

PEDRO ZAVAGLI SUAREZ

**EFEITOS DE DIFERENTES TIPOS DE TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO
SOBRE A MORFOLOGIA, FUNÇÃO E PROPRIEDADES MECÂNICAS DO
CORAÇÃO DE RATOS HIPERTENSOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.
Orientador: Miguel Araújo C. Júnior.
Coorientador: Antônio José Natali

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S939e
2019

Suarez, Pedro Zavagli, 1992-
Efeitos de diferentes tipos de treinamento físico aeróbio
sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração
de ratos hipertensos / Pedro Zavagli Suarez. – Viçosa, MG,
2019.

65 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Miguel Araújo Carneiro Júnior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 58-64.

1. Exercícios físicos. 2. Hipertensão. 3. Mócitos cardíacos.
4. Contração miocárdica. 5. Cálcio - Transporte fisiológico.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Educação
Física. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.
II. Título.

CDD 22. ed. 613.71

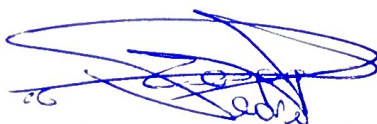
PEDRO ZAVAGLI SUAREZ

**EFEITOS DE DIFERENTES TIPOS DE TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO
SOBRE A MORFOLOGIA, FUNÇÃO E PROPRIEDADES MECÂNICAS DO
CORAÇÃO DE RATOS HIPERTENSOS**

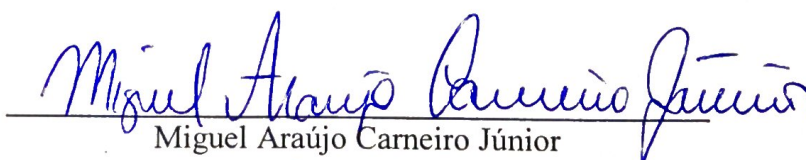
Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Educação Física para a
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de agosto de 2019.

Assentimento:



Pedro Zavagli Suarez
Autor



Miguel Araújo Carneiro Júnior
Orientador

*À minha família,
Que sempre acreditou.
E aos amigos, que sempre
Estiveram ao meu lado.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e irmãos, que sempre acreditaram em mim, me dando forças para seguir esta jornada.

Agradeço aos meus padrinhos por todo o apoio que me deram durante a graduação, abrindo as portas para que eu continuasse seguindo meus sonhos.

Agradeço também aos irmãos que eu escolhi, Renan, Lucas, Danilo e Danilo, que estiveram ao meu lado desde o início da graduação, sempre apoiando e ajudando em tudo aquilo que precisei.

Agradeço à Lavínia, uma das pessoas que mais sentiu o peso que o estresse do mestrado pode trazer e que, mesmo assim, manteve-se ao meu lado.

Agradeço a todos os companheiros de laboratório. Léo, Leôncio, Filipe, Alexandre, Anselmo, Emanuel, Lucas e Franciany que se desdobraram para ajudar sempre que algo parecia não ter solução. Agradeço especialmente à Meilene, sem a qual este trabalho nunca teria sido concluído.

Agradeço ao meu Orientador Professor Miguel por todos os ensinamentos, tanto no quesito profissional quanto pessoal. Obrigado por todos os conselhos e puxões de orelha que vieram sempre em bom momento.

Agradeço também ao meu Coorientador professor Natali, que na sua calma e paciência sempre ajudou a encontrar o caminho certo em meio às adversidades.

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

Obrigado a todos por fazerem parte dessa jornada, por todo apoio, confiança e força que me deram.

RESUMO

SUAREZ, Pedro Zavagli, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2019. **Efeitos de diferentes tipos de treinamento físico aeróbico sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração de ratos hipertensos.** Orientador: Miguel Araújo Carneiro Júnior. Coorientador: Antônio José Natali.

Introdução: A hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por nível elevado e sustentado de pressão arterial (PA). O exercício físico aeróbico regular provoca adaptações autonômicas e hemodinâmicas que vão influenciar o sistema cardiovascular, contribuindo para redução da PA. O treinamento aeróbico contínuo de intensidade moderada (MICT), tem sido o mais indicado para sujeitos com HA, com intensidade variando de 40-60% do consumo máximo de oxigênio. Porém, nos últimos anos, estudos mostraram a eficácia do treinamento aeróbico intervalado de alta intensidade (HIIT) como tratamento para HA. **Objetivos:** Avaliar os efeitos de diferentes tipos de treinamento físico aeróbico sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração de ratos hipertensos. **Metodologia:** Ratos normotensos (Wistar) e hipertensos (SHR) com 16 semanas de idade foram distribuídos em 6 grupos (n=8): WIS CONT e SHR CONT – normotensos e hipertensos que não foram submetidos a treinamento físico aeróbico por 8 semanas; WIS MICT e SHR MICT – normotensos e hipertensos treinados pelo método contínuo a 60% da velocidade máxima de corrida, em esteira rolante, 30 min por dia, 5 dias por semana, por 8 semanas; WIS HIIT e SHR HIIT – normotensos e hipertensos treinados pelo método intervalado, sendo 20 repetições de 30 segundos a 90%, seguidas por 1 min a 45% da velocidade máxima de corrida, 5 dias por semana, por 8 semanas. A morfologia e função cardíaca foram avaliadas por ecocardiograma. A frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) foram medidas por pletismografia de cauda. O tempo total de exercício até a fadiga (TTF) foi determinado através de um teste máximo de corrida. Após os tratamentos, a eutanásia foi realizada por decapitação e o coração retirado, lavado e canulado pela artéria aorta em um sistema de perfusão. Os cardiomiócitos do ventrículo esquerdo (VE) foram isolados por digestão enzimática, utilizando-se colagenase. Para registro do transiente intracelular global de Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), os cardiomiócitos foram incubados com o indicador fluorescente de Ca^{2+} , Fura-2 ácido aminopolicarboxílico. A contração celular foi determinada pela técnica de alteração do comprimento dos

cardiomiócitos, usando-se um sistema de detecção de bordas. As medidas foram feitas utilizando-se um microscópio invertido equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo. Utilizou-se estimulação elétrica de campo nas frequências de 3, 5 e 7 Hz, temperatura de $\sim 37^{\circ}\text{C}$. **Resultados:** Ambos os programas de treinamento aumentaram o TTF. Nos SHR, o MICT reduziu a FC de repouso, tendeu a diminuir a PAS, diminuiu a PAD, a PAM, a espessura do septo interventricular tanto na sístole quanto na diástole e diminuiu a amplitude de contração na estimulação de 5 Hz. O HIIT aumentou o peso do coração e as espessuras da parede do ventrículo esquerdo, tanto em sístole quanto em diástole, reduziu a PAS e tendeu a diminuir a PAM, além de diminuir o tempo para o pico de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ em todas as frequências de estimulação. **Conclusão:** Ambos os protocolos de treinamento promoveram adaptações benéficas sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração de ratos hipertensos.

Palavras-chave: Hipertensão. Exercício físico. Cardiomiócitos. Contratilidade celular. Transiente de cálcio.

ABSTRACT

SUAREZ, Pedro Zavagli, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2019. **Effects of different types of aerobic exercise training on heart morphology, functions and mechanical properties of hypertensive rats.** Adviser: Miguel Araújo Carneiro Júnior. Co-adviser: Antônio José Natali.

Introduction: Hypertension (AH) is a multifactorial clinical condition characterized by sustained high blood pressure (BP). Aerobic exercise causes regular autonomic and hemodynamic adaptations that will influence the cardiovascular system, contributing to BP reduction. Moderate continuous intensity aerobic training (MICT) has been the most suitable for individuals with hypertension, with a variable intensity of 40-60% of maximal oxygen uptake. However, in recent years, studies have shown the effectiveness of high intensity interval aerobic training (HIIT) as a treatment for hypertension.

Objectives: To evaluate the effects of different types of aerobic exercise training on heart morphology, function and mechanical properties of hypertensive rats.

Methodology: 16-week-old normotensive (Wistar) and hypertensive (SHR) rats were divided into 6 groups (n = 8): WIS CONT and SHR CONT - normotensive and hypertensive rats that did not undergo aerobic exercise training for 8 weeks; WIS MICT and SHR MICT - normotensive and hypertensive trained by continuous method at 60% of maximum running speed on treadmill, 30 min per day, 5 days per week for 8 weeks; WIS HIIT and SHR HIIT - normotensive and hypertensive trained by the interval method, with 20 repetitions of 30 seconds at 90%, followed by 1 min at 45% of the maximum running speed, 5 days a week, for 8 weeks. Heart morphology and function were assessed by echocardiography. Heart rate (HR), systolic (SBP), diastolic (DBP) and mean (MAP) blood pressure were measured by tail plethysmography. Total exercise time to fatigue (TTF) was determined by a maximal running test. After the treatments, euthanasia was performed by decapitation and the heart was removed, washed and cannulated by the aorta in a perfusion system. Left ventricular (LV) cardiomyocytes were isolated by enzymatic digestion using collagenase. To record the global intracellular Ca^{2+} transient ($[\text{Ca}^{2+}]_i$), cardiomyocytes were incubated with the Ca^{2+} fluorescent indicator, Fura-2 aminopolycarboxylic acid. Cellular contraction was determined by the technique of altering the length of cardiomyocytes using an edge detection system. Measurements were made using an inverted microscope equipped with an objective oil immersion lens.

Field electric stimulation was used at frequencies of 3, 5 and 7 Hz, temperature of $\sim 37^{\circ}\text{C}$.

Results: Both training programs increased the TTF. In SHR, MICT reduced resting HR, tended to decrease SBP, decreased DBP, MAP, interventricular septal thickness in both systole and diastole and decreased the amplitude of contraction at 5 Hz stimulation. HIIT increased heart weight and left ventricular wall thickness, both in systole and diastole, reduced SBP and tended to decrease MBP and decreased the time to peak $[\text{Ca}^{2+}]_i$ at all pacing frequencies. **Conclusion:** Both training protocols promoted beneficial adaptations on heart morphology, function and mechanical properties of hypertensive rats.

Keywords: Hypertension. Physical exercise. Cardiomyocytes. Cellular contractility. Calcium transient.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal, peso do coração, peso do ventrículo esquerdo (VE) e pesos relativos do coração e do ventrículo esquerdo de ratos normotensos e hipertensos.....38

Tabela 2. Avaliação ecocardiográfica de animais normotensos e hipertensos.....40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Imagem representativa da avaliação ecocardiográfica. ESID. Espessura do septo interventricular na diástole. ESIS. Espessura do septo interventricular na sístole. DIVED. Dimensão interna do VE na diástole. DIVES. Dimensão interna do VE na sístole. EPVED.	26
Figura 2. Traçado representativo do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ e os parâmetros avaliados....	29
Figura 3. Representação do programa utilizado para aquisição das imagens e dos registros das contrações dos cardiomiócitos isolados. A definição de bordas direita e esquerda é projetada através dos picos verde e vermelho, respectivamente.....	30
Figura 4. Traçado representativo da contração celular e os parâmetros avaliados.....	31
Figura 5. A) Frequência Cardíaca (FC), B) Pressão Arterial Sistólica (PAS), C) Pressão Arterial Diastólica (PAD) e D) Pressão Arterial Média (PAM) dos animais normotensos e hipertensos antes e após os treinamentos..	33
Figura 6. Tempo total até a fadiga em animais normotensos e hipertensos antes e após os protocolos de exercício.....	36
Figura 7. Traçados representativos de resposta do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$ a estimulação de 5 Hz em A) WIS CONT; B) SHR CONT; C) WIS MICT; D) SHR MICT; E) WIS HIIT e F) SHR HIIT.	42
Figura 8. A) Amplitude do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$ B) Tempo para o Pico do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$, C) Tempo para 50% do decaimento do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$	43
Figura 9. Traçados representativos de resposta da Amplitude de contração a estimulação de 5 Hz em A) WIS CONT; B) SHR CONT; C) WIS MICT; D) SHR MICT; E) WIS HIIT e F) SHR HIIT.	46
Figura 10. A) Amplitude de Contração B) Tempo para o Pico de Contração, C) Tempo para 50% do Relaxamento.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

α -MCP – α -miosina de cadeia pesada

β -MCP – β -miosina de cadeia pesada

ATPase - enzima que catalisa a hidrólise do ATP para produção de energia

ANOVA – análise de variância

Ca²⁺ – íon cálcio

c.c.r. – comprimento celular de repouso

CaCl₂ – cloreto de cálcio

CEUA – Comissão de Ética para Uso de Animais

CONT – controle

DIVED - Dimensão interna do VE na diástole

DIVES - Dimensão interna do VE na sístole

DMSO - dimetilsulfóxido

DNA – ácido desoxirribonucleico

EGTA – ácido etilenoglicol tetracético

EPVES - Espessura da parede ventricular esquerda na sístole.

EPVED - Espessura da parede ventricular esquerda na diástole

EPM – erro padrão da média

ESID - Espessura do septo interventricular na diástole

ESIS - Espessura do septo interventricular na sístole

F – fluorescência máxima

F₀ – fluorescência mínima

FC – frequência cardíaca

Fura-2 AM - Fura-2 ácido aminopolicarboxílico

FLB – fosfolambam

FNA – fator natriurético atrial

HÁ – hipertensão arterial

HEPES – ácido etanosulfônico-hidroxietil piperazina

HIIT – treino intervalado de alta intensidade

I_{to} – corrente repolarizante transitória de efluxo de K⁺

K⁺ – íon potássio

MICT – treino contínuo de intensidade moderada

miRNA – micro RNA

KCl – cloreto de potássio

MgCl₂ – cloreto de magnésio

MgSO₄ – sulfato de magnésio

Na⁺ – íon sódio

NaCl – cloreto de sódio

NaH₂PO₄ – fosfato monosódico

NCX – canais trocadores de Na⁺ e Ca²⁺

O₂ – oxigênio

PA – pressão arterial

PAS – pressão arterial sistólica

PAD – pressão arterial diastólica

PAM – pressão arterial média

RNA – ácido ribonucleico

RyR2 – canais receptores de rianodina do tipo 2

SERCA2a – isoforma cardíaca da Ca²⁺ ATPase do retículo sarcoplasmático

SHR – *Spontaneously Hypertensive Rat*

TTF – tempo total de exercício até a fadiga

VE – ventrículo esquerdo

VMC – velocidade máxima de corrida

SUMÁRIO

1. Introdução	14
2. OBJETIVOS.....	22
2.1. Objetivo Geral	22
2.2. Objetivos Específicos.....	22
3. METODOLOGIA	23
3.1. Animais de experimentação e tratamentos	23
3.2. Programas de treinamento físico e avaliação do desempenho	23
3.3. Avaliação da FCR, PAS, PAD e PAM	25
3.4. Avaliação ecocardiográfica.....	25
3.5. Isolamento dos cardiomiócitos	26
3.6. Avaliação do transiente de $[Ca^{2+}]_i$	27
3.7. Contração celular	29
3.8. Análise estatística	32
4. RESULTADOS.....	33
5. DISCUSSÃO	50
5.1. Treinamento Aeróbio Contínuo de Intensidade Moderada (MICT).....	51
5.2. Treinamento Aeróbio Intervalado de Alta Intensidade (HIIT)	54
5.4. Limitações e Perspectivas	56
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
8. ANEXOS	65

1. INTRODUÇÃO

1.1. Hipertensão arterial

A pressão arterial (PA), é dada pela força que o sangue exerce sobre as paredes das artérias no pico da sístole (pressão arterial sistólica) e no final da diástole (pressão arterial diastólica). A PA é determinada por dois fatores principais, sendo eles o débito cardíaco, caracterizado pelo volume de sangue que é bombeado pelo coração em um minuto, e a resistência vascular periférica, caracterizada pela oposição dos vasos ao fluxo sanguíneo (GUYTON E HALL, 2011). Caso exista uma modificação em um destes fatores, a PA será afetada.

A hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica multifatorial que se caracteriza por um nível elevado e sustentado de PA (SBC, 2016; WILLIAMS, 2009). Como nível elevado entende-se, no Brasil, de acordo com a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial mais atual (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016), assim como na Europa, de acordo com a *Guidelines for the management of arterial hypertension* (WILLIAMS et al, 2018) um nível pressórico ≥ 140 (sistólico) e/ou 90 mmHg (diastólico). Porém, a diretriz norte americana *Guidelines for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults* (WHELTON et al, 2017), já considera como hipertensão um nível pressórico ≥ 130 (sistólico) e/ou 90 (diastólico) mmHg. De acordo com os últimos dados da VIGITEL (2018), a frequência de adultos que declararam diagnóstico médico de HA variou entre 15,9% e 31,2% nas capitais brasileiras, sem grandes diferenças entre os sexos. Picon et al. (2012), em sua meta-análise de 40 estudos, realizados entre 1980 e 2010 em diversas cidades brasileiras, encontraram uma diminuição na prevalência de HA, começando com uma média de 36,1% na primeira década e chegando a 28,7% na última década estudada. De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2016), 32,5% da população adulta brasileira (~ 32 milhões de pessoas) apresenta HA, chegando a 60% quando considerado somente os idosos, além de contribuir com 50% das mortes por doenças cardiovasculares, direta ou indiretamente.

Para o estudo da fisiopatologia da hipertensão arterial, a utilização de modelos animais é bastante comum. O rato espontaneamente hipertenso (SHR – *Spontaneously Hypertensive Rat*) é amplamente utilizado em estudos relacionados à doença por

desenvolvê-la de forma similar ao ser humano, possuindo as fases pré-hipertensão, desenvolvimento, hipertensão sustentada e insuficiência cardíaca. O desenvolvimento da hipertensão aparece a partir do 3º mês de vida do animal, onde a fase de hipertensão sustentada se estende até aproximadamente o 18º mês, a partir do qual a insuficiência cardíaca começa a se instalar (HASENFUSS, 1998; DOGGRELL & BROWN, 1998).

1.2. Hipertensão e Coração

O processo hipertensivo é caracterizado por um conjunto de disfunções progressivas no miocárdio. Inicialmente, o coração passa por adaptações para se adequar às maiores cargas exercidas pelo aumento da pressão, permitindo assim o funcionamento normal do órgão. Estas adaptações são provenientes da sobrecarga constante existente nas artérias, que geram um estresse no miocárdio, causando um aumento da espessura da parede ventricular, consequentemente causando uma diminuição do diâmetro da câmara cardíaca, além de proporcionar um aumento do tecido extracelular (MCMULLEN & JENNINGS, 2007). Este aumento da parede ventricular dá-se principalmente pelo aumento da secção transversa dos cardiomiócitos, gerado pelo aumento do número de sarcômeros com arranjo em paralelo nestas células. Além disso, uma diminuição da razão α -miosina de cadeia pesada / β -miosina de cadeia pesada (β -MHC) é gerada pela hipertensão. Esta discrepância molecular faz com que as células cardíacas sejam mais lentas na resposta aos estímulos. (PALMER, 2005, MILL et al., 2011, CARNEIRO-JÚNIOR, 2013). Outro fator pelo qual a hipertensão é responsável é o aumento da matriz extracelular colágena. O aumento deste tecido extracelular é promovido a partir de uma maior sinalização autócrina, parácrina e endócrina, que leva ao seu crescimento desproporcional, gerando uma perda da homogeneidade no tecido cardíaco, e, consequentemente, causando uma perda na complacência cardíaca (WEBER, 2001; SHIRWANY & WEBER, 2006). A densidade vascular também pode ser afetada, de forma a afetar a oxigenação e, consequentemente, o funcionamento ventricular (WEBER et al., 2010, 2001; GONZÁLEZ et al., 2002; MATSUBARA et al., 2006). Com o passar do tempo, a HA causa hipertrofia cardíaca concêntrica patológica (HCP), que é caracterizada pelo aumento da espessura das paredes ventriculares e acompanhada por alterações morfofisiológicas que prejudicam a mecânica cardíaca (MCARDLE, KATCH E KATCH, 2010). Na HCP é observada redução da complacência ventricular e da

densidade capilar, possível apoptose, reexpressão de genes fetais, como fator natriurético (FNA), α -actina esquelética e a β -MHC, levando à disfunção cardíaca (LEVY et al., 1990; MCMULLEN & JENNINGS, 2007; KOLWICZ et al., 2009; BERNARDO et al., 2010; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013). Estes fatores, associados ao aumento da matriz extracelular e à diminuição da densidade vascular afetam profundamente a mecânica cardíaca. A capacidade contrátil fica diminuída, graças à grande densidade de matriz extracelular presente, que dificulta o relaxamento do órgão, aumentando a pressão diastólica final no ventrículo esquerdo (VE). Nessa situação, o coração, por possuir um menor espaço ventricular, menor complacência e menor capacidade de resposta aos estímulos, passa a bombear uma menor quantidade de sangue a cada ciclo cardíaco e, conseqüentemente, diminuindo efetivamente a fração de ejeção. Une-se a isto uma resposta adaptativa neuro-humoral que aumenta a ativação adrenérgica cardíaca, aumentando a frequência cardíaca e a própria contratilidade do órgão, além de uma ativação de sistemas periféricos, como renina-angiotensina-aldosterona, que resultarão em um aumento ainda maior da sobrecarga constante no coração (MACIEL, 2001; FEITOSA, FEITOSA FILHO & DE CARVALHO, 2002; SHIRWANY & WEBER, 2006).

A morfologia celular também é afetada pela hipertensão. Os cardiomiócitos, graças a constante sobrecarga à qual estão sendo expostos, aumentam significativamente seu volume, especialmente a partir de um aumento no diâmetro celular, como mecanismo compensatório para a sobrecarga (MCCROSSAN et al., 2004; FOWLER et al., 2005).

A hipertensão também afeta toda a mecânica contrátil da célula. Esta mecânica está profundamente associada com a dinâmica do íon Ca^{2+} , que desencadeará todo o processo excitação-contração muscular (BERS, 2008). A partir do potencial de ação, ocorre o influxo de Ca^{2+} para dentro da célula, a partir de canais voltagem dependente que estão localizados nos túbulos T do cardiomiócito. Com a entrada do Ca^{2+} , receptores de rionodina (RyR2) são ativados, de forma a liberar o Ca^{2+} que está dentro do retículo sarcoplasmático para o citoplasma. Este Ca^{2+} se associará à troponina C, liberando o sítio de ligação da actina, onde a cabeça da miosina irá se conectar, formando assim as pontes cruzadas e, conseqüentemente, reduzindo o comprimento dos sarcômeros (contração muscular). (FABIATO & FABIATO, 1975; SCRIVEN ET AL., 2000; BERS, 2001; BERS, 2008). O Ca^{2+} retorna para o retículo sarcoplasmático a partir de diversos processos, sendo o principal dele a remoção feita pela isoforma cardíaca da Ca^{2+} ATPase

do retículo sarcoplasmático (SERCA2a). Esta proteína tem sua ação regulada pelo inibidor endógeno fosfolambam (FLB) que, quando acoplado à SERCA2a, diminui a captação de Ca^{2+} . Porém, quando a FLB é fosforilada, ela se separa da SERCA2a, permitindo, assim, sua atividade de ATPase, desassociando o Ca^{2+} da troponina C, aumentando assim a velocidade de relaxamento (TADA & KATZ, 1982; WEGENER et al., 1989; BERS 2001; MATTIAZZI et al., 2005; BERS 2008). A hipertensão afeta principalmente a fase inicial deste processo, ou seja, a fase de entrada de Ca^{2+} para o meio intracelular. Foi constatado que a hipertensão modifica a duração do potencial de ação em células de diferentes regiões do miocárdio, como resultado de uma diminuição das correntes transitórias de efluxo de K^+ (I_{to}), gerando assim uma modificação no gradiente transmural natural e uma indiferenciação elétrica entre as células mais internas (endocárdio) e mais externas (epicárdio), resultando em um potencial de ação prolongado (ROMAN-CAMPOS et al., 2012). Além disso, outro estudo recente mostrou que no próprio miócito cardíaco, a hipertensão causa um desarranjo nos túbulos T, de forma que os canais voltagem-dependentes não fiquem corretamente alinhados com os RyR2, dificultando assim a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático e, consequentemente, prejudicando a dinâmica contrátil (KRZESIAK et al., 2019).

A contração celular também é afetada pelo processo hipertensivo. A amplitude de contração se mostra aumentada, em resposta à maior dificuldade de bombear o sangue, devido à maior resistência periférica. Os tempos de contração e relaxamento também se apresentam aumentados. Isso acontece devido ao aumento de β -MHC, diminuição das correntes I_{to} e redução da atividade de SERCA2a e dos canais trocadores de sódio e cálcio (NCX) (KEMI, et al., 2008; BERNARDO et al., 2010; ROMAN-CAMPOS et al., 2012; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013).

Recentemente, vêm surgindo estudos sobre a possível relação entre a HA e epigenética. A epigenética pode ser definida como modificações na expressão gênica, normalmente causadas por metilação de DNA ou acetilação de histonas, mas que não afetam a base nucleotídica do gene (MILLIS, 2010; ZIMMER E BLOCH, 2015). Outro mecanismo analisado é a expressão de micro-RNAs (miRNA), que são RNAs não codificantes que atuam como reguladores pós-transcricionais da expressão gênica (NEVES et al., 2014).

Em um estudo, Montgomery et al. (2011) mostraram que a inibição do miRNA-208a causou uma diminuição na discrepância do conteúdo cardíaco de β -MHC e α -MHC,

que normalmente é causada por doenças cardiovasculares. Li et al. (2016) chegaram à conclusão de que o miRNA-21 atua positivamente na redução da hipertrofia patológica congênita cardíaca em ratos SHR. Nessa mesma linha, Van Rooij et al. (2009) comprovaram que a família miRNA-29 atua em respostas fibróticas ao infarto do miocárdio. A regulação negativa do miRNA-29b induz aumento na expressão de diversos genes da matriz extracelular cardíaca, incluindo múltiplos colágenos, fibrilina e elastina. Nishi et al. (2011) mostraram que uma maior expressão do miRNA-27a aumenta os níveis de β -MHC, enquanto Wang et al. (2012) trazem em seu estudo que o miRNA-27b leva à hipertrofia e disfunção cardíaca. Da mesma forma, o aumento da expressão do miRNA-195 parece estar associado com a hipertrofia patológica, podendo levar até mesmo à insuficiência cardíaca (VAN ROOIJ et al., 2006). A metilação de DNA também é um mecanismo que pode influenciar em diferentes mecanismos fisiológicos. Kim et al. (2007) mostraram uma relação entre a metilação global de DNA e doenças cardiovasculares, sendo que Smolarek et al. (2010) trazem em seu estudo relação entre a metilação de DNA no sangue e a HA.

Para combater os efeitos deletérios da HA, podem ser utilizados métodos medicamentosos como betabloqueadores e vasodilatadores, e também métodos não medicamentosos, como a atividade física.

1.3. Exercício Físico

A prática regular de exercícios físicos acarreta diversas adaptações e modificações no organismo. Estas modificações são altamente dependentes do tipo de exercício físico realizado, sendo os dois tipos principais, os aeróbios e resistidos.

Ao nível cardíaco, as adaptações derivadas destes tipos de exercícios físicos são distintas. O exercício físico aeróbio causa uma hipertrofia excêntrica, que é caracterizada pelo aumento da câmara ventricular sem o aumento da espessura de sua parede. Esta modificação acontece a partir do aumento do comprimento celular, advindo de uma organização sarcomérica em série. Esta adaptação ocorre graças a um aumento do volume sanguíneo durante a diástole ou pré-carga. O exercício resistido, por outro lado, causa uma hipertrofia concêntrica, que se caracteriza pelo aumento da espessura da parede ventricular com a manutenção de sua câmara. Esta adaptação advém do aumento da largura do cardiomiócito, proveniente de uma organização sarcomérica em paralelo. Esta

modificação acontece a partir do aumento de tensão na parede celular devido ao aumento intermitente da pressão sanguínea, provocado pela oclusão do fluxo sanguíneo muscular que diminui o retorno venoso e aumenta a pós-carga (MCMULLEN & JENNINGS, 2007; FERNANDES et al., 2011).

O exercício físico pode resultar em significativas melhoras mecânicas para o coração. A melhora da função contrátil é derivada de uma maior capacidade de contração celular, e maior velocidade de relaxamento. Estes fatores permitem um maior tempo de enchimento ventricular, que ocasiona um volume diastólico final elevado, levando a um maior volume de ejeção, diminuindo a pós-carga e permitindo assim a manutenção do débito cardíaco com uma frequência cardíaca reduzida (KEMI, et al., 2008). Ao nível molecular, foi comprovado que o exercício físico aeróbico contínuo é capaz de aumentar a entrada de Ca^{2+} no meio intracelular o que aumenta a amplitude do transiente de Ca^{2+} , a velocidade para o pico de Ca^{2+} e, conseqüentemente, a velocidade de contração do cardiomiócito. Além disso, o exercício físico aeróbico também aumenta a expressão de SERCA2a e FBL fosforilada, o que aumenta a recaptação de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático, aumentando assim, a velocidade de relaxamento. Esta recaptação, além de acelerar o relaxamento do cardiomiócito, também aumenta a quantidade de Ca^{2+} disponível no retículo sarcoplasmático, tendo assim a célula mais Ca^{2+} intracelular disponível para o próximo ciclo cardíaco (WISLØFF et al, 2001; KEMI et al., 2007; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013; KRZESIAK et al., 2019).

Ademais, recentemente, vêm surgindo estudos sobre a possível relação entre exercício físico e epigenética. No estudo de Melo et al. (2015), foi mostrada uma relação inversa entre a expressão do miRNA-214 e da proteína SERCA2a (principal responsável pela recaptação de cálcio durante o relaxamento celular cardíaco) no VE de ratos, sendo que o o treinamento resistido foi capaz de reduzir a expressão do miRNA-214 e aumentar da SERCA2a, sugerindo uma possível via de interação molecular na melhoria da fase diastólica.

Todavia, são necessários mais estudos para investigar os efeitos de diferentes tipos de treinamento físico sobre o coração.

1.4. Exercício Físico e Hipertensão

Como um dos tratamentos da HA, indica-se o exercício físico aeróbio, pois há evidências de que esse tipo de exercício reduza a PA casual e de vigília dos praticantes. O exercício físico aeróbio, realizado regularmente, provoca importantes adaptações autonômicas e hemodinâmicas, como a diminuição da atividade simpática e a bradicardia de repouso, que vão influenciar o sistema cardiovascular, contribuindo para redução da PA (RONDON E BRUM, 2003). Uma dessas adaptações é a hipertrofia cardíaca fisiológica que, ao contrário da HCP, promove um aumento da cavidade ventricular que acompanha o aumento da espessura do miocárdio, aumenta a complacência cardíaca, o volume diastólico final, a capacidade contrátil, resultando em uma melhora geral no funcionamento cardíaco (BERNARDO et al., 2010; ELLISSON et al., 2012; CARNEIRO JÚNIOR, 2013).

O treinamento aeróbio contínuo de intensidade moderada (MICT) causa uma hipertrofia excêntrica, onde existe um aumento no número de sarcômeros em série que causa um aumento da câmara ventricular, sem um grande aumento na espessura do miocárdio. O treinamento aeróbio intervalado de alta intensidade (HIIT), por sua vez, provoca uma adaptação cardíaca que se aproxima mais daquela que acontece no exercício resistido. Ele promove um aumento em paralelo dos sarcômeros, de forma que a espessura da parede ventricular aumenta consideravelmente. Este aumento, porém, é acompanhado de um aumento da câmara ventricular, mantendo o funcionamento normal do coração, sem sobrecarga. Em ambos os tipos de treinamento aeróbio, a reexpressão de genes fetais, como FNA, α -actina esquelética e β -MHC (que comumente são afetadas pela hipertensão) não são alteradas, preservando assim a função cardíaca (FERNANDES et al., 2011).

Mudanças ao nível celular também ocorrem em consequência da prática regular de exercícios aeróbios. Carneiro-Júnior et al. (2013) concluíram que o treinamento aeróbio de intensidade moderada promoveu um aumento na amplitude e diminuição na duração das fases sistólicas e diastólicas do transiente intracelular de cálcio ($[Ca^{2+}]_i$), além de aumentar a amplitude e as velocidades de contração e relaxamento de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo(VE) de ratos normotensos e SHR. Krzesiak et al (2019), em seu estudo envolvendo animais SHR treinados com protocolos de MICT e HIIT mostraram que o HIIT foi capaz de aumentar significativamente a capacidade de

contração, velocidade de encurtamento e velocidade de relaxamento de cardiomiócitos isolados, além de promover uma diminuição significativa no tempo de decaimento de Ca^{2+} .

O MICT, principalmente por meio de corrida, tem sido o mais indicado para sujeitos com HA, com intensidade variando de 40-60% do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) (FERREIRA FILHO, 2007; CARNEIRO JÚNIOR, 2013; SBC, 2016;). Porém, nos últimos anos, alguns autores apresentaram estudos que comprovam a eficácia do HIIT como tratamento não medicamentoso para HA (BORGES et al., 2013; DALPIAZ et al., 2017; LEE, HSU E CHENG, 2017; WESTON, WISLØFF E COOMBS, 2013). A maior preocupação em relação ao HIIT quando prescrito para indivíduos com HA é o risco aumentado de acidente cardiovascular, embora em meta-análise, Weston, Wisløff e Coombs (2013) chegaram à conclusão de que os riscos não são maiores que os existentes quando empregado o MICT.

Desta forma, é necessário investigar e comparar os efeitos de programas de treinamento físico aeróbico com diferentes intensidades, sobre parâmetros cardiovasculares, morfológicos e mecânicos do coração de indivíduos hipertensos. A ampliação do conhecimento a respeito dessa temática, possibilitará a adequação das estratégias de prescrição de treinamento aeróbico para a população hipertensa, de forma que se tornem cada vez mais seguras e eficazes.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos de do MICT e do HIIT sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração de ratos hipertensos.

2.2. Objetivos Específicos

Comparar os efeitos do MICT e do HIIT sobre os seguintes parâmetros de ratos normotensos e hipertensos:

- ✓ Desempenho físico;
- ✓ Parâmetros cardiovasculares;
- ✓ Morfologia e função cardíaca;
- ✓ Transiente intracelular de cálcio;
- ✓ Contração celular.

3. METODOLOGIA

3.1. Animais de experimentação e tratamentos

Nesse estudo, a variável principal para o cálculo do número de animais foi o transiente de $[Ca^{2+}]_i$. A escolha dessa variável foi retirada de um estudo prévio (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013). O nível de significância adotado foi de 5% e o poder do teste de 90%. Desta forma, encontrou-se um número de 8 ratos para cada grupo experimental. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com a diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos, elaborada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O projeto recebeu aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (processo nº 98/2017) (Anexo).

Foram utilizados nesta pesquisa 24 ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e 24 ratos Wistar normotensos, com 16 semanas de idade, advindos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa - MG. Os animais ficaram dispostos em caixas coletivas, sendo 4 por caixa, e receberam água e ração *ad libitum*. Ficaram alojados em uma sala com temperatura média de 22°C e com um ciclo claro/escuro, cada qual com duração de 12 horas. Os animais foram pesados no primeiro dia de cada semana do período experimental, utilizando-se uma balança eletrônica digital (Marte – Brasil, modelo AS5500C).

3.2. Programas de treinamento físico e avaliação do desempenho

Os ratos foram distribuídos de maneira randômica em 6 grupos, com 8 animais em cada grupo, durante um período de 8 semanas, conforme a seguir:

SHR-CONT – ratos hipertensos controles que não foram submetidos a um programa de treinamento físico;

SHR-MICT – ratos hipertensos que realizaram um treinamento aeróbio contínuo de intensidade moderada, em esteira rolante, a 60% da velocidade máxima de corrida (VMC) por 30 minutos, 5 dias por semana;

SHR-HIIT – ratos hipertensos que realizaram um treinamento aeróbio intervalado de alta intensidade, em esteira rolante, sendo 20 repetições de 30 segundos a 90% da VMC

seguidos de um intervalo ativo de 60 segundos a 45% da VMC, totalizando 30 minutos, 5 dias por semana;

WIS-CONT – ratos normotensos controles que não foram submetidos a um programa de treinamento físico;

WIS-MICT – ratos normotensos que realizaram um treinamento aeróbio contínuo de intensidade moderada, em esteira rolante, a 60% VMC por 30 minutos, 5 dias por semana;

WIS-HIIT – ratos normotensos que realizaram um treinamento aeróbio intervalado de alta intensidade, em esteira rolante, sendo 20 repetições de 30 segundos a 90% da VMC seguidos de um intervalo ativo de 60 segundos a 45% da VMC, totalizando 30 minutos, 5 dias por semana;

Para a adaptação e determinação da VMC dos animais, foi utilizado o protocolo proposto por Carneiro-Júnior et al. (2013). Antes do início do treinamento físico, todos os animais foram colocados na esteira rolante para adaptação, durante 10 min/dia, sem inclinação, 0,3 km/h, durante 5 dias. Após 48 horas, foi realizado o teste na esteira rolante para determinação da VMC, começando a 0,3 km/h, sem inclinação, com incrementos de 0,18 km/h a cada 3 minutos até a fadiga de cada animal de todos os grupos experimentais. O momento da fadiga foi definido e o teste interrompido quando os animais não mantiveram a corrida de acordo com a velocidade da esteira, mesmo sob estímulo elétrico. A intensidade do protocolo de treinamento foi monitorada pelo aumento progressivo do tempo e da velocidade de corrida, atingindo a prescrição final, a partir da 3ª semana de treinamento até o final da 8ª semana.

Os testes na esteira rolante para determinação da VMC foram realizados em cada animal de todos os grupos experimentais antes dos tratamentos, e no final da 4ª semana nos animais dos grupos treinados (SHR MICT, SHR HIIT, WIS MICT E WIS HIIT) para avaliação do tempo total de exercício até a fadiga (TTF) e redefinição da intensidade de treinamento. Quarenta e oito horas após a última sessão de treino, os testes foram repetidos em todos os animais dos grupos experimentais para avaliação dos efeitos do treinamento físico por 8 semanas sobre a capacidade de corrida (TTF).

3.3. Avaliação da FCR, PAS, PAD e PAM

A FCR, PAS, PAD e PAM de cada animal foram avaliadas antes do início dos programas de treinamento físico e 48 horas após a última sessão de exercício. As medidas foram obtidas por meio de pletismografia de cauda (LE5001; Panlab®, Barcelona, Espanha), sem utilização de nenhum método anestésico. Três medidas foram realizadas, e a mediana foi utilizada para análise.

Por um período de cinco dias antes da realização das medidas cardiovasculares iniciais, todos os ratos foram aclimatados aos aparatos e às condições utilizadas para as medidas, durante sessões diárias. Os registros foram realizados sempre no mesmo horário do dia, em sala específica, ambiente calmo, com temperatura e luminosidade devidamente controladas, sem influência de nenhum agente externo.

3.4. Avaliação ecocardiográfica

O exame ecocardiográfico transtorácico foi realizado por uma médica veterinária. Quarenta e oito horas após a última sessão de exercício, os animais foram anestesiados em câmara de indução com isoflurano 3% e oxigênio 100% em fluxo constante de 1L/minuto. Para análise ecocardiográfica o agente anestésico foi administrado por um período aproximado de 3 minutos. O exame inclui dados bidimensionais (2D) com taxa de amostragem rápida (*frame rate*) de 120 fps e modo-M, usando o sistema de ultrassom (MyLabTM30 – Esaote, Genova, Itália) com transdutor *phased array* de 11,0 MHz de frequência nominal. Os ecocardiogramas transtorácicos bidimensionais (2D) e modo-M foram obtidos com *sweep speed* de 200 mm/s e ajustados de acordo com a frequência cardíaca. As imagens foram coletadas de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia e armazenadas para análise posterior. Cada parâmetro foi mensurado em três ciclos cardíacos distintos e consecutivos e a média das medidas foi utilizada para as análises estatísticas. A espessura das paredes posterior e anterior do ventrículo esquerdo e do septo interventricular (final da diástole e final da sístole), as dimensões da câmara do ventrículo esquerdo (Fig. 1) e as frações de ejeção e de encurtamento foram mensuradas usando um método modificado preconizado pela Sociedade Americana de Ecocardiografia, durante três ciclos cardíacos consecutivos

(Sahn et al., 1978). Os registros em modo-M foram analisados usando um sistema de análise disponível no próprio aparelho.

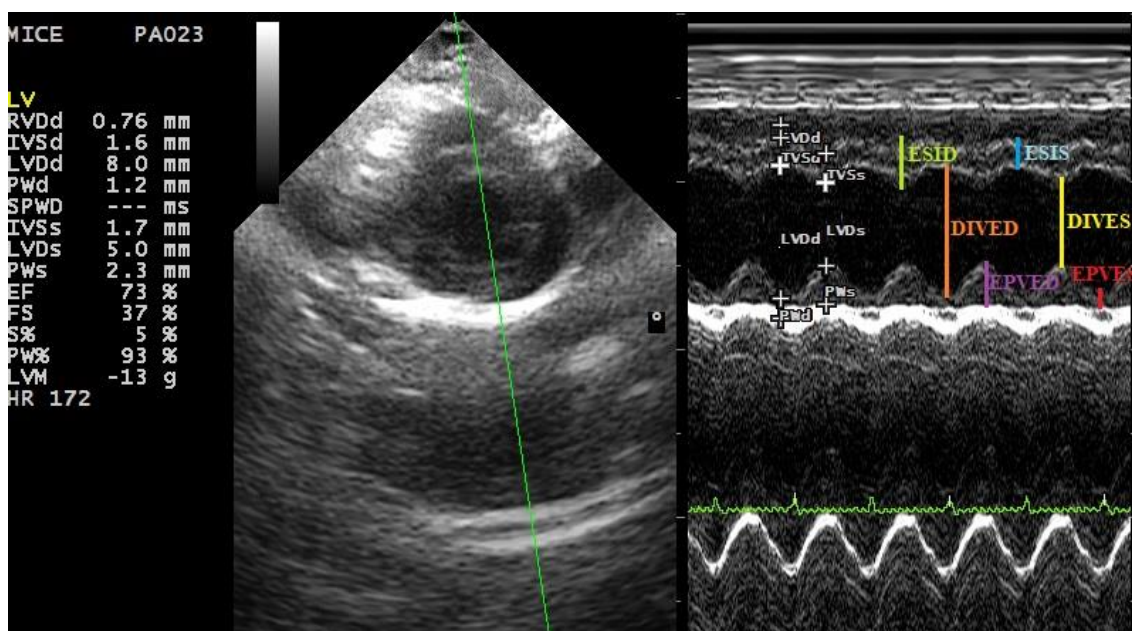


Figura 1. Imagem representativa da avaliação ecocardiográfica. ESID. Espessura do septo interventricular na diástole. ESIS. Espessura do septo interventricular na sístole. DIVED. Dimensão interna do VE na diástole. DIVES. Dimensão interna do VE na sístole. EPVED. Espessura da parede ventricular esquerda na diástole. EPVES. Espessura da parede ventricular esquerda na sístole.

3.5. Isolamento dos cardiomiócitos

Para o isolamento de cardiomiócitos, foi utilizado o método proposto por Natali et al. (2001). O método utilizado para a eutanásia foi decaptação por guilhotina e, imediatamente após, o coração foi removido por meio de toracotomia e lavado em solução de isolamento contendo 750 μM de CaCl_2 para a remoção do excesso de sangue. A seguir, o coração foi colocado em um sistema de perfusão (Langendorff adaptado) e perfundido com solução de isolamento, contendo 750 μM de CaCl_2 , até que todos os vasos coronarianos estivessem completamente limpos. A perfusão foi então trocada por uma solução livre de Ca^{2+} contendo 0,1 mM de ácido tetracético etilenoglicol (EGTA) por 6 minutos para o rompimento dos discos intercalares entre os cardiomiócitos e a quelação de Ca^{2+} . Após, o coração foi perfundido com uma solução contendo 1 mg.ml^{-1} de collagenase tipo 2 (Worthington, EUA) e 100 μM de CaCl_2 durante 25 minutos para que

as fibras colágenas extracelulares fossem digeridas. As soluções utilizadas foram oxigenadas (O_2 100% – White Martins, Brasil) e mantidas em temperatura de $\sim 36^\circ$.

Após a perfusão, os ventrículos (direito e esquerdo) foram separados dos átrios e pesados em balança de precisão (Gehaka – Brasil, modelo AG 200). O ventrículo direito foi removido e o ventrículo esquerdo foi aberto na região do septo interventricular. Os músculos papilares e o tecido conjuntivo foram removidos manualmente da superfície do ventrículo esquerdo. Os índices de hipertrofia ventricular foram calculados pela razão do peso do ventrículo esquerdo, respectivamente, pelo peso corporal de cada animal.

Em seguida, as amostras do ventrículo esquerdo foram colocadas em frascos identificados contendo 5 ml da solução enzimática (colagenase) suplementada com 1% de albumina sérica bovina. Os frascos foram agitados moderadamente durante 5 minutos, em “banho-maria” à temperatura de 37°C , sendo o tecido cardíaco oxigenado (O_2 100% – White Martins, Brasil). A seguir, o conteúdo dos frascos foi filtrado e centrifugado (3000 rpm) por 30 segundos. O sobrenadante foi removido e os cardiomiócitos foram suspensos na solução 750 μM de CaCl_2 . Esse processo foi repetido. Os cardiomiócitos foram armazenados em placas de Petri em refrigerador (5°C) até serem utilizados.

Durante as análises do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e da contração celular, os cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo foram banhados com uma solução fisiológica contendo (em mM): solução estoque: NaCl (113) – 65,99 g/l; HEPES (5) – 11,9 g/l; NaH_2PO_4 (1) – 1,42 g/l; MgSO_4 (1) – 2,46 g/l; KCl (5) – 3,72 g/l; solução sopa: Na acetato (20) – 16,4 g/100 ml; glicose (10) – 18,1 g/100 ml; insulina (5 u/l) – 0,5 g/100 ml. Para fazer um litro da solução de perfusão tampão HEPES, foram adicionados 100 ml da solução estoque, 10 ml da solução sopa e 1 ml de CaCl_2 (1) em água deionizada ultrapura (Milli-Q). Esta solução foi equilibrada para um $\text{pH} = 7,4$ e mantida em temperatura ambiente.

3.6. Avaliação do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$

Para avaliação do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, foi utilizado o método descrito por Kondo et al. (2006). As medidas foram feitas utilizando-se um microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA). Os cardiomiócitos isolados foram incubados com o indicador fluorescente de Ca^{2+} , permeável à membrana plasmática, Fura-2 ácido

aminopolicarboxílico (Fura-2AM, ThermoFisher, Waltham, EUA). Esse marcador foi preparado em uma solução estoque a base de dimetilsulfóxido – DMSO (50 µl de DMSO em 50µg de Fura-2 AM). Adicionou-se 10 µl dessa solução em 4 ml de meio celular contidos em tubo envolvido com folha fina de alumínio. A solução foi agitada em superfície plana por 10 min (velocidade ± 120 x/min). Em seguida, o tubo foi centrifugado por 30s (3.000 rpm), removeu-se o sobrenadante e os cardiomiócitos foram ressuspensos em 4 ml de solução Tyrode contendo 750 µM de CaCl_2 . Após esse procedimento, os cardiomiócitos foram levados para um refrigerador (5° C) por 30 min.

Todo o procedimento descrito anteriormente foi realizado sem exposição à luz. Após os 30 min de descanso, o transiente intracelular de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ foi medido utilizando-se um sistema de excitação dupla que detecta a fluorescência excitada por luz UV com comprimento de 340 e 380 nm (Ionoptix – EUA). Os cardiomiócitos incubados com Fura-2 foram colocados em uma câmara experimental, montada em um microscópio invertido, e foram banhados com solução Tyrode contendo (em mM): 137 NaCl, 5,4 KCl, 0,33 NaH_2PO_4 , 0,5 MgCl_2 , 5 HEPES, 5,6 glucose, e 1,8 CaCl_2 , (pH 7,4) em temperatura de $\sim 37^\circ\text{C}$. O cardiomiócito em avaliação foi posicionado dentro de uma janela ajustável, com bordas aparentes, e estimulados externamente nas frequências de 3, 5 e 7 Hz (40 Volts, duração de 5 ms) usando-se um estimulador elétrico (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA). A emissão de fluorescência foi detectada entre 340 e 380 nm, por um tubo fotomultiplicador. A fluorescência registrada é a razão entre as excitações de 340 e 380 nm.

A partir dos registros obtidos, foram analisados: a amplitude do transiente intracelular de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (razão 340/380), o tempo para o pico do transiente intracelular de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (tempo compreendido desde a estimulação elétrica até a fluorescência máxima, ms) e o tempo para 50% do decaimento do transiente intracelular de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (tempo compreendido desde a fluorescência máxima até a metade do retorno à fluorescência basal, ms) (Fig. 2). Todos os parâmetros foram determinados utilizando-se o programa IonWizard 6.3 (Ionoptix, EUA).

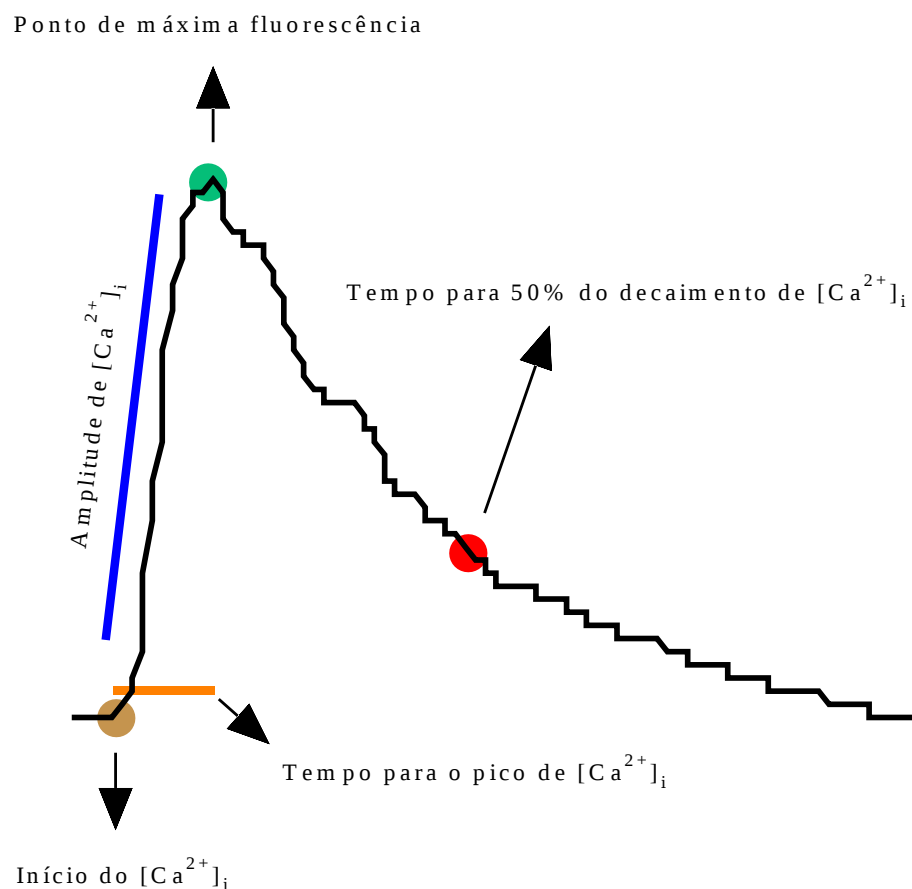


Figura 2. Traçado representativo do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ e os parâmetros avaliados.

3.7. Contração celular

A análise da contração foi feita como descrita por Roman-Campos (2009). As contrações dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo foram medidas usando a técnica de alteração do comprimento dos cardiomiócitos usando-se o sistema de detecção de bordas (Ionoptix, EUA) montado num microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA). Os cardiomiócitos isolados foram acomodados em uma câmara experimental giratória com a base de vidro montada no microscópio, e banhados pela solução de perfusão tampão HEPES (previamente descrita) a uma temperatura de $\sim 37^\circ$. Foram visualizados em um monitor através de uma câmera (Myocam, Ionoptix, EUA) acoplada ao

microscópio invertido, utilizando um programa de detecção de imagens (Ionwizard, Ionoptix, EUA) com uma frequência de 240 Hz.

Os cardiomiócitos foram estimulados externamente à frequência de 3, 5 e 7 Hz (20 V, duração de 5 ms) a partir de um par de eletrodos de aço, acoplado nos dois lados internos da câmara, através de um estimulador elétrico (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA). As bordas dos cardiomiócitos foram identificadas com duas janelas (direita e esquerda) e definidas através do ajuste do contraste (preto e branco) gerado pela qualidade da imagem projetada dos cardiomiócitos (Fig. 3). As contrações dos cardiomiócitos após a estimulação elétrica foram capturadas pelo sistema de detecção de bordas (Ionwizard, Ionoptix, EUA) e armazenadas para análise. A partir dos registros obtidos, foram analisadas a amplitude de contração (variação do comprimento celular de repouso, %), tempo para o pico de contração e tempo para 50% do relaxamento (Fig. 4). Todos os parâmetros foram determinados utilizando o programa IonWizard 6.3 (Ionoptix, EUA).

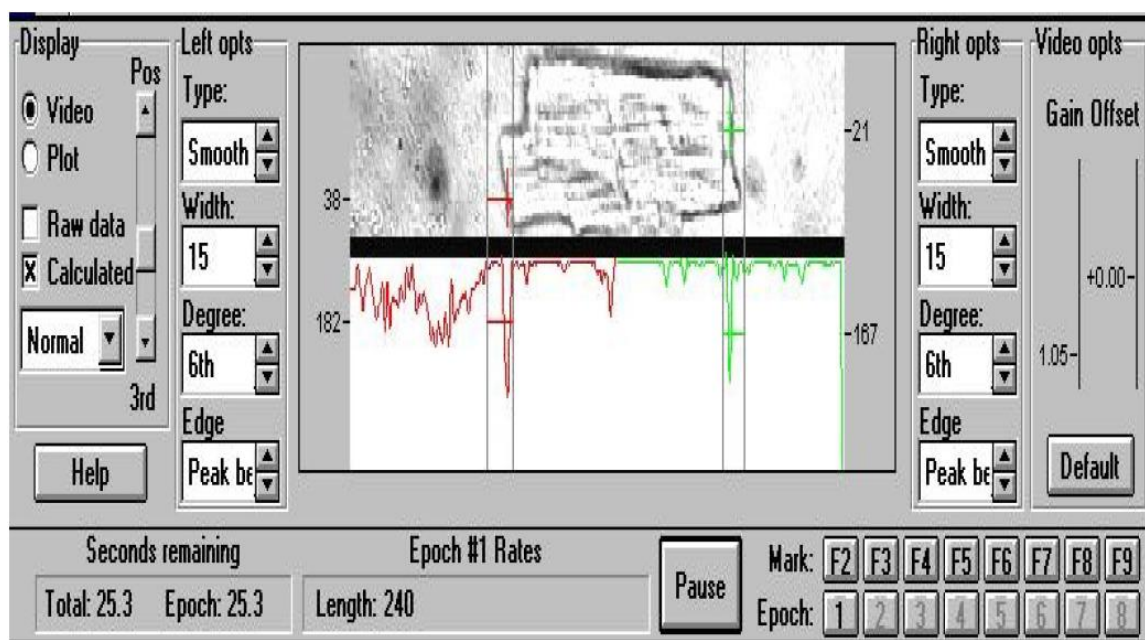


Figura 3. Representação do programa utilizado para aquisição das imagens e dos registros das contrações dos cardiomiócitos isolados. A definição de bordas direita e esquerda é projetada através dos picos verde e vermelho, respectivamente.

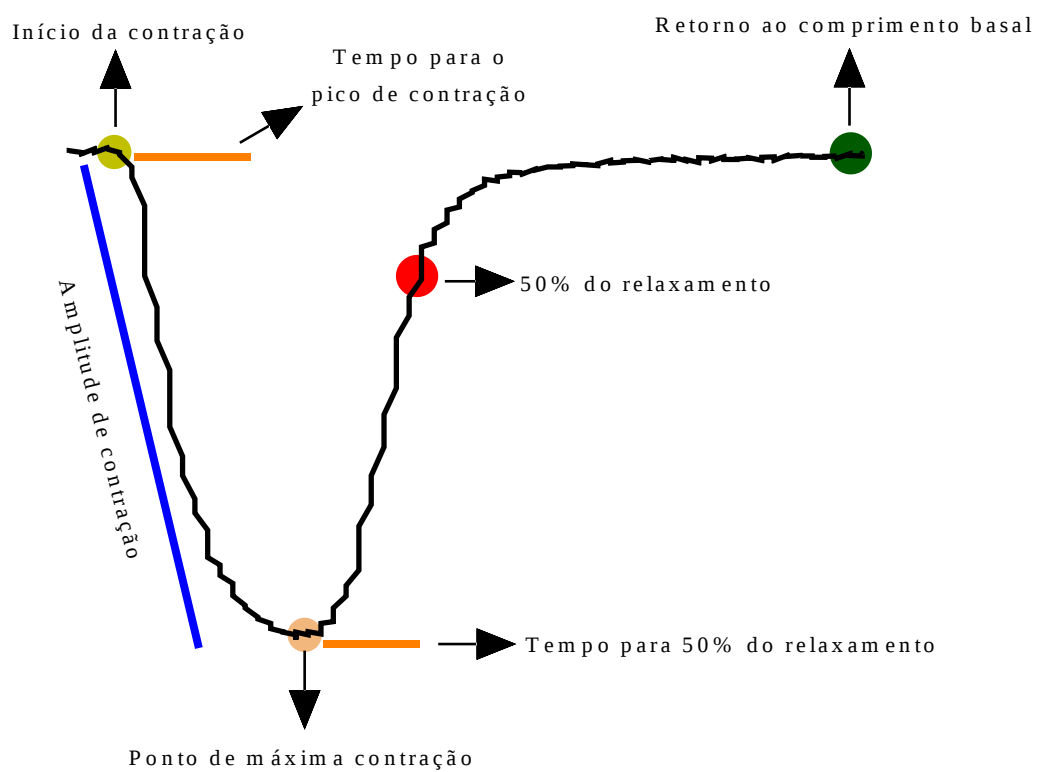


Figura 4. Traçado representativo da contração celular e os parâmetros avaliados.

3.8. Análise estatística

A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as comparações das variáveis entre os 6 grupos experimentais foi utilizada a análise de variância (ANOVA) fatorial 2 (normotenso vs. hipertenso) por 3 (controle vs. MICT vs HIIT), seguida do post-hoc de Tukey. Para as comparações temporais foi utilizado o teste t pareado. Os dados foram apresentados como média $\pm$ erro-padrão da média (EPM). Foi utilizado o programa estatístico SigmaPlot, v.12.0. O nível de significância adotado foi de 5%.

4. RESULTADOS

A Figura 5 apresenta os dados de FC, PAS, PAD e PAM de ratos normotensos e hipertensos antes e após o treinamento.

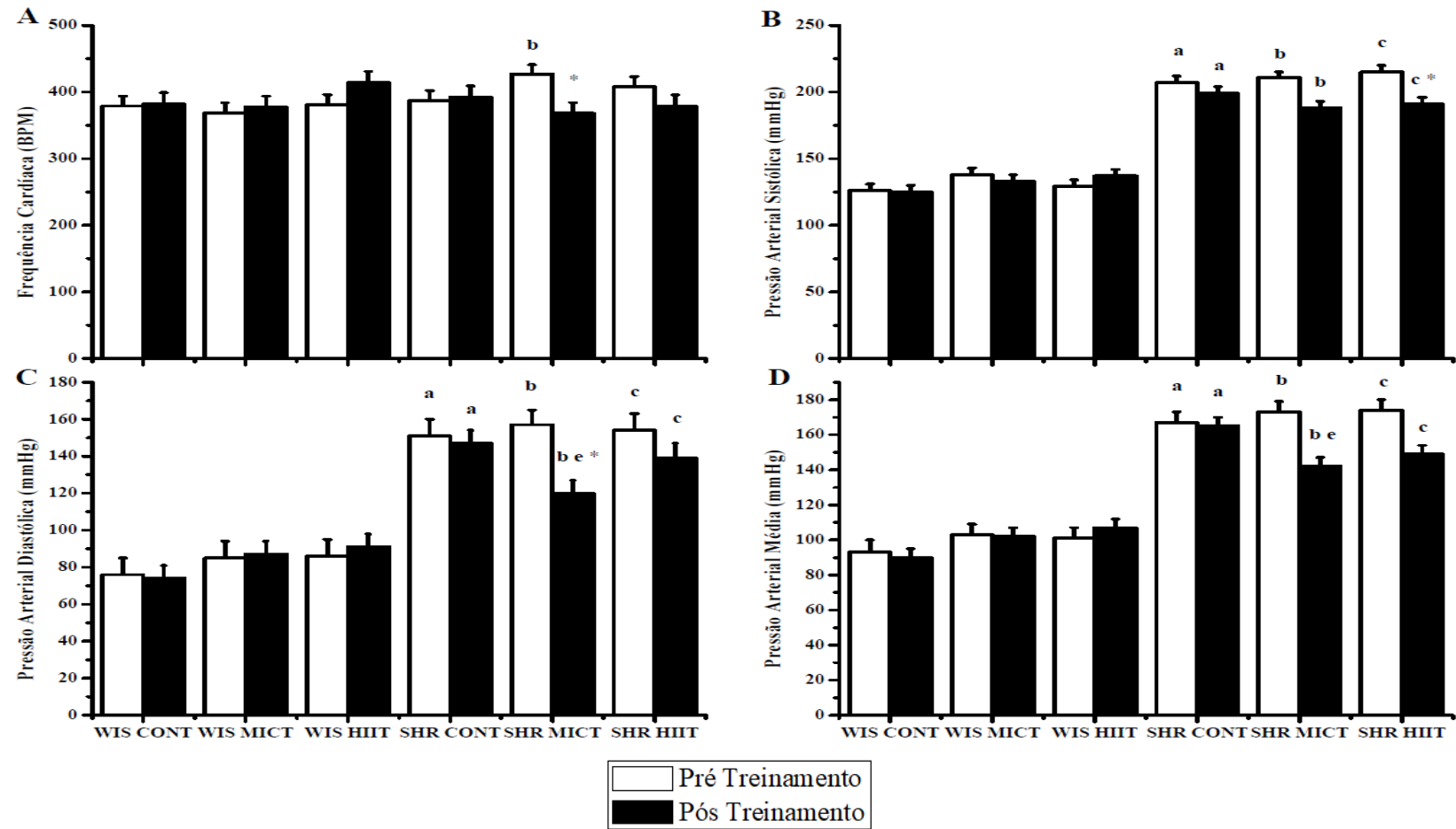


Figura 5. A) Frequência Cardíaca (FC), B) Pressão Arterial Sistólica (PAS), C) Pressão Arterial Diastólica (PAD) e D) Pressão Arterial Média (PAM) dos animais normotensos e hipertensos antes e após os treinamentos. Dados são média $\pm$ EPM de 6 animais em cada grupo. WIS CONT, normotenso sem treinamento. WIS MICT, normotenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. WIS HIIT, normotenso com treinamento intervalado de alta intensidade. SHR CONT, hipertenso sem treinamento. SHR MICT, hipertenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. SHR HIIT, hipertenso com treinamento intervalado de alta intensidade. FC, Frequência cardíaca. PAS, Pressão arterial sistólica. PAD, Pressão arterial diastólica. PAM, Pressão arterial média. Anova Two-Way seguido de Tukey. ^a $P < 0,05$ SHR CONT vs. WIS CONT, ^b $P < 0,05$ SHR MICT vs. WIS MICT, ^c $P < 0,05$ SHR HIIT vs. WIS HIIT, ^d $P < 0,05$ SHR HIIT vs. SHR CONT, ^e $P < 0,05$ SHR MICT vs. SHR CONT, ^f $P < 0,05$ SHR HIIT vs. SHR MICT, ^g $P < 0,05$ WIS MICT vs. WIS CONT, ^h $P < 0,05$ WIS HIIT vs. WIS CONT, ⁱ $P < 0,05$ WIS HIIT vs. WIS MICT. Teste t pareado. * $P < 0,05$ pós treinamento vs. pré treinamento.

A FC (Fig. 4A) mostrou-se mais alta apenas no grupo SHR MICT quando comparado com seu respectivo grupo normotenso ($P \leq 0,01$). Após o período de treinamento, no entanto, este grupo demonstrou uma FC média semelhante aos demais.

Para a PAS (Fig. 4B), os animais hipertensos apresentaram valores superiores em relação aos normotensos ($P < 0,001$). O HIIT apresentou redução significativa ($P < 0,05$) em relação ao seu valor inicial. O grupo MICT apresentou uma tendência ($P = 0,09$) de redução em relação ao seu valor inicial.

Para a PAD (Fig. 4C), os animais hipertensos apresentaram valores superiores em relação aos normotensos ($P < 0,001$). O grupo MICT apresentou redução significativa ($P < 0,05$) tanto em relação ao seu valor inicial quanto em relação ao seu respectivo controle.

Para a PAM (Fig. 4D), os animais hipertensos apresentaram valores superiores em relação aos normotensos ($P < 0,001$). O grupo MICT reduziu estatisticamente este valor em relação ao seu controle ($P < 0,05$) e demonstrou ainda uma tendência à redução em relação ao seu valor inicial ($P = 0,07$). O grupo HIIT demonstrou uma tendência à redução em relação ao seu valor inicial ($P = 0,10$).

A figura 5 apresenta os dados do TTF dos animais normotensos e hipertensos antes e após os protocolos de treinamento físico.

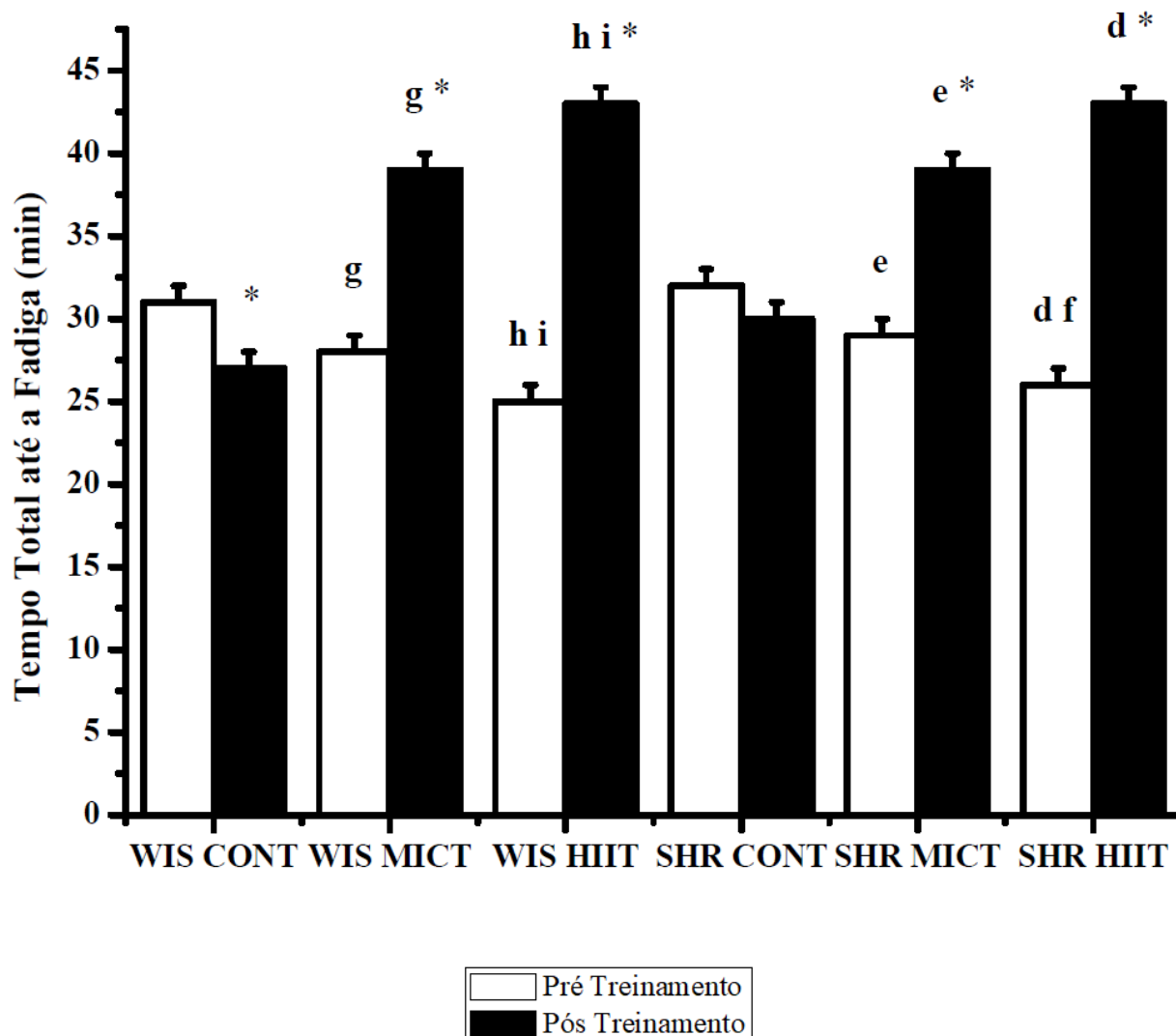


Figura 6. Tempo total até a fadiga em animais normotensos e hipertensos antes e após os protocolos de exercício. Dados são média $\pm$ EPM de 6 animais em cada grupo. WIS CONT, normotenso sem treinamento. WIS MICT, normotenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. WIS HIIT, normotenso com treinamento intervalado de alta intensidade. SHR CONT hipertenso sem treinamento. SHR MICT hipertenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. SHR HIIT hipertenso com treinamento intervalado de alta intensidade. Anova Two-Way seguido de Tukey. ^d $P < 0,05$ SHR HIIT vs. SHR CONT, ^e $P < 0,05$ SHR MICT vs. SHR CONT, ^f $P < 0,05$ SHR HIIT vs. SHR MICT, ^g $P < 0,05$ WIS MICT vs. WIS CONT, ^h $P < 0,05$ WIS HIIT vs. WIS CONT, ⁱ $P < 0,05$ WIS HIIT vs. WIS MICT. Teste t pareado. * $P < 0,05$ pós treinamento vs. pré treinamento.

O TTF (Fig. 5) foi diferente ($P < 0,05$) entre os grupos controle, MICT e HIIT de cada modelo (normotenso e hipertenso), porém, não entre os modelos. Ambos os protocolos de treinamento aumentaram significativamente o TTF, tanto em relação ao valor inicial de cada grupo, quanto em relação aos seus respectivos controles ($P < 0,001$). O grupo WIS HIIT foi estatisticamente superior ao WIS MICT após o treinamento ($P < 0,05$). O grupo SHR HIIT apresentou uma tendência à diferença ($P = 0,09$) em relação ao SHR MICT. O grupo WIS CONT mostrou uma diminuição do TTF ($P < 0,05$) em relação ao seu valor inicial.

A tabela 1 apresenta o peso corporal, peso do coração, peso do VE e pesos relativos do coração e do VE dos animais normotensos e hipertensos.

Tabela 1. Peso corporal, peso do coração, peso do VE e pesos relativos do coração e do VE dos ratos normotensos e hipertensos

Variável/Grupo	WIS CON	WIS MICT	WIS HIIT	SHR CONT	SHR MICT	SHR HIIT
Peso Inicial (g)	357 ± 10	357 ± 10	359 ± 10	271 ± 11 ^a	263 ± 10 ^b	257 ± 12 ^c
Peso Final (g)	446 ± 13	409 ± 13	399 ± 13 ^h	278 ± 14 ^a	286 ± 13 ^b	307 ± 15 ^c
Peso Coração (g)	1,44 ± 0,1	1,42 ± 0,2	1,35 ± 0,1	1,51 ± 0,2	1,45 ± 0,2	1,70 ± 0,3 ^{cdf}
Peso Coração/Peso Corporal (mg/g)	3,26 ± 0,2	3,47 ± 0,2	3,42 ± 0,2	5,71 ± 0,3 ^a	5,11 ± 0,2 ^b	5,55 ± 0,3 ^c
Peso VE (g)	1,24 ± 0,1	1,18 ± 0,1	1,12 ± 0,1	1,47 ± 0,2 ^a	1,35 ± 0,2 ^b	1,59 ± 0,2 ^c
Peso VE/Peso Corporal (mg/g)	2,78 ± 0,4	2,88 ± 0,4	2,81 ± 0,4	5,63 ± 0,4 ^a	4,75 ± 0,4 ^b	5,18 ± 0,4 ^c

Dados são média ± EPM de 6 animais em cada grupo. WIS CONT, normotenso sem treinamento. WIS MICT, normotenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. WIS HIIT, normotenso com treinamento intervalado de alta intensidade. SHR CONT hipertenso sem treinamento. SHR MICT hipertenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. SHR HIIT hipertenso com treinamento intervalado de alta intensidade. * significativamente diferente do respectivo grupo NORMOTENSO. Anova Two-Way seguido de Tukey. ^a P < 0,05 SHR CONT vs. WIS CONT, ^b P < 0,05 SHR MICT vs. WIS MICT, ^c P < 0,05 SHR HIIT vs WIS HIIT, ^d P < 0,05 SHR HIIT vs. SHR CONT, ^e P < 0,05 SHR MICT vs. SHR CONT, ^f P < 0,05 SHR HIIT vs. SHR MICT, ^g P < 0,05 WIS MICT vs. WIS CONT, ^h P < 0,05 WIS HIIT vs. WIS CONT, ⁱ P < 0,05 WIS HIIT vs. WIS MICT. Teste t pareado.

Os animais hipertensos apresentaram valores inferiores aos normotensos tanto no peso inicial quanto no peso final ($P < 0,001$). O HIIT reduziu significativamente o peso final dos ratos normotensos em relação ao seu controle.

O grupo SHR HIIT apresentou um valor aumentado do peso do coração, em comparação ao SHR CONT e SHR MICT ($P < 0,01$) e ao WIS HIIT ($P < 0,001$). A razão do peso do coração pelo peso corporal foi superior nos animais hipertensos ($P < 0,001$) em comparação aos normotensos e não houve efeito do treinamento físico ($P > 0,05$).

O peso do VE e a razão do peso do VE pelo peso corporal foi superior nos animais hipertensos ($P < 0,001$) em comparação aos normotensos, e não houve efeito do treinamento físico ($P > 0,05$) sobre esses valores.

A tabela 2 apresenta os dados da avaliação ecocardiográfica dos animais normotensos e hipertensos.

Tabela 2. Dados da ecocardiografia dos animais normotensos e hipertensos.

Variável/Grupos	WIS CON	WIS MICT	WIS HIIT	SHR CONT	SHR MICT	SHR HIIT
ESID (mm)	1,71 ± 0,12	1,86 ± 0,12	1,60 ± 0,12	2,19 ± 0,12 ^a	1,84 ± 0,12	1,98 ± 0,13 ^c
ESIS (mm)	2,04 ± 0,12	2,34 ± 0,11	2,11 ± 0,11	2,44 ± 0,12 ^a	2,19 ± 0,11	2,60 ± 0,13 ^{cf}
DIVED (mm)	7,97 ± 0,28	7,79 ± 0,26	7,72 ± 0,26	7,27 ± 0,28	7,20 ± 0,26	8,15 ± 0,31
DIVES (mm)	5,23 ± 0,27	4,82 ± 0,25	4,85 ± 0,25	5,10 ± 0,27	4,82 ± 0,25	5,48 ± 0,29
EPVED (mm)	1,60 ± 0,15	1,42 ± 0,14	1,52 ± 0,14	1,98 ± 0,15 ^a	2,09 ± 0,14 ^b	2,49 ± 0,16 ^{cd}
EPVES (mm)	2,30 ± 0,16	2,32 ± 0,15	2,34 ± 0,15	2,69 ± 0,16 ^a	2,75 ± 0,15 ^b	3,25 ± 0,18 ^{cdf}
Fração Ejeção (%)	68,7 ± 2,9	73,4 ± 2,8	73,4 ± 2,8	63,0 ± 2,9	66,5 ± 2,8	66,5 ± 3,2
Fração Encurtamento (%)	34,4 ± 2,2	38,0 ± 2,1	38,4 ± 2,1	30,1 ± 2,2	32,6 ± 2,1	32,7 ± 2,4

Dados são média ± EPM de 6 animais em cada grupo. WIS CONT, normotenso sem treinamento. WIS MICT, normotenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. WIS HIIT, normotenso com treinamento intervalado de alta intensidade. SHR CONT hipertenso sem treinamento. SHR MICT hipertenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. SHR HIIT hipertenso com treinamento intervalado de alta intensidade. ESID. Espessura do septo interventricular na diástole. ESIS. Espessura do septo interventricular na sístole. DIVED. Dimensão interna do VE na diástole. DIVES. Dimensão interna do VE na sístole. EPVED. Espessura da parede ventricular esquerda na diástole. EPVES. Espessura da parede ventricular esquerda na sístole. Anova Two-Way seguido de Tukey. ^a P < 0,05 SHR CONT vs. WIS CONT, ^b P < 0,05 SHR MICT vs. WIS MICT, ^c P < 0,05 SHR HIIT vs WIS HIIT, ^d P < 0,05 SHR HIIT vs. SHR CONT, ^e P < 0,05 SHR MICT vs. SHR CONT, ^f P < 0,05 SHR HIIT vs. SHR MICT, ^g P < 0,05 WIS MICT vs. WIS CONT, ^h P < 0,05 WIS HIIT vs. WIS CONT, ⁱ P < 0,05 WIS HIIT vs. WIS MICT.

A ESID mostrou-se elevada nos grupos SHR CONT e SHR HIIT em relação aos seus respectivos normotensos ($P < 0,05$). O MICT, entretanto, foi capaz de aproximar-se dos valores apresentados pelos animais normotensos.

A ESIS, tanto no SHR CONT quanto no SHR HIIT apresentaram valores superiores quando comparados com WIS CONT e WIS HIIT, respectivamente ($P < 0,05$). O grupo SHR HIIT apresentou ainda valores superiores aos do SHR MICT ($P < 0,05$). O MICT foi capaz de atenuar estes efeitos, sendo que o grupo SHR MICT apresentou valores semelhantes aos do grupo WIS MICT.

As variáveis DIVED e DIVES não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, tanto em relação aos efeitos da hipertensão e dos programas de treinamento físico ($P > 0,05$).

A hipertensão causou aumento ($P < 0,001$) da EPVED, sendo que os grupos SHR apresentaram valores superiores em comparação aos seus normotensos controles. O grupo SHR HIIT também apresentou um valor superior ao do grupo SHR CONT ($P < 0,05$). Para a EPVES, todos os grupos SHR também apresentaram valores superiores aos seus respectivos normotensos ($P < 0,001$). O SHR HIIT apresentou ainda valores superiores aos grupos SHR CONT e SHR MICT ($P < 0,05$).

Para ambas as variáveis de função cardíaca, fração de ejeção e fração de encurtamento, não houve efeito da hipertensão e de ambos os protocolos de treinamento físico ($P > 0,05$).

A figura 6 apresenta os gráficos representativos do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ dos cardiomiócitos na intensidade de 5 Hz, seguida da figura 7 que apresenta a amplitude do transiente de $[Ca^{2+}]_i$, o tempo para o pico do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ e o tempo para 50% do decaimento do transiente de $[Ca^{2+}]_i$.

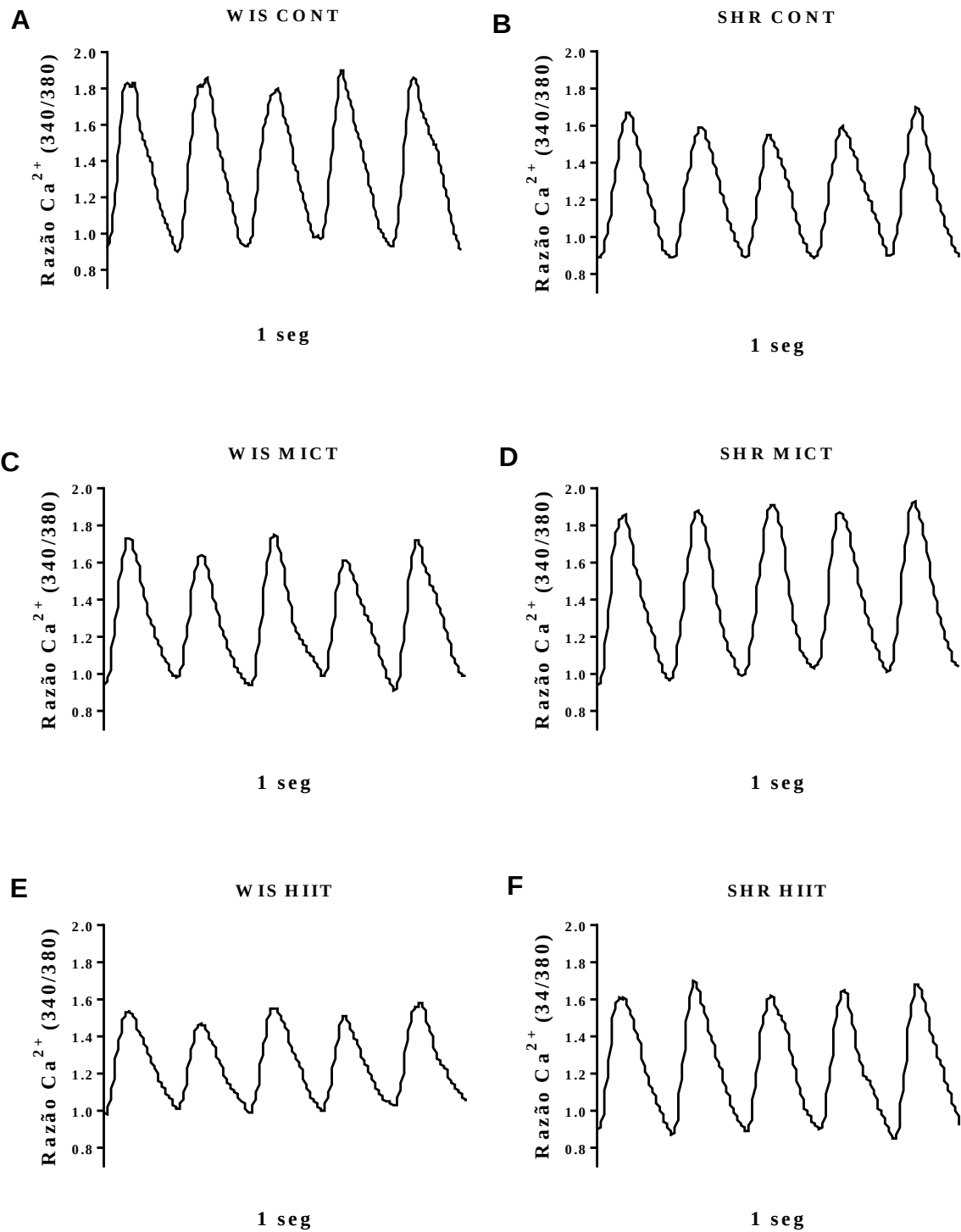


Figura 7. Traçados representativos de resposta do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ na estimulação de 5 Hz em A) WIS CONT; B) SHR CONT; C) WIS MICT; D) SHR MICT; E) WIS HIIT e F) SHR HIIT.

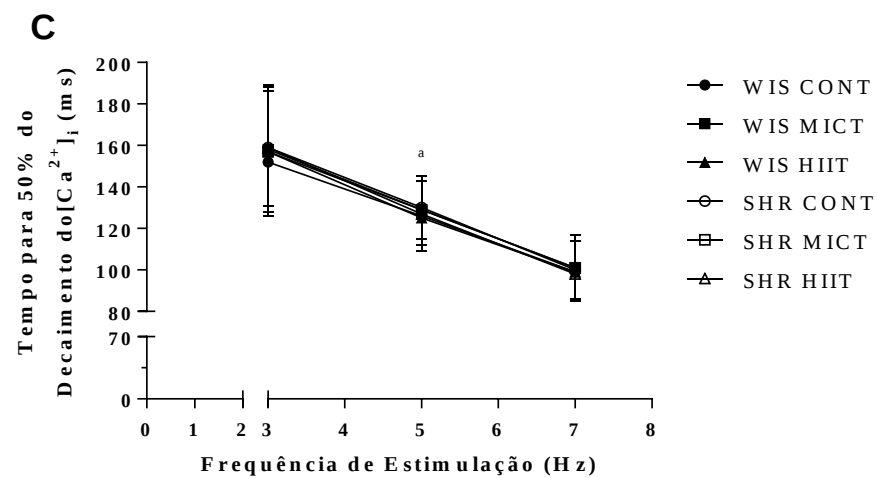
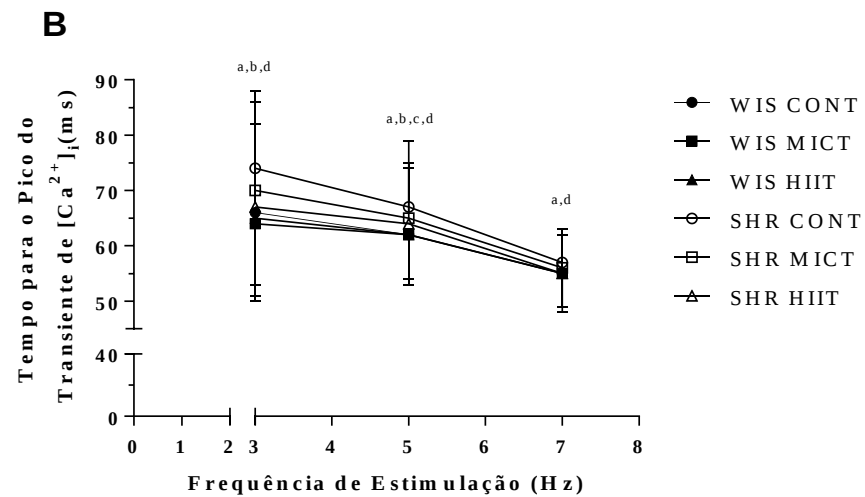
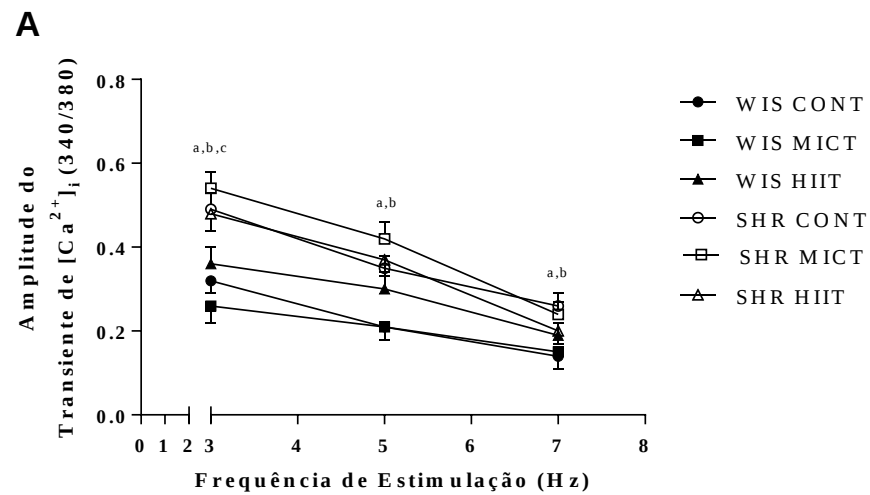


Figura 8. A) Amplitude do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$, B) Tempo para o Pico do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$, C) Tempo para 50% do decaimento do Transiente de $[Ca^{2+}]_i$. Dados são média $\pm$ EPM de 6 a 10 células por animal por grupo (n= 6 animais em cada grupo). WIS CONT, normotenso sem treinamento. WIS MICT, normotenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. WIS HIIT, normotenso com treinamento intervalado de alta intensidade. SHR CONT hipertenso sem treinamento. SHR MICT hipertenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. SHR HIIT hipertenso com treinamento intervalado de alta intensidade. Painéis A, B e C, Anova Two-Way seguido de Tukey. ^a $P < 0,05$ SHR CONT vs. WIS CONT, ^b $P < 0,05$ SHR MICT vs. WIS MICT, ^c $P < 0,05$ SHR HIIT vs WIS HIIT, ^d $P < 0,05$ SHR HIIT vs. SHR CONT.

A amplitude do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ (Fig. 7A) foi superior nos cardiomiócitos dos animais hipertensos em todas as frequências de estimulação ($P < 0,001$). Nas estimulações de 5 e 7 Hz, os cardiomiócitos do grupo SHR HIIT apresentaram valores semelhantes aos do grupo WIS HIIT.

Quanto ao tempo para o pico do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ (Fig. 7B), os cardiomiócitos dos animais hipertensos apresentaram valores superiores aos dos animais normotensos em todas as frequências de estimulação ($P < 0,001$). Os cardiomiócitos do grupo SHR MICT apresentaram valores próximos aos dos seus respectivos normotensos na estimulação de 7 Hz. O HIIT foi capaz de reduzir significativamente ($P < 0,05$) estes valores em todas as frequências.

O tempo para 50% do decaimento do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ (Fig. 7C) foi superior apenas nos cardiomiócitos do grupo SHR CONT à 5 Hz ($P < 0,05$), em comparação aos dos WIS CONT. Não houve efeitos dos protocolos de treinamento físico sobre esse parâmetro.

A figura 9 apresenta os gráficos representativos da contração celular na frequência de 5 Hz, seguida da figura 10 que apresenta a amplitude de contração e o tempo para o pico de contração, o tempo para 50% do relaxamento.

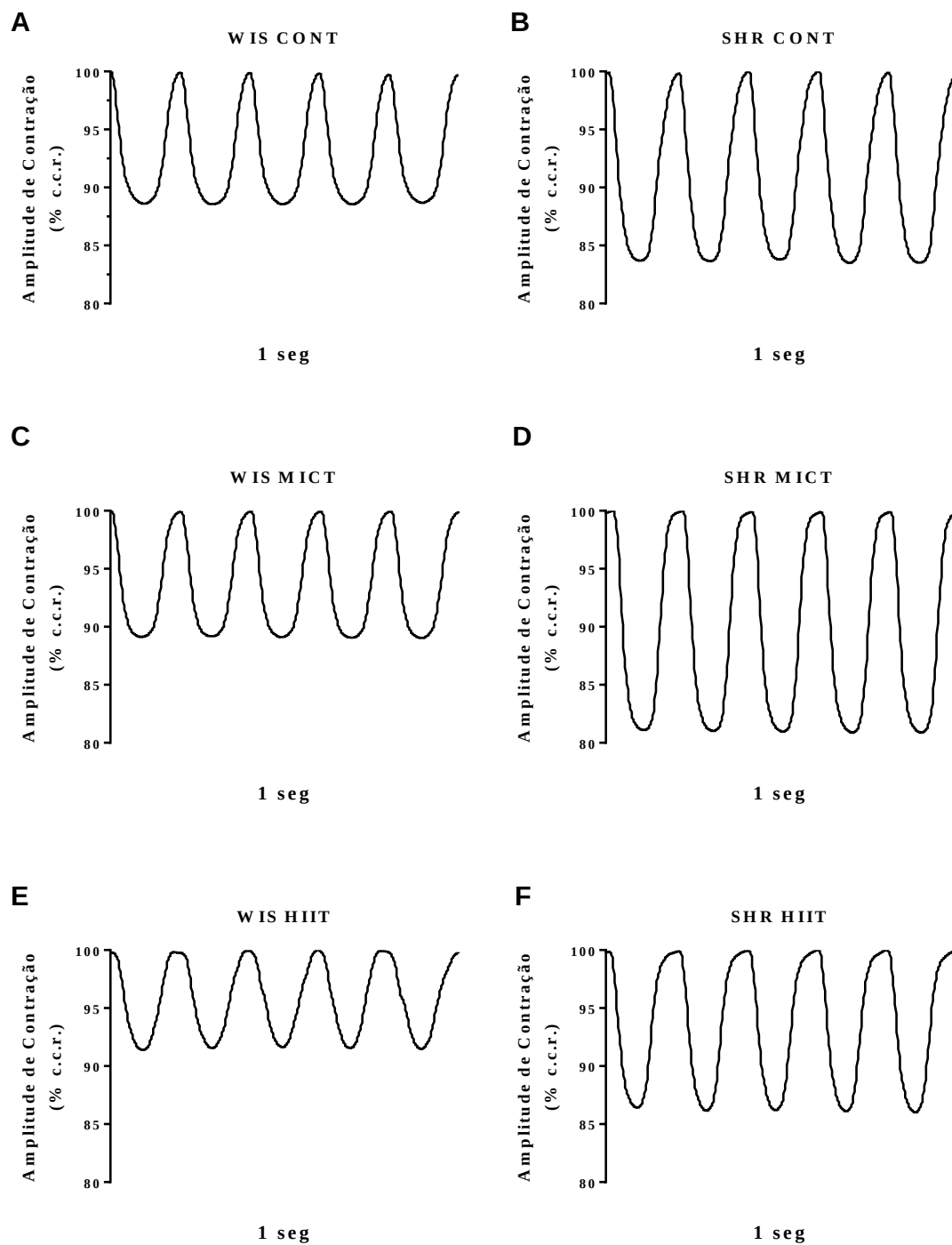


Figura 9. Traçados representativos de resposta da amplitude de contração na estimulação de 5 Hz em A) WIS CONT; B) SHR CONT; C) WIS MICT; D) SHR MICT; E) WIS HIIT e F) SHR HIIT.

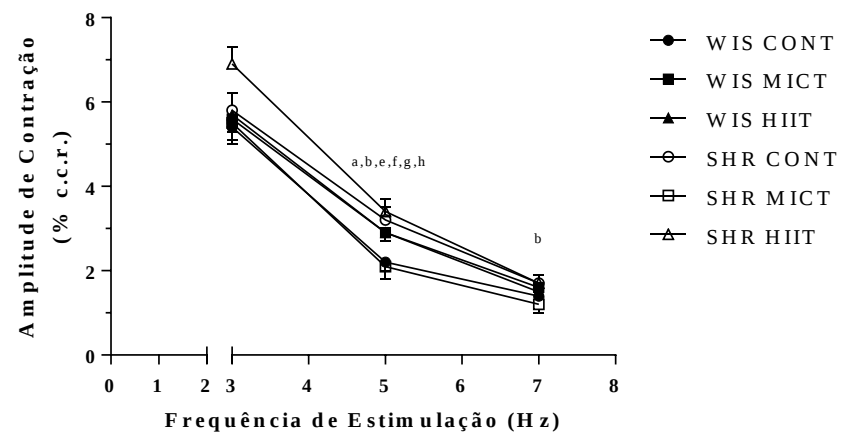
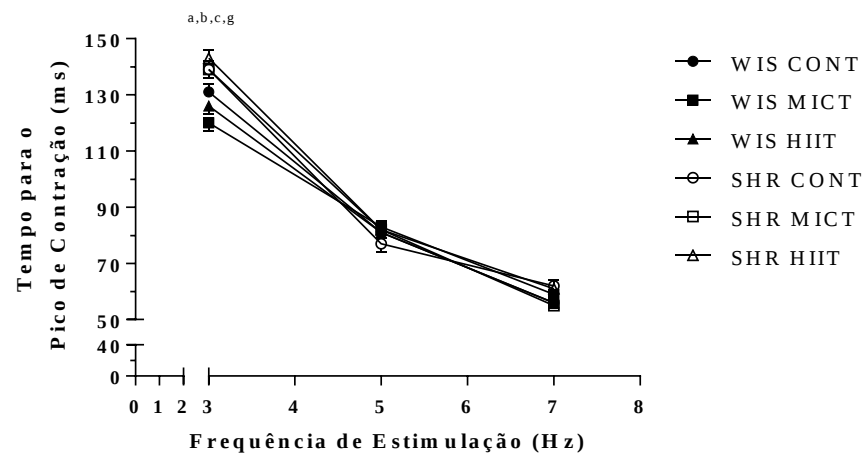
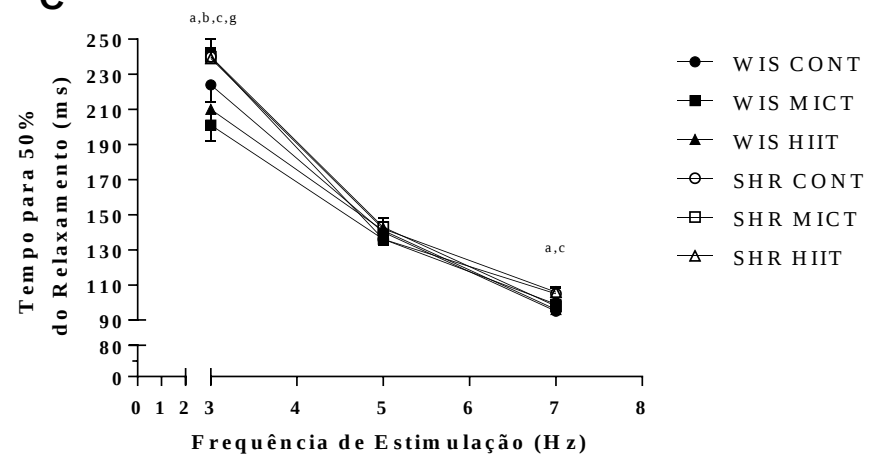
A**B****C**

Figura 10. Contração celular. A) Amplitude de Contração B) Tempo para o Pico de Contração, C) Tempo para 50% do Relaxamento. Dados são média $\pm$ EPM de 6 a 10 células por animal por grupo (n= 6 animais em cada grupo). WIS CONT, normotenso sem treinamento. WIS MICT, normotenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. WIS HIIT, normotenso com treinamento intervalado de alta intensidade. SHR CONT hipertenso sem treinamento. SHR MICT hipertenso com treinamento aeróbio moderado contínuo. SHR HIIT hipertenso com treinamento intervalado de alta intensidade. Painéis A, B e C, Anova Two-Way seguido de Tukey. ^a $P < 0,05$ SHR CONT vs. WIS CONT, ^b $P < 0,05$ SHR MICT vs. WIS MICT, ^c $P < 0,05$ SHR HIIT vs WIS HIIT, ^e $P < 0,05$ SHR MICT vs. SHR CONT, ^f $P < 0,05$ SHR HIIT vs. SHR MICT, ^g $P < 0,05$ WIS MICT vs. WIS CONT, ^h $P < 0,05$ WIS HIIT vs. WIS CONT.

A amplitude de contração (Fig. 9A) foi superior nos cardiomiócitos dos animais hipertensos na frequência de 5 Hz ($P < 0,01$). O MICT foi capaz de reduzir ($P < 0,01$) esses valores na estimulação de 5 Hz em relação ao SHR CONT. Todavia, os cardiomiócitos dos animais treinados normotensos apresentaram valores significativamente superiores aos dos seus controles ($P < 0,05$). Os cardiomiócitos do grupo WIS MICT apresentaram valores superiores aos do grupo SHR MICT ($P < 0,05$) nas frequências de 5 e 7 Hz.

Em relação ao tempo para o pico de contração (Fig. 9B), os cardiomiócitos dos animais hipertensos apresentaram valores superiores aos dos normotensos na estimulação de 3 Hz ($P < 0,001$). O grupo WIS MICT apresentou valores inferiores relativamente ao WIS CONT ($P < 0,05$). Nas estimulações de 5 e 7 Hz não houve diferenças significativas entre os grupos ($P > 0,05$).

O tempo para 50% do relaxamento (Fig. 9C) foi superior nos cardiomiócitos dos animais hipertensos na estimulação de 3 Hz ($P < 0,001$) e de 7 Hz ($P < 0,01$) em comparação aos normotensos. Os cardiomiócitos do grupo SHR MICT apresentaram valores semelhantes aos do grupo WIS MICT quando estimulados a 7 Hz ($P < 0,05$). Quando estimulados a 3 Hz, os cardiomiócitos do grupo WIS MICT apresentaram valores inferiores em relação ao seu controle ($P < 0,001$), e os do grupo WIS HIIT apresentaram uma tendência à diminuição em relação ao seu controle ($P = 0,09$).

5. DISCUSSÃO

Neste estudo, foram investigados os efeitos do MICT e do HIIT sobre os parâmetros cardiovasculares, propriedades morfológicas e funcionais do coração e propriedades mecânicas de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos hipertensos.

Os resultados mostraram que ambos os programas de treinamento físico aumentaram a capacidade de corrida dos animais, avaliada por meio do TTF. Nos ratos hipertensos, o MICT reduziu a FC de repouso, tendeu a diminuir a PAS, diminuiu a PAD, a PAM, a ESID e a ESIS, e a amplitude de contração a 5 Hz.

O HIIT, por sua vez, induziu um aumento no peso do coração, na EPVES e EPVED, além de uma redução da PAS e uma tendência à diminuição da PAM. O HIIT causou uma diminuição do tempo para o pico do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ em todas as frequências de estimulação estudadas.

Em relação aos animais normotensos, o MICT provocou um aumento na amplitude de contração dos cardiomiócitos na estimulação de 5 Hz, uma diminuição no tempo de pico para contração e para o tempo para 50% do relaxamento à 3 Hz.

O HIIT, por sua vez, provocou uma diminuição no peso final, um aumento do pico de contração à 5 Hz e uma tendência à diminuição do tempo para 50% do relaxamento à 3 Hz.

Já está bem documentado na literatura que o treinamento aeróbio contínuo de intensidade leve a moderada provoca adaptações cardíacas benéficas tanto em animais normotensos quanto em hipertensos (NATALI et al., 2002, BOCALINI et al., 2010, CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2010; LIBONATI et al., 2011; ROMAN-CAMPOS et al., 2012; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013, CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013; CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2014; CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2019). Em relação ao treinamento aeróbio intervalado de alta intensidade, por outro lado, existem relatos de disfunções elétricas ventriculares em animais normotensos (BENITO et al., 2011) e disfunções no remodelamento cardíaco em ratas hipertensas (REBELO et al., 2012), até relatos de remodelamento cardíaco benéfico e melhora na função ventricular em pacientes com falha cardíaca (WISLØFF et al., 2012; ANGARDI et al., 2014).

5.1. Treinamento Aeróbio Contínuo de Intensidade Moderada (MICT)

Ao final do MICT, os animais hipertensos apresentaram valores significativamente inferiores de FC, PAD e PAM, e uma tendência à diminuição da PAS. O exercício contínuo de intensidade moderada, praticado constantemente, é capaz de aumentar a produção de óxido nítrico (ON), um importante vasodilatador, assim como diminuir a expressão de endotelina-1 (ET-1) circulante (um vasoconstritor), em humanos e animais de diferentes idades e sexo. Os mecanismos pelos quais o exercício altera estas expressões não são bem definidos, mas suas consequências são importantes para a manutenção e diminuição da pressão arterial (DESOUZA et al., 2000; MAEDA et al., 2001; TANABE et al., 2003; MAEDA et al., 2004). As diminuições da FC, PAD, PAM e a tendência à diminuição da PAS podem também ser resultado de uma diminuição da atividade simpática. Estudos mostraram que em animais hipertensos, mesmo em repouso, a atividade simpática é aumentada, o que em grande parte contribui para a pressão elevada, sendo que o treinamento aeróbio moderado se mostrou eficiente em diminuir esta atividade, a partir de um maior controle autonômico, promovendo uma diminuição na FC de repouso e na PA (BING et al., 2002; BERTAGNOLLI et al., 2008; GRASSI, SERAVALLE & QUARTI-TREVANO, 2010).

Os resultados de PAS estão de acordo com aqueles reportados na literatura, uma vez que é amplamente relatada a diminuição desta variável com este treinamento (PESCATELLO et al., 2005; HAMER, 2006; CORNELISSEN & SMART, 2013; CARNEIRO- JÚNIOR, 2013). A PAD também segue aquilo que é encontrado na literatura. Fagard (2001) mostra que grande parte dos estudos selecionados que realizaram análise de PAD pós-treinamento obtiveram resultados semelhantes, tanto em indivíduos normotensos quanto em hipertensos. Pescatello et al. (1991) mostram também que apenas uma sessão, seja de exercício leve ou moderado, é suficiente para gerar uma diminuição na PAD em indivíduos hipertensos. A PAM é obtida através de um cálculo levando em consideração a PAS e a PAD. Ela é a representação da perfusão tecidual durante todo o ciclo cardíaco, sendo bastante estável (MAGALHÃES, 2002). Krzesiak et al. (2019) em estudo envolvendo animais hipertensos encontraram resultados semelhantes, onde o exercício contínuo de intensidade moderada causou uma significativa diminuição da PAM. Em outro estudo (PESCATELLO et al., 1991) envolvendo humanos, foi mostrado que apenas uma sessão de exercício leve e moderado foi capaz de diminuir significativamente a PAM por um período de até 12 horas após o exercício em

hipertensos. Skutnik et al. (2016), em seu estudo envolvendo pessoas em estágio de pré-hipertensão também relataram diminuição significativa da PAM.

Em relação à morfologia cardíaca, em nosso estudo a hipertensão aumentou de forma significativa a ESID quanto a ESIS, bem como a EPVED e EPVES. Como a hipertensão causa um aumento na pós-carga, ocorrem adaptações necessárias para que o funcionamento do coração não seja afetado. Neste caso, as principais adaptações que influenciam no aumento destas variáveis são o aumento da secção transversa dos cardiomiócitos, advindo de uma resposta adaptativa à maior sobrecarga pressórica (pós-carga), ao aumento da matriz extracelular colágena e da atividade simpática (SHIRWANY & WEBER, 2006, MILL et al., 2011, CARNEIRO-JÚNIOR, 2013). O exercício moderado foi capaz de reduzir a ESID e ESIS. Já é bem documentado na literatura (BERNARDO et al., 2010; FERNANDES et al., 2011; ELLISSON et al., 2012; CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013) que o exercício aeróbico contínuo de intensidade leve a moderada promove adaptações fisiológicas na morfologia cardíaca. A hipertrofia fisiológica excêntrica é causada por um aumento no volume sanguíneo que chega ao coração, devido ao aumento do retorno venoso proporcionado pela contração muscular esquelética, aumentando assim a pré-carga. Estes fatores aumentam o número de sarcômeros em série, causando um aumento da câmara cardíaca sem grande aumento do miocárdio.

A amplitude de contração dos cardiomiócitos dos animais hipertensos foi superior à dos animais normotensos, na frequência de 5 Hz. Este resultado se difere de outros já encontrados na literatura (CARNEIRO-JÚNIOR, 2013; ROMAN-CAMPOS et al, 2012; KRZESIAK et al, 2019), onde os animais hipertensos apresentaram valores inferiores. Estas divergências podem existir graças à diferença de estimulação dos cardiomiócitos, uma vez que em outros estudos eles foram estimulados à 1 Hz. Os dados encontrados podem ser explicados uma vez que os cardiomiócitos dos animais analisados se encontram na fase de hipertrofia compensada, de forma que todo o coração trabalha com mais intensidade para manter sua função, gerando assim uma resposta compensatória (HASENFUSS, 1998; DOGGRELL & BROWN, 1998).

Neste estudo, os cardiomiócitos dos animais hipertensos apresentaram um maior tempo para o pico de contração na intensidade de 3. Estes achados vão de acordo com aqueles apresentados na literatura (CARNEIRO-JÚNIOR et al, 2010; ROMAN-CAMPOS et al, 2012; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013; KRZESIAK et al, 2019). A

hipertensão afeta a membrana celular, tanto morfológica quanto funcionalmente. Ela gera uma modificação estrutural na membrana, especificamente nos túbulos T, que faz com que os canais tipo L não fiquem alinhados com os RyR2, o que diminui o subespaço, diminuindo tanto a entrada de Ca^{2+} para o ambiente intracelular quanto sua interação com os RyR2. Além disso, existe uma diminuição no potencial elétrico das células, consequente de uma diminuição das correntes Ito, que são responsáveis pela fase inicial da repolarização celular. Em adição, a hipertensão também causa uma indiferenciação na duração do potencial de ação de células de diferentes regiões do miocárdio (endocárdio e epicárdio), o que pode levar a eventos arrítmicos (ROMAN-CAMPOS et al, 2012; KRZESIAK et al, 2019).

O tempo para 50% do relaxamento também apresentou dados que estão de acordo com a literatura (CARNEIRO-JÚNIOR et al, 2010; ROMAN-CAMPOS et al, 2012; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013; KRZESIAK et al, 2019). Os animais hipertensos apresentaram tempos maiores à estimulação de 3 Hz e 7 Hz em relação aos seus respectivos normotensos. A hipertensão causa uma alteração na razão α/β -MHC, aumentando a segunda em detrimento da primeira. Este aumento acontece graças ao constante remodelamento cardíaco estimulado pelo estresse contínuo gerado a partir da alta pressão sanguínea. O remodelamento é acompanhado por modificações na transcrição gênica, onde genes fetais (FNA, α -actina e β -MHC) passam a ser reexpressos, aumentando o tempo de contração celular e prejudicando o seu relaxamento (MILL et al., 2011; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013). A reexpressão da β -MHC pode ser explicada a partir de modificações epigenéticas. O miRNA 208a é um RNA não-codificante que é responsável pela regulação positiva do gene Myh7 (precursor da β -MHC), uma vez que ele atua como inibidor do Myh6, que é precursor da α -MHC (MONTGOMERY et al., 2011). O grupo SHR MICT apresentou o tempo de relaxamento próximo ao do grupo WIS MICT na intensidade de 7 Hz. O exercício aeróbico moderado é capaz de aumentar a expressão de SERCA2a e NCX nos cardiomiócitos, o que facilita a recaptação de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático. Apesar de não haver diferença significativa no tempo para 50% do decaimento do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ entre os SHR MICT e WIS MICT, é válido lembrar que a amplitude do transiente de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ foi superior nos animais hipertensos, podendo haver então mais Ca^{2+} intracelular, e uma maior recaptação por parte da SERCA2a e atividade do NCX (CARNEIRO-JÚNIOR, 2013).

5.2. Treinamento Aeróbio Intervalado de Alta Intensidade (HIIT)

O HIIT diminuiu a PAS e tendeu a diminuir a PAM. É discutido que o exercício físico de alta intensidade causa um aumento na atividade simpática que, por sua vez, impossibilita a diminuição da pressão arterial (SUN et al., 2008). Porém, o HIIT, por ser uma atividade intermitente, permite um melhor controle da atividade simpática, a partir de um maior tônus vagal, o que leva a uma diminuição da FC (MOLMEN-HANSEN et al., 2012; WESTON et al., 2013). Nossos resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Molmen-Hansen et al. (2012a), que também reportaram uma diminuição significativa nos valores de PAS após a realização do programa de exercício aeróbio intermitente de alta intensidade. Neste grupo, a PAM apresentou uma tendência à diminuição. Krzesiak et al. (2019) em estudo envolvendo animais hipertensos e tipos de treinamentos similares aos deste estudo, encontraram resultados semelhantes, com o grupo HIIT apresentando diminuição significativa. Skutnik et al. (2016) avaliou o efeito do HIIT envolvendo humanos em estado de pré-hipertensão, apresentando também uma diminuição significativa.

Em relação à morfologia cardíaca, o HIIT causou um aumento significativo da EPVED e EPVES dos animais hipertensos. O estímulo gerado pelo programa de treinamento HIIT difere-se do MICT, uma vez que existem curtos estímulos de alta intensidade intercalados por momentos de menor intensidade. Este tipo de estímulo faz com que as adaptações cardíacas sejam mais próximas daquelas que ocorrem em um treinamento físico resistido, denominada hipertrofia concêntrica. Ela acontece devido ao aumento da pressão intraventricular durante a fase sistólica, denominado pós-carga. Este aumento gera uma grande tensão parietal, que faz com que ocorra aumento dos sarcômeros em paralelo, gerando um aumento na espessura do miocárdio sem modificar as dimensões internas das câmaras (FERNANDES et al., 2011; MELO et al., 2015). As variáveis de função cardíaca não foram diferentes nos animais hipertensos, e não foram alteradas pelo HIIT. Isso pode ser explicado pelo fato de que os animais utilizados no presente estudo, se encontravam na fase compensatória da hipertensão, onde existe um remodelamento cardíaco na tentativa de contrapor a sobrecarga pressórica, mas ainda sem prejudicar notadamente a função do coração. Uma vez que os animais ainda se encontravam nesta fase, os níveis de fração de ejeção e fração de encurtamento encontraram-se sem perda e, como o HIIT não gerou um aumento da câmara ventricular,

não houve aumento no volume de ejeção sanguíneo. (MUJUMDAR & TYAGI, 1999; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013).

Os resultados mostraram que a hipertensão aumentou a amplitude do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ dos cardiomiócitos, sendo que o HIIT foi capaz de aproximar essa variável dos valores dos animais normotensos. Os resultados de Krzesiak et al. (2019) foram divergentes dos aqui encontrados, uma vez que HIIT aumentou a amplitude de cálcio dos cardiomiócitos dos animais hipertensos. Os resultados aqui encontrados devem-se ao fato de que o HIIT gerou adaptações cardíacas positivas, como a diminuição da sobrecarga pressórica e, conseqüentemente, uma diminuição do trabalho celular.

A hipertensão causou um aumento significativo no tempo para o pico de $[Ca^{2+}]_i$, o que está de acordo com a literatura (CARNEIRO-JÚNIOR, 2013; KRZESIAK et al., 2019). Em nosso estudo, assim como no de Krzesiak et al. 2019, os animais hipertensos do protocolo HIIT apresentaram uma diminuição significativa deste tempo. Estudos mostraram que a hipertensão tem um efeito deletério na estruturação e conseqüentemente na função dos túbulos T, o que, por sua vez, pode dificultar a entrada de cálcio para a célula, aumentando assim o tempo para o pico (MANFRA et al, 2017). O exercício físico, especialmente o de alta intensidade, é capaz de reorganizar estruturalmente os túbulos T, de forma a recuperar a funcionalidade do mesmo (KRZESIAK et al, 2019). Como citado anteriormente, a hipertensão afeta negativamente a duração do potencial de ação celular, através da diminuição das correntes I_{to} , prolongando a entrada de Ca^{2+} e, conseqüentemente, o tempo para o pico de Ca^{2+} . Soma-se a isso o fato de que o HIIT aumenta a expressão de RyR2, SERCA2a e FLB fosforilada, o que acelera a liberação e recaptação de cálcio, aumentando a velocidade do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ global (ROMAN-CAMPOS et al., 2012; CARNEIRO-JÚNIOR, 2013; CARNEIRO-JÚNIOR et al, 2014; KRZESIAK et al., 2019). O HIIT apresenta adaptações semelhantes àsquelas obtidas através do treinamento resistido. Nesta linha, Melo et al. (2015) mostraram em seu estudo que o exercício físico resistido foi capaz de regular a função cardíaca de ratos a partir da modulação epigenética. O miRNA-214 é um regulador da SERCA2a, sendo que após o treinamento resistido, ratos apresentaram menor expressão de miRNA-214 e uma maior expressão de SERCA2a no VE, aumentando também a recaptação de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático.

Os resultados encontrados neste estudo mostraram que ambos os tipos de treinamento físico promoveram benefícios ao coração de ratos hipertensos. O HIIT,

apesar de ser um exercício físico de alta intensidade, é acompanhado de períodos de descanso ativo, o que promove uma maior segurança na prática desta atividade, não gerando um maior risco do que o MICT (WESTON, WISLØFF & COOMBS, 2013). Este modelo de exercício físico aeróbio, por ser mais dinâmico e apresentar diversas variações práticas, pode se apresentar como um atrativo para o início e aderência na prática regular de atividade física pelos indivíduos, inclusive hipertensos. É importante destacar que para indivíduos com doenças cardiovasculares, o controle clínico e o acompanhamento por profissional de Educação Física é determinante para a segurança e efetividade do programa de treinamento físico.

5.4. Limitações e Perspectivas

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes tipos de treinamento físico aeróbio sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração de ratos hipertensos. Além dos resultados apresentados aqui, a expressão gênica e proteica de moléculas controladoras do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ (ex: SERCA2a, RyR2, FLB, NCX, etc.), e da contração (ex: razão α/β MHC, etc.), além da determinação do conteúdo de colágeno, devem ser avaliados para melhor compreensão dos efeitos da hipertensão e dos diferentes tipos de treinamento físico sobre a função cardíaca.

As perspectivas envolvem realizar as análises supracitadas e também aprofundar o conhecimento na área, a partir de análises epigenéticas, especificamente de miRNAs ligados à mecânica contrátil e de metilação de DNA dos genes responsáveis pela transcrição das proteínas reguladoras do transiente de $[Ca^{2+}]_i$.

6. CONCLUSÃO

A hipertensão aumentou as pressões arteriais, os índices de hipertrofia cardíaca do VE, as espessuras do septo interventricular e do ventrículo esquerdo e não alterou as frações de ejeção e de encurtamento. Além disso, aumentou a amplitude do transiente de $[Ca^{2+}]_i$, o tempo para o pico do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ em todas as frequências de estimulação avaliadas, e o tempo para 50% do decaimento de $[Ca^{2+}]_i$ a 5 Hz. Aumentou ainda a amplitude de contração a 5 Hz, o tempo para o pico de contração a 3 Hz e o tempo para 50% do relaxamento a 3 e 7 Hz;

O MICT reduziu a FC de repouso, aumentou o desempenho físico, diminuiu as pressões arteriais diastólica e média, a espessura do septo interventricular na sístole na diástole e a amplitude de contração na frequência de 5 Hz;

O HIIT aumentou o desempenho físico, diminuiu a pressão arterial sistólica, aumentou a espessura da parede do ventrículo esquerdo na sístole e na diástole, reduziu o tempo para o pico do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ em todas as frequências de estimulação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIBEGOVIC, A. C. et al. Insulin resistance induced by physical inactivity is associated with multiple transcriptional changes in skeletal muscle in young men. **AJP: Endocrinology and Metabolism**, [s.l.], v. 299, n. 5, p.752-763, 24 ago. 2010.
- ANGADI, S. S. et al. High-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous exercise training in heart failure with preserved ejection fraction: a pilot study. **Journal of Applied Physiology**, v. 119, n. 6, p. 753-758, 2014.
- ARMITAGE, P.; BERRY, G.. The planning of statistical investigations. In (Ed.): **Statistical Methods in Medical Research**. Oxford, Blackwell, 1987 p. 179-185.
- BENITO, B. et al. Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. **Circulation**, v. 123, n. 1, p. 13-22, 2011.
- BERNARDO, B. C. et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacology & Therapeutics**, [s.l.], v. 128, n. 1, p.191-227, out. 2010.
- BERS, D. M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 70, p. 23-49, 2008.
- BERS, D. M. **Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force**. Springer Science & Business Media, 2001.
- BERTAGNOLLI, M. et al. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Hypertension**, v. 21, n. 11, p. 1188-1193, 2008.
- BING, O. H.L. et al. Studies of prevention, treatment and mechanisms of heart failure in the aging spontaneously hypertensive rat. **Heart Failure Reviews**, v. 7, n. 1, p. 71-88, 2002.
- BOCALINI, D. S. et al. Exercise training-induced enhancement in myocardial mechanics is lost after 2 weeks of detraining in rats. **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 5, p. 909-914, 2010.
- BORGES, J. P. et al. Aerobic Interval Exercise Training Induces Greater Reduction in Cardiac Workload in the Recovery Period in Rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 102, n. 1, p.47-53, 2013.
- CARNEIRO JÚNIOR, Miguel Araújo. **Efeitos do treinamento físico e do destreinamento sobre propriedades moleculares e mecânicas de cardiomiócitos isolados de ratos normotensos e hipertensos**. 2013. 104 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013.
- CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Exercise training and detraining modify the morphological and mechanical properties of single cardiac myocytes obtained from spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 11, p. 1042-1046, 2010.

CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. The benefits of endurance training in cardiomyocyte function in hypertensive rats are reversed within four weeks of detraining. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 57, p.119-128, 2013.

CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Effect of exercise training on Ca^{2+} release units of left ventricular myocytes of spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 11, p. 960-965, 2014.

CARNEIRO JÚNIOR, M. A. et al. Low-intensity endurance training and right ventricular myocytes of hypertensive rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 25, n. 3, p. 196-201, 2019.

CORNELISSEN, V. A.; SMART, N. A. Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Heart Association**, v. 2, n. 1, p. e004473, 2013.

DALPIAZ, M. R. et al. Treinamento Intervalado de Alta Intensidade: Quebrando Paradigmas na Reabilitação Cardiovascular. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, [s.l.], v. 10, n. 57, p.16-28, jan/fev 2016.

DESOUZA, C. A. et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. **Circulation**, v. 102, n. 12, p. 1351-1357, 2000.

DOGGRELL, S. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. **Cardiovascular Research**, v. 39, n. 1, p. 89–105, 2002.

ELLISON, G. M. et al. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. **Heart**, [s.l.], v. 98, n. 1, p.5-10, 31 ago. 2011.

FABIATO, A; FABIATO, F. Dependence of the contractile activation of skinned cardiac cells on the sarcomere length. **Nature**, v. 256, n. 5512, p. 54, 1975.

FAGARD, R. H. Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. 2001.

FEITOSA, G. S.; FEITOSA FILHO, G. S.; DE CARVALHO, E. N.. Alterações cardiovasculares da hipertensão arterial: hipertrofia ventricular esquerda, doença arterial coronária e insuficiência cardíaca. **Rev Bras Hipertens**, v. 9, n. 3, p. 280-7, 2002.

FERNANDES, T.; SOCI, U. P. R.; OLIVEIRA, E. M. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 9, p. 836-847, 2011.

FERREIRA FILHO, C. et al. Benefícios do exercício físico na hipertensão arterial sistêmica. **Arquivos Médicos do ABC**, [s.l.], v. 32, n. 2, p.82-87, 2007.

FOWLER, M. R. et al. Decreased Ca^{2+} extrusion via $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchange in epicardial left ventricular myocytes during compensated hypertrophy. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 5, p. H2431-H2438, 2005.

GONZALEZ, A.; LOPEZ, B.; DIEZL, J. Myocardial fibrosis in arterial hypertension. **European Heart Journal Supplements**, v. 4, n. suppl_D, p. D18-D22, 2002.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; QUARTI-TREVANO, F.. The 'neuroadrenergic hypothesis' in hypertension: current evidence. **Experimental Physiology**, v. 95, n. 5, p. 581-586, 2010.

HAMER, M. The anti-hypertensive effects of exercise. **Sports Medicine**, v. 36, n. 2, p. 109-116, 2006.

HASENFUSS, G. Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. **Cardiovascular Research**, v. 39, p. 60–76, 1998.

KEMI, O. J. et al. Aerobic interval training enhances cardiomyocyte contractility and Ca²⁺ cycling by phosphorylation of CaMKII and Thr-17 of phospholamban. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 43, n. 3, p. 354-361, 2007.

KEMI, O. J., O. ELLINGSEN, G. L. SMITH E U. WISLØFF. Exercise-induced changes in calcium handling in left ventricular cardiomyocytes. **Front Biosci**, v.13, p.356-68. 2008.

KIM, M. et al. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk. **PloS One**, v. 5, n. 3, p. e9692, 2010.

KOLWICZ, S. C. et al. Left ventricular remodeling with exercise in hypertension. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 4, p. H1361-H1368, 2009.

KRZESIAK, A. et al. High-intensity intermittent training is as effective as moderate continuous training, and not deleterious, in cardiomyocyte remodeling of hypertensive rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 126, n. 4, p. 903-915, 2019.

LEE, C-L.; HSU, W-C.; CHENG, C-F.. Physiological Adaptations to Sprint Interval Training with Matched Exercise Volume. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, [s.l.], v. 49, n. 1, p.86-95, jan. 2017.

LEVY, Daniel et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. **New England Journal of Medicine**, v. 322, n. 22, p. 1561-1566, 1990.

LI, H. et al. MicroRNA-21 Lowers Blood Pressure in Spontaneous Hypertensive Rats by Upregulating Mitochondrial Translation Clinical Perspective. **Circulation**, [s.l.], v. 134, n. 10, p.734-751, 19 ago. 2016.

LIBONATI, J. R. et al. Exercise training improves systolic function in hypertensive myocardium. **Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 6, p. 1637-1643, 2011.

MACIEL, B. C.. A hipertrofia cardíaca na hipertensão arterial sistêmica: mecanismo compensatório e desencadeante de insuficiência cardíaca. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, p. 409-13, 2001.

MAEDA, S et al. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. **Life sciences**, v. 69, n. 9, p. 1005-1016, 2001.

MAEDA, S et al. Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in elderly women. **Hypertension Research**, v. 27, n. 12, p. 947-953, 2004.

MAGALHÃES, L. B. N. C. O significado clínico-epidemiológico da pressão diastólica baixa na elevação da pressão de pulso ou Importância da pressão de pulso no risco cardiovascular. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 9, n. 3, p. 301-303, 2002.

MANFRA, Ornella; FRISK, Michael; LOUCH, William E. Regulation of cardiomyocyte T-tubular structure: opportunities for therapy. **Current Heart Failure reports**, v. 14, n. 3, p. 167-178, 2017.

MATSUBARA, L. S. et al. Myocardial remodeling in chronic pressure or volume overload in the rat heart. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 86, n. 2, p. 126-130, 2006.

MATTIAZZI, A. et al. Role of phospholamban phosphorylation on Thr17 in cardiac physiological and pathological conditions. **Cardiovascular Research**, v. 68, n. 3, p. 366-375, 2005.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L.. **Exercise Fisiology: Nutrition, Energy, and Human Performance**. 7. ed. [s.l]: Wolters Kluwer, 2010. 1038 p.

MCCROSSAN, Z. A.; BILLETER, R.; WHITE, E.. Transmural changes in size, contractile and electrical properties of SHR left ventricular myocytes during compensated hypertrophy. **Cardiovascular Research**, v. 63, n. 2, p. 283-292, 2004.

MCMULLEN, J. R.; JENNINGS, Garry L. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 4, p. 255-262, 2007.

MELO, S. F. S. et al. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 4, p. 6855-6867, 2015.

MILL, JG et al. Remodeling in the ischemic heart: the stepwise progression for heart failure. **Braz J Med Biol Res**, v. 44, n. 9, p. 890-898, 2011.

MILLIS, R. M. Epigenetics and Hypertension. **Current Hypertension Reports**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.21-28, 3 dez. 2010.

MOLMEN-HANSEN, H. E. et al. Aerobic interval training reduces blood pressure and improves myocardial function in hypertensive patients. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 19, n. 2, p. 151-160, 2012a.

MOLMEN-HANSEN, Harald Edvard et al. Aerobic interval training compensates age related decline in cardiac function. **Scandinavian Cardiovascular Journal**, v. 46, n. 3, p. 163-171, 2012b.

MONTGOMERY, R. L. et al. Therapeutic Inhibition of miR-208a Improves Cardiac Function and Survival During Heart Failure. **Circulation**, [s.l.], v. 124, n. 14, p.1537-1547, 6 set. 2011.

MUJUMDAR, Vibhas S.; TYAGI, Suresh C. Temporal regulation of extracellular matrix components in transition from compensatory hypertrophy to decompensatory heart failure. **Journal of Hypertension**, v. 17, n. 2, p. 261-270, 1999.

NATALI, A. J. et al. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. **The Journal of Physiology**, v. 541, n. 3, p. 863-875, 2002.

NATALI, A. J. et al. Regional Effects of Voluntary Exercise on Cells Size and Contraction-Frequency Response in Rat Cardiac Myocytes. **The Journal of Experimental Biology**, [s.l.], v. 204, p.1191-1999, 2016.

NEVES, V. J. das. Exercise training in hypertension: Role of microRNAs. **World Journal of Cardiology**, [s.l.], v. 6, n. 8, p.713-727, 2014.

NISHI, H. et al. MicroRNA-27a regulates beta cardiac myosin heavy chain gene expression by targeting thyroid hormone receptor $\beta 1$ in neonatal rat ventricular myocytes. **Molecular and Cellular Biology**, v. 31, n. 4, p. 744-755, 2011.

PALMER, Bradley M. Thick filament proteins and performance in human heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 10, n. 3, p. 187-197, 2005.

PESCATELLO, L. S. et al. Short-term effect of dynamic exercise on arterial blood pressure. **Circulation**, v. 83, n. 5, p. 1557-1561, 1991.

PESCATELLO, L. S. et al. Exercise and hypertension. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 36, n. 3, p. 533-553, 2004.

PICON, R. V. et al. Trends in Prevalence of Hypertension in Brazil: A Systematic Review with Meta-Analysis. **Plos One**, [s.l.], v. 7, n. 10, p.1-10, 31 out. 2012.

PRIMOLA-GOMES, T. N. et al. Exercise capacity is related to calcium transients in ventricular cardiomyocytes. **Journal of Applied Physiology**, [s.l.], v. 107, n. 2, p.593-598, 4 jun. 2009.

REBELO, R. M. d. C.; SCHRECKENBERG, R.; SCHLÜTER, K-D.. Adverse cardiac remodelling in spontaneously hypertensive rats: acceleration by high aerobic exercise intensity. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 21, p. 5389-5400, 2012.

ROMAN-CAMPOS, D. et al. Chronic exercise partially restores the transmural heterogeneity of action potential duration in left ventricular myocytes of spontaneous hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, [s.l.], v. 39, n. 2, p.155-157, 30 jan. 2012.

RONDON, M. U. P. B.; BRUM, P. C.. Exercício físico como tratamento não-farmacológico da hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.134-139, abr/jun. 2003.

SAHN, D. J. et al. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: Results of a survey of echocardiographic measurements. **Circulation**, v. 58, n. 6, p.1072-1083, 1978.

SCRIVEN, D. R. L.; DAN, P.; MOORE, E. D. W.. Distribution of proteins implicated in excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes. **Biophysical Journal**, v. 79, n. 5, p. 2682-2691, 2000.

SHIRWANY, A.; WEBER, K. T. Extracellular matrix remodeling in hypertensive heart disease. 2006.

- SKUTNIK, Benjamin C. et al. The effect of low volume interval training on resting blood pressure in pre-hypertensive subjects: a preliminary study. **The Physician and Sports Medicine**, v. 44, n. 2, p. 177-183, 2016.
- SMOLAREK, I. et al. Global DNA methylation changes in blood of patients with essential hypertension. **Medical Science Monitor**, v. 16, n. 3, p. CR149-CR155, 2010.
- SOCI U. P. et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. **Physiological Genomics**, 43:665-73, 2011.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VII Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n.3, Supl. 3. p.1-83, 2016.
- TADA, M.; KATZ, A. M. Phosphorylation of the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma. **Annual Review of Physiology**, v. 44, n. 1, p. 401-423, 1982.
- TANABE, T. et al. Exercise training improves ageing-induced decrease in eNOS expression of the aorta. **Acta physiologica scandinavica**, v. 178, n. 1, p. 3-10, 2003.
- VAN ROOIJ, E. et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 48, p. 18255-18260, 2006.
- VAN ROOIJ, E. et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. **Proceedings of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 105, n. 35, p.13027-13032, 22 ago. 2008.
- VIGITEL BRASIL 2018: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019.
- WANG, J. et al. Cardiomyocyte overexpression of miR-27b induces cardiac hypertrophy and dysfunction in mice. **Cell Research**, v. 22, n. 3, p. 516-527, 2012.
- WEGENER, A. D. et al. Phospholamban phosphorylation in intact ventricles. Phosphorylation of serine 16 and threonine 17 in response to beta-adrenergic stimulation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, n. 19, p. 11468-11474, 1989.
- WESTON, K. S.; WISLØFF, U.; COOMBES, J. S. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. **British Journal of Sports Medicine**, [s.l.], v. 48, n. 16, p.1227-1234, 21 out. 2013.
- WEBER, K. T. Cardioreparation in hypertensive heart disease. **Hypertension**, v. 38, n. 3, p. 588-591, 2001.
- WEBER, M. et al. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 393, n. 4, p. 643–648, 2010.

WHELTON, Paul K. et al. 2017

ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 19, p. e127-e248, 2018.

WILLIAMS, B. The Year in Hypertension. **Journal of the American College of Cardiology**, [s.l.], v. 55, n. 1, p.65-73, dez. 2009.

WILLIAMS, B. et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. **European Heart Journal**, v. 39, n. 33, p. 3021-3104, 2018.

WISLØFF, U. et al. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. **Cardiovascular Research**, v. 50, n. 3, p. 495-508, 2001.

ZIMMER, P.; BLOCH, W. Physical exercise and epigenetic adaptations of the cardiovascular system. **Herz**, [s.l.], v. 40, n. 3, p.353-360, 7 mar. 2015.

8. ANEXOS

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo nº 98/2017, intitulado **“Efeitos de diferentes tipos de treinamento físico aeróbio sobre propriedades morfológicas, epigenéticas e mecânicas do coração de ratos hipertensos”**, coordenado pelo professor Miguel Araújo Carneiro do Departamento de Educação Física, está de acordo com a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 16/03/2018, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 98/2017, named **“Effects of different types of aerobic physical training on morphological, epigenetic and mechanical properties of the heart of hypertensive rats”**, is in agreement with the actual Brazilian legislation (Lei Nº 11.794, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and Teaching) and the Guidelines of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on March 16, 2018 valid for 12 months.


Prof. Atima Clemente Alves Zuanon
Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV