



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Beatriz Cardoso de Oliveira

**Avaliação do tratamento com extrato da *Euterpe oleracea* Mart. e do exercício físico regular na resposta vascular e no perfil oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos**

Rio de Janeiro

2021

Beatriz Cardoso de Oliveira

**Avaliação do tratamento com extrato da *Euterpe oleracea* Mart. e do exercício físico regular na resposta vascular e no perfil oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Angela de Castro Resende

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Aguiar da Costa

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

O48 Oliveira, Beatriz Cardoso de.  
Avaliação do tratamento com extrato da *Euterpe oleracea* Mart. e do exercício físico regular na resposta vascular e no perfil oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos / Beatriz Cardoso de Oliveira – 2021.  
89 f.

Orientadora: Angela de Castro Resende.  
Coorientadora: Cristiane Aguiar da Costa.  
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Programa de Pós-graduação em Biociências.

1. Hipertensão – Tratamento – Teses. 2. Açáí – Uso terapêutico – Teses. 3. Exercícios físicos – Aspectos da saúde – Teses. 4. Estresse oxidativo – Teses. 5. Ratos como animais de laboratório – Teses. I. Resende, Angela de Castro. II. Costa, Cristiane Aguiar da. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 616.12-008.331.1:633.88

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Beatriz Cardoso de Oliveira

**Avaliação do tratamento com extrato da *Euterpe oleracea* Mart. e do exercício físico regular na resposta vascular e no perfil oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 27 de abril de 2021.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Aguiar da Costa  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Angela de Castro Resende (Orientadora)  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Matsuura  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Renata Frauches Medeiros Coimbra  
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2021

## DEDICATÓRIA

À minha mãe, Maria Sueli.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me presentear com o dom da fé e me sustentar em todos os momentos.

Aos meus pais, pela vida dedicada a mim, por todo o carinho e por cada conselho. Nunca existirão palavras que me permitirão expressar o tamanho da minha gratidão em tê-los em minha vida.

À minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Angela Resende, pela oportunidade, pela paciência e por todos os ensinamentos. A senhora é um exemplo de profissionalismo. Obrigada por tudo que fez e faz por mim.

À minha coorientadora, Dra. Cristiane da Costa e as professoras Dra. Dayane Ognibene Dra Grazielle de Bem por todo o aprendizado e por me proporcionarem excelentes referências profissionais.

À Lurdes, Helena e aos meus demais familiares, por todo o apoio e incentivo. Obrigada por verem em mim o que eu não sou capaz de ver.

A todos os meus amigos do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular e Plantas Medicinais. É um prazer trabalhar em um ambiente com pessoas tão agradáveis. A vida acadêmica pode ser difícil as vezes mas fica muito mais fácil com vocês. Gostaria de agradecer especialmente ao Ricardo, com quem tenho aprendido muito desde a iniciação científica e que me ajudou muito antes e durante a pandemia.

À Patrícia, Yasmin e Fernanda. A amizade de vocês é essencial para mim. Obrigada por todos os conselhos e por sempre me ouvirem sofrer por antecedência. Nesse ano louco de pandemia, as coisas ficaram mais leves porque foram divididas com vocês.

Ao Lucas, pelo companheirismo, paciência e por sempre acreditar em mim, até mesmo quando eu não acredito. Você foi um dos melhores presentes que a UERJ me deu.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento que proporcionou o desenvolvimento deste trabalho e meu aperfeiçoamento pessoal e profissional.

Ninguém constrói nada sozinho eu sou muito grata por ter cada um de vocês

Daí que seja tão fundamental conhecer o conhecimento existente quanto saber que estamos abertos e aptos à produção do conhecimento ainda não existente

*Paulo Freire*

## RESUMO

OLIVEIRA, Beatriz Cardoso. **Avaliação do tratamento com extrato da *Euterpe oleracea* Mart. e do exercício físico regular na resposta vascular e no perfil oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos.** 2021. 89 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2021.

A hipertensão arterial (HA) é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A prática regular de atividade física é um tratamento não farmacológico e o extrato hidroalcoólico do caroço do açaí (ASE) tem propriedades anti-hipertensivas, antioxidantes e promove melhora da *performance* física. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento com ASE e do exercício físico moderado na função vascular de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e associar com o estado oxidativo e a *performance* física. Para isso, foram utilizados 10 ratos Wistar (CONTROLE) e 40 SHR divididos em SHR, SHR+ASE, SHR+TR (treinamento físico) e SHR+TR+ASE. O TR ocorreu por 8 semanas, 5 vezes por semana, durante 30 minutos, com intensidade de 50% da velocidade máxima atingida durante o teste de esforço, que foi realizado antes do início, no meio e ao final do treinamento. O ASE (200mg/kg/dia) foi administrado por gavagem durante 8 semanas. O peso corporal e a pressão arterial (PA) foram aferidos semanalmente. Os níveis séricos de lactato e glicose foram dosados antes do início e ao final do protocolo experimental. O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) também foi realizado. Ao final, os animais foram anestesiados e o leito arterial mesentérico e a aorta foram retirados para os ensaios de reatividade vascular em resposta à acetilcolina (ACh) e noradrenalina (NE). O plasma e a aorta foram separados para análises de marcadores da peroxidação lipídica, enzimas antioxidantes e níveis de nitrito. A expressão das proteínas peNOS (Ser1177), Nrf2, Keap1, NOX4 foram avaliadas em homogenato de aorta. A análise morfológica e imunohistoquímica do 8-isoprostano foram realizadas em aorta fixada em formaldeído. O tratamento com ASE reduziu o peso corporal, sem alteração adicional pelo TR. A glicemia aumentada no SHR não foi alterada pelo ASE ou TR, assim como não houve diferença no TOTG entre os grupos. O ASE aumentou os níveis de lactato ao final das 8 semanas. O TR promoveu uma melhora na *performance* física e o tratamento com ASE promoveu uma melhora adicional de 14% do tempo e 32% na distância. O ASE reduziu a PA, melhorou a resposta vascular, reduziu a espessura da parede da aorta e aumentou os níveis de nitrito, resultando em uma melhora da função vascular. Além disso, reduziu os marcadores do dano oxidativo e aumentou a atividade das enzimas antioxidantes. Não houve alteração na expressão das proteínas peNOS, Nrf2, Keap1 e NOX4. Desta forma, foi possível concluir que o tratamento com ASE promoveu um ganho adicional na *performance* dos animais submetidos ao treinamento físico e atuou na manutenção do desempenho adquirido. Este efeito benéfico do extrato pode ser atribuído em parte a redução da PA e a melhora da função vascular, o que não foi promovido pelo treinamento isoladamente, associada a uma redução do estresse oxidativo, resultando na melhora da disfunção endotelial comumente observada na hipertensão.

Palavras-chave: Hipertensão. ASE. Exercício físico. Estresse oxidativo.



## ABSTRACT

OLIVEIRA, Beatriz Cardoso. **Evaluation of treatment with extract of *Euterpe oleracea* Mart. and regular physical exercise on vascular response and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats.** 2021. 89 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2021

Hypertension is the most important risk factor for the development of cardiovascular diseases. The regular practice of physical activity is a non-pharmacological treatment and the açai seed extract (ASE) with antihypertensive, antioxidant properties and improves physical performance. Therefore, the aim of the present work was evaluate the effects of treatment with ASE and moderate physical exercise on the vascular function in spontaneously hypertensive rats (SHR) and associate it with the oxidative state and physical performance. For this, it was used 10 wistar rats (CONTROL) and 40 SHR divided into SHR, SHR+ASE, SHR+TR (training) and SHR+TR+ASE. The TR occurs for 8 weeks, 5 times a week, for 30 minutes, with an intensity of 50% of the maximum speed reached during the exercise test that was performed before the beginning, in the middle and at the end of the TR. The ASE (200mg/kg/day/) were administered by intragastric gavage for 8 weeks. Body weight and artery pressure were measured weekly. Serum lactate and glucose levels were measured before the beginning and at the end of the experimental protocol. The oral glucose tolerance test (OGTT) was also performed. At the end, the animals were anesthetized and the mesenteric arterial bed and aorta were removed for vascular reactivity tests in response to acetylcholine (ACh) and noradrenaline (NE). The plasma and aorta were separated for analysis of lipid peroxidation markers, antioxidant enzymes and nitrite level. The expression of peNOS (Ser1177), Nrf2, Keap1, NOX4 proteins were evaluated in aorta. Morphological and immunohistochemical analysis of 8-isoprostane were performed in aorta fixed in formaldehyde. The treatment with ASE reduced body weight, with no further change by TR. The increased glycemia in SHR was not altered by ASE or TR, as well as there was no difference in OGTT between the groups. The ASE increased lactate levels at the end of 8 weeks. TR promotes an improvement in performance and treatment with ASE promotes an additional improvement in time (14%) and distance (32%). ASE reduced BP, improved vascular response, reduced aortic wall thickness and increased nitrite levels, improving vascular function improvement. In addition, it reduced oxidative stress markers and increased the activity of antioxidant enzymes. There was no difference in the expression of Nrf2, Keap1 and NOX4 proteins. The treatment with ASE promoted an additional gain in the performance of the animals submitted to training and maintained the acquired performance. This beneficial effect of the extract can be attributed in part to the reduction of BP and the improved vascular function, which was not promoted by training alone, associated with reduction of oxidative stress, resulting in the improvement of endothelial dysfunction commonly observed in hypertension.

Keywords: Hypertension. ASE. Physical exercise. Oxidative stress

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Ilustração dos componentes dos vasos sanguíneos.....	19
Figura 2 –	Mecanismo de ação das enzimas antioxidantes.....	23
Figura 3 –	Via do Nrf2.....	24
Figura 4 –	Cascata de ativação do mecanismo de vasodilatação.....	26
Figura 5 –	Foto ilustrativa da <i>Euterpe oleracea</i> Mart.....	30
Figura 6 –	Análise do ASE por HPLC.....	31
Figura 7 –	Representação esquemática do modelo experimental .....	34
Figura 8 –	Protocolo de treinamento físico.....	35
Figura 9 –	Medida da PA pelo método da pletismografia de cauda.....	36
Figura 10 –	Isolamento do leito arterial mesentérico.....	38
Figura 11 –	Foto do esquema de perfusão do leito arterial mesentérico.....	39
Figura 12 –	Esquema de isolamento e medida de tensão da aorta.....	41
Figura 13 –	Efeito do tratamento com ASE e do exercício físico no ganho de peso.	48
Figura 14 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico na evolução do peso corporal.....	49
Figura 15 –	Efeito do tratamento com ASE e do exercício físico crônico nos níveis séricos de glicose.....	50
Figura 16 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no teste oral de tolerância a glicose.....	51
Figura 17 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato: comparação entre grupos.....	51
Figura 18 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato: comparação com os níveis iniciais.....	52
Figura 19 –	Efeito tratamento com ASE e do treinamento físico nos testes de esforço: comparação entre os testes.....	53
Figura 20 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico nos testes de esforço: comparação entre os grupos.....	53
Figura 21 –	Efeito do treinamento crônico e do tratamento com ASE na medida da pressão arterial.....	55

Figura 22 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico da resposta da acetilcolina em anéis de aorta.....	56
Figura 23 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico na resposta vasoconstritora da noradrenalina em anéis de aorta.....	58
Figura 24 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico na resposta vasodilatadora da acetilcolina em leito arterial mesentérico.....	59
Figura 25 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na curva dose-resposta da noradrenalina em leito arterial mesentérico.....	61
Figura 26 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico na espessura da camada média da aorta.....	62
Figura 27 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico nos níveis de nitrito.....	63
Figura 28 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão da peNOS (ser1177).....	64
Figura 29 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico sobre os níveis de TBARS.....	65
Figura 30 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão do 8-isoprastano.....	66
Figura 31 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da SOD.....	67
Figura 32 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da catalase.....	68
Figura 33 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da GPx.....	69
Figura 34 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo.....	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo e EC50 da curva concentração-efeito da acetilcolina em anel de aorta.....	57
Tabela 2 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo e EC50 da curva concentração-efeito da noradrenalina em anel de aorta....	58
Tabela 3 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo e ED50 da curva dose-resposta da noradrenalina em leito arterial mesentérico.....	60
Tabela 4 –	Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no Emax e ED50 da noradrenalina em leito arterial mesentérico.....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
ADRF	Fator Relaxante Derivado De Adipócitos
AKT	Akt/proteína cinase B
AMPK	Proteína Cinase Ativada Por Monofosfato De Adenosina
ARE	Elemento de resposta antioxidante
ASE	<i>Acaí Seed Extract</i>
BH4	Tetraidrobiopterina
bZIP	Fatores de transcrição de zíper de leucina básica
CAT	Catalase
DC	Débito cardíaco
DCV	Doenças cardiovasculares
EC	Extracelular
EDCF	Fatores De Contração Derivados Do Endotélio
EDHF	Fator Hiperpolarizante Derivado Do Endotélio
EDRF	Fatores Relaxantes Derivados Do Endotélio
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
ERN	Espécies Reativas De Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas De Oxigênio
ET-1	Endotelina-1
FAD	Dinucleótido de Flavina Adenina
GCs	Guanilato Ciclase Solúvel
GMPc	Monofosfato Cíclico De Guanosina
GPx	Glutaciona Peroxidase
GRd	Glutaciona Redutase
GSH	Glutaciona Reduzida
GSSG	Glutaciona Oxidada
HA	Hipertensão Arterial
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HO-1	Heme Hoxigenase 1
IC	Intracelular

iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
Keap1	<i>Kelch-like ECH-associated Protein 1</i>
LAM	Leito Arterial Mesentérico
MLCK	Proteína Cinase Da Cadeia Leve Da Miosina
MLV	Músculo Liso Vascular
NADH	Nicotinamida Dinucleótido De Nicotinamida E Adenina
NADPH	Fosfato De Dinucleótido De Nicotinamida E Adenina
NE	Noradrenalina
nNOS	Óxido Nítrico Sintase Neuronal
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NOX	NADPH Oxidase
Nrf2	Fator Nuclear Eritroide 2 Relacionado Ao Fator 2
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PGH2	Prostaglandina H2
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinase
PKA	Proteína Cinase A
RVP	Proteína Cinase Dependente De Gmpc
SBC	Sociedade Brasileira De Cardiologia
sMaf	<i>Small Musculoaponeurotic Fibrosarcoma</i>
SHR	Spontaneous Hypertensive Rats
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SOD	Superóxido Dismutase
TAPV	Tecido Adiposo Perivascular
TCA	Ácido Tricloroacético
TE	Teste de Esforço
TOTG	Teste Oral de Tolerância à Glicose
TXA2	Tromboxano A2

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1	<b>OBJETIVOS</b> .....	32
1.1	<b>Geral</b> .....	32
1.2	<b>Específicos</b> .....	32
2	<b>METODOLOGIA</b> .....	33
2.1	<b>Animais utilizados e modelo experimental</b> .....	33
2.2	<b>Preparo do extrato hidroalcoólico do caroço de açaí</b> .....	34
2.3	<b>Protocolo de treinamento físico</b> .....	35
2.4	<b>Medida da pressão arterial</b> .....	36
2.5	<b>Dosagens sanguíneas</b> .....	37
2.5.1	<u>Glicemia</u> .....	37
2.5.2	<u>Teste Oral de Tolerância à Glicose</u> .....	37
2.5.3	<u>Lactato</u> .....	37
2.6	<b>Isolamento do leito arterial mesentérico (LAM)</b> .....	38
2.7	<b>Medida da reatividade do LAM às substâncias vasoativas</b> .....	39
2.8	<b>Isolamento do anel de aorta</b> .....	40
2.9	<b>Medida da reatividade do anel de aorta às substâncias vasoativas</b> .....	41
2.10	<b>Morfologia da aorta</b> .....	42
2.11	<b>Imunohistoquímica</b> .....	42
2.12	<b>Dosagens de nitrito no plasma e na aorta</b> .....	43
2.13	<b>Ensaio Pró-oxidante</b> .....	43
2.13.1	<u>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico</u> .....	43
2.14	<b>Atividade das enzimas antioxidantes</b> .....	44
2.14.1	<u>Medida da superóxido dismutase</u> .....	44
2.14.2	<u>Medida da catalase</u> .....	45
2.14.3	<u>Medida da glutathione peroxidase</u> .....	45
2.15	<b>Análise da expressão de proteínas por Western Blotting</b> .....	46
2.16	<b>Análise estatística</b> .....	47
3	<b>RESULTADOS</b> .....	48
3.1	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no peso corporal</b> .....	48

3.2	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na glicemia e TOTG</b>	50
3.3	<b>Efeito tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato.....</b>	51
3.4	<b>Efeito do tratamento com ASE do treinamento físico nos testes de esforço...</b>	52
3.5	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na pressão arterial...</b>	54
3.6	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico sobre a resposta vasodilatadora da acetilcolina em anéis de aorta.....</b>	55
3.7	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasoconstrictora da noradrenalina em anéis de aorta.....</b>	57
3.8	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasodilatadora da acetilcolina em LAM.....</b>	59
3.9	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasoconstritora da noradrenalina em LAM.....</b>	60
3.10	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na espessura da camada média da aorta.....</b>	62
3.11	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico nos níveis de nitrito.....</b>	63
3.12	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão da peNOS.....</b>	63
3.13	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos marcadores de dano oxidativo.....</b>	64
3.13.1	<u>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....</u>	64
3.13.2	<u>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão do 8-isoprostano.....</u>	65
3.14	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico sobre a atividade das enzimas antioxidantes.....</b>	66
3.14.1	<u>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da SOD.....</u>	66
3.14.2	<u>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da catalase..</u>	67
3.14.3	<u>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da enzima GPx.....</u>	68
3.15	<b>Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo.....</b>	69
4	<b>DISCUSSÃO.....</b>	71



<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>

## INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças cardiovasculares (DCV), definidas como distúrbios que afetam os vasos e o coração, permanecem como a principal causa de mortalidade mundial (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2017). A hipertensão arterial (HA) é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de DCV e afeta mais de 1 bilhão de pessoas no mundo, sendo 1 em cada 4 homens e 1 em cada 5 mulheres (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019). No Brasil, a incidência desta patologia também é elevada. Dados do VIGITEL apontam que a prevalência de indivíduos diagnosticados com hipertensão no país foi de 24,7%, sendo mais prevalente em pessoas idosas e em estados com baixos índices de escolaridade (BRASIL, 2019).

Sendo assim, cresce a busca por formas de prevenção e tratamento para a HA. Cerca de 83,6% dos brasileiros com hipertensão fazem uso de alguma medicação (BRASIL, 2019). Entretanto, o controle da pressão arterial (PA) ocasionalmente pode ser comprometido em consequência da baixa adesão ao tratamento farmacológico, que pode ocorrer em virtude da baixa renda familiar, da quantidade de medicamentos associados, da dificuldade que os pacientes possuem de ler a embalagem dos fármacos, entre outros fatores (GEWEHR *et al.*, 2018). Por serem de fácil acesso e baixo custo, plantas medicinais são amplamente utilizadas como tratamento de diversas enfermidades, incluindo a hipertensão (RAMOS, E.; RAMOS, J.; DAMASCENA, 2019). Entretanto, para um melhor efeito destes recursos terapêuticos na redução ou prevenção da elevação da PA, é recomendado que sejam associados a alterações no estilo de vida do paciente.

O sedentarismo é reconhecido como um importante fator predisponente para o desenvolvimento ou agravamento da hipertensão (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019) e mais de 62% da população brasileira não pratica nenhum exercício físico ou esporte regularmente (IBGE, 2017). A atividade física é definida como um movimento corporal produzido pelo músculo esquelético que provoque gasto energético. Um termo comumente confundido com exercício físico, que é a atividade física planejada, estruturada e repetitiva que tem como propósito manter ou melhorar a aptidão física (CASPERSEN *et al.*, 1985). Este treinamento promove adaptações no organismo em resposta ao estresse provocado pelo exercício e ao aumento da demanda metabólica, resultando em alterações fisiológicas benéficas ao nosso organismo (HOLLOSZY; COYLE, 1984), que podem variar de acordo com o tempo, frequência e intensidade da atividade desempenhada.

## Hipertensão arterial sistêmica

A pressão arterial é definida como um produto da resistência vascular periférica (RVP) pelo débito cardíaco (DC) e, qualquer alteração em um ou em ambos os fatores, resulta em alterações nos níveis pressóricos. De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), considera-se um adulto normotenso, quando as medidas da pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) são respectivamente  $\leq 120$  e  $\leq 80$  mmHg. Quando estes valores estão entre 121 e 139 mmHg para PAS e entre 81 e 89 mmHg para PAD, o indivíduo pode ser considerado pré-hipertenso (MALACHIAS *et al.*, 2016). Segundo a 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (MALACHIAS *et al.*, 2016), a Sociedade Europeia de Cardiologia (WILLIAMS *et al.*, 2018) e a Sociedade Internacional de Hipertensão (Unger *et al.*, 2020), a hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica caracterizada pela elevação crônica dos níveis pressóricos, sendo sistólica  $\geq 140$  mmHg e/ou diastólica  $\geq 90$  mmHg, que geralmente está associada a alterações funcionais e estruturais de órgãos-alvo.

Além de ser um fator de risco para as DCV, a HAS é uma das principais causas de redução da expectativa de vida. Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), metade dos pacientes acometidos por esta patologia desconhece o diagnóstico. Sendo assim, como algumas pessoas podem não apresentar nenhum sintoma da elevação da PA, é necessário que seja feito o acompanhamento recorrente destes valores. Quando ocorrem, os sintomas podem incluir dores de cabeça matinais, hemorragias nasais, ritmos cardíacos irregulares, modificações na visão e zumbidos nos ouvidos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2017).

As alterações nos valores pressóricos podem estar ou não relacionadas a causas específicas. Podem ocorrer em virtude de hiperaldosteronismo primário, feocromocitoma, doença renal crônica, entre outras patologias (AMODEO *et al.*, 2010). Nestes casos, quando é possível identificar o que promoveu a elevação dos valores pressóricos, a hipertensão é classificada como secundária. Este tipo de HA é o mais raro e afeta entre 3 e 5% da população. O tipo mais comum, que acomete cerca de 95% dos pacientes hipertensos, é a denominada hipertensão arterial primária, idiopática ou essencial, quando não está relacionada a nenhuma outra patologia e a causa não pode ser identificada (VALLÉE *et al.*, 2019).

A manutenção e a regulação momentânea da PA são realizadas por mecanismos complexos que envolvem ações integrais dos sistemas cardiovascular, renal, nervoso e

endócrino. Dentre os diversos mecanismos responsáveis por esta regulação, dois são de grande relevância: a regulação neural e a regulação humoral (SANJULIANI, 2002). O controle humoral é feito pela secreção de substâncias como hormônios ou fatores produzidos localmente. Sendo assim, algumas destas moléculas podem ser transportadas pelo sangue e atuar em diversos locais ou apenas onde foram secretadas. Dentre os mediadores humorais, pode-se destacar a noradrenalina (NE), angiotensina II e a vasopressina, como vasoconstritores, e a bradicinina e a histamina, como vasodilatadores (GUYTON; HALL, 2011)

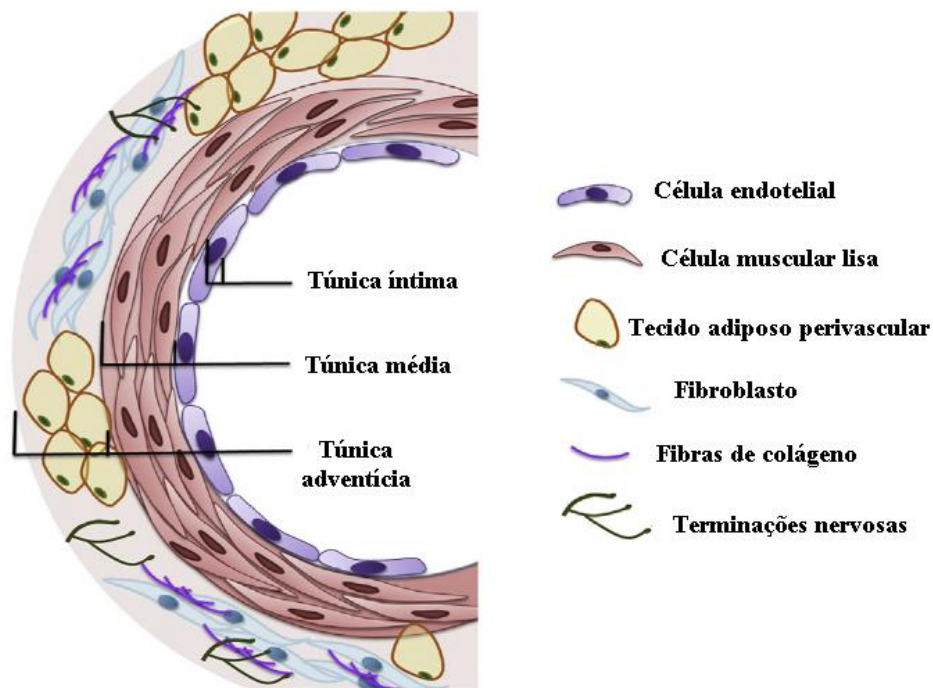
A regulação neural é realizada pelo sistema nervoso autônomo (SNA), através da ativação do sistema nervoso simpático (SNS) ou parassimpático (SNP), associado aos barorreceptores, que são mecanorreceptores responsáveis por detectar alterações no fluxo sanguíneo, através da deformação ou estiramento dos vasos (LIMA, 2017). São terminações nervosas presentes em diversas regiões, principalmente nas artérias aorta e carótida, localizados na camada adventícia destes vasos (MARTELLI, 2013). Na hipertensão arterial há um aumento da atividade do SNS e uma redução da sensibilidade dos barorreceptores, resultando em uma ineficiência dos mecanismos reguladores da PA, contribuindo ainda mais para o aumento pressórico (DOMINGOS-SOUZA *et al.*, 2021; LATERZA *et al.*, 2008)

O tratamento da hipertensão tem por finalidade a redução da PA para, conseqüentemente, reduzir também os riscos de morbimortalidade, proteger os órgãos-alvos e prevenir desfechos renais e cardiovasculares (MALACHIAS *et al.*, 2016). Pode incluir abordagens não farmacológicas como alterações na dieta, redução da ingestão de sódio, prática regular de atividade física, moderação no consumo de álcool e abandono do tabagismo. Entretanto, quando a hipertensão já está em um grau elevado, para que a PA possa ser efetivamente controlada, geralmente é necessário a utilização de um ou mais fármacos. Os mais utilizados são os diuréticos, agentes simpaticolíticos, bloqueadores dos canais de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), inibidores do sistema renina-angiotensina e os vasodilatadores, que têm como finalidade reduzir o DC e/ou a RVP, uma vez que estes são os fatores determinantes da PA (ESCHENHAGE; BRUNTON, 2019; MALACHIAS *et al.*, 2016). Segundo James *et al.*, (2014), mesmo com intervenções farmacológicas, as modificações no estilo de vida do paciente são extremamente importantes para a efetividade do tratamento.

## Estrutura dos vasos, função e disfunção endotelial

Os vasos sanguíneos, com exceção das vênulas e capilares, são compostos por três camadas: túnica íntima, média e adventícia (Figura 1). A túnica íntima ou endotélio é a camada mais interna dos vasos e permanece em contato direto com a corrente sanguínea. É composta por uma monocamada de células endoteliais e exerce função anticoagulante, anti-inflamatória e reguladora do tônus vascular, através da secreção de substâncias vasoconstritoras como prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) e endotelina-1 (ET-1) e substâncias vasodilatadoras como prostaciclina e o óxido nítrico (NO), o principal responsável pela vasodilatação (CARVALHO *et al.* 2001; ZHAO *et al.* 2015).

Figura 1 – Ilustração dos componentes dos vasos sanguíneos



Fonte: Adaptada de ZHAO *et al.*, 2015.

O NO é um radical livre que exerce diversas funções como molécula de sinalização e promove a vasodilatação dependente do endotélio. É produzido em resposta a agonistas como a acetilcolina (ACh), catecolaminas e a ativação de mecanorreceptores pela ação da enzima

óxido nítrico sintase (NOS), que converte o aminoácido L-arginina, em NO e L-citrulina com o auxílio de cofatores como tetraidrobiopterina (BH<sub>4</sub>), fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH), complexo cálcio-calmodulina e dinucleótido de flavina adenina (FAD). A NOS está presente no organismo em três isoformas: neuronal (nNOS), a induzível (iNOS) e a endotelial (eNOS). E para que a síntese de NO possa ocorrer, a NOS precisa estar em seu estado dimerizado e na presença de todos os seus cofatores. Do contrário, a enzima passa a produzir espécies reativas de oxigênio (ERO) que causam diversos danos para o organismo, incluindo disfunção endotelial (ZHAO *et al.* 2015; VANHOUTTE, 2018).

A segunda camada é a túnica média, composta por células musculares lisas responsáveis por promover efetivamente a vasoconstrição e vasodilatação. Por estar em contato direto com o endotélio, a túnica média responde aos agonistas por ele liberados. No músculo liso vascular (MLV), o NO induz a ativação da enzima guanilato ciclase solúvel (GCS), que produz monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), um mensageiro que ativa a proteína cinase dependente de GMPc (PKG). Esta promove uma redução nos níveis intracelulares de Ca<sup>2+</sup>, fazendo com que a proteína cinase da cadeia leve da miosina (MLCK) fique impossibilitada de fosforilar a miosina, resultando na vasodilatação. Em alguns vasos, o NO é capaz de ativar diretamente canais de K<sup>+</sup>, promovendo relaxamento do MLV por um mecanismo de hiperpolarização (Bolotina *et al.*, 1994). O MLV também responde a agentes vasoconstritores como a noradrenalina que, através da ativação de receptores  $\alpha$  na membrana, provoca o aumento dos níveis de Ca<sup>2+</sup>, resultando na ativação da maquinaria contrátil da célula muscular lisa (HIGASHI *et al.* 2004; VANHOUTTE, 2018; ZHAO *et al.* 2015).

A camada mais externa dos vasos, a túnica adventícia é composta por fibras de colágeno, fibroblastos, terminações nervosas e pelo tecido adiposo perivascular (TAPV) que recentemente passou a ser reconhecido como um importante regulador parácrino da homeostase e do tônus vascular, por secretar adiponectina, leptina, componentes do sistema renina-angiotensina, citocinas inflamatórias e fator relaxante derivado de adipócitos (ADRF). (LIAN; GOLLASCH, 2016).

Em indivíduos saudáveis, há um balanço entre a liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio (EDRF) e dos fatores de contração derivados do endotélio (EDCF), favorecendo o relaxamento dos vasos. Sendo assim, a manutenção da integridade da camada íntima, é de extrema importância para o adequado funcionamento do sistema vascular (CAHILL; REDMOND, 2016). Na hipertensão e em outras patologias, observa-se uma disfunção endotelial, que pode ser definida como um funcionamento inadequado do endotélio, caracterizado por uma redução da resposta aos agentes vasodilatadores e aumento da resposta

aos vasoconstritores, menor biodisponibilidade de NO e pelo aumento do estresse oxidativo (KONUKOGLU; UZUN, 2016), um outro distúrbio associado ao desenvolvimento da HAS

### **Estresse oxidativo**

O estresse oxidativo possui um papel chave na fisiopatologia de diversas doenças, incluindo a hipertensão (TOUYZ; BRIONES, 2010). É definido como um desequilíbrio entre a produção de compostos oxidantes e sua remoção do meio por moléculas antioxidantes, com predomínio das moléculas pró-oxidantes (JONES, 2008). As ERO e as espécies reativas de nitrogênio (ERN), que podem ser radicais livres ou não, são moléculas sintetizadas durante o metabolismo do oxigênio e do nitrogênio, respectivamente, e são pequenas o suficiente para se difundirem facilmente por outras moléculas biológicas (CAMPOS; LEME, 2018). São instáveis, altamente reativas e quando produzidas em excesso, podem promover danos em moléculas próximas como lipídeos, proteínas e outros componentes celulares, resultando em reações em cadeia que podem ser altamente prejudiciais (JONES, 2008; MARTELLI e NUNES, 2014).

Durante a obtenção de energia pelo metabolismo do oxigênio, ele é reduzido a água, através da incorporação de elétrons. Quando isto não ocorre de forma adequada, as ERO são produzidas, como por exemplo, o ânion superóxido ( $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $O_2 + e^- + 2H \rightarrow H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $H_2O_2 + e^- \rightarrow OH^- + OH^\cdot$ ). As ações dessas moléculas sobre os componentes celulares variam de acordo com o tempo de meia-vida, capacidade de permear as membranas, localização celular e proximidade com agentes antioxidantes (SILVA; GONÇALVES, 2010).

No contexto do sistema vascular, o  $O_2^-$ , o  $OH^\cdot$  e o  $H_2O_2$  são as ERO mais relevantes. Podem ser originadas através de mecanismos enzimáticos ou não. Dentre os enzimáticos cabe ressaltar o desacoplamento da eNOS (VANHOUTTE, 2018) e a atividade das enzimas da família das NADPH oxidase (NOX) (SIES *et al.*, 2017). Como dito anteriormente, a eNOS é responsável por sintetizar o vasodilatador NO. Mas, para isso, precisa estar na presença de seus cofatores e em seu estado dimerizado, do contrário esta enzima passa a sintetizar ânion superóxido (VANHOUTTE, 2018).

As NOX são enzimas primariamente expressas em fagócitos e estão relacionadas ao sistema imune. São proteínas transmembrana que atuam no transporte de elétrons para reduzir

o  $O_2$  a  $O_2^-$ , e são, portanto, a principal fonte endógena de ânion superóxido (SIES *et al.*, 2017; TOUYZ; BRIONES, 2010). Embora atuem na defesa do organismo, também são encontradas em outros tecidos. As isoformas NOX1, NOX2 e NOX4 foram encontradas nos vasos e possuem estreita relação com a hipertensão e com a disfunção endotelial, especialmente a NOX4, contribuindo para o aumento do estresse oxidativo (CAMARGO *et al.*, 2018).

Embora possuam essa capacidade de promover danos, quando em concentrações elevadas, as ERO também desempenham importantes funções fisiológicas como mediadores de vias de sinalização, ativadores de fatores de transcrição, reguladores do tônus vascular, atuam também nos processos de inflamação, apoptose, entre outras ações que regulam a homeostasia (TOUYZ; BRIONES, 2010). Para evitar a produção excessiva de ERO e subsequentes danos celulares, existem os compostos antioxidantes que podem ser de natureza enzimática ou não.

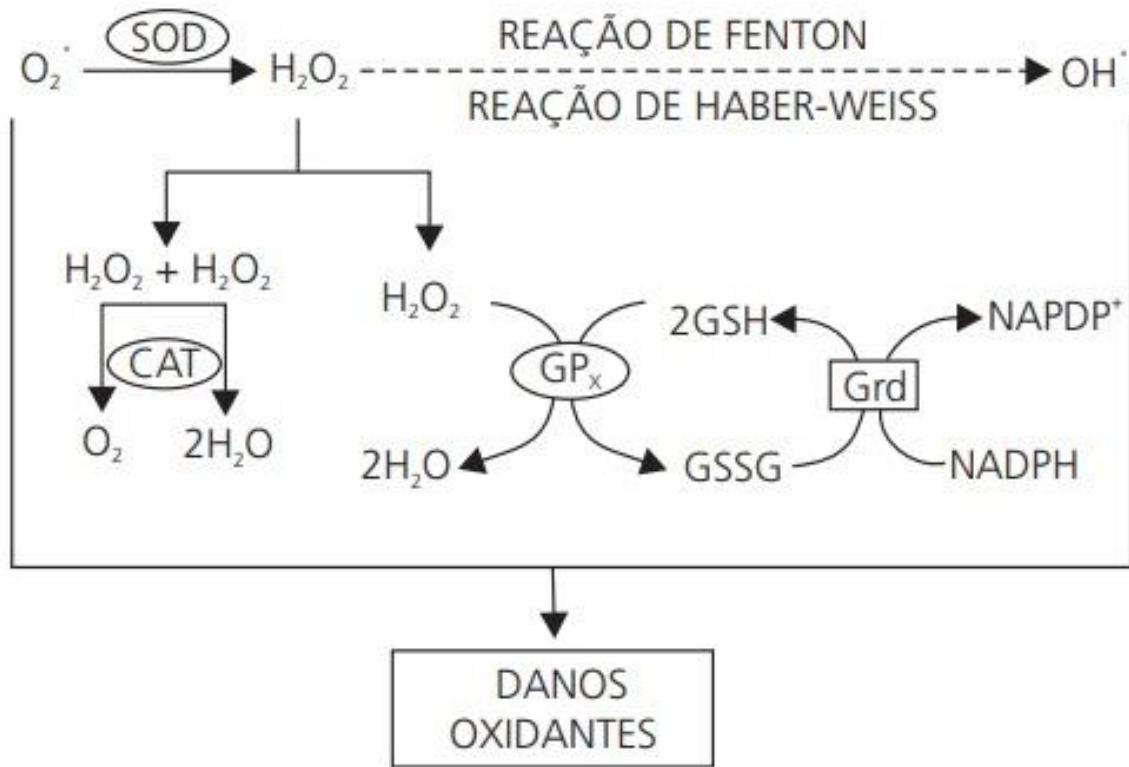
As vitaminas lipossolúveis (vitamina A, D, E), vitaminas hidrossolúveis (vitaminas C e do complexo B), assim como os oligoelementos (zinco, magnésio, selênio, etc.) e os flavonoides derivados de plantas são exemplos de antioxidantes não enzimáticos. Algumas destas moléculas podem reagir diretamente com as ERO e neutralizá-las (PISOSCHI *et al.*, 2016; SILVA; GONÇALVES, 2010). Dentre os antioxidantes enzimáticos, merecem destaque as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), glutaciona peroxidase (GPx) e a catalase (CAT) (Figura 2).

A SOD é a primeira linha de defesa antioxidante e uma das enzimas mais importantes, uma vez que dismuta o  $O_2^-$  em  $H_2O_2$ . Em humanos, foram encontradas três diferentes isoformas, sendo duas intracelulares (IC) e uma extracelular (EC). A SOD1 é uma isoforma IC, cobre-zinco dependente localizada no citosol, enquanto a SOD2, também IC, é dependente de manganês e encontra-se na mitocôndria. De forma semelhante, a isoforma SOD3 também é uma enzima cobre-zinco dependente, mas está localizada no meio EC (LEWANDOWSKI, 2018).

A GPx está localizada no meio IC e atua na redução do  $H_2O_2$  em água. Para isso, a GPx converte a glutaciona reduzida (GSH) em glutaciona oxidada (GSSG). Posteriormente, a glutaciona redutase (GRd) regenera a GSH a partir do NADPH (BARBOSA *et al.*, 2010). Sendo assim, mesmo a GRd não sendo uma enzima com ação antioxidante direta, ela é importante para que o ciclo não paralise e a GPx possa continuar a exercer sua atividade. De forma semelhante, a CAT é uma proteína tetramérica, localizada no citosol e nos peroxissomas, que também atua na dismutação do  $H_2O_2$  originando, entretanto, água e oxigênio molecular ( $O_2$ ) como produtos da reação (GOYAL; BASAK, 2010).



Figura 2 – Mecanismo de ação das enzimas antioxidantes

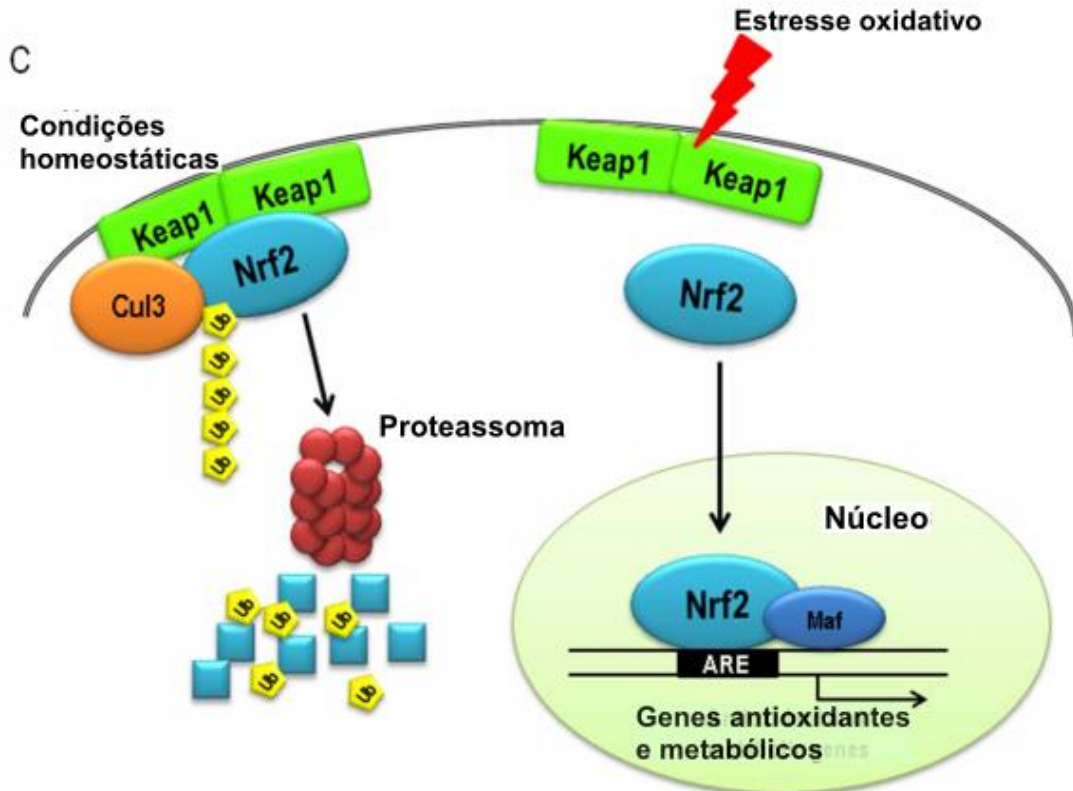


Legenda: A superóxido dismutase (SOD) dismuta o  $O_2^{\cdot -}$  em  $H_2O_2$ , que fica livre para que as enzimas catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) possam dismutá-lo em  $O_2+H_2O$  e  $H_2O$ , respectivamente.  
 Fonte: BARBOSA *et al.*, 2010.

A via do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) tem recebido bastante destaque como um regulador chave do estresse oxidativo. Descoberto em 1994 (MOI *et al.*), o Nrf2 é uma proteína pertencente a uma subfamília de fatores de transcrição de zíper de leucina básica (bZIP) que, em condições fisiológicas, está localizada no citoplasma ligado a duas unidades de sua proteína repressora Keap1 (do inglês *Kelch-like ECH-associated Protein 1*), sendo ubiquitinada e posteriormente degradada no citoplasma. Quando há um aumento da produção de ERO, determinados resíduos de cisteína da Keap1 são oxidados, promovendo uma mudança conformacional e sua subsequente dissociação do Nrf2. Este, por sua vez, fica livre e é translocado para o núcleo, onde se liga à proteínas sMaf (do inglês *small musculoaponeurotic fibrosarcoma*). O complexo Nrf2-sMaf se associa a uma região promotora, o elemento de resposta antioxidante (ARE), e iniciam a transcrição das enzimas

SOD, CAT, GPx, GR, heme oxigenase 1 (HO-1), dentre outras proteínas com ação antioxidante (Figura 3) (BELLEZZA *et al.*, 2018; HAHN *et al.*, 2017; MA, 2013).

Figura 3 – Via do Nrf2



Legenda: No estado basal, o Nrf2 está ligado às suas proteínas repressoras Keap1, é ubiquitinado e degradado no proteassoma. Quando há um aumento de ERO, ele se desliga destas proteínas, é translocado para o núcleo, se liga a proteína Maf e, juntos, aos ARE, promovendo a transcrição de agentes antioxidantes.

Fonte: Adaptada de BELLEZZA *et al.*, 2018.

O exercício físico de intensidade moderada promove um aumento no consumo de oxigênio e, conseqüentemente, resulta na produção de ERO, sendo frequentemente associado a um estado agudo de estresse oxidativo. Entretanto, estudos recentes sobre o papel das ERO nas adaptações ao exercício, sugerem que a produção aumentada de ERO pelo exercício sem promover estresse oxidativo parece estar integrada ao conceito de que ERO exercem um papel importante como mensageiros secundários para as adaptações vasculares ao exercício aeróbico (TANAKA *et al.*, 2015). De acordo com Kojda e Hambrecht (2005), a formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> promovida pelo exercício pode regular positivamente a eNOS, com conseqüente aumento da síntese de NO e melhora da resposta vascular. Como o aumento dos componentes

pró-oxidantes é um fator contribuinte para o agravamento da hipertensão, a atenuação do estresse oxidativo torna-se um excelente alvo para novas estratégias terapêuticas.

### **Hipertensão arterial e a atividade física**

A prática regular de atividade física tem sido reconhecida como uma importante ferramenta não farmacológica para o tratamento ou prevenção da HA. Somado a isso, o sedentarismo é um fator de risco para o desenvolvimento de DCV (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2017). Os efeitos benéficos ocorrem em virtude das adaptações desenvolvidas pelo organismo em resposta ao estresse provocado pelo exercício (HAMBRECHT *et al.*, 2003).

Durante a prática da atividade física há um aumento significativo da demanda metabólica. Tendo em vista a elevada necessidade de oxigênio requerida pelo músculo, o sistema vascular desenvolve melhorias para oxigenar a musculatura adequadamente, como o aumento do fluxo sanguíneo regional provocado pela vasodilatação local e uma redução da resposta aos agentes vasoconstritores (NYBERG *et al.*, 2015).

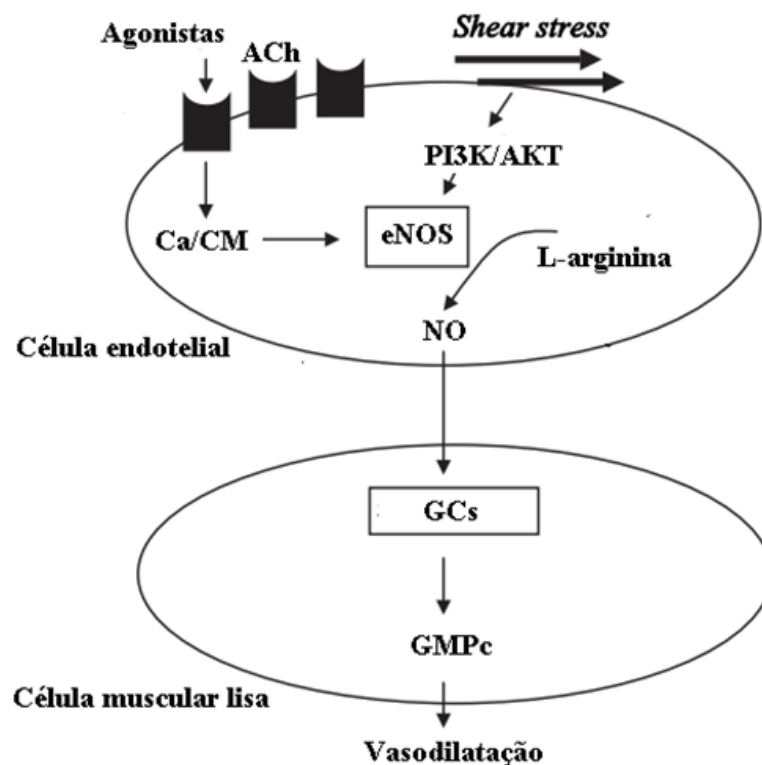
Neste contexto, a força de fricção que o fluxo sanguíneo exerce sobre a parede dos vasos, denominada *shear stress*, permanece elevada durante a atividade física e exerce uma importante função para estas adaptações (NIEBAUER; COOKE, 1996). Este aumento é detectado pelos mecanorreceptores presentes no endotélio, que promovem a ativação de cascatas de sinalização responsáveis por ativar proteínas com ação vasodilatadora, antioxidantes e anti-inflamatórias (RODRÍGUEZ-NÚÑEZ *et al.*, 2016).

A ativação destes mecanorreceptores, promove um influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  para o interior da célula endotelial e conseqüentemente ativa vias de sinalização dependentes do complexo cálcio-calmodulina ( $\text{Ca}^{2+}$ - Calmodulina), como a via da eNOS (RODRÍGUEZ-NÚÑEZ *et al.*, 2016). Além disso, o *shear stress* promove o aumento na fosforilação de proteínas envolvidas na cascata de ativação da eNOS como fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K), Akt/proteína cinase B (AKT), proteína cinase A (PKA) e a proteína cinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK), através da fosforilação da eNOS nos resíduos serina 1177, 635 e 617, de forma independente de  $\text{Ca}^{2+}$  (ZHANG *et al.*, 2009). Este aumento da atividade da eNOS resulta em uma maior biodisponibilidade de NO (Figura 4). Portanto, o efeito benéfico do exercício

físico está intimamente relacionado ao aumento da fosforilação da eNOS dependente de Akt e induzida pelo *shear stress* (HAMBRECHT, *et al.*, 2003).

A prática regular de exercício físico também melhora a vascularização mesentérica e a resposta do endotélio a agentes vasodilatadores como a acetilcolina (CHEN *et al.*, 1999, HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015). Além disso, reduz a resposta aos agentes vasoconstritores, favorecendo ainda mais a vasodilatação. Estudos realizados em pessoas ou animais, tanto saudáveis como portadores de doenças cardiovasculares, mostraram que esta ação se dá através da redução da atividade simpática (CARTER; RAY, 2015) e menor responsividade à agentes vasoconstritores como a fenilefrina (JANSAKUL; HIRUNPAN, 1999).

Figura 4 - Cascata de ativação do mecanismo de vasodilatação



Nota: Mecanismos de relaxamento das células musculares lisas. A ação de agonistas como ACh e o *shear stress* promovem a síntese de NO pelas células endoteliais que se difunde para o músculo liso, aumenta a concentração de GMPc e provoca o relaxamento da musculatura.

Fonte: Adaptada de HIGASHI; YOSHIZUMI, 2004.

## Obtensão de energia durante a atividade física

Durante a prática de exercício físico, a necessidade de energia requerida pelo músculo aumenta e o estoque limitado de adenosina trifosfato (ATP) disponível rapidamente acaba. Para que o movimento continue a ser executado, o organismo precisa ressintetizar ATP e isto pode ser feito de três formas distintas: através dos metabolismos aeróbio, anaeróbio láctico e anaeróbio alático. A via aeróbia ocorre na presença de oxigênio e utiliza preferencialmente carboidratos e gorduras como fonte energética. A glicose obtida por essas biomoléculas passará pela via glicolítica e originará duas moléculas de ácido pirúvico e um saldo de 2 moléculas de ATP, que serão direcionados à mitocôndria onde, ao final da passagem pelo ciclo de Krebs e pela cadeia transportadora de elétrons, irão originar moléculas de ATP, que serão utilizadas pelo músculo, e ROS (NELSON; COX, 2014). Além destes diversos processos, para que o ATP possa ser sintetizado, é necessário que o fluxo sanguíneo se eleve para que possa fornecer oxigênio suficiente, por isto, esta via de produção de ATP é mais lenta e demora em torno de 1 a 2 minutos para funcionar adequadamente. Sendo assim, os exercícios ditos aeróbicos são aqueles de longa duração e intensidade moderada (CAPUTO *et al.*, 2011).

As outras duas vias de ressíntese do ATP não necessitam da presença de oxigênio. A produção de energia pela via anaeróbica alática é feita pela enzima creatina-cinase que converte uma molécula de fosfocreatina presente no músculo e adenosina difosfato (ADP) em creatina e ATP. Na via anaeróbia láctica ocorre a passagem de glicose pela via glicolítica, formando ATP e ácido pirúvico (CAPUTO *et al.*, 2011) que, por sua vez, será reduzido a lactato pela nicotinamida dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADH). Evidências sugerem que o aumento da concentração de lactato pode provocar uma redução do pH sanguíneo e seja a causa fadiga muscular (JONES, 1989 apud WATANABE *et al.*, 2006) pela liberação de H<sup>+</sup> do ácido láctico, a forma ácida do lactato (NELSON e COX, 2014).

Entretanto, para que a ressíntese de ATP possa ocorrer, é necessário que haja a captação de glicose pelas células. Em pacientes com diabetes tipo 2, o exercício físico reduziu os níveis de glicose na corrente sanguínea (FIGUEIRA *et al.*, 2013), por aumentar a translocação do transportador de glicose GLUT4 para a membrana. Esse efeito possivelmente é mediado pelo NO ao ativar a via GCs/GMPc/PKG (HONG *et al.*, 2014), bem como pela redução da concentração de ATP e da formação do complexo Ca<sup>+</sup>-calmodulina que aumentam a expressão e a translocação de GLUT4 (RICHTER; HARGREAVES, 2013). Este efeito do

exercício físico no metabolismo da glicose é benéfico também para pacientes com HA, uma vez que quase metade das pessoas acometidas pela hipertensão essencial desenvolvem resistência à insulina (SHIMAMOTO; URA, 2006), bem como os animais SHR (YAMORI *et al.*, 1978) que, além disso, possuem deficiência na translocação do GLUT4 para a membrana (CHIAPPE *et al.*, 2004).

Este aumento da demanda energética, portanto, pode promover também um aumento na produção de ROS, que podem ser danosas para o organismo (Simione *et al.*, 2018), e de lactato, possivelmente causando fadiga muscular e reduzindo o desempenho físico

### **Modelo experimental de hipertensão**

Segundo a American Heart Association, os ratos espontaneamente hipertensos (SHR, abreviado do inglês *spontaneously hypertensive rats*) são um dos modelos mais utilizados para estudos farmacológicos e fisiopatológicos da hipertensão (LERMAN *et al.*, 2019). Esse modelo experimental foi desenvolvido na Universidade de Kyoto, no Japão, por Okamoto e Aoki (1963), através do cruzamento entre um macho da linhagem Wistar que apresentava hipertensão espontaneamente e uma fêmea, de mesma linhagem, com PA um pouco acima da média. O subsequente cruzamento gerou proles onde 100% dos animais desenvolveram hipertensão sem que nenhum recurso cirúrgico ou farmacológico fosse necessário. Por apresentarem uma predisposição genética sem etiologia específica, os ratos SHR são amplamente utilizados como um modelo experimental para a hipertensão essencial e doenças cardiovasculares.

Ao nascimento, os SHR apresentam valores pressóricos normais. A partir da 3<sup>o</sup> ou 4<sup>o</sup> semana de vida já possível notar uma diferença significativa em comparação ao controle normotenso. A PAS pode continuar aumentando até a 20<sup>o</sup> semana, quando se estabiliza, atingindo valores médios entre 190-200 mmHg (DICKHOUT; LEE, 1998). Estudos concluíram que neste modelo há uma superativação do sistema nervoso simpático, o que também promove um aumento da liberação de renina e, conseqüentemente, da ativação do sistema renina-angiotensina. Somado a isso, o estresse oxidativo elevado, a disfunção endotelial e a redução da biodisponibilidade de NO contribuem para a elevação da PA (DORNAS; SILVA, 2011; RECKELHOFF *et al.*, 2018).

No início do desenvolvimento da hipertensão, o débito cardíaco destes animais se mostra elevado enquanto a resistência vascular periférica se mantém normal. Conforme a patologia progride, o DC retorna a níveis normais, enquanto a RVP se eleva, como resultado de uma hipertrofia da parede dos vasos (SMITH; HUTCHINS, 1979 apud DORNAS e Silva, 2011). Com o agravamento da hipertensão, os SHR desenvolvem também uma hipertrofia cardíaca (LIU *et al.*, 2018) e danos renais (HULTSTRÖM, 2012).

### **Extrato hidroalcoólico do caroço do açaí (ASE)**

As plantas são utilizadas com fins medicinais desde a antiguidade e foram um dos primeiros recursos terapêuticos com os quais a humanidade se beneficiou. Os registros mais antigos foram encontrados na região da Mesopotâmia e datam de 2.600 a.C. O Papiro de Ebers, de 1.500 a.C., foi escrito no Egito antigo e é um dos tratados médicos mais antigos que se tem conhecimento, onde são descritos diversos tratamentos com produtos naturais (BRANDELLI; MONTEIRO, 2017).

Os polifenóis são compostos sintetizados pelo metabolismo secundário dos vegetais em resposta à estímulos ambientais, no qual atuam como atrativos para agentes polinizadores, pigmentos, antioxidantes, protegem contra os raios ultravioletas, patógenos, predadores entre outras funções. São classificados de acordo com o número de anéis fenólicos e com seus elementos estruturais (IGNAT *et al.*, 2011). Sendo assim, o consumo de alimentos ricos em polifenóis pode prevenir ou tratar diversas doenças e promove muitos benefícios para a saúde (MATEUS, 2018).

A *Euterpe oleracea* Mart. (Figura 5) é uma palmácea pertencente à família Arecaceae e popularmente conhecida como açaizeiro, açaí-do-Pará ou açaí-verdadeiro. Amplamente distribuída na região Amazônica, sendo o estado do Pará o maior produtor, pode ser naturalmente encontrada tanto em igapós, quanto em terra firme e seus frutos são vistos durante todo o ano (NASCIMENTO, 2008).

Figura 5 - Foto ilustrativa da *Euterpe oleracea* Mart



Fonte: VILA VERDE, 2015.

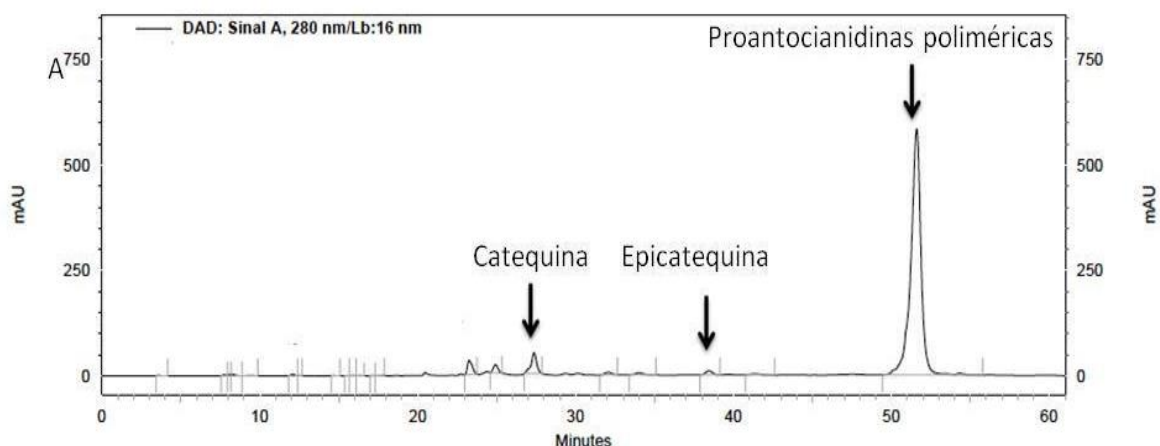
A polpa é utilizada na produção de sucos, sorvetes, geleias e licores. Para as populações ribeirinhas da região norte do Brasil, é considerado um alimento básico, onde a polpa é extraída do fruto e consumida com farinha, camarão ou peixe. Também são produzidos xaxins com as fibras e produtos artesanais com o caroço (EMBRAPA, 2005). A polpa é uma excelente fonte energética em razão de seu alto teor lipídico. Na polpa liofilizada foram encontrados aproximadamente 40% de lipídeos e 34,76% de carboidratos, contendo ainda proteínas, fibras e minerais como cálcio, potássio e magnésio (MENEZES *et al.*, 2008).

Na medicina popular, a polpa do açai é utilizada para o tratamento da diarreia (FLOR; BARBORA, 2015), febre, dor e inflamação (ANDRIANTSITOHAINA *et al.*, 2012). Possui ação antioxidante, anti-inflamatória, moduladora do sistema imune, antienvelhecimento, melhora a diabetes tipo 2 e a síndrome metabólica (PORTINHO *et al.*, 2012). Estes efeitos são proporcionados pelo seu conteúdo polifenólico rico em catequina, epicatequina, antocianidinas (cianidina 3-glucosídeo, cianidina 3-arabinosídeo e cianidina 3-rutinosídeo), entre outros (BOBBIO, 2000).

Estudos prévios do nosso grupo evidenciaram que o extrato hidroalcoólico do caroço do açai (ASE), uma parte negligenciada do fruto, é rico em catequinas, epicatequinas e proantocianidinas poliméricas (MOURA *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2015) (Figura 6), e possui um conteúdo polifenólico e uma ação vasodilatadora dependente de endotélio mais expressivos que o extrato obtido da polpa, mediada pelo aumento da síntese e biodisponibilidade do NO, bem como pela ação do fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) (ROCHA *et al.*, 2007).



Figura 6 – Análise do ASE por HPLC



Legenda: Análise por HPLC do ASE.

Nota: Os picos marcados a 27, 38 e 51 minutos correspondem a catequina, epicatequina e proantocianidinas poliméricas respectivamente.

Fonte: DE OLIVEIRA et al., 2015.

Possui ainda efeito anti-hipertensivo (COSTA *et al.*, 2012; ROCHA *et al.*, 2008;), ação antioxidante (COSTA *et al.*, 2012; ROCHA *et al.*, 2008), protetora contra os danos causados pela disfunção endotelial, obesidade e diabetes mellitus tipo 1 e 2 (CORDEIRO *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2012; DE BEM *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2010, 2015). Além disso, conta com propriedades anti-inflamatórias (MOURA *et al.*, 2012), hipolipidêmica (OLIVEIRA *et al.*, 2015), hipoglicemiante (DE BEM *et al.*, 2017, 2018) e reduz a ativação do sistema renina-angiotensina (ROMÃO *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2020)

Somado a isso, um estudo recente publicado pelo nosso grupo evidenciou que animais saudáveis que praticaram treinamento físico de intensidade moderada e foram suplementados com ASE, obtiveram um ganho significativo na *performance* física, indicando um importante efeito estimulante do extrato, além de reduzir a reatividade vascular à agente vasoconstritor e melhorar a função endotelial (SOARES *et al.*, 2020). Sendo assim, com base nas propriedades do ASE já descritas, criamos a hipótese de que, em modelo de hipertensão experimental, uma possível melhora da *performance* física pelo ASE possa envolver sua ação sobre o sistema vascular, com efeito direto na função circulatória, e sua ação antioxidante.

## 1 OBJETIVOS

### 1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do tratamento com ASE e do exercício físico moderado na função vascular de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e associar com o estado oxidativo e a *performance* física.

### 1.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito do tratamento com ASE em ratos Wistar submetidos à prática regular de exercício sobre:

- a) o peso e os níveis séricos de glicose de ratos SHR;
- b) os níveis séricos de lactato dos animais submetidos a treinamento físico;
- c) *performance* dos animais treinados;
- d) a medida da pressão arterial;
- e) a função endotelial e do músculo liso vascular em resposta a agentes vasoativos, em artéria aorta isolada e no leito arterial mesentérico de ratos;
- f) os níveis plasmático e tecidual (aorta) de no, e expressão da peNOS vascular e associar com a função endotelial;
- g) marcadores do dano oxidativo e a atividade enzimática antioxidante em aorta isolada;
- h) a expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Animais utilizados e modelo experimental

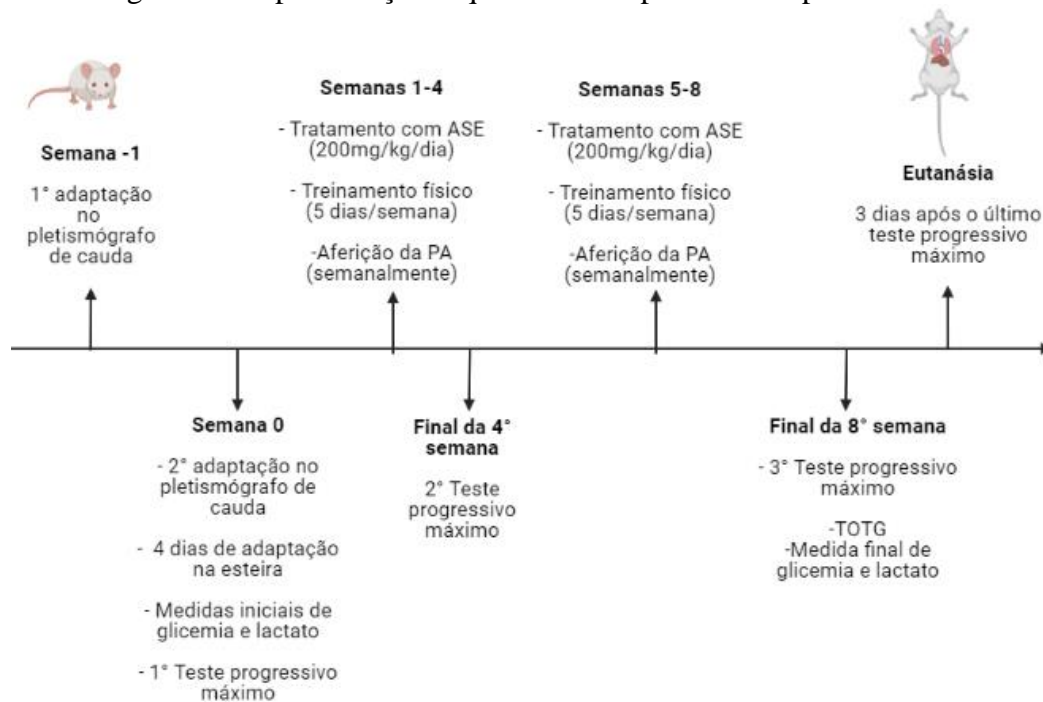
Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (Nº CEUA/006/2017). Foram utilizados 40 ratos SHR e 10 ratos Wistar de 11 semanas, provenientes do Biotério do Departamento de Farmacologia e Psicobiologia/IBRAG/UERJ. Foram mantidos em caixas de polipropileno, em ambiente com temperatura média de  $(23 \pm 2^\circ\text{C})$  e umidade  $(60 \pm 10\%)$  controladas. O ciclo de sono-vigília foi de 12 h, com presença de luz a partir das 6:00 h da manhã. Foram divididos nos seguintes grupos com  $n=10$ :

- a) **CONTROLE** (Controle normotenso Wistar): dieta padrão e água livremente durante 8 semanas
- b) **SHR** (CONTROLE SHR): dieta padrão e água livremente durante 8 semanas;
- c) **SHR+ASE**: dieta padrão e água livremente, 200mg/kg/dia de ASE por gavagem intragástrica durante 8 semanas;
- d) **SHR+TR** (SHR+Treino): dieta padrão, água livremente e treinamento durante 8 semanas;
- e) **SHR+TR+ASE** (SHR+Treino+ASE): dieta padrão, água livremente, treinamento e 200mg/kg/dia de ASE por gavagem intragástrica durante 8 semanas.

Os animais que não foram tratados com ASE receberam água por gavagem intragástrica diariamente para serem submetidos ao mesmo estresse. O peso corporal foi aferido semanalmente em balança digital.

Antes do início dos protocolos experimentais, os animais passaram por períodos de adaptação na esteira e no aparelho de pletismografia de cauda, conforme a Figura 7.

Figura 7 – Representação esquemática do protocolo experimental



Legenda: Antes do início do protocolo experimental os animais passaram por dois dias de adaptação no pletismógrafo de cauda (semana -1 e 0) e 4 dias de adaptação da esteira (semana 0). Ao final da semana 0, foi realizado o 1º teste de esforço que foi repetido na 4ª e 8ª semana. Os animais treinaram 5 dias por semana, durante 8 semanas. A pressão arterial foi aferida semanalmente.

Fonte: A autora, 2021.

## 2.2 Preparo do extrato hidroalcoólico do caroço de açaí

Foram utilizados frutos da planta *Euterpe oleracea* Mart. (açaí), provenientes de Belém, fornecidos pelo colaborador Professor Dr. Pergentino José Cunha Souza, docente da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará. Após a lavagem dos frutos, aproximadamente 200 g de caroço foram separados, triturados, embebidos em 400 mL de água destilada, e então fervidos por cinco minutos. Imediatamente após a fervura acrescentou-se 400 mL de etanol. O extrato hidroalcoólico foi guardado em geladeira e agitado periodicamente por 1h ao longo de 10 dias. Ao final deste período, o extrato foi filtrado em papel de filtro comum e em papel de filtro tipo Whatman número 1. Posteriormente, todo o etanol foi evaporado à baixa pressão na temperatura de 50° a 60°C. O resíduo foi liofilizado e mantido a -20°C até o uso (ROCHA *et al.* 2007). Após o preparo de todos os extratos, o conteúdo de polifenóis foi medido pelo método colorimétrico determinado por (SINGLETON, 1965) usando o reagente Folin Ciocalteau, assim como o seu potencial

vasodilatador verificado através da reatividade vascular. Essas medidas são utilizadas como controle de qualidade e viabilidade do extrato para a posterior utilização. A dose tóxica de administração do ASE é a partir de 1,5 g/kg (dados não publicados).

### 2.3 Protocolo de treinamento físico

Antes do início do treinamento físico aeróbico, os animais dos grupos SHR+TR e SHR+TR+ASE foram adaptados por 4 dias na esteira. Posteriormente, foram submetidos a um teste progressivo máximo para a determinação da intensidade de treinamento (teste de esforço). O teste consistiu em um protocolo de exercício físico escalonado em esteira rolante, com velocidade inicial de 3m/min, incrementada de 4m/min a cada três minutos até a exaustão do animal, momento em que não é mais mantido o padrão de corrida.

Após a definição da velocidade pelo teste de esforço (TE), o treinamento físico crônico foi realizado em esteira rolante durante oito semanas, cinco vezes por semana, com duração de trinta minutos cada sessão (Figura 8). A velocidade do treinamento físico crônico foi progressivamente aumentada de 50% até 60% da velocidade máxima atingida durante o teste progressivo máximo, que corresponde a uma intensidade moderada de treinamento (MATSUURA *et al.*, 2010; SOARES *et al.*, 2020). O teste progressivo máximo foi repetido mais duas vezes: uma ao final da 4<sup>o</sup> semana, para verificar e ajustar as velocidades do treinamento, e outra ao final da 8<sup>o</sup> semana, para verificar as alterações no tempo e na distância percorrida, ocasionadas pelo treinamento físico crônico.

Figura 8 – Protocolo de treinamento físico

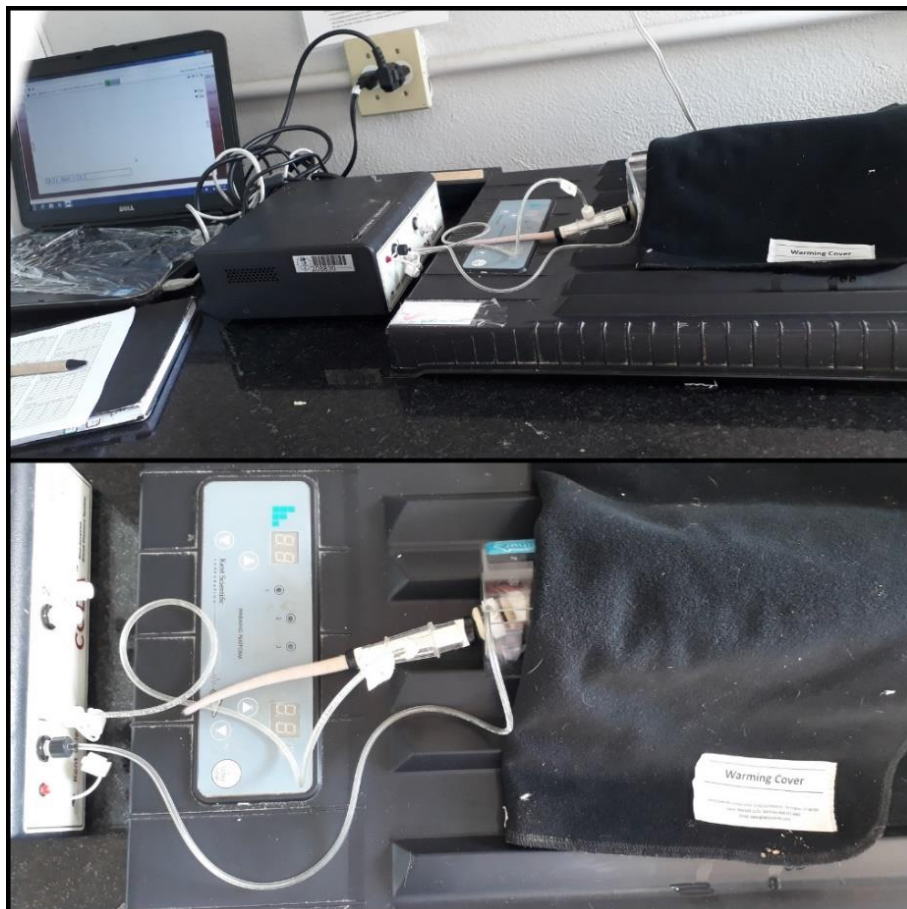
Semanas	Aquecimento	Corrida	Recuperação
1 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	9 m/min (22 min) + 11 m/min (2 min)	3 m/min (3min)
2 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	9 m/min (20min) + 11 m/min (4 min)	3 m/min (3min)
3 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	9 m/min (18min) + 11 m/min (6min)	3 m/min (3min)
4 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	9 m/min (16min) + 11 m/min (8min)	3 m/min (3min)
5 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	10 m/min (22 min) + 12 m/min (2 min)	3 m/min (3min)
6 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	10 m/min (20min) + 12 m/min (4 min)	3 m/min (3min)
7 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	10 m/min (18min) + 12 m/min (6min)	3 m/min (3min)
8 <sup>o</sup>	3 m/min (3 min)	10 m/min (16min) + 12 m/min (8min)	3 m/min (3min)

Fonte: A autora, 2021.

## 2.4 Medida da pressão arterial

As PAS e PAD (mmHg) foram aferidas através da pletismografia de cauda, um método não invasivo, com o aparelho CODAHT2 (Kent Scientific). Nesse método, um garrote e um sensor de pulso são colocados em torno da cauda do animal e, através do volume de sangue que flui pela cauda, os dados de pressão são registrados (Figura 9). Antes do início do protocolo experimental, os animais passaram por dois dias de ambientação no aparelho. As medidas da PA foram realizadas semanalmente, durante as 8 semanas. Para evitar a detecção dos efeitos agudos do exercício físico, a PA dos grupos treinados foi aferida sempre três dias após a última sessão de treinamento.

Figura 9 - Aferição da PA pelo método da pletismografia de cauda



Fonte: A autora, 2021.

## 2.5 Dosagens sanguíneas

### 2.5.1 Glicemia

A medida da glicemia de jejum foi realizada uma vez antes e outra após as oito semanas do período experimental, com os animais em jejum de doze horas, a partir de amostras de sangue coletadas da extremidade da cauda do animal e com o auxílio de um aparelho medidor automático para a determinação de glicose (Accutrend® Plus Roche).

### 2.5.2 Teste oral de tolerância à glicose

O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) foi realizado ao final do experimento, após os animais passarem por um período de doze horas de jejum. Amostras de sangue para determinação da concentração de glicose plasmática foram obtidas da veia caudal após uma pequena incisão na ponta da cauda. Em seguida, uma solução de glicose (1,0 g/Kg) foi administrada por gavagem intragástrica. A concentração de glicose plasmática foi aferida antes da sobrecarga de glicose e nos tempos subsequentes: 30, 60, 90 e 120 minutos, utilizando-se um glicosímetro (Accutrend® Plus Roche).

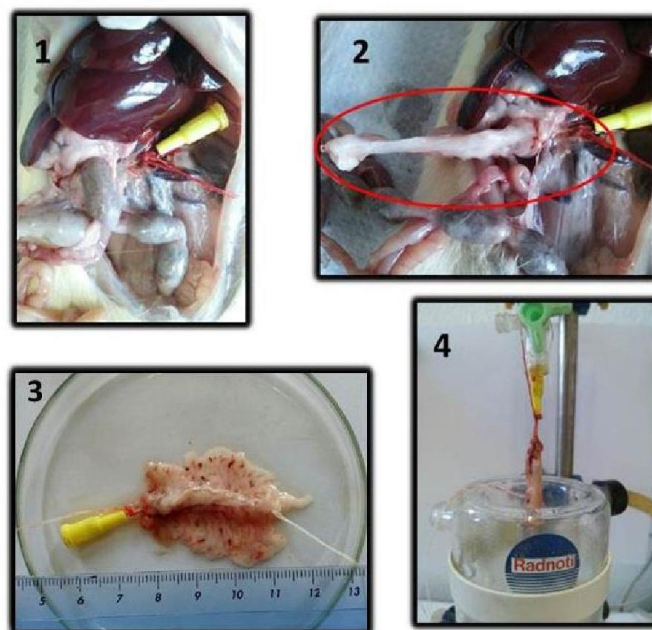
### 2.5.3 Lactato

A dosagem de lactato foi realizada duas vezes, uma imediatamente após o primeiro teste progressivo máximo e outra após o último, apenas dos animais submetidos ao treinamento físico. O lactato foi obtido a partir de amostras de sangue coletadas da extremidade da cauda do animal e com o auxílio de um aparelho monitor para a determinação de lactato (Accutrend® Plus Roche).

## 2.6 Isolamento do leito arterial mesentérico (LAM)

Após o período do protocolo experimental, os ratos foram anestesiados com tiopental (50mg/kg) administrado por via intraperitoneal, para coleta de sangue arterial através da aorta abdominal e em seguida submetidos à laparotomia. O LAM foi estendido para o exterior da cavidade abdominal e envolto em gaze umedecida com solução nutriente de Krebs modificada (g/L), NaCl 1 M, KCl 0,5 M, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,5 M, MgSO<sub>4</sub> 0,1 M, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M, NaHCO<sub>3</sub> 1,86 g, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> 1,42 g (Resende *et al.* 1997). Os ramos pancreático-duodenal, íleocólico e cólico direito da artéria mesentérica superior foram ligados e seccionados. O intestino delgado foi ligado e seccionado à altura do jejuno proximal e do íleo distal. A artéria mesentérica superior foi isolada na sua origem, à altura da artéria aorta abdominal e canulada com um tubo de polietileno (PE 50; Clay-Adams), de aproximadamente 4 cm de comprimento, preenchida com solução de Krebs heparinizada. Em seguida, o intestino delgado foi separado do leito vascular, cortando-se rente à borda intestinal, e a preparação lavada com solução de Krebs modificada (Figura 10).

Figura 10- Isolamento do leito arterial mesentérico



Legenda: esquema de isolamento do leito arterial mesentérico (1). Artéria mesentérica sendo canulada (2). Isolamento do leito arterial mesentérico (3). Leito arterial mesentérico canulado e isolado (4). Leito arterial mesentérico no sistema de perfusão e medida da reatividade vascular.

Fonte: A autora, 2021.



## 2.7 Medida da reatividade do LAM às substâncias vasoativas

Após o isolamento, a preparação vascular foi colocada em uma cuba (volume de 10mL) e constantemente perfundida por meio da cânula inserida na artéria mesentérica superior que foi conectada a uma bomba peristáltica (Model MINIPULS 3, Gilson®). A solução de Krebs, mantida à 37°C e aerada com mistura carbogênica (95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>) foi infundida à velocidade constante de 4 mL/min e a pressão de perfusão registrada continuamente em um computador através do programa (PowerLab 4/30). Os experimentos foram precedidos de um período de trinta minutos de estabilização da preparação, durante o qual a pressão de perfusão basal foi mantida entre 20 e 40 mm Hg (Resende et al. 1997) e então foram administradas injeções de 120 µmol de KCl de dez em dez minutos até obter uma resposta consistente. Em seguida, iniciou-se a pré-contracção do LAM, no qual a NE foi adicionada à solução de perfusão, em concentração suficiente (30 µM) para que a pressão de perfusão se mantivesse estável em torno de 80-100 mmHg (Figura 11).

Figura 11 - Foto do esquema de perfusão do leito arterial mesentérico



Legenda: Aparelho no qual é realizada a reatividade vascular em leito arterial mesentérico dos ratos.  
Fonte: A autora, 2021.

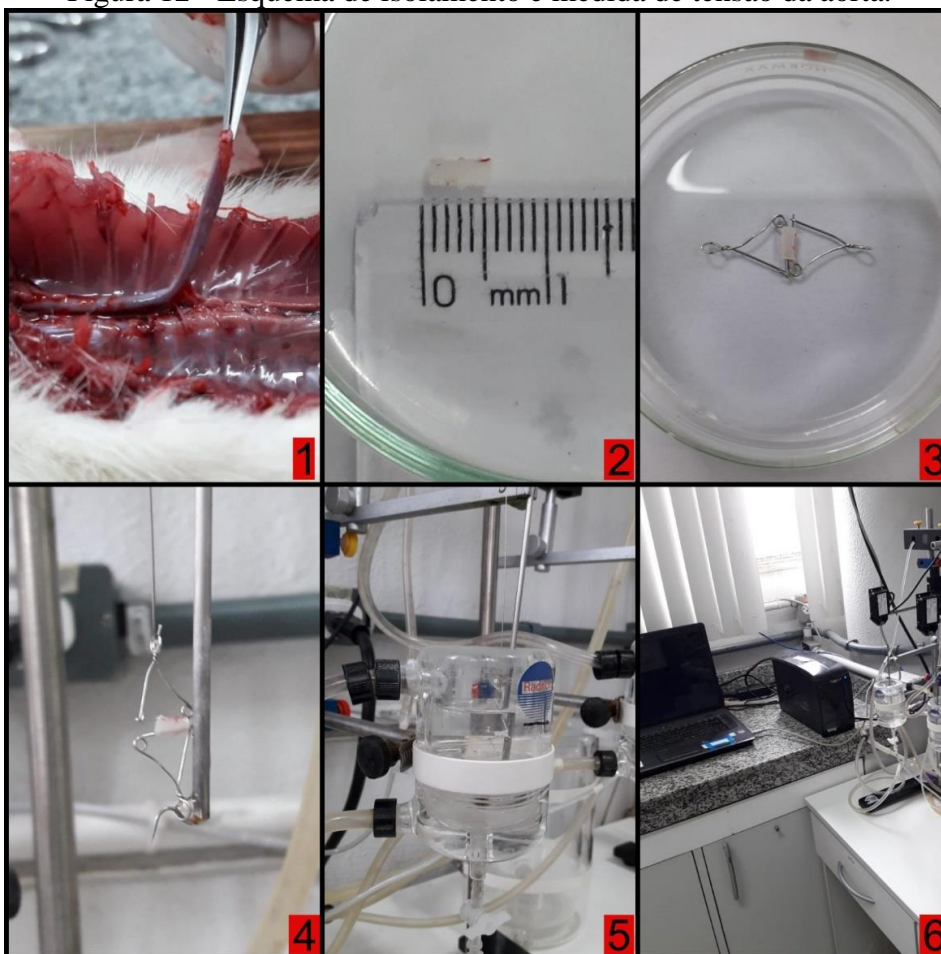
Logo após a obtenção de uma resposta pressora induzida pela NE, foi testada a viabilidade do endotélio vascular, com a injeção de ACh (0,01- 1000 pmol), a qual produz um efeito vasodilatador que é dependente da liberação de NO pelas células endoteliais. Em seguida, com o objetivo de avaliar a reatividade vascular a um agente vasoconstritor, a preparação vascular foi perfundida com solução de Krebs pura, ou seja sem NE, para que a pressão de perfusão voltasse aos níveis basais. Após um período de 10 minutos de

estabilização foram realizadas curvas dose-resposta à NE (0,01-3000 nmol). A resposta ao agente vasodilatador foi expressa em termos de % de queda da resposta pressora induzida pela ACh e a resposta pressora da NE foi expressa pelo % de contração subtraído da pressão basal. As injeções “in bolus” das substâncias utilizadas nos experimentos foram realizadas por meio de um injetor acoplado ao sistema de perfusão, por meio de microseringas Hamilton de 10 e 100µl. O intervalo entre as injeções foi de aproximadamente cinco minutos, permitindo sempre o retorno e estabilização da pressão de perfusão aos níveis anteriores, e as injeções foram administradas em volumes que variam de 5 a 50 µL

## 2.8 Isolamento do anel de aorta

Para o estudo da reatividade vascular em vaso de condutância, os anéis de aorta foram isolados e preparados de acordo com Furchgott e Zawadzki (1980) e adaptado por Zanichelli *et al.* (2004, 2007). O tórax foi aberto por meio de uma incisão mediana, e a porção torácica da aorta foi removida e dividida em dois anéis de aproximadamente 4 mm de comprimento. Cada anel foi posicionado entre 2 ganchos de aço inoxidável em forma de triângulo, conectados a um transdutor de força isométrica (Panlab S.I. TRI202P). Estes ganchos foram colocados individualmente em uma cuba contendo 40 mL de solução fisiológica de Krebs modificada (g/L), NaCl 1 M, KCl 0,5 M, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,5 M, MgSO<sub>4</sub> 0,1 M, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M, NaHCO<sub>3</sub> 1,86 g, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> 1,42 g (Resende et al. 1997) e constantemente borbulhada com O<sub>2</sub> (95%) e CO<sub>2</sub> (5%). A temperatura do banho foi mantida em 37° °C (Figura 12).

Figura 12 - Esquema de isolamento e medida de tensão da aorta.



Legenda: a aorta do rato foi isolada (1), anéis de aproximadamente 4mm foram cortados (2) e alocados em 2 triângulos de aço (3 e 4) que foram mantidos em uma cubeta (5) onde os experimentos foram realizados. Os anéis estavam conectados a um sistema de transdução de sinais (6).

Fonte: A autora, 2021.

## 2.9 Medida da reatividade do anel de aorta às substâncias vasoativas

Após a instalação do anel de aorta na cuba, os mesmos foram submetidos a uma tensão basal de 2g. Os anéis permaneceram por um período de 60 minutos para estabilização, durante os quais a solução de Krebs foi substituída a cada 20 minutos. Para registro das tensões desenvolvidas utilizamos um transdutor isométrico de tensão (Panlab S.l. TRI202P), conectado a um sistema amplificador (ADInstruments, Quad bridge amp ML224). Os gráficos de tensão foram registrados através do programa de computador (PowerLab 4/30). Em seguida, foram obtidas curvas concentração-efeito cumulativas à noradrenalina ( $10^{-10}$  mol/L–  $10^{-5}$  mol/L) e acetilcolina (ACh,  $10^{-10}$  mol/L–  $10^{-5}$  mol/L); esta última com o anel pré-contraído com fenilénfrina (Phe) na concentração de  $3 \times 10^{-7}$  mol/L.

## 2.10 Morfologia da aorta

Metade da aorta torácica foi isolada e fixada em paraformoldeído 4%, pH 7.4 e incluída em blocos de paraplast Plus (Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA). Cortes de 3µm foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) para análise da espessura da camada média do vaso e da área do lúmen. As imagens digitais foram capturadas (formato JPEG, colorida 36-bit, 1360-1024 pixels, objetiva de 20x para camada íntima-média) com uma câmera LC Evolution e um microscópio de luz Olympus BX51 e as análises foram realizadas com o programa Image-Pro Plus versão 5.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

## 2.11 Imunohistoquímica

Secções de aorta (3 µm) foram desparafinizadas, reidratadas e incubadas (15 min) com 0,3% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para bloquear as peroxidases endógenas. A ligação proteica não específica foi bloqueada por incubação com albumina de soro bovino a 1% diluída em tampão com fosfato (PBS / BSA) por 20 min. A recuperação antigênica foi realizada com tripsina (3%) diluída em água destilada por 20 min a 37 °C. As secções foram incubadas com o anticorpo primário diluído 1: 100 com 1% de PBS / BSA durante a noite (4° C, numa atmosfera úmida). A seguinte proteína foi identificada por este procedimento: anticorpo anti-8-isoprostrano (1: 100, 8-epi-PGF 2 alfa; 15-f<sub>2</sub>t isoprostrano, Oxford Biomedical Research, MI, EUA). O sinal foi amplificado com um sistema complexo biotina-estreptavidina (kit rápido PK-8800 Vectastain Universal; Vector Laboratories, Peterborough, Reino Unido) e as imunorreações positivas foram identificadas após incubação com tetracloro de 3,3'-diaminobenzidina (K3466, DAB; Universal Dako Cytomation, Glostrup, Dinamarca). As secções foram contrastadas com hematoxilina para identificar os núcleos das células e depois as lâminas foram montadas e analisadas. A quantificação foi realizada pelo programa Image-Pro Plus 7.0 (Media Cybernetics).

## 2.12 Dosagens de nitrito no plasma e na aorta

O NO possui um tempo de vida curto, por isso, a medida da produção do mesmo é mensurada pela formação do nitrito ( $\text{NO}_2$ ), um produto de degradação estável e não volátil. A dosagem de nitrito pode ser realizada pelo método de Griess, no qual o princípio de reação é baseado na formação de um azo composto. O nitrito primeiramente reage com a sulfanilamida em meio ácido para formar um composto intermediário, o sal de diazônio. Em seguida, este sal reage com N-naftil-etilenodiamina formando um composto azo estável de coloração púrpura. 100ul de plasma e 50ul de homogenato de aorta foram adicionados em cada poço de uma placa de ELISA. Posteriormente, foram adicionados 50 ul para análise do plasma e 25 ul para aorta, da solução 1 (sulfanilamida 1% em solução de ácido fosfórico a 2,5% = 200 mg sulfanilamida + 600  $\mu\text{l}$  de ácido fosfórico + 19,4 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  deslitada). Após 10 minutos, foram adicionados 50ul para o plasma e 25 ul para aorta, da solução 2 (N-naftil-etilenodiamina 0,1% em solução de ácido fosfórico a 2,5% = 20 mg de N-naftil-etilenodiamina + 600  $\mu\text{l}$  de ácido fosfórico + 19,4 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ ) e analisado em comprimento de onda de 540 nm (GREEN *et al.*, 1982; SUN *et al.*, 2003).

## 2.13 Ensaio Pró-oxidante

### 2.13.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Este método é utilizado para a avaliação do estado de oxidação dos ácidos graxos em sistemas biológicos. O dano em lipídeos de membrana é determinado pela formação de subprodutos da peroxidação lipídica (malondialdeído-MDA), que são substâncias reativas ao aquecimento do ácido tiobarbitúrico (TBA) formadas durante a peroxidação em sistemas de membranas e microsossomos. MDA reage com o TBA gerando um produto colorido róseo lido em espectrofotômetro (532 nm). Esta padronização foi realizada utilizando a técnica descrita por Draper e Hadley (1990) e adaptada para medida em plasma e aorta.

Foram utilizados 200  $\mu\text{L}$  de plasma absoluto para 400  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA). As amostras foram centrifugadas por dez min em 1000 rpm à 4°C. Separou-se 500  $\mu\text{L}$

do sobrenadante em um tubo de ensaio com tampa e adicionou 500  $\mu\text{L}$  de TBA (0,67%). Os tubos foram colocados em um banho seco ( $95^{\circ}\text{C}$ ) por trinta minutos. Para a análise na aorta, foram utilizados 50  $\mu\text{L}$  de homogenato e  $\frac{1}{4}$  dos reagentes. Deixou-se esfriar por cinco minutos e posteriormente foi feita a leitura em espectrofotômetro (532 nm; Ultrospec 2100 Pro, Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK).

## 2.14 Atividade das enzimas antioxidantes

A medida da atividade das enzimas antioxidantes foi realizada em homogenato de aorta preparado com tampão fosfato (NaCl 5,84 g,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  13,8 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  26,8 g, KCl 7,45 g, EDTA 2,28 g) em pH: 7,4, e em plasma absoluto. A dosagem de proteínas foi realizada através do método de Bradford (1976).

### 2.14.1 Medida da superóxido dismutase

A enzima SOD catalisa a dismutação do ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio. A determinação da atividade da enzima baseou-se na medida da concentração de adenocromo, resultante da oxidação da noradrenalina pelo ânion superóxido. Este ensaio foi realizado utilizando a técnica descrita por Bannister e Calabrese (1982) para a medida no plasma, e adaptando-a para aorta.

Foram utilizados 3, 5 e 7  $\mu\text{L}$  de cada amostra de plasma e 3, 5 e 10  $\mu\text{L}$  de homogenato de aorta em cubetas separadas. As amostras foram incubadas com 1,940ml de tampão glicina (3,75 mg/mL de água destilada) e 40  $\mu\text{L}$  de noradrenalina (19 mg/mL de água destilada). Também foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  da enzima catalase (1,2 mg/ml de água destilada) ao meio para retirar o peróxido de hidrogênio formado pela reação catalisada pela SOD. A concentração de adenocromo foi medida espectrofotometricamente (480 nm; Ultrospec 2100 Pro, Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK) em um intervalo de cento e oitenta segundos.

### 2.14.2 Medida da catalase

A catalase é uma hemoproteína que catalisa a degradação do peróxido de hidrogênio, formando oxigênio molecular e água. A atividade da enzima foi avaliada através do consumo de peróxido de hidrogênio pela reação.

Foram utilizados 20µL de plasma e homogenato de aorta em cubetas separadas (quartzo). As amostras foram incubadas com 2 mL de tampão fosfato e peróxido de hidrogênio (0.32%). A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi avaliada durante sessenta segundos por espectrofotometria (240 nm; Ultrospec 2100 Pro, Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK) em um intervalo de sessenta segundos (Aebi, 1984).

### 2.14.3 Medida da glutathione peroxidase

A GPx é uma enzima selênio-dependente que catalisa a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos (ROOH) para H<sub>2</sub>O e álcool, usando a GSH como doador de elétrons. Ela está localizada tanto no citosol, quanto na matriz mitocondrial. A determinação da atividade da GPx foi realizada a partir da taxa de decaimento da NADPH, determinada por espectrofotometria, no comprimento de onda de 340 nm.

Foram utilizados 100 µL de homogenato de aorta em cubetas separadas. As amostras foram incubadas com 1800 µL de tampão fosfato, glutathione reduzida (2 mM), GR (0.11 mg/mL) e azida sódica (0,065 mg/mL) durante dez minutos. Após o tempo de incubação, NADPH (10 mM) foi adicionado ao meio e foram realizadas as leituras em um intervalo de cento e oitenta segundos. Posteriormente, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3%) foi adicionado e uma nova leitura foi realizada por duzentos e quarenta segundos. O decaimento da NADPH foi determinado por espectrofotometria (340 nm; Ultrospec 2100 Pro, Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK). Esta padronização foi realizada utilizando a técnica descrita por Flohé e Gunzler (1984) e adaptada para os tecidos estudados.

## 2.15 Análise da expressão de proteínas por Western Blotting

A aorta foi homogeneizada em 1 mL de tampão de lise (Tris-HCl 50 mM, NaF 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, Triton x100 e SDS 0,1%, pH 7.4) com 1 µl de coquetel de inibidores de proteases (Complete™ Protease Inhibitor Cocktail Tablet, EDTA-free, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EUA) e centrifugados uma vez (13000 rpm, 4°C por 25 min).

A concentração proteica foi determinada usando ensaio colorimétrico do kit BCA Protein Assay (Thermo Scientific Inc., Barrington, IL, EUA), seguindo as recomendações do fabricante e a leitura foi realizada a 540 nm. As amostras foram desnaturadas em tampão de amostras (Tris-HCl 50 mM, pH: 6,8, 1% SDS, 5% 2-mercaptoetanol, 10% glicerol e 0,001% azul de bromofenol) e aquecidas a 95°C por 5 min. Em seguida, as amostras foram analisadas em condição desnaturante por eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Foram aplicados 20 µg de proteína do homogenato em poços no gel de 10% de poliacrilamida para eletro-separação, de acordo com o tamanho e carga da proteína. Em seguida, as proteínas foram transferidas por eletroforese para membranas de nitrocelulose (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, EUA).

Para inibir ligações inespecíficas do anticorpo, as membranas foram incubadas em T-TBS acrescido de albumina a 5% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 60 min. Posteriormente, as membranas foram lavadas com T-TBS e incubadas com o anticorpo primário específico para cada proteína (overnight, a 5°C): anti-NOX4 (1:1000), anti-Nrf2 (1:1000), anti-Keap1 (1:1000) e anti-peNOS (Ser1177) (1:500) (Anticorpos da Santa Cruz Biotechnology Inc.; CA, EUA). Após este período, as membranas foram lavadas e incubadas com o anticorpo secundário biotilado (1:1000) por 60 minutos (25°C) sob agitação constante. Posteriormente, as membranas foram lavadas e incubadas com estreptavidina (1:1000), por 60 minutos sob agitação constante. As membranas foram lavadas novamente com T-TBS e tratadas com kit de quimioluminescência (ECL-plus; Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, EUA) e as imagens das bandas foram obtidas com o sistema ChemiDoc XRS de imagens moleculares (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA).

As imagens das bandas foram analisadas e quantificadas com auxílio do programa Adobe Photoshop Elements 11, versão: 11.0 (Adobe Systems Incorporated).



## 2.16 Análise estatística

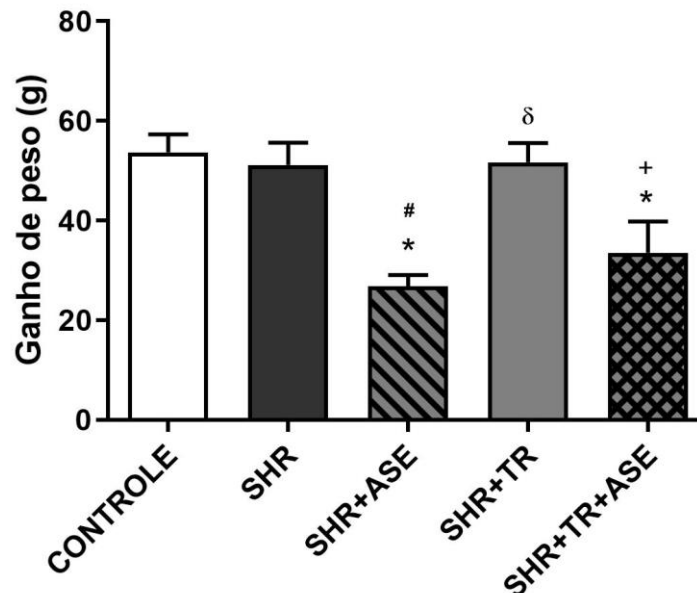
Os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). As análises e os gráficos foram realizados por meio do programa GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad softwares, Inc., San Diego, CA, EUA). Os gráficos de linha foram analisados pelo teste Two-way analysis of variance (ANOVA), com pós teste de Tukey. As análises dos gráficos de barra com os cinco grupos experimentais, foram realizadas com o teste one-way ANOVA e pós teste de Tukey. O Teste-t de Student foi utilizado para comparar as diferenças entre o mesmo grupo (pareado) e dois grupos distintos (não pareado) nos resultados do teste de esforço. Sendo considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no peso corporal

Ao longo do período experimental não houve diferença significativa do ganho de peso entre os animais do grupo SHR em relação ao grupo CONTROLE (Figura 13). O tratamento com ASE reduziu o ganho de peso dos animais SHR+ASE em relação aos grupos CONTROLE ( $p < 0,001$ ) e ao SHR ( $p < 0,01$ ). O treinamento físico isoladamente não promoveu alteração no ganho de peso dos animais SHR+TR quando comparado aos grupos CONTROLE e SHR. Entretanto, foi maior que o observado no grupo SHR+ASE ( $p < 0,01$ ). Quando associados, o tratamento com ASE e o exercício físico promoveram redução de no ganho de peso do grupo SHR+TR+ASE quando comparado ao grupo CONTROLE ( $p < 0,05$ ) e ao SHR+TR ( $p < 0,05$ ).

Figura 13 - Efeito do tratamento com ASE e do exercício físico no ganho de peso

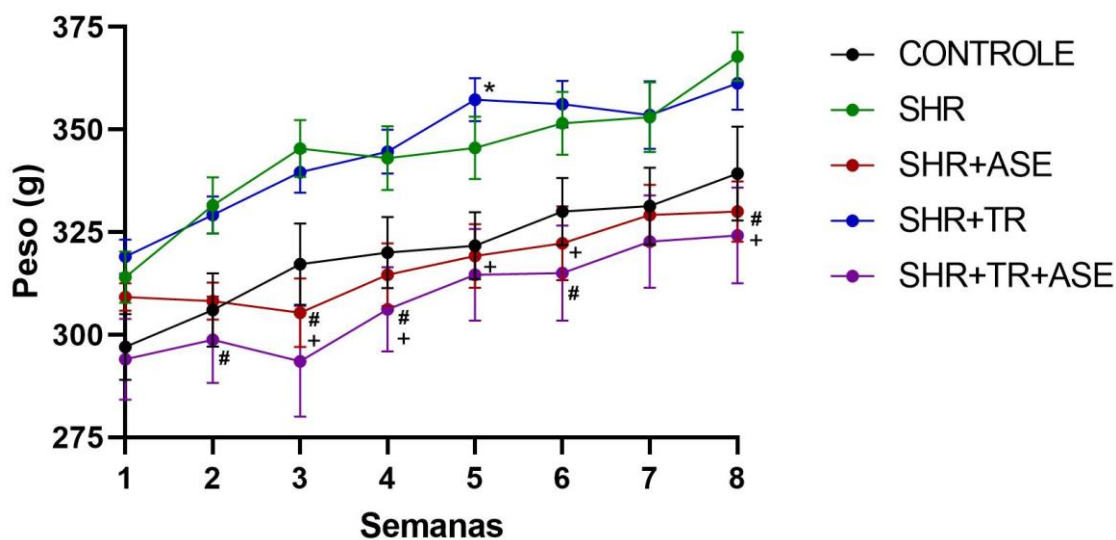


Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, #vs SHR,  $\delta$ vs SHR+ASE, +vs SHR+TR, conforme determinado pelo teste one-way ANOVA e pós-teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

Antes do início do tratamento com ASE e do período do treinamento físico, não houve diferença significativa no peso corporal entre os grupos estudados (Figura 14). Ao longo das 8 semanas não houve diferença significativa no peso corporal entre os grupos Controle e SHR. A partir da segunda semana, o peso dos animais do grupo SHR+TR+ASE foi menor que o do grupo SHR ( $p<0,05$ ) e essa diferença manteve-se por quase todo o período experimental, não sendo observada apenas na 7ª semana. O tratamento com ASE isoladamente também promoveu essa diferença no peso dos animais do grupo SHR+ASE em relação aos SHR, da 3ª à 6ª semana, e também na 8ª ( $p<0,05$ ). Entretanto, não houve diferença entre os grupos SHR+TR e SHR. O peso dos animais SHR+TR foi maior que o dos SHR+ASE ( $p<0,05$ ) na 3ª, 5ª e 6ª semana. Assim como também foi maior que o apresentado pelo grupo SHR+TR+ASE ( $p<0,05$ ) da 3ª à 6ª semana e também na 8ª. O peso do grupo CONTROLE foi menor que o do SHR+TR apenas na 5ª semana ( $p<0,05$ ).

Figura 14 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na evolução do peso corporal



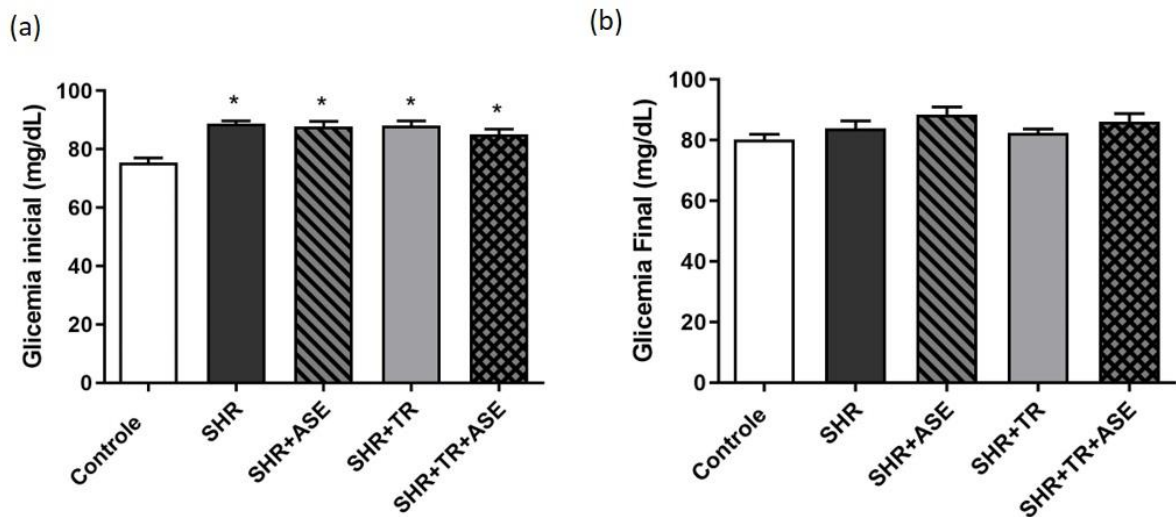
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, #vs SHR, +vs SHR+TR, conforme determinado pelo teste two-way ANOVA e pós-teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.2 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na glicemia e TOTG

Na dosagem realizada antes do início do protocolo experimental (Figura 15 a), todos os grupos SHR apresentaram níveis séricos de glicose entre 2,6 e 10,2% maiores que os do grupo CONTROLE ( $p < 0,001$ ). Ao final das 8 semanas, a dosagem foi realizada novamente e não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 15 b).

Figura 15 - Efeito do tratamento com ASE e do exercício físico nos níveis séricos de glicose



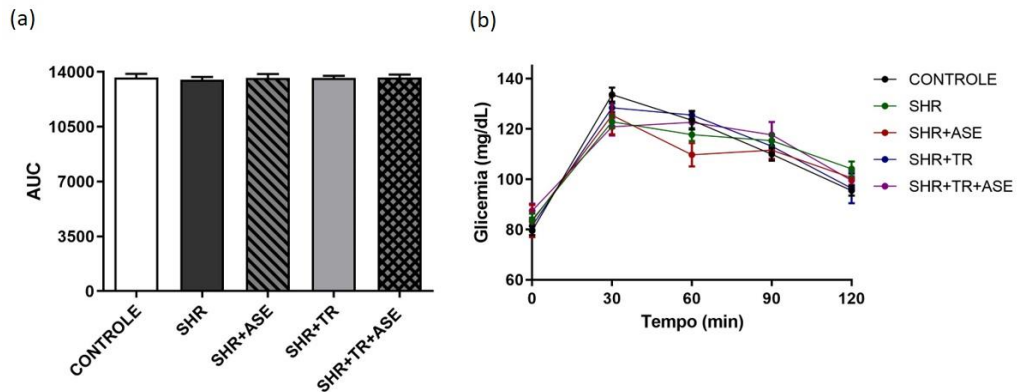
Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de glicose antes do início do protocolo experimental (a) e ao final das 8 semanas (b)

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \* vs CONTROLE, conforme determinado pelo teste *One-way ANOVA* e pós-teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

No teste oral de tolerância a glicose, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais na área sob a curva de absorção de glicose (Figura 16 a), bem como nas medidas de glicemia realizadas durante o teste (Figura 16 b).

Figura 16 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no teste oral de tolerância à glicose



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no teste oral de tolerância à glicose. (a) área sob a curva (b) nas medidas de glicemia realizadas durante o teste glicose antes do início do protocolo experimental (a) e ao final (b)

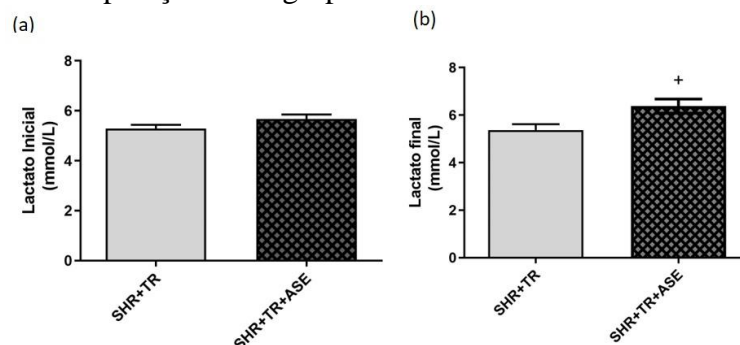
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ .

Fonte: A autora.

### 3.3 Efeito tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato

Antes do início do protocolo experimental, não houve diferença nos níveis séricos de lactato entre os grupos SHR+TR e SHR+TR+ASE (Figura 17 a). Ao final das 8 semanas de treinamento, o grupo SHR+TR+ASE apresentou uma diferença significativa ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo SHR+TR (Figura 17 b).

Figura 17 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato: comparação entre grupos



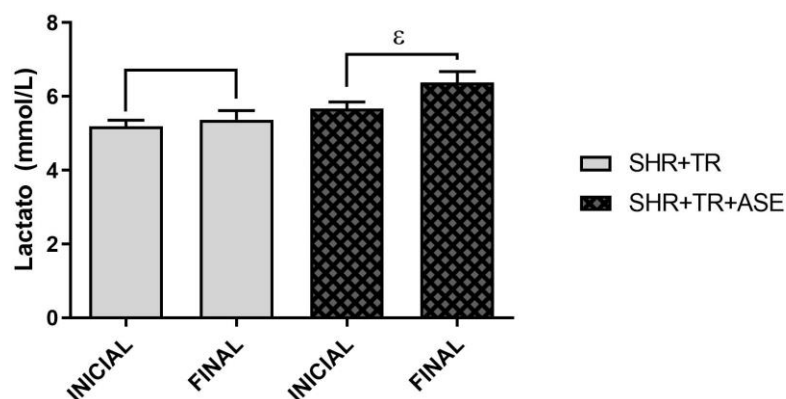
Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do exercício físico nos níveis séricos de lactato dos animais treinados, antes do início do período experimental (a) e ao final (b).

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com o símbolo: +vs SHR+TR, conforme determinado pelo Teste-t de Student não pareado.

Fonte: A autora, 2021.

O grupo SHR+TR não apresentou diferença nos níveis séricos de lactato mensurados ao final do protocolo experimental em relação aos seus próprios níveis iniciais. Entretanto, um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) foi observado no grupo SHR+TR+ASE, ao final do protocolo, quando comparado a sua medida inicial (Figura 18).

Figura 18 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato: comparação com os níveis iniciais



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis séricos de lactato finais em comparação aos iniciais de cada grupo.

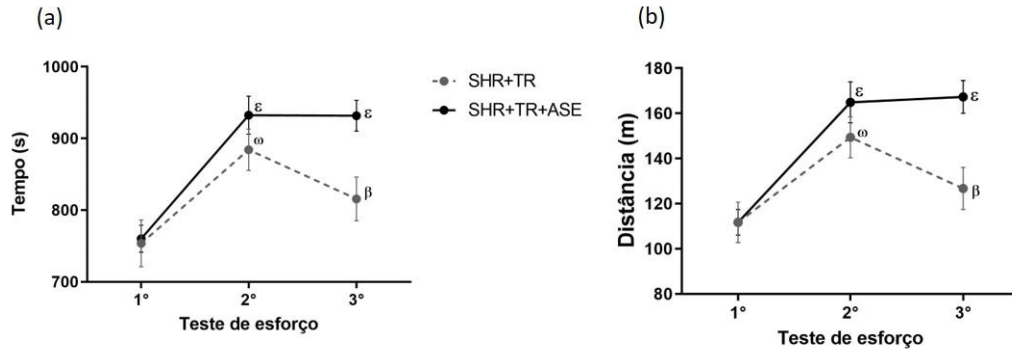
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as medidas iniciais estão indicadas com o símbolo:  $\varepsilon$ , conforme determinado pelo Teste-t de Student pareado.

### 3.4 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos testes de esforço

O treinamento físico isoladamente promoveu aumento do desempenho dos animais do grupo SHR+TR tanto no tempo (17,3%) (Figura 19 a) quanto na distância (33,8%) ( $p < 0,001$ ) (Figura 19 b) percorrida no 2° TE em relação ao seu próprio teste inicial. Entretanto, houve uma redução de desempenho no 3° TE em relação ao 2°, tanto no tempo (7,8%) ( $p < 0,05$ ) quanto na distância (15,2%) ( $p < 0,01$ ), e não houve diferença entre o 1° e o 3° TE.

Os animais do grupo SHR+TR+ASE também mostraram um aumento ( $p < 0,0001$ ) na *performance* no 2° TE em relação ao teste inicial tanto no tempo (22,7%) (Figura 19 a) quanto na distância (47,6%) (Figura 19 b). No 3° teste, este aumento na *performance* em comparação ao primeiro, se manteve e pode ser observado no tempo (22,5%) e na distância (49,8%) ( $p < 0,01$ ). Não houve diferença entre o 2° e o 3° TE.

Figura 19 – Efeito tratamento com ASE e do treinamento físico nos testes de esforço: comparação entre os testes



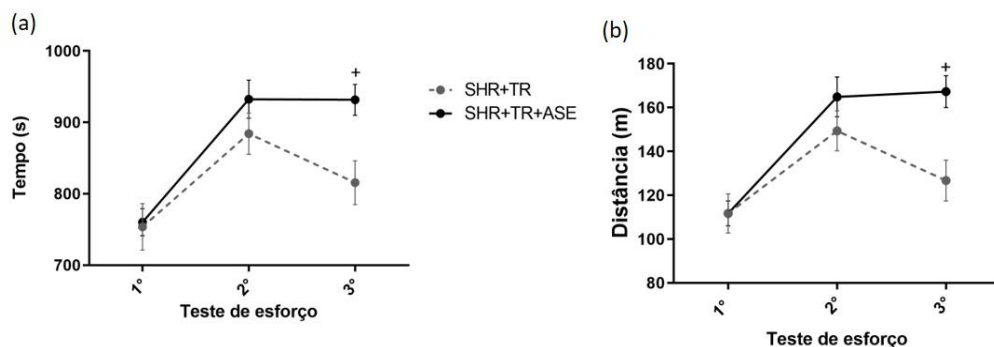
Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos testes de esforço: comparação entre o tempo de permanência (a) e a distância percorrida (b) pelo mesmo grupo nos diferentes testes.

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p<0,05$ ) em estão indicadas como:  $\alpha$  vs 1° SHR+TR,  $\beta$  vs 2°SHR+TR,  $\epsilon$  vs 1° SHR+TR+ASE, conforme determinado pelo Teste-t pareado.

Fonte: A autora, 2021.

No primeiro teste de esforço, realizado antes do início do protocolo experimental, assim como no segundo teste, realizado ao final da 4ª semana de treinamento, não houve diferença entre os grupos SHR+TR e SHR+TR+ASE no tempo (Figura 20 a) e na distância (Figura 20 b) percorrida. Ao final das 8 semanas, foi realizado o 3º TE no qual o tratamento com ASE promoveu uma diferença significativa tanto no tempo de permanência (14%) ( $p<0,01$ ) quanto na distância percorrida (32%) ( $p<0,01$ ) no teste pelo grupo SHR+TR+ASE, em relação ao SHR+TR.

Figura 20 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico nos testes de esforço: comparação entre os grupos



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico no tempo de permanência (a) e na distância percorrida (b) nos testes esforço: comparação entre os grupos.

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: + vs SHR+TR, conforme determinado pelo teste Teste-t de Student não-pareado.

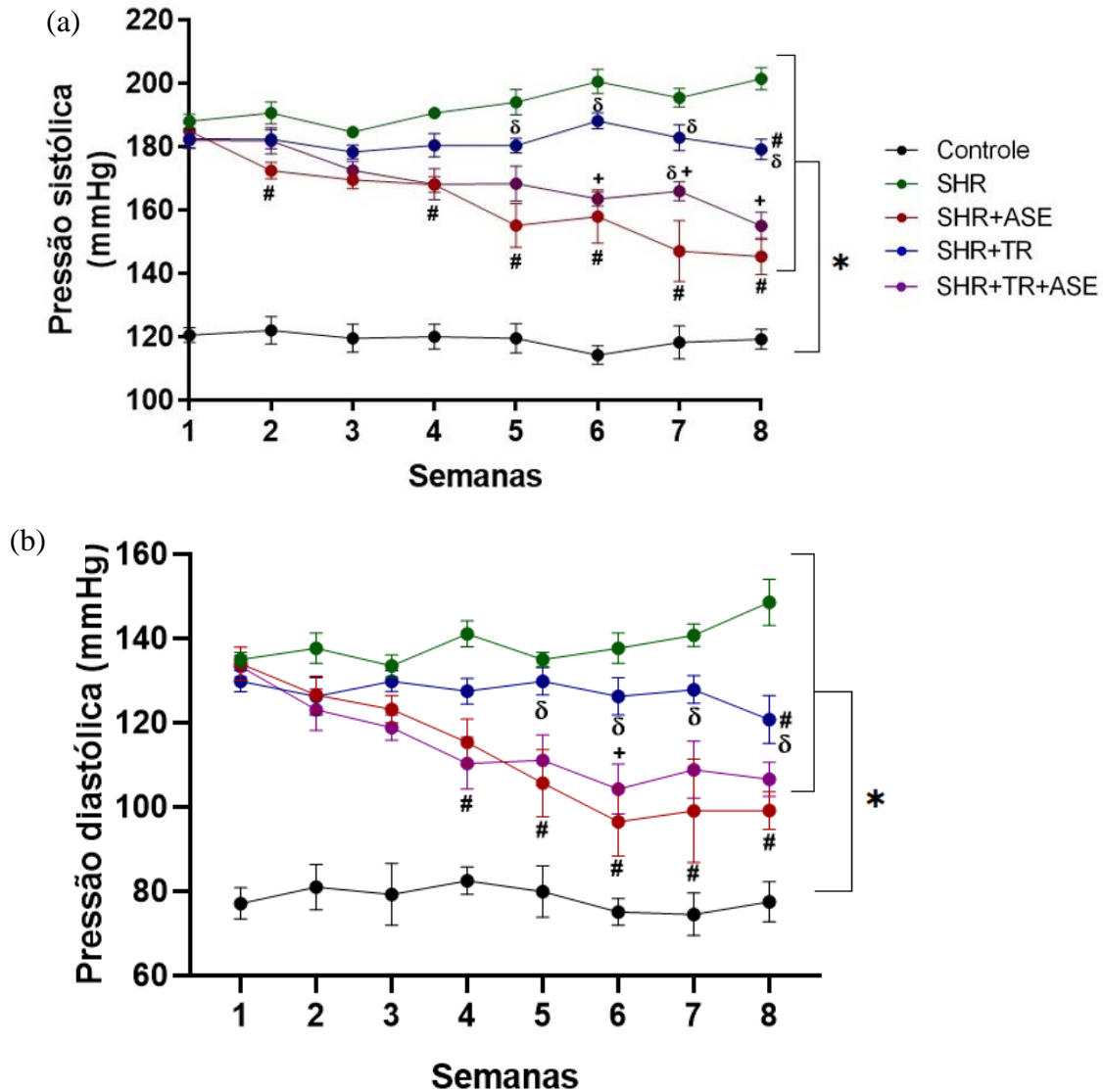
Fonte: A autora, 2021.

### 3.5 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na pressão arterial

Durante todo o período do protocolo experimental, os valores da PAS (Figura 21 a) e PAD (Figura 21 b) de todos os grupos SHR foram maiores que os do grupo Controle ( $p < 0,0001$ ). Após uma semana de tratamento, o grupo SHR+ASE apresentou uma PAS menor que a do SHR ( $p < 0,05$ ). Essa diferença se manteve da 4<sup>o</sup> à 8<sup>o</sup> semana e também pode ser observada na PAD ( $p < 0,001$ ). As PAS e PAD apresentadas pelos animais do grupo SHR+TR foram significativamente menores que as do grupo SHR apenas na última semana ( $p < 0,001$ ) e maiores que as do grupo SHR+ASE da 5<sup>o</sup> à 8<sup>o</sup> semana ( $p < 0,05$ ), indicando um efeito anti-hipertensivo superior do ASE comparado ao treinamento. Quando associados, o treinamento físico crônico e o tratamento com ASE, resultou em uma diferença nas PAS e PAD dos animais SHR+TR+ASE em relação aos SHR, que foram menores da 4<sup>o</sup> à 8<sup>o</sup> semana ( $p < 0,05$ ). Na 5<sup>o</sup> semana, a PAS do grupo SHR+TR+ASE foi significativamente maior que a do grupo SHR+ASE ( $p < 0,05$ ), sem qualquer diferença nas demais semanas entre os dois grupos, indicando não haver redução adicional da PAS no grupo SHR+TR+ASE em relação ao SHR+ASE. Ao comparar com o treinamento físico isoladamente, as medidas das PAS, da 6<sup>o</sup> à 8<sup>o</sup> semana, e PAD, apenas na 6<sup>o</sup> semana, do grupo SHR+TR+ASE foram menores que as do grupo SHR+TR.



Figura 21 – Efeito do treinamento crônico e do tratamento com ASE na medida da pressão arterial



Legenda: Efeito tratamento com ASE e do treinamento físico nas pressões arteriais sistólica (a) e na diastólica (b).

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$ . Diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, #vs SHR,  $\delta$ vs SHR+ASE, +vs SHR+TR, conforme determinado por Two-way ANOVA com pós teste de Tukey.

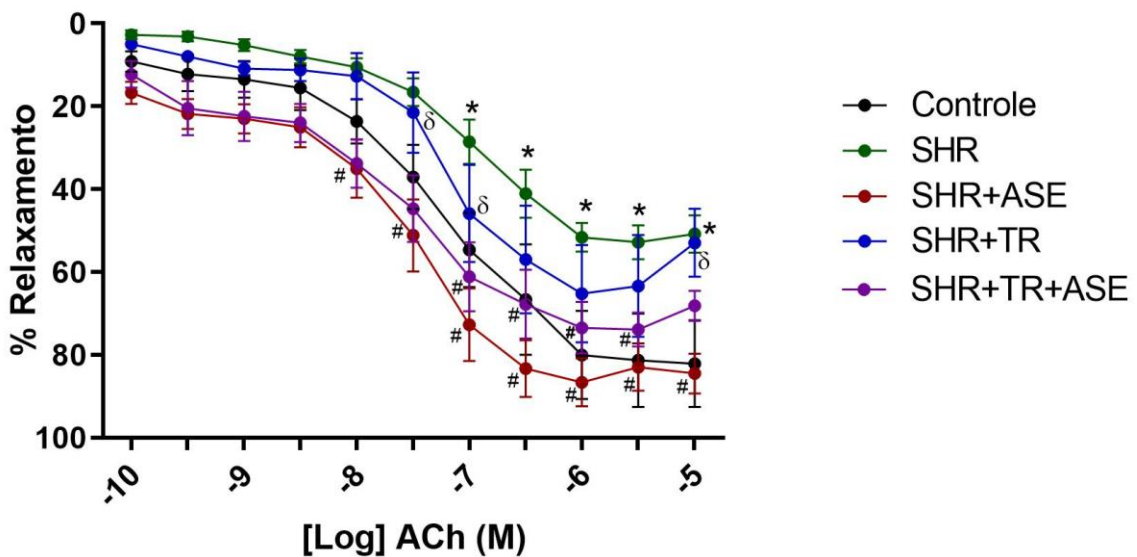
Fonte: A autora, 2021.

### 3.6 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico sobre a resposta vasodilatadora da acetilcolina em anéis de aorta

A acetilcolina produziu uma curva concentração-efeito, na qual animais do grupo SHR obtiveram uma resposta vasodilatadora significativamente menor ( $p<0,05$ ) que a dos animais

do grupo CONTROLE nas últimas concentrações ( $3 \times 10^{-7}$  à  $1 \times 10^{-5}$  mol/L) (Figura 22). O tratamento com ASE promoveu um aumento ( $p < 0,05$ ) na resposta vasodilatadora dos animais do grupo SHR+ASE quando comparada a resposta dos animais SHR (concentrações de  $3 \times 10^{-8}$  até  $1 \times 10^{-5}$  mol/L) e não houve diferença em relação ao grupo CONTROLE. O treinamento físico isoladamente resultou em uma resposta que foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) no grupo SHR+TR quando comparado ao grupo SHR+ASE (concentrações de  $3 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$  e  $1 \times 10^{-5}$  mol/L). A associação entre o treinamento físico crônico e tratamento com ASE aumentou ( $p < 0,05$ ) a resposta à ACh nos animais dos grupos SHR+TR+ASE em relação ao SHR (concentrações  $1 \times 10^{-8}$  até  $3 \times 10^{-6}$  mol/L).

Figura 22 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico da resposta da acetilcolina em anéis de aorta



Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=4-5$ . Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, #vs SHR,  $\delta$ vs SHR+ASE, conforme determinado por Two-way ANOVA com pós teste de Tukey

Fonte: A autora, 2021.

O efeito máximo produzido em resposta à ACh no grupo SHR foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que o obtido no grupo CONTROLE (Tabela 1). O tratamento com ASE isoladamente ou quando associado com o treinamento físico alterou estes parâmetros e os grupos SHR+ASE e SHR+TR+ASE produziram uma resposta maior ( $p < 0,05$ ) que a do grupo SHR. Não houve diferença na potência entre os grupos analisados.

Tabela 1 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo e IC50 da curva concentração-efeito da acetilcolina em anel de aorta

<b>Grupo</b>	<b>E<sub>max</sub> (% relaxamento)</b>	<b>EC50 (mol/L)</b>
<b>CONTROLE</b>	82,12 ± 10,46	2,55 ± 0,25
<b>SHR</b>	54,22 ± 4,07 *	4,10 ± 0,68
<b>SHR+ASE</b>	87,32 ± 53,16 #	5,68 ± 1,54
<b>SHR+TR</b>	62,27 ± 7,66	3,92 ± 1,7
<b>SHR+TR+ASE</b>	79,26 ± 3,87 #	5,63 ± 0,99

Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo (E<sub>max</sub>) e IC50 da curva concentração-efeito da acetilcolina em anel de aorta.

Nota: Os valores estão expressos em média ± erro padrão da média, n=4-5. Diferenças significativas (p<0,05) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, #vs SHR, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

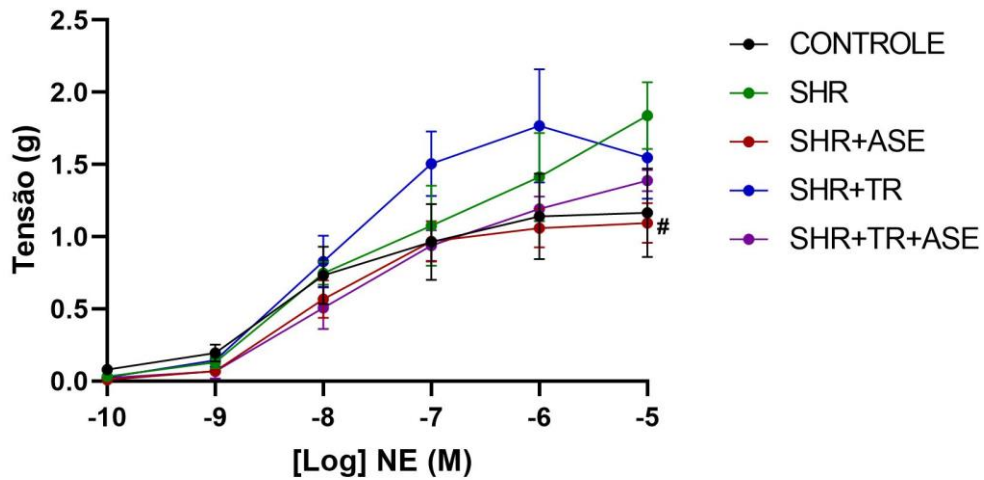
Fonte: A autora, 2021.

### 3.7 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasoconstritora da noradrenalina em anéis de aorta

A noradrenalina produziu uma curva concentração-efeito em anel de aorta isolado, onde a resposta vasoconstritora não foi diferente entre os grupos Controle e SHR.

O tratamento com ASE promoveu uma redução (p<0,05) da resposta vasoconstritora da noradrenalina no grupo SHR+ASE em relação ao grupo SHR (na concentração 1x10<sup>-5</sup>) e não houve diferença entre os demais grupos (Figura 23). Também não foram observadas diferenças significativas no efeito máximo e na potência (Tabela 2).

Figura 23 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasoconstritora da noradrenalina em anéis de aorta



Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, n=4-5. Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: #vs SHR, conforme determinado por Two-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

Tabela 2 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo (Emax) e EC50 da curva concentração-efeito da noradrenalina em anel de aorta

Grupo	Emax (tensão em g)	EC50 (mol/L)
CONTROLE	1,16 $\pm$ 0,30	2,19 $\pm$ 0,40
SHR	1,84 $\pm$ 0,23	3,61 $\pm$ 0,34
SHR+ASE	1,10 $\pm$ 0,14	4,31 $\pm$ 1,09
SHR+TR	1,71 $\pm$ 0,28	4,58 $\pm$ 2,01
SHR+TR+ASE	1,39 $\pm$ 0,74	5,34 $\pm$ 0,70

Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo (Emax) e EC50 da curva concentração-efeito da NE em anel de aorta.

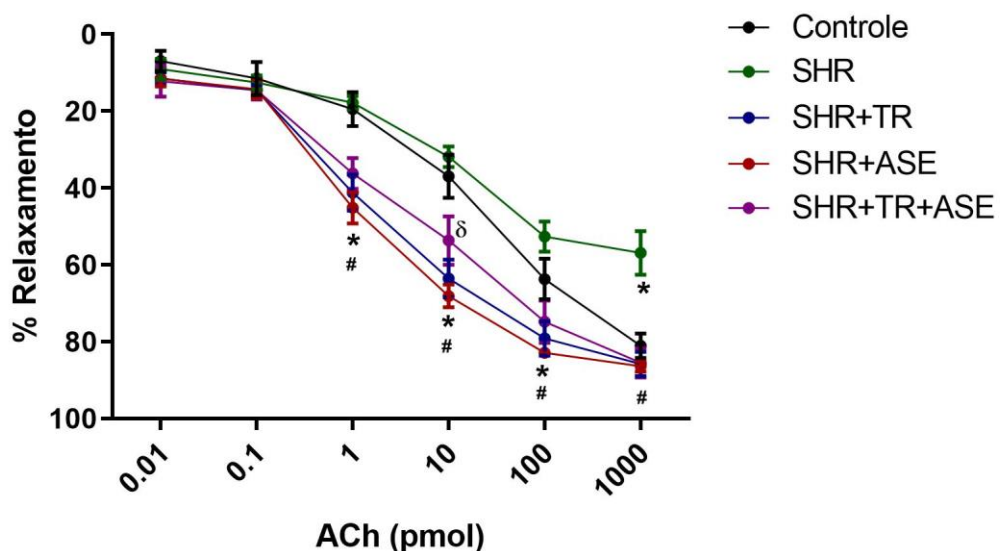
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, n=4-5, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.8 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasodilatadora da acetilcolina em LAM

No leito arterial mesentérico a vasodilatação promovida pela acetilcolina foi menor ( $p < 0,05$ ) no grupo SHR quando comparada ao grupo CONTROLE, na dose de 1000 pmol (Figura 24). O tratamento com ASE promoveu um relaxamento do LAM dos animais do grupo SHR+ASE maior do que o observado nos grupos CONTROLE (doses de 1,10 e 100 pmol,  $p < 0,01$ ) e SHR (doses de 1-1000 pmol,  $p < 0,001$ ). De forma semelhante, o treinamento físico isolado resultou em uma vasodilatação maior no grupo SHR+TR quando comparado aos grupos CONTROLE (doses de 1-100 pmol,  $p < 0,05$ ) e SHR (doses de 1-1000,  $p < 0,0001$ ). Quando associados, o ASE e o treinamento físico aumentaram a resposta vasodilatadora no LAM dos animais SHR+TR+ASE quando comparada as respostas dos grupos CONTROLE (dose de 1pmol,  $p < 0,05$ ,) e SHR (doses de 1-1000 pmol,  $p < 0,05$ ). Entretanto, foi menor que a observada no grupo SHR+ASE (dose de 10 pmol,  $p < 0,05$ ).

Figura 24 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico na resposta vasodilatadora da acetilcolina em leito arterial mesentérico



Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=7-8$ . Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, #vs SHR,  $\delta$ vs SHR+ASE, conforme determinado por Two-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

Não houve diferença entre SHR e CONTROLE no Emax. Entretanto, Emax dos grupos SHR+ASE, SHR+TR e SHR+TR+ASE foi significativamente maior que o do grupo SHR. Não houve diferença entre os demais grupos, assim como na potência (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo (Emax) e ID50 da curva dose-resposta da noradrenalina em leito arterial mesentérico

<b>Grupo</b>	<b>Emax (%relaxamento)</b>	<b>ED50 (pmol)</b>
<b>CONTROLE</b>	75,63 ± 5,255	18,48 ± 8,96
<b>SHR</b>	59,86 ± 4,621	12,27 ± 4,56
<b>SHR+ASE</b>	86,64 ± 1,237 #	2,93 ± 0,78
<b>SHR+TR</b>	85,81 ± 3,161 #	3,417 ± 0,60
<b>SHR+TR+ASE</b>	85,49 ± 3,822 #	4,24 ± 1,20

Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo (Emax) e ID50 da curva dose-resposta promovida pela acetilcolina em leito arterial mesentérico de ratos.

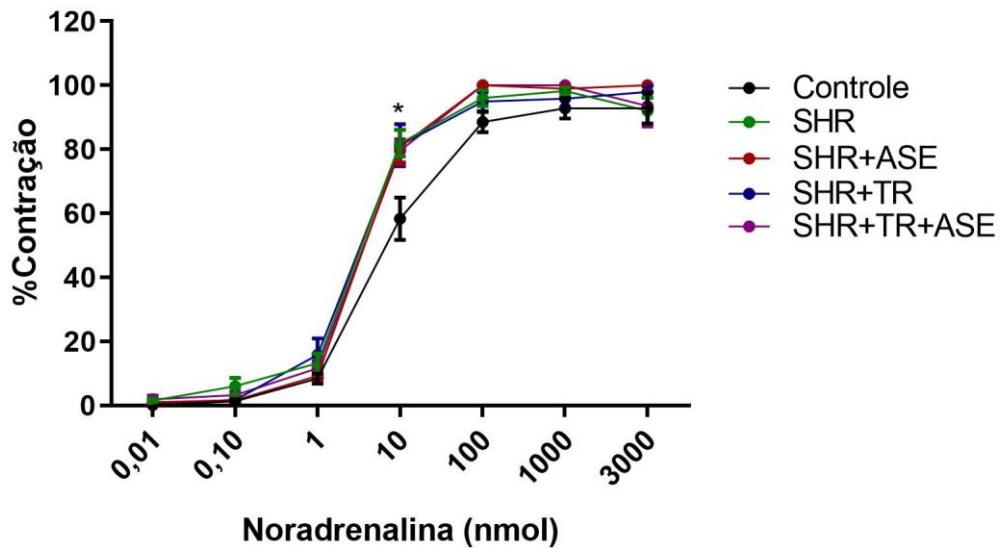
Nota: Os valores estão expressos em média ± erro padrão da média, n=7-8, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.9 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na resposta vasoconstritora da noradrenalina em LAM

A noradrenalina produziu uma resposta vasoconstritora dose-dependente que foi menor (dose de 10 nmol) ( $p < 0,05$ ) em LAM isolado de animais do grupo CONTROLE quando comparada aos grupos SHR, SHR+ASE, SHR+TR e SHR+TR+ASE (Figura 25). Não houve diferença no efeito máximo e na potência entre os grupos (Tabela 4).

Figura 25 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na curva dose-resposta da noradrenalina em leito arterial mesentérico



Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=7-8$ . Diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os grupos estão indicadas com os símbolos: \*vs CONTROLE, conforme determinado por Two-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

Tabela 4 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no Emax e ED50 da noradrenalina em leito arterial mesentérico

<b>Grupo</b>	<b>Emax (% contração)</b>	<b>ED50 (nmol)</b>
<b>CONTROLE</b>	92,4 $\pm$ 4,56	16,57 $\pm$ 4,15
<b>SHR</b>	100	9,156 $\pm$ 1,71
<b>SHR+ASE</b>	100	10,10 $\pm$ 2,18
<b>SHR+TR</b>	99,04 $\pm$ 0,81	10,14 $\pm$ 2,59
<b>SHR+TR+ASE</b>	100	7,72 $\pm$ 1,54

Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico no efeito máximo (Emax) e no ED50 da curva dose-resposta da noradrenalina em leito arterial mesentérico de ratos.

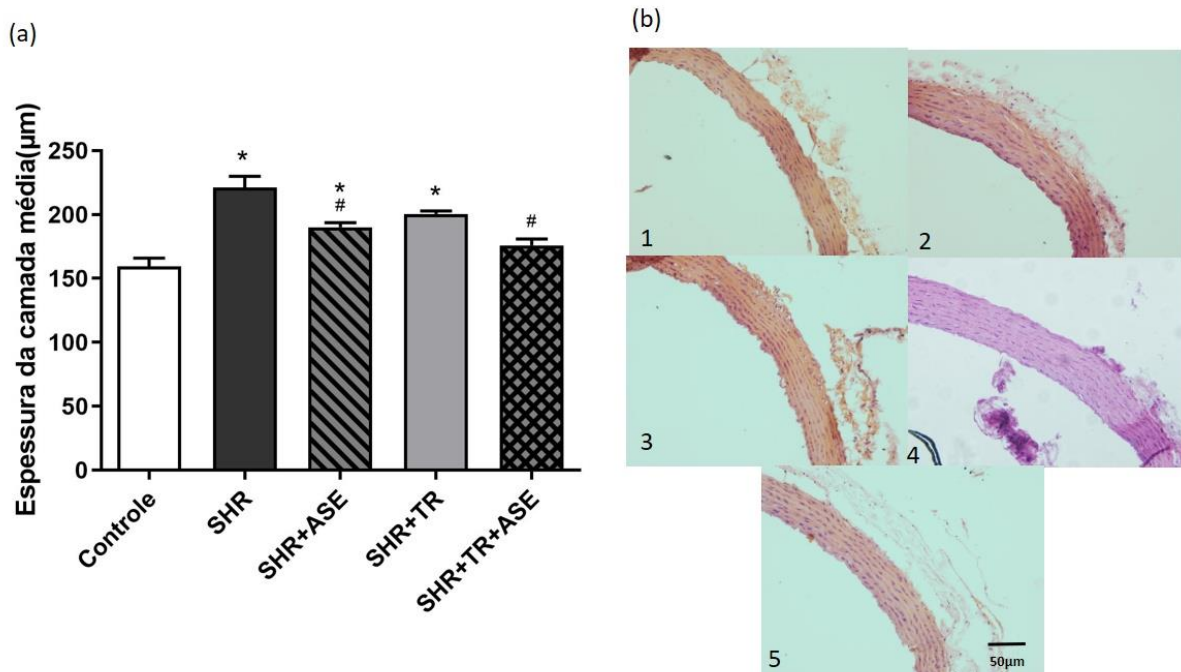
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=7-8$ , Conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.10 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na espessura da camada média da aorta

A espessura da camada média da aorta dos animais SHR foi significativamente maior ( $p < 0,0001$ ) do que a do grupo CONTROLE (Figura 26). O Tratamento com ASE reduziu ( $p < 0,05$ ) este parâmetro no grupo SHR+ASE em relação ao SHR. Entretanto, ainda foi maior ( $p < 0,05$ ) que a observada no grupo CONTROLE. O treinamento físico isoladamente dos animais do grupo SHR+TR não modificou a espessura da camada média em relação ao grupo SHR, permanecendo mais espessa ( $p < 0,001$ ) que a dos animais CONTROLE. O grupo SHR+TR+ASE apresentou uma redução significativa ( $p < 0,001$ ) deste parâmetro quando comparado ao grupo SHR, e não foi diferente dos demais grupos, indicando haver uma redução adicional da espessura com a associação do ASE ao treinamento físico.

Figura 26 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico na espessura da camada média da aorta



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na espessura da camada média (a) e as imagens representativas dos grupos CONTROLE (1), SHR (2), SHR+ASE (3), SHR+TR (4) e SHR+TR+ASE (5).

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=4-5$ , as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) estão sinalizadas com: \*vs CONTROLE e #vs SHR, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey

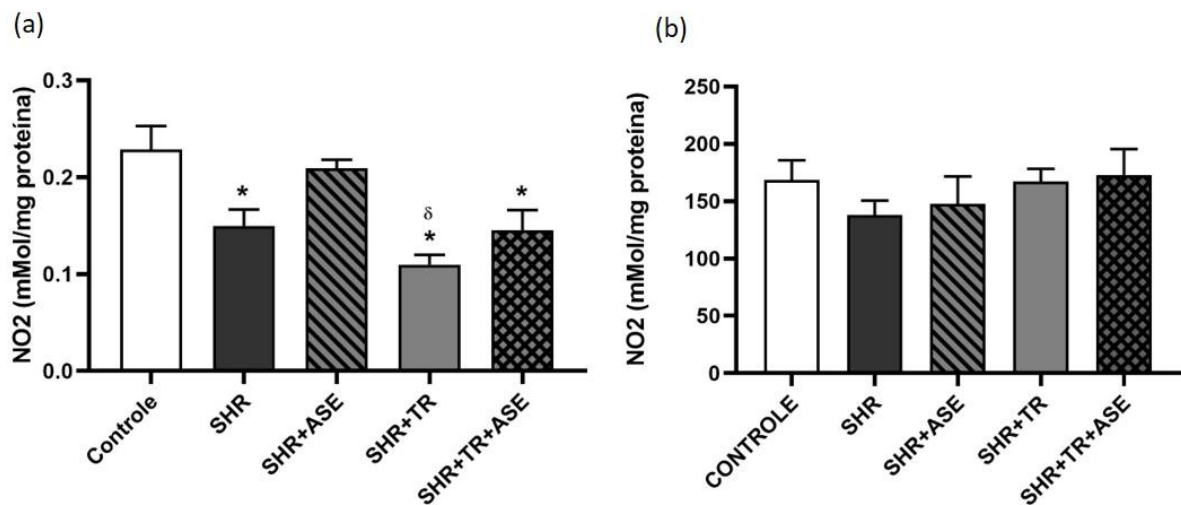
Fonte: A autora, 2021.



### 3.11 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico nos níveis de nitrito

No plasma, os níveis de nitrito do grupo SHR foram significativamente menores ( $p < 0,05$ ) que os do grupo CONTROLE (Figura 27 a). O tratamento com ASE promoveu um pequeno aumento deste parâmetro, entretanto não foi significativo. O treinamento físico isolado resultou em níveis de nitrito menores no grupo SHR+TR quando comparado aos grupos CONTROLE ( $p < 0,001$ ) e SHR+ASE ( $p < 0,01$ ). E os animais do grupo SHR+TR+ASE apresentaram níveis de nitrito significativamente menores ( $p < 0,05$ ) que os do grupo CONTROLE. Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de nitrito em homogenato de aorta (Figura 27 b).

Figura 27 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico nos níveis de nitrito



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis de nitrito no plasma (a) e em homogenato de aorta (b).

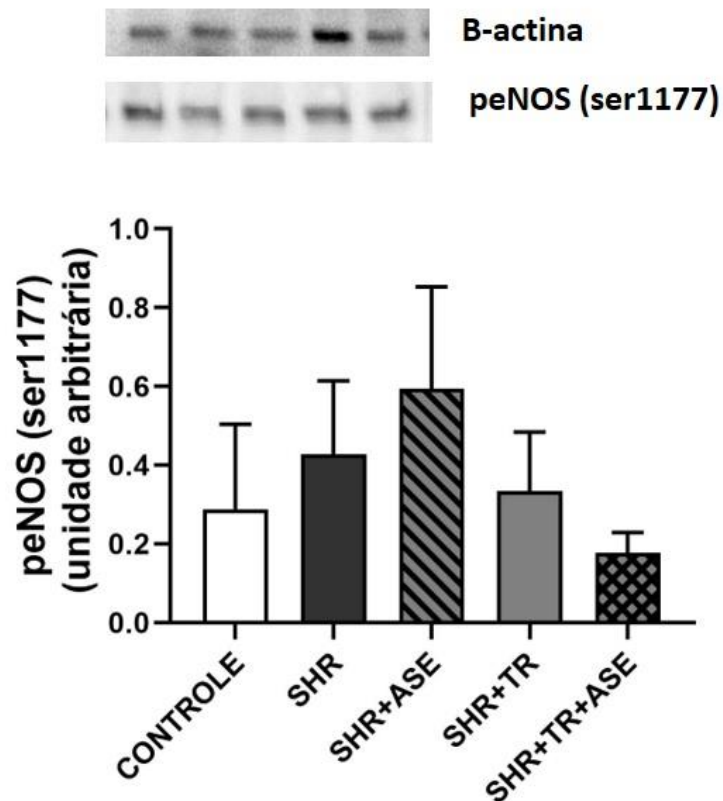
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$  para o plasma e  $n=6$  para aorta, as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) estão sinalizadas com: \*vs CONTROLE e  $\delta$ vs SHR+ASE, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.12 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão da peNOS

A expressão da proteína peNOS (Ser1177) foi realizada em homogenato de aorta e não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos analisados (Figura 28).

Figura 28 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão da peNOS



Legenda: Expressão do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão da proteína peNOS (ser1177).  
 Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média, n=4 conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

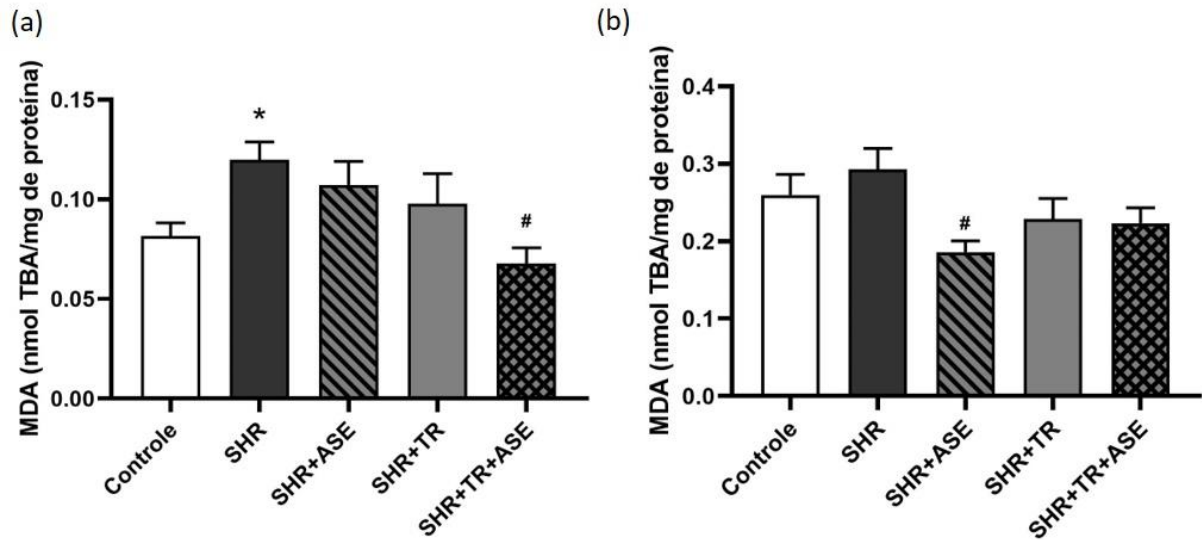
### 3.13 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos marcadores de dano oxidativo

#### 3.13.1. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A formação do subproduto (malondialdeído-MDA) da peroxidação lipídica foi maior ( $p < 0,05$ ) no plasma dos animais do grupo SHR quando comparado ao CONTROLE (Figura 29 a). O tratamento com ASE e o treinamento físico crônico isoladamente, não promoveram alteração. Quando associados, resultaram em uma redução ( $p < 0,01$ ) deste parâmetro nos animais SHR+TR+ASE em relação aos SHR.

Em homogenato de aorta, apenas o grupo SHR+ASE apresentou uma redução significativa ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo SHR (Figura 29 b). Não houve diferença entre os demais grupos.

Figura 29 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico crônico sobre os níveis de TBARS



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico nos níveis de TBARS em plasma (a) e em homogenato de aorta (b).

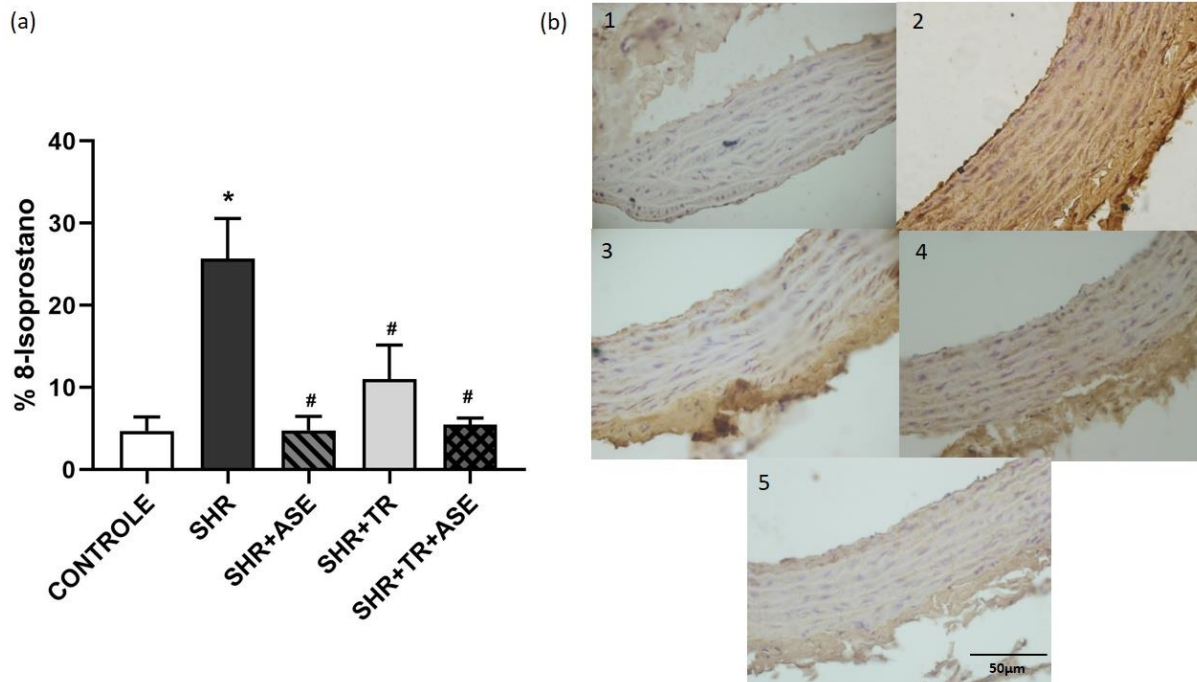
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$  para o plasma e  $n=6$  para aorta, as diferenças significativas ( $p<0,05$ ) estão sinalizadas com: \*vs CONTROLE e #vs SHR, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey

Fonte: A autora, 2021.

### 3. 13.2 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão do 8-isoprostano

A imunomarcção de 8-isoprostano, um marcador mais direto da peroxidação lipídica e, portanto, do dano oxidativo tecidual foi significativamente maior ( $p<0,01$ ) no grupo SHR em relação ao CONTROLE (Figura 30 a e b). O tratamento com ASE, associado ou não ao treinamento físico, reduziu ( $p<0,01$ ) a imunomarcção nos grupos SHR+ASE e SHR+TR+ASE quando comparados ao grupo SHR. De forma semelhante, o treinamento físico isoladamente também reduziu ( $p<0,05$ ) a peroxidação lipídica nos animais SHR+TR em relação aos SHR. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos.

Figura 30 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão do 8-isoprostano



Legenda: Imunohistoquímica com o marcador da peroxidação lipídica 8-isoprostano em aorta. Análises quantitativa (a) e qualitativa (b) dos animais CONTROLE (1), SHR (2), SHR+ASE (3), SHR+TR (4) e SHR+TR+ASE (5).

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=3$ , as diferenças significativas ( $p<0,05$ ) estão sinalizadas com: \*vs CONTROLE e #vs SHR, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey

Fonte: A autora, 2021.

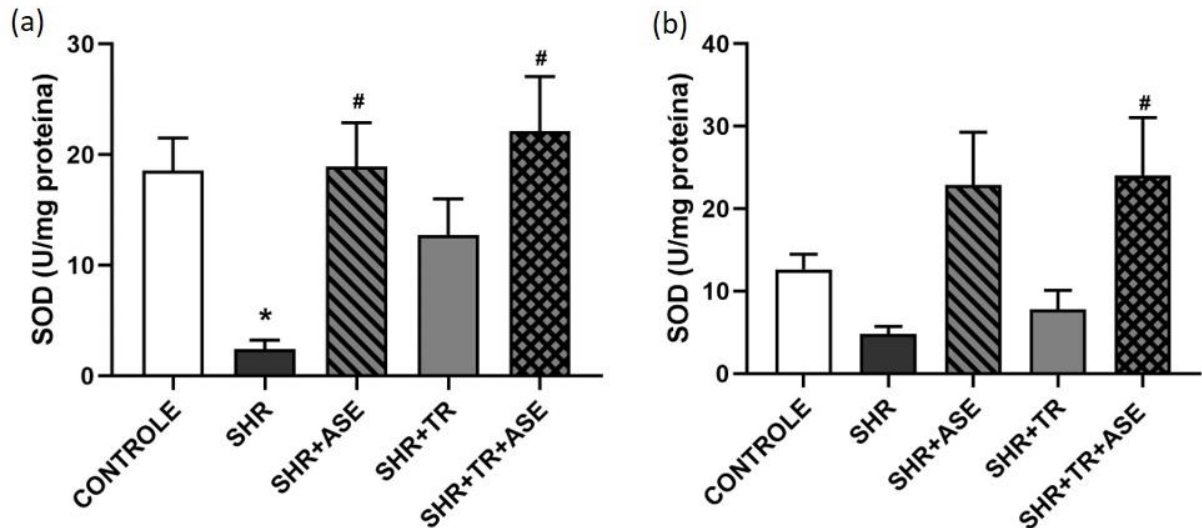
### 3.14 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico sobre a atividade das enzimas antioxidantes

#### 3.14.1 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da SOD

A atividade da enzima superóxido dismutase no plasma foi significativamente menor ( $p<0,05$ ) no grupo SHR quando comparado ao CONTROLE (Figura 31 a). O tratamento com ASE aumentou ( $p<0,05$ ) a atividade da SOD no plasma dos animais SHR+ASE em relação aos SHR. Da mesma forma, quando ao associado ao treinamento físico, o ASE promoveu um aumento ( $p<0,01$ ) da atividade desta enzima no grupo SHR+TR+ASE quando comparado ao SHR. Não houve diferença entre os grupos SHR+TR e SHR

Em homogenato de aorta, apenas a associação entre ASE e o treinamento físico crônico resultou em um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na atividade da SOD dos animais SHR+TR+ASE em relação aos SHR (Figura 31 b).

Figura 31 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da SOD



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da enzima superóxido dismutase em plasma (a) e em homogenato de aorta (b).

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$  para o plasma e  $n=6$  para aorta, as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) estão sinalizadas com: \*vs CONTROLE e #vs SHR, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

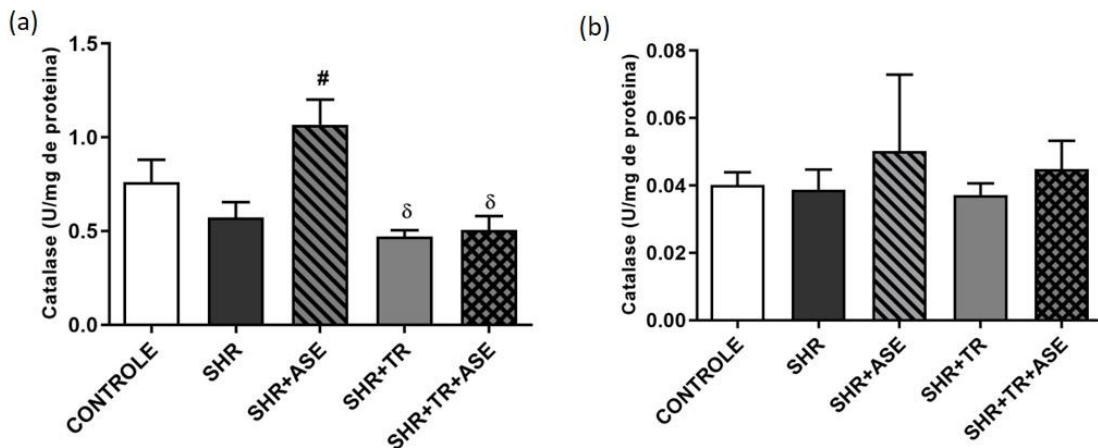
Fonte: A autora, 2021.

### 3.14.2 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da catalase

O tratamento com ASE promoveu um aumento ( $p < 0,05$ ) da atividade da enzima antioxidante catalase no plasma dos animais SHR+ASE em relação aos SHR (Figura 32 a). O treinamento físico isolado ou associado ao ASE reduziu a atividade desta enzima no plasma dos animais SHR+TR ( $p < 0,001$ ) e SHR+TR+ASE ( $p < 0,01$ ) em relação ao grupo SHR+ASE.

Em homogenato de aorta, não foram observadas diferenças significativas na atividade da catalase entre os diferentes grupos (Figura 32 b).

Figura 32 - Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da catalase



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da enzima catalase em plasma (a) e em homogenato de aorta (b).

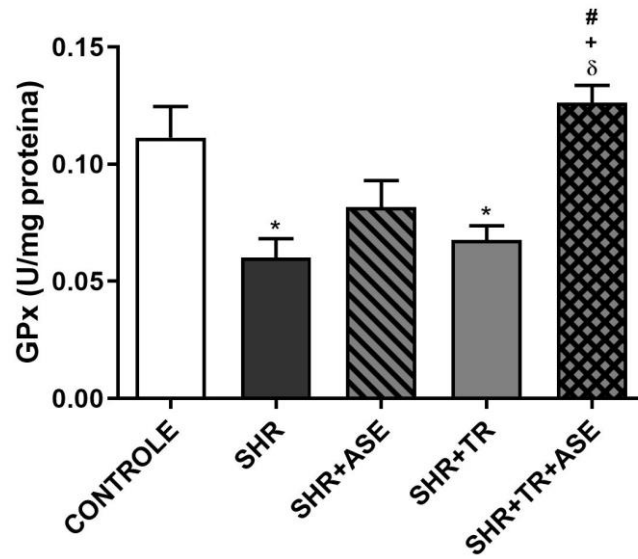
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=10$  para o plasma e  $n=6$  para aorta, as diferenças significativas ( $p<0,05$ ) estão sinalizadas com: #vs SHR e  $\delta$ vs SHR+ASE, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.14.3 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da enzima GPx

Quando comparado ao grupo CONTROLE, os grupos SHR e SHR+TR apresentaram uma redução significativa ( $p<0,01$ ,  $p<0,05$ , respectivamente) na atividade da enzima glutathiona peroxidase em homogenato de aorta (Figura 33). O tratamento com ASE associado ao treinamento físico crônico promoveu um aumento da atividade desta enzima no grupo SHR+TR+ASE quando comparado aos grupos SHR ( $p<0,001$ ), SHR+ASE ( $p<0,05$ ) e SHR+TR ( $p<0,01$ ).

Figura 33 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na atividade da GPx



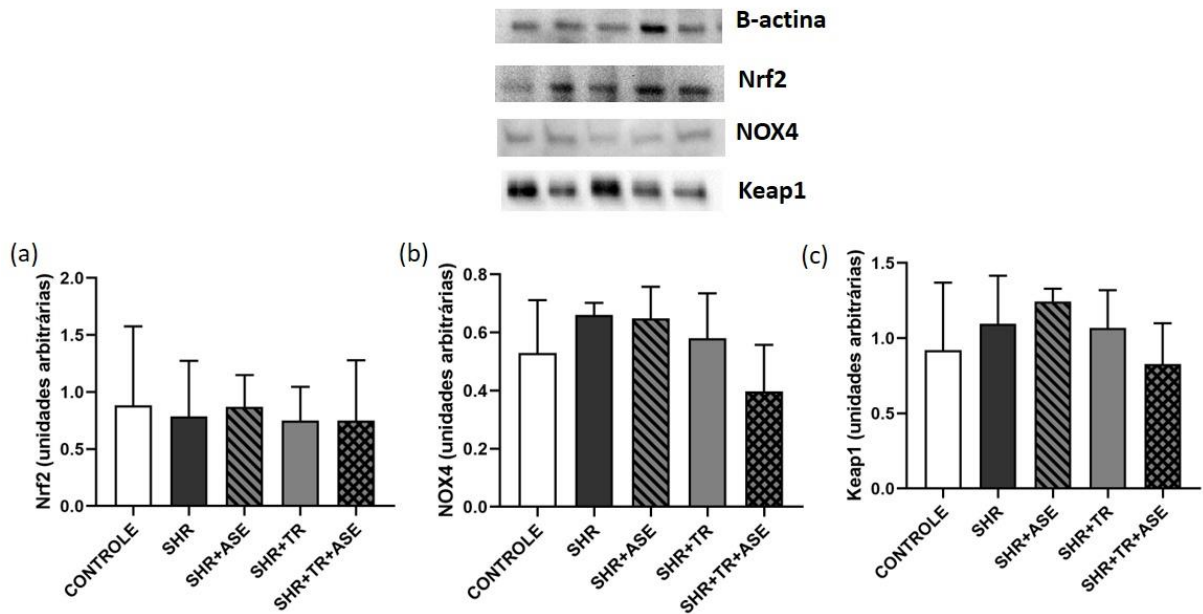
Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=6$ , as diferenças significativas ( $p<0,05$ ) estão sinalizadas com: \*vs CONTROLE e #vs SHR,  $\delta$ vs SHR+ASE, +vs SHR+TR, conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.

### 3.15 Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo

A expressão das proteínas relacionadas ao estresse oxidativo Nrf2, NOX4 e Keap1 foram analisadas e não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos experimentais. (Figura 34).

Figura 34 – Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo



Legenda: Efeito do tratamento com ASE e do treinamento físico na expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo em homogenato de aorta.

Nota: Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média,  $n=4$ , conforme determinado por one-way ANOVA com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2021.



#### 4 DISCUSSÃO

Tendo em vista o crescente percentual de hipertensos, a busca por formas de tratamento e prevenção desta patologia tem sido cada vez maior. A prática regular de atividade física tem sido reconhecida como uma excelente alternativa não farmacológica para o tratamento ou prevenção da hipertensão arterial (LARSEN; MATCHKOV, 2016), assim como a suplementação com compostos naturais com propriedades antioxidantes. Com base nas propriedades previamente descritas do ASE, buscamos avaliar os efeitos do tratamento com esse extrato e da prática regular de atividade física moderada, na função vascular e perfil oxidativo de animais hipertensos.

Por promover um aumento da demanda energética, o exercício físico, quando associado a uma dieta restritiva, é uma estratégia não farmacológica muito utilizada para auxiliar na redução do peso corporal. Entretanto, é incorreto considerar que redução da ingestão calórica e o aumento do gasto energético são parâmetros fisiológicos independentes que podem ser facilmente modificados (OCHNER *et al.*, 2015, HALL; GUO, 2017). Além disso, os efeitos oriundos da atividade física variam de acordo com a intensidade, a frequência e a duração do exercício. No presente estudo, antes do início do protocolo experimental, não foram observadas diferenças entre o peso corporal dos animais. O treinamento físico isolado não promoveu redução no peso corporal ao longo das semanas, tampouco no ganho de peso. De acordo com Swift *et al.*, 2018, embora a atividade física aeróbica de intensidade moderada promova benefícios cardiovasculares, não é adequada quando o objetivo é promover a perda de peso sem que haja uma restrição calórica. Nossos dados, então, corroboram com estudos que utilizaram o mesmo protocolo de treinamento e não observaram redução de peso (DE BEM *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2020) e com dados que demonstram que o exercício físico de intensidade moderada pode atuar na manutenção do peso corporal, e não na redução, quando este já está adequado (SWIFT *et al.*, 2015).

Diversos compostos fitoquímicos possuem propriedades anti-obesidade (GHOSH *et al.*, 2021), assim como o ASE, que já se mostrou eficiente em reduzir o ganho de peso de animais obesos que consumiram dieta hiperlipídica (OLIVEIRA *et al.*, 2015; ROMÃO *et al.*, 2019). Entretanto, o extrato não alterou este parâmetro em modelo de diabetes (DE BEM *et al.*, 2018) e em animais saudáveis (SOARES *et al.*, 2020). Sendo assim, evidenciamos pela primeira vez, o efeito do ASE na redução do ganho de peso de animais SHR. Embora os mecanismos responsáveis pela promoção deste efeito não tenham sido analisados neste

modelo experimental, estudos prévios já demonstraram a ação do ASE na prevenção do acúmulo de tecido adiposo, melhora do perfil lipídico, na redução dos níveis de triglicérides e na resistência à insulina em modelos de obesidade (ROMÃO *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2010, 2015). Somado a isso, estudos com catequina, um dos polifenóis presentes no ASE, e também encontrado no chá verde e no chá preto, mostraram que este polifenol pode ser capaz de manter ou auxiliar na redução do peso (JANSSENS *et al.*, 2016, PAN *et al.* 2016). Desta forma, é possível sugerir que o ASE tenha promovido uma melhora no metabolismo dos animais SHR com consequente redução do ganho de peso, mas é necessário que outras análises sejam feitas para elucidar os mecanismos envolvidos nesta ação.

A HA frequentemente está associada a outras doenças como, por exemplo, a diabetes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2017). Na glicemia de jejum realizada antes do início dos tratamentos, observamos um aumento significativo de todos os grupos SHR em relação ao CONTROLE e, após as 8 semanas, não houve diferença entre os grupos. Nossos dados corroboram com Grünblatt *et al.* (2015) que também observaram diferença na glicemia de animais SHR e Wistar de 3 meses, mas não observaram com 7 meses. Além disso, também não foram observadas alterações no TOTG, indicando que os animais não desenvolveram resistência à insulina.

A prática regular de atividade física é reconhecida por promover uma redução da glicemia de pacientes diabéticos (BALDUCCI *et al.*, 2014), aumentar a captação de glicose pelas células (JENSEN; RICHTER,2012; SYLOW *et.al*, 2017) e melhorar a resistência à insulina (WHILLIER, 2020). O consumo de polifenóis também resulta em efeitos benéficos para esta patologia (RUSSO *et al.*, 2019). Embora não tenham sido observadas diferenças nestes parâmetros, estudos realizados pelo nosso grupo, evidenciaram que o tratamento com ASE e a atividade física de intensidade moderada foram capazes de reduzir os níveis glicêmicos e a resistência à insulina em animais com diabetes tipo 2 (DE BEM *et al.*, 2017, 2018), e que o extrato possui propriedades hipoglicemiantes (OLIVEIRA *et al.* 2010; 2015), demonstrando a capacidade do ASE e do exercício de melhorarem estes parâmetros em condição patológica. Sendo assim, é possível que no presente estudo esses efeitos benéficos não tenham sido observados porque os animais não apresentavam alterações no metabolismo da glicose.

Durante a atividade física, o aumento da captação de glicose se dá pela necessidade das células de produzir energia para executar os movimentos. Durante atividades de longa duração, a principal via utilizada para sintetizar ATP é a aeróbia, enquanto que nas atividades

de curta duração e alta intensidade, o ATP é proveniente principalmente da via anaeróbia láctica, onde há formação de lactato (POWERS; HOWLEY, 2014), que já foi considerado um possível causador da fadiga muscular por supostamente provocar o aumento da acidificação do meio, através da liberação de  $H^+$  (HALL *et al.*, 2016) Desta forma, dosamos os níveis séricos de lactato imediatamente após o término do teste de esforço e observamos que a suplementação com ASE promoveu um aumento significativo nos níveis séricos de lactato do grupo SHR+TR+ASE em relação a sua primeira medida e em relação à medida final do grupo SHR+TR.

A fadiga pode ser definida como a incapacidade de iniciar ou manter alguma atividade voluntária, e atualmente é compreendida como um mecanismo que visa manter a integridade fisiológica do corpo (CORDEIRO *et al.*, 2017) e, embora o acúmulo de lactato seja um possível indicador do aumento da acidose, ambos não devem ser interpretados como causa e efeito (ROBERGS *et al.* 2004). Somado a isto, em condições de exercício aeróbico como corridas de longas distâncias ou natação, a sensação de fadiga depende de diversos fatores como nutrição, condições ambientais e condicionamento físico dos atletas.

O aumento dos níveis de lactato está relacionado com a intensidade da atividade desempenha. Quando a intensidade aumenta, como no teste de esforço, a produção de energia se dará preferencialmente pela via anaeróbia, resultando em aumento deste marcador na corrente sanguínea (FURLAN *et al.*, 2017). Como mostram os resultados do TE, que serão discutidos a seguir, os animais SHR+TR+ASE permaneceram por mais tempo no teste. Logo, é possível que para este grupo o TE tenha sido uma atividade de alta intensidade, com requerimento de produção de energia pela via anaeróbia e conseqüente aumento nos níveis de lactato. Para compreender melhor os resultados obtidos, outras análises poderiam ser realizadas como avaliar os níveis de lactato antes e após o teste e a atividade da lactato desidrogenase.

No primeiro TE, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos que seriam posteriormente submetidos ao protocolo de exercício, evidenciando que ambos estavam sob as mesmas condições físicas. Nos subseqüentes testes realizados, após 4 e 8 semanas de treinamento, ambos os grupos mostraram uma melhora na *performance* em comparação ao teste inicial, corroborando com achados que evidenciam que a prática regular de atividade física por si só é capaz de promover ganho de desempenho (HUGHES *et al.*, 2018).

Entretanto, o tratamento crônico com ASE resultou em um ganho adicional de *performance*, uma vez que houve diferença entre os grupos no 3° TE. Além disso, o ganho de

desempenho do grupo SHR+TR apresentado no 2° TE, foi perdido no 3°, enquanto o grupo tratado com ASE manteve os mesmos valores nos dois testes finais. Um estudo anterior avaliou a suplementação com ASE associada ao treinamento físico crônico, e evidenciou um ganho significativo do desempenho em animais saudáveis (SOARES *et al.*, 2020), corroborando com os resultados do presente trabalho. Sendo assim, evidenciamos pela primeira vez a ação do ASE não apenas na melhora como também na manutenção do ganho de *performance* física de animais hipertensos. De acordo com Soares *et al.*, (2020), o tratamento agudo com o extrato não foi capaz de promover estes efeitos, apenas a suplementação crônica. Logo, é possível concluir que este ganho de desempenho não é oriundo de alterações fisiológicas momentâneas, é resultado do efeito do ASE na melhora da função vascular, redução do estresse oxidativo e do aumento de proteínas chaves relacionadas a biogênese mitocondrial. Sendo assim, decidimos avaliar o efeito do tratamento com o extrato em um modelo com reconhecido comprometimento cardiovascular associado ao elevado estresse oxidativo.

Os animais SHR começam a desenvolver HA a partir da 3° semana de vida. Na 12°, quando se deu início ao tratamento, a hipertensão já estava bem estabelecida e todos os grupos hipertensos apresentaram diferença significativa da PAS e PAD em relação ao grupo CONTROLE. O ASE promoveu uma redução significativa nos níveis pressóricos após uma semana de tratamento e se mostrou, em uma semana, mais eficiente quando não associado ao treinamento físico, corroborando com trabalhos que evidenciaram seu efeito anti-hipertensivo (COSTA *et al.*, 2012; CORDEITO *et al.*, 2018).

O exercício físico isoladamente não promoveu alteração na PA. Estudos sugerem que embora o exercício aeróbico de intensidade moderada resulte em benefícios cardiovasculares significativos como melhora da sensibilidade dos barorreceptores, redução da atividade simpática e melhora da complacência arterial (CARDOZO *et al.*, 2012), a redução dos valores pressóricos é discreta entre 5-10mmHg. Sendo assim, quando a PA já está bastante elevada, a prática regular de exercício físico não pode ser utilizada como única medida terapêutica (MALACHIAS *et al.*, 2016), uma vez que a hipertensão permanece, mas promove diversos outros benefícios cardiovasculares que são indispensáveis para reduzir os efeitos patológicos da hipertensão (RUIVO; ALCÂNTARA, 2012). Entretanto, quando associado ao tratamento com ASE, o exercício foi capaz de reduzir tanto a PAS, quanto a PAD. Nossos dados corroboram com Filho *et al.*, (2011) que evidenciaram o efeito benéfico do exercício físico associado ao vinho que, assim como o ASE, é rico em polifenóis, na redução da PAS de animais SHR. Sendo assim, a associação entre treinamento físico e tratamento com ASE

parece ser um bom recurso terapêutico para a HA, uma vez que os benefícios resultantes de ambos podem se complementar.

Os vasos de condutância como, por exemplo, a aorta, possuem barorreceptores que detectam alterações no fluxo sanguíneo. Estudos apontam que em pacientes hipertensos, há uma redução deste mecanismo, favorecendo ainda mais a desregulação pressórica e que a estimulação destes mecanorreceptores seria uma boa alternativa terapêutica (YORUK *et al.*, 2016). No presente estudo, evidenciamos uma redução da resposta vasodilatadora promovida pela ACh e aumento da resposta vasoconstritora da NE, tanto em anéis de aorta quanto em leito arterial mesentérico dos SHR, evidenciando a disfunção endotelial característica do modelo (KONG *et al.*, 2015; WILSON *et al.*, 2019), resultante de uma redução da biodisponibilidade de NO e aumento do estresse oxidativo.

Nós observamos um aumento da resposta vasodilatadora promovida pela ACh nos animais submetidos a treinamento físico, corroborando com achados que sugerem que a prática regular de atividade física melhora a função vascular (HELLSTEN; NYBERG, 2015). Quando associado ao ASE, a resposta vasodilatadora do grupo treinado foi um pouco mais acentuada. Entretanto, a vasodilatação foi mais pronunciada no tratamento isoladamente com ASE, corroborando com os achados de Soares *et al.* (2020), que também observaram melhora da resposta vascular promovida pelo ASE. Segundo Lôbo *et al.* (2020) dietas compostas por alimentos ou bebidas que contenham polifenóis como o cacau, café, chá verde, entre outros, reduzem a disfunção endotelial, a PA em hipertensos, o dano oxidativo e os marcadores inflamatórios, resultando em uma melhora da função endotelial.

Um fator que pode ter contribuído para estes resultados, foi a redução da espessura da parede da aorta observada nos grupos tratados com ASE, corroborando com achados de Costa *et al.* (2012), em animais com hipertensão renovascular. Neste caso, a associação entre treinamento e tratamento foi mais benéfica que ambas as terapias isoladas, o que pode contribuir para a redução da RVP. Entretanto, o treinamento físico isolado não foi eficaz em reduzir este parâmetro. Além disso, embora não tenham sido observadas diferenças na expressão da enzima peNOS, que sintetiza NO, um dos mais importantes vasodilatadores, os níveis de nitrito, um subproduto da metabolização do NO, mostrou-se significativamente reduzido nos animais hipertensos, e o tratamento com ASE restaurou estes níveis, que ficaram semelhantes ao grupo normotenso. O treinamento isolado não promoveu aumento de nitrito e ainda foi menor que o observado no grupo SHR+ASE, mas, quando associado ao ASE, resultou em um leve aumento. Sendo assim, é possível concluir que o ASE possui efeitos mais expressivos que o treinamento físico na função vascular, com aumento da produção de

NO e redução da espessura da parede dos vasos, o que possivelmente auxiliou na melhora da resposta vascular.

O estresse oxidativo também possui uma importante relação com a disfunção endotelial. O aumento da expressão das NOX na hipertensão está intimamente relacionado com o aumento da produção de ERO e, conseqüentemente, do estresse oxidativo (CAMARGO *et al.*, 2018; TOUYZ, 2005). No presente estudo não foram observadas alterações na expressão da NOX4 em aorta. Contudo, outros trabalhos evidenciaram que em células do músculo liso vascular de SHR, há um aumento da expressão das isoformas NOX1 e NOX 4 (CAMARGO *et al.*, 2018) e que em pacientes com hipertensão essencial, há uma superprodução de  $O_2^-$  produzido pelas NOX dos fagócitos, o que possivelmente está relacionado à redução da biodisponibilidade de NO (FORTUÑO *et al.*, 2004), contribuindo ainda mais para o acréscimo dos fatores pró-oxidantes.

Os polifenóis, especialmente os flavonoides, reduzem a atividade da NOX, além de poderem atuar como *scavengers*, removendo as ERO diretamente (YOUSEFIAN *et al.*, 2019). Embora a produção de ERO promova malefícios, pode atuar também ativando vias de sinalização que resultem na síntese de moléculas antioxidantes, como é o caso da via do Nrf2. Sendo assim, a modulação deste fator de transcrição pode ser muito benéfica para o aumento dos compostos antioxidantes. Embora não tenham sido observadas diferenças na expressão das proteínas Nrf2 e Keap1 neste trabalho, estudos com atividade física (DONE; TRAUSTADÓTTIR, 2016; VARGAS-MENDOZA *et al.*, 2019;) e com tratamento com ASE de células endoteliais em cultura (SOARES *et al.*, 2017), evidenciaram que ambos podem promover o aumento da expressão do Nrf2 e das proteínas responsáveis pela regulação da sua transcrição. Quando associados, o treinamento físico crônico e a suplementação com o ASE também resultaram no aumento da expressão do Nrf2 no músculo sóleo de ratos wistar (SOARES *et al.*, 2020). Para investigar melhor o papel do ASE na ativação do Nrf2, a expressão desta proteína pode ser avaliada em outros tecidos ou até mesmo em aorta com um número de amostras um pouco mais significativo.

Embora não tenham sido observadas alterações na expressão de proteínas relacionadas ao estresse oxidativo, outros marcadores pró e antioxidantes foram avaliados. Evidenciamos que o tratamento com ASE promoveu uma redução de marcadores da peroxidação lipídica, como o MDA em homogenato de aorta e a marcação de 8-isoprostano também em aorta, enquanto que o treinamento físico promoveu redução apenas de 8-isoprostano. Quando associados, houve redução do MDA em plasma e do 8-isoprostano em aorta. Além disso, as atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx, que estavam significativamente

reduzidas nos animais hipertensos, aumentaram com o tratamento com ASE, associado ou não ao exercício físico, corroborando com outros estudos que avaliaram a capacidade antioxidante do extrato (SANTOS *et al.*, 2020; SOARES *et al.*, 2017; ROMÃO *et al.*, 2019) e com outros compostos fenólicos com ação antioxidante em SHR (RANDRIAMBOAVONJY *et al.*, 2017). Embora no presente estudo, a atividade física não tenha melhorado a atividade destas enzimas, também é reconhecida por sua ação antioxidante (DA SILVA *et al.*, 2019) que ficou evidente, mesmo que não tão proeminente quanto o ASE, na redução do marcador de dano oxidativo. Além disso, a prática regular de exercício físico previne o desenvolvimento e trata diversas outras patologias como ansiedade e depressão (CAREK *et al.*, 2011), diabetes e obesidade (MELMER *et al.*, 2018) e, portanto, promove outros benefícios muito além dos cardiovasculares. Mais estudos podem ser desenvolvidos avaliando diferentes metodologias de treinamento físico, com variações na intensidade e tempo de atividade desenvolvida para avaliar qual deles promoverá maiores ganhos.

## CONCLUSÃO

O tratamento com ASE promoveu um ganho adicional na *performance* dos animais submetidos ao treinamento físico e atuou na manutenção do desempenho adquirido. Isso, possivelmente foi causado pelo efeito do extrato na redução da PA, na melhora da função vascular, associada a uma redução do remodelamento dos vasos e aumento da atividade das enzimas antioxidantes, o que não foi promovido pelo treinamento isoladamente, reduzindo o estresse oxidativo e resultando na melhora da disfunção endotelial, comumente observada na hipertensão.

Embora o treinamento físico isoladamente não tenha resultado em ganhos tão significativos quanto os do tratamento com ASE, a associação entre as duas alternativas terapêuticas deve ser preconizada, uma vez que os benefícios da atividade física vão além de melhorias na função vascular.



## REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. Oxygen Radicals in Biological Systems. **Methods Enzymol**, v. 105, p.121-126, 1984.
- AMODEO, C. *et al.* Hipertensão arterial sistêmica secundária. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 32, supl. 1, p. 44-53, set. 2010.
- ANDRIANTSITOHAINA, R.; AUGER, C.; CHATAIGNEAU, T. *et al.* Molecular mechanisms of the cardiovascular protective effects of polyphenols. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 9, p. 1532–1549, 2012.
- BALDUCCI, S. *et al.* Physical exercise as therapy for type 2 diabetes mellitus: Exercise as Therapy for Type 2 Diabetes. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 30, n. S1, p. 13–23, 2014.
- BARBOSA, K.B.R. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr., Campinas**, v. 23, n. 4, p.629-643, 2010.
- BELLEZZA, I. *et al.* Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. **Molecular Cell Research**, v. 1865, n. 5, p. 721–733, 2018.
- BOBBIO, F.O. *et al.* Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, n.20, v.3, p. 388-390, 2000.
- BOLOTINA, V.M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J.J. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**. n. 368, v. 6474, p.850-853, 1994.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**. v.73, n.1/2, p. 248-254, 1976.
- BRANDELLI, C.L.C., MONTEIRO, S.C. *Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação*. Porto Alegre: Artmed, p. 172, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. **Vigitel Brasil 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018**. Brasília, DF, 2019.
- CAHILL, P.A.; REDMOND, E.M. Vascular endothelium – Gatekeeper of vessel health. **Atherosclerosis**, v. 248, p. 97–109, 2016.

CAMARGO, L.L. *et al.* Vascular Nox (NADPH Oxidase) Compartmentalization, Protein Hyperoxidation, and Endoplasmic Reticulum Stress Response in Hypertension. **Hypertension**, v. 72, n. 1, p. 235–246, 2018.

CAMPOS, M.T.G.; LEME, F.O.P. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. **Pubvet**. v.12, n.1, a10, p.1-8, 2018.

CAPUTO, F. *et al.* Aerobic exercise: bioenergetics, physiological adjustments, fatigue and performance indices. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum** v.11, n. 1, p. 94-102, 2011.

CARDOZO, D.C.; DESTRO, D. S.; CARDOZO, L. C. Influência do exercício físico no controle barorreflexo na hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo, v.6, n.34, p.342-348, 2012.

CAREK, P.J.; LAIBSTAIN, S.E.; CAREK, S.M., Exercise for the Treatment of Depression and Anxiety. **Int J Psychiatry Med**. v.41, n. 1, p.15-28, 2011.

CARTER, J.R.; RAY, C.A. Sympathetic neural adaptations to exercise training in humans. **Auton. Neurosci.**, n.188, p. 36-43, 2015.

CARVALHO, M.H.C. *et al.* Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Rev Bras Hipertens**, n.8, p. 76-88, 2001.

CASPERSEN, C.; POWELL, K.; CHRISTENSON, G. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Rep**. v. 100, n. 2, p.126-131. Mar. 1985.

CHEN, Y.H.; COLLINS, L.; DICARLO, S.E. Daily exercise enhances acetylcholine-induced dilation in mesenteric and hindlimb vasculature of hypertensive rats. **Clin. and Exper. Hypertension**, v. 21, n. 4, p. 353-376, 1999.

CHIAPPE C., GLADYS, E.; CALDIZ, C.I. Insulin resistance and GLUT-4 glucose transporter in adipocytes from hypertensive rats. **Metabolism**, v. 53, n. 3, p. 382–387, 2004.

CORDEIRO, L.M.S. *et al.* Physical exercise-induced fatigue: the role of serotonergic and dopaminergic systems. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.50, n. 12, p.1-13, 2017.

CORDEIRO, V.S.C. *et al.* Euterpe oleracea Mart. seed extract protects against renal injury in diabetic and spontaneously hypertensive rats: role of inflammation and oxidative stress. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 817–832, 2018.

COSTA, C.A. *et al.* Euterpe oleracea Mart.-derived polyphenols prevent endothelial dysfunction and vascular structural changes in renovascular hypertensive rats: Role of oxidative stress. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 385, n.12, p. 1199–1209, 2012.

DA SILVA, L.A. *et al.* Effects of aquatic exercise on mental health, functional autonomy and oxidative stress in depressed elderly individuals: A randomized clinical trial. **Clinics**, v. 74, p. e322, 2019.

DE BEM, G.F. *et al.* Antidiabetic effect of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) extract and exercise training on high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats: A positive interaction. **PLOS ONE**, v. 13, n. 6, p. e0199207, 2018.

DE BEM, G.F. *et al.* *Euterpe oleracea* Mart. (açai) seed extract associated with exercise training reduces hepatic steatosis in type 2 diabetic male rats. **J Nutr Biochem.**, n. 52, p.70-81, 2017.

DICKHOUT, J.G.; LEE, R.M.K.W. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 274, n. 3, p. H794–H800, 1998.

DOMINGOS-SOUZA, G. *et al.* The ability of baroreflex activation to improve blood pressure and resistance vessel function in spontaneously hypertensive rats is dependent on stimulation parameters. **Hypertens Res.** Epub.2021. Elsevier, 2011.

DONE, A.J.; TRAUSTADÓTTIR, T. Nrf2 mediates redox adaptations to exercise. **Redox Biology**, v. 10, p. 191–199, 2016.

DORNAS, W. C; SILVA, M. E. Animal models for the study of arterial hypertension. **Journal of Biosciences**, v. 36, n. 4, p. 731–737, 2011.

DRAPER, H.H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index os lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v.186, p. 421-431, 1990.

EMBRAPA. **Sistemas de produção 4: Açai**. Belém, PA, 2005.

ESCHENHAGE, T. Tratamento da hipertensão. In: BRUNTON, L.L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B.C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2019. p.625-649

FIGUEIRA, F.R. *et al.* Aerobic and Combined Exercise Sessions Reduce Glucose Variability in Type 2 Diabetes: Crossover Randomized Trial. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. e57733, 2013.

FILHO, P.R.S.; CASTRO, I.; STAHLSCHMIDT, A. Efeito do vinho tinto associado ao exercício físico no sistema cardiovascular de ratos espontaneamente hipertensos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 96, n. 4, p. 277–283, 2011.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W.A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v.105, p.114-121, 1984.

FLOR, A.S.S.O., BARBOSA, W.L.R. Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito de Marudá – PA. **Rev. Bras. Pl. Med**, Campinas, v.17, n.4, p.757-768, 2015.

FORTUÑO, A.; OLIVÁN, S.; BELOQUI, O.; et al. Association of increased phagocytic NADPH oxidase-dependent superoxide production with diminished nitric oxide generation in essential hypertension: **Journal of Hypertension**, v. 22, n. 11, p. 2169–2175, 2004.

FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.

FURLAN, J.P.; DEPIERI, A.L.V.; PEDROSA, M.M. D. Metabolismo do lactato e avaliação de desempenho: dois lados do mesmo processo. **Saúde e Pesquisa**, v. 10, n. 1, p. 171, 2017.

GEWEHR, D.*et al.* Adesão ao tratamento farmacológico da hipertensão arterial na Atenção Primária à Saúde. **Saúde debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 116, p. 179-190, jan. 2018.

GHOSH, S. *et al.* Role of phytochemicals in the treatment of obesity: targets, mechanisms and limitations. **Curr Top Med Chem**. epub, 2021.

GHOSH, S.; MANCHALA, S.; RAGHUNATH, M. Role of phytochemicals in the treatment of obesity: targets, mechanisms and limitations. **Curr Top Med Chem**, v.21, n.10, p.863-877, 2021.

GOYAL, M.M. *et al.* Human catalase: looking for complete identity. **Protein & Cell**. v. 1, n. 10, p. 888–897, 2010.

GRÜNBLATT, E. *et al.* Characterization of cognitive deficits in spontaneously hypertensive rats, accompanied by brain insulin receptor dysfunction. **Journal of Molecular Psychiatry**, v. 3, n. 1, p. 6, 2015.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro, 2011.

HAHN, G.F.; OLIVEIRA, J.R.; BOCK, P. M. papel do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) no diabetes mellitus. **Clinical & Biomedical Research**, v. 37, n. 3, p. 203–213, 2017.

HALL, K. D., GUO, J. Obesity energetics: body weight regulation and the effects of diet composition. **Gastroenterology**, v. 152, n. 7, p. 1718-1727, 2017.

HALL, M.M. *et al.* Lactate: Friend or Foe. **PM&R**, v. 8, n. 3S, p. S8–S15, 2016.

HAMBRECHT, R.; ADAMS, V.; ERBS, S.; et al. Regular Physical Activity Improves Endothelial Function in Patients With Coronary Artery Disease by Increasing Phosphorylation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. **Circulation**, v. 107, n. 25, p. 3152–3158, 2003.

HELLSTEN, Y.; NYBERG, M. Cardiovascular Adaptations to Exercise Training. **Compr Physiol**, n. 6, v. 1, p. 1-32, 2015

HIGASHI, Y., YOSHIZUMI, M. Exercise and endothelial function: Role of endothelium-derived nitric oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. **Pharmacology & Therapeutics**. v.102, p. 87-96, 2004.

HILAL-DANAN, R.; BRUNTON, L.L. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2015.

HOLLOSZY, JO; COYLE, EF; Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. **J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.**, v. 56, n. 4, p.831-838. 1984.

HONG, Y.H.; BETIK, A. C.; MCCONELL, G.K. Role of nitric oxide in skeletal muscle glucose uptake during exercise: Nitric oxide and glucose uptake during exercise. **Experimental Physiology**, v. 99, n. 12, p. 1569–1573, 2014.

HUGHES, D.C.; ELLEFSEN, S.; BAAR, K. Adaptations to Endurance and Strength Training. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 6, p. a029769, 2018.

HULTSTRÖM, M. Development of structural kidney damage in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Hypertension**, v. 30, n. 6, p. 1087–1091, 2012.

IBGE. **Práticas de esporte e atividade física: 2015**. p.80. Rio de Janeiro, 2017.

IGNAT, I; VOLF, I; POPA, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

JAMES, P.A. *et al.* 2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults: Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507, 2014.

JANSAKUL, C.; HIRUNPAN, P. Effects of exercise training on responsiveness of the mesenteric arterial bed to phenylephrine and KCl in male rats. **Br J Pharmacol**, v. 127, n. 7, p. 1559-1566, 1999.

JANSSENS, P.L.H.R.; HURSEL, R.; WESTERTERP-PLANTENGA, M.S. Nutraceuticals for body-weight management: The role of green tea catechins. **Physiology and Behavior**, 162, 83-87, 2016.

JENSEN, T.E., RICHTER, E.A. Regulation of glucose and glycogen metabolism during and after exercise. **J Physiol** v.590, n. 5, p. 1069–1076, 2012.

JONES, W.E. Performance profiling. In: JONES, W. E. **Equine sports medicine**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989. p.205-214 *apud* WATANABE, M. J. *et al.* Alterações do pH, da PO<sub>2</sub> e da PCO<sub>2</sub> arteriais e da concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça Árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 320-326, 2006.

JONES, D.P. Radical-free biology of oxidative stress. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 295, n. 4, p. C849–C868, 2008.

KOJDA, G; HAMBRECHT, R. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? **Cardiovascular Research**, v. 67, n. 2, p. 187–197, 2005.

KONG, X.; LI, W.; GUO, L.; *et al.* Sesamin enhances nitric oxide bioactivity in aortas of spontaneously hypertensive rats. **Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease**, v. 9, n. 5, p. 314–324, 2015.

KONUKOGLU, D.; UZUN, H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. **Adv Exp Med Biol.**, v. 956, p. 511–540, 2016.

LARSEN, M.K.; MATCHKOV, V. V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. **Medicina**, v. 52, n. 1, p. 19–27, 2016.

LATERZA, C.M *et al.* Regular Physical Exercise and Autonomic Control in Hypertension. **Rev SOCERJ**. n.21, v.5, p.320-328, 2008.

LERMAN, L.O. *et al.* Animal Models of Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Hypertension**, v. 73, n. 6, p.87-120, 2019.

LEWANDOWSKI, L.; KEPINSKA, M.; MILNEROWICZ, H. Inhibition of copper-zinc superoxide dismutase activity by selected environmental xenobiotics. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 58, p. 105–113, 2018.

LIAN, X., GOLLASCH, M. A Clinical Perspective: Contribution of Dysfunctional Perivascular Adipose Tissue (PVAT) to Cardiovascular Risk. **Curr Hypertens Rep**, v.18, p. 82, 2016.

LIMA, J.C.P. **Revisão sistemática: controle neural da pressão arterial**. 2017, 37 f. (Trabalho de conclusão de curso) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária. 2017.

LIU, C. *et al.* Alamandine attenuates hypertension and cardiac hypertrophy in hypertensive rats. **Amino Acids**, v.50, n8, p. 1071-1081, 2018.

LÔBO, G.B.S; SILVA, A.V.; MENEZES, G.B.L. Dietary polyphenols and endothelial function in adults without a disease diagnosis: a systematic review of randomized trials. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 85320–85346, 2020.

MA, Q. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 53, n. 1, p. 401–426, 2013.

MALACHIAS, M.V.B. *et al.* 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v.107, n.3, p. 1-6, set. 2016.

MARTELLI, A. Baroreflexes and blood pressure homeostasis. **Revista HCPA**, n. 33, v.4, p.230-237, 2013.

MARTELLI, F.; NUNES, F.M.F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Cienc. Cult.**, v. 66, n. 3, p. 54-57, 2014.

- MATEUS, N.C. **A importância de uma dieta rica em polifenóis no controle de doenças cardiovasculares.** 2018. 15 f. Monografia (Graduação) - Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2018.
- MATSUURA, C.; BRUNINI, T. M.C.; CARVALHO, L.C.M.M.; et al. Exercise training in doxorubicin-induced heart failure: effects on the L-arginine–NO pathway and vascular reactivity. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 4, n. 1, p. 7–13, 2010.
- MELMER, A.; KEMPF, P.; LAIMER M. The Role of Physical Exercise in Obesity and Diabetes. **Praxis**, v. 107, p. 971- 976, 2018.
- MENEZES, E.M. S.; TORRES, A. T.; SABAA SRUR, A. U. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amaz., Manaus** , v. 38, n. 2, p. 311-316, 2008.
- MOI, P. *et al.* Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the  $\beta$ -globin locus control region. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 91, p. 9926-9930, 1994.
- MOURA, R. S. *et al.* Effects of *Euterpe oleracea* Mart. (AÇAÍ) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse. **Phytomedicine**, v. 19, n. 3–4, p. 262–269, 2012.
- NASCIMENTO, W.M.O. Açaí *Euterpe oleracea* Mart. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia.** Manaus: INPA, 2008.
- NELSON, D.L., COX, M.M. *Princípios de bioquímica de Lehninger.* 6. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2014.
- NIEBAUER, J., COOKE, J.P. Cardiovascular Effects of Exercise: Role of Endothelial Shear Stress. **J Am Coll Cardiol.** v. 28, n. 7, p. 1652– 1660, 1996.
- NYBERG, M., GLIEMANN, L., HELLSTEN, Y. Vascular function in health, hypertension, and diabetes: effect of physical activity on skeletal muscle microcirculation. **Scand J Med Sci Sports**, v.5, n. 4, p. 60–7, 2015.
- OCHNER, C. N. *et al.* Treating obesity seriously: When recommendations for lifestyle change confront biological adaptations. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**, v. 3, n. 4, p. 232-234, 2015.
- OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Circ J.** v. 27, p. 282-293, 1963.
- OLIVEIRA, P. R. B. *et al.* Effects of an Extract Obtained From Fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the Components of Metabolic Syndrome Induced in C57BL/6J Mice Fed a High-fat Diet: **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 56, n. 6, p. 619–626, 2010.
- OLIVEIRA, P. R. B. *et al.* *Euterpe oleracea* Mart.-Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0143721, 2015.

- PAN, H.; GAO, Y.; TU, Y. Mechanisms of body weight reduction by black tea polyphenols. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 1659, 2016.
- PISOSCHI, A.M. *et al.* Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–36, 2016.
- PORTINHO, A.P.; ZIMMERMAN, L.M; Beneficial effects of açai. **Internacional Journal of Nutrology**, n.5, v. 1, p.15-20, 2010.
- Powers, S.K.; Howley, E.T. **Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. 8. ed. Barueri: Manole, 2014.
- RAMOS, E.; RAMOS, J.; DAMASCENA, R. Avaliação do uso de Plantas Medicinais para o tratamento de Hipertensão Arterial Sistêmica entre os usuários de uma Unidade Básica de Saúde. **Id on Line Rev. Mult. Psic.**, v.13, n. 48 p. 651-661, dez. 2019.
- RANDRIAMBOAVONJY, J. I. *et al.* Moringa oleifera seeds attenuate vascular oxidative and nitrosative stresses in spontaneously hypertensive rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 10, 2017.
- RECKELHOFF, J.F.; YANES CARDOZO, L.L.; FORTEPIANI, M.L.A. Models of Hypertension in Aging. In: RAM, J.L.; CONN, P.M. **Conn's Handbook of Models for Human Aging**. [s.l.]: Elsevier, 2018. p. 703–720.
- RESENDE, A.C; BALLEJO, G.; LEITE, R.; SALGADO, C.O.M. Role of NO-dependent mechanisms in bradykinin-induced vasodilation in the rat mesenteric bed. **Pharmacol Rev Commun**. v.31, n.9, p. 1229-1235, 1997.
- RICHTER, E.A.; HARGREAVES, M. Exercise, GLUT4, and Skeletal Muscle Glucose Uptake. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 3, p. 993–1017, 2013.
- ROBERGS, R.A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.287, n. 3, p. 502-516, 2004.
- ROCHA, A.P.M. *et al.* Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart. (Açai) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascular Pharmacology**, v. 46, n. 2, p. 97–104, 2007.
- RODRÍGUEZ-NÚÑEZ, I., ROMERO, F., SAAVEDRA, M.J. (2016). Estrés hemodinámico inducido por ejercicio: bases fisiológicas e impacto clínico. **Arch Cardiol Mex**, n. 86, v. 3, p. 244-254, 2016.
- ROMÃO, M.H. *et al.* Açai (Euterpe oleracea Mart.) seed extract protects against hepatic steatosis and fibrosis in high-fat diet-fed mice: Role of local renin-angiotensin system, oxidative stress and inflammation. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 103726, 2019.
- RUIVO, J.A.; ALCÂNTARA, P. Hipertensão arterial e exercício físico. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 31, n. 2, p. 151–158, 2012.



RUSSO, B.; PICCONI, F.; MALANDRUCCO, I.; et al. Flavonoids and insulin-resistance: from molecular evidences to clinical trials. **Int. J. Mol. Sci.** v. 20, n. 9, p. 2061. 2019

SANJULIANI, A.F. Fisiopatologia da hipertensão arterial: conceitos teóricos úteis para a prática clínica. **Revista da SOCERJ**, v.15, n. 4, p. 210-218, 2002.

SANTOS, I.B.; *et al.* Açai seed extract prevents the renin-angiotensin system activation, oxidative stress and inflammation in white adipose tissue of high-fat diet-fed mice. **Nutrition Research**, v. 79, p. 35–49, 2020.

SHIMAMOTO, K.; URA, N. Mechanisms of Insulin Resistance in Hypertensive Rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 28, n. 6, p. 543–552, 2006.

SIES, H. BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. **Annu. Rev. Biochem.** n. 86, p.715-748, 2017.

SILVA, A.A.; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 4, p. 994–1002, 2010.

SIMIONI, C. *et al.* Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Oncotarget**, v.9, n. 24, p.17181-17198, 2018.

SINGLETON V.L; ROSSI J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic**, v. 16, n.3, p. 144-158, 1965.

SOARES, E.R. *et al.* Up-regulation of Nrf2-antioxidant signaling by Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) extract prevents oxidative stress in human endothelial cells. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 107–115, 2017.

SOARES, R.A. *et al.* Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract improves aerobic exercise performance in rats. **Food Research International**, v. 136, p. 109549, 2020.

SMITH, T. L.; HUTCHINS, P. M. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat. **Hypertension**, v. 1, p. 508–517, 1979. *apud* DORNAS, W. C; SILVA, M. E. Animal models for the study of arterial hypertension. **Journal of Biosciences**, v. 36, n. 4, p. 731–737, 2011.

SWIFT, D. L. *et al.* The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. **Harvard Law Review**, v.128, n. 6, p. 1850-1859, 2015.

SWIFT, D.L. *et al.* The Effects of Exercise and Physical Activity on Weight Loss and Maintenance. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 61, n. 2, p. 206–213, 2018.

SYLOW, L. *et al.* Exercise-stimulated glucose uptake — regulation and implications for glycaemic control. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 3, p. 133–148, 2017.

TANAKA, L.Y. *et al.* Exercise improves endothelial function: A local analysis of production of nitric oxide and reactive oxygen species. **Nitric Oxide**, v. 45, p. 7–14, 2015.

TOUYZ, R.M. Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**. N.14, p. 125–131, 2005.

TOUYZ, R.M; BRIONES, A.M. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. **Hypertension Research**, v. 34, n. 1, p. 5–14, 2011.

UNGER, T.; BORGHI, C.; CHARCHAR, F.; *et al.* International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines. **Hypertension**. v. 38, n. 6. p. 982-1004, 2020.

VALLÉE, A.; SAFAR, M. E.; BLACHER, Jacques. Hypertension artérielle permanente essentielle : définitions et revue hémodynamique, clinique et thérapeutique. **La Presse Médicale**, v. 48, n. 1, p. 19–28, 2019.

VANHOUTTE, P.M. Nitric Oxide: From Good to Bad. **Annals of Vascular Diseases**, v. 11, n. 1, p. 41–51, 2018.

VARGAS-MENDOZA, N. *et al.* Antioxidant and Adaptative Response Mediated by Nrf2 during Physical Exercise. **Antioxidants**, v. 8, n. 6, p. 196, 2019.

VILA VERDE. *Centro Educacional Vila Verde*. 2015. Disponível em: <<http://www.vilaverde.g12.br/v2/acai-com-frutas-2/>>. Acesso em 16 out. 2020.

YAMORI, Y.; OHTAKA, M.; UESHIMA, H.; *et al.* Glucose tolerance in spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**. v.42, n. 7, p.841-847, 1978.

YORUK, A.; BISOGNANO, J.D; GASSLER, John P. Baroreceptor Stimulation for Resistant Hypertension. **American Journal of Hypertension**, n. 29, v. 12, p. 1319-1324, 2020.

YOUSEFIAN, M.; SHAKOUR, N., HOSSEINZADEH, H. *et al.* The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. **Phytomedicine**, v.55, p.200-213, 2019.

WHILLIE, S. Exercise and Insulin Resistance. In: Xiao J. (ed.). **Physical Exercise for Human Health. Advances in Experimental Medicine and Biology**, Singapore: Springer, v. 1228, p. 137-150, 2020.

WATANABE, M. J. *et al.* Alterações do pH, da PO<sub>2</sub> e da PCO<sub>2</sub> arteriais e da concentração de lactato sanguíneo de cavalos da raça Árabe durante exercício em esteira de alta velocidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 320-326, 2006.

WILLIAMS, B. *et al.* ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. **Eur Heart J**. v. 1, n. 39, p. 3021-3104. 2018.

WILSON, C. *et al.* Increased Vascular Contractility in Hypertension Results From Impaired Endothelial Calcium Signaling. **Hypertension**. n.74, n.1200-1214, 2019

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. 2017 May 17. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Acesso em: 12 jul. 2020

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hypertension**. 2019 Set. 13. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Acesso em: 15 jul. de 2020.

ZANICHELLI, P.G. *et al.* The effects of ruthenium tetraammine compounds on vascular smooth muscle. **Nitric Oxide**, v. 16, n. 2, p. 189–196, 2007.

ZANICHELLI, P. G. *et al.* The [Ru(Hedta)NO]<sub>0,1</sub>– system: structure, chemical reactivity and biological assays. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, n. 11, p. 1921–1932, 2004.

ZHAO, Y., VANHOUTTE, P.M., LEUNG, S.W.S. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. **Journal of Pharmacological Sciences**, v.129, p. 83-94, 2015.