

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

Thauan Faccin Lopes

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE DAS
ENZIMAS ACETILCOLINESTERASE E Na^+/K^+ ATPASE E ESTRESSE
OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO INDUZIDA POR L-NAME**

Santa Maria, RS
2019

Thauan Faccin Lopes

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE DAS ENZIMAS
ACETILCOLINESTERASE E Na^+/K^+ ATPASE E ESTRESSE OXIDATIVO NA
HIPERTENSÃO INDUZIDA POR L-NAME**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica do Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica.**

Orientadora: Prof. Dr^a Vera Maria Melchiors Morsch

Santa Maria, RS

2019

Lopes, Thauan

EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE DAS
ENZIMAS ACETILCOLINESTERASE E Na^+/K^+ ATPASE E ESTRESSE
OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO INDUZIDA POR L-NAME / Thauan
Lopes.- 2019.

58 f.; 30 cm

Orientadora: Vera Maria Melchiors Morsch
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica
Toxicológica, RS, 2019

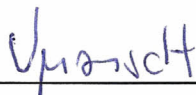
1. Exercício resistido 2. Hipertensão 3. Modelo
Experimental 4. Estresse oxidativo 5. Córtex Cerebral I.
Melchiors Morsch, Vera Maria II. Título.

Thauan Faccin Lopes

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE DAS
ENZIMAS ACETILCOLINESTERASE E Na^+K^+ ATPASE E ESTRESSE
OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO INDUZIDA POR L-NAME**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica do Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica**.

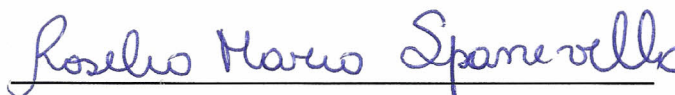
Aprovado em 26 de agosto de 2019



Vera Maria Melchior Morsch, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Denis Broock Rosemberg, Dr. (UFSM)



Roselia Maria Spanevello, Dra. (UFPEL)

Santa Maria, de 2019

AGRADECIMENTOS

A realização desse trabalho só foi possível graças ao auxílio, compreensão e dedicação de várias pessoas. Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão desse estudo. De uma maneira especial, agradeço:

- À minha orientadora Vera Maria Melchior Morsch que, junto da professora Maria Rosa Chitolina, me concederam a oportunidade na área da pesquisa, num ótimo laboratório, desde a iniciação científica à pós-graduação. Agradeço pela confiança em mim depositada e pela pessoa humana, dedicada e incentivadora, que mesmo através de todas as dificuldades impostas sempre me orientou da melhor forma possível;

- A todo o pessoal que está e que também já passou pelo Laboratório de Enzimologia Toxicológica (Enzitox). Sem o auxílio, a companhia e a colaboração de vocês, dia-a-dia, com certeza esse trabalho não seria possível. Em especial, gostaria de agradecer ao Jessié Gutierrez que, em meados de 2013, vislumbrou algum potencial naquele jovem aluno da graduação e o selecionou, dentre tantos outros concorrentes, para a vaga de iniciação científica;

- Aos meus pais Danilo Aloisio Lopes e Vanderleia Tereza Faccin Lopes (*in memoriam*) que desde criança sempre incentivaram o estudo e a leitura, por todo o carinho, amor, auxílio, compreensão e apoio em todos os momentos. Por sempre acreditarem e confiarem em mim. Tudo que conquistei e hei de conquistar é graças a eles;

- Ao meu irmão Thalison Faccin Lopes, por toda a ajuda quando foi necessário. Por todas as discussões e brincadeiras, e pelo companheirismo morando juntos durante todos os anos da pós-graduação no qual tivemos que dividir o quarto;

- A todos os meus familiares e amigos pelo apoio, carinho e compreensão nessa etapa bastante difícil e corrida da minha vida;

- À UFSM, uma universidade pública, gratuita e de altíssima qualidade e à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte institucional e financeiro concedidos.

- Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica;

Enfim, a todos aqueles que fazem parte da minha vida e que de uma forma ou

outra contribuíram com esse trabalho e me ajudam a ser, a cada dia, uma pessoa melhor.

DEDICATÓRIA

Essa dissertação é inteiramente dedicada à memória da minha mãe, Vanderleia Tereza Faccin Lopes, falecida em 2010. Por todo o amor, carinho, dedicação, educação e exemplos recebidos, por todas as boas lembranças e por, desde criança, incentivar ao máximo os estudos.

RESUMO

EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE A ATIVIDADE DAS ENZIMAS ACETILCOLINESTERASE E Na^+/K^+ ATPASE E ESTRESSE OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO INDUZIDA POR L-NAME

Autor: Thauan Faccin Lopes

Orientadora: Prof^a Dra. Vera Maria Melchiors Morsch

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença que afeta bilhões de pessoas no mundo, sendo fator de risco para outras inúmeras doenças cardiovasculares, podendo chegar, inclusive, a afetar o cérebro através da má distribuição de sangue. Em modelos experimentais, a hipertensão induzida é feita pela administração diária de L-NAME. Já o treinamento resistido tem aparecido cada vez mais como uma alternativa auxiliar no tratamento da HAS por apresentar efeitos anti-hipertensivos, antioxidantes e neuroprotetores. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de 4 semanas de exercício resistido em atividades enzimáticas e parâmetros de estresse oxidativo no córtex cerebral de ratos com hipertensão induzida por L-NAME. Para isso foram utilizados 40 ratos machos divididos em 4 grupos: Sedentário Controle (Sed-Ctrl), Exercício Controle (Ex-Ctrl), Sedentário L-NAME (Sed-L-NAME) e Exercício L-NAME (Ex-L-NAME). A dose de L-NAME utilizada foi de 30mg/kg/dia e começou uma semana antes do início do protocolo de exercício. Após 48 horas da última sessão de exercício, as amostras foram coletadas para aviação dos níveis de nitritos e nitratos (NO_x), conteúdo total de espécies reativas de oxigênio (tERO), proteína carbonil, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conteúdo total de tióis e atividade das enzimas glutathiona peroxidase (GPx), redutase (GR), s-transferase (GST), acetilcolinesterase (AChE) e Na^+/K^+ ATPase. Os resultados obtidos demonstraram um menor ganho de peso causado pelo L-NAME, que, na última semana, foi restaurado aos níveis normais pelo exercício. Além disso, foi encontrado níveis aumentados de tERO e tióis no grupo Sed-L-NAME, ambos revertidos para o normal no grupo Ex-L-NAME. O conteúdo de NO_x no grupo Sed-L-NAME diminuiu e o exercício o restaurou no grupo Ex-L-NAME. Um aumento da atividade da GPx no grupo Sed-L-NAME foi observado e também seu restabelecimento no grupo Ex-L-NAME. Também pudemos observar um aumento na atividade da AChE e uma redução na Na^+/K^+ ATPase no grupo Sed-L-NAME, mas o protocolo do exercício resistido não conseguiu restaurar esses parâmetros. As outras medidas analisadas –TBARS, carbonilação proteica, GR e GST- não apresentaram diferença significativa. Espera-se com esses resultados entender melhor os danos causados pela HAS no sistema nervoso central bem como os efeitos deste protocolo de exercício físico como possível auxílio no tratamento da HAS.

Palavras-chave: Hipertensão; córtex cerebral; estresse oxidativo; exercício resistido; L-NAME.

ABSTRACT

EFFECTS OF RESISTANCE EXERCISE ON ACTIVITY OF ACETYLCHOLINESTERASE AND Na^+/K^+ ATPASE AND OXIDATIVE STRESS IN L-NAME-INDUCED HYPERTENSION

Author: Thauan Faccin Lopes

Advisor: Prof^a Dra. Vera Maria Melchioris Morsch

Hypertension (HT) is a disease that affects billions of people around the world, being a risk factor for numerous other cardiovascular diseases, and may even affect the brain through poor blood distribution. In experimental models, induced hypertension is by daily administration of L-NAME. Resistance training has increasingly appeared as an auxiliary alternative in the treatment of hypertension due to its antihypertensive, antioxidant and neuroprotective effects. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of 4 weeks of resistance exercise on enzymatic activities and oxidative stress parameters in the cerebral cortex of rats with L-NAME-induced hypertension. For this purpose, 40 rats were divided into four groups: Sedentary Control (Sed-Ctrl), Exercise Control (Ex-Ctrl), Sedentary L-NAME (Sed-L-NAME) and Exercise L-NAME (Ex-L-NAME). The L-NAME dose used was 30mg / kg / day and began one week before the exercise protocol. After 48 hours of the last exercise session, the samples were collected for the evaluations of nitrite and nitrate levels (NOx), total reactive species of oxygen (tROS), carbonyl protein, reactive species of thiobarbituric acid (TBARS), total thiols content and the activity of glutathione's peroxidase (GPx), reductase (GR) and s-transferase (GST), acetylcholinesterase (AChE) and Na^+/K^+ ATPase. In this experiment, we saw an L-NAME-induced lower gain of weight, which was restored to normal levels by the exercise, in the last week. We found increased levels of tROS and thiols in Sed-L-NAME group, both reverted to standard in Ex-L-NAME group. The NOx content in the Sed-L-NAME group decreased and the exercise restored it in Ex-L-NAME group. An increased activity of GPx for the Sed-L-NAME group was observed and its reestablishment in the Ex-L-NAME group was seen. We also could see an increased activity in AChE and a reduction in Na^+/K^+ ATPase of Sed-L-NAME groups, but the resistance exercise protocol was not able to restore this parameters. The other measures –TBARS, protein carbonylation, GR and GST- did not present a significant difference. These results are expected to better understand the damage caused by hypertension in the central nervous system as well as the effects of this exercise protocol as a possible aid in the treatment of HT.

Keywords: Hypertension; cerebral cortex; oxidative stress; resistance exercise; L-NAME.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Valores de referência vigentes para hipertensão no Brasil.....	18
Figura 2: Valores de referência para hipertensão nos EUA.....	18
Figura 3: Desequilíbrio redox e estresse oxidativo.....	20
Figura 4: Defesas antioxidantes enzimáticas.....	21
Figura 5: Percentual de pessoas que praticaram algum esporte ou atividade física, no período de 365 dias, em 2015, na população de 15 anos ou mais de idade, por grupos de idade.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh - Acetilcolina

AChE - Acetilcolinesterase

DCF- Diclorofluoresceína

GPx - Glutathione Peroxidase

GR - Glutathione Redutase

GST - Glutathione S-Transferase

GSH - Glutathione Reduzida

GSSG - Glutathione Oxidada

H₂O - Molécula de água

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

L-NAME - N ω -Nitro-L-arginina-metil-ester

MDA - Malondialdeído

NO_x - Óxido Nítrico

NOS - Óxido nítrico sintase

O₂ – Molécula de oxigênio

O₂⁻ - Ânion superóxido

ONOO⁻ - Peroxinitrito

SNC - Sistema nervoso central

SOD - Superóxido dismutase

tERO - Espécies Reativas de Oxigênio totais

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TR - Treinamento Resistido

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Certificado de Aprovação do CEUA/UFSM.....	57
---	-----------

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL.....	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. HIPERTENSÃO.....	18
3.2. ESTRESSE OXIDATIVO.....	20
3.3. EXERCÍCIO FÍSICO.....	22
4. MANUSCRITO	26
5. CONCLUSÃO	49
6. REFERÊNCIAS	50

APRESENTAÇÃO

Os resultados obtidos nesta dissertação estão apresentados sob a forma de um manuscrito, e podem ser encontrados no item **4**. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram -se no próprio manuscrito e representam a íntegra deste estudo.

As referências bibliográficas aqui presentes, no item **6**, referem-se somente às citações utilizadas nos itens **1** - Introdução - e **3** - Revisão Bibliográfica - desta dissertação.

O manuscrito está estruturado de acordo com as normas da revista científica para a qual foi submetido para publicação: *Experimental Physiology*.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (Capes) - Código de Financiamento 001.

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença crônica e de etiologia multifatorial (KEARNEY et al., 2005). O número de hipertensos no mundo aumentou de 600 milhões na década de 80 para mais de 1 bilhão de pessoas em 2008 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2013). No Brasil cerca de 32,5% da população adulta (36 milhões de pessoas) é hipertensa, com a prevalência acima de 60% em idosos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2016). Conseqüentemente estima-se que até 2025 cerca de 1,25 bilhões de pessoas sejam afetadas por essa doença (KEARNEY et al., 2005). A progressão da hipertensão, e o descaso no seu tratamento, está associada a eventos cardiovasculares perigosos como o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular encefálico (METHA, 2001).

A HAS, em seus mecanismos fisiopatológicos, causa alterações na função endotelial que resultam em uma menor biodisponibilidade de óxido nítrico (NOx), o que está diretamente relacionado com o estresse oxidativo (HUSAIN et al., 2015). O NOx, por sua vez, é um gás liberado na corrente sanguínea com função altamente vasodilatadora. Seus metabólitos, os nitritos e nitratos, são moléculas endócrinas que são transportadas no sangue, acumulam-se nos tecidos e têm potencial para serem reconvertidas a NOx sob condições fisiológicas estáveis (JENSEN, 2009; KIM-SHAPIRO et al, 2006). No cérebro, o NOx tem funções primárias de neurotransmissão e neuromodulação, agindo como um neurotransmissor em nervos perivasculares (ISHIOKA et al., 2014; ANTOSOVA et al. 2005).

Entretanto, para que se tenha um modelo animal experimental da HAS faz-se necessário a administração da substância N ω -Nitro-L-arginina-metil-ester (comumente conhecido como L-NAME), um análogo e antagonista do aminoácido L-arginina -o qual é necessário para a síntese de NOx pela enzima óxido nítrico sintase (NOS)-. Dessa forma, baixas concentrações de NOx, causam vasoconstrição e conseqüentemente o aumento da pressão arterial. Somado ao aumento de ERO faz-se, então, com que se tenha um quadro experimental de hipertensão induzida (BERNATOVA et al, 2002; SCHULZ et. al 2008; BHATT et. al 2014).

O estresse oxidativo é um fenômeno biológico caracterizado pelo aumento da produção das espécies reativas de oxigênio (ERO) (MARCHESI et al., 2008). As ERO e os radicais livres são mediadores de várias formas de danos nos tecidos, e estão presentes nas lesões isquêmicas e respostas inflamatórias. (PARAVICINI et al., 2008;

MARCHESI et al., 2008). Diante do aumento das ERO há um aumento das defesas antioxidantes na tentativa de recuperar o balanço oxidativo celular e compensar o excesso de radicais livres na circulação (TSUTSUI et al., 2011).

Por outro lado, o sistema antioxidante funciona através da atividade de diversas enzimas a fim de combater os radicais livres e as espécies reativas, como, por exemplo, a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 . Consequentemente, o H_2O_2 é reduzido a H_2O e O_2 por peroxidases tais como a catalase e a glutathiona peroxidase (GPx) (HALLIWELL et al, 2007; DALLE-DONNE et al., 2006). No caso do sistema das glutathionas, a GPx desfaz a molécula de H_2O_2 através da redução de uma molécula de glutathiona reduzida (GSH) em glutathiona oxidada (GSSG). A GSSG pode ser reduzida novamente pela ação da enzima glutathiona redutase (GR). Por fim a enzima glutathiona s-transferase (GST) é responsável pela excreção de moléculas s-conjugadas de glutathiona.

Além disso, visto que HAS pode afetar o cérebro e o sistema nervoso central (SNC), é de suma importância que os mantenhamos bem cuidados e em pleno funcionamento. Para isso, é considerável a avaliação da atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e $Na^+K^+ATPase$. A primeira regula os níveis de acetilcolina (ACh) na fenda sináptica e é a principal enzima do sistema colinérgico, uma das vias mais importantes na modulação do SNC e periférico (PALEARI et al. 2008). Logo, qualquer alteração na atividade dessa enzima pode levar a variações, para mais ou para menos, do conteúdo de ACh no cérebro, afetando funções cognitivas como memória e aprendizado e também funções fisiológicas do organismo (CHEN et. al 2000; KANEKO et al. 2006). Já a segunda exerce um papel de grande importância na manutenção do potencial de repouso de células de diversos tecidos, como por exemplo, células nervosas, cardíacas e musculares. No SNC, a atividade dessa enzima controla o gradiente eletroquímico através da membrana plasmática, o qual desregulado pode afetar a atividade neural, bem como a neurotransmissão. Estudos mostram que as ERO podem reduzir a atividade da Na^+ , K^+ -ATPase no cérebro, levando a déficits de comportamento e memória (LIMA et al. 2008).

Visto os altos índices de prevalência da hipertensão, suas possíveis complicações e o desencadeamento de outras doenças, investigações recentes têm destacado a importância do exercício físico na HAS (CORNELISSEN et al., 2011; CARDOSO et al., 2013).

Nos últimos anos algumas sociedades médicas nacionais e internacionais, como

a Sociedade Brasileira de Hipertensão (SBH) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), introduziram o exercício físico como intervenção não medicamentosa no tratamento da HAS. Alguns estudos vêm demonstrando reduções na pressão arterial em indivíduos hipertensos através do treinamento com exercícios resistidos (TR) (QUEIROZ et al, 2015; QUEIROZ et al., 2013). Assim, o efeito observado é de hipotensão pós-exercício, caracterizado pela diminuição dos níveis pressóricos após uma e/ou algumas sessões de TR.

O exercício resistido é qualquer forma de exercício que faz com que os músculos contraiam contra a resistência externa, com a expectativa de aumentar a força muscular, a massa e a densidade óssea. O exercício resistido também melhora a dislipidemia, hipertensão e resistência à insulina (CASTANEDA et. al, 2002; HALLSWORTH et. al, 2011; LEMES et. al, 2016). Uma característica do exercício resistido é que ele melhora os parâmetros metabólicos com menos consumo de energia (CHATZINIKOLAOU et. al, 2008). No entanto, o exercício resistido pode ser menos acessível que o exercício aeróbico, devido à exigência de equipamento especializado e métodos específicos de exercício.

Dessa maneira, esse estudo buscou investigar os danos causados no córtex cerebral de animais com hipertensão induzida por L-NAME e se o TR, por sua vez, foi eficaz como sendo uma intervenção não-medicamentosa para essa doença. Sendo assim, espera-se que os dados deste trabalho incentivem a prática de exercícios físicos de forma regular, não só como tratamento para doenças, mas também como opção por uma melhor qualidade de vida às pessoas.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos de um protocolo de exercício resistido em cérebro de ratos com hipertensão induzida por L-NAME em atividades enzimáticas e parâmetros de estresse oxidativo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em córtex cerebral de ratos com hipertensão induzida por L-NAME e submetidos a um protocolo de 4 semanas de exercício físico resistido foi avaliado:

- O conteúdo de nitritos e nitratos (NO_x);
- Os níveis de espécies reativas de oxigênio totais (tERO);
- A peroxidação lipídica e carbonilação proteica;
- O conteúdo de tióis totais;
- A atividade das enzimas glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, acetilcolinesterase e Na⁺/K⁺ ATPase.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÓLICA (HAS)

A HAS é caracterizada por um quadro clínico de elevação crônica da pressão arterial (PA) (Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2010) e contribui substancialmente para o aumento das taxas de mortalidade devido a doenças cardio e cerebrovasculares (MESSERLI et al., 2007). A SBH (2016) alerta para a associação independente da HAS com eventos como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, morte súbita, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica e doença renal crônica.

No Brasil, a associação entre o aumento da PA e essas doenças pode ser observada a partir de níveis acima de 130x85mmHg, estágio caracterizado como pré-hipertensão (Figura 1). Além disso, novas diretrizes publicadas pelo Colégio Americano de Cardiologia, em 2017 (Figura 2), já consideram a pressão arterial sistólica elevada entre 120-129 mmHg.

Classificação	Pressão Sistólica (mmHg)	Pressão Diastólica (mmHg)
Ótima	< 120	< 80
Normal	< 130	< 85
Limítrofe	130-139	85-89
Hipertensão		
Estágio 1 (leve)	140-159	90-99
Estágio 2 (moderada)	160-179	100-109
Estágio 3 (grave)	≥ 180	≥ 110

Figura 1: Valores de referência vigentes para hipertensão no Brasil. (Fonte: Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2010)

CATEGORIA DE PRESSÃO ARTERIAL	SISTÓLICA mm Hg		DIASTÓLICA mm Hg
NORMAL	ABAIXO DE 120	e	MENOR QUE 80
ELEVADA	120 – 129	e	MENOR QUE 80
PRESSÃO ALTA (HIPERTENSÃO) ESTÁGIO 1	130 – 139	ou	80 – 89
PRESSÃO ALTA (HIPERTENSÃO) ESTÁGIO 2	140 OU MAIOR	ou	90 OU MAIOR
CRISE HIPERTENSIVA (consulte seu médico imediatamente)	MAIOR QUE 180	e/ou	MAIOR QUE 120

Figura 2: Valores de referência para hipertensão nos EUA. (Fonte: adaptado de American College of Cardiology, 2017)

A Associação Americana do Coração (American Heart Association, 2017) traz dois grupos de fatores de risco para hipertensão: os não-modificáveis, como histórico familiar, idade, sexo e raça, e os modificáveis, como a falta de exercício físico, dieta desbalanceada, alta ingestão de sódio, obesidade, excesso de álcool, apneia do sono, colesterol alto, tabagismo e estresse.

Dados mais atuais trazidos pela OMS (2019) estimam já haver cerca de 1.13 bilhões de hipertensos no mundo, e a grande maioria em países de baixa e média renda. Além disso, a taxa de prevalência da HAS em 2015 era de 1 a cada 4 homens e 1 a cada 5 mulheres.

Devido às complicações decorrentes da HAS (cardíacas, renais e cerebrais), estima-se que o impacto econômico na renda familiar dos brasileiros pela perda da produtividade de trabalho seja de cerca de US\$ 4,18 bilhões entre 2006 e 2015 (SBH, 2016).

A 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial, recentemente constatou que o controle da hipertensão no Brasil, nas regiões Sudeste, Sul e Centro Oeste, é muito baixo, variando de 10,1% a 35,5%. Parafraseando o Dr. Marcus Bolívar Malachias, ex-presidente da SBH:

“A hipertensão é uma doença silenciosa com tratamento conhecido, mas que os brasileiros ainda negligenciam por não aderirem ao tratamento quando é diagnosticada, ou por sequer saberem que têm pressão alta.”

Por consequência, estima-se que 17.9 milhões de pessoas morreram por causa de doenças cardiovasculares em 2016, representando 31% de todas as mortes do mundo naquele ano (OMS, 2017). Dessas mortes, 85% foram por infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico, eventos comumente associados à HAS. Esses números fazem com que as doenças cardiovasculares sejam a principal causa de mortes no mundo todo. Segundo o Ministério da Saúde, em 2017 no Brasil houve 141.878 mortes devido à HAS ou a causas atribuídas. São cerca de 388,7 mortes por dia, ou 16,2 por hora.

Entre os mecanismos de desenvolvimento da HAS, é importante destacar a disfunção endotelial que acontece, principalmente, devido a um desequilíbrio redox-nitrosativo causado pela doença (HUSAIN et al, 2015). Com o aumento das ERO, o

ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$), derivado em grande quantidade de erros inatos da cadeia transportadora de elétrons e também de enzimas como NADPH oxidase e xantina oxidase, reage de forma muito rápida com o NOx circulante, formando peroxinitrito ($ONOO^-$) (HUIE & PADMAJA, 1993), outra espécie altamente reativa (LANDMESSER et al, 2002). Assim, a HAS pode ser considerada uma síndrome que se caracteriza pela redução da vasodilatação endotélio-dependente, causada pela diminuição dos níveis de NOx (SU, 2015). Desse modo podemos perceber uma relação importante entre o estresse oxidativo e a HAS.

3.2 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é um fenômeno biológico caracterizado pelo aumento da produção das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Esse fenômeno ocorre quando nossas defesas antioxidantes não são capazes de deter a alta produção de ERO, causando um quadro de desequilíbrio redox (CRUZAT et al, 2007), exemplificado na figura 3.

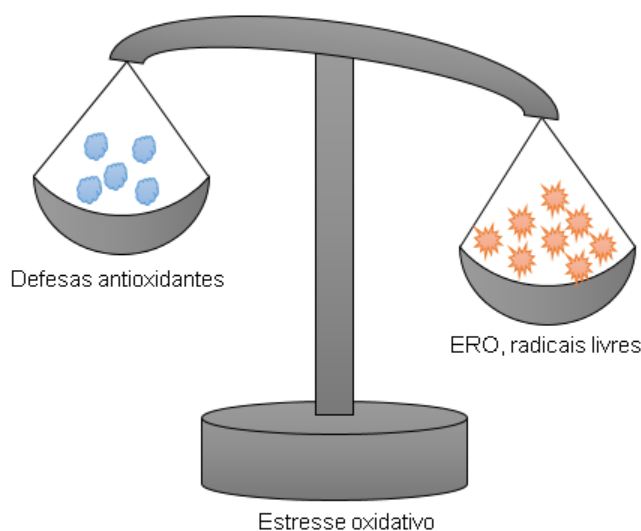


Figura 3: Desequilíbrio redox e estresse oxidativo. (Fonte: elaborado pelo autor)

Quando em concentrações adequadas no organismo, algumas ERO, como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($OH\cdot$), podem exercer funções fisiológicas de sinalização celular e combate à agentes infecciosos (VALKO et al, 2007). Entretanto, em altas quantidades podem causar injúrias em várias moléculas, como lipídeos e proteínas da membrana plasmática e até no DNA (DALLE-DONNE et al, 2006), pela sua capacidade de remover elétrons

dos compostos celulares (HENDRE et al, 2013).

Dentre as defesas antioxidantes do nosso organismo podemos citar dois grandes grupos: as enzimáticas (Figura 4) e as não-enzimáticas. No primeiro grupo destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 , catalase e glutathiona peroxidase (GPx), que reduzem o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 (no caso da GPx é necessário uma molécula de glutathiona reduzida para que aconteça a reação) e glutathiona s-transferase, que por sua vez é responsável por inativar e excretar metabólitos secundários das células, como aldeídos e hidroperóxidos (BIRBEN et al 2012). Entre as não-enzimáticas podemos citar moléculas de baixo peso molecular como as vitaminas C e E, as glutathionas e outros compostos que apresentam grupamento tiol (R-SH). Essas moléculas atuam principalmente como doadoras de elétrons a fim de neutralizar as ERO e os radicais livres (BIRBEN et al, 2012).

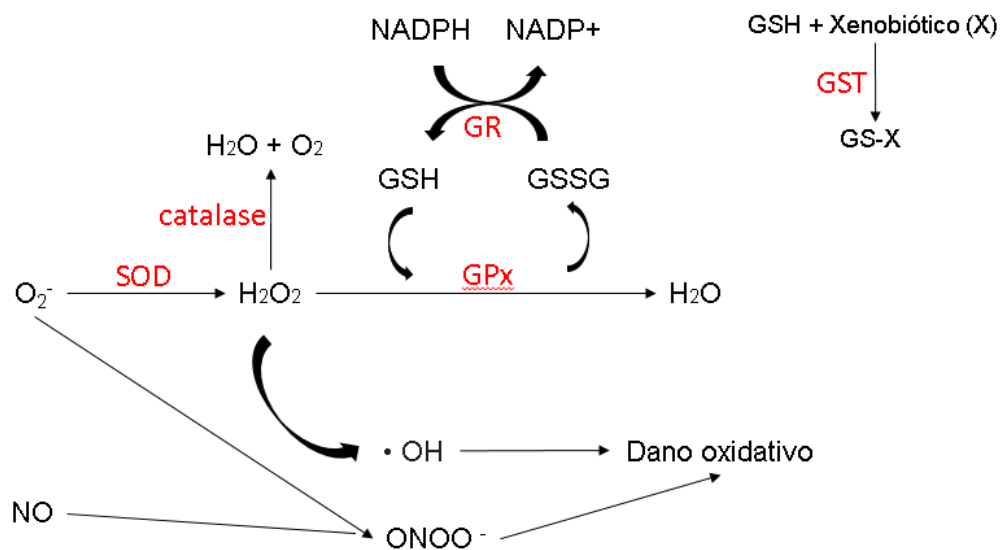


Figura 4: Defesas antioxidantes enzimáticas. (Fonte: elaborado pelo autor)

Visto que as ERO podem reduzir a biodisponibilidade de NOx na circulação, essa molécula se tornou um fator crítico quando se discute a hipertensão. Já está estabelecido que o NOx apresenta um potente efeito vasodilatador (CARDOSO et al 2012), melhorando a circulação sanguínea e conseqüentemente o aporte de oxigênio e glicose no cérebro. Com base nesses efeitos, essa molécula tem sido proposta com propriedades neuroprotetoras, além de efeitos anti-hipertensivos, antitrombóticos e anti-ateroscleróticos (TOUSOULIS et al, 2012).

Além disso, ao se difundir das células endoteliais para as células musculares

lisas, o NOx proporciona relaxamento e vasodilatação. Dessa forma, há um mecanismo onde essas moléculas são capazes de reduzir a resistência vascular periférica e diminuir a pressão arterial (LARSEN & MATCHKOV, 2016).

Desse modo, tendo o estresse oxidativo como um possível alvo de intervenção na HAS e a importância do equilíbrio redox nessa patologia, diferentes estratégias terapêuticas vem sendo sugeridas como tratamento para essa doença, incluindo o exercício físico (CARDOSO et al, 2012; MONTEZANO et al, 2015).

3.3 EXERCÍCIO FÍSICO

A prática de atividades físicas e esportes no Brasil tem crescido ao longo dos anos e chegou a marca de 61,3 milhões de pessoas em 2015, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Dentre os esportes, a modalidade mais praticada é o futebol e, dentre as atividades físicas, em primeiro lugar vem a caminhada, seguido pelas academias/fitness e pela musculação (IBGE, 2015).

Além disso, na Figura 5 podemos notar que a população jovem (15 a 17 anos) é quem mais pratica atividades físicas e esportes no Brasil. Também vemos que a prática decai gradativamente com o passar dos anos, o que pode se tornar um fator de risco para diversas causas negativas e doenças.

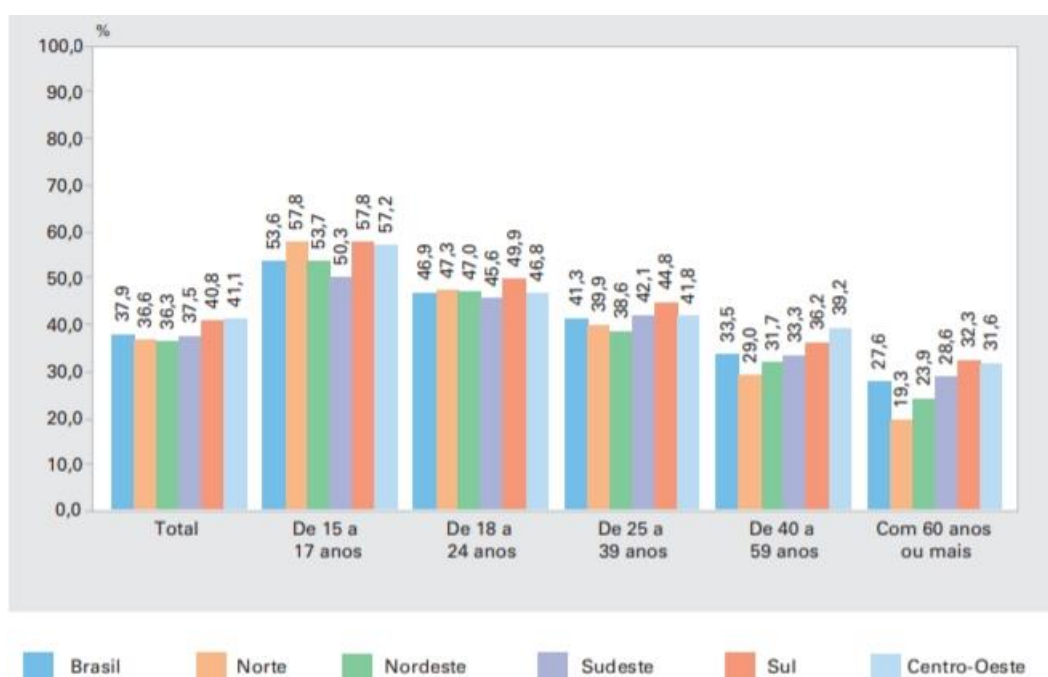


Figura 5: Percentual de pessoas que praticaram algum esporte ou atividade física, no período de 365 dias, em 2015, na população de 15 anos ou mais de idade, por grupos de idade. (Fonte: IBGE, 2015).

O médico brasileiro, Dr. Drauzio Varella, em seu artigo “Ai, que preguiça” alerta para a importância da prática de atividades físicas e para o risco do sedentarismo:

“O corpo humano é uma máquina desenhada para o movimento, portanto, não projetada para o estilo de vida que se leva hoje em dia. Por isso, os efeitos adversos da praticidade contemporânea não demoraram a surgir.”

Nesse trecho, o Dr. Varella alerta que nossos corpos foram feitos para se exercitar e movimentar, e não para as excessivas comodidades da vida moderna. Assim, com o sedentarismo em alta, logo começam a aparecer as dores localizadas, o cansaço com pequenos esforços e as doenças.

Nesse contexto, é importante ressaltar as diferenças entre os termos atividade física e exercício físico. Atividade física inclui os movimentos corporais com gasto energético acima dos níveis de repouso, incluindo atividades diárias como banhar-se, atividades do trabalho, andar, carregar objetos; e as atividades de lazer, como dançar, praticar esportes ou se exercitar (Caspersen, 1985; Shepard & Balady, 1999). Para esses autores, o exercício físico se diferencia pela intencionalidade do movimento, ou seja, é planejado, estruturado por um profissional da área e repetitivo. Dessa forma, o propósito do exercício físico é a manutenção ou otimização do condicionamento físico. Pate et. al (1995) também complementa que o exercício físico objetiva melhorar um ou mais componentes de aptidão física: condicionamento aeróbico, força e flexibilidade.

Já o treinamento resistido (TR), também chamado de musculação ou treinamento de força, é amplamente praticado em academias do Brasil e do mundo, caracterizado pela execução de exercícios contra uma determinada resistência, durante um curto período de tempo, praticado principalmente em intensidade moderada ou alta, sem a utilização de oxigênio como principal substrato energético (GOMES et al., 2012).

Entretanto, dados recentes estimam que 47% da população brasileira, de ambos os sexos e acima de 18 anos, não praticam atividade física suficiente (OMS, 2016). Além disso, essa organização alerta que a falta de atividade física é um dos principais fatores de risco para morte no mundo, por aumentar a chance de se obter doenças não-comunicáveis, como doenças cardiovasculares, câncer e diabetes (OMS, 2018).

Assim sendo, cabe ressaltar alguns dos benefícios da prática regular de atividades físicas, como a melhora muscular e cardiorrespiratória, fortalecimento ósseo, manutenção e controle da massa corporal e do equilíbrio energético (OMS, 2018). Além disso, cada vez mais estudos científicos vêm destacando o papel do exercício físico para melhora de marcadores do estresse oxidativo, aumento da resposta antioxidante e também no aprimoramento da capacidade oxidativa do músculo esquelético e do cérebro (CARDOSO et al., 2012; CLAUDINO et al., 2010; POWERS, 2010; RADAK et al., 2005).

Estudos têm demonstrado que durante o exercício físico há um aumento da produção de ERO, de forma benéfica, levando a uma adaptação do organismo e um posterior aumento na atividade de enzimas antioxidantes (CARDOSO et al, 2012; RADAK et al., 2005) melhorando essa capacidade fisiológica de proteção e reduzindo o dano oxidativo durante e depois do exercício. Ou seja, constantes episódios agudos de estresse oxidativo, durante o exercício, podem manifestar resultados positivos ativando vias de sinalização que levam a adaptação celular (POWERS, 2010).

Considerando a HAS, muitos trabalhos vêm sendo feitos para tentar entender e esclarecer a associação do exercício físico com essa doença. Um dos principais mecanismos observados pelos estudos é o de hipotensão pós-exercício. (BÖRJESSON et al, 2016; SIMÃO et al, 2005). Embora haja evidências da redução da pressão arterial pelo treinamento resistido (UMPIERRE & STEIN, 2007; FAGARD, 2006), o exercício aeróbico é quem ganha mais crédito nesse quesito por ser alvo de maior número de estudos realizados e analisados (BOUTCHER & BOUTCHER, 2016).

Essa menor proporção de dados na literatura sobre os efeitos do exercício resistido na HAS traz reflexos para o cotidiano, fazendo com que se prescreva e recomende, principalmente, a prática aeróbica. Entretanto, o exercício resistido vem se mostrando eficaz, sobretudo, na redução da pressão diastólica, reduzindo a resistência vascular periférica (CORNELISSEN & SMART, 2013). Uma meta-análise verificou uma redução de cerca de -3,87 mmHg para pressão sistólica e -3,6 mmHg para pressão diastólica em protocolos de exercícios resistidos (CORNELISSEN et al, 2011). Reduções desses valores de pressão arterial já são relacionados com um menor risco de infarto (5%) e acidente vascular encefálico (8%) (LEWINGTON et al, 2002).

Entretanto, sob outras perspectivas, os estudos envolvendo o exercício resistido

vem aumentando e ganhando destaque na comunidade acadêmica. Lee e colaboradores (2018) mostraram que 8 semanas de exercício de subir escadas, em ratos diabéticos, foi capaz de melhorar o quadro oxidativo dos animais, reestabelecendo a atividade de enzimas antioxidantes e reduzindo a expressão de marcadores pró-apoptóticos. Em outro estudo, um protocolo similar de exercício resistido foi capaz de reduzir marcadores de estresse oxidativo e de dano muscular em animais portadores de tumor (PADILHA et al, 2017).

Além disso, foi verificado que uma única sessão de exercício resistido aumentou o fluxo sanguíneo e os níveis de nitritos plasmáticos de pacientes com doença arterial periférica (LIMA et al, 2015). Desse modo, estima-se que a produção de H_2O_2 por uma sessão aguda de exercício está altamente associada com a regulação e sinalização de vias que estimulam o sistema de defesas antioxidantes (WANG et al, 2016).

Embora os mecanismos pelo qual o exercício físico exerce efeitos anti-hipertensivos não estarem bem claros ainda, tem sido sugerido que o relaxamento endotélio-dependente e a adaptação endotelial são, sobretudo, mediadas pelo aumento significativo na produção de NOx e/ou pela redução na eliminação de NOx pelas ERO (PETERS et al, 2006; MCGOWAN et al, 2007). Nesse contexto, é relatado uma melhora nos níveis de NOx em animais submetidos à administração de L-NAME quando condicionados ao exercício físico (CLAUDINO et al., 2010).

4.MANUSCRITO

Resistance exercise protects oxidative stress damage and enzymatic alterations in the cerebral cortex of L-NAME-treated rats

Thauan Faccin Lopes¹, Maria Rosa Chitolina Schetinger¹, Fábio Fernandes Mello¹, Aline da Silva Pereira¹, Vanessa Valéria Miron¹, Thalison Faccin Lopes¹, Vitor Mostardeiro¹, Jessié Martins Gutierrez^{1, 2}, Vera Melchiors Morsch¹

¹ Graduate Program in Biological Sciences: Toxicological Biochemistry, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Santa Maria (UFSM), Brazil.

² Graduate Program in Physical Education, Physical Education and Sports Center (CEFD), Federal University of Santa Maria (UFSM), Brazil.

Running title: Cerebral cortex is protected by resistance exercise in hypertension

Keywords: Hypertension; oxidative stress; resistance exercise.

Corresponding author: Vera Melchiors Morsch, Ph.D.

Phone: +55 055 3220 9557

Email: veramorsch@gmail.com

Total number of words (excluding references and figure legends): 4039

Total number of references: 52

New Findings

What is the central question for this study?

Hypertension (HT) is known to cause oxidative stress and enzymatic alterations and resistance exercise is known to enhance antioxidant defenses. However, it's not clear the effects of this disease in the brain and if exercise could protect it.

What is the main finding and its importance?

We saw that HT is clearly affecting the brain. We show that resistance exercise could attenuate cerebral damage induced by L-NAME administration. The role of resistance exercise in protecting brain damage from HT has not previously been reported and demonstrates to be a good therapeutic option.

Abstract

Hypertension (HT) is a health problem, contributing to increased mortality rates. In experimental models, HT is induced by the administration of L-NAME. Resistance exercise is known to improve oxidative parameters, but the mechanisms by which it promotes antihypertensive effects are not clear. This study evaluated the oxidative stress and activities of enzymes on the cerebral cortex of hypertensive rats after four weeks of resistance exercise. The animals were divided into four groups: Sedentary Control (Sed-Ctrl), Exercise Control (Ex-Ctrl), Sedentary L-NAME (Sed-L-NAME), and Exercise L-NAME (Ex-L-NAME); exercise groups performed a protocol of climbing stairs with overload. Samples were collected for the evaluation of nitrite and nitrate levels (NO_x), carbonyl protein, TBARS, total reactive oxygen species (tROS), total thiol content, glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione s-transferase (GST), acetylcholinesterase (AChE), and Na⁺/K⁺-ATPase. We observed that L-NAME reduced weight gain, which was restored to normal levels by exercise. We found increased tROS and thiols in Sed-L-NAME group, but both reverted to standard levels in Ex-L-NAME group. The NO_x levels in the Sed-L-NAME group decreased and it was restored by exercise. Increased GPx activity in the Sed-L-NAME group was observed, as well as its reestablishment in the Ex-L-NAME group. We also observed increased AChE and Na⁺/K⁺-ATPase activity in the Sed-L-NAME group, but the exercise was not able to restore these parameters. Our findings suggest physical exercise is able to reduce the effects caused by L-NAME-induced hypertension in the cerebral cortex and can be considered a promising therapeutic model against HT.

1. Introduction

Hypertension (HT) is a worldwide health care problem, contributing to the increase of mortality rates due to heart and brain diseases (Messerli et al., 2007). Projections suggests that until 2025, there will be nearly 1.56 billion cases of HT around the world.

(Kearney et al., 2005; World Health Organization, 2013).

It is well known that nitric oxide (NOx) possesses a potent vasodilator effect (Cardoso et al., 2012), improving blood flow, and consequently the access to oxygen and glucose in the brain. Based on these effects, this molecule has been proposed to be neuroprotective, as well as antihypertensive, anti-atherosclerotic, and antithrombotic (Tousoulis et al., 2012). In the brain, NOx functions primarily as a neurotransmitter and a neuromodulator. By acting in perivascular vasodilator nerves, it has been suggested that NOx acts as the main neurotransmitter in the non-adrenergic and non-cholinergic inhibitory system (Ishioka et al., 2014; Antosova et al., 2005).

Chronic NOx inhibition promotes vasoconstriction, which increases blood pressure and causes, physiologically and pathologically, an experimental model of HT (Baylis et al. 1992). For this model purpose, the administration of N ω -Nitro-L-arginine-methyl-ester (L-NAME) works by competing with his analogue, the amino acid L-arginine, reducing the production of NOx by the nitric oxide synthase (NOS) enzyme.

Regarding cell damage caused by HT, the production of malondialdehyde (MDA) and protein carbonylation are important biomarkers of oxidative stress, as they are indicative of damaged lipids and proteins of the cell membrane, respectively (Dalle-donne et al., 2006; Cardoso A. M et al., 2012). These markers are very important since the brain is rich in polyunsaturated lipids, such sphingolipids, phospholipid membranes and the myelin sheath of axons.

In addition, the production of reactive oxygen species (ROS) in HT are increased by several mechanisms, such as the production of hydrogen peroxide (H $_2$ O $_2$) and peroxynitrite (ONOO $^-$), for example, which contributes to the progression of neural diseases, such as stroke (Harrinson et al., 2007).

In contrast, glutathione is the main endogenous antioxidant agent in the body, preventing damage to important cellular components and participating in the direct neutralization of free radicals through its enzyme system (Diaz-Vivancos, 2015). Thus, the function of the glutathione system in the brain is of great importance because the antioxidant system is present in a lower rate in this region (Goraca & Aslanowicz-Antkowiak, 2009).

Therefore, since HT can affect the brain, it seems reasonable to evaluate whether HT affects the activity of two enzymes that are very important for proper brain function, acetylcholinesterase (AChE) and Na $^+$ /K $^+$ -ATPase. AChE is known to regulate the levels of acetylcholine in the synaptic cleft, being the main enzyme in the cholinergic system

(Paleari et al., 2008). Na⁺/K⁺-ATPase maintains the resting potential of cells and controls the electrochemical gradient across the plasma membrane (Lima et al., 2008).

Regular physical exercise is recognized as a coadjutant in the treatment and/or prevention of HT due to its antihypertensive effects, such as the reduction of blood pressure (Humphrey, 2001; Cardoso et al., 2012, 2014). Recent studies have shown that during physical exercise, there is an increase in the production of total ROS, leading to the subsequent increase in the activity of antioxidant enzymes (Cardoso et al., 2012), improving this physiological capacity of protection. Thus, constant acute oxidative stresses may manifest beneficial results by activating signaling pathways, like mTOR, MAPK and ERKs, leading to cellular adaptation (Powers, 2010).

Therefore, the purpose of this study was to evaluate the oxidative stress parameters and the activity of antioxidant enzymes, AChE and Na⁺/K⁺-ATPase in the cerebral cortex of L-NAME-induced hypertensive rats after four weeks of a resistance exercise protocol.

2. Material and Methods

2.1 Animals

Forty male Wistar rats, (70–90 days, 250–300 g) obtained from the Biotério Central of the Federal University of Santa Maria, were used in this experiment. The animals were kept at controlled temperature (23 °C ± 2), with a light/dark cycle of 12 hours and free access to food and water. The Ethics Committee of Animal Use of this university, under the protocol number: CEUA nº 7356221117, approved this study and project.

2.2 L-NAME–induced hypertension

The animals were randomly distributed into four groups: Sedentary Control (Sed-Ctrl), Exercise Control (Ex-Ctrl), Sedentary L-NAME (Sed-L-NAME), and Exercise L-NAME (Ex-L-NAME), with n = 10 in each group. The induction of HT was completed by oral administration, via gavage, of L-NAME every day of the experiment. A median dose was chosen (30 mg/kg/day) based on previous studies (Cardoso, 2012, 2014; Furstenau, 2008).

2.3 Resistance exercise protocol in experimental models

The exercise protocol consisted of the rats climbing stairs carrying an overload (Lee, 2003; Kim et al., 2015). First, the groups that participated in the exercise protocol had a training period to learn the processes of climbing, for one week on non-consecutive days, without overload. Subsequently, the animals were encouraged to perform 10 climbs (with 80% of body weight-overload) on a vertical ladder (80° slope) with equivalent weights attached to their tails, for four weeks. The animals had 30–60 seconds of rest at each climb in a dark box atop the stairs. We gently guided the animals to keep going up the stairs if they stopped climbing. No rewards were used during the resting place. The protocol continued for four weeks, three times a week, on non-consecutive days. In the beginning of the experiment, and at the end of each week, the animals were weighed and the overloads adjusted according to the values, for the intensity maintenance.

2.5 Collection of biological material

Forty-eight hours after the last training session, the animals were anesthetized with an i.p injection of ketamine (90 mg/kg) and xylazine (3 mg/kg) and submitted to euthanasia. Soon after, the cerebral cortex was separated and put in a freezer at -80 °C until use for the biochemical analyses.

2.6 Nitrite and nitrate contents

The NO_x content in the cerebral cortex was stimulated in a medium containing 100 µL of 2% VCl₃ (in 5% HCl), 50 µL of 0.1% N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride, and 50 µL of 2% sulfanilamide (in 5% HCl). After incubation at 37 °C for 60 minutes, the levels of nitrites and nitrates, which correspond to an estimate of NO_x, were determined by spectrophotometry at 570 nm. This method is based on the reduction of nitrate to nitrite by VCl₃ (Miranda, 2001). The levels of nitrites plus nitrates were expressed in mM NO_x/mg protein.

2.7 Protein Carbonylation

The carbonylation of cerebral cortex proteins was determined by the modification of the Levini method (Levini et al., 1990). First, 250 µL of the sample was precipitated using 100 µL of 10% trichloroacetic acid (TCA) and then centrifuged at 5000 rpm for 5 minutes, discarding the supernatant. Next, 150 µL of 2,4-Dinitrophenylhydrazine (DNPH) (test)/HCl (blank) was added to this sample

precipitate and incubated at room temperature for 30 minutes. During the incubation, the samples were mixed vigorously every 10 min. After incubation, 100 μ L of 10% TCA was added to the sample, and the sample was centrifuged at 5000 rpm for 5 minutes. After discarding the supernatant, the precipitate was washed twice with 250 μ L of ethanol/ethyl acetate (1:1), via centrifugation at 10,000 rpm for 5 minutes, and the supernatant was discarded to remove any free DNPH. The precipitate was dissolved in 800 μ L of denaturation solution (2 g of sodium dodecyl sulfate (SDS) and 50 mg of EDTA in 100 mL of 80 mM potassium phosphate buffer, pH 8.0) and incubated at 37 °C for 10 minutes. The color intensity of the supernatant was measured using a spectrophotometer at 370 nm. The carbonyl protein content was expressed in nM of carbonyl protein/mg protein.

2.8 Determination of Lipid Peroxidation

Lipid peroxidation was estimated by the measurement of thiobarbituric acid reactive species (TBARS) according to the modified method of Jentsch et al. (1996). 100 μ L of sample was added to a reaction mixture containing 250 μ L of 1% glacial acetic acid, 125 μ L of 0.8% SDS, and 125 μ L of TBA, followed by a 60-minute incubation at 95 °C. After cooling, the samples and standard malondialdehyde (MDA) were read at 532 nm by spectrophotometry. The results were expressed as nM MDA/mg protein.

2.9 Total Reactive Oxygen Species

2'-7'-dichlorofluorescein (DCF) levels were determined as an index of peroxide production by cellular components, as previously described by Halliwell and Gutteridge (2007). This experimental method is based on the oxidation of reactive species to DCF, a highly fluorescent compound. The cerebral cortex sample was added to a medium containing distilled water and DCF (1 mM) and incubated in the dark at room temperature for 2 minutes until the measurement process started (488 nm excitation/525nm emission). The results were expressed as UDCF/mg protein.

2.10 Total Thiol Content (TSH)

To measure the total thiol content, 30 μ L of the samples plus 260 μ L of potassium phosphate buffer (1 M, pH 7.4) and 15 μ L of 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) (10 mM) was added into a 96-well plate, using a pipette, and read at

412 nm by spectrophotometry immediately after the addition of DTNB. This protocol is based on Ellman (1959). The results were expressed as $\mu\text{mol TSH/mg}$ of protein.

2.11 Glutathione Peroxidase, Glutathione Reductase and Glutathione S-Transferase activities

Glutathione peroxidase (GPx) activity was determined using the cerebral cortex supernatant, reduced glutathione and NADPH. This method is based on the oxidation of NADPH (Paglia & Valentine, 1967). The glutathione reductase (GR) activity was determined as described by Carlbergue et al. (1985). This method is based on the use of the enzyme to convert oxidized glutathione (GSSG) to reduced glutathione (GSH) in the presence of the NADPH cofactor. Glutathione S-Transferase (GST) activity was measured by the method of Habig et al. (1974). All assays were measured using spectrophotometry at 340 nm and the results were expressed as $\text{nmol/min/mg protein}$.

2.12 AChE and Na^+/K^+ ATPase activities

The enzymatic assay of AChE was conducted according to Ellman et al. (1961). 100 μL of the sample was pipetted into a mixture containing 100 mM phosphate buffer, pH 7.5, and 10 mM DTNB and distilled water. The samples were preincubated for 2 minutes at 27 °C. The reaction was started by the addition of 200 μL of 0.8 mM acetylthiocholine iodide (AcSCh). The method is based on the hydrolysis of the substrate acetylthiocholine forming acetate and thiocholine. The thiocholine product is reacts with DTNB and forms the yellow 5-thio-2-nitrobenzoic anion, measured by absorbance at 412 nm for 2 minutes. The activity of the enzyme will be expressed in μM of AcSCh/h/mg protein. For Na^+/K^+ -ATPase, the protocol was based on that described by Wyse et al. (2000), with modifications of Carvalho et al. (2012). Briefly, the assay medium consisted of a 30 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4), 0.1 μg EDTA, 50 μg NaCl, 5 μg KCl, 6 μg MgCl_2 and 50 μL of sample in the presence or absence of ouabain (1 mM), in a final volume of 350 μL . The reaction was initiated by the addition of ATP to a final concentration of 3 mM. After 30 minutes at 37 °C, the reaction was stopped by the addition of 10% TCA. The amount of inorganic phosphate (Pi) released was quantified colorimetrically. The specific activity of Na^+/K^+ -ATPase was calculated by subtracting the activity of the ouabain - insensitive from the total activity (in the absence of ouabain) and expressed in μmol

Pi/min/mg protein.

2.13 Statistical Analysis

The data are presented as mean \pm standard error (SEM). The two-way Analysis of Variance (ANOVA) was used followed by the post-hoc Tukey's multiple comparison test using GraphPad Prism version 6.00 for Windows (GraphPad Software, La Jolla California USA, www.graphpad.com). Significant differences between groups were considered significant when $p < 0.05$.

3. Results

In Figure 1, we can see the weight curve of the animals throughout the experiment. Two-way ANOVA followed by Tukey multiple comparisons between groups showed a significant difference for Sed-L-NAME compared to Sed-Ctrl ($p < 0.05$) and Ex-L-NAME compared to Sed-L-NAME in the last week of treatment.

The results obtained for NO_x content are shown in Figure 2. The presence of the interaction between the factors in the analysis of two-way ANOVA, with $F(1,23) = 6.386$ and $p = 0.0188$, was observed. In addition, through the Tukey multiple comparison, the statistical differences between the Sed-L-NAME and the Sed-Ctrl ($p < 0.01$) groups, as well as the Ex-L-NAME and the Sed-L-NAME ($p < 0.05$) groups were verified.

Figure 3 shows the results obtained for the oxidative stress parameters in the cerebral cortex through analyses of total ROS (Figure 3A), the total thiol content (Figure 3B), lipid peroxidation (Figure 3C), and protein carbonylation (Figure 3D). There were interactions between the factors in the analysis of the two-way ANOVA for the production of total ROS [$F(1,21) = 6.188$ and $p = 0.0213$]. The Tukey multiple comparison test showed statistical differences between the Sed-L-NAME and Sed-Ctrl groups ($p < 0.05$), as well as the Ex-L-NAME and Sed-L-NAME groups ($p < 0.05$) (Figure 3A). In addition, the graph shown in Figure 3B represents the statistical differences observed between the Sed-L-NAME and Sed-Ctrl groups ($p < 0.05$) and the Ex-L-NAME and Sed-L-NAME groups ($p < 0.05$). No significant differences were observed in the Tukey multiple comparisons for lipid peroxidation and protein carbonylation.

Regarding the antioxidant enzymatic activity analyzed, it was possible to verify that GPx activity (Figure 4A) showed interaction between the factors with $F(1,26) = 24.28$ and $p < 0.0001$. In addition, a significant difference was observed between the groups

Sed-L-NAME *versus* Sed-Ctrl ($p < 0,0001$) and Ex-L-NAME vs Sed-L-NAME ($p < 0.0001$). The GR enzyme (Figure 4B) showed interaction between the factors in the two-way ANOVA analysis, with $F(1,22) = 5.182$ and $p = 0.0329$. There was also a significant difference in the Sed-L-NAME group *versus* the Sed-Ctrl group ($p < 0.01$) for GR. No interaction nor significant difference between groups was found for GST enzymatic activity (Figure 4C).

In relation to the activity of the enzymes AChE and Na^+/K^+ -ATPase (Figure 5A and B, respectively), the graph (Figure 5A) shows the interaction between the factors analyzed, with $F(1,19) = 11.22$ and $p = 0.0034$. In addition, we verified a significant difference between the groups Sed-L-NAME and Sed-Ctrl ($p < 0.05$), as well as Ex-Ctrl and Sed-Ctrl ($p < 0.05$), through the Tukey multiple comparison. In relation to the graph shown in Figure 5B, the interaction between factors was also present, with $F(1,21) = 4.932$ and $p = 0.0375$ and significant differences between the Sed-L-NAME and Sed-Ctrl ($p < 0.001$) groups, as well as the Ex-L-NAME and Sed-Ctrl ($p < 0.05$) groups.

4. Discussion

In this study, we aimed to study the effect of a 4-week resistance training protocol in L-NAME-induced hypertensive rats. The animals climbed a vertical ladder (80° slope) carrying an overload of 80% body weight. During the entire experiment, we monitored the body mass gained by the animals. Figure 1 shows the mean weight throughout the five weeks that we kept the rodents. As expected, the Sed-Ctrl group had the highest weight gain, followed by the Ex-Ctrl group. In contrast, L-NAME caused a reduction in weight gain in the first four weeks, which was reversed by the resistance exercise protocol. These effects can be explained by the synergy of the enhanced NOx production shows with exercise, favoring body mass gaining. (Darryn et al. 2015; Pahlavani et al., 2017).

The NOx molecule is highly recognized for its neuroprotective effects (Wu et al., 2016; Gutierrez et al., 2014). Many studies have demonstrated that the hypertensive effect of L-NAME stems from the reduced bioavailability of NOx in several types of samples through inhibition of NOS (Cardoso et al., 2012; Akinyemi et al., 2017; Furstenau, 2008), similar to what we found in this study. Four weeks of resistance exercise was able to restore NOx levels in the cerebral cortex of hypertensive rats. These data show the importance of the neuroprotective effects of intense physical exercise on the normalization of NOx content at basal levels, corroborating recent

findings in the literature (Campos et al., 2016; da Silva et al., 2016). However, in this study we could not verify which NOS isoform was mostly involved in this exercise protocol. We can suggest, based on literature, that exercise effects in the brain may be associated with neuronal-NOS (nNOS) (Sherman et al., 1999).

Although many studies have demonstrated the damage caused by HT in peripheral systems, tissues and organs (Cardoso al., 2012; Akinyemi et al., 2017), the literature lacks research that involves this subject in the central nervous system. In our study, hypertensive animals (L-NAME 30 mg/kg) demonstrated a significant increase in tROS levels, which were restored by the resistance exercise protocol. Conversely, we did not find cell membrane damage through lipid peroxidation (TBARS) and carbonylation of proteins in the cerebral cortex. These results suggest that defense systems in the brain were fight the increased tROS levels to avoid structural injuries. Increased levels of TSH in the Sed-L-NAME group may show the brain's effort in this restorative struggle, which was normalized by the protocol in the Ex-L-NAME group. Our research group already showed that this protocol of resistance exercise could prevent alterations in the oxidative stress and purinergic system in an experimental model of sepsis (Miron et al., 2018).

Regarding the antioxidant enzyme system that was evaluated in our study, resistance exercise (three times a week, on non-consecutive days) was able to reverse the significant increase of GPx in the L-NAME group, showing that this type of exercise was effective in reducing hydrogen peroxide at basal levels, suggesting a highly neuroprotective effect. Other studies on the peripheral system have shown a reduction in GPx activity in hypertension (Chavez, 2007), suggesting that in the brain, other mechanisms may be activated for this disease. Similarly, recent studies have demonstrated beneficial effects of physical exercise on enzyme activity in the antioxidant defense system (Azizbeigi et al., 2014; Mallikarjuna et al., 2010). In contrast, L-NAME showed a reduction in GR activity, and the exercise protocol was not effective in restoring GR activity. While in other studies HT also leads to a reduction in GR activity (Chavez, 2007; Da Silva, 2010), exercise seems to reverse this reduction in the liver (Mallikarjuna et al., 2010), suggesting that resistance exercise activity by itself, in this protocol, was not effective in restoring the activity of this enzyme in the brain. Finally, for the GST enzyme, studies have shown that this enzyme does not present changes in the life span spontaneously hypertensive animals when compared to control animals (Siew-Keah et al., 2014) and also a recent review shows that this enzyme is not

related to the risk of developing this disease (Ge et al., 2015).

Regarding AChE, studies have shown that inhibition of this enzyme may delay the development of HT in spontaneously hypertensive rats (Lataro et al., 2015). As we saw in our study, hypertensive animals showed a high activity of this enzyme, in accordance with Lataro's findings. During exercise, an increased release of AChE by the central nervous system can be observed because its release and subsequent binding with nicotinic receptors in skeletal muscle are required for muscle contraction. This could explain the increase *per se* of this enzymatic activity in the Ex-Ctrl group. Although other studies (Ben, et al., 2009; Farzi et al., 2018) have reported that physical exercise restored AChE activity in other pathologies, we did not see this in association with HT.

Hamlyn et. al (1982) showed that inhibiting Na⁺/K⁺-ATPase increased the systemic arterial pressure of patients, propounding a relationship between HT and this enzymatic activity. In our results, the L-NAME-induced hypertension showed a significant reduction in Na⁺/K⁺-ATPase activity, in accordance with Hamlyn's findings, but the four weeks of resistance exercise was not able to restore this reduction to basal levels. Two different protocols of exercise, swimming and running, were able to restore the activity of this enzyme in different pathologies, rats that suffered cranial trauma and female rats that underwent an ovariectomy, respectively (Lima et al., 2009; Ben et al., 2009). These two studies suggest that improvements in the parameters of this enzyme may be related to the specificity of the physical exercise practiced or the protocol time involved.

In conclusion, it was possible to verify that the resistance exercise protocol caused a considerable improvement in the oxidative status in L-NAME-induced hypertensive rats, reversing the deleterious effects caused by L-NAME, mainly on NO_x production, levels of total ROS, normalization of GPx activity and preventing low weight gain of the rodents. Thus, we should consider resistance exercise as an important adjuvant in the treatment of HT, as well as a method of prevention of many diseases, particularly when we analyze the effects of this disease on the brain. In addition, this work comes to reinforce the literature regarding studies of this disease in the CNS. Therefore, more studies are currently underway from our research group to complement these results.

Acknowledgments and funding

This research was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PROEX), process number 23038.004173/2019-93. We also thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and

UFSM.

Competing interests:

None

Author Contributions:

Conception and design of the experiment: TFL, JMG, MRC and VMM.

Collection, analysis, and interpretation of data: TFL, FFM, ALS, NBB, TFL, VM and VMM.

All authors drafted the article or revised it critically for important intellectual content.

All authors approved the final version of the manuscript and qualify for authorship.

Conflict of interest:

All authors declare no conflict of interest.

References:

Akinyemi, A. J., Oboh, G., Thomé, G. R., Morsch, V. M., Lopes, T. F., & Schetinger, M. R. C. (2017). Dietary ginger and turmeric rhizomes prevent oxidative stress and restore delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in L-NAME treated rats. **Journal of Food Biochemistry**, 42(4), e12472. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12472>

Antosova M., Turcan T., Strapkova A., Nosalova G. (2005). Inhibition of guanylyl cyclase in the airways hyperreactivity. **Bratisl. Lek. Listy** 106 (8–9), 243–247.

Azizbeigi K. Stannard S. R, Atashak S., Haghighi M. M. (2014). Antioxidant enzymes and oxidative stress adaptation to exercise training: Comparison of endurance, resistance, and concurrent training in untrained males. **Journal of Exercise Science & Fitness**, 12, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jesf.2013.12.001>

Beihai Ge, Yadong Song, Yi Zhang, Xiaowen Liu, Yuxiang Wen, Xiaomei Guo. (2015). Glutathione S-Transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) Null Polymorphisms and the Risk of Hypertension: A Meta-Analysis. **PLOS ONE**, 10(3): e0118897. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118897>.

Ben J., Soares F. M. S., Cechetti F., Vuaden F. C., Bonan C. D., Netto C. A., Wyse A. T. de S. (2009). Exercise effects on activities of Na⁺,K⁺-ATPase, acetylcholinesterase and adenine nucleotides hydrolysis in ovariectomized rats. **Brain Research**, 1302, 248–255. doi:10.1016/j.brainres.2009.09.013

Baylis C, Mitruka B, Deng A. (1992). Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. **J Clin Invest**, 90(1): 278–281. doi: [10.1172/JCI115849](https://doi.org/10.1172/JCI115849)

Cardoso A.M., Martins C.C., Fiorin Fda S., Schmatz R., Abdalla F.H., Gutierrez J., ... Schetinger M.R. (2012) Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. **Cell Biochem Funct**, 31(2):136-51. doi: 10.1002/cbf.2868

Cardoso A.M., Abdalla F.H., Bagatini M.D., Martins C.C., Fiorin Fda S., Baldissarelli J., ... Schetinger M.R. (2014) Swimming Training Prevents Alterations in Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities in Hypertensive Rats. **American Journal of Hypertension** 27(4) 522-529. doi: 10.1093/ajh/hpt030.

Carlberg I. and Mannervik B. (1985). Glutathione reductase. **Methods Enzymol**, 113: p. 484-90. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13062-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13062-4)

Campos C., Nuno Barbosa F. Rocha, Eduardo Lattari, Flávia Paes, António E. Nardi & Sérgio Machado (2016): Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. **Expert Review of Neurotherapeutics**, 16(6):723-34. doi: 10.1080/14737175.2016.1179582

Carvalho F.B., Mello C.F., Marisco P.C., Tonello R., Girardi B.A., Ferreira J., Oliveira M.S., Rubin M.A. (2012). Spermidine decreases Na⁽⁺⁾,K⁽⁺⁾-ATPase activity through NMDA receptor and protein kinase G activation in the hippocampus of rats. **Eur J Pharmacol** 684(1-3):79-86. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.03.046>

Chaves FJ, Mansego ML, Blesa S, Gonzalez-Albert V, Jimenez J, Tormos M.C., ... Redon J. Inadequate cytoplasmic antioxidant enzymes response contributes to the

oxidative stress in human hypertension. **Am J Hypertens.** 20 (2007) 62–69.
DOI:[10.1016/j.amjhyper.2006.06.006](https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2006.06.006)

Cheng M.-C., Pan T.-M. (2016). Prevention of hypertension-induced vascular dementia by *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* NTU 101-fermented products. **Pharmaceutical Biology**, 2016 vol. 55, no. 1, 487-496.
DOI:[10.1080/13880209.2016.1253109](https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1253109)

Dalle-donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601-23.
DOI:[10.1373/clinchem.2005.061408](https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.061408)

Darryn, S.W., et al. Intracellular Mechanistic Role of Nitric Oxide: A Comparative Analysis of the Effectiveness of L-Arginine and L-Citrulline Supplementation on Nitric Oxide Synthesis and Subsequent Exercise Performance in Humans. (2015). **J Food Nutr Sci**, 2(1): 1-8. <http://www.dx.doi.org/10.15436/2377-0619.15.010>.

Diaz-Vivancos P., de Simone A., Kiddle G., Foyer C.H. (2015). Glutathione linking cell proliferation to oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, 89, 1154–1164. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.09.023>

Da Silva P.G.C., Domingues D.D., de Carvalho L. A., Allodi S., Correa C.L. (2016). Neurotrophic factors in Parkinson's disease are regulated by exercise: Evidence-based practice. **Journal of the Neurological Sciences**, 363, 5–15.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2016.02.017>

Da Silva A.P., Marinho, C., Goncalves M.C., Monteiro C., Laires M.J., Falcão L.M., Nogueira J.B., Bich M. (2010). Decreased erythrocyte activity of methemoglobin and glutathione reductases may explain age-related high blood pressure. **Rev Port Cardiol.** 29, 403–412.

Ellman, G.L.; Courtney, D.K.; Andres, V.; Flatherstone, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**. v. 7, p. 88–95, 1961. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)

Fürstenau C.R., Trentin D.S., Gossenheimer A.N., Ramos D.B., Casali E.A., Barreto-Chaves M.L.M., Sarkis J.J.F. (2008). Ectonucleotidase activities are altered in serum and platelets of L-NAME-treated rats. **Blood Cells Mol Dis.** 223 – 229. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2008.04.009>

Goraça, A., & Aślanowicz-Antkowiak, K. (2009). Prophylaxis with α -lipoic acid against lipopolysaccharide-induced brain injury in rats. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, 57(2), 141–146. doi:10.1007/s00005-009-0015-z

Gutierrez, J. M., Carvalho, F. B., Schetinger, M. R. C., Marisco, P., Agostinho, P., Rodrigues, M., ... Spanevello, R. (2014). Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type. **Life Sciences**, 96(1-2), 7–17. doi:10.1016/j.lfs.2013.11.014

Harrison DG, Gongora MC, Guzik TJ, Widder J. (2007). Oxidative stress and hypertension. **J Am Soc Hypertens.** 1(1):30-44. doi: 10.1016/j.jash.2006.11.006.

Humphrey R, Bartels MN. (2001). Exercise, cardiovascular disease and chronic heart failure. **Arch Phys Med Rehab**, 82: 76–81. [https://doi.org/10.1016/S0003-9993\(01\)80045-9](https://doi.org/10.1016/S0003-9993(01)80045-9)

Halliwell B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions.** 35(5)1147-1150. DOI: 10.1042/BST0351147

Habig, WH., Pabst MJ., and Jakoby WB. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **J Biol Chem.** 249 (22): p. 7130-9.

Ishiokaa M., Ishizuka Y., Shintani S., Yanagisawac T., Inoue T., Sasaki J., Watanabe H. (2014). Expression profiles of NOS isoforms in gingiva of nNOS knockout mice. **Tissue and Cell**, 46, 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2013.12.003>

Jentsch A.M., Bachmann H., Fürst P., Bielsaki H.K. (1996) Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology & Medicine**, 20 251 –

256. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02043-8](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02043-8)

Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. (2005). Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**. 365 217-23. DOI:[10.1016/S0140-6736\(05\)17741-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17741-1)

Kim J.Y, Choi M.J, So B, Kim H.J, Seong J.K, Song W. (2015). The Preventive Effects of 8 Weeks of Resistance Training on Glucose Tolerance and Muscle Fiber Type Composition in Zucker Rats. **Diabetes Metab J**. 39 424-33. doi: 10.4093/dmj.2015.39.5.424

Lataro, R.M, Carlos A. A. Silva, Cristiane Tefé-Silva, Cibele M. Prado, Helio C. Salgado. (2015). Acetylcholinesterase Inhibition Attenuates the Development of Hypertension and Inflammation in Spontaneously Hypertensive Rats. **American Journal of Hypertension**, 28 (10), 1201–1208, doi: 10.1093/ajh/hpv017

Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.-G., ... Stadtman, E. R. (1990). [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, 186, 464–478. doi:10.1016/0076-6879(90)86141-h

Lima, F. D., Oliveira, M. S., Furian, A. F., Souza, M. A., Rambo, L. M., Ribeiro, L. R., ... Royes, L. F. F. (2009). Adaptation to oxidative challenge induced by chronic physical exercise prevents Na⁺,K⁺-ATPase activity inhibition after traumatic brain injury. **Brain Research**, 1279, 147–155. doi:10.1016/j.brainres.2009.04.052

Lima, F. D., Souza, M. A., Furian, A. F., Rambo, L. M., Ribeiro, L. R., Martignoni, F. V., ... de Mello, C. F. (2008). Na⁺,K⁺-ATPase activity impairment after experimental traumatic brain injury: Relationship to spatial learning deficits and oxidative stress. **Behavioural Brain Research**, 193(2), 306–310. doi:10.1016/j.bbr.2008.05.013

Mallikarjuna K., Shanmugam K.R., Nishanth K., Wu M.C., Hou C.W., Kuo C.H., Reddy K.S. (2010). Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats **Alcohol** 44 523-529. doi: 10.1016/j.alcohol.2010.07.004.

Messerli F.H, Williams B, Ritz E. (2007). Essential hypertension. **Lancet**. 370, 591–603. DOI: [10.1016/S0140-6736\(07\)61299-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61299-9).

Lee S, Farrar R.P. (2003). Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. **Journal of Exercise Physiology Online**, 6, 80-87.

Miranda K.M, Espay M.G, Wink D.A. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. **Nitric Oxide**. 5, 62 – 71. <https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319>

Miron, V. V., Bottari, N. B., Assmann, C. E., Stefanello, N., da Costa, P., Pelinson, L. P., ... Cardoso, A. M. (2018). Physical exercise prevents alterations in purinergic system and oxidative status in lipopolysaccharide-induced sepsis in rats. **Journal of Cellular Biochemistry**. doi:10.1002/jcb.27590

Paglia, D.E. & Valentine W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J Lab Clin Med**, 70(1): p. 158-69.

Pahlavani, N., Entezari, M. H., Nasiri, M., Miri, A., Rezaie, M., Bagheri-Bidakhavidi, M., & Sadeghi, O. (2017). The effect of l-arginine supplementation on body composition and performance in male athletes: a double-blinded randomized clinical trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, 71(4), 544–548. doi:10.1038/ejcn.2016.266

Paleari, L., Grozio, A., Cesario, A., & Russo, P. (2008). The cholinergic system and cancer. **Seminars in Cancer Biology**, 18(3), 211–217. doi:10.1016/j.semcan.2007.12.009

Powers S.K, Duarte J, Kavazis A.N., Talbert E.E. (2010). Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Exp Physiol**; 95: 1-9. doi: 10.1113/expphysiol.2009.050526

Schmatz R, Mann T.R, Spanevello R, Machado M.M, Zanini D, Pimentel

VC, ... Morsch V.M. Moderate red wine and grape juice consumption modulates the hydrolysis of the adenine nucleotides and decreases platelet aggregation in streptozotocin-induced diabetic rats. **Cellular Biochemistry and Biophysics**, v. 65, n. 2, p. 129-143, 2013. doi: 10.1007/s12013-012-9407-5.

Sherman T.S., Chen Z., Yuhanna I.S., Lau K.S., Margraf L.R., Shaul P.W. (1999). Nitric oxide synthase isoform expression in the developing lung epithelium. *Am. J. Physiol.* 276 (2), L383–L390. doi: 10.1152/ajplung.1999.276.2.L383.

Siew-Keah L, Sundaram A, Sirajudeen KN, Zakaria R, Singh H.J. (2014). Effect of melatonin supplementation and cross-fostering on renal glutathione system and development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. **J Physiol Biochem**, 70:73–79. doi: 10.1007/s13105-013-0282-3

Stavrinos E.L, Coxon J.P. (2017). High-intensity Interval Exercise Promotes Motor Cortex Disinhibition and Early Motor Skill Consolidation. **Journal of Cognitive Neuroscience**, 29(4):593-604. doi:10.1162/jocn_a_01078.

Suijo K, Inoue S, Ohya Y, Odagiri Y, Takamiya T, Ishibashi H, Itoh M, Fujieda Y, Shimomitsu T. (2013) Resistance Exercise Enhances Cognitive Function in Mouse. **Int J Sports Med**; 34: 368–375. doi: 10.1055/s-0032-1323747

Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris C, Papageorgiou N, Stefanadis C. (2012). The role of nitric oxide on endothelial function. *Current Vascular Pharmacology*, 10: 4. <https://doi.org/10.2174/157016112798829760>

Weinberg L, Hasni A, Shinohara M, Duarte A. (2014). A single bout of resistance exercise can enhance episodic memory performance. **Acta Psychol (Amst)**. 2014 November ; 153: 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.actpsy.2014.06.011>.

World Health Organization (WHO), 2013. Disponível em <http://www.who.int/topics/hypertension/en/>.

Wu KW, Kou ZW, Mo JL, Deng XX, Sun FY. (2016). Neurovascular coupling protects

neurons against hypoxic injury via inhibition of potassium currents by generation of nitric oxide in direct neuron and endothelium cocultures. **Neuroscience** 334, 275–282. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.08.012.

Figure Legends

Figure 1. Effect of four weeks of resistance exercise on the weight of L-NAME-induced hypertensive rats. Unpaired T-test from the last week of treatment (week 5). * shows statistical difference between Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl groups ($p < 0,05$). # shows statistical difference between Sed-L-NAME vs Ex-L-NAME groups ($p < 0,05$).

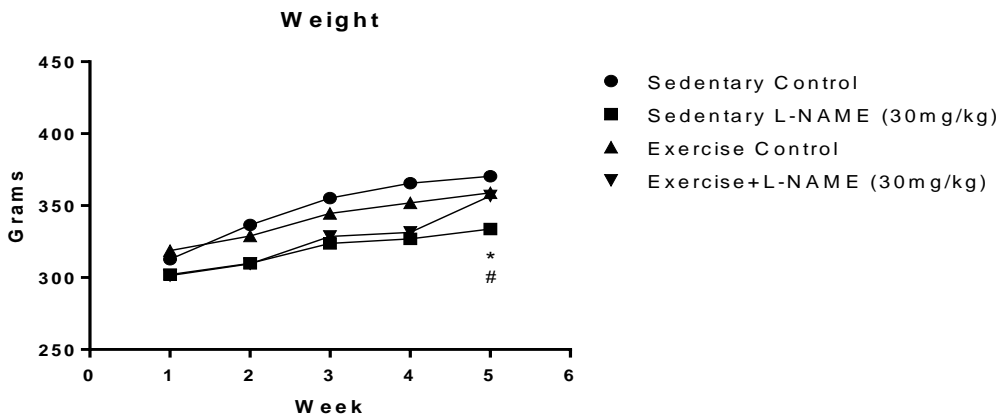


Figure 2. Effect of four weeks of resistance exercise on NOx content in the cerebral cortex of L-NAME-induced hypertensive rats. ANOVA (two-way) followed by Tukey's multiple comparison test. There was interaction between the factors [$F(1,23) = 6,386$ and $P = 0,0188$]. ** shows statistical difference between the Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl ($p < 0,01$) and # shows statistical difference for Ex-L-NAME vs Sed-L-NAME ($p < 0,05$).

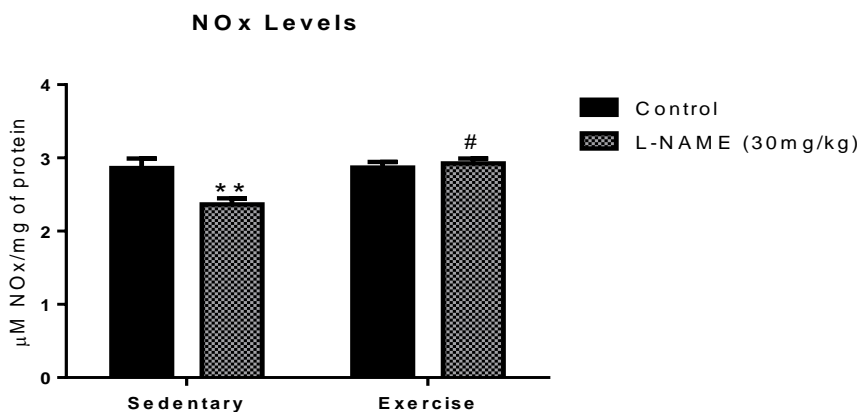


Figure 3: Effect of four weeks of resistance exercise on (A) total ROS content, (B) total thiols content, (C) production of MDA through TBARS, and (D) levels of carbonyl protein

in the cerebral cortex of L-NAME-induced hypertensive rats. ANOVA (two-way) followed by Tukey's multiple comparison test. There was interaction between the factors in (A), with $F(1,21) = 6,188$ and $P = 0,0213$. There was no interaction in the other analyzes. * shows statistical difference between the Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl ($p < 0,01$) and # shows statistical difference for Ex-L-NAME vs Sed-L-NAME ($p < 0,05$) in both graphs (A) and (B). There was no significant difference between groups in the other groups.

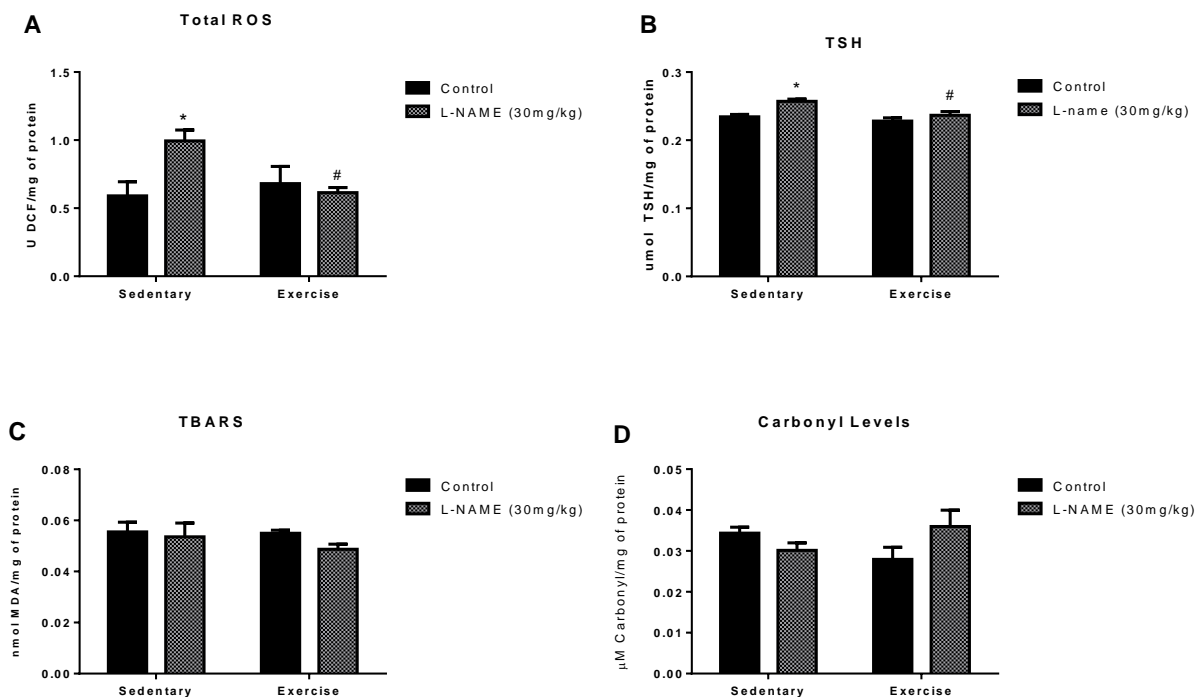


Figure 4. Effect of four weeks of resistance exercise on the enzymatic activity of (A) GPx, (B) GR and (C) GST in the cerebral cortex of L-NAME-induced hypertensive rats. ANOVA (two-way) followed by Tukey's multiple comparison test. Graph (A) showed interaction between the factors with $F(1,26) = 24,28$ and $P < 0,0001$ and there was a significant difference between the Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl ($p < 0,0001$) and Ex-L-NAME vs Sed-L-NAME ($p < 0,0001$). Graph (B) showed interaction between the factors [$F(1,22) = 5,182$ and $P = 0,0329$] and significant difference between the Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl ($p < 0,01$) groups. Graph (C) showed no interaction nor significant differences.

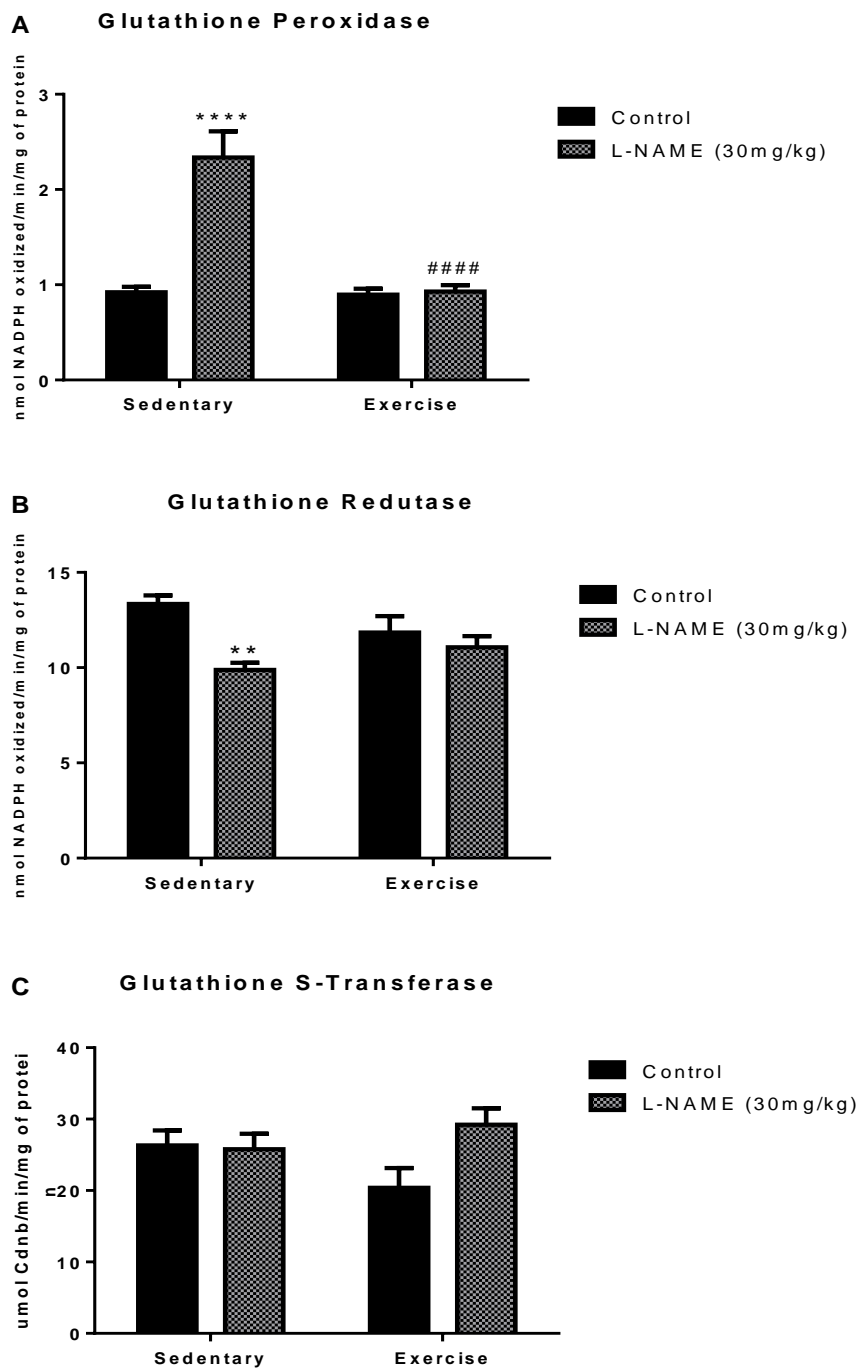
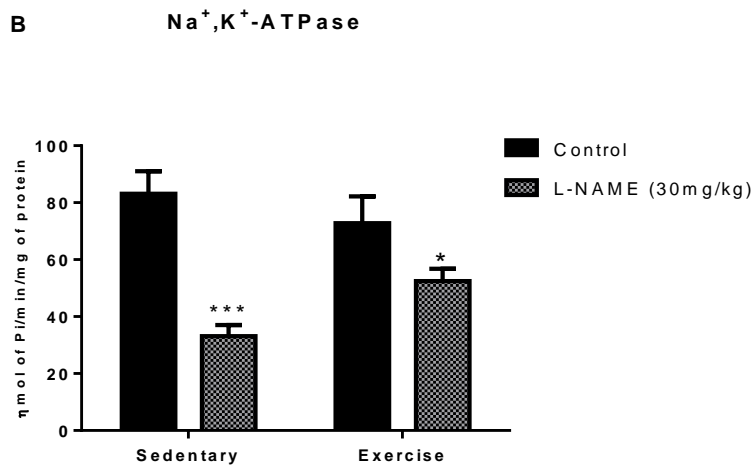
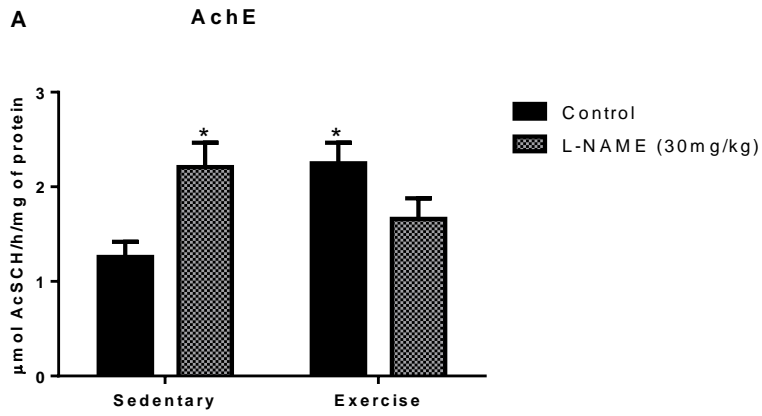


Figure 5: Effect of four weeks of resistance exercise on the enzymatic activity of (A) acetylcholinesterase and (B) Na⁺, K⁺ -ATPase in the cerebral cortex of L-NAME-induced hypertensive rats. ANOVA (two-way) followed by Tukey's multiple comparison test. Graph (A) showed interaction between factors ($F(1,19) = 11,22$ and $P = 0,0034$) and significant difference between Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl ($p < 0,05$) and Ex-Ctrl vs Sed-Ctrl vs groups ($p < 0,05$). Graph (B) showed interaction between

the factors [$F(1,21) = 4,932$ and $P = 0,0375$] and significant difference between Sed-L-NAME vs Sed-Ctrl ($p < 0,001$) and Ex-L-NAME vs Sed-Ctrl groups ($p < 0,05$).



5. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos nesse estudo, foi possível verificar alterações significativas nas atividades enzimáticas e parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral de ratos com hipertensão induzida por L-NAME. Pode-se sugerir que o modelo experimental, reduzindo a biodisponibilidade de óxido nítrico nos animais, causou efeitos negativos no cérebro através do aumento das espécies reativas e pela desregulação na atividade das enzimas avaliadas. Por sua vez, o exercício físico foi capaz de reverter a grande maioria das alterações significativas encontradas. Assim, quatro semanas de exercício físico resistido foram capazes de:

- Reestabelecer o ganho adequado de peso dos animais;
- Restaurar a biodisponibilidade de óxido nítrico;
- Reduzir os níveis de espécies reativas de oxigênio totais;
- Retomar os níveis normais de tióis totais;
- Retornar a atividade da enzima glutathione peroxidase a níveis normais.

Desse modo, deseja-se reforçar a importância de se considerar a prática regular de exercícios como um adjuvante no tratamento da hipertensão. Além disso, busca-se incentivar essa prática como um benefício em amplos aspectos para o bem-estar e melhor qualidade de vida das pessoas. Também, espera-se fomentar o acervo e a pesquisa sobre os diversos mecanismos pelo qual o exercício atua, além de outras alterações que a hipertensão possa causar em nosso corpo.

6. REFERÊNCIAS

ANTOSOVA M., TURCAN T., STRAPKOVA A., NOSALOVA G. 2005. Inhibition of guanylyl cyclase in the airways hyperreactivity. **Bratislava Medical Journal**. 106 (8–9), 243–247.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Disponível em: <https://www.heart.org/en/health-topics/high-blood-pressure/why-high-blood-pressure-is-a-silent-killer/know-your-risk-factors-for-high-blood-pressure>

BERNATOVA I, PECHANOVA O, BABAL P, KYSELA S, STVRTINA S, ANDRIANTSITOHAINA R. 2002. Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**; 282: 942–948.

BIRBEN Esra, Umit Murat Sahiner, Cansin Sackesen, Serpil Erzurum, Omer Kalayci. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**. 5:270.

BHATT, S.R.; LOKHANDWALA, M.F.; BANDAY, A.A. 2014. Vascular oxidative stress upregulates angiotensin II type I receptors via mechanisms involving nuclear factor kappa B. **Clinical Experimental Hypertension**, v.36, n.6, p. 367-73.

CARDOSO, A. M. et al. 2012 Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. **Cell Biochemistry and Function**. DOI: 10.1002/cbf.2868.

CASPERSEN CJ, Powell KF, Christenson GM. 1985. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Reports**; 100: 126-31.

CASTANEDA C, LAYNE JE, MUNOZ-ORIANOS L, GORDON PL, WALSMITH J, FOLDVARI M, et al. 2002. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. **Diabetes Care**. 25:2335-2341.

CHEN G, Rajkowska G, Du F, Seraji-Bozorgzad N, Manji HK. 2000. Enhancement of

hippocampal neurogenesis by lithium. **Journal of Neurochemistry** 75(4):1729-34.

CHATZINIKOLAOU, A., FATOUROS, I., PETRIDOU, A., JAMURTAS, A., AVLONITI, A., DOUROUDOS, I., ... MOUGIOS, V. 2008. Adipose Tissue Lipolysis Is Upregulated in Lean and Obese Men During Acute Resistance Exercise. **Diabetes Care**, 31(7), 1397-1399.

CLAUDINO M.A, Franco-Penteado CF, Priviero FB, et al. 2010. Upregulation of gp91phox subunit of NAD(P)H oxidase contributes to erectile dysfunction caused by long-term nitric oxide inhibition in rats: reversion by regular physical training. **Urology**. 75(4): 961–967.

CORNELISSEN, V.A.; SMART, N. A. 2013. Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Heart Association**, v.2, n.1, p.1-9.

CORNELISSEN VA, Fagard RH, Coeckelberghs E et al. 2011. Impact of resistance training on blood pressure and other cardiovascular risk factors a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Hypertension**. 58(5):950–958

CRUZAT VF, ROGERO MM, BORGES MC, TIRAPEGUI J. 2007. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13 n. 5, p. 336-342.

DALLE-DONNE, I. et al. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical Chemistry**, v. 52, n.4, p.601-23.

GOMES, E.C.; SILVA, A.N.; De OLIVEIRA, M.R. 2012. Oxidants, antioxidants and the beneficial roles of exercise induced production of reactive species. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.756, p.1-12.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. **Oxford University Press**: Oxford.

HALLSWORTH K, FATTAKHOVA G, HOLLINGSWORTH KG, THOMA C, MOORE S, TAYLOR R, et al. 2011. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. **Gut**. ;60:1278-1283.

HENDRE A.S, A.K Shariff, S.R Patil, P.P Durgawale, A.V Sontakke, A.N Suryakar. 2013. Evaluation of oxidative stress and anti-oxidant status in essential hypertension. **Journal of Indian Medical Association**, v. 111, pp. 377-381.

HUIE R.E. & S. Padmaja, 1993. Reaction of ·NO with O₂⁻, **Free Radical Research Communications**., vol.18, p.195-199.

HUSAIN, K. et al, 2015. Inflammation, oxidative stress and rennin angiotensin system in atherosclerosis. **World Journal of Biological Chemistry**, v.6, n.3, p. 209-17, 2015.

IBGE, 2015 disponível em <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv100364.pdf>

ISHIOKAA M., ISHIZUKA Y., SHINTANI S., YANAGISAWAC T., INOUE T., SASAKI J., WATANABE H. Expression profiles of NOS isoforms in gingiva of nNOS knockout mice. **Tissue and Cell** 46 122–126, 2014.

JENSEN, F.B. The role of nitrite in nitric oxide homeostasis: A comparative perspective. **Biochimica et Biophysica Acta**,v.1787, n.7, p.841-848, 2009.

KANEKO N, Okano H, Sawamoto K. Role of the cholinergic system in regulating survival of newborn neurons in the adult mouse dentate gyrus and olfactory bulb. **Genes Cells** 11(10):1145-59, 2006.

KEARNEY PM, WHELTON M, REYNOLDS K, MUNTNER P, WHELTON PK, HE J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**. 365, 217-23, 2005.

KIM-SHAPIRO, D.B. SCHECHTER, A.N. GLADWIN, M.T. Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin in physiology and therapeutics. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.26, n.4, p.697-705, 2006.

LANDMESSER, U. et al: Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. **Circulation**, v.106, n.24, p. 3073-8, 2002.

LARSEN, Monica Korsager, Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. **Medicina** v.52. 19–27. 2016.

LEE MK, Jung CS, Yoon JH, Lee N. Effects of resistance exercise on antioxidant enzyme activities and apoptosis-related protein expression of hippocampus in OLETF rats. **Technological Health Care**. 2018;26(3):457-467. doi: 10.3233/THC-181183.

LEMES IR, FERREIRA PH, LINARES SN, MACHADO AF, PASTRE CM, NETTO JJ. 2016. Resistance training reduces systolic blood pressure in metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **British Journal of Sports Medicine**. 50(23):1438-1442. doi: 10.1136/bjsports-2015-094715

LEWINGTON S, Clarke R, Qizilbashi N et al. 2002. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. **Lancet**. 360(9349):1903–1913

LIMA, F.D. et. al. 2008. Na⁺,K⁺-ATPase activity impairment after experimental traumatic brain injury: Relationship to spatial learning deficits and oxidative stress. **Behavioural Brain Research** 193, 306–310.

LIMA A, RITTI-DIAS R, FORJAZ CL, CORREIA M, MIRANDA A, BRASILEIRO-SANTOS M, SANTOS A, SOBRAL FILHO D, SILVA A. 2015. A session of resistance exercise increases vasodilation in intermittent claudication patients. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**. Jan;40(1):59-64. doi: 10.1139/apnm-2014-0342.

MARCHESE, C.; PARADIS. P.; SCHIFFRIN, E.L. 2008. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.29, n.7, p. 367–74.

MCGOWAN C.L., A. Visocchi, M. Faulkner, R.Verduyn, M. Rakobowchuk, A.S. Levy, et al. 2007. Isometric handgrip training improves local flow-mediated dilation in medicated hypertensives. **European Journal of Applied Physiology**, v.99, pp. 227-234.

METHA, R.H.et al. 2001. Acute myocardial infarction in the elderly: differences by age. **Journal of American College and Cardiology**, v.38, n.33, p.736-41.

MESSERLI FH, WILLIAMS B, RITZ E. Essential hypertension. **Lancet**. 370: 591–603, 2007.

MONTEZANO A.C, M. Dulak-Lis, S. Tsiropoulou, A.Harvey, A.M. Briones, R.M. Touyz. 2015. Oxidative stress human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. **Canadian Journal of Cardiology**, v.31, pp. 631-641.

OMS - WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), disponível em: <https://www.who.int/>

PADILHA, C. S., Borges, F. H., Costa Mendes da Silva, L. E., Frajacomo, F. T. T., Jordao, A. A., Duarte, J. A., ... Deminice, R. 2017. Resistance exercise attenuates skeletal muscle oxidative stress, systemic pro-inflammatory state, and cachexia in Walker-256 tumor-bearing rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, 42(9), 916–923. doi:10.1139/apnm-2016-0436

PALEARI L, Grozio A, Cesario A, Russo P. 2008. The cholinergic system and cancer. **Seminars in Cancer Biology** 18(3):211-7.

PARAVICINI, T.M.; TOUYZ, R.M. 2008. NADPH oxidases, reactive oxygen species and hypertension: Clinical implications and therapeutic possibilities. **Diabetes Care**, v.31, suppl 2, p. 170–180.

PATE RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, et al. 1995.

Physical activity and public health - a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. **Journal of the American Medical Association**; 273:402-7.

PETERS P. G., H.M. Alessio, A.E. Hagerman, T.Ashton, S. Nagy, R.L. Wiley. 2006. Short-term isometric exercise reduces systolic blood pressure in hypertensive adults: possible role of reactive oxygen species. **International Journal of Cardiology**, v.110, pp. 199-205.

POWERS SK, Duarte J, Kavazis AN, Talbert EE. 2010. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Experimental Physiology**. 95: 1-9.

QUEIROZ AC, REZK CC, TEIXEIRA L, TINUCCI T, MION D, FORJAZ CL. 2013. Gender influence on post-resistance exercise hypotension and hemodynamics. **International Journal of Sports Medicine**, 34: 939–944.

QUEIROZ AC, et. al. 2015. Post-resistance exercise hemodynamic and autonomic responses: Comparison between normotensive and hypertensive men **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**. 25: 486–494.

RADAK, Z.; CHUNG, H.Y.; GOTO, S. 2005. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. **Biogerontology**, v.6, n.1, p.71–75.

SCHULZ, E. et al. 2008. Nitric oxid, tetrahydrobiopterin, oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. **Antioxidant & Redox Signaling**, v.10, n.6, p. 1115-26.

SHEPHARD RJ, Balady G. 1999. Exercise as cardiovascular therapy. **Circulation**; v.99: 963-72.

SIMÃO R, Fleck SJ, Polito M et al (2005) Effects of resistance training intensity, volume, and session format on the postexercise hypotensive response. **Journal of Strength & Condition Research** 19(4):853–858

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. 2010. **VI Brazilian guidelines on hypertension**, v.95, suppl.1, p. 1-51.

SU, J.B. 2015. Vascular endothelial dysfunction and pharmacological treatment. **World Journal of Cardiology**, v.7, n.11, p. 719-41.

TOUSOULIS D, KAMPOLI AM, TENTOLOURIS C, PAPAGEORGIU N, STEFANADIS C. 2012. The role of nitric oxide on endothelial function. **Current Vascular Pharmacology**, 10: 4. <https://doi.org/10.2174/157016112798829760>

TSUTSUI. H; KINUGAWA.S.; MATSUSHIMA.S. 2011. Oxidative stress and heart failure. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v.301, n.6, p. 2181-90.

UMPIERRE D, Stein R. 2007. Hemodynamic and vascular effects of resistance training: implications for cardiovascular disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 89(4):256–262

VALKO, M. et al. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84.

Wang P, Li CG, Qi Z, Cui D, Ding S. 2016. Acute exercise stress promotes Ref1/Nrf2 signalling and increases mitochondrial antioxidant activity in skeletal muscle. **Experimental Physiology**. Mar; 101(3):410-20. doi: 10.1113/EP085493.

ANEXO A

Certificado de Aprovação Certificado de Aprovação do Projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais pela Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM)



Comissão de Ética no Uso de Animais

da
Universidade Federal de Santa Maria

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito de um protocolo de exercício resistido sobre o estresse oxidativo cerebral e memória de ratos hipertensos induzidos por L-NAME", protocolada sob o CEUA nº 7356221117, sob a responsabilidade de **Vera Maria Melchior Morsch e equipe; Thauan Faccin Lopes; Pauline da Costa; Thalison Faccin Lopes; Vanessa Valéria Miron** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 08/03/2018.

We certify that the proposal "Effect of a resistance exercise protocol on the cerebral oxidative stress and memory of L-NAM-induced hypertensive rats", utilizing 60 Heterogenics rats (60 males), protocol number CEUA 7356221117, under the responsibility of **Vera Maria Melchior Morsch and team; Thauan Faccin Lopes; Pauline da Costa; Thalison Faccin Lopes; Vanessa Valéria Miron** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 03/08/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **11/2017** a **11/2019**

Área: **Bioquímica E Biologia Molecular**

Origem: **Biotério Central UFSM**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **60 a 70 dias**

N: **60**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **200 a 250 g**

Resumo: A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença que afeta bilhões de pessoas ao redor do mundo, sendo caracterizada pela elevação da pressão arterial, de modo a se tornar fator de risco para inúmeras doenças cardiovasculares, podendo chegar, inclusive, a afetar o cérebro através da má distribuição de sangue. A HAS está diretamente ligada a uma menor produção de óxido nítrico, aumentando o dano através de espécies reativas de nitrogênio, oxigênio e estresse oxidativo nos tecidos alvo. Nesse sentido se faz importante também a avaliação da enzima acetilcolinesterase para verificar se os danos causados pela HAS podem estar afetando a neuromodulação e a memória. Já o treinamento resistido tem aparecido cada vez mais como uma alternativa auxiliar no tratamento da HAS por apresentar efeitos anti-hipertensivos, antioxidantes e neuroprotetores. Desse modo, o objetivo desse trabalho será avaliar o efeito de 4 semanas de exercício resistido em biomarcadores de estresse oxidativo, enzimas antioxidantes, bem como na atividade da enzima acetilcolinesterase e na memória de ratos hipertensos induzidos por L-NAME. Para isso serão utilizados 60 ratos machos divididos em 4 grupos: Controle (n=15), Treinados (n=15), HAS (n=15) e HAS Treinados (n=15). Todas as técnicas serão realizadas em córtex cerebral e hipocampo. Espera-se com isso entender melhor os danos causados pela HAS no sistema nervoso central bem como os efeitos do exercício físico no mesmo.

Local do experimento: Os animais serão mantidos no biotério setorial da farmacologia, prédio 21, em um ambiente com temperatura controlada ($23^{\circ}\text{C} \pm 1$) e com um ciclo de 12 horas claro/escuro, o ambiente possui 2 exaustores de ar para uma completa renovação do ar interno do biotério. A ração que os animais recebem tem balanceamento de nutrientes essenciais, proteínas, carboidratos e lipídeos, componentes básicos e iguais aos utilizados no biotério central, sendo a água e a ração sólida fornecidas ad libitum. Antes do início do experimento, os animais passarão por um período de adaptação de 10 dias e o fundo das caixas receberão maravalha, que após o uso, será descartada como contaminante. Além disso, os animais serão distribuídos em 5 ratos por caixa durante todo o período do tratamento, e todas as caixas receberão objetos (rolos de papel e/ou PVC) para enriquecimento ambiental.

Santa Maria, 12 de março de 2018



Comissão de Ética no Uso de Animais

da *Universidade Federal de Santa Maria*

Prof. Dr. Denis Broock Roseberg
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria