscilações nos intervalos R-R, gerando a variabilidade da frequência cardíaca (VFC). A VFC se tornou uma boa ferramenta para análise da modulação autonômica no coração, podendo ser analisada a nível basal ou durante um evento específico, como, por exemplo, o estresse (VANDERLEI-PASTRE, 2009). A VFC tem sido utilizada para avaliar o prognóstico de doenças, sendo um indicador sensível e antecipado de

comprometimentos na saúde cardiovascular e mortalidade, como, por exemplo, nos casos de pacientes que sofreram infarto agudo do miocárdio, onde a VFC se encontra alterada (KLEIGER et al., 1987). Uma VFC diminuída é constantemente observada em pacientes que sofreram infarto do miocárdio (MALIK et al., 2013), através da diminuição no tônus parassimpático cardíaco, predispondo a fibrilação ventricular nesses casos (LOWN & VERRIER, 1976).

Há evidências que cardiomiopatias induzidas pelo estresse apresentam anormalidades no eletrocardiograma, além de mostrarem disfunção contrátil cardíaca, sugerindo que essa desordem é mediada pelo aumento da atividade simpática causada pelo estímulo estressor (SCHUBERT et al., 2009; WITTSTEIN ET AL., 2012). Indivíduos cronicamente estressados mostraram uma redução na frequência cardíaca devido a um desbalanço autonômico cardíaco, mostrando que o estresse repetido interfere no tônus simpato-vagal do coração (FURLAN et al., 2000).

O treinamento físico promove uma nova situação que requer adaptação do organismo, sendo assim, os efeitos agudos gerados por essa prática incluem o aumento da atividade simpática e, conseqüentemente, da frequência cardíaca e débito cardíaco. Além disso, o treinamento físico gera redução nas concentrações de triglicerídeos, aumento do volume plasmático (o qual diminui o risco para surgimento de aterosclerose), além de diminuir a resistência à insulina, maior disponibilidade de oxigênio aos tecidos envolvidos no exercício, liberação de hormônios que aumentam a glicemia (THOMPSON et al., 2001; AFONSO et al., 2003) e gerar hipertrofia cardíaca excêntrica, estando associada à melhor performance cardíaca durante o treinamento físico (RAQUEL et al., 2013).

Durante a fase preparatória para a prática de exercício físico ou uma situação de estresse o mecanismo barorreflexo sofre um ajuste em resposta a uma adaptação aos níveis mais altos de pressão que o indivíduo está exposto momentaneamente (NOSAKA et al., 1996; RAVEN et al., 2005). Além disso, o treinamento físico atenua a atividade do SRAA (sistema renina-angiotensina aldosterona), tornando-o um potente fator de combate a hipertensão (MARTINS-PINGE et al., 2011). Desse modo, o treinamento físico pode influenciar nas respostas pressoras causadas pelo estresse de restrição repetido.

São conhecidos diversos benefícios trazidos pela prática regular de exercício físico, incluindo bradicardia de repouso e aumento do controle cardíaco pelo sistema

nervoso autônomo (SNA), podendo contribuir com o aumento da VFC (NEGRÃO et al., 1993; MARTINS-PINGE et al., 2011). O exercício físico é uma situação onde se torna essencial o envolvimento do SNA, a fim de modular a atividade cardíaca, pois durante o exercício físico uma maior atividade simpática é necessária, gerando taquicardia e pouco variando a pressão arterial média (MARTINS-PINGE, 2011). O treinamento físico, em ratos, alterou a modulação autonômica na VFC e na variabilidade da pressão sistólica (VPS), causando diminuição da atividade simpática e aumento da atividade parassimpática, desse modo, sendo esse um dos fatores que mostram que o treinamento físico diminui os riscos de morte súbita cardíaca. Além disso, o treinamento físico promove uma melhor capacidade de resposta do SNA através do aumento da variância (DE ABREU et al., 2009; MASTELARI et al., 2010).

Como descrito anteriormente, o estresse causa aumento da atividade simpática cardíaca, liberando catecolaminas no tecido cardíaco, aumentando a frequência cardíaca e pressão arterial média, sendo um fator de risco ao surgimento de doenças cardiovasculares como fibrilação ventricular e infarto agudo do miocárdio (ADAMEOVA et al., 2009; LOWN & VERRIER, 1976). A prática regular de exercício físico, por sua vez, gera (entre outros benefícios) diminuição do tônus simpático e predominância parassimpática no coração, podendo assim ser uma ferramenta para reverter os efeitos causados pelo estresse, além de ser amplamente conhecido por reduzir os riscos de aparecimento de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose e o infarto agudo do miocárdio (DE ABREU et al., 2009; THOMPSON et al., 2001).

Estudo prévio do nosso grupo mostrou que o treinamento físico prévio ao estresse repetido aumenta a metilação global de DNA em áreas encefálicas, como hipotálamo, hipocampo e córtex mostrando a capacidade do treinamento físico em modular os efeitos causados pelo estresse repetido (KASHIMOTO et al., 2016). Sendo assim, a hipótese do presente estudo foi avaliar se o estresse de restrição repetido altera a modulação autonômica cardíaca e a atividade do barorreflexo e, ainda, se a associação com o treinamento físico pode modular esses parâmetros causados pelo estresse.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar os efeitos cardiovasculares e a regulação autonômica promovida pelo estresse de restrição repetido em ratos acordados, assim com a interferência do treinamento físico por natação.

2.2 ESPECÍFICOS

I) Avaliar os efeitos do estresse de restrição repetido e do treinamento físico por natação sobre os parâmetros cardiovasculares basais de ratos acordados

II) Avaliar o efeito do estresse de restrição repetido e do treinamento físico e sobre a regulação autonômica cardíaca de ratos acordados através da análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e variabilidade da pressão sistólica (VPS).

III) Avaliar o efeito do estresse de restrição repetido sobre a resposta barorreflexa de ratos acordados

IV) Avaliar o efeito do treinamento físico por natação sobre a resposta barorreflexa de ratos acordados

V) Avaliar a influência do treinamento físico por natação sobre o estresse de restrição repetido na resposta barorreflexa de ratos acordados.

3 MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Para este trabalho foram utilizados ratos Wistar (50-90 dias; n total = 37), provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas, mantidos sob temperatura controlada de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h claro/12h escuro, com água e ração à vontade. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Londrina (CEUA No 14441.2013.18/ UEL).

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

1. Grupo Controle (GC);
2. Grupo Estresse de restrição repetido (GE): animais submetidos ao protocolo de estresse de restrição repetido por 5 dias consecutivos
3. Grupo Treinamento físico por natação (GT): animais submetidos ao protocolo de natação (20 sessões)
4. Grupo Treinamento físico por natação e Estresse de restrição repetido (GTE): animais submetidos ao protocolo de natação (20 sessões) e que, 5 dias antes do dia do experimento, foi adicionado o protocolo de estresse de restrição repetido

3.2 ESTRESSE DE RESTRIÇÃO REPETIDO

O protocolo de estresse de restrição repetido consistiu na introdução dos animais em um tubo cilíndrico de plástico (18cm de comprimento; 7cm de diâmetro) durante 1 hora por dia, durante 5 dias consecutivos (Kashimoto e cols, 2016). Na última sessão de estresse, foi realizado o registro da pressão arterial e frequência cardíaca, assim, as cânulas foram exteriorizadas na parte superior do tubo, de modo que continuassem conectadas ao transdutor de sinal e, conseqüentemente, o registro não fosse interrompido.

3.3 NATAÇÃO

O protocolo de treinamento físico por natação foi realizado de acordo com Martins-Pinge e colaboradores (2005). Desse modo, foi utilizado um tanque de vidro (100X60X50 cm) contendo água até a profundidade de 40 cm aquecida à 31 ± 1 °C . Não houve carga acoplada na cauda do animal durante o treinamento. O treinamento ocorreu durante o mesmo horário, iniciando sempre entre as 9 e 10 horas da manhã. Os animais destinados ao treinamento físico de natação foram pesados antes do início de cada sessão. O treinamento físico consistiu em 20 sessões (4 semanas) de uma hora de natação por dia, durante 5 dias por semana. Na primeira semana houve um aumento gradual na duração da natação, iniciando com 15 minutos de natação com acréscimos de 15 minutos no dia seguinte, até o tempo máximo ser atingido no 4º dia de treinamento (1 hora). Os animais foram colocados em uma caixa aquecida após a natação para secagem e, após secos, retornaram ao biotério.

3.4 REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA

No dia anterior ao registro de pressão arterial e frequência cardíaca, os animais foram anestesiados com tribromoetanol (250 mg/Kg, i.p., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e um cateter de polietileno (Clay Adams, Parsippany, NJ, EUA) foi implantado na artéria femoral (a fim de se atingir a aorta abdominal) e veia femoral (para posterior injeção de drogas vasoativas). Os cateteres foram exteriorizados no dorso. Após cirurgia, os animais foram tratados com anti-inflamatório não esteróide (flunixin meglumina 2,5 mg kg⁻¹, SC) (Banamine®, Schering Plough, Brasil) para analgesia pós-operatória.

No dia do registro os animais passaram por 20 minutos de ambientação a luminosidade e ruídos na sala de experimento. Em seguida, a cânula implantada na artéria femoral foi conectada a um transdutor de pressão arterial (UTAH) conectado ao amplificador de sinal (AECAD04F/ AVS Projetos, Brasil) e esse a um sistema de registro computadorizado (AQCAD/ AVS Projetos, Brasil). A pressão arterial basal dos animais foi registrada por 20 minutos. A frequência cardíaca foi obtida a partir dos valores da pressão arterial pulsátil. O registro da pressão arterial dos animais

submetidos ao treinamento por natação foi 24 h após o término da última sessão de natação.

3.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO

O barorreflexo foi testado por infusão intravenosa do agonista seletivo para adrenoceptor α_1 , fenilefrina (50 $\mu\text{g/ml/kg}$; 0.34ml/min; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) ou do doador de óxido nítrico, nitroprussiato de sódio (70 $\mu\text{g/ml/kg}$; 0.8ml/min; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) usando uma bomba de infusão (modelo EFF 311, Insight Instruments, Brasil) (RESSTEL; CORRÊA, 2006). As infusões de fenilefrina e nitroprussiato de sódio foram randomizadas e finalizadas após 50-60s com a obtenção de consideráveis respostas pressoras ou depressoras, respectivamente.

Para avaliação do efeito do estresse repetido sobre a atividade do barorreflexo foram tomados como base estudos prévios envolvendo o estresse, como descrito por Kashimoto e colaboradores (2016) e barorreflexo e estresse de acordo com Crestani e colaboradores (2010); desse modo foram estabelecidos dois momentos de análise: o primeiro, imediatamente após o estresse, e o segundo, no início da fase de recuperação do animal a essa situação aversiva. Assim, o barorreflexo foi testado 1 min e 30 min após a última sessão de estresse por restrição repetido (Kashimoto e cols, 2016; Crestani e cols, 2010).

3.6 MÉTODO DE AVALIAÇÃO DO BARORREFLEXO

As curvas de barorreflexo foram construídas combinando as variações de pressão arterial média com as respostas de frequência cardíaca. Foram emparelhados os valores das variações da pressão arterial média (ΔPAM) e da frequência cardíaca (ΔFC) e foram plotados para criar curvas sigmóides para cada rato, que foram utilizados para determinar a atividade do barorreflexo (HEAD; MCCARTY, 1987). A análise do barorreflexo usando curvas sigmóides foi caracterizada por quatro parâmetros: (i) P1 (bpm) menor platô da frequência cardíaca e P2 (bpm) maior platô da frequência cardíaca, (ii) faixa de frequência

cardíaca (bpm), ou seja, diferença entre os valores do platô superior com o inferior, (iii) a pressão arterial média (BP50, mmHg), que é a pressão arterial média em 50% da gama de frequência cardíaca, e (iv) o ganho (G, bpm/mmHg), que é o declive médio de entre as curvas +1 e -1 das derivações padrão de BP50. Para analisar as respostas de bradicardia e taquicardia separadamente, foi combinado os valores de frequência cardíaca dos períodos de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 mmHg da pressão arterial média e as variações foram calculadas. Os valores foram traçados para criar curvas de regressão linear para cada rato, e as suas inclinações foram comparadas para verificar modificações no ganho do barorreflexo (CRESTANI et al., 2011)

3.7 ANÁLISE ESPECTRAL DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

A análise da variabilidade do intervalo de pulso (IP) e pressão arterial sistólica (PAS) no domínio da frequência e domínio do tempo foi realizada utilizando-se o programa computacional CardioSeries v2.4 (www.danielpenteado.com). O programa computacional não realiza aquisição de dados, portanto registros de PA (com no mínimo 10 minutos de duração) foram processados pelo programa computacional LabChart 7.0 (ADInstruments, Bella Vista Austrália), o qual é capaz de detectar pontos de inflexão nos pulsos de pressão e gerar séries, batimento a batimento, com valores de IP e PAS para cada ciclo cardíaco.

As séries temporais, batimento a batimento, com valores de IP e PAS foram reamostradas em 10Hz (1 valor a cada 100ms) por interpolação cúbica do tipo spline, para regularização do intervalo de tempo entre os batimentos. As séries com valores interpolados de IP e PAS foram divididas em segmentos com 512 valores cada, com sobreposição de 50% (Protocolo de Welch).

Após a inspeção visual dos segmentos de IP e PAS, os segmentos considerados adequados foram integrados em bandas de baixa frequência (LF: 0,20 – 0,75Hz) e alta frequência (HF: 0,75 – 3,00Hz), e os resultados foram expressos em unidades absolutas (ms^2 ou mmHg^2) e normalizadas (un). Os valores normalizados foram obtidos por meio do cálculo da potência relativa das bandas LF e HF, levando em consideração a potência total do espectro menos a potência da banda de muito

baixa frequência (VLF: < 0,20Hz). Para avaliar o balanço simpátovagal cardíaco, foi calculada a razão entre a potência das bandas LF e HF (LF/HF) do espectro do IP.

3.8 DROGAS

Tribromoetanol ($\text{Br}_3\text{CCH}_2\text{OH}$; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA); Cloridrato de fenilefrina ((R)-(-)-1-(3- hidroxifenil)-2-cloridrato metilaminoetanol; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA); nitroprussiato de sódio di-hidratado ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foram diluídos em salina (0,9%, NaCl). Flunixin meglumina (Banamine®, Schering Plough, Brasil) foi utilizado como o previsto.

3.9 ANÁLISE DOS DADOS

Foi utilizado o software *GraphPad Prism* 5.0 para a análise estatística dos dados. Os resultados foram submetidos a uma análise descritiva na qual foi avaliada a normalidade e homogeneidade de variância dos dados. Para os dados originais ou transformados, análises estatísticas paramétricas (teste t de Student ou ANOVA) foram empregadas. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi adotado um nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 PESO CORPORAL DOS ANIMAIS UTILIZADOS NOS PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

No dia do experimento, não foi observada diferença estatística no peso corporal entre os animais do grupo controle, estressado, treinado e treinado estressado (GC: 303 ± 3 g, n=9; GE: 290g, n=7; GT: 278 ± 5 g, n=11; GTE: 275 ± 5 g, n=10; ANOVA de uma via, $p > 0,05$). O ganho de peso durante o treinamento por natação também não foi diferente entre os grupos treinado e treinado estressado ($p > 0,05$; Figura 1).

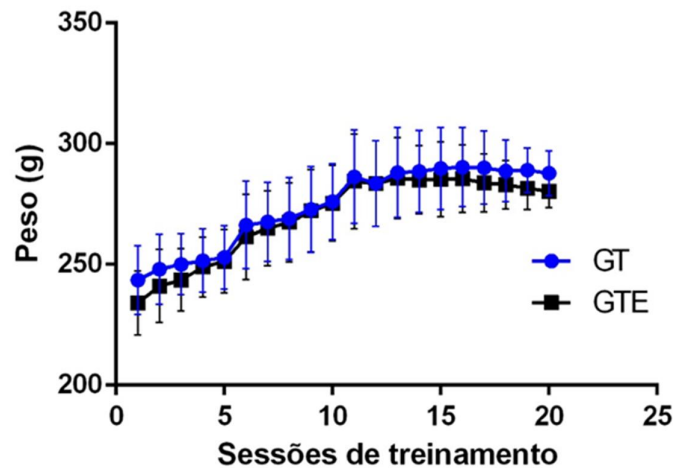


Figura 1. Ganho de peso (g) dos animais durante o protocolo de natação de 20 sessões. GT: grupo apenas submetido ao treinamento físico por natação; GTE: grupo submetido ao treinamento físico por natação e ao estresse de restrição repetido. Valores são médias \pm EPM. ANOVA para medidas repetidas, $p > 0,05$.

4.2 PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA BASAIS DOS ANIMAIS

A pressão arterial média basal (PAMb) e frequência cardíaca basal (FCb) foram obtidas através da média dos valores registrados durante a situação basal (\pm 10 minutos) de cada animal no dia do experimento. Não houve diferença estatística na PAMb entre os grupos controle, estressado, treinado e treinado estressado (PAMb: GC = 100 ± 3 mmHg, $n = 9$; GE = 93 ± 3 mmHg, $n = 7$; GT = 98 ± 2 mmHg, $n = 11$; GTE = 99 ± 3 mmHg, $n = 10$; $p = 0,36$, $F_{(3,33)} = 1,11$). No entanto, a FCb dos animais treinados se mostrou reduzida em relação ao grupo controle (FCb: GC = 336 ± 7 bpm, $n = 9$; GE = 343 ± 8 bpm, $n = 7$; GT = 295 ± 9 bpm, $n = 11$; GTE = 309 ± 12 bpm, $n = 10$; $p = 0,006$, $F_{(3,33)} = 4,9$; Figura 2).

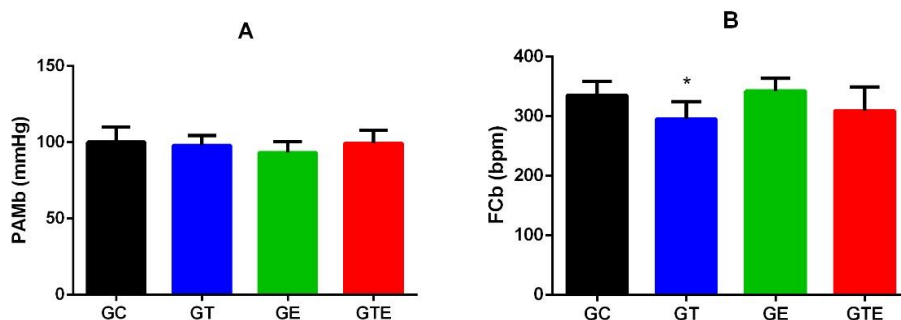


Figura 2. Pressão arterial média basal (PAMb; painel A) e frequência cardíaca basal (FCb; painel B) dos grupos controle (GC), estressado (GE), treinado (GT) treinado estressado (GTE) Valores são médias \pm EPM. ANOVA (1 via), * $p < 0,05$ vs GC.

4.3 ANÁLISE TEMPORAL DA VARIAÇÃO DE PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA DOS ANIMAIS DURANTE O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO

Foi realizada a análise temporal dos parâmetros PAM e FC dos animais dos grupos estressado e treinado estressado durante a última sessão do estresse de restrição repetido (5º dia) e 30 após o término do mesmo. O aumento na frequência cardíaca e pressão arterial causado pelo estresse de restrição foi menor no grupo treinado estressado em relação ao grupo estressado (ANOVA, duas vias, $p > 0,05$; Figura 3).

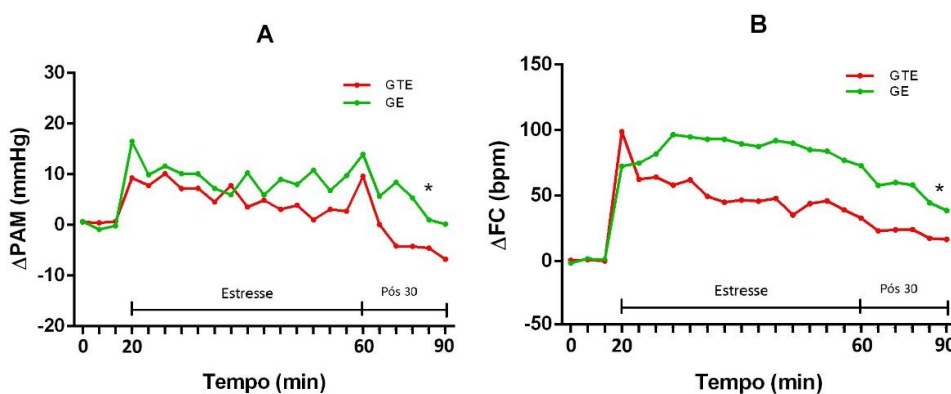


Figura 3. Análise temporal dos valores de variação de pressão arterial (Δ PAM, painel A) e variação de frequência cardíaca (Δ FC, painel B) durante a última sessão do estresse de restrição repetido nos animais grupo estressado (GE;n=10) e treinado estressado (GTE;n=10). Círculos representam a variação média. * $p < 0,05$ ANOVA de duas vias.

4.4 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO SISTÓLICA

A análise da variabilidade da frequência cardíaca e pressão sistólica foi realizada nos grupos controle, estressado (durante a última sessão do estresse repetido e 30min após o término da sessão), treinado e treinado estressado (durante a última sessão do estresse repetido e 30 min após o término da sessão). Foram coletados fragmentos de 5 minutos a partir do registro da pressão arterial e frequência cardíaca para análise. Na análise do domínio do tempo (DT), não houve alteração dos componentes da pressão sistólica e do ciclo cardíaco nos diferentes grupos em relação ao grupo controle (Tabela 1; ANOVA duas vias, $p>0.05$). Do mesmo modo, dentro do domínio da frequência (DF), os componentes da variabilidade não apresentaram diferença estatística entre os grupos analisados (Tabela 1; ANOVA de duas vias, $p>0.05$).

			ESTRESSE		POS30			
	GC (n=6)	GT (n=11)	GE (n=6)	GTE (n=9)	GE (n=6)	GTE (n=9)	p	F (DFn, DFd)
CICLO CARDÍACO – DOMÍNIO DO TEMPO								
CCDT - SD	8.9 ± 1.5	8.5 ± 0.7	7.4 ± 1	8.7 ± 0.8	6.2 ± 0.6	9 ± 1.2	INT: 0.2992 M:0.5572 T:0.1445	INT:1.243 (2, 41) M:0.5932 (2, 41) T: .2.213 (1, 41)
CCDT - RMSSD	8.6 ± 0.6	9.7 ± 1	9.6 ± 1.7	10.5 ± 1	7.4 ± 1.5	10.3 ± 1	INT: 0.6483 M:0.5737 T:0.0967	INT:0.438 (2, 41) M: 0.5632 (2, 41) T: 2.889 (1, 41)
CICLO CARDÍACO – DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA								
CCDF - LFabs	7 ± 2.8	4.6 ± 1	4.8 ± 1.7	5.1 ± 1	2.5 ± 0.8	4.6 ± 1.5	INT: 0.332 M:0.3297 T:0,9999	INT:1.133 (2, 41) M:1.14 (2, 41) T:1.673 (1, 41)
CCDF – HFabs	19.1 ± 3.3	23.1 ± 5.8	22.2 ± 7.2	29.6 ± 5.5	17.6 ± 7.3	28 ± 6.5	INT: 0.8828 M:0.7505 T:0.712	INT:0.125 (2, 41) M:0.289 (2, 41) T:1.932 (1, 41)
CCDF – LF(nu)	22.3 ± 6.3	19.1 ± 3.3	21.6 ± 5.7	16.2 ± 2.7	16 ± 3.3	15.8 ± 3.1	INT: 0,8114 M:0.4904 T:0.3776	INT:0.21 (2, 41) M:0.7251 (2, 41) T:0.7958 (1, 41)
CCDF – HF(nu)	77.6 ± 6.3	80.8 ± 3.3	78.3 ± 5.7	83.7 ± 2.7	84 ± 3	84.2 ± 3.1	INT: 0.8094 M:0.4712 T:0.3748	INT:0.212 (2, 41) M:0.7664 (2, 41) T:0.8051 (1, 41)
CCDF – LF/HF	0.37 ± 0.15	0.27 ± 0.1	0.33 ± 0.11	0.21 ± 0.04	0.21 ± 0.05	0.21 ± 0.05	INT: 0.8516 M:0.6263 T:0.4322	INT:0.161 (2, 41) M:0.4733 (2, 41) T:0.6293 (1, 41)
PRESSÃO SISTÓLICA – DOMÍNIO DO TEMPO E DA FREQUÊNCIA								
PSDT – SD	4.7 ± 0.8	5 ± 0.3	4.4 ± 0.4	5.3 ± 0.6	4 ± 0.4	5.3 ± 0.7	INT: 0,6838 M:0.9226 T:0.0831	INT:0.383 (2, 41) M:0.081 (2, 41) T:3.155 (1, 41)
PSDF - LFabs	7.2 ± 2.2	9.4 ± 1.8	10.7 ± 1.8	10 ± 2.6	5.7 ± 1.1	10 ± 2.5	INT: 0.55 M:0.5105 T:0.305	INT:0.606 (2, 41) M:0.6836 (2, 41) T:1.079 (1, 41)

Tabela 1. Valores obtidos através da análise espectral da VFC e VPS no Ciclo Cardíaco (CC) e Pressão Sistólica (PS) no âmbito do Domínio do Tempo (DT) e Domínio da Frequência (DF) para os grupos controle (GC), treinado (GT), grupo estressado (GE durante o estresse e 30min pós término) e treinado e estressado (GTE durante o estresse e 30min pós término). Valores são médias ± EPM. ANOVA (2 vias), $p > 0,05$. POS30: 30 min após o término da última sessão do estresse de restrição repetido (5º dia); INT: interação entre momento e treinamento; M: análise entre momentos Estresse e Pós 30; T: análise sobre o efeito do treinamento).

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO APÓS O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO REPETIDO

As curvas do barorreflexo foram construídas relacionando os valores de alteração da PAM com os de FC correspondentes. O teste da atividade do barorreflexo foi realizado 1 e 30 minutos após o término da última sessão de estresse repetido (5ª sessão).

Os parâmetros derivados da curva sigmóide (Figura 4A) estão apresentados na Tabela 2 (I – platô inferior da variação de frequência cardíaca (P1, bpm); II – platô superior da variação de frequência cardíaca (P2, bpm); III – ganho (bpm/mmHg); IV – diferença entre os valores dos platôs da frequência cardíaca (Range, bpm); e V – variação da pressão arterial média em 50% da variação de frequência cardíaca (BP₅₀, mmHg).

O estresse de restrição repetido alterou o componente parassimpático da regressão não linear, ocasionando uma bradicardia reflexa mais intensa no momento 1 minuto após o estresse (GE Pós1), porém sem alterações no componente simpático no mesmo momento (Tabela 2). No momento 30 minutos após o término do estresse (GE Pós30) a bradicardia reflexa também foi maior em relação ao GC, porém menor que a observada no GE Pós 1. Entretanto, houve uma redução da taquicardia reflexa em relação aos demais grupos analisados (Tabela 2). O estresse gerou aumento no range e ganho apenas no momento logo após o estresse (GE Pós1; Tabela 2).

A regressão linear nos permite analisar separadamente as respostas simpáticas e parassimpáticas do barorreflexo. Quanto ao slope da regressão linear foi observado um aumento desse componente em resposta à infusão de fenilefrina (Phe) imediatamente após o estresse, porém sem alterações na resposta ao

nitroprussiato de sódio (NPS), indicando uma facilitação do componente parassimpático nesse momento (Tabela 3). Na avaliação da atividade do barorreflexo 30 min após o estresse foi observado um aumento no slope em resposta à Phe e redução em resposta ao NPS, sugerindo a presença concomitante de um efeito facilitatório parassimpático e inibitório simpático nesse momento (Tabela 3).

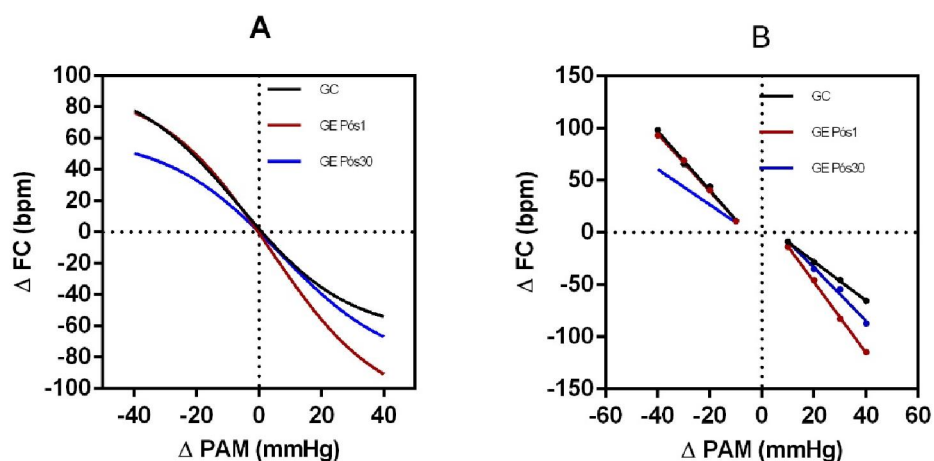


Figura 4. A) Curva sigmóide barorreflexa correlacionando a variação de pressão arterial média (ΔPAM) e variação de frequência cardíaca (ΔFC) dos grupos controle (GC), grupo estressado no momento logo após o término do estresse (GE Pós1) e estressado 30 min após o término do estresse (GE Pós 30). B) Regressão linear das curvas do barorreflexo correlacionando a variação de pressão arterial média (ΔPAM) e variação de frequência cardíaca (ΔFC) dos grupos GC e GE (Pós1 e Pós 30). Aumento ou diminuição na PAM foram induzidas através da administração i.v de fenilefrina (Phe) e nitroprussiato de sódio (NPS), respectivamente. Os valores de r^2 para a regressão linear em resposta à Phe foram 0.7 (GC), 0.8 (GE Pós1), 0.8 (Ge Pós30), em resposta ao NPS foram 0.6 (GC), 0.7 (GE Pós1) e 0.7 (GE Pós30).

	P1(bpm)	P2(bpm)	GANHO (bpm/mmHg)	RANGE (bpm)	BP50 (mmHg)
GC (n=9)	-65 ± 6	98 ± 11	-1,6 ± 0,1	164 ± 8	-7 ± 2
GE Pós1 (n=7)	-115 ± 11*†	93 ± 10	-1,8 ± 0,1*†	207 ± 9*†	-6 ± 2
GE Pós30 (n=7)	-87 ± 6*	61 ± 7*#	-1,3 ± 0,1*#	148 ± 13	-7 ± 3
	p= 0,01 F (2, 20) = 76,74	p= 0,01 F (2, 20) = 30,38	p= 0,01 F (2, 20) = 54,32	p= 0,01 F (2, 20) = 8,240	p= 0,9874 F (2, 20) = 0,01272

Tabela 2. Parâmetros derivados da curva sigmóide dos grupos controle (GC), grupo estressado no momento imediatamente após o fim do estresse (GE Pós1) e estressado 30min após o fim do estresse (GE Pós30). Valores são médias ± EPM (p<0,05). Teste ANOVA de 1 via, p<0,05. *comparação com Controle; †comparação ao GE Pós30; #comparação ao GE Pós1.

	SLOPE PHE	SLOPE NPS
GC (n=9)	-1,8 ± 0,2	-2,8 ± 0,3
GE Pós1 (n=7)	-3,4 ± 0,3*†	-2,7 ± 0,3
GE Pós30 (n=7)	-2,5 ± 0,2*	-1,7 ± 0,2*#
	P= 0,01 F (2, 20) = 92,80	P= 0,01 F (2, 20) = 30,39

Tabela 3. Slope derivado da regressão linear em resposta às infusões das drogas vasoativas fenilefrina (Phe) e nitroprussiato sódico (NPS) nos grupos controle (GC), grupo estressado no momento logo após o fim do estresse (GE Pós1) e estressado 30min após o fim do estresse (GE Pós30). Valores são médias ± EPM, ANOVA de 1 via, p<0,05 *comparação com Controle; † comparação ao GE Pós30; # comparação ao GE Pós1.

4.6 EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO POR NATAÇÃO SOBRE A ATIVIDADE DO BARORREFLEXO

O treinamento físico gerou uma diminuição na frequência cardíaca dos animais (FCb: GC= 336 ± 7 bpm, $n = 9$; GT = 295 ± 9 bpm, $n = 11$; $p < 0,05$) sem alterar a pressão arterial média (PAMB: GC = 100 ± 3 mmHg, $n = 9$; GT = 98 ± 2 mmHg, $n = 11$), Figura 2. Na análise dos parâmetros da curva sigmoide, o treinamento físico alterou a resposta barorreflexa apenas através do aumento do ganho em relação ao grupo controle (Tabela 4, Figura 5A).

Em resposta à infusão de Phe o slope foi maior no grupo treinado em relação ao controle, sem alterações no slope em resposta ao NPS, dessa forma, sugerindo uma facilitação do componente parassimpático (Tabela 5, Figura 5B).

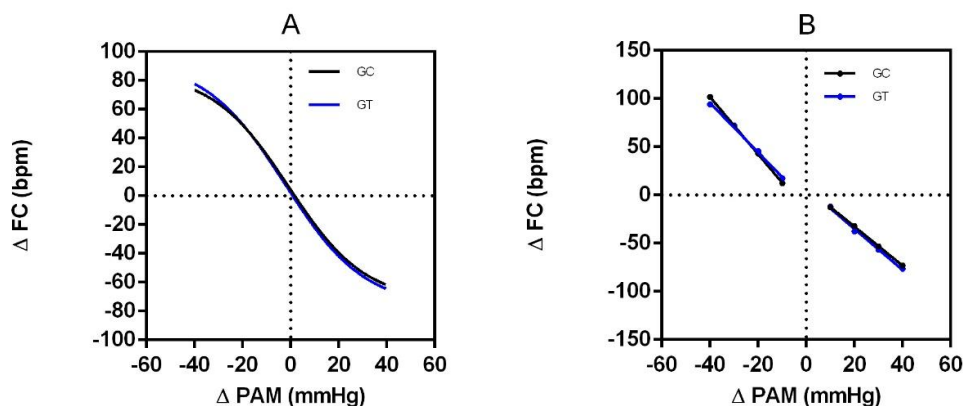


Figura 5. A) Curva sigmóide barorreflexa correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos controle (GC) e treinado (GT). B) Regressão linear das curvas do barorreflexo correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos GC e GT. Aumento ou diminuição na PAM foram induzidas através da administração i.v de fenilefrina (Phe) e nitroprussiato (NPS), respectivamente. Os valores de r^2 para a regressão linear em resposta à Phe foram 0.7 (GC), 0.6 (GT), em resposta ao NPS foram 0.6 (GC), 0.6 (GT).

	P1(bpm)	P2(bpm)	GANHO (bpm/mmHg)	RANGE (bpm)	BP50 (mmHg)
GC (n=9)	-73 ± 6	101 ± 11	-1,6 ± 0,1	164 ± 8	-7 ± 2
GT (n=10)	-76 ± 6	94 ± 9	-1,8 ± 0,1*	170 ± 12	-14 ± 3
	P = 0,116 T = 1,656	P = 0,363 T = 0,9336	P = 0,01 T = 2,941	P = 0,235 T = 1,230	P = 0,107 T = 1,702

Tabela 4. Parâmetros derivados da curva sigmoide dos grupos controle (GC) e grupo treinado (GT). Valores são médias ± EPM ($p < 0,05$). Teste t de Student, * $p < 0,05$.

	SLOPE PHE	SLOPE NPS
GC (n=9)	-2 ± 0,2	-2,8 ± 0,3
GT (n=10)	-2,4 ± 0,3*	-2,7 ± 0,3
	P= 0,02 T = 2,465	P= 0,108 T = 1,735

Tabela 5. Slope derivado da regressão linear em resposta às infusões das drogas vasoativas fenilefrina (Phe) e nitroprussiato sódico (NPS) nos grupos controle (GC) e treinado (GT). Valores são médias ± EPM, teste t de Student, * $p < 0,05$.

4.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO POR NATAÇÃO NA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO APÓS O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO REPETIDO

O treinamento físico por natação reduziu a resposta bradicárdica (P1) observada no grupo estressado 1 min após o término do estresse, porém, 30min após o estresse essa diferença desapareceu (Figura 6; Tabela 6). Não foram observadas diferenças causadas pelo treinamento em relação à resposta taquicárdica (P2) no momento logo após o estresse; entretanto, passados 30 min foi do um aumento nessa resposta nos animais submetidos ao treinamento físico por natação e estresse de restrição repetido (Figura 6; Tabela 6).

Os parâmetros derivados da curva sigmoide também mostraram que o treinamento físico causou um aumento no ganho 30 min depois da última sessão de

estresse (Tabela 6). Em relação ao range e BP50, a natação não promoveu alterações em nenhum dos dois momentos analisados (Tabela 6).

No momento pós estresse, o slope Phe se mostrou menor pelo efeito do treinamento em comparação ao grupo estressado (Tabela 7). O slope taquicárdico não mostrou diferença gerada pelo treinamento físico por natação no momento logo após o estresse, porém um aumento foi constatado 30min após o término do estresse em relação ao grupo estressado (Tabela 7).

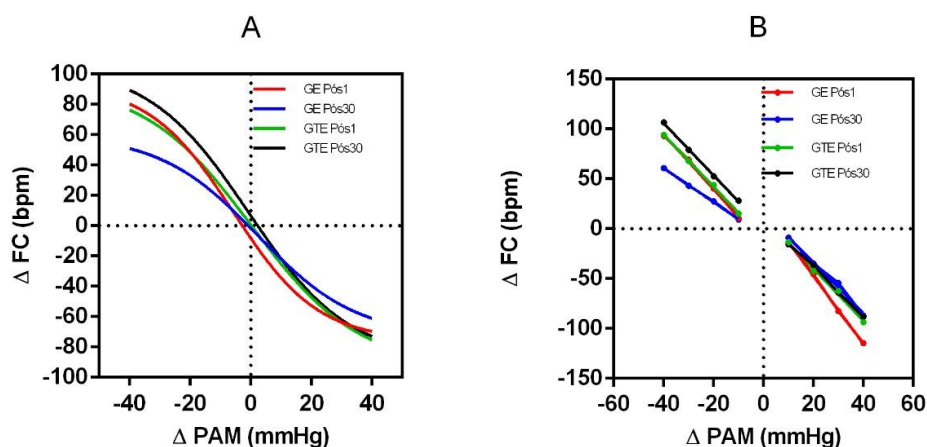


Figura 6. A) Curva sigmóide barorreflexa correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos estressado (GE) e treinado e estressado (GTE) logo após o término do estresse (GE Pós1 e GTE Pós1, respectivamente) e 30 minutos após o fim do estresse (GE Pós30 e GTE Pós30, respectivamente). Aumento ou diminuição na PAM foram induzidas através da administração i.v de fenilefrina (Phe) e nitroprussiato (NPS), respectivamente. B) Regressão linear das curvas do barorreflexo correlacionando a variação de pressão arterial média (Δ PAM) e variação de frequência cardíaca (Δ FC) dos grupos GE Pós Estresse, GE Pós30, GTE Pós Estresse, GTE Pós30. Os valores de r^2 para a regressão linear em resposta à Phe foram 0.8 (GE Pós Estresse), 0.8 (GE Pós30), 0.6 (GTE Pós Estresse), 0.7 (GTE Pós30), em resposta ao NPS foram 0.7 (GE Pós Estresse), 0.7 (GE Pós30), 0.7 (GTE Pós Estresse) e 0.4 (GTE Pós30).

	P1(bpm)	P2(bpm)	GANHO (bpm/mmHg)	RANGE (bpm)	BP50 (mmHg)
GE Pós1 (n=7)	-115 ± 11#†°	93 ± 10†°	-1,8 ± 0,1†°	207 ± 9°	-6 ± 2
GE Pós30 (n=7)	-87 ± 6*	61 ± 7#†*	-1,3 ± 0,1#†*	148 ± 13*	-7 ± 3
GTE Pós1 (n=10)	-93 ± 10*	94 ± 8†°	-1,9 ± 0,1†°	187 ± 12	-5 ± 4
GTE Pós30 (n=10)	-88 ± 9*	106 ± 10#*°	-2,2 ± 0,2#*°	195 ± 14	-12 ± 3
	p= 0,01 F (3, 30) = 13,48	p= 0,02 F (3, 30) = 34,03	p= 0,01 F (3, 30) = 55,17	p= 0,03 F (3, 30) = 3,307	p= 0,42 F (3, 30) = 0,9558

Tabela 6. Parâmetros derivados da curva sigmóide dos grupos estressado (GE) e treinado e estressado (GTE) logo após o término do estresse (GE Pós1 e GTE Pós1, respectivamente) e 30 minutos após o fim do estresse (GE Pós30 e GTE Pós30, respectivamente). Valores são médias ± EPM. Teste ANOVA de 1 via; p<0,05 *comparação com GE Pós1; °comparação ao GE Pós30; † comparação ao GTE Pós30; # comparação ao GTE Pós1.

	SLOPE PHE	SLOPE NPS
GE Pós1 (n=7)	-3,4 ± 0,3#†°	-2,7 ± 0,3°
GE Pós30 (n=7)	-2,5 ± 0,2*	-1,7 ± 0,2#†*
GTE Pós1 (n=10)	-2,6 ± 0,3*	-2,6 ± 0,3°
GTE Pós30 (n=10)	-2,5 ± 0,3*	-2,6 ± 0,4°
	P= 0,01 F (3, 30) = 18,91	P= 0,01 F (3, 30) = 14,41

Tabela 7. Slopes derivados da regressão linear em resposta às infusões das drogas vasoativas fenilefrina (Phe) e nitroprussiato sódico (NPS) nos grupos estressado (GE) e treinado e estressado (GTE) logo após o término do estresse (GE Pós1 e GTE Pós1, respectivamente) e 30 minutos após o fim do estresse (GE Pós30 e GTE Pós30, respectivamente). Valores são médias ± EPM, ANOVA de 1 via, p<0,05 *comparação com GE Pós Estresse; °comparação ao GE Pós30; † comparação ao GTE Pós30; # comparação ao GTE Pós Estresse.

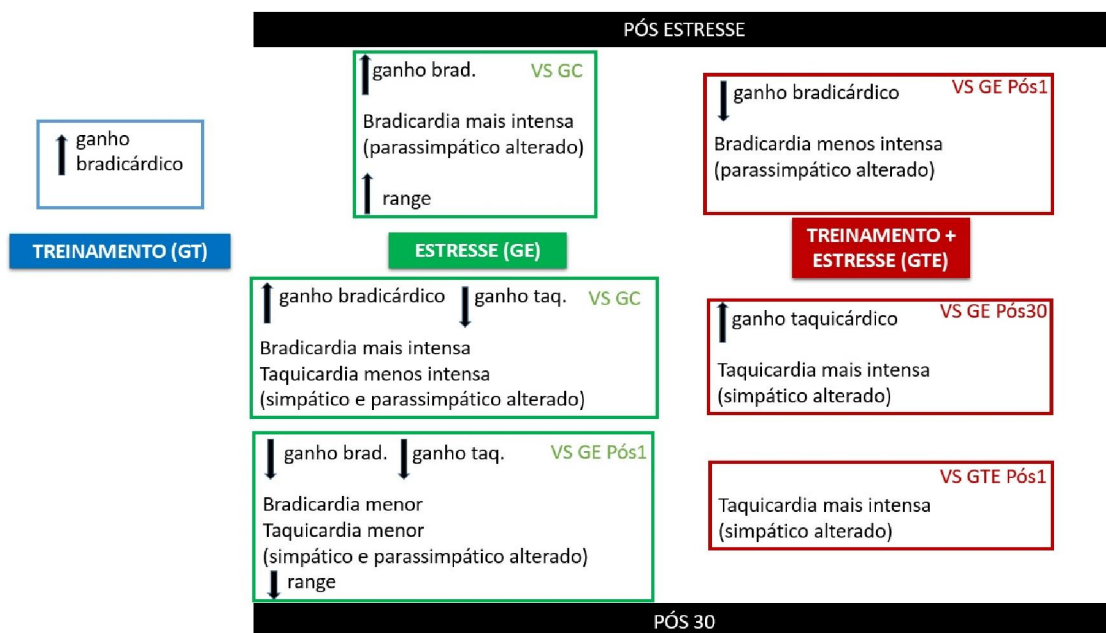


Figura 7. Resumo dos resultados obtidos a partir da análise da atividade do barorreflexo para o efeito do treinamento físico (Grupo Treinamento – GT), estresse repetido (Grupo Estresse – GE), e efeito do treinamento sobre o estresse repetido (Grupo Treinamento + Estresse – GTE).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou que o estresse de restrição repetido pode modificar a atividade cardíaca do barorreflexo e que o treinamento físico por natação pode modular essa função.

A pesagem dos animais do grupo treinado mostrou que o treinamento não prejudicou o ganho de peso dos animais, assim como nenhum animal foi perdido durante esse período. O treinamento físico promove diversas adaptações cardiovasculares, sendo a bradicardia de repouso um importante marcador (NEGRÃO et al.,1993), a qual foi evidenciada nos ratos do grupo treinado no presente estudo.

As flutuações da frequência cardíaca, batimento a batimento, refletem a interação do SNA no coração, sendo a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) uma importante ferramenta clínica na identificação de possíveis doenças

cardiovasculares (RIBEIRO et al., 2005; VANDERLEI et al.,2009). No presente estudo não foram observadas alterações na análise do domínio do tempo (DT), desse modo, o estresse de restrição repetido e o treinamento físico não foram capazes de influenciar os componentes SD e RMSSD, sugerindo que o estresse de restrição e o treinamento não alteraram o tônus simpático e parassimpático cardíaco dos animais.

Os dados referentes ao domínio da frequência (DF) também mostraram que o estresse e o treinamento físico não alteraram os componentes de baixa frequência em unidades normalizadas e absolutas, LF(nu) e LFabs, alta frequência em unidades normalizadas e absolutas, HF(nu) e HFabs. A relação LF/HF indica as alterações absolutas e relativas entre os componentes parassimpático e simpático do sistema nervoso autônomo, sendo assim, caracteriza o balanço simpato-vagal no coração (VANDERLEI et al.,2009). No nosso trabalho também não foram constatadas alterações nesse componente através da análise da VFC.

A identificação dos componentes da VPS (variabilidade da pressão sistólica) pode fornecer informações importantes sobre a regulação da pressão arterial de um indivíduo, principalmente a respeito da modulação vascular simpática, sendo assim, uma importante ferramenta para o descobrimento de futuras patologias, como hipertensão, infarto e insuficiência cardíaca (STAUSS et al., 2007). Nossos dados não mostraram nenhuma interferência causada pela natação e estresse repetido, mantendo os valores de SD no domínio do tempo e LF em unidades absolutas no domínio da frequência sem alterações. Sendo assim, nossos dados sugerem que o estresse repetido e o treinamento físico não alteram os componentes da VFC e VPS nos animais.

O estresse de restrição é um modelo o qual promove uma situação de estresse inevitável para o animal, gerando respostas neuroendócrinas e cardiovasculares, sendo evidenciadas pelo aumento na pressão arterial e taquicardia (MCDOUGALL et al., 2000). No presente estudo, o estresse de restrição foi repetido durante 5 dias consecutivos, segundo Kashimoto e cols (2016). Durante a última sessão, o estresse de restrição repetido gerou aumentos nos valores de PAM e FC, sendo o aumento de pressão arterial e taquicardia mais intensa no grupo estressado (GE) em relação ao grupo submetido ao treinamento físico por natação previamente ao estresse

(GTE). Estudo realizado por Crestani e colaboradores (2010) mostrou que 30 minutos após o fim do estresse agudo de restrição os valores de PAM e FC retornaram ao nível basal, enquanto que no presente estudo isso não ocorreu. Uma possível explicação para essa discrepância poderia se dar pela frequência do estresse psicológico ao qual o animal foi submetido.

Prejuízo na função barorreflexa pode levar a diminuição do tônus parassimpático e aumento do tônus simpático, estando associadas com o risco de aparecimento de doenças cardiovasculares, tais como hipertensão, insuficiência cardíaca e infarto do miocárdio. Em pacientes que sofreram infarto do miocárdio uma perda na função barorreflexa é ainda mais grave, podendo comprometer a atividade elétrica cardíaca e aumentar a necrose tecidual (OSCOLATI et al., 1990). No presente estudo, o estresse de restrição repetido aumentou a resposta bradicárdica do barorreflexo logo após o estresse, também aumentando o ganho, o que indica uma maior atividade barorreflexa.

A análise da regressão linear nos permite analisar separadamente a atividade dos componentes simpático e parassimpático cardíaco. O estresse repetido de restrição promoveu uma bradicardia mais intensa em relação ao controle, sugerindo uma resposta barorreflexa facilitada, o que não corrobora com estudos que apontam que o estresse gera aumento da atividade simpática direcionada ao coração (ADAMEOVA et al., 2009; DIMSDALE et al., 2009; GAVRILOVIC et al., 2012).

Crestani e colaboradores (2010) avaliaram a atividade do barorreflexo durante e 30 minutos após o estresse agudo de restrição. Em seus dados, eles observaram que o comportamento do ganho foi similar nas duas situações, se mantendo aumentado em relação ao controle. No nosso trabalho, o ganho se mostrou aumentado no momento Pós1, corroborando com o estudo acima, porém no momento Pós30 nós observamos uma queda no ganho, sugerindo que a repetição do estresse levou a uma diminuição da atividade barorreflexa nesse tempo.

Ainda sobre o estudo de Crestani e colaboradores (2010), foi observado um slope taquicárdico mais intenso nos animais durante e 30 minutos após o estresse de restrição agudo, em comparação ao controle. No presente trabalho, o slope taquicárdico no momento Pós1 do grupo GE não mostrou diferença em relação ao controle, porém observou-se um slope taquicárdico menor em relação ao controle no

momento Pós30, indicando uma resposta taquicárdica menor, sugerindo que o estresse repetido exerce inibição na resposta barorreflexa 30 minutos após o estresse.

Segundo o trabalho de Gavrilovic e colaboradores (2012), o estresse agudo de imobilização em ratos gera aumentos nos níveis plasmáticos de noradrenalina e adrenalina por três horas após o término do estímulo estressor, desse modo, o efeito do estresse de imobilização sobre o sistema simpático se mantém por um período de tempo. Embora no presente estudo o modelo utilizado de estresse foi o de restrição, um efeito de facilitação do barorreflexo foi observado 30 minutos após o fim do estresse.

Nossos dados mostraram um aumento no P1 no momento pós estresse do GE, assim como no range. Ao analisarmos a regressão linear podemos notar um aumento da resposta bradicárdica, indicando facilitação do barorreflexo. Essa bradicardia reflexa mostrou-se diminuída 30 minutos após o estresse, em comparação ao momento Pós1, indicando uma tendência a normalização desse componente. Crestani e colaboradores (2010) mostraram que a normalização dos parâmetros ocorre 60 minutos após o estresse.

Este aumento da resposta bradicárdica provocado pelo estresse também não corrobora com os estudos que indicam um aumento da atividade simpática (ADAMEOVA et al., 2009; DIMSDALE et al., 2009; GAVRILOVIC et al., 2012). Porém, nossos dados podem ser explicados pela coleta realizada logo após o fim do estresse, com uma possível descarga parassimpática com o animal livre da restrição. Desse modo, o estresse repetido altera a resposta barorreflexa promovendo aumento da bradicardia reflexa, sugerindo uma facilitação do barorreflexo em resposta aos aumentos de pressão arterial, sendo esse efeito prolongado 30 minutos após o fim da restrição.

A adoção do treinamento físico como forma iniciante ou coadjuvante a uma terapia de tratamento anti-hipertensivo tem sido defendida por Felix e Michelini (2007) a fim de reduzir ou controlar a hipertensão. No presente estudo podemos observar um ajuste à situação aversiva promovido pelo treinamento físico na análise temporal da variação de pressão arterial, visto que o GTE obteve menores variações de pressão durante o estresse em relação ao GE.

Dados da literatura demonstram que o treinamento físico altera a VFC, gerando uma predominância parassimpática no coração (MARTINS-PINGE et al., 2011; MASTELARI et al., 2012) o que não corrobora com os dados de VFC do presente estudo. Nossos resultados mostraram que o treinamento físico gerou aumento no slope bradicárdico e nenhum efeito sobre o slope taquicárdico, indicando uma modulação autonômica cardíaca. Desse modo, nossos dados referentes ao estudo da atividade cardíaca do barorreflexo sugerem uma facilitação da resposta barorreflexa pelo treinamento físico indicando seu possível papel modulatório sobre essa função.

Estudos mostram que o treinamento físico, de início, promove o aumento da liberação de corticosterona nos animais, evidenciando o estresse ao novo ambiente e adaptação (RAQUEL et al., 2013). No entanto, ao final do período de treinamento os valores de corticosterona se normalizaram, mostrando que esse estímulo gerou adaptação ao animal, não mais caracterizando a natação como estresse. Estudos anteriores mostraram também que as glândulas adrenais também não sofreram alterações no grupo treinado, evidenciando também que o treinamento físico não foi um estímulo de estresse (AFONSO et al., 2003).

O treinamento físico promove mudanças no sistema nervoso central, inclusive em áreas como o núcleo do trato solitário (NTS) e o bulbo rostroventrolateral (RVLM) que estão envolvidas no controle do sistema cardiovascular, inclusive no mecanismo barorreflexo (MARTINS-PINGE, 2011). No presente estudo, os parâmetros cardiovasculares basais indicaram que o treinamento físico foi efetivo, pois causou uma bradicardia de repouso, como mencionado por Martins-Pinge e colaboradores (2005) e Martins-Pinge (2011). Nesse sentido, não foi observada mudança na pressão arterial média (PAMb) entre os grupos, corroborando com dados previamente obtidos por Negrão e colaboradores (1993) à respeito do treinamento físico.

Ainda sobre Negrão e colaboradores (1993), foi observada uma resposta bradicárdica reflexa menos intensa na regressão linear no grupo treinado em relação ao sedentário, porém, no presente estudo não foi observada essa resposta diminuída. No nosso trabalho foi demonstrado um aumento no ganho do barorreflexo

e no slope bradicárdico causado pelo treinamento físico sugerindo uma intensificação na bradicardia reflexa.

O exercício físico regular exerce algumas mudanças no sistema nervoso autônomo, como, por exemplo, o aumento da atividade parassimpática e diminuição da atividade simpática no coração (MARTINS-PINGE et al.,2011). No nosso estudo foi observada uma atividade parassimpática maior no GT na situação de repouso, evidenciado pela bradicardia de repouso, porém nenhum aumento de atividade parassimpática ou diminuição de atividade simpática foi avaliado no barorreflexo.

Porém, o slope em resposta à infusão de Phe foi maior no grupo treinado em relação ao controle, enquanto o slope em resposta ao NPS não se mostrou afetado, sugerindo um aumento da bradicardia reflexa, e consequente facilitação do barorreflexo gerada pelo treinamento físico nesse parâmetro. Assim, nossos dados não corroboram com Negrão e colaboradores (1993) que não observaram alterações no slope da resposta bradicárdica após treinamento físico. Porém, o mesmo estudo, assim como o nosso, não evidenciou alterações no slope taquicárdico. Assim, os dados sugerem que o treinamento físico gerou facilitação da atividade barorreflexa através do aumento no slope bradicárdico.

Dentre os ratos que realizaram o protocolo de natação e estresse (GTE) podemos observar que o estresse foi capaz de promover alterações na resposta barorreflexa, aumentando o ganho no momento Pós1, em comparação ao GE Pós1. Ao analisarmos a regressão linear podemos notar uma alteração na modulação autonômica, sugerindo que o treinamento físico influenciou nos componentes autonômicos no grupo GTE Pós1 em relação ao GE Pós1. O slope bradicárdico do GTE Pós1 foi menor em relação ao GE Pós1, enquanto que o slope taquicárdico manteve-se inalterado, indicando uma predominância parassimpática no GE nesse momento.

O treinamento diminuiu o parâmetro P1 1 minuto após o estresse, em comparação ao GE Pós1, indicando uma resposta bradicárdica menor no grupo GTE. Essa alteração, apesar de sofrer uma diminuição, persistiu 30 minutos após o fim do estresse, indicando novamente a influência do treinamento físico na bradicardia reflexa e uma tendência de recuperação nesse parâmetro, visto que, como já citado por Crestani e colaboradores (2010) as alterações do barorreflexo causadas pelo estresse agudo se normalizam 60 minutos após o fim do estímulo.

Trinta minutos após o estresse foi gerada uma resposta simpática mais exacerbada no grupo GTE, levando a um aumento do parâmetro P2 em relação ao GE Pós30. Além disso, o ganho do grupo GTE se mostrou aumentado pelo treinamento físico, indicando uma maior atividade barorreflexa cardíaca. Estruturas centrais como o hipocampo e o córtex pré-frontal têm alta afinidade pela corticosterona; desse modo, em uma situação estressante onde há liberação desse glicocorticóide essas áreas são afetadas. Somado a isso, alguns hormônios como a vasopressina são co-secretados, podendo contribuir com o aumento da resposta simpática observada (DIORIO et al.,1993).

Ao analisarmos a regressão linear notamos algumas alterações no componente simpático promovida pelo treinamento, enquanto que nenhuma alteração na porção parassimpática foi evidenciada em comparação entre GTE e GE no momento Pós30 nessa análise. Com base nos nossos resultados podemos sugerir que o treinamento físico exerce influência na modulação autonômica cardíaca. Além disso, o treinamento físico gerou uma resposta bradicárdica menor no momento Pós1 devido a uma possível adaptação do organismo e queda na sensibilidade barorreflexa. Na fase de recuperação (Pós30) o treinamento gerou uma taquicardia reflexa maior, sugerindo uma interação com o sistema límbico. Por fim, os resultados indicam que o treinamento físico exerce facilitação sob a resposta barorreflexa, porém em associação ao estresse repetido observa-se uma inibição.

6 CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos podemos concluir que, no momento logo após o fim do estresse, os animais mostraram uma facilitação do barorreflexo, sem alterações na taquicardia reflexa do barorreflexo. Trinta minutos após o estresse os animais mostraram uma recuperação no componente parassimpático e um efeito simpato-inibitório. O treinamento físico gerou uma facilitação do barorreflexo. Além disso, o treinamento físico gerou respostas parassimpáticas menores logo após o estresse, sem alterações no componente simpático. Porém, 30 minutos após o estresse o efeito do treinamento aumentou a taquicardia reflexa. Assim, pode-se concluir que o estresse de restrição repetido modifica a atividade cardíaca do barorreflexo e que o treinamento físico por natação pode modular essa função na tentativa de adaptar o sistema cardiovascular às diferentes situações aversivas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, S.B; LENHARD, A; MEHANNA, A; SOUZA, H.C.D; CORREA, F.M.A; HASSER, E.M; MARTINS-PINGE, M.C. Role of paraventricular nucleus in exercise training-induced autonomic modulation in conscious rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v.148, p.28-35, janeiro 2009.

ADAMEOVA, A; ABDELLATIF, Y; DHALLA, N.S. Role of the exercise amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.87, p.493-514, abril 2009.

AFONSO, M; SOUZA, C.N; ZAGATTO, A.M; LUCIANO, E. Respostas metabólicas agudas ao exercício físico moderado em ratos Wistar. **Motriz**, v.9, n.2, p.87-92, maio 2003.

CARNEVALI, L; TROMBINI, M; PORTA, A; MONTANO, N; BOER, S.F; SGOIFO, A. Vagal withdrawal and susceptibility to cardiac arrhythmias in rats with high trait aggressiveness. **PLOS ONE**, v.8, n.7, p.1-11, julho 2013.

CRESTANI, C.C; TAVARES, R.F.; ALVES, F.H.F; RESSTEL, L.B.M; CORREA, F.M.A. Effect of acute restraint stress on the tachycardiac and bradycardiac responses of the baroreflex in rats. **Informa Healthcare USA**, v.13, p.61-72, janeiro 2010.

CRESTANI, C. C.; TAVARES, R. F.; GUIMARÃES S. F.; CORREA, F. M. A.; JOCA, S. R. L.; RESTEL, L. B. M. Chronic fluoxetine treatment alters cardiovascular functions in unanesthetized rats. **European Journal of Pharmacology**, v.670, p.527-533, setembro 2011.

CURI, R.; PROCÓPIO, J. Regulação da Pressão Arterial. In: MILL, J. G. **Fisiologia Básica. Primeira edição. Guanabara Koogan, 2009. p.413-424.**

DAMPNEY, R.A.L. Functional organization of Central Pathways Regulating the Cardiovascular System. **Physiological Reviews**, v.74, p.323-363, abril 1994.

DAMPNEY, R.A.L; COLEMAN, M.J; FONTES, M.A.P; HIROOKA, Y; HORIUCHI, J; LI, Y-W; POLSON, J.W; POTTS, P.D; TAGAWA, T. Central mechanisms underlying short and long term regulation of the cardiovascular system. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v.29, p.261-268, julho 2002.

DIMSDALE, J.E. Psychological Stress and Cardiovascular Disease. **National institute of health**, v.51, n.13, p.1237-1246, abril 2008.

DIORIO, D; VIAU, V; MEANEY, M.J. The Role of the medial prefrontal cortex (Cingulate Gyrus) in the regulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to stress. **The Journal of neuroscience**, v.13, n.9, p.3839-3847, setembro 1993.

FELIX, J.V.C; MICHELINI, L.C. Training-Induced Pressure Fall in Spontaneously Hypertensive Rats Is Associated With Reduced Angiotensinogen mRNA Expression Within the Nucleus Tractus Solitarii. **Hypertension**, v.50, p.780-785, junho 2007.

FURLAN, R; BARBIC, F; PIAZZA, S; TINELLI, M; SEGUIZZI, P; MALLIANI, A. Modifications of cardiac autonomic profile associated with a shift schedule of work. **Circulation**, v.102, p.1912-1916, 2000.

FURLONG, T.M; MCDOWALL, L.M; HORIUCHI, J; POLSON, J.W; DAMPNEY, R.A.L. The effect of air puff stress on c-Fos expression in rat hypothalamus and brainstem: central circuitry mediating sympathoexcitation and baroreflex resetting. **European Journal of neuroscience**, v.39, p.1429-1438, janeiro 2014.

GAVRILOVIC, L; STOJILJKOVIC, V; KASAPOVIC, J; POPOVIC, N; PAJOVIC, S.B; DRONJAK, S. Treadmill exercise does not change gene expression of adrenal catecholamine biosynthetic enzymes in chronically stressed rats. **Annals of the Brazilian Academy of Science**, v.85, n.3, p.999-1012, abril 2012.

HERMAN, J.P. Neural control of chronic stress adaptation. **Frontiers in Behavioural Science**, v.7, p.1-12, agosto 2013.

KASHIMOTO, R.K; TOFFOLI, L.V; MANFREDO M.H.F; VOLPINI, V.L; MARTINS-PINGE, M.C; PELOSI, G.G; GOMES, M.V. Physical Exercise Affects the Epigenetic Programming of Rat Brain and Modulates the Adaptive Response Evoked by Repeated Restraint Stress. **Behavioural Brain Research**, v.296, p.286-289, janeiro 2016.

KLEIGER, R.E; MILLER, J.P; BIGGER, J.T; MOSS, A.J. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **American Journal of Cardiology**, v.59, p.256-262, fevereiro 1987.

LOWN, B; VERRIER, R.L. Neural Activity and Ventricular fibrillation. **The New England Journal of Medicine**, v.294, n.21, p.1165-1170, maio 1976.

MALIK, M. Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation and Clinical Use. **American Heart Association**, v.93, p.1043-1065, agosto 2013.

MARTINS-PINGE, M.C. Cardiovascular and Autonomic modulation by the central nervous system after aerobic exercise training. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.44, p.848-854, setembro 2011.

MARTINS-PINGE, M.C; BECKER, L.K; GARCIA, M.L.R; ZOCCAL, D.B; NETO, R.V; BASSO, L.S; SOUZA, H.C.D; LOPES, O.U. Attenuated pressor responses to amino acids in the rostral ventrolateral medulla after swimming training in conscious rats. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v.122, p.21-28, julho 2005.

MASTELARI, R.B; ABREU, S.B; CORREA, F.M.A; SOUZA, H.C.D; MARTINS-PINGE, M.C. Glutamatergic neurotransmission in the hypothalamus PVN on heart rate variability in exercise trained rats. **Autonomic neuroscience: Basic and Clinical**, v.170, p.42-47, julho 2012.

MASTELARI, R.B; SOUZA, H.C.D; LENHARD, A; CORRÊA, F.M.A; MARTINS-PINGE, M.C. Nitric oxide inhibition in paraventricular nucleus on cardiovascular and autonomic modulation after exercise training in unanesthetized rats. **Brain Research**, 2010.

MCDUGALL, S.J; PAULL, J.R.A; WIDDOP, R.E; LAWRENCE, A.J. Differential Cardiovascular Responses in Wistar-Kyoto and Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**, v.35, p.126-129, agosto 2000.

MUNCK, A; GUYRE, P.M; HOLBROOK, N.J. Physiological functions of glucocorticoids in Stress and their relation to Pharmacological Actions. **Endocrine Reviews**, v.5, n.1, p.21-44, 1984.

NEGRÃO, C.E; IRIGOYEN, M.C; MOREIRA, E.D; BRUM, P.C; FREIRE, P.M; KRIEGER, E.M. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control and blood pressure responsiveness. **The American Journal of Physiology**, v.262, p.365-370, agosto 1993.

NOSAKA, S. Modifications of arterial baroreflexes: obligatory roles in cardiovascular regulation in stress and poststress recovery. **Japanese Journal of Physiology**, v.46, n.4, p.271-288, 1996.

OSCULATI, G; GRASSI, G; GIANNATTASIO, C; SERAVALLE, G; VALAGUSSA, F; ZANCHETTI, A; MANCIA, G. Early alterations of the baroreceptor control of heart rate in patients with acute myocardial infarction. **Circulation**, v.81, p.939-948, novembro 1989.

RADLEY, J.J; KABBAJ, M; JACOBSON, L; HEYDENDAEL, W; YEHUDA, R; HERMAN, J.P. Stress risk factors and stress-related pathology: neuroplasticity, epigenetics and endophenotypes. **National institutes of health**,v.14, n.5, p.481-497, setembro 2011.

RADLEY, J; MORILAK, D; VIAU, V; CAMPEAU, S. Chronic Stress and brain plasticity: mechanisms underlying adaptative and maladaptative changes and implications for stress-related CNS disorders. **Neuroscience and Biobehavioural Reviews**, v.6, n.18, p.1-13, junho 2015.

RAQUEL, H.A; LYRA, A.A.S; SOUZA, C.O; SOUZA, H.M; ZAIA, C.T.B.V; MARTINS-PINGE, M.C. Biochemical characterization and body composition of a model of physical training by swimming in rats. **Biosaúde**, v.15, n.2, p.1-16, julho 2013.

RAVEN, P.T; FADEL, P.J; OGOH, S. Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. **Experimental Physiology**, v.91, n.1, p.37-49, 2005.

RIBEIRO, J.P; FILHO, R.S.M. Variabilidade da Frequência Cardíaca como instrumento de investigação do sistema nervoso autônomo. **Revista brasileira de hipertensão**, v.12, n.1, p.14-20, fevereiro 2005.

SCHUBERT, C; LAMBERTZ, M; NELESEN, R.A; BARDWELL, W; CHOI, J.B; DIMSDALE, J.E. Effects of stress on heart rate complexity – a comparison between short-term and chronic stress. **National Institutes of Health**, v.80, n.3, p.325-332, março 2009.

STAUSS, H. M. Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 34, n. 4, p. 362–8, 2007.

THOMPSON, P.D; CROUSE, S.F; GOODPASTER, B; KELLEY, D; MOYNA, N; PESCATELLO, L. The acute versus the chronic response to exercise. **American College of Sports Medicine**, v.33, n.6, p.438-445, junho 2001.

VANDERLEI, L.C.M; PASTRE, C.M; HOSHI, R.A; CARVALHO, T.D; GODOY, M.F. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Revista brasileira de cirurgia cardiovascular**, v.24, n.2, p.205-217, maio 2009.

WITTSTEIN, I.S. Stress cardiomyopathy: A Syndrome of catecholamine-mediated myocardial stunning? **Cell Molecular Neurobiology**, v.32, p.847-857, fevereiro 2012.