

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**KEFIR DE ÁGUA REDUZ A PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS SHR  
INDEPENDENTE DE EXERCÍCIO FÍSICO**

**JHONNY ROBERT ROCHA COSTA**

**VILA VELHA**  
**JUNHO/ 2019**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**KEFIR DE ÁGUA REDUZ A PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS SHR  
INDEPENDENTE DE EXERCÍCIO FÍSICO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**JHONNY ROBERT ROCHA COSTA**

**VILA VELHA**  
**JUNHO/ 2019**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

C837k

Costa, Jhonny Robert Rocha.

Kefir de água reduz a pressão arterial em ratos SHR independente de exercício físico / Jhonny Robert Rocha Costa - 2019.

36 f. : il.

Orientador: Tadeu Uggere de Andrade.

Coorientadora: Ewelyne Miranda de Lima.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Vila Velha, 2019.

Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Kefir. 3. Exercício Físico.  
I. Andrade, Tadeu Uggere de. II. Lima, Ewelyne Miranda de.  
III. Universidade Vila Velha. IV. Título

CDD 615

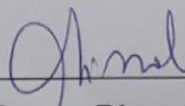
**JHONNY ROBERT ROCHA COSTA**

**KEFIR DE ÁGUA REDUZ A PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS SHR,  
INDEPENDENTE DE EXERCÍCIO FÍSICO**

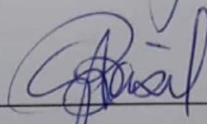
Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado (a) em 26 de junho de 2019,

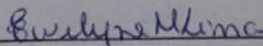
Banca Examinadora:



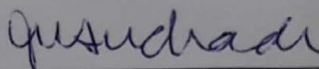
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dra. Nazaré Souza Bissoli – (UFES)**



\_\_\_\_\_  
**Prof. Dra. Girlandia Alexandre Brasil – (UVV)**



\_\_\_\_\_  
**Prof. Dra. Ewelyne Miranda de Lima – (UVV)**



\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade – (UVV)**

**Orientador**

Dedicatória: Dedico o meu trabalho ao Pai,  
Filho e o Espírito Santo.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter aberto essa grande porta que foi o mestrado, por ter me dado força e por ter zelado por mim em todos os momentos de alegrias e tristezas que passei.

Agradeço a minha família, namorada e amigos que me apoiaram e me entenderam nos momentos de tanta dificuldade e não me deixaram desistir.

Agradeço ao professor Dr. Tadeu, a minha coorientadora professora Dr<sup>a</sup> Ewelyne, a professora Dr<sup>a</sup> Girlandia os doutorandos Karla, Manuela, Raiana, Flavia e Leonardo. Os mestrandos Dionísio, Cristiane e Ávila. Os alunos de iniciação científica Elis, Camila, Atyla, Lauro, Silvio, Ana, Fabricio, Rahylton, Taina, Marcela que me ajudaram nos tratamentos e experimentos.

Agradeço a professora Dr<sup>a</sup> Nazaré que disponibilizou o seu laboratório e equipamentos na UFES que me permitiram realizar a minha pesquisa.

Agradeço ao doutorando Silas que por amor a pesquisa se disponibilizou e esteve presente em todas as eutanásias e avaliações de barorreflexo.

Agradeço aos funcionários da UVV que bondosamente me ajudaram.

Agradeço a CAPES que me ofertou uma bolsa de estudos e me permitiu ter contato com pessoas inteligentes, estudiosas, humanas, amorosas e cheias de esperança.

# SUMÁRIO

RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	08
1. INTRODUÇÃO.....	09
2. OBJETIVOS.....	12
<b>2.1 OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>12</b>
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	13
<b>3.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 PREPARO E ADMINISTRAÇÃO DO KEFIR.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3 DESENHO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>13</b>
<b>3.4 EXERCÍCIO FÍSICO.....</b>	<b>14</b>
<b>3.5 AVALIAÇÃO DE PESO CORPORAL.....</b>	<b>14</b>
<b>3.6 AVALIAÇÃO DA HEMODINÂMICA BASAL E DA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO.....</b>	<b>14</b>
<b>3.7 HIPERTROFIA CARDÍACA.....</b>	<b>15</b>
<b>3.8 ÁREA DE COLÁGENO.....</b>	<b>15</b>
<b>3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>	<b>15</b>
4. RESULTADOS .....	16
<b>4.1 EFEITOS DO TRATAMENTO NA SENSIBILIDADE DO BARRORREFLEXO, PRESSÃO ARTERIAL E FC.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2 HIPERTROFIA CARDÍACA.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3 REMODELAMENTO CARDÍACO.....</b>	<b>18</b>
<b>4.4 GORDURA CORPORAL.....</b>	<b>19</b>
<b>4.5 PESO CORPORAL.....</b>	<b>21</b>
<b>4.6 TEMPO DE TREINO.....</b>	<b>22</b>
5. DISCUSSÃO .....	23
6. CONCLUSÃO .....	28
7. REFERÊNCIAS .....	29

## RESUMO

Jhonny Robert Rocha Costa, M. Sc., Universidade Vila Velha – ES, junho de 2019. **Kefir de água reduz a pressão arterial em ratos SHR independente de exercício físico.** Orientador: Tadeu Uggere de Andrade. Coorientadora: Ewelyne Miranda de Lima

A hipertensão arterial sistêmica (HAS), é um grave problema de saúde pública devido à alta prevalência mundial, dificuldade no controle e complicações graves, elevando a morbi-mortalidade da população. **OBJETIVO:** o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tratamento crônico do kefir de água e a associação com o exercício físico moderado sobre parâmetros cardiovasculares em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). **MATERIAIS E METODOS:** Ratos Wistar (WKYs) machos normotensos e ratos espontaneamente hipertensos (SHRs) com oito semanas foram divididos em 5 grupos e tratados diariamente com kefir de água (dose 0,3 mL/100g de peso corporal) ou seu veículo por oito semanas. Os animais que praticaram exercício fizeram natação por 60 minutos, diariamente, com a carga de 2% do peso corporal. Ao fim, foi realizada análise da sensibilidade do barorreflexo, pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), e em seguida análise da área de colágeno em tecido cardíaco, além da hipertrofia cardíaca. Os depósitos de gordura inguinal e epididimal foram avaliados assim como o tempo de treino dos animais. Os resultados foram expressos como média, mais ou menos o erro padrão da média, submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA). A significância da diferença foi determinada por teste *post-hoc* pelo método de Tukey com significância aceita quando  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** Os dados mostram que o uso de kefir de água, o exercício físico, e a associação de ambos podem reduzir os níveis de pressóricos (WKY  $111,6 \pm 1,347$  mmHg, SHR  $181,2 \pm 2,278$  mmHg, SHRE  $158,2 \pm 2,634$  mmHg, SHRK  $165,0 \pm 3,266$  mmHg, SHREK  $157,1 \pm 2,694$  mmHg) e aumentar a sensibilidade ao barorreflexo de animais espontaneamente hipertensos (Nitropussiato de Sódio: WKY  $4,939 \pm 0,3058$  bpm/mmHg, SHR  $2,427 \pm 0,2371$  bpm/mmHg, SHRE  $3,877 \pm 0,3060$  bpm/mmHg, SHRK  $3,825 \pm 0,1459$  bpm/mmHg, SHREK  $3,558 \pm 0,2570$  bpm/mmHg; fenilefrina: WKY  $-5,622 \pm 0,2460$  bpm/mmHg, SHR  $-3,600 \pm 0,2377$  bpm/mmHg, SHRE  $-3,680 \pm 0,1488$  bpm/mmHg, SHRK  $-4,917 \pm 0,1505$  bpm/mmHg, SHREK  $-4,577 \pm 0,3242$  bpm/mmHg). Os animais hipertensos que foram tratados com kefir, kefir associado ao exercício, e também só com o exercício apresentaram redução da massa muscular cardíaca (WKY  $0.2667 \pm 0.009$  g/kg, SHR  $0.3324 \pm 0.005$  g/kg, SHRE  $0.3041 \pm 0.005$  g/kg, SHRK  $0.2941 \pm 0.008$  g/kg, SHREK  $0.2924 \pm 0.009$  g/kg) e na deposição de colágeno (WKY  $3.851 \pm 0.8265\%$ , SHR  $7.391 \pm 0.7728\%$ , SHRE  $5.924 \pm 0.3288\%$ , SHRK  $5.266 \pm 0.2501\%$ , SHREK  $4.705 \pm 0.6932\%$ ). Os animais que praticaram exercício com o uso associado do kefir resisitiram por mais tempo o exercício físico (SHRE  $41.25 \pm 1.33$  min, SHREK  $45.95 \pm 0.90$  min). **CONCLUSÃO:** Conclui-se com o presente estudo que o kefir de água reduz a pressão arterial em ratos SHR, independente de exercício físico, além de melhorar a sensibilidade do barorreflexo e redução da hipertrofia e remodelamento cardíaco.

**Palavras chaves:** Kefir • Barorreflexo • Hipertensão • Exercício Físico



## ABSTRACT

Jhonny Robert coast, M. Sc., University Vila Velha - ES, June 2019. Water kefir reduces blood pressure in SHR rats regardless of physical exercise. Advisor: Tadeu Uggere de Andrade. Coordinator: Ewelyne Miranda de Lima.

Systemic arterial hypertension (SAH) is a serious arterial health problem due to high world pressure, difficulty in control and burial, raising the morbidity and mortality of the population. **PURPOSE:** the present study evaluated the effect of chronic water treatment and the association of moderate physical exercise on cardiovascular parameters in some hypertensive individuals (SHR). **MATERIALS AND METHODS:** Normotensive male Wistar rats (WKYs) and the so-called hypertensive compensators (SHRs) with daily water kefir injections (0.3mL / 100g body weight) or their week for eight weeks. In addition, the animals that did swim did 60 minutes daily with a load of 2% of body weight. Baroreflex analysis, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were performed. The analysis of the collagen area in cardiac tissue was performed, besides the analysis of cardiac hypertrophy. The results were expressed as mean, more or less standard of the mean, submitted to analysis of one-way variance (ANOVA). The difference measurement was determined by Tukey's method with post-hoc significance with  $p < 0.05$ . **RESULTS:** Data show physical exercise, water kefir use and comparison groups with pressure levels (WKY  $111.6 \pm 1.347$  mmHg, SHR  $181.2 \pm 2.288$  mmHg, SHRE  $158.2 \pm 2.634$  mmHg, SHRK  $165.0 \pm 3.266$  mmHg, SHREK  $157.1 \pm 2.694$  mmHg) and increase the baroreflex sensitivity of hypertensive and hypertensive individuals (SNR  $2,427 \pm 0,2371$  bpm / mmHg, SHRE  $3,877 \pm 0,3060$  bpm / mmHg, SHRK  $3.825 \pm 0.1459$  bpm / mmHg, SHREK  $3,558 \pm 0,2570$  bpm / mmHg, phenylephrine: WKY  $-5,622 \pm 0,2460$  bpm / mmHg, SHR  $-3,600 \pm 0, 2377$  bpm / mmHg, SHRE  $-3,680 \pm 0,1488$  bpm / mmHg, SHRK  $-4.917 \pm 0.1505$  bpm / mmHg, SHREK  $-4.577 \pm 0.3242$  bpm / mmHg). Muscle performance was significantly associated with reduced muscle mass in hypertensive animals that were successfully treated with exercise, with an effect similar to exercise (WKY  $0.2667 \pm 0.009$  g / kg, SHR  $0.3324 \pm 0.005$  g / kg, SHRE  $0.3041 \pm 0.005$  g / kg, SHRK  $0.2941 \pm 0.008$  g / kg, SHREK  $0.2924 \pm 0.009$  g / kg). The kefir group and the conditioning group associated with the use of kefir reduced collagen deposition (WKY  $3,851 \pm 0.8265\%$ , SHR  $7.391 \pm 0.7728\%$ , SHRE  $5.924 \pm 0.3288\%$ , SHRK  $5,266 \pm 0.2501\%$ , SHREK  $4,705 \pm 0.6932\%$ ). It presented a reduction of the epididymal fat that was not treated with the physical use (WKY  $1.1250 \pm 0.067$  g / cm, SHR  $0.7378 \pm 0.033$  g / cm, SHRE  $0.4437 \pm 0.021$ g / cm, SHRK  $0.6844 \pm 0.034$  g / cm, SHREK  $0, 3064 \pm 0.022$  g / cm). The animals that developed the use exercise associated with kefir had more physical exercise time (SHRE  $41.25 \pm 1.33$  min, SHREK  $45.95 \pm 0.90$  min). **CONCLUSION:** Based on the data, the physical exercise measurement is able to reduce blood pressure and increase cardiological capacity, with the effect of attenuating heart pressure and cardiac hypertrophy.

Keywords: Kefir • Baroreflex • Hypertension • Physical Exercise

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são conceituadas, segundo a Organização Mundial de saúde (2017), como desordens no coração e nos vasos sanguíneos que incluem: doença coronariana, doença cerebrovascular, hipertensão, doença vascular periférica, insuficiência cardíaca entre outras. Essas doenças são consideradas as principais causas de morbidade e mortalidade de indivíduos em todo mundo e com grande impacto sobre a saúde pública (OMS, 2017). Dentre essas, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) que se caracteriza pelo registro da pressão arterial (PA), igual ou maior que 140 por 90 mmHg, é responsável por 40% dos infartos, 80% dos derrames e 25% dos casos de insuficiência renal terminal (SBH, 2017).

O desenvolvimento da hipertensão se dá a efeitos multifatoriais que envolvem o sedentarismo, má alimentação, efeitos ambientais, bebidas alcoólicas, excesso de peso, genética, tabagismo, estresse etc. (SBH, 2017). Tais fatores relacionados aumentam o estresse oxidativo (Korsager et al., 2016), a inflamação (Rodríguez-Iturbe et al., 2004), a hiperatividade do sistema nervoso simpático (Klippel et al., 2016) e os distúrbios do sistema renina-angiotensina (SRA) (Manrique et al., 2009).

Esses fatores interferem com outros mecanismos, dentre eles o barorreflexo, um dos mecanismos neurais de controle da PA desencadeados por ativação de barorreceptores de estiramentos sensíveis a variação brusca de pressão, que estão localizados em pontos específicos nas paredes do arco aórtico e do seio carotídeo (Mancia et al, 1986). Quando o barorreflexo está com a sua sensibilidade normal e a pressão arterial aumenta, a ativação dos barorreceptores que enviam sinais por meio dos nervos Vago e Glossofaríngeo ao núcleo do trato solitário no bulbo, que responde com sinais secundários e inibem ao núcleo vasoconstritor bulbar e excitam o centro parassimpático vagal reduzindo a pressão arterial aos níveis normais (Mancia et al, 1986). Porém quando o barorreflexo está com a sua sensibilidade reduzida são projetados neurotransmissores simpatoexcitatórios na área ventrolateral rostral do bulbo ocasionando a vasocronstrição das artérias, resultando um aumento da pressão arterial sem controle (Shan et al, 2013).

O controle da pressão arterial pode ser realizado de duas maneiras: farmacológico ou não-farmacológico. Dentre o último tipo, pode-se citar o exercício físico, que pode atuar como anti-hipertensivo por meio dos seus efeitos fisiológicos que ocorrem no processo de adaptação, em meio a estes efeitos se destaca a estímulo da biogênese

mitocondrial e a melhoria da capacidade oxidativa mitocondrial em músculos esqueléticos e outros órgãos, aumentando a expressão de enzimas antioxidantes como SOD-2 e Glutathione Peroxidase (GPX) (Thirupathi et al, 2019). Shimojo et al. (2018), demonstraram uma melhora na sensibilidade do barorreflexo, juntamente com uma redução significativa da atividade simpática e pressão arterial em ratos que praticaram exercício físico.

Adicionalmente, pesquisas recentes têm-se observado outras formas não-farmacológicas para a prevenção e o tratamento de doenças cardiovasculares como a utilização de probióticos (Santanna et al, 2017; Silva-Cutini et al, 2019). O uso do probiótico kefir tem sido bastante pesquisado pelos seus possíveis benefícios a saúde, tais como: anti-inflamatório (Yasar et al, 2013), antioxidante (Zhang et al, 2017), antiaterogênica (Santanna et al, 2017), anti-hipertensiva (Klippel et al, 2016), antimicrobiana (Rhameh et al, 2019), cicatrizantes (Moreira et al, 2008), gastrointestinais (Hsu et al 2018). Esse probiótico é composto por uma simbiose entre bactérias e leveduras, que produzem substâncias funcionais (microorganismos vivos) podendo ser produzido e consumido em casa, por um processo de fermentação anaeróbica de uma mistura de leite, água, frutas (secas), açúcar, inoculados com seus grãos (Verce et al., 2019). O Kefir pode ser cultivado de duas formas distintas, dependendo da composição dos grãos, sendo cultivado em água com sua diversidade microbiológica que consiste de bactérias lácticas (LAB), principalmente *Lactobacillus*, como *Lactobacillus casei / paracasei*, *Lactobacillus hilgardii*, e *Lactobacillus nagelii*, e leveduras, freqüentemente *Saccharomyces cerevisiae* (Verce et al., 2019). Uma diferença marcante nos grãos de kefir é que os cultivados no leite contem *kefiranofaciens de Lactobacillus*, que é responsável pela biossíntese do kefiran, um heteropolissacarídeo, já o principal componente dos grãos de kefir de água é o dextran, um homopolissacarídeo que é produzido por *L. hilgardii* (Verce et al., 2019).

Estudo recentes vem demonstrando os efeitos do kefir de leite (Santanna et al, 2017; Friques et al, 2015 e Klippel et al, 2016). Klippel et al. (2016) observaram que a administração de kefir de leite por 60 dias em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) causaram redução da PA sistólica, diastólica e média. Além disso, diminuiu o comprometimento do controle autonômico cardíaco da frequência cardíaca (FC) e da sensibilidade do barorreflexo prejudicada no SHR, melhorando o controle da pressão arterial. Friques et al.(2015) em seus estudos utilizaram o kefir de leite em ratos SHR

durante 7, 15, 30 e 60 dias, chegando à conclusão de que esse probiótico é capaz de atenuar a disfunção endotelial em vasos sanguíneos (artéria e veias).

Apesar das evidências dos potentes efeitos cardiovasculares do kefir de leite, pouco se sabe sobre o kefir cultivado em água. Alsayadi et al, (2013) concluíram que o kefir da água pode ser uma fonte promissora de antioxidantes naturais com efeitos benéficos para a saúde, podendo auxiliar no tratamento anti-hipertensivo. Portanto, visto que o estresse oxidativo tem participação na hipertensão e que o kefir de água possui efeito antioxidante, assim como a atividade física, a hipótese do presente estudo é que a associação do uso do kefir de água com o exercício físico pode aumentar os efeitos benéficos de ambos sobre a pressão arterial e na melhora da sensibilidade do barorreflexo em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

## **2.OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do tratamento crônico com Kefir de água associado ou não ao exercício físico sobre a pressão arterial e o controle do barorreflexo em animais SHR.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Avaliar o efeito do tratamento crônico do kefir de água sobre os seguintes parâmetros:

- Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC);
- Sensibilidade do Barorreflexo;
- Hipertrofia cardíaca
- Tempo de Exercício físico

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Materiais e métodos**

Este estudo foi realizado respeitando os princípios éticos na experimentação animal de acordo com CONCEA (BRASIL, 2014), submetido e aprovado (nº 443 2017) pela Comissão de Ética, Bioética e Bem-Estar Animal da Universidade Vila Velha (CEUA-UVV).

### **3.2 Preparo e administração do kefir**

A bebida foi preparada a partir da fermentação de 17,64% dos grãos de kefir cultivados em 85 ml de água filtrada contendo 7% de açúcar mascavo (Jascolka, 2013). Essa mistura foi armazenada em recipiente de vidro, coberto com um tecido que permita a liberação dos gases oriundos da fermentação e permaneceu em repouso por 24h em temperatura ambiente. Após esse período, a mistura passou por uma filtração feita em uma peneira de material plástico e a solução filtrada foi recolhida em recipiente de vidro e levada ao refrigerador (temperatura entre 2 a 8°C) e mantida por mais 24h. Os grãos de kefir foram transferidos para recipiente de vidro e todo procedimento se repetiu a cada 24h diariamente.

### **3.3 Desenho experimental**

Ratos Wistar (WKY) machos normotensos e ratos espontaneamente hipertensos (SHRs) com oito semanas de idade foram obtidos no Laboratório de experimento animal da Universidade Vila Velha (UVV), Brasil. Os animais foram separados em cinco grupos (n=5) de acordo com os tratamentos: WKY: animais Wistar que receberam o veículo e não realizaram exercício físico, SHR: animais espontaneamente hipertensos que receberam o veículo e não realizaram exercício físico; SHRE: animais SHR que receberam o veículo e que praticaram exercício físico; SHRK: receberam o kefir de água e não realizaram exercício físico; SHREK: receberam o kefir de água e realizaram exercício físico.

Os tratamentos consistiram na administração diária de kefir de água na dose de 0.3 mL/100g de peso corporal por dia (Friques et al., 2015) ou do seu veículo (água deionizada) via gavagem por oito semanas.

### **3.4 Exercício físico**

Inicialmente, os animais foram aclimatados ao meio líquido por uma semana. A adaptação consistiu na manutenção dos animais em meio líquido ( $31\pm 1^\circ\text{C}$ ) por cerca de uma hora diariamente (Goes et al., 2014). Após o período de aclimatação, o protocolo de exercício foi iniciado, para tanto os animais foram acondicionados em um caixa d'água de 1000 litros da marca Fortlev, preenchido de água aquecida ( $31\pm 1^\circ\text{C}$ ). O animal se exercitava por uma atividade aeróbia de resistência com a duração de 60 minutos, diariamente, com peso acoplado a cauda com cerca de 2% do peso corporal (Goes et al., 2014).

### **3.5 Avaliação do peso corporal**

Os animais tiveram o peso corporal aferido todos os dias para a correção do volume administrado e/ou do peso a ser acoplado na cauda para o exercício. A diferença entre o peso final e o inicial foi utilizada para avaliar o o ganho de peso dos animais (Patel e Ebenezer, 2010).

### **3.6 Avaliação da hemodinâmica basal e da sensibilidade do barorreflexo**

Após o período de tratamento os animais foram anestesiados com cetamina e xilasina (100/10 mg.kg) e foi realizado o cateterismo na arterial e veia femoral (Andrade et al., 2008). Vinte e quatro horas após a administração, os animais tiveram a pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) basais determinadas conforme Andrade et al. (2008). Em seguida, o barorreflexo arterial foi avaliado de acordo com Beutel et al. (2005). Resumindo, a PAM e a FC foram controladas a todo o momento nos animais acordados e as variações foram avaliadas por meio da aplicação de fenilefrina ( $100\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e nitroprussiato de sódio ( $180\ \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) com o auxílio de uma bomba de infusão (EFF311B, Insight, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), sendo a taxa de infusão  $0,1\ \text{mL}$  por um período máximo de 30 segundos. As mudanças na PAM e respectivas alterações na FC foi avaliada por análise de regressão. O coeficiente de regressão (inclinação da curva) expresso como

batimentos por minuto/mmHg (bpm.mmHg<sup>-1</sup>) foi utilizado como um índice da sensibilidade do barorreflexo frente à fenilefrina e ao nitroprussiato (El-Mas et al., 2001).

### **3.7 Hipertrofia cardíaca**

Após a avaliação hemodinâmica e da sensibilidade do barorreflexo, os animais foram eutanasiados por dose elevada de anestésico. O coração foi retirado, seco e pesado e a hipertrofia cardíaca foi estimada pela razão peso do coração/ peso corporal (Hegan et al., 2015). Após a pesagem os corações foram armazenados em PBS Formol 10%.

### **3.8 Área de colágeno**

A deposição de colágeno foi determinada segundo Sy e seus colaboradores (2008). Resumindo, O coração foi processado e emblocado em parafina. Foram feitas secções de tecido de 5 µm que foram coradas com Picrosirius e fotografadas usando um microscópio de luz (Microscopio biologico binocular-LEICA). Foram tiradas 10 imagens de campos diferentes de cada lâmina com o aumento de 40x, analisado pelo programa ImageJ (NIH)

### **3.9 Análise estatística**

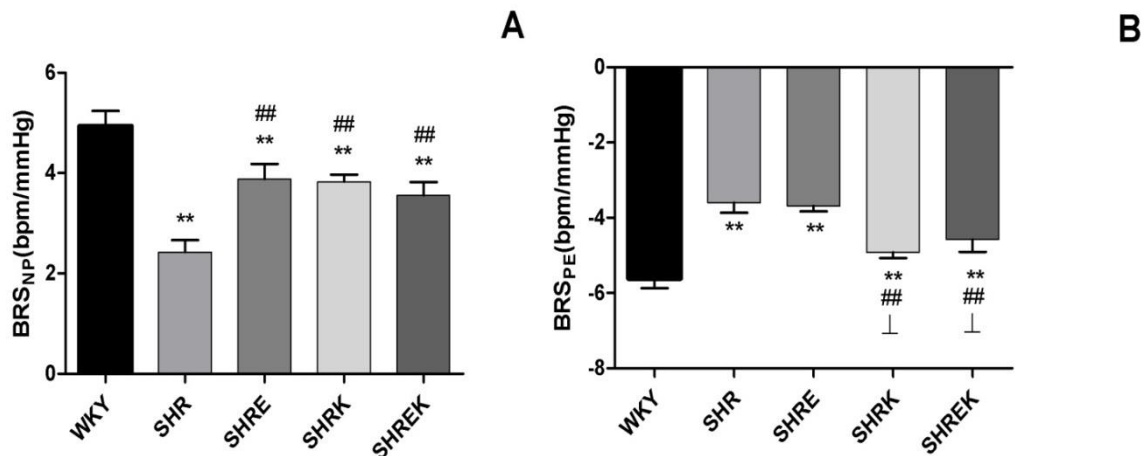
Os resultados foram expressos como média, mais ou menos o erro padrão da média (E.P.M.), submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA). A significância da diferença foi determinada por teste *post-hoc* pelo método de *Tukey*, ajustado para múltiplas comparações, com significância aceita acima de 5%, software GraphPadPrism.



## 4. RESULTADOS

### 4.1 Efeitos do tratamento na sensibilidade do Barorreflexo, Pressão arterial e FC

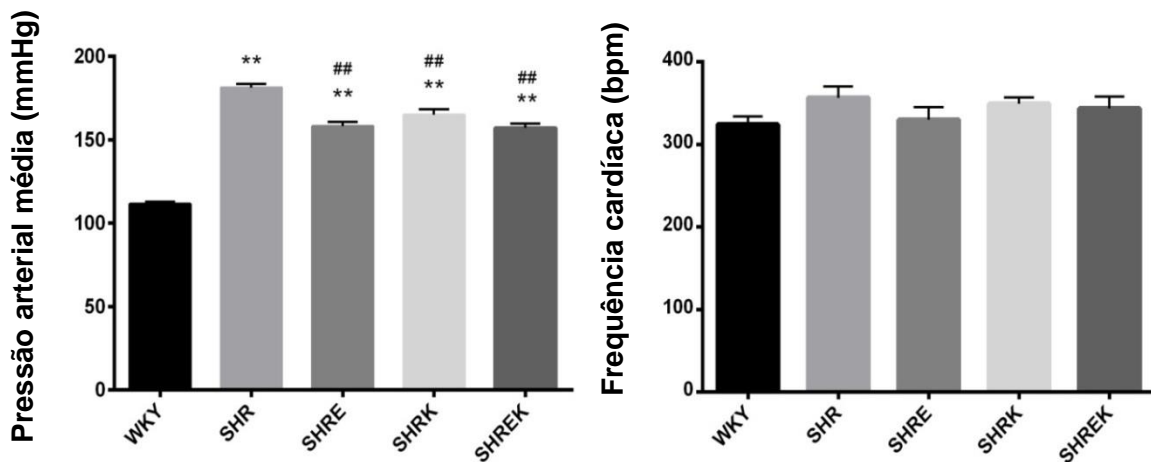
Os achados do presente trabalho mostram que o uso de kefir de água, o exercício físico, e a associação foram capazes de melhorar a sensibilidade ao barorreflexo de animais espontaneamente hipertensos (NPS: WKY  $4,939 \pm 0,058 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHR  $2,427 \pm 0,2371 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRE  $3,877 \pm 0,3060 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRK  $3,825 \pm 0,1459 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHREK  $3,558 \pm 0,2570 \text{ mmHg}^{-1}$ ; PE: WKY  $-5,622 \pm 0,2460 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHR  $-3,600 \pm 0,2377 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRE  $-3,680 \pm 0,1488 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRK  $-4,917 \pm 0,1505 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHREK  $-4,577 \pm 0,3242 \text{ mmHg}^{-1}$ ).



**Figura 1:** Sensibilidade do Barorreflexo (A e B), nos grupos controle normotenso (WKY), espontaneamente hipertensos (SHR), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SHRK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (\*\*)  $p < 0,01$  comparado com o grupo WKY. (##)  $p < 0,01$  comparado com o grupo SHR. (⊥)  $p < 0,01$  comparado com o grupo SHRE.

Na Figura 2 observa-se uma redução nos níveis pressóricos dos grupos que fizeram uso de kefir de água, o exercício isolado e a associação entre kefir de água e exercício físico (PAM: WKY  $111,6 \pm 1,347 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHR  $181,2 \pm 2,278 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRE  $158,2 \pm 2,634 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRK  $165,0 \pm 3,266 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHREK  $157,1 \pm 2,694 \text{ mmHg}^{-1}$ ; FC: WKY  $324,3 \pm 10,1 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHR  $356,7 \pm 13,5 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRE  $329,8 \pm 15,5 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRK  $349,6 \pm 7,7 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHREK  $343,7 \pm 14,5 \text{ mmHg}^{-1}$ ) (FC: WKY  $324,1 \pm 10,1 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHR  $356,7 \pm 13,5 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRE  $329,8 \pm 15,5 \text{ mmHg}^{-1}$ , SHRK

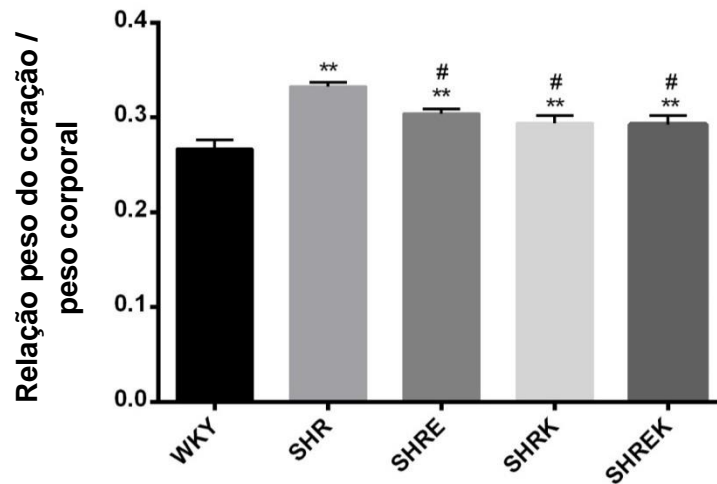
349,6  $\pm$ 7,7 mmHg<sup>-1</sup>, SHREK 343,7  $\pm$ 14,5 mmHg<sup>-1</sup>) (Figura 2). Não houve diferença na frequência cardíaca.



níveis pressóricos e frequência cardíaca nos grupos controle normotenso (WKY), espontaneamente hipertensos (SHR), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SHRK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (\*\*)  $p < 0,01$  comparado com o grupo WKY. (##)  $p < 0,01$  comparado com o grupo SHR

#### 4.2 Hipertrofia Cardíaca

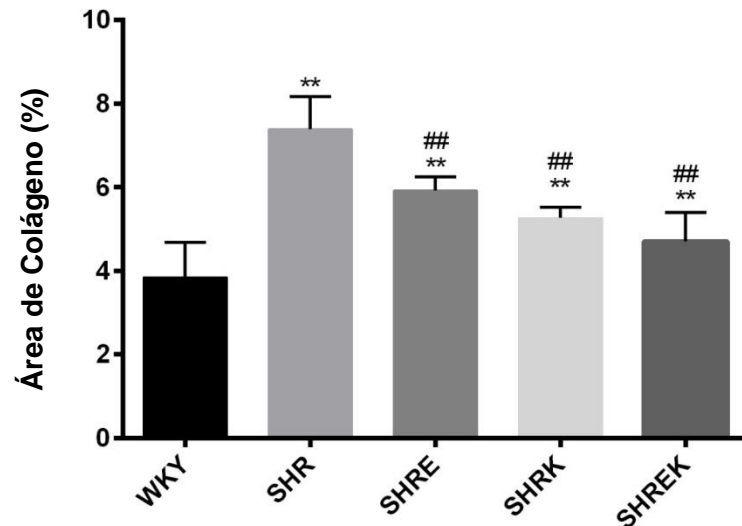
Na figura 3 estão demonstrados os resultados de hipertrofia cardíaca onde foi observado redução da massa magra nos animais hipertensos que foram tratados com kefir, com o exercício e com kefir associado ao exercício comparado ao grupo hipertenso controle (WKY 0,2667g  $\pm$  0,009g, SHR 0,3324g  $\pm$  0,005g, SHRE 0,3041g  $\pm$  0,005g, SHRK 0,2941g  $\pm$  0,008g, SHREK 0,2924g  $\pm$  0,009g).



**Figura 3:** Hipertrofia Cardíaca nos grupos controle normotenso (WKY), espontaneamente hipertensos (SHR), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SHRK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (\*\*) comparado com o grupo WKY. (#) comparado com o grupo SHR.

#### 4.3 Remodelamento cardíaco

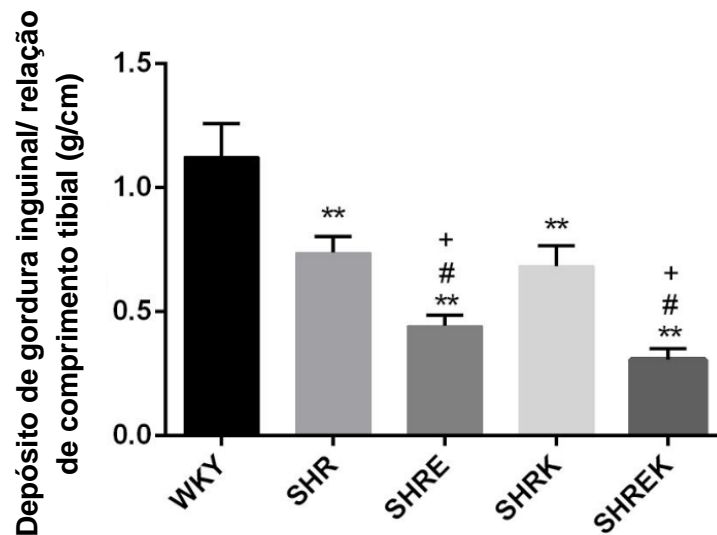
Na figura 4 está demonstrada a área de deposição de colágeno, mostrando que o grupo kefir, o grupo exercício e a associação é capaz de reduzir o deposição de colágeno em relação ao grupo hipertenso controle (WKY  $3,851 \pm 0,8265\%$ , SHR  $7,391 \pm 0,7728\%$ , SHRE  $5,924 \pm 0,3288\%$ , SHRK  $5,266 \pm 0,2501\%$ , SHREK  $4,705 \pm 0,6932\%$ ).



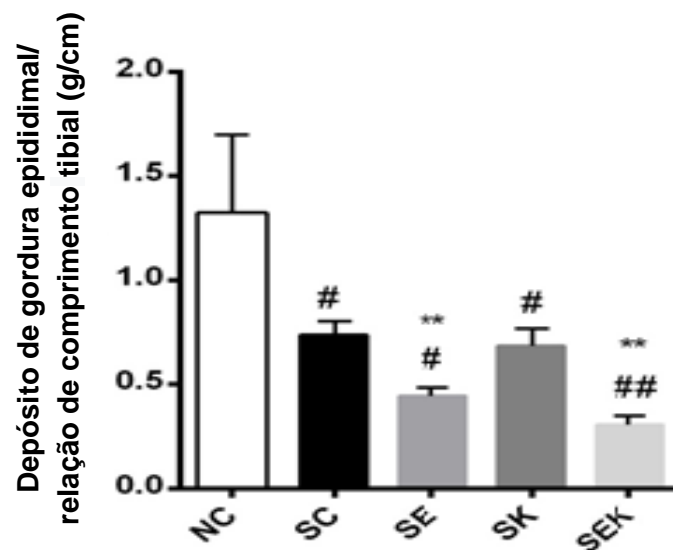
**Figura 4:** Área de Colágeno (%) nos grupos controle normotenso (WKY), espontaneamente hipertensos (SHR), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SHRK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (\*\*)  $p < 0,05$  comparado ao grupo WKY. (##)  $p < 0,05$  comparado com o grupo SHR.

#### 4.4 Gordura corporal

Nas Figuras 5 e 6 observa-se uma redução da gordura inguinal (WKY  $1,1250 \pm 0,067$  g/cm, SHR  $0,7378 \pm 0,033$  g/cm, SHRE  $0,4437 \pm 0,021$ g/cm, SHRK  $0,6844 \pm 0,034$  g/cm, SHREK  $0,3064 \pm 0,022$  g/cm), e epididimal (WKY  $1,1250 \pm 0,067$  g/cm, SHR  $0,7378 \pm 0,033$  g/cm, SHRE  $0,4437 \pm 0,021$ g/cm, SHRK  $0,6844 \pm 0,034$  g/cm, SHREK  $0,3064 \pm 0,022$  g/cm), respectivamente, nos animais do grupo kefir, a associação e o exercício físico, entretanto o resultado da associação foi melhor que os tratamentos com kefir isolado e igual ao grupo exercício.



**Figura 5:** Depósito de Gordura Inguinal nos grupos controle normotenso (WKY), espontaneamente hipertensos (SHR), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SHRK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (\*\*) comparado ao grupo SHR. (#) comparado com o grupo WKY. (+) comparado com o grupo SHRK.



**Figura 6:** Depósito de Gordura Epididimal nos grupos controle normotenso (NC), espontaneamente hipertensos (SC), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SEK). (\*\*) comparado ao grupo SK. (#) comparado com o grupo WKY. (##) comparado com o grupo SE.

#### 4.5 Peso corporal

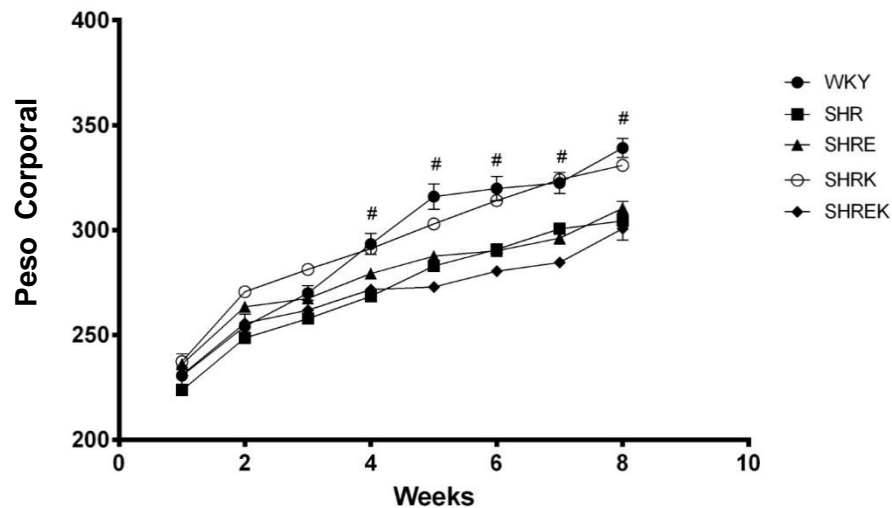
Na tabela 1 e figura 7 estão demonstrados os resultados do peso corporal dos animais. O grupo SHR apresentou menor peso corporal quando comparado aos valores do WKY. O exercício e a associação de exercício com kefir não alteraram o peso corporal nos animais SHR. Entretanto, pode-se notar que o kefir isoladamente foi capaz de prevenir a perda de peso dos animais SHR.

**Tabela 1:** Os valores representam a média dos Pesos iniciais e pesos finais de cada grupo

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)
WKY	243 ± 5,3	339,2 ± 4,5*
SHR	219,3 ± 6,9	304,2 ± 6,2*
SHRE	229,4 ± 5,8	298,3 ± 12,9*
SHRK	236,8 ± 10,0	324,4 ± 5,0*
SHREK	228,8 ± 7,4	294,7g ± 12,4*

Os valores representam a média ± EPM. (\*p<0,05) comparado com o peso inicial.

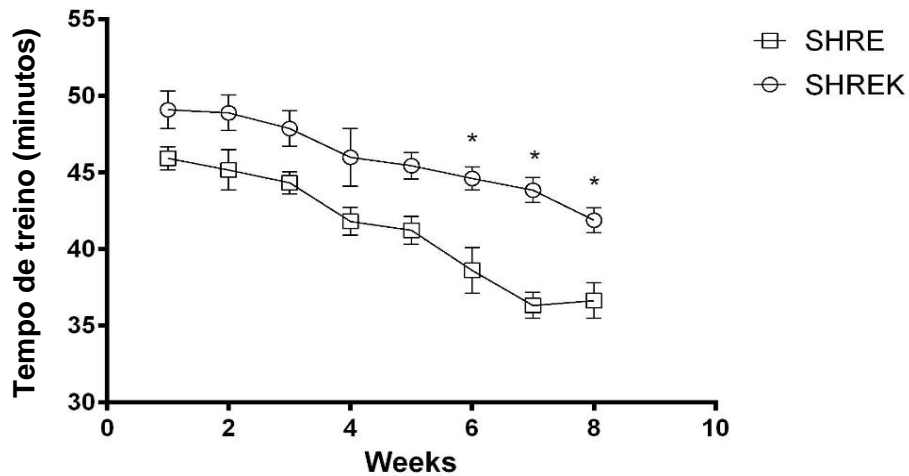
Na figura 7 estão demonstrados os resultados do peso corporal dos animais, onde se pode notar que o kefir foi capaz de prevenir a perda de peso dos animais SHR.



**Figura 7:** Peso corporal dos animais nos grupos controle normotenso (WKY), espontaneamente hipertensos (SHR), espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE), espontaneamente hipertensos em uso de kefir de água (SHRK) e espontaneamente hipertensos praticante de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (#) comparado com o grupo SHR.

#### 4.6 Tempo de treino

Na figura 8 demonstra o tempo de treinamento, onde os animais que praticaram exercício com o uso associado do kefir, conseguiram nadar por mais tempo segundo a média semanal. (SHRE  $41,25 \pm 1,33$  min, SHREK  $45,95 \pm 0,90$  min).



**Figura 8:** Tempo de treino dos animais nos espontaneamente hipertensos praticante de exercício físico (SHRE) e espontaneamente hipertensos praticantes de atividade física e em uso de kefir de água (SHREK). (\*) comparado ao grupo SHRE.

## 5. DISCUSSÃO

A hipertensão primária é a principal forma de hipertensão, não havendo uma causa determinada para a elevação da pressão, se tratando de um evento multifatorial, que exige medidas farmacológicas e não farmacológicas adequadas para controle (WHO, 2017). O principal achado deste estudo é que o kefir de água reduz a pressão arterial e melhora a sensibilidade do barorreflexo em ratos SHR, independente de exercício físico.

Estudos demonstram que o probiótico kefir, promove efeito benefício sobre a pressão arterial. (Friques et al., 2015; Klippel et al. 2016; Brasil et al., 2018; Silva-Cutini et al., 2019). A bebida láctea fermentada pelos grãos de kefir de leite tem sido reportada como capaz de reduzir a pressão arterial de ratos hipertensos, envolvendo mecanismo de melhoria da função vascular (Frique et al., 2015), do controle autonômico da pressão arterial, em especial o barorreflexo (Klippel et al., 2016) e, ainda, redução da atividade simpática e melhoria da hemodinâmica cardíaca (Silva-Cutini et al., 2019). Além disso, os benefícios cardiovasculares parecem não estar atribuídos apenas ao efeito probiótico do kefir, mas também pela ação de compostos bioativos formados durante o processo de fermentação do leite, uma vez que a fração solúvel do kefir de leite, isenta de microrganismos, também foi capaz de induzir a redução da pressão arterial e a melhoria da função do barreflexo em animais hipertensos (Brasil et al., 2018). Entretanto, não foi identificado na literatura trabalhos que tenham avaliado o efeito do kefir de água sobre a pressão arterial de animais hipertensos.

Sabe-se que os probióticos, como o kefir de água, podem agir diretamente na microbiota intestinal. Possivelmente quando a microbiota intestinal se encontra fora do seu funcionamento normal, vários processos fisiológicos são comprometidos levando o organismo a vários desequilíbrios. Portanto, se entende que os probióticos podem influenciar no perfil da microbiota intestinal, o que pode resultar em restauração de mecanismos fisiológicos locais e sistêmicos (Serafini et al, 2014), parecendo ser este um dos mecanismos desses alimentos no organismo. Se ingeridos em doses efetivas os probióticos são capazes de se estabelecerem no trato digestório, prevenindo a colonização por organismos patogênicos assegurando melhor absorção dos nutrientes (Martínez et al, 2017). Serafini et al,(2014) ressaltou que os probióticos, além de agirem no trato gastrointestinal (TGI), influenciam no sistema nervoso central, metabolismo e homeostase cardiovascular. Novos achados demonstram que fatores



endógenos derivados de TGI, incluindo hormônios intestinais e microbiota intestinal, desempenham papéis importantes na regulação da função vascular e da pressão arterial (PA) (Serafini et al, 2014). Acredita-se que o aumento do estresse oxidativo em órgãos alvos podem ocasionar em uma disfunção da funcionalidade fisiológica que podem influenciar no desenvolvimento da Hipertensão (Shimojo et al, 2018). Pressupõe-se que o probiótico kefir de água seja um importante agente antioxidante como afirmado por Alsayadi et al, (2013) que investigou a ação do kefir de água *in vitro* e observou que grande capacidade de reduzir o DPPH, inibir a oxidação do ascorbato, podendo ser uma fonte promissora de antioxidantes naturais com boa potência no desenvolvimento da saúde. Partindo desta afirmação entende-se que o efeito antioxidante seja importante para o equilíbrio fisiológico, que se observado na hipertensão, pode ser uma das soluções para o desequilíbrio do sistema REDOX que ocorrem nos órgãos alvos descontrolando o sistema rápido de controle de pressão (Klippel et al., 2016).

Dessa forma, o efeito antioxidante do Kefir de água (Alsayadi et al., 2013), poderia explicar, pelo menos em parte, os resultados do tratamento de animais hipertensos com esta bebida no presente trabalho. O estresse oxidativo tem sido reportado como capaz de contribuir para o desenvolvimento de disfunção endotelial, por reduzir a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), auxiliando na hipertensão (revisado por Vasquez et al., 2019).

Outro resultado importante demonstrado neste estudo pela primeira vez foi, a capacidade de Kefir de água em melhorar a sensibilidade do barorreflexo arterial. O barorreflexo é um importante mecanismo que assiste o controle da pressão por meio dos estiramentos dos barorreceptores no arco aórtico e no seio carotídeo emitindo sinais para dentro do sistema nervoso central, onde o Núcleo paraventricular (PVN) e a região ventrolateral do bulbo (RVLM) desempenham um papel crucial na regulação cardiovascular central e atividade nervosa simpática (Vasquez et al, 1997; Silva-cutini et al, 2019; Fonkouer et al 2019). Os mecanismos benéficos dos probióticos no controle autonômico também podem ocorrer por meio de sua capacidade de reduzir citocinas inflamatórias e as espécies reativas de oxigênio em núcleos centrais (Klippel et al., 2016), o que poderia explicar, também, o efeito benéfico do kefir de água sobre o barorreflexo arterial.

Em relação ao exercício, já tem sido reportado na literatura o seu benefício sobre o sistema cardiovascular (Sabbahi et al., 2016). Boutcher e Boutcher (2017), revisaram

os efeitos do exercício físico sobre a hipertensão e concluíram que as evidências indicam que o exercício com desempenho de intensidade maior que 70% que a capacidade máxima de captação de oxigênio ( $VO_{2max}$ ) pode ter um importante papel no controle da hipertensão e que tanto o exercício aeróbico, como o treinamento de alta intensidade foram capazes de reduzir a pressão arterial de indivíduos hipertensos.

Baseado no resultado em que o exercício foi capaz de reduzir a pressão arterial, se entende que o exercício pode também ser um agente antioxidante e anti-inflamatório devido suas ações metabólicas participantes do aumento de oxigênio na hemoglobina, da biogênese mitocondrial com ativação de vias como AMPK, PGC1 $\alpha$  que expressão o aumento de enzimas importantes no papel antioxidante como a SOD (Superóxido dismutase) no metabolismo e conseqüentemente promove o efeito anti-inflamatório em seu tratamento crônico (Roque et al, 2013). Segundo Shimojo et al, (2018) que utilizou de ratas Wistars e SHR para avaliar se o treinamento aeróbio na redução da inflamação e no estresse oxidativo, concluiu que o treino é capaz de reduzir biomarcadores para o controle anti-hipertensivo, anti-inflamatório e antioxidante, podendo auxiliar na sensibilidade do barorreflexo.

No presente trabalho, apesar dos benefícios isolados do kefir de água e do exercício físico, não foi observado melhoria adicional nos parâmetros avaliados nos animais que receberam o kefir e fizeram treinamento físico de forma associada. Entretanto, o kefir foi capaz de aumentar o tempo máximo de exercício, o que poderia, com um maior tempo, determinar benefícios adicionais para esses animais. Apesar de o volume de 60 minutos por dia durante 5 vezes na semana de exercício acometer uma grande produção de lactato (Zhou et al, 2019), o tempo de recuperação entre os treinos é de suma importância e reflete na resistência dos animais para os próximos treinos. Portanto, observa-se que os animais que usaram o probiótico kefir de água associado ao exercício conseguiram nadar por mais tempo segundo a média semanal. Apesar das adaptações do exercício físico (Roque et al, 2013), pressupõe-se que o kefir de água pode ser um suplemento que auxilia a reestruturação da parte músculo esquelética com base na possível ação antioxidante citada por Alsayadi et al, (2013).

De fato, foi observado que a suplementação com kefir foi capaz de melhorar o desempenho no exercício, combater o cansaço físico em ratos submetidos ao exercício físico. Apesar de essa observação ter sido feita com bebida láctea

fermentada pelo kefir, o efeito foi associação com a melhoria da microbiota intestinal (Yi-Ju Hsu et al., 2018), e portanto, ajudar a explicar os resultados do presente trabalho sobre o aumento do tempo de exercício usando kefir de água. A redução do cansaço pelo exercício físico induzida pelo kefir, determinaria um maior tempo de exercício.

Mediante as pesquisas citadas acima, observa-se que a influência tanto do probiótico kefir de água quanto do exercício como recurso não-farmacológico é de grande relevância. A resposta dos tratamentos na hipertrofia cardíaca onde os animais que fizeram uso do kefir de água, do exercício associado ou de forma isolada também tiveram uma redução de peso em gramas do coração/ peso corporal. Acredita-se que o controle do sistema de pressão arterial possivelmente influenciou na hipertrofia cardíaca concêntrica devido a possível redução de esforço da resistência vascular periférica e no volume sistólico (Nadruz et al., 2015; Constatino et al, 2017). O estudo de Klippel et al. (2016) mostrou que o grupo de ratos SHR tratados com kefir exibiu redução da hipertrofia cardíaca em comparação com SHR não tratados. Na pesquisa realizada por Fernandes et al. (2015) fica evidente que o exercício foi capaz de reduzir a hipertrofia concêntrica causando a melhoria da funcionalidade cardíaca.

Na hipertensão a hipertrofia e o remodelamento cardíaco possuem diversas origens, incluindo sobrecarga de pressão, sobrecarga de volume e ocorrem geralmente simultaneamente no ventrículo esquerdo, levando à hipertrofia concêntrica como uma resposta adaptativa para normalizar o estresse parietal, que é seguida pela dilatação da câmara do coração levando o aumento das expressões de colágeno, gerando fibrose (Ambia et al., 2016; Nadruz et al., 2015).

Neste estudo também obteve efeitos benéficos quanto ao remodelamento cardíaco representados por meio da análise feita por deposição de colágeno. Houve redução do remodelamento cardíaco através do tratamento feito com o kefir de água e o exercício físico de forma isolada e a associação dos dois tratamentos. Jitmana et al. (2019) utilizaram um programa de corrida em esteira de nove semanas em ratos, concluindo que o grupo exercitado obteve resposta de redução ou atenuação do remodelamento cardíaco.

Em relação a deposição de gordura, observou-se que tanto o exercício isolado como o exercício associado ao kefir foram capazes de determinar redução dessa deposição, indicando que não houve um benefício adicional da associação com o kefir, no tempo e tratamento usado. Entretanto, é possível que com maior tempo de tratamento e treino, o efeito da redução do cansaço e aumento do tempo de treinamento venha a potencializar essa redução de deposição de gordura. Thirupathi et al, (2019), utilizou ratos idosos e concluiu que tanto o treinamento de força quanto o treinamento aeróbio pode resultar na redução dos parâmetros de gordura corporal e peso corporal. A ativação de vias metabólicas como AKT, PCG-1 $\alpha$  também estão ligadas diretamente com a redução dos níveis das gorduras e peso corporal, fazendo com que a atividade dos complexos respiratórios e as proteínas reguladoras na mitocôndria reduzam a adiposidade corporal através da fosforilação oxidativa (Thirupathi et al, 2019).

## 6. CONCLUSÃO

Conclui-se, com base nos dados expressos, que tanto o kefir de água quanto o exercício físico foram capazes de reduzir a pressão arterial e aumentar a sensibilidade do barorreflexo. Esses efeitos também foram associados com a redução da hipertrofia cardíaca, deposição cardíaca de colágeno e na deposição de gordura epididimal e inguinal. Não foi observado que a associação de kefir de água e exercício físico foi capaz de potencializar os benefícios cardiovasculares desses tratamentos isolados, entretanto, como o kefir aumentou o tempo de treinamento dos animais, é possível que com aumento do período de tempo dessa associação, possam ocorrer efeitos potencializados sobre os parâmetros avaliados.

## 7. REFERÊNCIAS

Alsayadi MMS, Jawfi YAL, Belarbi M, Sabri FZ. 2013. Antioxidant Potency of Water Kefir. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2 (6): 2444-2447.

Ambia AM, Morgan JL, Wells CE, Roberts SW, Sanghavi M, Nelson DB, Cunningham FG. 2018. Perinatal outcomes associated with abnormal cardiac remodeling in women with treated chronic hypertension. *American journal obstetrics gynecology*. 218(5): 519

American College of Sports Medicine (2017). *ACSM Fitness Book. Human Kinetics*

Bechtner J<sup>1</sup>, Xu D<sup>1</sup>, Behr J<sup>1,2</sup>, Ludwig C<sup>2</sup>, Vogel RF<sup>1</sup>. 2019. Proteomic Analysis of *Lactobacillus nagelii* in the Presence of *Saccharomyces cerevisiae* isolated From Water Kefir and Comparison With *Lactobacillus hordei*. *Front Microbiol*. 10:325

Beutel A, Bergamaschi CT, Campos RR. 2005. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. *Elsevier*. 93(1):43-8.

Brasil, G. A., Silva-Cutini, M. de A., Moraes, F. de S. A., Pereira, T. de M. C., Vasquez, E. C., Lenz, D., de Andrade, T. U. (2018). The benefits of soluble non-bacterial fraction of kefir on blood pressure and cardiac hypertrophy in hypertensive rats are mediated by an increase in baroreflex sensitivity and decrease in angiotensin-converting enzyme activity. *Nutrition*, 51-52, 66–72.

Boutcher YN, Boutcher SH. Exercise intensity and hypertension: what's new? *J Hum Hypertens*. 2017 Mar;31(3):157-164. doi: 10.1038/jhh.2016.62.

Brito L, Peçanha T, Fecchio R, Rezende R, Sousa P, Silva-Júnior N, Abreu A, Silva G, Mion-Junior D, Halliwill J, Forjaz C. 2018. Morning vs Evening Aerobic Training Effects on Blood Pressure in Treated hypertension. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 0195-9131

Campagnaro BP, Gava AL, Meyrelles SS, Vasquez EC. 2012. Cardiac-Autonomic Imbalance and Baroreflex Dysfunction in the Renovascular Angiotensin-Dependent Hypertensive Mouse. *Journal of Hypertension*. 9.

Chi MM, Hintz CS, Coyle EF, Martin WH, 3rd, Ivy JL, Nemeth PM, Holloszy JO, Lowry OH. 1983. Effects of detraining on enzymes of energy metabolism in individual human muscle fibers. *Am J Physiol*. 244:276–87.

Constantino PB<sup>1</sup>, Dionísio TJ<sup>2</sup>, Duchatsch F<sup>1</sup>, Herrera NA<sup>1</sup>, Duarte JO<sup>3</sup>, Santos CF<sup>2</sup>, Crestani CC<sup>3</sup>, Amaral SL. 2017. Exercise attenuates dexamethasone-induced hypertension through an improvement of baroreflex activity independently of the renin-angiotensin system. *J Steroids*, 128:147-154

EI-Mas MM, Afify EA, Mohy EI-Din MM, Omar AG, Sharabi FM. 2001. Testosterone facilitates the baroreceptor control of reflex bradycardia: role of cardiac sympathetic and parasympathetic components. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 38(5): 754-63.

Fels L<sup>1</sup>, Jakob F<sup>2</sup>, Vogel RF<sup>2</sup>, Wefers D<sup>3</sup>. 2018. Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydr Polym*. 189: 296-303

Fernandes T, Valério G, Baraúna, Carlos E, Negrão, M, Phillips I, Edilamar M, Oliveira. 2015. Aerobic exercise training promotes physiological cardiac remodeling involving a set of microRNAs. *American journal of physiology*. 309(4): 543–55.

Fonkoue IT<sup>1,2</sup>, Le NA<sup>3</sup>, Kankam ML<sup>1,2</sup>, DaCosta D<sup>1,2</sup>, Jones TN<sup>1,2</sup>, Marvar PJ<sup>4</sup>, Park J<sup>1,2</sup>. 2019. Sympathoexcitation and impaired arterial baroreflex sensitivity are linked to vascular inflammation in individuals with elevated resting blood pressure. *Physiol Rep*. 7(7):14057.

Friques AGF, Arpini CM, Kalil IC, Gava AL, Leal MA, Porto ML, Nogueira BV, Dias AT, Andrade TU, Pereira TMC, Meyrelles SS, Campagnaro BP, and Vasquez EC. 2015. Chronic administration of the probiotic kefir improves the endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *J Transl Med.* 13: 390.

Front Microbiol. 2019 Mar 13;10:479. Verce M<sup>1</sup>, De Vuyst L<sup>1</sup>, Weckx S. 2019. Shotgun Metagenomics of a Water Kefir Fermentation Ecosystem Reveals a Novel *Oenococcus* Species. *Front Microbiol.* 2019 Mar 13;10:479.

Goes ATR, Souza LC, Filho CB, Fabbro LD, Gomes MG, Boeira SP, Jesse. 2014. CR. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine. *Journal of Neuroscience.* 256:61-71.

Gómez-Rubio P, Trapero I. 2019. The Effects of Exercise on IL-6 Levels and Cognitive Performance in Patients with Schizophrenia. 22;7(1).

Harrison DG, Marvar PJ, Titze JM. 2012. Vascular inflammatory cells in hypertension. *Front Physiol* 2012;3:1–8.

Head GA. 1995. Baroreflexes and cardiovascular regulation in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2:7-16

Hsu Y, Huang W, Lin J, Chen Y, Ho S, Huang C, and Tung Y. 2018. Kefir Supplementation Modifies Gut Microbiota Composition, Reduces Physical Fatigue, and Improves Exercise Performance in Mice. *Nutrients.* 10(7)

Jascolka TL, Aguilar EC, Teixeira LG, Lages PC, de Cássia Raimundo I, Beltrão NRM, de Oliveira Matoso R, Carneiro RP, Nicoli JR, Alvarez-Leite JI. 2013. Kefir Supplementation Improves lipid profile and oxidative stress but does not reduce atherosclerotic lesion in apoE deficient mice. *J. Food Nutr. Disor.* 2:1-7.

Jia D, Hou L, Lv Y, Xi L, Tian Z. 2019. Postinfarction exercise training alleviates cardiac dysfunction and adverse remodeling via mitochondrial biogenesis and SIRT1/PGC-1 $\alpha$ /PI3K/Akt signaling. *J Cell Physiol.* 20(4): 34-58



Klippel BF, Duemke LB, Leal MA, Friques AGF, Dantas EM, Dalvi RF, Gava AL, Pereira TMC, Andrade TU, Meyrelles SS, Bianca P. Campagnaro BP, Vasquez EC. 2016. Effects of Kefir on the Cardiac Autonomic Tones and Baroreflex Sensitivity in Spontaneously Hypertensive Rats. *Front Physiol.* 7: 211.

Korsager LM, Matchkov VV. 2016. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina (Kaunas).* 52(1):19-27.

Larsen MK e Matchkov VV. 2016. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina.* 52: 19 – 27.

Lee HG, Yun-Ju Cho, Kun-Ho Seo, Wallace Yokoyama W. e Kim H. 2018. Anti-obesity Effect of Prebiotic Polyphenol-rich Grape Seed Flour Supplemented with Probiotic Kefir-derived Lactic Acid Bacteria. *Journal agricultural and food chemistry.* 12498–12511.

Mancia, G., Parati, G., Pomidossi, G., Casadei, R., Di Rienzo, M., & Zanchetti, A. (1986). Arterial baroreflexes and blood pressure and heart rate variabilities in humans. *Hypertension*, 8(2), 147–153.

Manrique C, Lastra G, Gardner M, Sowers JR. 2009. The renin angiotensin aldosterone system in hypertension: roles of insulin resistance and oxidative stress. *Medical Clinics of North America.* 93:569–82.

Martinez MIM, Tolsa RC, Cauli O. 2017. The effect of probiotics as a treatment for constipation in elderly people: a systematic review. *Journal Elsevier.* 71: 142-149

Moreira ME, Dos Santos MH, Zolini GP, Wouters AT, Carvalho JC, Schneedorf JM. 2008. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of a carbohydrate fraction isolated from sugary kefir. *J Med Food.* 11(2):356-61.

Nadruz w. 2015. Myocardial remodeling in hypertension. *Journal of Human Hypertension*. 29(1):1-6.

Ngomane AY, Fernandes B, Guimarães GV, Ciolac EG. 2019. Hypotensive Effect of Heated Water-based Exercise in Older Individuals with Hypertension. *Int J Sports Med*. 0828-8017.

Pagonas N, Vlatsas S, Bauer F, Seibert FS, Zidek W, Babel N, Schlattmann P, Westhoff TH. 2017. Aerobic versus isometric handgrip exercise in hypertension: a randomized controlled trial. *Journal of Hypertension*. 2199-2206.

Pimenta FS, Luaces-Regueira M, Ton AM, Campagnaro BP, Campos-Toimil M, Pereira TM, Vasquez EC. 2018. Mechanisms of Action of Kefir in Chronic Cardiovascular and Metabolic Diseases. *Cell Physiol Biochem*. 48(5):1901-1914.

Rahmeh R,\* Akbar A, Kishk M, Al-Onaizi T, Al-Azmi A, Al-Shatti A, Shajan A, S. Al-Mutairi, and Akbar B.2019. Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. *New Microbes New Infect*. 30: 1005-60.

Rodríguez-Iturbe B, Quiroz Y, Ferrebuz A, Parra G, Vaziri ND. Evolution of renal interstitial inflammation and NF- $\kappa$ B activation in spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Nephrology*. 2004;24(6):587–594.

Roque FR, Briones AM, Garcia-Redondo AB, Galan M, Martinez-Revelles S, Avendano MS, Cachofeiro V, Fernandes T, Vassallo DV, Oliveira EM, Salaices M. 2013. Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. *British Journal of Pharmacology*. 168: 686–703.

Sabbahi A, Arena R, Elokda A, Phillips SA. Exercise and Hypertension: Uncovering the Mechanisms of Vascular Control. *Prog Cardiovasc Dis*. 2016;59(3):226-234. doi: 10.1016/j.pcad.2016.09.006.

Santanna AF, Filete PF, Lima EM, Porto ML, Meyrelles SS, Vasquez EC, Endringer DC, Lenz D, Abdalla DSP, Pereira TMC, Andrade TU. 2017. Chronic administration of the soluble, nonbacterial fraction of kefir attenuates lipid deposition in LDLr<sup>-/-</sup> mice. *Nutrition*. 35:100-105

Schreckenber R, Horn AM, Rebelo RMC, Simsekylmaz S, Niemann B, Li L, Rohrbach S, Schlüter KD. 2017. Effects of 6-months' Exercise on Cardiac Function, Structure and Metabolism in Female Hypertensive Rats—The Decisive Role of Lysyl Oxidase and Collagen III. *Frontiers in Physiology*.8:1-13.

Serafini F, Turrone F, Ruas-Madiedo P, Lugli GA, Milani C, Duranti S, Zamboni N, Bottacini F, Sinderen D, Margolles A e Ventura M. 2014. Kefir fermented milk and kefir promote growth of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 and modulate its gene expression. *International Journal of Food Microbiology*.50-59

Shan Z, Zubcevic J, Shi P, Jun JY, Dong Y, Murça TM, Lamont GJ, Cuadra A, Yuan W, Qi Y, Li Q, Paton JFR, Katovich MJ, Sumners C, and Raizada MK. 2013. Chronic Knockdown of the NTS AT1R Increases Blood Inflammatory-Endothelial Progenitor Cells Ratio and Exacerbates Hypertension in the SHR. *Hypertension*. 61(6): 1328–1333.

Sharifi M. Moridnia A. Mortazavi D. Salehi M. Bagheri M. Sheikhi A. 2017. Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. *Med Oncol*. 34:183.

Shimojo GL, Dias DS, Malfitano C, Sanches IC, Llesuy S, Ulloa L, Irigoyen M, and Angelis K. 2018. Combined Aerobic and Resistance Exercise Training Improve Hypertension Associated With Menopause. *Journal Frontiers in Physiology*. 9: 1471.

Silva-Cutini MA, Almeida SA, Nascimento AM, Abreu GR, Bissoli NS, Lenz D, Endringer DC, Brasil GA, Lima EM, Biancardi VC, Andrade TU. 2019. Long-term treatment with kefir probiotics ameliorates cardiac function in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Biochem*. 66:79-85

Slusher AL, Huang C, and Acevedo EO. 2017. The Potential Role of Aerobic Exercise-Induced Pentraxin 3 on Obesity-Related Inflammation and Metabolic Dysregulation. *Mediators Inflammation*.

Sy JC, Seshadri G, Yang SC, Brown M, Oh T, Dikalov S, Murthy N, Davis ME. 2008. Sustained release of a p38 inhibitor from non-inflammatory microspheres inhibits cardiac dysfunction. *Nat Mater*. 7(11):863-8.

Thirupathi A, da Silva Pieri BL, Queiroz JAMP, Rodrigues MS, de Bem Silveira G, de Souza DR, Luciano TF, Silveira PCL, De Souza CT. 2019. Strength training and aerobic exercise alter mitochondrial parameters in brown adipose tissue and equally reduce body adiposity in aged rats. *J Physiol Biochem*. 2019 Feb;75(1):101-108.

Vasquez EC, Pereira TMC, Peotta VA, Baldo MP, Campos-Toimil M. Probiotics as Beneficial Dietary Supplements to Prevent and Treat Cardiovascular Diseases: Uncovering Their Impact on Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 7;2019:3086270. doi: 10.1155/2019/3086270.

Vasquez EC, S.S. Meyrelles SS, Mauad H, Cabral AM. 1997. Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 30: 521-532.

WHO, World Health Organization. World health statistics 2017. monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 70, Indicator 2.3: Mortality rate attributed to cardiovascular disease, cancer, diabetes or chronic respiratory disease. 31.

Yasar H, Taskin AK, Kaya B, Aydin H, Ozaydin I, Iskender Um, Erdem H, Ankatali H, Kandis H. 2013. The early anti-inflammatory effect of Kefir in experimental corrosive esophagitis. *Ann Ital Chir*. 84 (6): 681-85.

Zamberi NB, Abu N, Mohamed EN, Nordin N, Keong YS, Beh BK, Zakaria ZAB, Rahman, NMANA and Alitheen, NB. 2016. The Antimetastatic and Antiangiogenesis Effects of Kefir Water on Murine Breast Cancer Cells. *Integr Cancer Ther.* 15(4): 53-66

Zhang J, Zhao X, Jiang Y, Zhao W, Guo T, Cao Y, Teng J, Hao X, Zhao J, Yang Z. 2017. Antioxidant status and gut microbiota change in an aging mouse model as influenced by exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibetan kefir. *J Dairy Sci.* 100(8):6025-6041.

Zhou W, Zeng G, Lyu C, Kou F, Zhang S, Wei H. 2019. The Effect of Exhaustive Exercise on Plasma Metabolic Profiles of Male and Female Rats. *J Sports Sci Med.* 18(2):253-263