

# ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES APÓS INIBIÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO DURANTE ESTRESSE ORTOSTÁTICO EM RATOS SEDENTÁRIOS OU TREINADOS

Sergio Marques Borghi<sup>1</sup>

## RESUMO

Um trabalho recente demonstrou que a intolerância ortostática é influenciada pelo óxido nítrico endotelial alterações sintase. Também é bem sabido que a formação de exercício induz o aumento na expressão da sintase endotelial do óxido nítrico. Com base nessas declarações o objetivo principal deste trabalho foi verificar a pressão arterial e alterações da frequência cardíaca de ortostática stress ("cabeça erguida teste de inclinação") em ratos acordados submetidos antes do treino físico ou sedentários e tratado com solução salina ou L-NAME, um inibidor da eNOS. Ratos Wistar machos adultos (200-220g) foram submetidos a um protocolo de treinamento de natação (1 hora / dia; 5 dias / semana, 4 semanas). Um dia após o treinamento, controle (C) ou treinados (T) ratos foram anestesiados para a implantação do cateter na artéria e veia femoral, para a gravação de pressão arterial média (PAM) e injeção de drogas. 24 horas mais tarde, depois de parâmetros de linha de base, C ou T ratos foram colocados num tubo de plástico posicionado sobre a placa de inclinação. O teste de inclinação foi conduzido através do aumento do lado da cabeça da placa de inclinação a partir da posição horizontal para 75 graus dirigir-se a posição por 15 min. Os parâmetros de linha de base entre C ou grupos T não tinha mostrado as diferenças na média da pressão arterial média (MAP) (solução salina: C =  $106 \pm 2$  mmHg, n = 11; T =  $115 \pm 3$  mmHg, n = 7; L-NAME: C =  $114 \pm 8$  mmHg, n = 11; T =  $117 \pm 2$  mmHg, n = 8) e em a frequência cardíaca (FC) foi observada uma bradicardia de repouso nos animais treinados (Saline: C =  $359 \pm 5$  bpm; T =  $335 \pm 5$  bpm, p <0,05; L-NAME: C =  $360 \pm 10$  bpm; T =  $335 \pm 7$  bpm). Durante protocolo do teste foi observado um aumento na PAM e FC não diferiu entre os sedentários e animais treinados (DMAPC =  $10 \pm 4$  mmHg, DHRC =  $76 \pm 20$  bpm; DMAPT =  $6 \pm 6$  mmHg, DHRT =  $68 \pm 21$  bpm). Depois de L-NAME administração o aumento da PAM e FC durante inclinação não foi diferente entre os grupos C e T (DMAPC =  $36 \pm 3$  mmHg, DHRC =  $38 \pm 17$  bpm; DMAPT =  $43 \pm 8$  mmHg, DHRT =  $45 \pm 22$  bpm). Os nossos dados sugerem que o NO parece desempenhar um papel importante na modulação da cardiovascular função de descanso, em especial no grupo treinado, mas não tem um papel significativo na modulação dinâmica da função cardiovascular, tais como estresse ortostático.

Palavras-chaves: óxido nítrico, exercício físico, L-NAME, estresse ortostático

## ABSTRACT

Recent work has shown that orthostatic intolerance is influenced by endothelial nitric oxide synthase alterations. Also it is well known that exercise training induces increase in endothelial nitric oxide synthase expression. Based on those statements the main objective of this work was to examine the arterial pressure and heart rate alterations of orthostatic

stress ("head up tilt test") in conscious rats submitted prior to physical training or sedentary and treated with saline or L-NAME, a eNOS inhibitor. Adult male Wistar rats (200-220g) were submitted to a swimming training protocol (1 hour/day; 5 days/week, 4 weeks). One day after training, control (C) or trained (T) rats were anesthetized for catheter implantation in the femoral artery and vein, for recording of mean arterial pressure (MAP) and drugs injection. 24 hours later, after baseline parameters, C or T rats were placed in a plastic tube positioned over the tilt board. The tilt test was conducted by raising the head side of the tilt board from horizontal position to 75 degrees head up position for 15 min. The baseline parameters between C or T groups had not shown differences in the average mean arterial pressure (MAP) (Saline: C=106±2 mmHg, n=11; T=115±3 mmHg, n=7; L-NAME: C=114±8 mmHg, n=11; T=117±2 mmHg, n=8) and in the heart rate (HR) were observed a bradycardia at rest in the trained animals (Saline: C=359±5 bpm; T=335±5 bpm, p<0,05; L-NAME: C=360±10 bpm; T=335±7 bpm). During tilt protocol it was observed an increase in MAP and HR not different between sedentary and trained animals (DMAPC=10±4 mmHg, DHRC=76±20 bpm; DMAPT=6±6 mmHg, DHRT=68±21 bpm). After L-NAME administration the increase in MAP and HR during tilt was not different between C and T groups (DMAPC=36±3 mmHg, DHRC=38±17 bpm; DMAPT=43±8mmHg, DHRT=45±22bpm). Our data suggest that NO seems to play an important role in modulation of cardiovascular function of rest, especially in trained group, but has no significant role in the modulation dynamic of cardiovascular function, such as orthostatic stress.

Keywords: nitric oxide, exercise, L-NAME, orthostatic stress

## INTRODUÇÃO

Um dos principais papéis do sistema nervoso simpático em humanos é a manutenção da pressão arterial normal após um desafio ortostático (ROWELL, 1993). Os testes de ortostatismo (tilt) em humanos, como a prancha de inclinação, promovem decréscimos no volume sanguíneo central e no débito cardíaco causando aumentos reflexos na FC e na resistência vascular periférica (RVP) através da ativação das vias baroreflexas arteriais e cardiopulmonares, permitindo a manutenção da pressão arterial durante o estresse ortostático. Respostas autonômicas normais devido à ortostase parecem envolver um balanço entre a atividade vagal cardíaca eferente e atividade simpática para o coração e vasculatura (balanço simpato-vagal) (BAHJAOUI-BOUHADDI *et al.*, 2000; PARKERJONES *et al.*, 2003).

Dessa forma, o aumento reflexo da FC com o "tilt" envolve um decréscimo da atividade parassimpática e um aumento da atividade simpática para o coração. No entanto, a contribuição de um ou outro sistema (simpático versus parassimpático) nas mudanças

posturais durante o controle cardiovascular a uma dada situação parece ser variável entre os indivíduos (CHARKOUDIAN *et al.*, 2004; COOPER & HAINSWORTH, 2002; O'LEARY *et al.*, 2003).

Atualmente é conhecido que o treinamento físico de baixa intensidade induz bradicardia de repouso e decréscimo na pressão arterial em animais e humanos hipertensos (PESCATELO *et al.*, 2004).

O óxido nítrico (NO) é hoje conhecido como um dos principais vasodilatadores endoteliais e seu papel na regulação cardiovascular está bem estabelecido (MONCADA *et al.*, 2006).

O exercício físico regular promove adaptações nos vários sistemas formadores de NO, os quais aumentam a sua biodisponibilidade através de uma variedade de mecanismos, incluindo aumento da expressão e atividade da NOS (KINGWELL, 2000).

Os objetivos do presente trabalho são padronizar o modelo de estresse ortostático em animais acordados no laboratório, e analisar a modulação autonômica cardíaca e vascular através de bloqueio da síntese de no em ratos acordados, submetidos previamente a treinamento físico por natação e avaliados na pressão arterial e frequência cardíaca em protocolo de estresse ortostático (“head up tilt”).

## **METODOLOGIA**

Ratos adultos Wistar pesando entre 200-220g foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por natação, 1 hora por dia, 5 dias por semana, durante 4 semanas. Um dia após o término do treinamento físico, ratos do grupo controle (C) e treinado (T), foram anestesiados para implantação de um cateter na artéria e veia femoral para registro da pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC) e injeção de drogas. 24 horas depois, após registro dos parâmetros basais, os ratos dos grupos C e T, foram introduzidos em tubo de plástico posicionado sobre uma plataforma de tilt. O tilt teste foi conduzido pela elevação da plataforma do lado da cabeça do animal de uma posição horizontal para uma inclinação de 75° durante 15 minutos. Após este período os animais retornavam a posição horizontal para mais um registro de 15 minutos para recuperação dos parâmetros

fisiológicos de repouso. Após o término do protocolo experimental os animais foram sacrificados com sobredose de anestésico.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O acompanhamento dos pesos corporais dos animais sedentários e treinados foi avaliado diariamente e os animais treinados mostraram menor ganho de peso corpóreo. Os valores basais da PAM e da FC dos diferentes grupos experimentais foram obtidos a partir da média do período de registro inicial com duração de 20 minutos.

Os resultados mostram os valores de PAM e FC de cada grupo experimental, nos quais pode ser evidenciado a bradicardia de repouso no grupo que foi submetido ao protocolo de treinamento físico (TF), quando comparado ao grupo de animais sedentários (SED) ( $p < 0,05$ ). Estes dados somados demonstram a efetividade do treinamento físico por natação.

Após a administração de salina, o valor máximo de PAM do grupo treinado, foi de  $7 \pm 4$  mmHg, e o grupo sedentário apresentou um pico máximo de  $8 \pm 6$  mmHg. A variação da FC no grupo treinado foi de  $23 \pm 16$  bpm, enquanto que no grupo sedentário foi de  $5 \pm 17$  bpm. Dessa forma, a administração de salina nos animais sedentários comparados com os treinados não foi diferente. Sob a infusão de L-NAME, ficou evidenciada um aumento na PAM atingindo o valor máximo de  $39 \pm 5$  mmHg no grupo sedentário e  $36 \pm 9$  mmHg no grupo treinado. A variação da FC foi de  $-38 \pm 17$  bpm para o grupo sedentário e de  $-45 \pm 19$  bpm para o grupo treinado.

Quando comparados os grupos sedentário e treinado, o primeiro apresentou uma PAM maior a partir da fase do contensor, enquanto o grupo treinado apresentou valores menores da PAM pós – tratamento com solução salina, evidenciando o benefício da atividade física nas funções cardiovasculares em condições estressantes ( $p < 0,05$ ). Na FC os dois grupos apresentaram valores semelhantes ao longo do protocolo experimental, no entanto os animais treinados apresentaram mais rápida recuperação, apresentando diferença estatística em um dos pontos ( $p < 0,05$ ). No entanto, na fase do tilt a FC do grupo treinado apresentou uma tendência a ser menor quando comparada ao grupo controle sedentário.

Após a infusão de L-NAME, os dois grupos experimentais (sedentário e treinado) apresentaram hipertensão e bradicardia, que se atenuou na fase do contensor. No entanto na fase de tilt, a bradicardia inicial foi substituída por um aumento na frequência cardíaca que persistiu até o fim do registro, sugerindo que o bloqueio do NO não acarreta grandes alterações na manutenção fásica da PA durante desafios ortostáticos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram que o protocolo experimental utilizado é válido como ferramenta eficiente para análise das alterações cardiovasculares decorrentes do estresse ortostático.

Os dados do presente trabalho sugerem que o NO desempenha um importante papel na modulação da função cardiovascular de repouso, especialmente no grupo treinado. Os resultados mostraram ainda que o NO não apresenta papel significativo na modulação dinâmica da função cardiovascular, como por exemplo no estresse ortostático.

## REFERÊNCIAS

- BAHJAOU-BOUHADDI, M.; CAPPELLE, S.; HENRIET, M-T.; GUMOULIN, G.; WOLF, J-P.; REGNARD, J. Graded vascular autonomic control versus discontinuous cardiac control during gradual upright tilt. **Journal of Autonomic Nervous System** v.79, p.149-155, 2000.
- CHARKOUDIAN, N.; MARTIN, E.A.; DINENNO, F.A.; EISENACH, J.H.; DIETZ, N.M.; JOYNER, M.J. Influence of increased central venous pressure on baroreflex control of sympathetic activity in humans. **American Journal of Physiology, Heart Circulatory Physiology** v.287, p.H1658-H1662, 2004.
- COOPER, V.L.; HAINSWORTH, R. Effects of head-up tilt on baroreceptor control in subjects with different tolerances to orthostatic stress. **Clin Sci** v.103, p.221-226, 2002.
- MONCADA, S.; HIGGS, E.A. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. **British Journal of Pharmacology**, v.47, n°1, p.S193-S201, 2006.
- PARKER-JONES, P.; CHRISTOU, D.D.; JORDAN, J.; SEALS, D.R. Baroreflex buffering

is reduced with age in healthy men. **Circulation** v.107, p.1770-1774, 2003.

PESCATELO, S.; FRANKLIN, A.; FAGARD, R.; FARQUHAR, B.; KELLEY, A.; RAY, A. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and Hypertension, **Medicine & Science in Sports & Exercise**. v.36 (3), p.533-553, 2004.

O'LEARY, D.D; KIMMERLY, D.S.; CECHETTO, A.D.; SHOEMAKER, J.K. Differential effect of head-up tilt on cardiovagal and sympathetic baroreflex sensitivity in humans. **Experimental Physiology** v.88, N°6, p.769-774, 2003.

ROWELL, L.B. Human cardiovascular control. New York: Oxford Univ. Press, 1993.