

# O Bloqueio da Síntese do Óxido Nítrico Promove Aumento da Hipertrofia e da Fibrose Cardíaca em Ratos Submetidos a Treinamento Aeróbio

*Nitric Oxide Synthesis Blockade Increases Hypertrophy and Cardiac Fibrosis in Rats Submitted to Aerobic Training*

Hugo Celso Dutra de Souza, Daniel Martins Dias Penteado, Marli Cardoso Martin-Pinge, Octávio Barbosa Neto, Vicente de Paula Antunes Teixeira, João Henrique Dutra Blanco, Valdo José Dias da Silva

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Universidade Estadual de Londrina e Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro - Ribeirão Preto, SP - Londrina, PR - Uberaba, MG - Brasil

## Resumo

**Objetivo:** O presente estudo avaliou as adaptações teciduais cardíacas em ratos submetidos a treinamento aeróbio, após o bloqueio da síntese de óxido nítrico (NO).

**Métodos:** Os animais ( $n = 48$ ) foram divididos em quatro grupos: sedentários (grupo CONTROLE), hipertensos após administração de Ng-nitro-L-arginina metil éster durante sete dias (grupo L-NAME), treinados por meio de natação durante oito semanas (grupo TREINADO) e treinados e tratados com L-NAME na última semana (grupo TREINADO L-NAME). Em todos os animais foi registrada a pressão arterial (PA) e realizada a avaliação morfológica cardíaca.

**Resultados:** Os grupos L-NAME e TREINADO L-NAME apresentaram-se hipertensos em relação aos demais ( $p < 0,05$ ), porém a elevação da PA no grupo TREINADO L-NAME foi significativamente menor em relação ao L-NAME ( $p < 0,05$ ). Os grupos TREINADO e TREINADO L-NAME apresentaram índice de peso cardíaco maior que os grupos CONTROLE e L-NAME ( $p < 0,05$ ). Também apresentaram maiores índices de área cardíaca macroscópica e de fibrose cardíaca em relação aos demais ( $p < 0,05$ ) e, quando comparados, o grupo TREINADO L-NAME mostrou-se significativamente superior ( $p < 0,05$ ).

**Conclusão:** O bloqueio a curto prazo da síntese de NO, em animais sedentários, induziu hipertensão, sem no entanto causar hipertrofia cardíaca. Nos animais treinados, a inibição da síntese de NO atenuou a hipertensão e promoveu hipertrofia cardíaca com aumento expressivo da fibrose miocárdica, sugerindo importante papel do NO nas adaptações teciduais cardíacas induzidas pelo treinamento físico aeróbio. (Arq Bras Cardiol 2007;89(2):99-104)

**Palavras-chave:** Hipertensão, exercício aeróbico, óxido nítrico, cardiomegalia, fibrose endomiocárdica.

## Summary

**Objective:** The objective of the present study was to evaluate cardiac tissue adaptations in rats submitted to aerobic training after nitric oxide (NO) synthesis blockade.

**Methods:** The animals ( $n=48$ ) were divided into four groups: sedentary (CONTROL group); hypertensive after administration of NG-nitro-L-arginine methyl ester for 7 days (L-NAME Group); trained for 8 weeks through swimming exercises (TRAINED Group); trained and treated with L-NAME during the last week (L-NAME TRAINED Group). All the animals were submitted to the experiment procedures for blood pressure (BP) readings and cardiac morphometric evaluation.

**Results:** In comparison to the other groups, the L-NAME and L-NAME TRAINED groups were hypertensive ( $p < 0.05$ ); however, BP elevation in the L-NAME TRAINED group was significantly lower than the L-NAME group ( $p < 0.05$ ). The heart weight indexes for the TRAINED and L-NAME TRAINED groups were higher than the CONTROL and L-NAME groups ( $p < 0.05$ ). Also they had presented higher rates of macroscopic cardiac area and cardiac fibrosis in relation to the rest ( $p < 0.05$ ); comparisons revealed that the values for the L-NAME TRAINED group were significantly higher ( $p < 0.05$ ) than the others.

**Conclusion:** Short term NO synthesis blockade in sedentary animals induced hypertension but did not cause cardiac hypertrophy. In the trained animals, the inhibition of NO synthesis attenuated hypertension, induced cardiac hypertrophy and significantly increased myocardial fibrosis, indicating that NO plays an important role in cardiac tissue adaptations caused by aerobic exercise. (Arq Bras Cardiol 2007;89(2):88-93)

**Key words:** Hypertension; exercise; nitric oxide; cardiomegaly; endomyocardial fibrosis.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Hugo Celso Dutra de Souza •

Rua Luís Basso, 130 - 14040-150 - Ribeirão Preto, SP - Brasil

E-mail: hugocds@fmrp.usp.br

Artigo recebido em 08/12/06; revisado recebido em 23/01/07; aceito em 26/02/07.

## Introdução

A descoberta de fatores endógenos derivados do endotélio, em especial o óxido nítrico (NO)<sup>1</sup>, iniciou um novo capítulo na compreensão dos mecanismos das doenças cardiovasculares e dos métodos de prevenção e tratamento.

O NO, além de sua potente ação vasodilatadora, promove outros importantes efeitos vasculares, renais e cardíacos, incluindo a ação antiagregante plaquetária, a modulação do ritmo de filtração glomerular e o efeito sobre os remodelamentos vascular e cardíaco<sup>2,3</sup>. Por sua vez, a diminuição endógena da produção do NO está relacionada à redução da vasodilatação endotélio-dependente em pacientes com hipertensão, hipercolesterolemia, diabete ou arteriosclerose<sup>4</sup>.

Com relação ao remodelamento cardíaco, o NO parece ser um importante fator endógeno na modulação do crescimento hipertrófico, tanto de modo indireto, por meio de seu efeito hipotensivo, via dilatação arterial periférica, promovendo diminuição da pós-carga, como pela dilatação do sistema venoso, diminuindo a pré-carga<sup>5,6</sup>. Adicionalmente, outros estudos demonstraram que o NO também participaria do remodelamento cardíaco por meio mais direto, uma vez que sua diminuição promoveria alterações morfológicas significativas, como focos de necrose, aumento da fibrose, apoptose, diminuição da angiogênese cardíaca e conseqüente hipertrofia patológica<sup>7-11</sup>. Entretanto, os efeitos da inibição tanto aguda como crônica da síntese de NO com análogos da L-arginina, como Ng-monometil-L-arginina (L-NMMA) ou Ng-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), que resultam em conseqüente elevação da pressão arterial (PA), apresentam dados controversos na literatura no que se refere ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca<sup>2,3,12-15</sup>.

Por outro lado, o exercício físico aeróbio tem sido muito utilizado como terapia anti-hipertensiva, com o objetivo de atenuar os efeitos dos fatores de risco cardiovascular. Além disso, tem sido demonstrado que o exercício físico aeróbio, além de promover importantes alterações no controle autonômico cardiocirculatório<sup>16-18</sup>, também promoveria adaptações teciduais, principalmente cardíacas<sup>19-21</sup>. Essas adaptações seriam caracterizadas por hipertrofia cardíaca excêntrica (adição de sarcômeros em série), melhorando a função de ejeção, o que promoveria aumento da expectativa de vida e prevenção de eventos cardíacos. Apesar de diversos mecanismos terem sido apontados para explicar tais adaptações, a eventual participação do NO nessa modalidade de hipertrofia miocárdica fisiológica decorrente do treinamento físico foi pouco investigada.

Dessa forma, este estudo, baseando-se nas afirmações descritas anteriormente, teve por objetivo avaliar os efeitos do bloqueio a curto prazo da síntese do NO sobre as adaptações teciduais cardíacas em ratos submetidos a treinamento físico aeróbio.

## Métodos

Todos os procedimentos experimentais envolvidos na pesquisa em questão foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

**Animais** - Ratos Wistar machos (120 g a 150 g) foram separados em caixas individuais com temperatura controlada (21°C) e ciclo claro/escuro de 12 horas. Os animais foram tratados com ração e água *ad libitum* por três dias antes do início do procedimento experimental.

**Grupos experimentais** - Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: 1) grupo de ratos normotensos tratados com ração e água *ad libitum* durante oito semanas (grupo CONTROLE; n = 12); 2) grupo de ratos tratados com ração e água *ad libitum* durante oito semanas e com L-NAME dissolvido na água de beber (70 mg/kg) na última semana (grupo L-NAME; n = 12); 3) grupo de ratos treinados por meio de natação durante oito semanas (grupo TREINADO; n = 12) e 4) grupo de ratos treinados por meio de natação durante oito semanas e tratados na última semana com L-NAME (grupo TREINADO L-NAME; n = 12).

**Treinamento físico** - O treinamento físico foi realizado durante oito semanas por meio de natação em aquário de vidro (100 cm de comprimento, 80 cm de largura e 80 cm de altura) com água preaquecida à temperatura de 30°C. O treinamento era precedido por duas semanas de adaptação ao exercício na água, ou seja, o tempo inicial de adaptação ao treinamento foi de 10 minutos, aumentando nesse período até atingir 45 minutos. O treinamento aeróbio, após a adaptação, foi realizado em subgrupos de quatro animais durante uma hora por dia, seis dias por semana. Os grupos de animais não-treinados foram submetidos ao estresse da água por dois minutos durante o mesmo período dos treinados.

**Protocolo experimental** - No sexto dia da última semana, os animais foram submetidos a cirurgia, sob anestesia de tribromoetanol (250 mg/kg, i.p.), com implante de cânula na artéria femoral para monitorização da PA. Após a cirurgia, os animais permaneceram 24 horas em recuperação sob o mesmo tratamento. O registro da PA em animais acordados foi realizado durante 30 minutos por meio do acoplamento de cânula arterial a um transdutor de pressão (ADInstruments – MLT0380), que enviava o sinal a um amplificador (ADInstruments – ML110), o qual fornecia o sinal para um sistema computadorizado de aquisição de dados (ADInstruments – PowerLab 8/30). Após registro da PA, os animais foram sacrificados e os corações foram retirados, fotografados e fixados em formaldeído (10%). Morfometria macroscópica foi realizada por meio do *software* Image J (NIH, 2004), seguindo o manual de operação disponível eletronicamente<sup>22</sup>. A seguir, os corações foram seccionados transversalmente em duas regiões, ambas com 3 mm de espessura: a primeira, na altura da inserção da veia cava inferior no átrio direito; e a segunda, no terço médio do ventrículo esquerdo. Após as secções, os dois fragmentos obtidos foram processados para rotina de inclusão em parafina. Os métodos histoquímicos utilizados foram: colorações da hematoxilina-eosina (HE), para mensuração da espessura do ventrículo esquerdo, e Picro-sírius, para quantificação das áreas de fibrose cardíaca. Após coloração por HE e Picro-sírius, a espessura do ventrículo esquerdo, bem como a área de fibrose miocárdica, foram quantificadas por meio de câmara de vídeo acoplada ao microscópio de luz comum, que enviava as imagens do microscópio a um sistema analisador de imagens (KS 300 Kontron-Zeiss®). Esse

sistema é constituído, basicamente, por um microscópio de luz acoplado a uma câmara de vídeo em cores, a um monitor de vídeo de alta definição, e a uma unidade de processamento com placa para captura de vídeo. A espessura do ventrículo esquerdo de cada caso foi estimada fazendo-se quatro medições distribuídas uniformemente pela área visível no vídeo, abrangendo os lados direito, esquerdo, superior e inferior do corte transversal do ventrículo esquerdo sobre a lâmina. A lâmina foi colocada em uma posição antes do condensador e foi utilizada objetiva com aumento de cinco vezes para essas medidas. Um valor médio de espessura do ventrículo esquerdo foi calculado para cada caso a partir dos quatro valores de espessura medida nas quatro posições distintas marcadas sobre o corte transversal do ventrículo esquerdo. Para quantificação da fibrose cardíaca foi utilizado o método do cálculo da média acumulada, estimando o número de campos representativos. Em cada caso foram quantificados oito campos. Para o cálculo da fibrose foi determinada a média aritmética dos oito campos. Utilizou-se um microscópio de luz comum e um filtro polarizador para que as áreas de fibrose estivessem evidenciadas pela coloração Picro-sírius e quantificadas morfometricamente.

**Análise estatística** - Os resultados foram apresentados como médias  $\pm$  erros padrão das médias (EPM). Para a análise estatística, foi elaborada uma planilha eletrônica e as informações foram analisadas por meio do programa eletrônico Sigma-Stat®, versão 2.03. A análise das variáveis normais homocedásticas foi feita utilizando-se a análise de variância ANOVA associada ao teste *post-hoc* de Tukey. Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que  $p$  era menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

## Resultados

Os grupos L-NAME e TREINADO L-NAME apresentaram-se hipertensos em relação aos grupos CONTROLE e TREINADO. Quando os grupos hipertensos foram comparados, o grupo L-NAME apresentou-se significativamente mais hipertenso que o grupo TREINADO L-NAME ( $p < 0,05$ ). Quanto à frequência cardíaca (FC), o grupo L-NAME apresentou-se taquicárdico em relação aos demais ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, os grupos TREINADO e TREINADO L-NAME apresentaram-se bradicárdicos em relação ao grupo CONTROLE ( $p < 0,001$ ). Quando comparados, o grupo TREINADO L-NAME apresentou bradicardia mais intensa que o grupo TREINADO ( $p < 0,05$ ). Esses dados estão apresentados, de forma resumida, na tabela 1.

A figura 1 apresenta os parâmetros morfométricos

cardíacos em todos os grupos estudados. A figura 1A representa o índice de peso cardíaco (mg/g) de todos os grupos, demonstrando que os grupos TREINADO ( $3,57 \pm 0,04$  mg/g) e TREINADO L-NAME ( $3,79 \pm 0,08$  mg/g) apresentaram aumento em relação aos grupos CONTROLE ( $3,2 \pm 0,04$  mg/g) e L-NAME ( $3,29 \pm 0,04$  mg/g) ( $p < 0,05$ ). A figura 1A também demonstra que o grupo TREINADO L-NAME apresentou índice de peso cardíaco superior ao do grupo TREINADO ( $p < 0,05$ ). Na figura 1B verifica-se que não houve diferença entre os grupos estudados quanto à espessura da parede do ventrículo esquerdo. A figura 1C, por sua vez, demonstra que na análise da área macroscópica cardíaca não foram observadas alterações entre os grupos CONTROLE ( $1,20 \pm 0,05$  mm<sup>2</sup>) e L-NAME ( $1,14 \pm 0,03$  mm<sup>2</sup>), embora os grupos TREINADO ( $1,49 \pm 0,03$  mm<sup>2</sup>) e TREINADO L-NAME ( $1,66 \pm 0,03$  mm<sup>2</sup>) tenham diferido dos anteriores e entre si ( $p < 0,05$ ), tendo o grupo TREINADO L-NAME apresentado os maiores valores. A figura 1D representa a análise do percentual de fibrose cardíaca por área em todos os grupos estudados, demonstrando que os grupos TREINADO ( $0,71 \pm 0,07\%$ ) e TREINADO L-NAME ( $0,86 \pm 0,03\%$ ) apresentaram maior percentual de fibrose em relação aos grupos CONTROLE ( $0,56 \pm 0,03\%$ ) e L-NAME ( $0,60 \pm 0,05\%$ ) ( $p < 0,05$ ), e que, quando comparados, o grupo TREINADO L-NAME também apresentou o maior percentual ( $p < 0,05$ ). A figura 2 apresenta um corte histológico representativo de cada grupo estudado e evidencia o aumento da fibrose encontrada nos grupos TREINADO e TREINADO L-NAME.

## Discussão

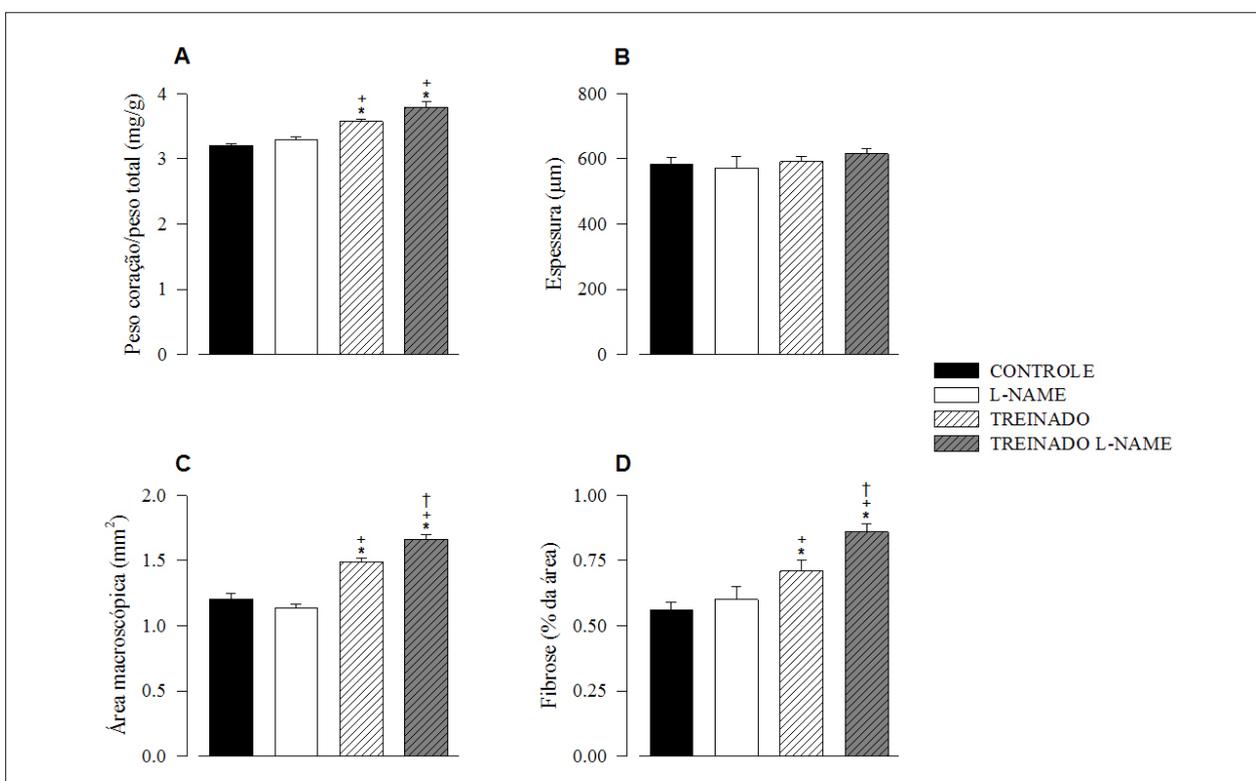
O bloqueio da síntese do NO com L-NAME em ratos não-treinados promoveu hipertensão arterial, porém não foi observada qualquer alteração morfométrica visível no tecido cardíaco comparativamente ao grupo de normotensos não-treinados. Por outro lado, o treinamento físico aeróbio, por meio da natação, atenuou a hipertensão arterial induzida pelo L-NAME na última semana de treinamento. Adicionalmente, o bloqueio da síntese do NO durante sete dias, em ratos submetidos a treinamento aeróbio, induziu alterações morfométricas cardíacas significativas.

Ao que tudo indica, a atenuação da hipertensão arterial no grupo treinado e tratado na última semana com L-NAME evidencia o efeito preventivo do exercício físico na evolução desse modelo de hipertensão arterial experimental. Entretanto, com o presente estudo não é possível apontar o mecanismo responsável pela atenuação da hipertensão. Por sua vez,

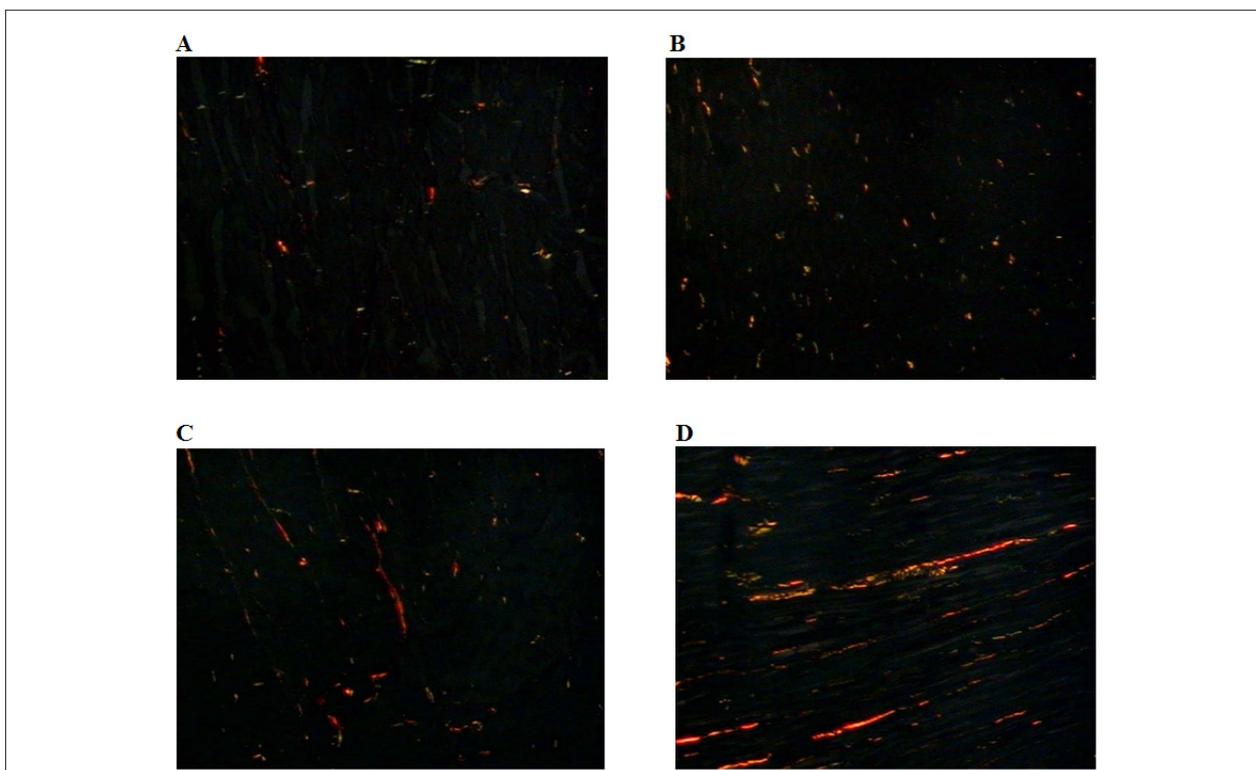
Tabela 1 - Parâmetros hemodinâmicos basais

Treinado	Controle (n = 12)	L-Name (n = 12)	Treinado (n = 12)	Treinado L-Name (n = 12)
Pressão arterial média (mmHg)	99 $\pm$ 4	103 $\pm$ 2	130 $\pm$ 5**	168 $\pm$ 3***
Frequência cardíaca (bpm)	348 $\pm$ 5	401 $\pm$ 11*	316 $\pm$ 6**	291 $\pm$ 7***

Valores representam a média  $\pm$  erros padrão das médias (EPM) para os grupos: CONTROLE, L-NAME (Ng-nitro-L-arginina metil éster), TREINADO e TREINADO L-NAME. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo CONTROLE; +  $p < 0,05$  em relação ao grupo L-NAME; †  $p < 0,05$  em relação ao grupo TREINADO.



**Fig. 1** - Valores representam a média  $\pm$  erros padrão das médias (EPM). A) Índice de peso cardíaco; B) Espessura do ventrículo esquerdo; C) Área macroscópica cardíaca; D) Fibrose cardíaca. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo CONTROLE; +  $p < 0,05$  em relação ao grupo L-NAME; †  $p < 0,05$  em relação ao grupo TREINADO.



**Fig. 2** - Corte histológico representativo de cada grupo estudado, evidenciando a fibrose cardíaca pela coloração por Picro-sírius por meio de um filtro polarizador acoplado ao microscópio de luz. A) CONTROLE; B) L-NAME; C) TREINADO; D) TREINADO L-NAME.

diversos estudos que demonstraram a importância da atividade física como prevenção e tratamento da hipertensão arterial apontaram alguns mecanismos que poderiam contribuir para a atenuação da PA, tanto em animais experimentais como em humanos. Entre os mecanismos apontados, a diminuição da atividade simpática tanto cardíaca como vascular associada à diminuição da resistência vascular periférica parecem envolvidas<sup>18,23,24</sup>. Outros estudos demonstraram que o treinamento físico promoveria diminuição da PA, por meio da queda do débito cardíaco, além de diminuição das catecolaminas séricas e do estresse oxidativo<sup>25-27</sup>. Adicionalmente, também parece ocorrer melhora da função vasodilatadora endotelial e alterações do sistema renina-angiotensina-aldosterona<sup>28-32</sup>.

Quanto à ausência de hipertrofia cardíaca, em ratos não-treinados e submetidos a hipertensão experimental por meio do tratamento com L-NAME, é possível que o tempo de inibição da síntese do NO por sete dias não seja suficiente para induzir hipertrofia. Diversos autores demonstraram a existência de hipertrofia cardíaca promovida pelo bloqueio crônico da síntese do NO em estudos com mais de quatro semanas de tratamento, embora com doses diárias de L-NAME menores que a utilizada neste estudo<sup>3,33</sup>. Por outro lado, o presente estudo se propôs a investigar o comportamento da PA e das alterações morfológicas cardíacas em animais submetidos a protocolo prévio de treinamento aeróbio, cujo objetivo maior foi avaliar a capacidade do treinamento prévio em atenuar essas possíveis alterações, portanto de forma preventiva. O fato relevante deste estudo foi observar que, embora não tenha sido evidenciada no animal sedentário hipertenso, a hipertrofia cardíaca esteve presente nos grupos de animais submetidos a treinamento aeróbio prévio durante oito semanas. Os dois grupos apresentaram, aparentemente, hipertrofia excêntrica, uma vez que não foi observada diferença na espessura do ventrículo entre todos os grupos estudados associada a aumento da área-macro dos grupos treinados. Esse tipo de hipertrofia cardíaca, denominado hipertrofia fisiológica, é conseqüência do remodelamento induzido pelo exercício, principalmente o aeróbio, decorrendo de adaptações mecânicas, como o estiramento da parede ventricular pela sobrecarga de volume promovida pelo aumento do retorno venoso. Tal estiramento induz o cardiomiócito a adicionar sarcômeros em série, aumentando, dessa forma, a força contrátil<sup>34</sup>. Por outro lado, a hipertrofia cardíaca concêntrica, presente em condições patológicas como a hipertensão arterial, decorre da adição de sarcômeros em paralelo, porém com grande proliferação de fibroblastos e conseqüente aumento da matriz extracelular (fibrose), da apoptose e da necrose tecidual. Esse conjunto de eventos, conseqüentemente, leva à falência cardíaca<sup>34,35</sup>.

Embora neste estudo não tenha sido observada hipertrofia concêntrica, característica do estado hipertensivo, foi evidenciado grande aumento da fibrose no grupo TREINADO L-NAME, demonstrando importante papel do NO no remodelamento cardíaco induzido pelo exercício. Também foi observado aumento, embora em menor grau, da fibrose cardíaca no grupo TREINADO, porém sabe-se que esse

aumento é comum, uma vez que resulta da hipertrofia fisiológica conseqüente ao aumento proporcional de todos os constituintes teciduais, ou seja, tecido contrátil (cardiomiócito) e tecido não-contrátil (tecido conjuntivo e matriz extracelular)<sup>35</sup>.

O aumento considerável da formação de fibrose apresentado no grupo TREINADO L-NAME parece refletir o importante papel do NO no remodelamento cardíaco induzido pelo exercício físico. Alguns autores demonstraram que a hipertrofia patológica induzida pelo permanente estado hipertensivo é decorrente da ação de fatores humorais, principalmente a angiotensina II<sup>36</sup>. A cascata intracelular de eventos, induzida por esses fatores, parece promover, entre outros efeitos, aumento da fibrose cardíaca, elevação considerável da apoptose de cardiomiócitos, depressão contrátil e disfunção cardíaca em resposta à  $\beta$ -estimulação, evoluindo progressivamente para cardiomiopatia letal<sup>37-39</sup>. O NO, nessas condições, tem o papel de impedir ou atenuar a hipertrofia miocárdica, a proliferação de fibroblastos cardíacos e a apoptose do cardiomiócito. Esse efeito parece depender da produção e da liberação de bradicinina via receptor AT<sub>2</sub>R da angiotensina II, levando à formação do NO (bradicinina/NO-dependente), contrapondo a hipertrofia patológica induzida pela ativação do receptor AT1<sup>11</sup>. Por outro lado, embora o mecanismo ainda não tenha sido elucidado, o NO também está envolvido no processo da angiogênese, o que explicaria o aumento da fibrose cardíaca observada no grupo TREINADO L-NAME<sup>40</sup>. O exercício, de forma geral, induz a angiogênese em diversos tecidos, quando estimulados. No músculo cardíaco não é diferente, e o aumento da demanda induzida pelo exercício promove o aumento da angiogênese intramiocárdica<sup>10</sup>. Como a produção do NO estava bloqueada pelo L-NAME, é possível que a fibrose encontrada resulte da diminuição do processo de angiogênese decorrente da diminuição da vascularização dos cardiomiócitos. Entretanto, mais estudos serão necessários para esclarecer os mecanismos pelos quais o NO atuaria no processo da angiogênese em condições patológicas e no exercício.

## Conclusão

O bloqueio a curto prazo da síntese do NO com L-NAME causou grave hipertensão, mas não promoveu hipertrofia cardíaca nos animais sedentários não-treinados. Em ratos submetidos a treinamento físico aeróbio prévio, a inibição da síntese de NO acarretou menor elevação da PA, porém associada a aumento expressivo da hipertrofia cardíaca e da fibrose miocárdica. Tais achados, possivelmente, sugerem um importante papel do NO no remodelamento cardíaco observado na hipertrofia cardíaca fisiológica do treinamento físico.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflitos de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESP e FAEPA.

## Referências

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation in arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373-6.
2. Bartunek J, Weinberg EO, Tajima M, Rohrbach S, Katz SE, Douglas PS, et al. Chronic NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension. *Circulation*. 2000; 101: 423-9.
3. Hu CT, Chang HR, Hsu YH, Liu CJ, Chen HI. Ventricular hypertrophy and arterial hemodynamics following deprivation of nitric oxide in rats. *Life Sci*. 2005; 78: 164-73.
4. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329: 2002-12.
5. Matsuoka H, Nakata M, Kohno K, Koga Y, Nomura G, Toshima H, et al. Chronic L-arginine administration attenuates cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1996; 27: 14-8.
6. Pereira LM, Mandarim-De-Lacerda CA. Stereology of cardiac hypertrophy induced by NO blockade in rats treated with enalapril and verapamil. *Anal Quantitat Cytol Histol*. 2001; 23: 330-8.
7. Akuzawa N, Nakamura T, Kurashina T, Saito Y, Hoshino J. Antihypertensive agents prevent nephrosclerosis and left ventricular hypertrophy induced in rats by prolonged inhibition of nitric oxide synthesis. *Am J Hypertens*. 1998; 11 (6 Pt 1): 697-707.
8. K-Lafamme A, Foucart S, Moreau P, Lambert C, Cardinal R, de Champlain J. Sympathetic functions in NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension: modulation by the renin-angiotensin system. *J Hypertens*. 1998; 16: 63-76.
9. Luvara G, Pueyo ME, Phillippe M, Mondet C, Savoie F, Henrion D, et al. Chronic blocked of NO synthase activity induces a proinflammatory phenotype in the arterial wall: prevention by angiotensin II antagonism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18: 1408-16.
10. Zorzi RLA, Pereira LMM, Mandarim-de-Lacerda CA. Beneficial effect of enalapril in spontaneously hypertensive rats cardiac remodeling with nitric oxide synthesis blockade. *J Cell Mol Med*. 2002; 6 (4): 599-608.
11. Kurisu S, Ozono R, Oshima T, Kambe M, Ishida T, Sugino H, et al. Cardiac angiotensin II type 2 receptor activates the kinin/NO system and inhibits fibrosis. *Hypertension*. 2003; 41 (1): 99-107.
12. Lantelme P, Lo M, Sassard J. Decreased cardiac baroreflex sensitivity is not due to cardiac hypertrophy in NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension. *J Hypertens*. 1994; 12: 791-5.
13. Pechanova O, Bertanova I, Babal P. Structural alterations in the heart after long-term L-NAME and D-NAME treatment. *Gen Physiol Biophys*. 1999; 1: 6-9.
14. de Oliveira CF, Cintra KA, Teixeira SA, De Luca IMS, Antunes E, De Nucci G. Development of cardiomyocyte hypertrophy in rats under prolonged treatment with a low dose of a nitric oxide synthesis inhibitor. *Eur J Pharmacol*. 2000; 391: 121-6.
15. Simko F, Luptak I, Matuskova J, Krajcovicova K, Sumbalova Z, Kucharska J, et al. L-arginine fails to protect against myocardial remodeling in L-NAME-induced hypertension. *Eur J Clin Invest*. 2005; 35: 362-8.
16. Arroll B, Beaglehole R. Does physical activity lower blood pressure: a critical review of the clinical trials. *J Clin Epidemiol*. 1992; 45 (5): 439-47.
17. Arakawa K. Antihypertensive mechanism of exercise. *J Hypertens*. 1993; 11 (3): 223-9.
18. Carter JB, Banister EW, Blaber AP. Effect of endurance exercise on autonomic control of heart rate. *Sports Med*. 2003; 33 (1): 33-46.
19. Perrault H, Turcotte RA. Exercise-induced cardiac hypertrophy. Fact or fallacy? *Sports Med*. 1994; 17 (5): 288-308.
20. Fagard RH. Effect of training on left ventricular structure and functioning of the normotensive and the hypertensive subject. *Blood Press Monit*. 1997; 2 (5): 241-5.
21. Ghorayeb N, Batlouni M, Pinto IM, Dioguardi GS. Left ventricular hypertrophy of athletes: adaptive physiologic response of the heart. *Arq Bras Cardiol*. 2005; 85 (3): 191-7.
22. Abdalla GK, Silveira MR, Lazo JE. Guia rápido de utilização do software de morfometria Image J. [acessado em 2006 abr 14]. Disponível em: <<http://www.fmtm.br/instpub/fmtm/discbiologia/celular/guiarapidodeutilizacaodoimagej.pdf>>.
23. Goldsmith RL, Bloomfield DM, Rosenwinkel ET. Exercise and autonomic function. *Coron Artery Dis*. 2000; 11 (2): 129-35.
24. Yamamoto K, Miyachi M, Saitoh T, Yoshioka A, Onodera S. Effects of endurance training on resting and post-exercise cardiac autonomic control. *Med Sci Sports Exerc*. 2001; 33 (9): 1496-502.
25. Chen HI, Chiang IP. Chronic exercise decreases adrenergic agonist-induced vasoconstriction in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1996; 271 (3 Pt2): H977-H983.
26. Véras-Silva AS, Mattos KC, Gava NS, Brum PC, Negrão CE, Krieger EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1997; 273 (42): H2627-H2631.
27. Oztasan N, Taysi S, Gumustekin K, Altinkaynak K, Aktas O, Timur H, et al. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. *Eur J Appl Physiol*. 2004; 91 (5-6): 622-7.
28. Yen MH, Yang JH, Sheu JR, Lee YM, Ding YA. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. 1995; 57 (24): 2205-13.
29. Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Med*. 2003; 33 (14): 1013-35.
30. Stewart KJ. Exercise training and the cardiovascular consequences of type 2 diabetes and hypertension: plausible mechanisms for improving cardiovascular health. *JAMA*. 2002; 288 (13): 1622-31.
31. Blanchard BE, Tsongalis GJ, Guidry MA, Labelle LA, Poulin M, Taylor AL, et al. RAAS polymorphisms alter the acute blood pressure response to aerobic exercise among men with hypertension. *Eur J Appl Physiol*. 2006; 97 (1): 26-33.
32. Ashley EA, Kardos A, Jack ES, Habenbacher W, Wheeler M, Kim YM, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype predicts cardiac and autonomic responses to prolonged exercise. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48 (3): 523-31.
33. Raji L. Nitric oxide in hypertension: relationship with renal injury and left ventricular hypertrophy. *Hypertension*. 1998; 31 (1 Pt 2): 189-93.
34. Wakatsuki T, Schlessinger J, Elson EL. The biochemical response of the heart to hypertension and exercise. *Trends Biochem Sci*. 2004; 29 (11): 609-17.
35. Weber KT. Targeting pathological remodeling: concepts of cardioprotection and reparation. *Circulation*. 2000; 102 (12): 1342-5.
36. Weber KT, Brilla CG, Janicki JS. Signals for the remodeling of the cardiac interstitium in systemic hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991; 17 (Suppl 2): S14-9.
37. Adams JW, Sakata Y, Davis MG, Sah VP, Wang Y, Liggett SB, et al. Enhanced Galphaq signaling: a common pathway mediates cardiac hypertrophy and apoptotic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95 (17): 10140-5.
38. Wetschureck N, Rutten H, Zywiets A, Gehring D, Wilkie TM, Chen J, et al. Absence of pressure overload induced myocardial hypertrophy after conditional inactivation of Galphaq/Galphi1 in cardiomyocytes. *Nat Med*. 2001; 7 (11): 1236-40.
39. Liang Q, Molkentin JD. Redefining the roles of p38 and JNK signaling in cardiac hypertrophy: dichotomy between cultured myocytes and animal models. *J Mol Cell Cardiol*. 2003; 35 (12): 1385-94.
40. Sladek T, Gerova M, Znojil V, Devat L. Morphometric characteristics of cardiac hypertrophy induced by long-term inhibition of NO synthase. *Physiol Res*. 1996; 45 (4): 335-8.