

Luana Urbano Pagan

Influência do Exercício Físico no Remodelamento Cardíaco de Ratos Espontaneamente Hipertensos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação “Fisiopatologia em Clínica Médica” da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, para obtenção de título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica – Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Adjunto *Katashi Okoshi*

BOTUCATU
2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Pagan, Luana Urbano.

Influência do exercício físico no remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos / Luana Urbano Pagan. - Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Katashi Okoshi

Capes: 40101100

1. Hipertensão - Tratamento. 2. Exercícios físicos - Uso terapêutico. 3. Insuficiência cardíaca. 4. Rato como animal de laboratório.

Palavras-chave: Exercício físico; Hipertensão arterial; Insuficiência cardíaca; Rato espontaneamente hipertenso; Remodelamento cardíaco.

"Se não podes mudar a direção do vento, corrige tuas velas"

Hugh Brown

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Cecília e Fausto, que me ensinaram os verdadeiros valores do ser humano e formam o alicerce de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Adjunto Dr. KATASHI OKOSHI, pela competência na orientação, pela oportunidade e confiança, e por todos os ensinamentos durante a realização dessa pesquisa.

À Prof^a. Adjunta Dr^a. MARINA POLITI OKOSHI, por toda contribuição e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. ANTONIO CARLOS CICOONA por contribuir para a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. LUIZ SHIGUERO MATSUBARA, pela prontidão e paciência nos esclarecimentos de dúvidas.

Aos funcionários do Laboratório Experimental, JOSÉ CARLOS, MÁRIO BRUNO, CAMILA, ELENIZE, ELISETE, LALLA, CARLINHOS, ROGÉRIO, ÂNGELO, SUELI C por colaborarem efetivamente para a realização deste trabalho.

Aos FUNCIONÁRIOS do Departamento de Clínica Médica e da Seção de Pós- Graduação, pela disponibilidade e eficiência para resolver problemas.

Aos meus queridos amigos e grandes companheiros ALINE, ANDRÉA, BERTHA, BRUNA, CAMILA BONOMO, CAMILINHA, DANIELE, DIJON, MARIA TERESA, MARIANA, PAULA, PRISCILA, RICARDO, RODRIGO, REGIANE, SANDRO, SÍLVIO, pessoas que caminharam junto comigo durante toda jornada e tornaram possível a execução deste trabalho.

Aos PÓS-GRADUANDOS DO LABORATÓRIO EXPERIMENTAL do Departamento de Clínica Médica e aos alunos de iniciação científica, pela boa convivência e pelo respeito.

A TODOS OS AMIGOS que estiveram ao meu lado durante essa caminhada.

A TODA MINHA FAMÍLIA, que sempre me incentivou e torceu pelas minhas conquistas.

Ao CNPQ e a CAPES, pelo suporte financeiro recebido durante a elaboração da pesquisa.

A PRÓ-REITORIA DE PESQUISA DA UNESP (PROPe) pelo Auxílio "Apoio aos Biotérios" - Proc./Edital nº. 0008/010/13 - PROPe/CDC.

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	4
Introdução	7
Objetivos	12
Material e Métodos	14
Resultados	25
Discussão	40
Conclusão	47
Referências Bibliográficas	49

LISTA DE ABREVIATURAS

A': pico de velocidade de deslocamento diastólico tardio do anel mitral

AE: átrio esquerdo

ANOVA: análise de variância

AO: diâmetro da aorta

DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo

DEPC: dietilpirocarbonato

DNA: ácido desoxirribonucleico

DSVE: diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo

E': pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral

EDPP: espessura diastólica da parede posterior

EDSIV: espessura diastólica do septo interventricular

Esp. Rel. VE: espessura relativa do ventrículo esquerdo

ESPP: espessura sistólica da parede posterior

ESSIV: espessura sistólica do septo interventricular

FC: frequência cardíaca

HAS: hipertensão arterial sistêmica

HCl: ácido clorídrico

HOP: hidroxiprolina

IC: insuficiência cardíaca

IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo

ISO: isoproterenol

Lmax: comprimento do músculo

MVE: massa do ventrículo esquerdo

Onda A: pico de velocidade do fluxo de enchimento tardio transmitral

Onda E: pico de velocidade de fluxo de enchimento inicial transmitral

Onda S: velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral

PAS: pressão arterial sistólica

PC: peso corporal

PNA: peptídeo natriurético atrial

RNA: ácido ribonucleico

RT: transcrição reversa

RT-PCR: reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa

S' média: média das velocidades máximas de deslocamento das paredes lateral e septal do anel mitral

SHR: ratos espontaneamente hipertensos

SHR-EX: ratos espontaneamente hipertensos exercício

SHR-SED: ratos espontaneamente hipertensos sedentário

TD: tensão desenvolvida

TDE: tempo de desaceleração da onda E

Tei: índice de Tei

TR: tensão de repouso

TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico

VE: ventrículo esquerdo

VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior

WKY: Wistar-Kyoto

WKY-EX: Wistar-Kyoto exercício

WKY-SED: Wistar-Kyoto sedentário

% Enc. Endo: porcentagem de encurtamento do endocárdio

% Enc. Meso: porcentagem de encurtamento do mesocárdio

+dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida

-dT/dt: velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

Quadro 1: Protocolo de exercício físico	16
Figura 1: Sinais de insuficiência cardíaca..	26
Figura 2: Tempo e distância no teste de esforço.....	27
Figura 3: Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas em condição basal.	34
Figura 4: Concentração de hidroxiprolina (HOP) no miocárdio do ventrículo esquerdo..	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Peso corporal dos animais	28
Tabela 2:	Pressão arterial sistólica (PAS) no início e final do experimento	28
Tabela 3:	Análise ecocardiográfica dos parâmetros estruturais do coração	29
Tabela 4:	Avaliação da função sistólica do ventrículo esquerdo por ecocardiograma	30
Tabela 5:	Avaliação da função diastólica do ventrículo esquerdo por ecocardiograma	31
Tabela 6:	Parâmetros corporais e cardíacos dos animais	32
Tabela 7:	Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas após pausas de 10, 30 e 60 segundos.....	35
Tabela 8:	Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas após elevação da concentração de cálcio.....	36
Tabela 9:	Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas após adição de isoproterenol (ISO).....	37
Tabela 10:	Avaliação morfométrica e quantificação do colágeno total e solúvel ...	38
Tabela 11:	Avaliação da expressão gênica dos colágenos tipos I e III e da lisil oxidase por RT-PCR em tempo real	39

RESUMO

Introdução: A hipertensão arterial sistêmica (HAS) constitui doença de alta prevalência em nosso meio. A HAS induz alterações cardíacas caracterizadas por hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE), disfunção ventricular diastólica e/ou sistólica e manifestações clínicas como arritmia e insuficiência cardíaca (IC). O processo pelo qual sobrecargas hemodinâmicas crônicas, como a HAS, induzem tais alterações é denominado remodelamento cardíaco. Dentro desse processo, alterações da matriz colágena intersticial apresentam papel fundamental. A sobrecarga de pressão causada pela HAS pode gerar mudança na arquitetura do colágeno e favorecer o aumento de fibrose e rigidez miocárdica, com consequente disfunção diastólica do VE. O exercício físico tem mostrado benefício como medida coadjuvante no tratamento da IC, porém seu efeito sobre o remodelamento cardíaco, particularmente associado à HAS não controlada, ainda não está esclarecido. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência do treinamento físico sobre o remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos na fase de desenvolvimento da IC. **Métodos:** Foram constituídos os seguintes grupos experimentais: ratos espontaneamente hipertensos machos, com 16 meses de idade, sedentários (SHR-SED, n=25); SHR exercitados machos (SHR-EX, n=25); ratos controle Wistar-Kyoto sedentários machos (WKY-SED, n=17) e; WKY exercitados machos (WKY-EX, n=18). Os animais dos grupos exercitados foram submetidos a protocolo de exercício em esteira, cinco dias por semana, durante quatro meses. A avaliação estrutural e funcional *in vivo* do coração foi realizada por meio de ecocardiograma. A função miocárdica *in vitro* foi avaliada em preparações de músculo papilar isolado do VE. Amostras de tecido do VE foram obtidas para quantificação de hidroxiprolina, análises histológicas e quantificação das frações solúvel e insolúvel do colágeno intersticial. A expressão gênica dos colágenos tipos I e III e de lisil oxidase foi avaliada por RT-PCR em tempo real. As comparações entre os grupos foram realizadas pela técnica de análise de variância (ANOVA) para esquema fatorial 2x2, complementada com teste de comparações múltiplas de Tukey, quando os resultados das variáveis apresentaram distribuição normal. Quando não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste de Mann-Witney (valor de $p < 0,05$). O teste de

Goodman foi utilizado para analisar a frequência de sinais de IC. O teste *t* pareado foi utilizado para comparar os momentos iniciais e finais. As conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%. **Resultados:** Os animais do grupo SHR-EX apresentaram maior capacidade física e menor frequência de sinais de IC em relação ao grupo SHR-SED. Os valores de pressão arterial sistólica inicial e final foram semelhantes entre os grupos hipertensos. Não houve diferença entre os grupos SHR em relação às variáveis estruturais e de função sistólica avaliadas pela ecocardiografia. A função diastólica foi melhor no grupo SHR-EX em relação ao SHR-SED. A avaliação *in vitro* mostrou melhora da contratilidade do miocárdico no SHR-EX. Os parâmetros anatômicos cardíacos foram maiores nos grupos SHR. A fração de colágeno foi maior nos grupos hipertensos. A concentração miocárdica de colágeno total e solúvel não foi diferente entre os grupos. O conteúdo de hidroxiprolina foi menor no grupo SHR-EX versus SHR-SED. As expressões gênicas dos colágenos tipos I e III e da lisil oxidase não foram diferentes entre os grupos SHR. **Conclusão:** O exercício físico é efetivo em reduzir a frequência de sinais de IC e a concentração miocárdica de hidroxiprolina, e melhorar a função contrátil e a propriedade diastólica do ventrículo esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos.

ABSTRACT

Introduction: The systemic arterial hypertension (SAH) is a highly prevalent disease worldwide. SAH induces cardiac alterations characterized by left ventricular (LV) hypertrophy, ventricular diastolic and / or systolic dysfunction and clinical manifestations such as arrhythmia and heart failure (HF). The process by which chronic hemodynamic overload, such as hypertension, induces these alterations is known as cardiac remodeling. Within this process, changes in interstitial collagen matrix play a fundamental role. The pressure overload caused by hypertension may lead to changes in collagen architecture increasing myocardial fibrosis and stiffness, with consequent LV diastolic dysfunction. Physical exercise has shown benefit as coadjuvant measure in the treatment of HF, but its effect on cardiac remodeling, particularly associated with uncontrolled hypertension, remains unclear. Therefore, the aim of this study was to evaluate the influence of physical training on cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR) during the development of HF. **Methods:** Four experimental groups were constituted as follows: male SHR, 16 month old, sedentary (SHR-SED, n=25); exercised male SHR (SHR-EX, n=25), sedentary control male rats Wistar-Kyoto (WKY-SED, n=17); and exercised male WKY (WKY-EX, n=18). Animals from the exercised groups were submitted to a treadmill exercise protocol, five days a week, for four months. The *in vivo* cardiac structural and functional evaluation was performed by echocardiography. The *in vitro* myocardial function was evaluated by isolated left ventricular papillary muscle preparations. LV tissue samples were obtained for quantification of hydroxyproline concentration, histological analysis and quantification of interstitial collagen soluble and insoluble fractions. Genic expression of collagen types I and III and lysyl oxidase was assessed by real time RT-PCR. Comparisons between groups were performed using 2x2 factorial analysis of variance (ANOVA), complemented with Tukey multiple comparisons test (normal distribution) or Mann-Whitney test (non normal distribution; 2 x p value). The Goodman test was used to analyze HF signals frequency. The paired *t* test was used to compare initial and final moments. The statistical findings were discussed at a 5% significance level. **Results:** The SHR-EX group showed greater physical capacity

and less frequent signs of HF compared to SHR-SED group. Initial and final systolic arterial pressure values were similar in hypertensive groups. There was no difference between the SHR groups regarding the structural and systolic function variables assessed by echocardiography. Diastolic function was better in SHR-EX group compared to SHR-SED group. *In vitro* evaluation showed improvement in myocardial contractility in SHR-EX group. Cardiac anatomical parameters were greater in SHR groups. Collagen volume fraction was increased in hypertensive groups. Myocardial total and soluble collagen concentrations were not different between groups. Hydroxyproline concentration was lower in SHR-EX versus SHR-SED group. Collagen types I and III and lysyl oxidase genic expressions were not different between the SHR groups. **Conclusion:** Physical exercise is effective in reducing the frequency of HF symptoms and myocardial hydroxyproline concentration and improving the contractile function and left ventricular diastolic property of spontaneously hypertensive rats.

INTRODUÇÃO

A insuficiência cardíaca (IC) constitui um problema clínico de extrema importância devido à sua alta prevalência, à gravidade das manifestações clínicas e à elevada morbi-mortalidade.

Dados de IC nos Estados Unidos mostram que a prevalência varia conforme a idade, ocorrendo em 0,4 a 2% da população total, chegando a atingir 6 a 10% das pessoas com mais de 65 anos de idade (Mann, 2012a). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, a IC encontra-se entre as principais causas de internação hospitalar, considerando-se todas as internações do Sistema Único de Saúde (Bocchi *et al.*, 2009).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma das principais causas de IC. No Brasil, afeta 35,8% dos homens e 30% das mulheres, com média de 32,5% dos adultos (Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia, 2010).

A HAS é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. Associa-se, frequentemente, a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo, como coração, cérebro, rins e vasos sanguíneos, e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais (Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia, 2010).

As alterações cardíacas induzidas pela HAS caracterizam-se por hipertrofia do ventrículo esquerdo (VE), disfunção ventricular diastólica e/ou sistólica e manifestações clínicas como arritmia ou IC. A elevação da pressão arterial induz hipertrofia miocárdica, que é uma resposta adaptativa do coração, com finalidade de manter o débito cardíaco em valores normais. Progressivamente, a hipertrofia leva à IC, inicialmente decorrente de disfunção diastólica isolada do VE. Com a persistência da pressão arterial elevada e a incapacidade do miocárdio de continuar se hipertrofiando, estabelece-se o comprometimento adicional e predominante da função sistólica, com piora acentuada do quadro clínico da IC e do prognóstico do paciente (Cicogna *et al.*,

2000). A presença de hipertrofia miocárdica, por si só, representa fator de risco independente para morbidade e mortalidade cardíaca (Victor, 2012).

Sobrecargas hemodinâmicas crônicas, como a HAS, induzem alterações gênicas, moleculares, celulares e intersticiais que se manifestam clinicamente como modificações no tamanho, forma e função do coração, cujo processo é denominado remodelamento cardíaco (Cohn *et al.*, 2000).

Classicamente, considera-se que as características da hipertrofia do VE dependem do tipo de sobrecarga, se pressórica ou volumétrica. No caso de sobrecarga de pressão, há aumento do estresse sistólico que estimula vias sinalizadoras intra e extracelulares, resultando na replicação dos sarcômeros em paralelo, denominada hipertrofia concêntrica. Por outro lado, se a sobrecarga for de volume, ocorre aumento do estresse diastólico e a replicação dos sarcômeros será em série resultando na hipertrofia do tipo excêntrica (Mann, 2012b).

O desenvolvimento da hipertrofia concêntrica permite a normalização do estresse parietal devido ao aumento da massa e da espessura da parede ventricular. Por essa razão, a hipertrofia concêntrica foi considerada, por décadas, como um processo adaptativo benéfico do coração à sobrecarga pressórica crônica. Como descrito por Meerson (1974), acreditava-se que a história natural da cardiopatia hipertensiva envolvesse o desenvolvimento inicial de hipertrofia concêntrica, podendo evoluir de modo assintomático por anos ou mesmo décadas. Posteriormente, ocorreria a dilatação da cavidade ventricular, transformando, portanto, a hipertrofia concêntrica em excêntrica.

Somente mais recentemente, foi sugerido, a partir de estudos epidemiológicos e experimentais, que a hipertrofia ventricular induzida por HAS pode iniciar-se tanto com hipertrofia concêntrica como excêntrica. Embora a hipertrofia concêntrica possa evoluir para a forma excêntrica, essa evolução parece ser incomum. O fato de que, na hipertensão arterial, frequentemente, há sobrecarga de volume, ajuda a entender o desenvolvimento da hipertrofia excêntrica (Drazner, 2011).

Além da hipertrofia dos miócitos, outro componente fundamental do processo de remodelamento cardíaco induzido pela HAS é a alteração da matriz

colágena intersticial (Cohn *et al.*, 2000; Spinale, 2002). No miocárdio, existe uma complexa rede de colágeno circundando e interligando os miócitos, vasos, fibroblastos e células endoteliais. A função dessa rede é regular a apoptose, resistir às deformações patológicas, manter o alinhamento das estruturas e regular a transmissão de força durante o encurtamento da fibra cardíaca (Weber *et al.*, 1993; Brilla *et al.*, 1996; Matsubara & Matsubara, 2003). Dessa forma, o colágeno é um importante componente na manutenção da função cardíaca, da integridade estrutural do miocárdio e das propriedades mecânicas. A sobrecarga de pressão causada pela HAS pode gerar mudança na arquitetura do colágeno e favorecer o aumento de fibrose (Villari *et al.*, 1993). Alterações na composição do colágeno podem resultar em aumento da rigidez do músculo com consequente disfunção diastólica do VE.

O exercício físico desempenha importante papel na atenuação dos fatores de risco cardiovascular como HAS, dislipidemia, resistência a insulina e obesidade (Cox *et al.*, 1996; Fang *et al.*, 2003; Sigal *et al.*, 2004). Além disso, o exercício físico tem mostrado benefício como medida coadjuvante no tratamento da IC (Wisloff *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 1999; Nilsson *et al.*, 2008) e, atualmente, está indicado em pacientes estáveis com disfunção sistólica em classes funcionais II e III (Sociedade Brasileira de Cardiologia - III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica, 2009). Entretanto, o efeito do exercício físico sobre o remodelamento cardíaco, particularmente associado à HAS não controlada, ainda não está esclarecido. Giannuzzi *et al.* (2003) observaram em pacientes com IC de várias causas, inclusive hipertensiva, efeitos benéficos do treinamento físico de moderada intensidade por 6 meses sobre o volume e a fração de ejeção do VE. Recentemente, Garcarena *et al.* (2009) avaliaram os efeitos do treinamento físico sobre a hipertrofia cardíaca de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), e constataram diminuição do colágeno intersticial miocárdico, aumento da densidade capilar, diminuição do RNAm do peptídeo natriurético atrial (PNA), e melhora da função sistólica do VE. Da mesma forma, Emter *et al.* (2005) observaram em ratos SHR que o treinamento físico preveniu ou diminuiu alterações morfológicas dos cardiomiócitos, das isoformas

das cadeias pesadas de miosina, do PNA e a ocorrência de proteinúria, além de retardar o início da descompensação da IC, com consequente melhora da sobrevida. Portanto, o treinamento físico pode ser importante estratégia terapêutica para a prevenção de IC na HAS. No entanto, efeitos adversos do exercício físico em ratos SHR também já foram descritos. Schultz *et al.* (2007) demonstraram que o exercício excessivo a longo prazo, em ratos SHR idosos e com HAS não tratada, produz aumento de fibrose, do estresse parietal, da pressão arterial diastólica e da massa ventricular esquerda e redução da fração de ejeção do VE, acelerando a progressão da IC.

Portanto, os resultados divulgados na literatura são divergentes e há escassez de estudos envolvendo o exercício físico no processo de remodelamento cardíaco induzido por HAS não controlada, na fase de desenvolvimento da IC. Nesse trabalho, foi testada a hipótese de que o treinamento físico pode atenuar o remodelamento cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos na fase de desenvolvimento de IC.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar a influência do treinamento físico aeróbio sobre o remodelamento cardíaco de ratos SHR na fase de desenvolvimento da IC.

Específicos

Avaliar a influência do exercício físico sobre:

- Frequência de sinais de IC;
- Estruturas e funções cardíacas *in vivo* por ecocardiograma;
- Função miocárdica em músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo;
- Diâmetro dos miócitos e fração colágena miocárdica;
- Concentração miocárdica de colágeno total, colágeno solúvel e hidroxiprolina;
- Expressões gênicas dos colágenos tipos I e III e da lisil oxidase do miocárdio.

MATERIAL E MÉTODOS

Grupos experimentais

Foram utilizados ratos Wistar-Kyoto (WKY) e ratos SHR machos, provenientes do Biotério do Laboratório Experimental do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. Os animais foram alimentados com ração comercial Purina e água *ad libitum* e mantidos em gaiolas coletivas, com quatro ratos por caixa, em ambiente com temperatura controlada ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclos invertidos de luminosidade de 12 horas. O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Foram constituídos quatro grupos experimentais:

- 1) grupo controle (WKY-SED, n=17), formado por ratos WKY sedentários;
- 2) grupo controle exercitado (WKY-EX, n=18), formado por ratos WKY submetidos a protocolo de exercício;
- 3) grupo SHR sedentário (SHR-SED, n=25);
- 4) grupo SHR submetido a protocolo de exercício (SHR-EX, n=25).

O protocolo de treinamento físico foi aplicado a partir de 16 meses de idade por período de quatro meses. Antes e após o período de exercício, foram avaliadas a pressão arterial caudal, as estruturas cardíacas e a função ventricular. Como os animais SHR evoluem para óbito a partir dos 18 meses de idade por IC (Bing *et al.*, 1995; Cezar *et al.*, 2013), cada grupo de SHR foi composto inicialmente por 25 ratos.

Tolerância ao esforço

A tolerância ao esforço físico foi avaliada antes e após o período de treinamento. O teste consistiu em corrida em esteira rolante, iniciada na velocidade de 6 m/min, com incrementos de 3 m/min a cada três minutos, até a exaustão do animal. A velocidade máxima de corrida foi registrada e a distância total percorrida calculada. Os animais foram adaptados ao ambiente de teste durante uma semana antes das avaliações, por 10 min/dia.

Protocolo de exercício físico

O exercício físico foi realizado em esteira, cinco vezes por semana. Inicialmente, houve um período de adaptação, com aumento gradativo da velocidade e tempo de exercício, conforme quadro abaixo (Quadro 1). A partir da sexta semana de treinamento, os ratos foram exercitados à velocidade de 10 - 12 m/min e duração de 30 min até o final do período experimental de quatro meses. Protocolo adaptado de Emter *et al.* (2005)

Quadro 1: Protocolo de exercício físico

Semanas	Velocidade (m/min)	Duração (min)
1 ^a	5	10
2 ^a	7,5	14
3 ^a	10-12	18
4 ^a	10-12	22
5 ^a	10-12	26
6 ^a em diante	10-12	30

m: metros; min: minutos.

Medida da pressão arterial sistólica

A pressão arterial caudal foi aferida indiretamente na cauda do animal. Os ratos foram previamente aquecidos à temperatura de 40°C por 5 minutos e as medidas determinadas por plestimografia, utilizando-se o aparelho electro-sphygmomanometer, Narco Bio-System®, modelo 709-0610 (International Biomedical, Inc, USA) (Pfeffer *et al.*, 1971).

Avaliação das estruturas cardíacas e função ventricular

As estruturas cardíacas e a função do VE foram avaliadas antes e após o protocolo de exercício físico por ecocardiograma transtorácico. Previamente, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg) e cloridrato

de xilidino (1 mg/kg), por via intraperitoneal. Após tricotomia da região anterior do tórax, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. Foi utilizado equipamento da General Electric Medical Systems, modelo Vivid S6 (Tirat Carmel, Israel), dotado de transdutor multifrequencial de 5 a 11,5 MHz. A avaliação dos fluxos transvalvar mitral e aórtico foi realizada com o mesmo transdutor operando em 5,0 MHz. As variáveis morfológicas e funcionais do coração foram obtidas de acordo com a metodologia previamente descrita em nosso laboratório (Okoshi *et al.*, 2002; Fioretto *et al.*, 2002; Moreira *et al.*, 2009). Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas manualmente com o auxílio de um paquímetro de precisão, de acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography (Sahn *et al.*, 1978). As estruturas cardíacas foram medidas em, pelo menos, cinco ciclos cardíacos consecutivos. As seguintes estruturas foram avaliadas: diâmetros diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do VE; espessuras diastólica (EDPP) e sistólica (ESPP) da parede posterior do VE; espessuras diastólica (EDSIV) e sistólica (ESSIV) do septo interventricular e diâmetro da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE). A massa do VE foi calculada segundo a fórmula $[(DDVE + EDPP + EDSIV)^3 - DDVE^3] \times 1,04$, onde 1,04 representa a densidade específica do miocárdio (Litwin *et al.*, 1995). A espessura relativa do VE foi calculada pela fórmula $[(2 \times EDPP) / DDVE]$ (Ganau *et al.*, 1992). A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices: 1) porcentagem de encurtamento endocárdico (% Enc. Endo): $[(DDVE - DSVE)/DDVE]$; 2) porcentagem de encurtamento mesocárdico (% Enc. Meso): $[(DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV) - (DSVE + \frac{1}{2} ESPP + \frac{1}{2} ESSIV)/(DDVE + \frac{1}{2} EDPP + \frac{1}{2} EDSIV)]$; 3) velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), que é a tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior; 4) velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral (onda S) obtida por Doppler tissular. Adicionalmente foi calculado o índice de performance miocárdica do VE (índice de Tei) (Tei *et al.*, 1997). A função diastólica do VE foi analisada pelos seguintes índices: 1) razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; 2) tempo de desaceleração da onda E (TDE); 3) tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV);

4) pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral (E') e pico de velocidade de deslocamento diastólico tardio do anel mitral (A') obtidas por Doppler tissular; e 5) razão entre as ondas E e E' (E/E').

Estudo do músculo isolado

A função miocárdica foi analisada por meio de preparações com músculos papilares isolados do VE. O desempenho mecânico do músculo papilar foi avaliado no dia seguinte à realização do último ecocardiograma, de acordo com a técnica utilizada rotineiramente em nosso laboratório (Cicogna *et al.*, 1997; Cicogna *et al.*, 2000; Gut *et al.*, 2003; Okoshi *et al.*, 2006). Em resumo, após anestesia com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.), os animais foram submetidos a toracotomia mediana. O coração foi rapidamente removido e colocado em solução de Krebs-Henseleit com a seguinte composição em mM: 118,5 NaCl; 4,69 KCl; 1,25 CaCl₂; 1,16 MgSO₄; 1,18 KH₂PO₄; 5,50 glicose; e 24,88 NaCO₃. A solução foi mantida à temperatura de 28°C e oxigenada com 95% de oxigênio e 5% de dióxido de carbono. A seguir, um músculo papilar do VE foi dissecado, preso a anéis de aço inoxidável e transferido para câmara contendo solução de Krebs Henseleit, com pH entre 7,38 a 7,42 e pressão parcial de oxigênio entre 550 a 600 mmHg. A extremidade inferior do músculo foi acoplada a transdutor de força (Kyowa 120T 20B) e a superior a sistema de alavanca isotônica que permite ajuste do comprimento de repouso do músculo e da pós-carga.

O músculo papilar foi estimulado 12 vezes por minuto por meio de eletrodos de platina (E8 - Grass) com voltagem de estímulo de 12 a 15 volts, correspondente a valor 10% acima do mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo.

Após período de 60 minutos, no qual o músculo contraiu sem desenvolver força (contração isotônica), este foi colocado em contração isométrica pela adição de pós-carga de 50 g. A seguir, o músculo foi progressivamente estirado, até a força desenvolvida atingir seu valor máximo. O comprimento de repouso da fibra muscular associado com a força ou tensão

máxima desenvolvida, em contração isométrica, denomina-se L_{max} . O registro das variáveis foi iniciado após verificar-se que o músculo permanece estável em contração isométrica durante 15 minutos. Os seguintes parâmetros foram analisados: tensão desenvolvida (TD, g/mm²), tensão de repouso (TR, g/mm²), velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida (+dT/dt, g/mm²/s) e velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida (-dT/dt, g/mm²/s). As contrações isométricas foram registradas por meio de sistema de aquisição de dados computadorizado (AcqKnowledge® MP100, Biopac Systems Inc., Santa Barbara, CA, USA). Os valores de tensão foram normalizados pelas áreas seccionais dos músculos.

A reserva contrátil foi avaliada por meio dos seguintes estímulos inotrópicos: 1) contrações após pausas de 10, 30 e 60 segundos; 2) aumento da concentração extracelular de cálcio de 0,625 para 1,25 e 2,5 mM; e 3) adição de isoproterenol (10^{-8} , 10^{-7} e 10^{-6} M) à solução nutriente.

O comprimento do músculo (L_{max}) foi medido com auxílio de catetômetro Gartner (Gartner Scientific Corporation, Chicago, USA). Ao final do experimento, a porção muscular entre os anéis de aço foi cortada, submetida à secagem com papel filtro e pesada. A área seccional do músculo foi calculada dividindo-se o peso pelo comprimento.

Análise macroscópica e dos sinais de insuficiência cardíaca

Nos dias imediatamente precedentes à eutanásia dos animais, três pesquisadores avaliaram a presença ou ausência do sinal clínico de IC taquipneia/respiração laboriosa. Imediatamente após a eutanásia, foram pesquisados outros sinais de IC como ascite, congestão hepática, derrame pleural, trombo em átrios, hipertrofia do ventrículo direito (relação ventrículo direito em mg/peso corporal em g > 0,8) e congestão pulmonar (relação peso dos pulmões/peso corporal > 2 desvios padrão acima da média do grupo controle (WKY-SED)) (Martinez *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2010).

O grau de hipertrofia ventricular foi avaliado pelos pesos dos ventrículos direito e esquerdo normalizados pelo peso corporal e pelo

comprimento da tíbia dos animais. Os átrios foram dissecados e pesados. Fragmentos dos ventrículos, átrios, pulmão e fígado foram obtidos para determinação da relação peso úmido/peso seco desses órgãos.

Análise histológica do ventrículo esquerdo

Para o preparo das lâminas histológicas, as amostras de tecido foram transferidas para câmara do micrótomo criostato (-20°C), onde permaneceram por 20 a 30 minutos para estabelecimento do equilíbrio térmico. Os blocos de tecido foram, então, fixados em suportes metálicos do criostato (JUNG CM 1800 - Leica) por pequenas quantidades de adesivo (OCT - Tissue Tek Compound) e orientados de modo que os cortes fossem feitos transversalmente à direção das fibras musculares com espessura de 8 µm. A seguir, os cortes foram corados pelo método hematoxilina e eosina. Em secções transversas do VE, foram medidos os menores diâmetros transversos de, no mínimo, 50 fibras cardíacas em que o núcleo estivesse claramente identificável (Ahmet *et al.*, 2005). Outras lâminas foram coradas pelo método tricrômetro de Masson e utilizadas para quantificação da fração de colágeno intersticial, mensurada em pelo menos 20 campos histológicos. A fração de colágeno intersticial foi correspondente à porcentagem de tecido colágeno em relação à área total do músculo. Na avaliação, não foram incluídas regiões perivasculares. As análises morfométricas foram realizadas em sistema de análise de imagem computadorizado com o auxílio de microscópio LEICA DM LS acoplado a câmera de vídeo (Image Pro-plus, Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA).

Avaliação colorimétrica do tecido colágeno

Para avaliação da hidroxiprolina, colágeno total e solúvel do tecido cardíaco foram utilizados três ensaios colorimétricos. A análise do colágeno solúvel foi realizada com a extração do tecido por ácido acético e pepsina utilizando-se o método de coloração por *sirius red* e leitura por espectrofotometria a 540 nm. A análise do colágeno total e de hidroxiprolina foi

realizada por hidrólise ácida mediante adição de HCl 6 N em cada um dos tubos da amostra e, posteriormente, foi adicionada a solução cloramina T/P-dimetilamina-benzaldeído para obtenção de cor, e a leitura foi realizada por espectrofotometria a 570 nm (Prockop & Udenfriend, 1960).

Análise dos mRNAs dos genes alvo por RT-PCR em tempo real

A expressão gênica do colágeno tipo I $\alpha 1$, colágeno tipo III $\alpha 1$ e a de lisil oxidase, que é a enzima responsável pelo “cross-linking” do colágeno, foi avaliada por reação em cadeia da polimerase em tempo real após transcrição reversa (RT-PCR) em fragmentos da parede livre do VE (Wellner *et al.*, 2005; Carvalho *et al.*, 2006). Após a eutanásia, amostra de miocárdio foi imediatamente congelada em nitrogênio e, a seguir, transferida para freezer a -80°C , onde permaneceu até o estudo molecular.

Extração de RNA com TRIzol

O fragmento muscular congelado foi homogeneizado em Polytron com TRIzol (1 mL de TRIzol/50-100 mg de tecido). O material insolúvel resultante da homogeneização foi retirado por centrifugação a 12.000 g por 10 min. a 4°C . Essa solução foi coletada e transferida para tubo de 1,5 mL e incubada por 5 min. à temperatura ambiente para permitir a completa dissociação dos complexos núcleo-protéicos. A seguir, após incubação por 3 min. com 0,2 mL de clorofórmio por mL de TRIzol utilizado, o material foi centrifugado a 12.000 g por 15 min. a 4°C . A fase aquosa formada após a centrifugação do material foi separada e precipitada por intermédio de incubação com 0,5 mL de isopropanol (por mL de TRIzol utilizado inicialmente) por 10 min. A seguir, o material foi novamente centrifugado a 12.000 g. O sedimento formado foi lavado com 1 mL de etanol 75% (por mL de TRIzol utilizado inicialmente) e centrifugado a 7.500 g. O sedimento de RNA secou por 10 min, foi ressuspensão em solução 0,01% de DEPC (dietilpirocarbonato) e incubado a 60°C por 10 min. para a inativação de possíveis resíduos de RNase. O RNA foi, então, quantificado por

espectrofotometria a 260 nm (NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer Thermo Scientific - Nanodrop Technologies, Inc www.nanodrop.com), utilizando-se o fator de correção próprio para o RNA (40) e o fator de diluição do RNA (70). Foi também determinada, por espectrofotometria, a razão entre 260 e 280 nm, o que fornece uma estimativa da qualidade do processo de extração.

Gel analítico de agarose para RNA

Para analisar a integridade do RNA, eletroforese (3 µL da solução contendo o RNA total) foi realizada em gel de agarose à voltagem de 80 mV. A integridade do RNA foi constatada pela visualização das bandas de RNA ribossômico, 28S e 18S, e ausência de rastros do RNA no gel. As amostras que se mostraram íntegras foram utilizadas como substrato para a transcrição reversa.

Transcrição reversa (RT) do RNA

A RT do RNA de cada amostra foi realizada utilizando-se os componentes do Kit SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, Brasil). Uma mistura contendo 1 µg de RNA total, 1 µL de dNTP mix 10 mM e 1 µL de Random Hexamers (50 ng/µL), com volume total ajustado para 10 µL de H₂O tratada com DEPC (dietilpirocarbonato), foi incubada por 5 min a 65°C. A seguir, foram adicionados a essa mistura 9 µL de uma solução contendo 2 µL de tampão RT 10x, 4 µL de MgCl₂ 25 mM, 2 µL de DTT 0,1 M e 1 µL de inibidor de RNase recombinante RNaseOUT™ (40 unidades/µL). Após leve agitação e incubação a 42°C por 2 min, foi adicionado à reação 1 µL da enzima SuperScript™ II RT (50 unidades/µL) e a mistura foi novamente incubada por 50 min a 42°C. A seguir, a mistura da reação foi colocada no gelo e adicionado 1 µL de RNase H para, finalmente, incubar essa mistura por 20 min a 37°C. Para comprovar a ausência de DNA genômico residual nas amostras de RNA submetidas à reação de RT, uma amostra de RNA (controle negativo da RT) foi submetida à reação de RT acima descrita com a substituição da enzima SuperScript™ II RT por 1 µL de H₂O com DEPC. Esse produto de reação foi

utilizado em todas as reações de PCR e a ausência de DNA genômico residual foi confirmada pela ausência de produtos de amplificação.

Reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real

Alíquotas da reação de RT de cada amostra contendo 10-100 ng de cDNA foram adicionadas a uma mistura contendo 10 µL 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) e 1 µL de ensaio pré-otimizado (20X) contendo sonda FAM dye-labeled Taqman MGB e primers “sense” e “antisense” não marcados (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) específicos para cada gene. Foi adicionada água tratada com DEPC para se obter um volume final de 20 µL. As reações foram realizadas em triplicatas para cada gene alvo e para o gene de referência no Sistema Real Time PCR 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), seguindo protocolo sugerido pelo fabricante: 1 ciclo a 95°C por 10 min para ativação da AmpliTaq Gold Enzyme; 40 ciclos de desnaturação (95°C por 15 s) e anelamento-extensão (60°C por 1 min). Para cada amostra foi plotado um gráfico de amplificação mostrando um aumento do reporter dye fluorescente em cada ciclo da PCR. A partir desse gráfico, foi determinado o ciclo em que a reação atinge o limiar de detecção (critical threshold cycle - CT), baseado na variabilidade dos dados da linha de base obtidos a partir dos ciclos iniciais da PCR. A quantificação foi feita pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$.

Primers

Os seguintes oligonucleotídeos foram utilizados como *primers* para a reação de PCR do produto de RT:

- colágeno tipo I, $\alpha 1$ (nº de acesso genbank: NM_053304.1)
- colágeno tipo III, $\alpha 1$ (nº de acesso genbank: NM_032085.1)
- lisil oxidase (nº de acesso genbank: NM_017061.2)
- ciclofilina (nº de acesso genbank: NM_017101) - gene constitucional.

Análise estatística

As comparações entre os grupos foram realizadas pela técnica de análise de variância (ANOVA) para esquema de dois fatores, complementada com teste de comparações múltiplas de Tukey, quando os resultados das variáveis apresentaram distribuição normal. Quando não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste de Mann-Witney (valor de $p \times 2$). O teste de Goodman foi utilizado para analisar a frequência de sinais de IC. O teste t pareado de Student foi utilizado para comparar os momentos iniciais e finais (PAS e teste de esforço). As conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Caracterização dos grupos experimentais e variáveis anatómicas

Para a constituição dos grupos nesse estudo foram utilizados 35 ratos WKY, divididos em sedentários (n=17) e exercitados (n=18) e 50 ratos SHR divididos em sedentários (n=25) e exercitados (n=25). O número final dos animais SHR foi de 19 sedentários e 22 exercitados.

Os sinais de IC estão apresentados na Figura 1. O grupo SHR-SED apresentou maior porcentagem de ratos com derrame pleural, ascite e taquipneia em comparação com os grupos WKY-SED e SHR-EX.

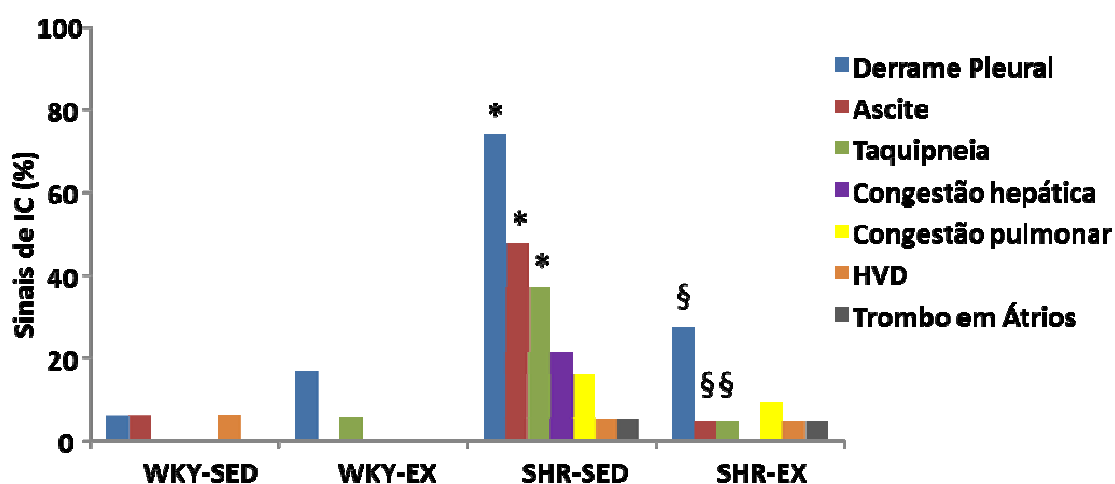


Figura 1: Sinais de insuficiência cardíaca. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado. HVD: hipertrofia do ventrículo direito. * $p < 0,05$ vs. WKY-SED; § $p < 0,05$ vs. SHR-SED (teste de Goodman).

Teste de esforço

Na Figura 2 são apresentados os dados de distância percorrida e tempo do teste de esforço, antes e após o protocolo de exercício físico. No teste inicial e final os grupos SHR apresentaram melhor desempenho em relação aos respectivos controles. No teste final os grupos exercitados tiveram melhor desempenho em relação aos grupos sedentários.

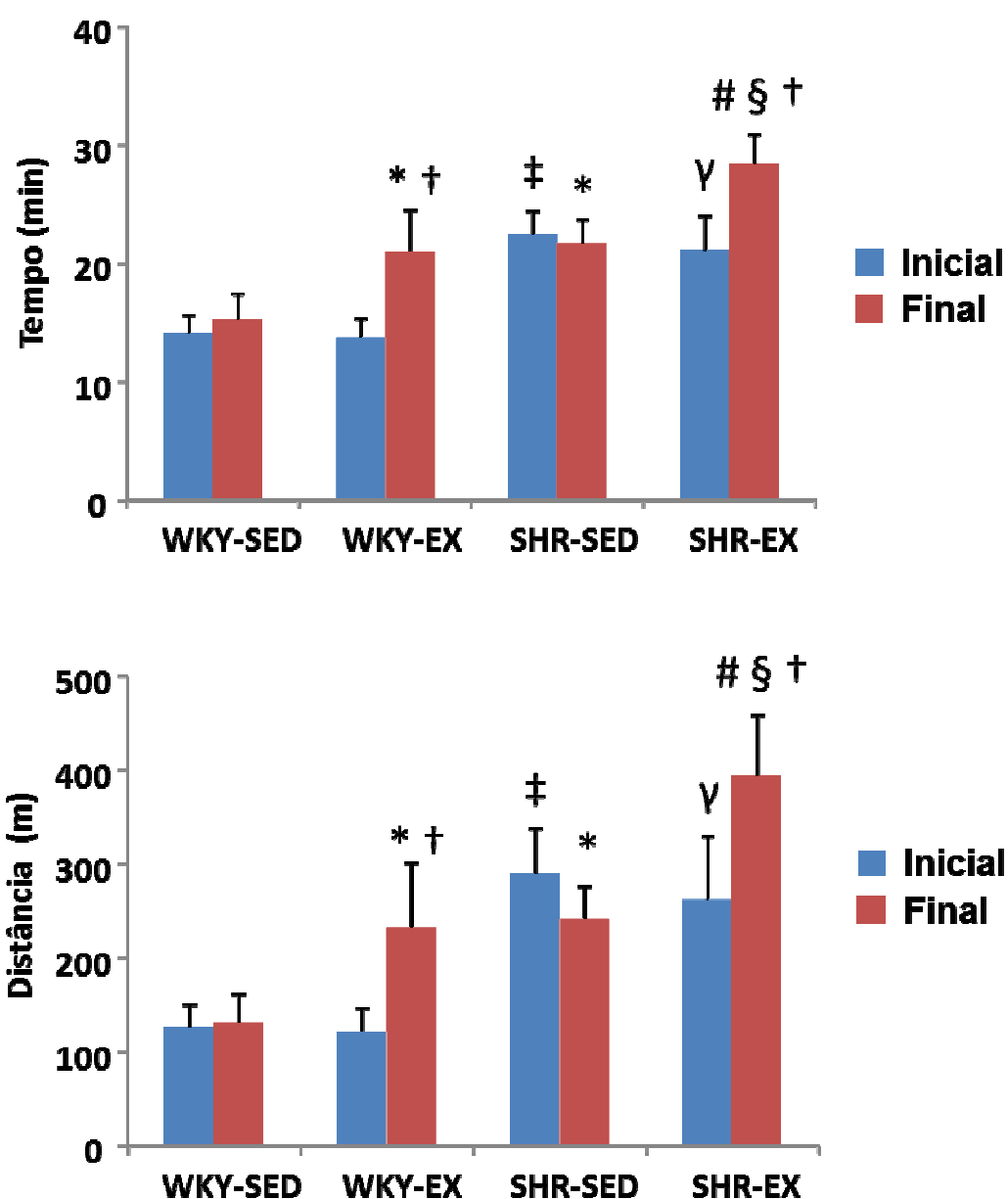


Figura 2: Tempo e distância no teste de esforço. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos e exercitado. *: $p < 0,05$ vs. WKY-SED final; †: $p < 0,05$ vs. inicial dentro do mesmo grupo; ‡: $p < 0,05$ vs. WKY-SED inicial; †: $p < 0,05$ vs. WKY-EX inicial; #: $p < 0,05$ vs. WKY-EX final; §: $p < 0,05$ vs. SHR-SED final (Teste t pareado e ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Peso corporal

Na Tabela 1 estão apresentados os valores do peso corporal dos animais. Nos momentos inicial e final do experimento, o peso corporal foi

semelhante quando comparados dentro dos grupos WKY (WKY-SED vs. WKY-EX) e SHR (SHR-SED vs. SHR-EX). O grupo SHR-SED e o SHR-EX apresentaram peso menor quando comparado com os respectivos controles. Não houve diferença do peso corporal nos momentos inicial vs. final dentro do mesmo grupo.

Tabela 1: Peso corporal dos animais

Variáveis	WKY-SED (n=17)	WKY-EX (n=18)	SHR-SED (n=19)	SHR-EX (n=22)
Peso inicial (g)	619 ± 65,2	644 ± 46,8	401 ± 24,1*	388 ± 25,9 [#]
Peso final (g)	623 ± 102	612 ± 81,5	390 ± 22,8*	371 ± 28,4 [#]

Valores expressos em média e desvio padrão. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado. *: p<0,05 vs. WKY-SED; [#]: p<0,05 vs. WKY-EX (Teste *t* pareado e ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Pressão arterial sistólica

A Tabela 2 apresenta os valores de PAS inicial e final dos quatro grupos. O grupo SHR-SED e o SHR-EX apresentaram valores de PAS maiores quando comparado com os respectivos controles, no início e final do experimento. Os grupos exercitados e o grupo SHR-SED apresentaram valores maiores de PAS ao final do experimento em comparação com os valores iniciais.

Tabela 2: Pressão arterial sistólica (PAS) no início e final do experimento

	WKY-SED (n= 18)	WKY-EX (n= 18)	SHR-SED (n= 20)	SHR-EX (n= 19)
PAS inicial (mmHg)	119 (112 - 124)	122 (118 - 125)	187 (185 - 204)*	190 (183 - 202) [#]
PAS final (mmHg)	125 (115 - 132)	134 (127 - 137) [†]	210 (199 - 224)* [†]	220 (215 - 235) ^{#†}

Valores expressos em mediana e percentis 25% e 75%. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; *: p<0,05 vs. WKY-SED; [#]: p<0,05 vs. WKY-EX; [†]: p<0,05 vs. inicial dentro do mesmo grupo (Teste *t* pareado e ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Avaliação ecocardiográfica

O ecocardiograma foi utilizado para avaliar as variáveis estruturais e funcionais do coração. O exame foi realizado antes do início do protocolo de treinamento para assegurar distribuição homogênea entre os grupos (dados não apresentados). Na Tabela 3 são apresentadas as variáveis estruturais do coração avaliadas ao final do experimento. Os dois grupos SHR apresentaram valores maiores para as variáveis DDVE/PC, EDPP, EDSIV, AO, AE, AE/PC, MVE, IMVE e Esp. Rel. VE em comparação aos respectivos controles. Nas variáveis DSVE e AE/AO, somente o grupo SHR-SED apresentou valores maiores em relação ao controle. No grupo SHR-EX, os valores foram intermediários entre SHR-SED e WKY-EX, não sendo estaticamente diferente desses grupos, podendo indicar efeito benéfico do exercício no grupo SHR-EXE.

Tabela 3: Análise ecocardiográfica dos parâmetros estruturais do coração

	WKY-SED (n= 17)	WKY-EX (n= 15)	SHR-SED (n= 13)	SHR-EX (n=16)
FC (bpm)	275 (230 - 240)	275 (237 – 312)	312 (272 - 331)	285 (260 - 303)
DDVE (mm)	8,19 ± 0,61	8,49 ± 0,87	8,72 ± 0,77	8,30 ± 0,66
DDVE/PC (mm/kg)	13,8 ± 2,30	14,4 ± 2,85	21,9 ± 2,32*	22,2 ± 2,23 [#]
DSVE (mm)	3,42 ± 0,84	3,87 ± 0,85	4,26 ± 0,91*	3,99 ± 0,76
EDPP (mm)	1,58 ± 0,11	1,58 ± 0,10	1,87 ± 0,10*	1,88 ± 0,20 [#]
EDSIV (mm)	1,58 ± 0,12	1,59 ± 0,10	1,88 ± 0,19*	1,88 ± 0,19 [#]
AO (mm)	4,34 ± 0,26	4,37 ± 0,24	4,87 ± 0,21*	4,79 ± 0,32 [#]
AE (mm)	5,76 ± 0,80	6,14 ± 0,94	7,26 ± 0,91*	7,04 ± 0,91 [#]
AE/AO	1,33 ± 0,19	1,41 ± 0,22	1,50 ± 0,23*	1,47 ± 0,19
AE/PC (mm/kg)	9,78 ± 2,38	10,38 ± 2,02	18,2 ± 2,06*	18,8 ± 2,47 [#]
MVE (g)	0,96 ± 0,17	1,03 ± 0,25	1,34 ± 0,23*	1,24 ± 0,26 [#]
IMVE (g/kg)	1,60 ± 0,31	1,74 ± 0,47	3,37 ± 0,65*	3,30 ± 0,59 [#]
Esp. Rel. VE	0,38 (0,36 - 0,41)	0,37 (0,35 - 0,39)	0,43 (0,42 - 0,44)*	0,44 (0,42 - 0,48) [#]

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; FC: frequência cardíaca; PC: peso corporal; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE); DSVE: diâmetro sistólico do VE; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do VE; EDSIV: espessura diastólica do septo interventricular; AO: diâmetro de aorta; AE: diâmetro de átrio esquerdo; MVE: massa do VE; Esp. Rel. VE: espessura relativa do VE. * p<0,05 vs. WKY-SED; # p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

A Tabela 4 apresenta os dados da função sistólica do VE. O grupo SHR-SED apresentou menor % de encurtamento endocárdico e mesocárdico e maior valor do índice de Tei em comparação ao controle WKY-SED. O SHR-EX apresentou menor % de encurtamento mesocárdico e de S' média e maior valor do índice de Tei em relação ao controle WKY-EX. Esses dados indicam comprometimento da função sistólica e do desempenho miocárdico nos grupos hipertensos, e o exercício não melhorou esses índices.

Tabela 4: Avaliação da função sistólica do ventrículo esquerdo por ecocardiograma

	WKY-SED (n= 17)	WKY-EX (n= 15)	SHR-SED (n= 13)	SHR-EX (n=16)
% Enc. Endo	58,6 ± 8,20	54,8 ± 5,86	51,5 ± 7,67*	52,2 ± 6,13
% Enc. Meso	29,8 ± 5,05	28,0 ± 5,05	25,2 ± 4,60*	23,9 ± 3,71#
VEPP (mm/s)	40,3 (35,4 - 41,6)	38,0 (33,6 - 40,0)	34,5 (31,6 - 38,6)	35,0 (32,8 - 37,1)
Tei	0,51 (0,45 - 0,52)	0,51 (0,49 - 0,56)	0,65 (0,56 - 0,73)*	0,63 (0,60 - 0,65)#
S' média (mm/s)	3,00 (2,25 - 3,00)	3,00 (2,75 - 3,25)	3,00 (2,50 - 3,00)	2,75 (2,50 - 2,75)#

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado. % Enc. Endo: % de encurtamento endocárdico; % Enc. Meso: % de encurtamento mesocárdico; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; Tei: índice de Tei (índice de performance miocárdica); S' média: média das velocidades máximas de deslocamento das paredes lateral e septal do anel mitral avaliada por Doppler tissular; *: p<0,05 vs. WKY-SED; #: p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

A Tabela 5 mostra os valores da função diastólica. O grupo WKY-EX apresentou maior A' média em relação ao controle. O grupo SHR-SED apresentou maior valor no TRIV, A' média e A' septal em comparação com o controle. O grupo SHR-EX apresentou maior TRIV em relação ao seu controle, menor A' média em comparação com o controle e com o grupo SHR-SED, e menor A' septal em relação ao grupo SHR-SED. Esses dados indicam comprometimento diastólico do VE nos grupos hipertensos e o exercício foi benéfico por reduzir a velocidade de deslocamento tardio do anel mitral.

Tabela 5: Avaliação da função diastólica do ventrículo esquerdo por ecocardiograma

	WKY-SED (n= 17)	WKY-EX (n= 15)	SHR-SED (n= 13)	SHR-EX (n=16)
E mitral (cm/s)	74,5 (72,0 - 78,0)	80,0 (67,8 - 91,5)	80,0 (67,8 - 91,5)	70,0 (66,3 - 82,5)
A mitral (cm/s)	60,0 ± 17,9	61,5 ± 19,5	66,1 ± 22,7	53,4 ± 15,6
E/A	1,34 ± 0,37	1,35 ± 0,41	1,38 ± 0,62	1,45 ± 0,36
TRIV (ms)	33,0 (26,0 - 33,0)	30,0 (26,0 - 33,0)	33,0 (33,0 - 41,0)*	37,0 (37,0 - 41,0)#
E' lateral (cm/s)	3,00 (3,00 - 4,00)	3,00 (2,62 - 3,87)	3,50 (3,00 - 4,25)	3,00 (2,50 - 3,50)
E' septal (cm/s)	3,00 (3,50 - 3,50)	3,00 (2,62 - 3,87)	4,00 (3,50 - 4,50)	3,50 (3,00 - 4,25)
E' média (cm/s)	3,37 (2,75 - 3,5)	3,25 (2,75 - 3,50)	3,75 (3,25 - 3,88)	3,50 (3,00 - 3,63)
E/E' média	24,0 ± 4,12	24,4 ± 5,17	20,6 ± 5,13	21,9 ± 5,03
A' lateral (cm/s)	3,25 (2,50 - 4,00)	4,00 (3,62 - 4,50)	3,50 (3,00 - 4,62)	3,00 (2,75 - 3,25)
A' septal (cm/s)	3,32 ± 0,97	3,90 ± 1,12	4,42 ± 1,15*	3,50 ± 0,88§
A' média (cm/s)	3,38 ± 0,92	4,03 ± 0,78*	4,19 ± 1,10*	3,30 ± 0,67 #§

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado. E: pico de velocidade do fluxo de enchimento inicial; A: pico de velocidade do fluxo de enchimento tardio; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico; E': pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral; A': pico de velocidade de deslocamento diastólico tardio do anel mitral; *: p<0,05 vs. WKY-SED; #: p<0,05 vs. WKY-EX; §: p<0,05 vs. SHR-SED (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Variáveis anatômicas

A Tabela 6 mostra as variáveis corporais e cardíacas dos grupos. As variáveis peso corporal (PC), comprimento da tibia (tíbia), peso do ventrículo direito (VD) e peso dos átrios estavam diminuídas nos grupos SHR em relação aos respectivos controles. No entanto, o peso do VE, as relações VE/PC, VE/tíbia, VD/PC, peso dos átrios/PC e a relação peso úmido/seco do pulmão foram maiores nos grupos SHR em comparação com os respectivos controles. A relação peso dos átrios/tíbia e VD/tíbia foram menores e a relação peso úmido/seco do VD maior no grupo SHR-EX em relação ao WKY-EX. O grupo WKY-EX apresentou maior valor das relações VE/PC e VE/tíbia em comparação ao WKY-SED. As relações dos pesos úmido/seco do VE, dos átrios e do fígado não apresentaram diferenças entre os grupos.

Tabela 6: Parâmetros corporais e cardíacos dos animais

Variáveis	WKY-SED (n= 17)	WKY-EX (n= 18)	SHR-SED (n=19)	SHR-EX (n= 19)
PC (g)	623 ± 102	612 ± 81,5	390 ± 22,8*	371 ± 28,4#
Tíbia (cm)	4,80 (4,64 - 4,85)	4,77 (4,75 - 4,85)	4,15 (4,11 - 4,20)*	4,15 (4,15 - 4,20)#
VE (g)	0,95 (0,91 - 1,00)	1,05 (1,01 - 1,11)	1,21 (1,16 - 1,25) *	1,17 (1,09 - 1,25)#
VE/PC (g/kg)	1,54 (1,49 - 1,64)	1,64 (1,57 - 1,83)*	3,02 (2,92 - 3,22)*	3,18 (2,28 - 3,23)#
VE/Tíbia (g/cm)	0,20 (0,19 - 0,21)	0,22 (0,21 - 0,23)*	0,27 (0,28 - 0,30)*	0,28 (0,26 - 0,30)#
VD (g)	0,28 (0,26 - 0,30)	0,29 (0,27 - 0,32)	0,24 (0,22 - 0,27)*	0,23 (0,21 - 0,25)#
VD/PC (g/kg)	0,45 (0,40 - 0,49)	0,48 (0,44 - 0,53)	0,62 (0,58 - 0,65)*	0,63 (0,58 - 0,66) #
VD/Tíbia (g/cm)	0,06 (0,05 - 0,06)	0,06 (0,06 - 0,07)	0,06 (0,05 - 0,06)	0,06 (0,05 - 0,06)#
Átrios (g)	0,13 (0,12 - 0,15)	0,14 (0,13 - 0,15)	0,10 (0,09 - 0,12)*	0,10 (0,10 - 0,11)#
Átrios/PC (g/kg)	0,20 (0,18 - 0,24)	0,23 (0,19 - 0,26)	0,25 (0,23 - 0,31)*	0,29 (0,26 - 0,31)#
Átrios/Tíbia (g/cm)	0,03 (0,02 - 0,03)	0,03 (0,03 - 0,03)	0,02 (0,02 - 0,03)	0,02 (0,02 - 0,03)#
VE úmido/seco	4,12 (3,97 - 4,27)	4,13 (4,03 - 4,24)	4,25 (4,13 - 4,32)	4,24 (4,13 - 4,39)
VD úmido/seco	4,28 (4,20 - 4,35)	4,23 (4,18 - 4,30)	4,37 (4,27 - 4,43)	4,32 (4,27 - 4,35)#
Átrios úmido/seco	4,68 ± 0,24	4,76 ± 0,26	4,79 ± 0,22	4,79 ± 0,20
Pulmão úmido/seco	4,53 (4,36 - 4,61)	4,50 (4,28 - 4,63)	5,09 (4,96 - 5,69)*	4,94 (4,64 - 5,30)#
Fígado úmido/seco	3,00 (2,94 - 3,10)	3,00 (2,94 - 3,09)	2,76 (2,65 - 3,10)	2,89 (2,62 - 3,13)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; PC: peso corporal; Tíbia: comprimento da tíbia; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito. *: p<0,05 vs. WKY-SED; #: p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Estudo do músculo isolado

A função miocárdica avaliada pela técnica do músculo papilar isolado está representada na Figura 3 e nas Tabelas 7, 8 e 9. A figura apresenta as variáveis funcionais na condição basal e as tabelas apresentam as variáveis após as três manobras inotrópicas utilizadas para avaliar a reserva contrátil do músculo. Na condição basal (Figura 3) o grupo SHR-EX apresentou melhor desempenho da TD em comparação ao grupo controle e ao SHR-SED. A -dT/dt foi maior nos grupos SHR em relação aos respectivos controles. Embora a -dT/dt tenha sido maior no grupo SHR-EX em relação ao SHR-SED, essa diferença não atingiu significância estatística. Em relação às variáveis +dT/dt e TR, não houve diferença entre os grupos.

Na Tabela 7 estão apresentadas as variáveis de função miocárdica após pausas de 10, 30 e 60 segundos. O grupo SHR-EX apresentou melhor desempenho da TD e da $-dT/dt$ em comparação ao WKY-EX após as três pausas. Já o grupo SHR-SED mostrou melhor $-dT/dt$ em relação ao respectivo controle (WKY-SED) após as três pausas. Não houve diferença entre os grupos SHR.

Na Tabela 8 são apresentados os dados da elevação da concentração extracelular de cálcio. O grupo SHR-EX apresentou melhor desempenho da TD com o cálcio de 0,625 mM, em relação ao grupo WKY-EX. A TD foi maior também em outras concentrações de cálcio, no entanto não atingiu diferença estatística. A $-dT/dt$, em concentrações de cálcio de 0,625 mM e 1,25 mM, foi maior no grupo SHR-EX versus WKY-EX. A $-dT/dt$ foi também maior no grupo SHR-SED versus WKY-SED com cálcio de 0,625 mM.

A Tabela 9 apresenta as variáveis funcionais após adição de diferentes concentrações de isoproterenol. Na condição basal e após adição de isoproterenol 10^{-8} M, o grupo SHR-EX mostrou maior valor da TD em relação ao grupo WKY-EX. A $-dT/dt$ foi maior no grupo SHR-EX em relação ao WKY-EX na condição basal e nas três concentrações de isoproterenol. O grupo SHR-SED apresentou melhor desempenho da $-dT/dt$ nas concentrações de 10^{-7} M e 10^{-6} M em comparação ao controle WKY-SED. Interessante notar que nas três manobras realizadas os valores das variáveis de função contrátil e de relaxamento foram sempre maiores no grupo SHR-EX em relação ao SHR-SED, embora sem atingir significância estatística.

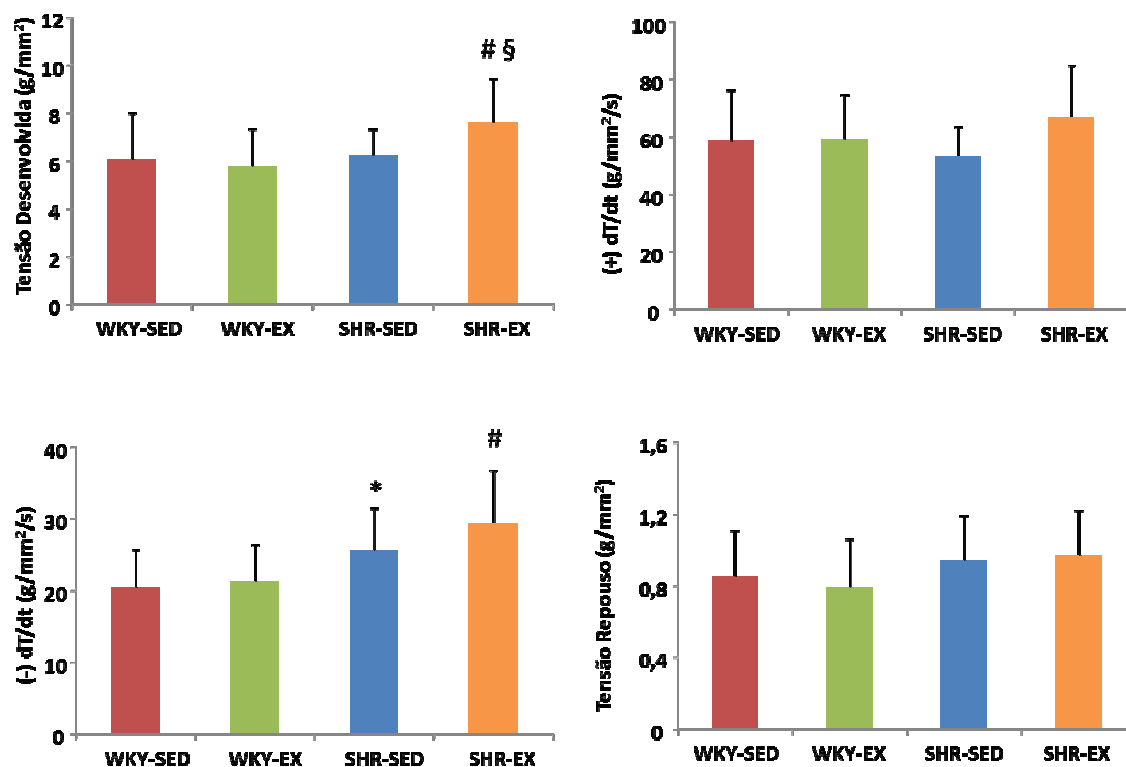


Figura 3: Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas em condição basal. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida *: $p < 0,05$ vs. WKY-SED; #: $p < 0,05$ vs. WKY-EX; §: $p < 0,05$ vs. SHR-SED (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Tabela 7: Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas após pausas de 10, 30 e 60 segundos

Variáveis	Grupos	PP 10s	PP 30s	PP 60s
TD (g/mm ²)	WKY-SED	6,60 ± 2,07	6,97 ± 2,25	7,07 ± 2,32
	WKY-EX	6,33 ± 1,63	6,62 ± 1,72	6,72 ± 1,75
	SHR-SED	7,43 ± 1,90	7,76 ± 2,04	7,87 ± 2,10
	SHR-EX	8,30 ± 2,01 [#]	8,65 ± 2,03 [#]	8,74 ± 2,09 [#]
TR (g/mm ²)	WKY-SED	0,85 ± 0,26	0,82 ± 0,25	0,77 ± 0,24
	WKY-EX	0,79 ± 0,27	0,74 ± 0,26	0,71 ± 0,25
	SHR-SED	0,91 ± 0,24	0,91 ± 0,26	0,83 ± 0,22
	SHR-EX	0,97 ± 0,26	0,93 ± 0,26	0,88 ± 0,28
+dT/dt (g/mm ² /s)	WKY-SED	62,95 ± 17,52	66,93 ± 19,97	69,63 ± 22,15
	WKY-EX	64,60 ± 16,58	67,79 ± 17,74	69,42 ± 17,87
	SHR-SED	64,60 ± 18,89	66,67 ± 19,71	67,40 ± 19,76
	SHR-EX	72,66 ± 19,96	74,53 ± 18,03	75,34 ± 19,01
-dT/dt (g/mm ² /s)	WKY-SED	20,5 ± 5,08	20,7 ± 5,23	22,4 ± 6,46
	WKY-EX	21,2 ± 5,05	21,2 ± 5,79	21,5 ± 5,27
	SHR-SED	26,6 ± 5,33 [*]	26,6 ± 5,58 [*]	27,5 ± 6,62 [*]
	SHR-EX	29,6 ± 6,76 [#]	29,2 ± 5,04 [#]	29,9 ± 6,15 [#]

Valores expressos em média e desvio padrão. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; TD: tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. *: p<0,05 vs. WKY-SED; #: p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Tabela 8: Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas após elevação da concentração de cálcio

Variáveis	Grupos	0,625 mM	1,25 mM	2,5 mM
TD (g/mm ²)	WKY-SED	4,50 ± 1,84	5,94 ± 1,97	6,62 ± 2,17
	WKY-EX	4,49 ± 1,50	5,77 ± 1,74	6,22 ± 1,79
	SHR-SED	5,40 ± 1,78	6,59 ± 2,22	7,12 ± 2,22
	SHR-EX	6,19 ± 1,61 [#]	7,38 ± 1,80	7,94 ± 1,97
TR (g/mm ²)	WKY-SED	0,70 ± 0,23	0,69 ± 0,23	0,68 ± 0,21
	WKY-EX	0,62 ± 0,22	0,62 ± 0,22	0,64 ± 0,23
	SHR-SED	0,78 ± 0,21	0,78 ± 0,21	0,80 ± 0,22
	SHR-EX	0,80 ± 0,29	0,81 ± 0,32	0,81 ± 0,32
+dT/dt (g/mm ² /s)	WKY-SED	42,89 ± 16,37	57,85 ± 18,15	68,16 ± 21,43
	WKY-EX	44,66 ± 15,41	61,18 ± 18,55	67,78 ± 19,14
	SHR-SED	44,85 ± 14,37	58,17 ± 22,11	66,27 ± 22,78
	SHR-EX	50,87 ± 13,54	65,57 ± 15,22	73,37 ± 18,04
-dT/dt (g/mm ² /s)	WKY-SED	17,4 ± 6,36	21,4 ± 5,70	23,32 ± 5,92
	WKY-EX	18,1 ± 5,40	22,6 ± 6,07	22,92 ± 6,30
	SHR-SED	22,6 ± 6,27 [*]	26,7 ± 8,16	27,62 ± 7,33
	SHR-EX	26,0 ± 7,08 [#]	30,4 ± 7,86 [#]	30,85 ± 7,50

Valores expressos em média e desvio padrão. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; TD: tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. *: p<0,05 vs. WKY-SED; #: p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Tabela 9: Variáveis funcionais do músculo papilar obtidas após adição de isoproterenol (ISO)

Variáveis	Grupos	Basal	ISO 10 ⁻⁸ M	ISO 10 ⁻⁷ M	ISO 10 ⁻⁶ M
TD (g/mm ²)	WKY-SED	5,40 ± 2,15	5,58 ± 2,04	5,73 ± 2,02	5,85 ± 2,07
	WKY-EX	5,41 ± 1,66	5,44 ± 1,74	5,40 ± 1,74	5,41 ± 1,69
	SHR-SED	6,53 ± 2,11	6,41 ± 2,15	6,07 ± 2,21	5,87 ± 2,05
	SHR-EX	7,23 ± 1,83 [#]	7,18 ± 1,78 [#]	6,88 ± 2,12	6,59 ± 1,68
TR (g/mm ²)	WKY-SED	0,68 ± 0,24	0,64 ± 0,23	0,63 ± 0,23	0,61 ± 0,22
	WKY-EX	0,67 ± 0,29	0,64 ± 0,28	0,61 ± 0,27	0,59 ± 0,25
	SHR-SED	0,77 ± 0,20	0,72 ± 0,19	0,71 ± 0,19	0,69 ± 0,19
	SHR-EX	0,79 ± 0,23	0,73 ± 0,23	0,73 ± 0,22	0,69 ± 0,23
+dT/dt (g/mm ² /s)	WKY-SED	52,73 ± 19,88	55,87 ± 19,79	60,98 ± 19,08	68,23 ± 21,40
	WKY-EX	55,98 ± 16,93	57,83 ± 18,07	60,43 ± 18,96	66,50 ± 19,43
	SHR-SED	58,28 ± 21,67	69,27 ± 19,59	63,47 ± 24,08	65,81 ± 23,07
	SHR-EX	63,98 ± 15,59	66,39 ± 15,33	70,69 ± 21,38	73,07 ± 18,19
-dT/dt (g/mm ² /s)	WKY-SED	19,9 ± 6,18	22,0 ± 6,88	24,0 ± 6,03	30,9 ± 9,09
	WKY-EX	20,3 ± 5,66	21,1 ± 5,96	23,3 ± 7,18	29,5 ± 8,45
	SHR-SED	26,4 ± 7,55	26,4 ± 6,91	31,1 ± 9,67*	41,0 ± 13,0*
	SHR-EX	29,2 ± 8,57 [#]	29,4 ± 6,82 [#]	33,4 ± 9,40 [#]	44,2 ± 11,1 [#]

Valores expressos em média e desvio padrão. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; TD: tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. *: p<0,05 vs. WKY-SED; #: p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Avaliação morfométrica e análise do colágeno total, colágeno solúvel e hidroxiprolina

Na Tabela 10 estão expressas as variáveis diâmetro dos miócitos, fração colágena intersticial e a quantificação colorimétrica do colágeno. O grupo SHR-SED apresentou maior diâmetro dos miócitos em relação ao grupo WKY-SED. Os grupos SHR apresentaram maiores valores da fração colágena intersticial em comparação aos respectivos controles. O colágeno total e solúvel não apresentaram diferença entre os grupos. Embora estatisticamente não significativa, os grupos SHR apresentaram os valores médios superiores do colágeno total em relação aos respectivos controles.

Tabela 10: Avaliação morfométrica e quantificação do colágeno total e solúvel

Variáveis	WKY-SED (n= 7)	WKY-EX (n= 7)	SHR-SED (n=7)	SHR-EX (n=7)
Diâmetro (μm)	19,7 $\pm$ 0,69	20,4 $\pm$ 1,31	22,3 $\pm$ 2,38*	21,1 $\pm$ 1,62
FCI (%)	6,92 $\pm$ 1,00	6,47 $\pm$ 1,45	9,07 $\pm$ 1,22*	8,21 $\pm$ 1,71#
Col. Total ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	1,04 $\pm$ 0,50	1,13 $\pm$ 0,14	1,51 $\pm$ 0,75	1,30 $\pm$ 0,53
Col. Solúvel ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	1,61 $\pm$ 0,21	1,56 $\pm$ 0,17	1,56 $\pm$ 0,18	1,58 $\pm$ 0,19

Valores expressos em média e desvio padrão. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado; FCI: fração colágena intersticial. *: $p < 0,05$ vs. WKY-SED; #: $p < 0,05$ vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

A Figura 4 apresenta os valores da concentração de hidroxiprolina no miocárdio do VE. Os grupos SHR-SED e SHR-EX apresentaram valores maiores em comparação aos respectivos controles. O grupo SHR-EX apresentou menor concentração miocárdica de hidroxiprolina em relação ao grupo SHR-SED, mostrando efeito benéfico do exercício.

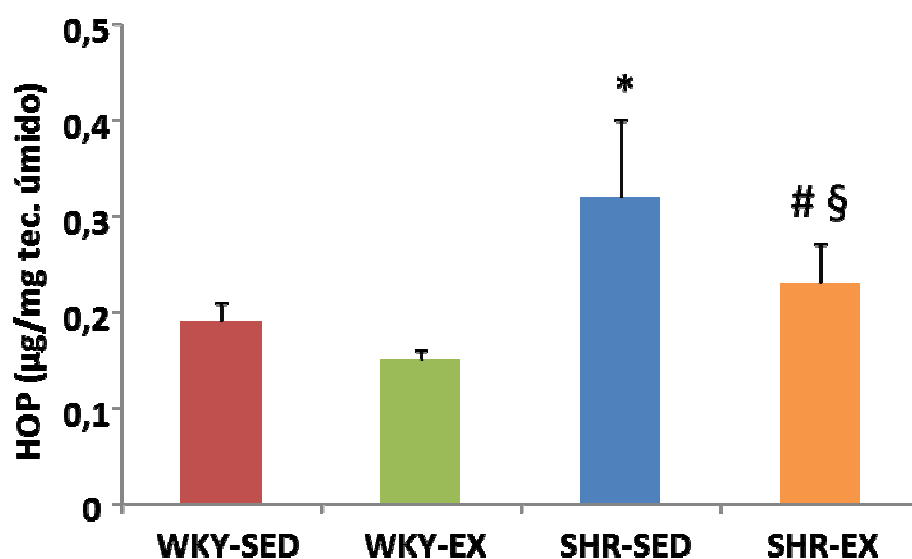


Figura 4: Concentração de hidroxiprolina (HOP) no miocárdio do ventrículo esquerdo. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos exercitado. *: $p < 0,05$ vs. WKY-SED; #: $p < 0,05$ vs. WKY-EX; §: $p < 0,05$ vs. SHR-SED (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

Análise da expressão gênica

A Tabela 11 apresenta a avaliação da expressão gênica do colágeno I, colágeno III e lisil oxidase nos quatro grupos. A expressão gênica do colágeno I foi maior nos grupos SHR em relação aos respectivos controles. A expressão gênica do colágeno III e da lisil oxidase foi maior no grupo SHR-SED em comparação ao seu controle. No entanto, no grupo SHR-EX os valores foram intermediários entre SHR-SED e WKY-EX e sem diferença estatística com esses grupos, o que pode sugerir efeito benéfico do exercício nos animais SHR.

Tabela 11: Avaliação da expressão gênica dos colágenos tipos I e III e da lisil oxidase por RT-PCR em tempo real

Variáveis	WKY-SED (n= 8)	WKY-EX (n= 8)	SHR-SED (n= 8)	SHR-EX (n= 8)
Colágeno I	1,00 ± 0,27	1,13 ± 0,98	2,66 ± 1,02*	2,57 ± 1,34 [#]
Colágeno III	1,05 (0,87 - 1,24)	0,99 (0,75 - 1,25)	3,18 (1,77 - 3,61)*	2,45 (1,74 - 4,01)
Lisil oxidase	1,00 ± 0,30	1,06 ± 0,73	1,86 ± 0,76*	1,44 ± 0,66

Valores (unidade arbitrária) expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. WKY-SED: grupo de ratos Wistar-Kyoto sedentário; WKY-EX: grupo de ratos Wistar-Kyoto exercitado; SHR-SED: grupo de ratos espontaneamente hipertensos sedentário; SHR-EX: grupo de ratos espontaneamente hipertensos tratados exercitado. *: p<0,05 vs. WKY-SED #: p<0,05 vs. WKY-EX (ANOVA, esquema fatorial 2x2, complementada com teste de Tukey).

DISCUSSÃO

No presente estudo foi analisado o efeito do treinamento físico aeróbio nas estruturas e funções cardíacas e na matriz colágena intersticial de ratos SHR em fase de desenvolvimento de IC.

O modelo genético de hipertensão arterial em ratos, denominado SHR, é muito utilizado para estudar o remodelamento cardíaco e a IC. Os SHR foram introduzidos por Okamoto e Aoki (1963) como modelo de hipertensão genética muito semelhante à hipertensão arterial em humanos. Esses ratos foram desenvolvidos por cruzamento genético de ratos WKY, no qual se conseguiu produzir uma colônia de ratos que desenvolveram hipertensão espontânea em todos os descendentes. Os animais desenvolvem hipertensão após cerca de dois meses de idade e, aos três meses, já apresentam hipertrofia do VE (Bing *et al.*, 1995; Cicogna *et al.*, 1999). Os animais permanecem por um período relativamente longo com hipertrofia ventricular compensada e com função cardíaca preservada (Pfeffer *et al.*, 1979; Trippodo & Frohlich, 1981). Entre 18 e 24 meses de idade esses animais desenvolvem disfunção ventricular e IC (Bing *et al.*, 2002; McCrossan *et al.*, 2004).

A partir dos 18 meses de idade, os ratos SHR começam a apresentar sinais de IC, como taquipneia, ascite, derrame pleural, trombo em átrios e hipertrofia do VD (Boluyt & Bing, 2000; Bing *et al.*, 2002). Por essa razão, este estudo foi iniciado com a idade de 16 meses, quando nenhum dos SHR apresentava taquipneia. Após período de 4 meses de exercício físico, o grupo SHR apresentou menor frequência de sinais de IC em relação ao grupo sedentário e foi semelhante ao respectivo controle WKY, mostrando assim efeito benéfico do exercício em reduzir a ocorrência de sinais de IC em ratos hipertensos.

Neste estudo, foi utilizado protocolo de exercício físico aeróbio de baixa intensidade. Protocolos semelhantes foram adotados por Emter *et al.* (2005) e Chicco *et al.* (2008) para estudar ratos SHR em fase de desenvolvimento de IC. Estes estudos relatam que o exercício de baixa intensidade foi fundamental para melhorar a sobrevida dos animais.

Sabe-se que o exercício físico promove, tanto em animais como em humanos, importantes ajustes e adaptações neurais, hormonais, cardiovasculares e respiratórias (Rondon *et al.*, 2006).

O exercício físico tem desempenhado importante papel no controle de fatores de risco para doenças cardiovasculares (Cox *et al.*, 1996; Fang *et al.*, 2003; Sigal *et al.*, 2004). Além disso, o treinamento físico afeta positivamente a capacidade física e o consumo máximo de oxigênio (Downing *et al.*, 2011). Neste estudo, o teste de esforço mostrou que os grupos exercitados apresentaram melhor capacidade física em relação aos grupos sedentários.

O peso corporal dos grupos SHR foi menor em comparação aos grupos WKY tanto no início como no final do período experimental, mas não diferiu dentro dos grupos hipertensos e normotensos após o protocolo de exercício. Libonati *et al.* (2011) observaram o mesmo comportamento do peso corporal no protocolo de exercício de 12 semanas. O peso corporal menor nos grupos SHR se deve à maior atividade do sistema nervoso simpático e maior atividade física espontânea em relação aos animais controles WKY (Cesaretti *et al.*, 2006; Robinson *et al.*, 2011).

Alguns estudos têm mostrado efeito hipotensor do exercício físico em animais hipertensos (Rossoni *et al.*, 2011; Hoffmann *et al.*, 1987). Os mecanismos que podem explicar essa queda de pressão são: atenuação da atividade nervosa simpática periférica e cardíaca, redução da concentração plasmática de noradrenalina e diminuição da resistência periférica (Brum *et al.*, 2006). No entanto, neste estudo o protocolo de exercício adotado não influenciou a pressão arterial nos grupos hipertensos. Resultados semelhantes foram observados por Renna *et al.* (2006) em ratos SHR e WKY, com 10 meses de idade, após 24 semanas de treinamento. Por outro lado, Lajoie *et al.* (2004) observaram aumento da PAS nos SHR com 6 meses de idade após 8 semanas de treinamento. Nesse estudo de Lajoie *et al.* (2004), o aumento significativo da pressão arterial ao final do período de experimental nos grupos SHR pode estar relacionado com a fase de desenvolvimento da hipertensão.

No exame de ecocardiograma foram avaliadas as estruturas cardíacas e as funções sistólica e diastólica do VE. Os animais dos grupos hipertensos apresentaram hipertrofia concêntrica do VE, identificada pelo aumento da espessura absoluta e relativa da parede e da massa. Após o período de exercício físico não foram encontradas diferenças dentro dos grupos SHR e WKY nas variáveis estruturais e na função sistólica. Na função diastólica do VE dos SHR exercitados, foi observada diminuição da velocidade de deslocamento do anel mitral decorrente da contração atrial (A' septal e A' média), sugerindo melhora da função diastólica. Esses dados estão de acordo com o estudo realizado por Chicco *et al.* (2008). Após longo período de treinamento de baixa intensidade em ratos SHR, não foram observadas diferenças na maioria das variáveis ecocardiográficas, apenas encontraram atenuação da disfunção diastólica. No entanto, o treinamento prolongou a sobrevida dos animais. Por outro lado, um estudo com SHR de quatro meses de idade após 8 semanas de exercício, observou alteração da geometria da câmara do VE, diminuindo a espessura relativa da parede, revelando mudança do padrão de hipertrofia de concêntrica para excêntrica (Garciaarena *et al.*, 2009). No nosso estudo, as diferenças encontradas na geometria do VE entre os grupos SHR e WKY devem-se ao efeito da sobrecarga crônica de pressão no grupo SHR.

Dados obtidos *post mortem* confirmam o achado ecocardiográfico de hipertrofia do VE nos grupos hipertensos. Os pesos do VE, em valores absolutos ou normalizados pelo peso corporal ou pelo comprimento da tíbia, estavam aumentados nos grupos hipertensos em relação aos controles normotensos. O exercício não foi capaz de atenuar a hipertrofia do VE causada pela hipertensão não controlada e de longa evolução.

O estudo do músculo papilar do VE foi utilizado para avaliar o desempenho do miocárdio. Nas condições experimentais deste estudo, esta preparação é capaz de medir a capacidade do músculo cardíaco em desenvolver força e relaxar, independente das mudanças de carga, frequência cardíaca e geometria da câmara ventricular que podem alterar o desempenho cardíaco *in vivo*. Na condição basal foi observado melhor desempenho do grupo SHR-EX na

TD em relação aos demais grupos. Os grupos SHR apresentaram maior valor de $-dT/dt$ em comparação aos controles. No grupo SHR-EX o valor da $-dT/dt$ foi maior que no grupo SHR-SED, mas sem significância estatística. Resultados divergentes foram encontrados em animais infartados (Veiga *et al.*, 2013). Após seis semanas de exercício, o treinamento não foi capaz de atenuar os prejuízos na função mecânica miocárdica em músculos papilares desses ratos.

As manobras inotrópicas positivas são utilizadas para avaliar a função mecânica do músculo cardíaco, com o objetivo de identificar alterações na contração e relaxamento não observadas em condições normais do estudo (Gut *et al.*, 2003). Os grupos SHR apresentaram maior valor da $-dT/dt$ na maioria das manobras em relação aos respectivos controles, confirmando o melhor relaxamento dos músculos papilares nos grupos hipertensos. Interessante notar, que os valores médios da $-dT/dt$ foram sempre maiores no grupo SHR-EX em relação ao SHR-SED, embora estatisticamente não significantes. Mill *et al.* (1998) estudaram o desempenho do músculo papilar de ratos SHR com 12 semanas de vida e encontraram aumento de força no músculo desses ratos, em comparação com os não hipertensos, em todas as concentrações de Ca^{2+} . Os autores sugerem que na fase compensada da hipertrofia cardíaca a participação do retículo sarcoplasmático no fornecimento de Ca^{2+} ativador do sistema contrátil estaria normal ou até mesmo otimizada em relação ao músculo normal.

Na análise morfométrica foi avaliado o diâmetro dos miócitos e a fração de colágeno intersticial. Os grupos SHR apresentaram maior fração de colágeno intersticial em comparação aos WKY e o exercício não afetou essa variável. Apenas o grupo SHR-SED apresentou maior diâmetro dos miócitos em relação ao controle. Essa diferença entre os animais SHR sedentários e WKY foi relatada também por Kolwicz *et al.* (2009). Além disso, esses autores observaram que o treinamento físico sobreposto à hipertensão aumentou a resposta hipertrófica em comparação aos sedentários. Da mesma forma, Schultz *et al.* (2007) observaram que o exercício físico em excesso em ratos SHR idosos aumentou o conteúdo de colágeno, a área transversal e o volume de miócitos, demonstrando que o exercício pode causar efeitos deletérios sobre o coração de

ratos hipertensos. Por outro lado, Rossoni *et al.* (2011) observaram diminuição da fração colágena intersticial após treinamento físico em ratos hipertensos. Portanto, o benefício do exercício físico ao coração de ratos hipertensos parece depender da quantidade, do tipo e da intensidade do exercício realizado (Chicco *et al.*, 2008).

No coração são encontrados cinco tipos de colágeno, sendo os mais abundantes os colágenos tipos I e III que formam os principais componentes da matriz extracelular colágena. A quantidade de colágeno miocárdico pode ser medida pela análise de concentração de hidroxiprolina, um aminoácido que é o principal componente da molécula de colágeno e presente em pequenas concentrações em um número restrito de outras proteínas (Mill & Vassallo, 2001; Matsubara *et al.*, 2000).

O ensaio colorimétrico do colágeno total e solúvel não apresentou diferença entre os grupos. O colágeno total foi menor no grupo SHR-EX versus SHR-SED, embora estatisticamente não significante. A concentração de hidroxiprolina no miocárdio foi maior nos grupos hipertensos em relação aos respectivos controles, e menor no SHR-EX em comparação ao SHR-SED. Dessa forma, há indícios de que o exercício físico foi eficiente em reduzir o conteúdo de colágeno miocárdico. Resultados semelhantes foram encontrados por Thomas *et al.*, (2001) após avaliarem ratos idosos normotensos submetidos a treinamento físico por 10 semanas. A porcentagem de colágeno e o grau de ligações cruzadas no miocárdio da parede do VE e do septo interventricular foram menores nos exercitados. A diminuição do colágeno melhora a rigidez miocárdica e pode estar associada à melhora das funções contrátil e diastólica do VE.

No presente estudo, a análise da expressão gênica mostrou aumento dos colágenos tipos I e III e da lisil oxidase (importante enzima na formação das ligações cruzadas de colágeno) no grupo SHR-SED em relação ao controle normotenso, e o exercício atenuou o aumento da expressão gênica do colágeno III e da lisil oxidase no grupo hipertenso. O colágeno tipo I permaneceu elevado no grupo SHR-EX. Resultados divergentes foram encontrados em um estudo com

ratos idosos. O treinamento aumentou a expressão gênica do colágeno I e III do VE em comparação aos sedentários (Thomas *et al.*, 2000).

O remodelamento cardíaco decorrente de sobrecarga de pressão a longo prazo traz prejuízos funcionais ao coração. No entanto, esse remodelamento pode ser atenuada pelo exercício físico, como observado por Giannuzzi *et al.* (2003). Os pacientes com IC tiveram melhora do remodelamento patológico do VE e também melhora da qualidade de vida. Outro mecanismo envolvido no processo de remodelamento cardíaco que parece sofrer influência do exercício físico é a síntese e degradação de colágeno. Teor de colágeno menor em ratos SHR (Rossoni *et al.*, 2011) e ratos idosos (Thomas *et al.*, 1992) exercitados foi relacionado a maior rotatividade de síntese e degradação do colágeno. Dessa forma, o acúmulo de colágeno imaturo pode resultar em menor concentração miocárdica de hidroxiprolina (Thomas *et al.*, 1992). O aumento do conteúdo de colágeno está associado a aumento de fibrose e rigidez miocárdica, responsável por gerar mudança na função intrínseca do miocárdio (Matsubara *et al.*, 2000). Em nosso estudo, foi observado melhora nas funções contrátil e diastólica do VE dos ratos SHR-EX, e isso pode ser interpretado como sendo secundária à redução do conteúdo de hidroxiprolina e atenuação da expressão gênica do colágeno tipo III e da lisil oxidase.

CONCLUSÃO

O exercício físico é efetivo em reduzir a frequência de sinais de insuficiência cardíaca e a concentração miocárdica de hidroxiprolina, e melhorar a função contrátil e a propriedade diastólica do ventrículo esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmet I, Wan R, Mattson MP, Lakatta EG, Talan M. Cardioprotection by intermittent fasting in rats. *Circulation*. 2005;112:3115-3121.

Bing OHL, Brooks WW, Robinson KG, Slawsky MT, Hayes JA, Litwin SE, *et al.* The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *J Mol Cell Cardiol*. 1995;27:383-396.

Bing OH, Conrad CH, Boluyt MO, Robinson KG, Brooks WW. Studies of prevention, treatment and mechanisms of heart failure in the aging spontaneously hypertensive rat. *Heart Fail Rev*. 2002;7:71-88.

Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Ayub-Ferreira SM, Rohde LE, Oliveira WA, Almeida DR, *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93 supl 1:1-71.

Boluyt MO, Bing OH. Matrix gene expression and decompensated heart failure: the aged SHR model. *Cardiovasc Res*. 2000;46:239-249.

Brilla CG, Matsubara L, Weber KT. Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis. *Hypertension*. 1996;28:269-275.

Brum PC, Rondon MUPB, Silva GJJ, Krieger EM. Hipertensão arterial e exercício físico aeróbio. In: Negrão CE, Barretto ACP. *Cardiologia do Exercício - Do atleta ao cardiopata*. 2ª ed. Barueri: Manole, 2006. p. 173-184.

Carvalho RF, Dariolli R, Justulin LA Jr, Sugizaki MM, Okoshi MP, Cicogna AC, *et al.* Heart failure alters matrix metalloproteinase gene expression and activity in rat skeletal muscle. *Int J Exp Pathol*. 2006;87:437-443.

Cesaretti MLR, Kohlmann Junior O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: Lições Aprendidas. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50:190-197.

Cezar MD, Damatto RL, Martinez PF, Lima AR, Campos DH, Rosa CM, *et al.* Aldosterone blockade reduces mortality without changing cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Cell Physiol Biochem*. 2013;32:1275-1287.

Chicco AJ, McCune SA, Emter CA, Sparagna GC, Rees ML, Bolden DA, *et al.* Low-intensity exercise training delays heart failure and improves survival in female hypertensive heart failure rats. *Hypertension*. 2008;51:1096-1102.

Cicogna AC, Padovani CR, Georgette JC, Aragon FF, Okoshi MP. Effects of protein-calorie restriction on mechanical function of hypertrophied cardiac muscle. *Arq Bras Cardiol*. 1999;72:436-440.

Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Aragon FF, Okoshi MP. Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. *Am J Med Sci.* 2000;320:244-248.

Cicogna AC, Robinson KG, Conrad CH, Squire R, Okoshi MP, Bing OH. Role of myocardial contractile status and relaxation in ventricular dysfunction during the transition of the heart hypertrophy to failure. *Arq Bras Cardiol.* 1997;69:381-384.

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling - concepts and clinical implications: a consensus paper from an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35:569-582.

Cox KL, Puddey IB, Morton AR, Burke V, Beilin LJ, McAleer M. Exercise and weight control in sedentary overweight men: effects on clinic and ambulatory blood pressure. *J Hypertens.* 1996;14:779-790.

Downing J, Balady GJ. The role of exercise training in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58:561B-569B.

Drazner MH. The progression of hypertensive heart disease. *Circulation.* 2011;123:327-334.

Emter CA, McCune SA, Sparagna GC, Radin MJ, Moore RL. Low-intensity training delays onset of decompensated heart failure in spontaneously hypertensive heart failure rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289:H2030-H2038.

Fang J, Wylie-Rosett J, Cohen HW, Kaplan RC, Alderman MH. Exercise, body mass index, caloric intake, and cardiovascular mortality. *Am J Prev Med.* 2003;25:283-289.

Fioretto JR, Queiroz SS, Padovani CR, Matsubara LS, Okoshi K, Matsubara BB. Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. *Am J Physiol.* 2002;282:H1327-H1333.

Ganau A, Devereux RB, Roman MJ, de Simone G, Pickering TG, Saba PS, *et al.* Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 1992;19:1550-1558.

Garciarena CD, Pinilla OA, Nolly MB, Laguens RP, Escudero EM, Cingolani HE, *et al.* Endurance training in the spontaneously hypertensive rat conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension.* 2009;53:708-714.

Giannuzzi P, Temporelli PL, Corrà U, Tavazzi L. Antiremodeling effect of long-term exercise training in patients with stable chronic heart failure - results of the

exercise in left ventricular dysfunction and chronic heart failure (ELVD-CHF) Trial. *Circulation*. 2003;108:554-559.

Gut AL, Okoshi MP, Padovani CR, Aragon FF, Cicogna AC. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to calcium cycling and beta-adrenergic system changes. *Nutr Res*. 2003;23:911-919.

Hoffmann P, Friberg P, Ely D, Thorén P. Effect of spontaneous running on blood pressure, heart rate and cardiac dimensions in developing and established spontaneous hypertension in rats. *Acta Physiol Scand*. 1987;129:535-542.

Kolwicz SC, MacDonnell SM, Renna BF, Reger PO, Seqqat R, Rafiq K, *et al*. Left ventricular remodeling with exercise in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297:H1361-H1368.

Lajoie C, Calderone A, Béliveau L. Exercise training enhanced the expression of myocardial proteins related to cell protection in spontaneously hypertensive rats. *Eur J App Physiol*. 2004;449:26-32.

Libonati JR, Sabri A, Xiao C, MacDonnell SM, Renna BF. Exercise training improves systolic function in hypertensive myocardium. *J Appl Physiol*. 2011;111:1637-1643.

Lima AR, Martinez PF, Okoshi K, Guizoni DM, Zornoff LA, Campos DH, *et al*. Myostatin and follistatin expression in skeletal muscles of rats with chronic heart failure. *Int J Exp Pathol*. 2010;91:54-62.

Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS. Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation*. 1995;91:2642-2654.

Mann DL. Management of heart failure patients with reduced ejection fraction. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E, eds. *Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012a. p. 543-577.

Mann DL. Pathophysiology of heart failure. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E, eds. *Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012b. p. 487-504.

Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LA, Oliveira Jr SA, Campos DH, Lima ARR, *et al*. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol*. 2011;111 543-551.

Matsubara BB, Matsubara LS. Mecanismos de hipertrofia e fibrose na hipertensão arterial sistêmica. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2003;13:92-103.

Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Cicogna AC, Janicki JS. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279:H1534-1539.

McCrossan ZA, Billeter R, White E. Transmural changes in size, contractile and electrical properties of SHR left ventricular myocytes during compensated hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 2004;63:283-292.

Meerson FZ. Development of modern components of the cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 1974;35 suppl. II:58-63.

Mill JG, Novaes MAS, Galon M, Nogueira JB, Vassallo DV. Comparison of the contractile performance of the hypertrophied myocardium from spontaneous hypertensive rats and normotensive infarcted rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 1998;76:387-394.

Mill JG, Vassallo DV. Hipertrofia cardíaca. *Rev Bras Hipertens*. 2001;8:63-75.

Moreira VO, Pereira CA, Silva MO, Felisbino SL, Cicogna AC, Okoshi K, *et al*. Growth hormone attenuates myocardial fibrosis in rats with chronic pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36:325-330.

Nilsson BB, Westheim A, Risberg MA. Effects of group-based high-intensity aerobic interval training in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol*. 2008;102:1361-1365.

Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J*. 1963;27:282-293.

Okoshi K, Matsubara LS, Okoshi MP, Cicogna AC, Fioretto JR, Padovani CR, *et al*. Food restriction-induced myocardial dysfunction demonstrated by the combination of in vivo and in vitro studies. *Nutr Res*. 2002;22:1353-1364.

Okoshi MP, Okoshi K, Matsubara LS, Dal Pai-Silva M, Gut AL, Padovani CR, *et al*. Myocardial remodeling and dysfunction are induced by chronic food restriction in spontaneously rats. *Nutr Res*. 2006;26:567-572.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Frohlich ED. Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Lab Clin Med*. 1971;78:957-962.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fishbein MC, Frohlich ED. Cardiac function and morphology with aging in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol.* 1979;237:H461-468.

Prockop DJ, Udenfriend S. A specific method for the analysis of hydroxyproline in tissues and urine. *Anal Biochem.* 1960;1:228-239.

Renna BF, MacDonnell SM, Reger PO, Crabbe DL, Houser SR, Libonati JR. Relative systolic dysfunction in female spontaneously hypertensive rat myocardium. *J Appl Physiol.* 2007;103:353-358.

Robinson AM, Hopkins ME, Bucci DJ. Effects of physical exercise on ADHD-like behavior in male and female adolescent spontaneously hypertensive rats. *Dev Psychobiol.* 2011;53:383-390.

Rondom MUPB, Alonso DO, Santos AC, Rondom E. Noções sobre fisiologia integrativa no exercício. In: Negrão CE, Barretto ACP. *Cardiologia do Exercício - Do atleta ao cardiopata*. 2ª ed. Barueri: Manole, 2006. p. 25-46.

Rossoni LV, Oliveira RAF, Caffaro RR, Miana M, Sanz-Rosa D, Koike MK, *et al.* Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 2011;29:2349-2358.

Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation.* 1978;58:1072-1083.

Schultz RL, Swallow JG, Waters RP, Kuzman JA, Redetzke RA, Said S, *et al.* Effects of excessive long-term exercise on cardiac function and myocyte remodeling in hypertensive heart failure rats. *Hypertension.* 2007;50:410-416.

Sharma M, Kambadur R, Matthews KG, Somers WG, Devlin GP, Conaglen JV, *et al.* Myostatin, a transforming growth factor- β superfamily member, is expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct. *J Cell Physiol.* 1999;180:1-9.

Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27:2518-2539.

Sociedade Brasileira de Cardiologia - III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. *Arq Bras Cardiol.* 2009;93 supl. 1:1-71.

Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95 supl. 1:1-57.

Spinale FG. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. *Circ Res*. 2002;90:520-530.

Tei C, Nishimura RA, Seward JB, Tajik AJ. Noninvasive Doppler-derived myocardial performance index: correlation with simultaneous measurements of cardiac catheterization measurements. *J Am Soc Echocardiogr*. 1997;10:169-178.

Thomas DP, McCormick RJ, Zimmerman SD, Vadlamudi RK, Gosselin LE. Aging- and training-induced alterations in collagen characteristics of rat left ventricle and papillary muscle. *Am J Physiol*. 1992;263:H778-H783.

Thomas DP, Zimmerman SD, Hansen TR, Martin DT, McCormick RJ. Collagen gene expression in rat left ventricle: interactive effect of age and exercise training. *J Appl Physiol*. 2000;89:1462-1468.

Thomas DP, Cotter TA, Li X, McCormick RJ, Gosselin LE. Exercise training attenuates aging-associated increases collagen and collagen crosslinking of the left but not the right ventricle in the rat. *Eur J App Physiol*. 2001;85:164-169.

Trippodo NC, Frohlich ED. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension man and rat. *Circ Res*. 1981;48:309-319.

Veiga ECA, Portes LA, Bocalini DS, Antonio EL, Santos AA, Santos MH, *et al*. Repercussões cardíacas após infarto do miocárdio em ratas submetidas previamente a exercício físico. *Arq Bras Cardiol*. 2013;100:37-43.

Victor RG. Systemic hypertension: mechanisms and diagnosis. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E, eds. *Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p. 935-954.

Villari B, Campbell SE, Hess OM, Mall G, Vassalli G, Weber KT, *et al*. Influence of collagen network on left ventricular systolic and diastolic function in aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 1993;22:1477-1484.

Weber KT, Brilla CG, Janicki JS. Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res*. 1993;27:341-348.

Wellner M, Dechend R, Park JK, Shagdarsuren E, Al-Saadi N, Kirsch T, *et al*. Cardiac gene expression profile in rats with terminal heart failure and cachexia. *Physiol Genomics*. 2005;18:256-267.

Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognmo O, Haram PM, *et al*. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. A randomized study. *Circulation*. 2007;115:3086-3094.