



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Leiliane Rodrigues dos Santos Oliveira

**Efeitos do exercício físico intervalado no remodelamento
cardíaco e em vias relacionadas à hipertrofia de ratos
espontaneamente hipertensos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Marina Politi Okoshi

Coorientadora: Dra. Luana Urbano Pagan

Botucatu
2022

Leiliane Rodrigues dos Santos Oliveira

Efeitos do exercício físico intervalado no remodelamento cardíaco e em vias relacionadas à hipertrofia de ratos espontaneamente hipertensos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Marina Politi Okoshi

Coorientadora: Dra. Luana Urbano Pagan

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Oliveira, Leiliane Rodrigues dos Santos.

Efeitos do exercício físico intervalado no remodelamento cardíaco e em vias relacionadas à hipertrofia de ratos espontaneamente hipertensos / Leiliane Rodrigues dos Santos Oliveira. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Marina Politi Okoshi
Coorientador: Luana Urbano Pagan
Capes: 40000001

1. Exercício físico. 2. Hipertensão. 3. Remodelação ventricular. 4. Proteínas. 5. Ratos.

Palavras-chave: Exercício físico; Hipertensão arterial; MAPK'S; Ratos espontaneamente hipertensos; Remodelamento cardíaco.

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“O sucesso não tem a ver com o lugar de onde você veio, e sim com a confiança que você tem e o esforço que você está disposto a investir”

Michelle Obama

DEDICATÓRIA

Dedico a minha MÃE e AVÓ que sempre foram meu exemplo máximo de superação. Elas que não tiveram acesso à educação e não puderam terminar o ensino fundamental, me ensinaram muito sobre a vida, sobre persistir e sobre ser resiliente. Não desistir é uma forma de honrar a oportunidade que tive e vocês jamais puderam ter. Esse título não é só meu, mas também é de vocês.

AGRADECIMENTOS

À FÉ e aos VALORES que me guiam.

À minha orientadora, Profa. Dra. MARINA POLITI OKOSHI, pela oportunidade de me juntar ao grupo de pesquisa. Pela competência na orientação, disponibilidade, dedicação, respeito, ensinamentos, conhecimentos compartilhados e pela confiança.

À minha coorientadora, Dra. LUANA PAGAN, pela orientação, ensinamentos, conhecimentos compartilhados, disponibilidade e paciência na escrita e análise dos dados.

À Dra. SUZANA MINAMOTO pela compreensão, reconhecimento, oportunidade de trabalho e por compreender o tempo dedicado para finalizar esta etapa da dissertação.

Aos membros da Banca de qualificação e defesa Profa. Dra. BERTHA POLEGATO e Dra. MARIANA JANINI, pelos conselhos, orientações, tempo e correções. Suas contribuições foram essências para a melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Dr. KATASHI OKOSHI pelo auxílio e ensinamentos durante todo o mestrado. E aos Profa. Dra. PAULA e Prof. Dr. SILVIO pelo ensinamento prático e paciência na eutanásia e conhecimento compartilhado.

Aos colegas e amigos de laboratório, DAVID, ÉDER, FELIPE, GABRIELA, GUSTAVO, INGRID, JOÃO, LIDIANE, LUANA, MARIANA JANINI e THIERRES, pelas colaborações, conversas e auxílios. Em especial a FELIPE, GUSTAVO, MARIA LUIZA, MARIANA GATTO, MARIANNA RABELLO e PATRÍCIA, pelos ensinamentos, conversas, risadas, colaborações, e por não medirem esforços para me ajudar mesmo a distância. Obrigada por tornarem esta jornada agradável e pelos momentos de leveza.

Aos FUNCIONÁRIOS E COLABORADORES DA UNIPLEX, FUNCIONÁRIOS DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA e aos FUNCIONÁRIOS DA SECRETARIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, obrigada pelo respeito e colaboração.

Aos AMIGOS E COLEGAS DA UIPECLIN, ANDRESSA, DANILO, FELIPE, LETÍCIA, LUANA, LUIZ, MARIANA, MARINA, MATHEUS, NETO, PRISCILA, RICARDO e YASMIN. Pela convivência, conselhos e apoio dado durante todo este período. Principalmente na etapa final.

Aos meus pais, MARIA TEREZINHA e OSVALDO, aos meus irmãos, CARLOS, CAROLINE e LILIAN, e aos meus sobrinhos EMANUEL e SARAH, por serem morada, carinho, aconchego e amor. É por vocês que encontro forças para seguir adiante. Obrigado por serem meus grandes exemplos de vida e superação.

Aos MEUS AMIGOS de Botucatu, Bauru, São Carlos, àqueles de longa data e os recentes. Em especial a AMANDA, CAMILA, CAROLINA, EDUARDO, JULIANA e VANESSA, por estarem ao meu lado, pelas conversas, desabafos e risadas. Já dizia Emicida “Quem tem um amigo tem tudo/ Se o poço devorar, ele busca no fundo/ É tão dez que junto todo stress é miúdo/ É um ponto pra escorar quando foi absurdo”.

À CAROLINA JORDAN, por ser o agito em meio a minha calma. Pelo companheirismo e compreensão. Por me incentivar a ser o meu melhor a cada dia. E a sua família pelo acolhimento e suporte durante a parte final deste trabalho.

À COORDENAÇÃO APERFEIÇOAMENTO PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES), pelo apoio financeiro.

A TODOS, que colaboraram para a realização deste estudo, de forma direta ou indireta, os meus sinceros agradecimentos!

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

Resumo	1
Absctract	3
Introdução	5
Objetivos	12
Material e Métodos.....	14
Resultados	22
Discussão.....	34
Conclusão	41
Referências Bibliográficas	43

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

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

ERO: espécies reativas de oxigênio

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

IC: insuficiência cardíaca

IMVE: índice de massa do ventrículo esquerdo

MAPK: proteína quinase ativada por mitógeno

MDA: malondialdeído

MMP: metaloproteinase

MVE: massa do ventrículo esquerdo

PAS: pressão arterial sistólica

PAD: pressão arterial diastólica

PAM: pressão arterial média, calculada por uma média ponderada dos valores de PA sistólica e diastólica

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

PC: peso corporal

SHR: ratos espontaneamente hipertensos

SHR-EX: ratos espontaneamente hipertensos exercitados

TD: tensão desenvolvida

TDE: tempo de desaceleração da onda E

Tei: índice de Tei

TR: tensão de repouso

TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico

VD: ventrículo direito

VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior

VE: ventrículo esquerdo

W: Wistar

RESUMO

Introdução: A hipertensão arterial sistêmica (HAS) causa sobrecarga cardíaca de pressão e pode alterar a arquitetura do colágeno, favorecer a fibrose e estresse oxidativo, modificar proteínas da matriz extracelular e das vias de sinalização intracelular IGF1/Akt e MAPKs que estão envolvidas no processo de remodelação cardíaca. O exercício físico tem importante papel no tratamento não medicamentoso da HAS. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do treinamento físico intervalado de alta intensidade (HIIT) sobre a remodelação cardíaca e vias de sinalização hipertrófica de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) em fase avançada da HAS. **Métodos:** Foram constituídos três grupos experimentais: grupo controle, formado por ratos Wistar normotensos (W, n=24), SHR (n=27); e SHR submetidos a exercício físico (SHR-EX, n=14). A partir dos 13 meses de idade, o grupo SHR-EX foi submetido a protocolo de exercício físico aeróbico intervalado de alta intensidade, realizado em esteira, três vezes por semana, em dias alternados, por quatro meses. As estruturas e função in vivo do ventrículo esquerdo (VE) foram avaliadas por ecocardiograma. O menor diâmetro dos miócitos foi mensurado em cortes histológicos do VE. O marcador de estresse oxidativo foi a concentração sérica e miocárdica de malondialdeído (MDA). A expressão do colágeno tipos I e III, IGF1/Akt, e de proteínas da via das MAPK foi avaliada por Western blot. A atividade das metaloproteínases foi analisada por zimografia. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ou teste de Kruskal-Wallis e Dunn, com nível de significância de 5%. **Resultados:** O grupo SHR-EX apresentou maior capacidade funcional no teste de esforço que os grupos W e SHR. A pressão arterial sistólica não diferiu entre os grupos SHR-EX e SHR. Os ratos do grupo SHR-EX tiveram menor frequência de sinais de insuficiência cardíaca. O menor diâmetro dos miócitos não diferiu entre os grupos. Os grupos SHR e SHR-EX tiveram maiores valores das variáveis estruturais que o grupo W, com hipertrofia concêntrica. O grupo SHR-EX apresentou atenuação do conteúdo de água no VE em relação ao SHR. Os grupos SHR e SHR-EX tiveram maior atividade da metaloproteinase-2 (MMP-2) inativa que o W e o SHR teve maior atividade da MMP-2 ativa intermediária que o W. A concentração de MDA e a expressão proteica do colágeno tipos I e III, das proteínas MAPKs e da via IGF-1 não diferiram entre os grupos. **Conclusão:** O exercício físico intervalado de alta intensidade por tempo prolongado é seguro e bem tolerado, melhora a capacidade funcional, reduz a frequência de sinais de insuficiência cardíaca, e atenua a atividade da metaloproteinase-2 em ratos espontaneamente hipertensos.

Palavras-chave: Exercício físico, hipertensão arterial, remodelamento cardíaco, ratos espontaneamente hipertensos, estresse oxidativo, matriz extracelular, MAPK, IGF-1.

ABSTRACT

Introduction: Systemic arterial hypertension (SAH) causes cardiac pressure overload and may induce myocardial collagen changes and fibrosis, oxidative stress, and changes in intracellular proteins, such as IGF1/Akt and MAPK signalling pathways. Physical exercise plays an important role in the non-pharmacologic treatment of SAH. The aim of this study was to evaluate the effects of high intensity interval physical training on cardiac remodeling and hypertrophic pathways in spontaneously hypertensive rats (SHR) at an advanced stage of SAH. **Methods:** Three experimental groups were assigned: normotensive Wistar rats (W, n=24); SHR (n=27); and SHR subjected to exercise protocol (SHR-EX, n=14). Initiating at 13 months of age, SHR-EX group was submitted to a protocol of high intensity interval aerobic exercise performed on a treadmill, three times a week, on alternate days, for four months. In vivo cardiac structures and function was assessed by echocardiography. The smallest myocyte diameter was measured in histological sections of the left ventricle (LV). Myocardial and serum concentration of malondialdehyde (MDA) was assessed as a marker of the oxidative stress. Expression of type 1 and 3 collagen, IGF1, Akt, and MAPK proteins was evaluated by Western blot. Metalloproteinase-2 (MMP-2) activity was analysed by zymography. Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA) complemented by Tukey's test or Kruskal-Wallis and Dunn's test, at a 5% significance level. **Results:** The SHR-EX group presented higher functional capacity than W and SHR groups. Systolic blood pressure was higher in SHR and SHR-EX groups. SHR-EX had a lower frequency of heart failure features than SHR. The smallest myocyte diameter did not differ between groups. SHR-EX and SHR had increased structural variables than W with concentric hypertrophy. The SHR and SHR-EX groups presented a higher inactive MMP-2 than W and the SHR had a higher intermediate active MMP-2 than W. MDA levels did not differ between groups. Protein expression of types I and III collagen, MAPKs proteins, and IGF-1 did not differ between groups. **Conclusion:** Long-term high-intensity interval exercise is safe and well tolerated, improves functional capacity, reduces the frequency of heart failure features, and attenuates metalloproteinase-2 activity in spontaneously hypertensive rats.

Keywords: Physical exercise, arterial hypertension, cardiac remodelling, spontaneously hypertensive rats, oxidative stress, extracellular matrix, MAPK, IGF-1.

INTRODUÇÃO

A HAS é uma das principais causas de IC e uma das doenças mais prevalentes na população mundial. Dados americanos mostram que 40% das mortes por doença cardiovascular pode ser atribuída diretamente à HAS (Mozaffarian et al., 2015). No Brasil, segundo a Pesquisa Nacional de Saúde de 2013, a HAS tem prevalência estimada em 32,3%, chegando a 71,7% nos indivíduos acima de 70 anos (Malta et al., 2018).

A HAS é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2020). A HAS pode evoluir com alterações metabólicas e anormalidades funcionais e estruturais de órgãos-alvo como coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos, (Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2020).

A HAS sustentada leva à hipertrofia miocárdica, considerada uma resposta adaptativa do coração, pois permite manter o débito cardíaco inalterado em situações de elevada pós-carga. Entretanto, a longo prazo, a progressiva hipertrofia cardíaca leva à disfunção ventricular sistólica e diastólica e a manifestações clínicas, como IC e arritmia (Cicogna et al., 2000; Carabello, 2002; Campos et al., 2015).

As alterações progressivas que ocorrem no coração caracterizam o processo de remodelação cardíaca. Em 2000, Cohn et al. (2000) definiram a remodelação cardíaca como sendo o conjunto de alterações gênicas, moleculares, celulares e intersticiais que ocorrem no coração em resposta a uma agressão e que se manifestam clinicamente como modificações no tamanho, forma e função do coração.

A hipertrofia ventricular é classicamente subdividida em concêntrica e excêntrica (Grossman et al., 2000). A hipertrofia concêntrica ocorre habitualmente quando há sobrecarga pressórica crônica, que aumenta o estresse sistólico e estimula vias sinalizadoras que resultam na replicação de sarcômeros em paralelo, gerando aumento da massa ventricular e da espessura relativa da parede. A hipertrofia excêntrica é caracterizada pelo aumento do estresse diastólico do ventrículo, com replicação de sarcômeros em série, ocorrendo, portanto, dilatação da câmara ventricular esquerda (VE) (Grossman et al., 2000; Bernardo et al., 2010).

Outro mecanismo considerado importante no desenvolvimento de alterações relacionadas ao processo de remodelação cardíaca é o estresse oxidativo. Ele ocorre quando há desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante. O estresse oxidativo pode induzir hipertrofia e morte de cardiomiócitos e fibrose miocárdica (Tsutsui et al., 2011). O estresse oxidativo tem papel importante na patogênese da hipertensão arterial, por levar a menor biodisponibilidade de óxido nítrico, responsável pelo relaxamento do vaso em resposta a mudanças hemodinâmicas (Vasconcelos et al., 2007; Rodrigo et al 2003; Miyajima et al 2007). Aumento das EROS modula diversas vias de sinalização envolvidas no crescimento dos miócitos, fibrose, inflamação e apoptose. Estes processos levam ao dano no músculo cardíaco com consequente remodelação cardíaca (Tsutui et al 2011). Alguns compostos são utilizados como marcadores de estresse oxidativo, tais como hidropéroxido de lipídeo e malondialdeído, que são produtos da ação de espécies reativas nos ácidos graxos poli-insaturados da membrana celular, processo denominado peroxidação lipídica (Mafra et al., 1999; Grotto et al., 2008).

O processo de hipertrofia cardíaca é acompanhado por alterações da matriz extracelular cardíaca (MEC). A MEC consiste em colágeno intersticial, glicoproteínas e proteoglicanas arranjadas em rede tridimensional que está associada a miócitos, fibroblastos e capilares. Devido à sua organização e composição, a MEC é uma estrutura dinâmica que modula vários processos celulares (Brilla et al., 1990; Swynghedauw, 1999). A MEC é composta, predominantemente, de colágeno fibrilar, produzido principalmente por fibroblastos e miofibroblastos (Pluim et al., 2000). Vários tipos de colágenos compõem a MEC cardíaca. O tipo I, predominante, confere resistência à deformação e está associado principalmente às fibras grossas, compondo 85% do colágeno total. O colágeno tipo III (11% do colágeno total), associado às fibras finas, confere elasticidade à câmara ventricular (Jugdutt, 2013; Gonzalez et al, 2020). O colágeno fibrilar também age como ligação entre elementos contráteis de cardiomiócitos adjacentes. Assim, a disfunção dos cardiomiócitos e MEC leva a alteração global na função cardíaca (Carabello, 2002; Campos et al., 2015).

A quantidade de colágeno e a composição da matriz extracelular são dependentes de um sistema de regulação que envolve inúmeros fatores, como as

metaloproteinases da matriz extracelular (MMP) e os inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMP). As MMP são endoproteinases dependentes de zinco capazes de degradar vários componentes da matriz extracelular. Elas são sintetizadas como pró-enzimas latentes e são ativadas por clivagem (Bellafiore et al., 2013). As MMP coordenam o processo de reparo e reorganização de tecidos, modulando a adesão, migração e proliferação celular. As MMP são essenciais para a remodelação tanto do tecido normal como durante o processo de hipertrofia (Lu et al., 2016). A ativação de MMP, especialmente das gelatinases MMP-2 e MMP-9, está associada a remodelamento adverso e dilatação do VE em pacientes com IC (Octavia et al., 2012). As MMP são secretadas por fibroblastos cardíacos, cardiomiócitos, células endoteliais e células imunes, e sua expressão pode ser ativada por estresse oxidativo, disfunção endotelial e inflamação (Vanhoutte et al., 2010).

A hipertrofia cardíaca também pode ser decorrente da prática de exercícios físicos. Entretanto, essa hipertrofia é habitualmente considerada adaptação fisiológica que não induz alterações deletérias, comuns nas hipertrofias de natureza patológica (Mill & Vassalo, 2001). Na hipertrofia fisiológica, o aumento dos miócitos se faz pela síntese aumentada de proteínas contráteis, do retículo sarcoplasmático e do número e tamanho das mitocôndrias. As alterações estruturais resultantes do treinamento físico dependem da natureza, duração e intensidade do exercício (Ghorayeb & Batlouni, 1998).

A adaptação fisiológica ao exercício envolve a produção e liberação de fatores de crescimento e mediadores humorais, dentre os quais se destaca o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) (Yeves et al., 2018). O IGF-1 tem papel cardioprotetor nos corações hipertrofiados de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), melhorando a capacidade antioxidante e a contratilidade dos cardiomiócitos (Yeves et al., 2018). A ativação do receptor trans-membrana do IGF-1 estimula a cascata de sinalização PI3K/Akt promovendo a síntese proteica, uma das vias mais importantes de hipertrofia fisiológica induzida pelo exercício físico (Troncoso et al., 2014). Garcarena et al. (2009) mostraram que o treinamento físico é eficaz em converter a hipertrofia patológica em hipertrofia fisiológica em SHR, e o IGF-1 foi o principal mediador. Evidências sugerem que esta via também é ativada durante a fase de hipertrofia compensada em resposta a estímulo

patológico (Tham et al., 2015). Em estudos clínicos, a expressão de IGF-1 foi aumentada em pacientes com hipertrofia compensatória devida à estenose aórtica e manteve-se inalterada em pacientes com hipertrofia inadequada e em transição para IC (Sereneri et al. 1999).

O processo de hipertrofia cardíaca patológica está associado a ativação de outras vias de sinalização, dentre as quais se destacam as MAPKs (mitogen activated protein kinases) (Tham et al., 2015). Essa via pode ser ativada por proteínas específicas de serina e treonina e responde a diversos estímulos extracelulares como angiotensina II, noradrenalina e fator de crescimento, com consequente indução de crescimento, apoptose e transformação celular (Marber et al., 2011). As principais MAPKs são a ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2), JNK e p38 (Zhang et al., 2003; Kehat & Molkentin, 2010). As MAPKs têm papel importante na resposta hipertrófica, uma vez que modulam a ação de vias de proliferação celular e apoptose (Zhang et al., 2003). Adicionalmente, bloqueio da atividade da p38 está associado a redução da hipertrofia e disfunção ventricular em SHR (Behr et al., 2001).

Apesar de extensivos estudos sobre as vias de sinalização intracelular envolvidas na hipertrofia cardíaca, ainda não está claro o papel da via das MAPK e do IGF-1 na hipertrofia causada pela HAS não controlada em fase avançada.

Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) constituem um modelo muito conhecido para estudo da hipertensão arterial crônica e remodelação cardíaca (Perez et al., 1995). O modelo foi introduzido em 1963 por Okamoto e Aoki, sem utilização de recursos fisiológicos, farmacológicos ou cirúrgicos. Os SHR foram desenvolvidos por reprodução genética meticulosa, entre ratos consanguíneos, que resultou em animais naturalmente hipertensos (Okamoto et al., 1966). A HAS em SHR é muito semelhante à hipertensão humana e inclui: I) o aumento da resistência periférica total sem expansão de volume; II) a predisposição genética para hipertensão sem etiologia específica e III) resposta semelhante a tratamentos farmacológicos (Trippodo & Frohlich, 1981).

O tratamento da HAS está dividido em dois segmentos: farmacológico e não farmacológico. A prática regular de exercício físico é uma das principais estratégias não farmacológicas para o tratamento da doença (Nogueira et al., 2012; Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2020), e está associada a inúmeros benefícios

como relaxamento vascular (Shi et al., 2015), redução da pressão em indivíduos hipertensos (Oliveira et al., 2016), bradicardia relativa de repouso, hipertrofia da musculatura esquelética e aumento do consumo máximo de oxigênio (Araujo et al., 2001).

O treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high intensity interval training*) tem sido considerado uma modalidade de treinamento com impacto positivo no sistema cardiovascular (Silva et al., 2017; Pires et al., 2021; Maillard et al., 2019; Su et al., 2019; Liu, et al., 2019; Mirghani et al., 2019; Laursen et al., 2002; Holloway et al., 2015). É um método de treinamento que alterna períodos de exercício aeróbio em alta intensidade com períodos de recuperação passiva ou ativa em intensidade moderada-baixa, sendo praticado em bicicletas ou esteiras ergométricas (Hannan et al., 2018). Uma das vantagens do HIIT é o fato de ser de curta duração, portanto, uma alternativa vantajosa na sociedade moderna e com escassez de tempo para atividades físicas (Dalpiaz et al., 2016; Costa et al., 2018). O método envolve sessões repetidas de grande esforço cardiorrespiratório e muscular, com frequência cardíaca atingindo entre 80% a 95% da frequência cardíaca máxima, alternadas com períodos de recuperação de baixa intensidade, com frequência cardíaca entre 40% a 50% da frequência cardíaca máxima. A intensidade e volume são variáveis, de acordo com cada protocolo aplicado (Silva e Rocha, 2019). O HIIT possibilita a melhora da aptidão física e metabólica, levando a redução dos triglicerídeos, pressão arterial, gordura visceral e subcutânea, melhora da biogênese mitocondrial, oxidação de gordura, controle glicêmico, capacidade cardiorrespiratória, e aumento do consumo máximo de oxigênio (Silva et al., 2017). Em estudo recente foi possível comprovar a eficácia do HIIT no condicionamento físico e perda de peso com reflexo positivo no controle da hipertensão arterial e qualidade de vida (Pires et al., 2021). O HIIT foi superior ao treinamento contínuo de intensidade moderada (MICT) na melhora da aptidão cardiopulmonar em adultos com sobrepeso e obesidade (Su et al., 2019). Resultados benéficos foram também observados em crianças obesas (Liu, et al., 2019) e mulheres com sobrepeso (Mirghani et al., 2019).

Em estudos experimentais, foi observado perda de peso e melhora do condicionamento e resistência em ratos Zucker após HIIT (Maillard et al., 2019). Entretanto, poucos pesquisadores avaliaram a metodologia em modelos animais de

remodelação cardíaca. Em ratos infartados com IC, o HIIT atenuou a disfunção contrátil de miócitos (Johnsen et al., 2013) e a disfunção cardíaca de camundongos com alteração do gene para Serca2 (Ericsson et al., 2010). Por outro lado, Moreira et al. (2013) observaram que, apesar de superior em melhorar a capacidade funcional de ratos infartados, o HIIT não diferiu do exercício aeróbio contínuo nas alterações da musculatura esquelética.

As evidências atuais mostram, portanto, que ainda não estão esclarecidos os efeitos do HIIT sobre o processo de remodelação cardíaca induzida por HAS crônica. Adicionalmente, não identificamos estudos que tenham avaliado os efeitos do exercício físico sobre as vias de sinalização intracelular do IGF-1 e das MAPKs, e sobre alterações da matriz extracelular, em fase que antecede o desenvolvimento de IC. Nesse trabalho, foi testada a hipótese que o treinamento físico intervalado atenua o processo de remodelação cardíaca e alterações das vias de sinalização intracelular do IGF-1 e das MAPKs, e da matriz extracelular.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar a influência do treinamento físico intervalado de alta intensidade sobre o processo de remodelação cardíaca de ratos espontaneamente hipertensos..

Específicos

Avaliar a influência do treinamento físico intervalado de alta intensidade sobre:

- Estruturas cardíacas e função do VE in vivo por ecocardiograma;
- Diâmetro dos miócitos e fração colágena miocárdica;
- Estresse oxidativo miocárdico;
- Atividade das metaloproteinases;
- Expressão proteica de proteínas da matriz extracelular e das vias IGF-1 e MAPK.

MATERIAL E MÉTODOS

Grupos experimentais

Foram utilizados SHR machos, adquiridos no Biotério Experimental da Universidade de São Paulo, USP, e ratos normotensos Wistar (W), 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 três ratos por caixa, em ambiente com temperatura controlada (24 ± 2 °C) e ciclos invertidos de luminosidade de 12 h. O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Animais de Experimentação da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP (nº 1302/2019).

Foram constituídos três grupos experimentais:

- 1) Grupo controle (W, n=24), formado por ratos Wistar;
- 2) Grupo SHR (SHR, n=27);
- 3) Grupo SHR submetido a protocolo de exercício físico (SHR-EX, n=14).

O protocolo de exercício físico foi aplicado a partir de 13 meses de idade por período de quatro meses. Antes e após o período de exercício, foram realizadas medidas da pressão arterial caudal e avaliações estruturais e funcionais cardíacas por ecocardiograma transtorácico. Como os SHR começam a desenvolver IC por volta dos 18 meses de idade, e falecem pouco tempos após o início da IC (Bing et al., 1995; Cezar et al., 2009), optamos por iniciar o experimento com 13 meses de idade.

Tolerância ao esforço

Inicialmente houve período de adaptação sem corrida na esteira. A tolerância ao esforço físico foi avaliada antes e após o período de treinamento. O teste consistiu em corrida em esteira rolante sem inclinação, sendo iniciado 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 (Ferreira et al., 2007). 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, três vezes por semana, em dias alternados. Inicialmente, houve período de adaptação, com aumento gradativo da velocidade e tempo de exercício, conforme tabela abaixo (Tabela 1). A partir da sexta semana de treinamento, o grupo SHR-EX foi submetido a sessões de treinamento que consistiram ciclos de 3 min a 60% da capacidade máxima, seguido de 4 min a 85% da capacidade máxima, que foram repetidos seis vezes, totalizando 42 min de treinamento por sessão. Na décima semana, novo teste de esforço foi realizado para ajuste da carga do exercício físico. Após adequação da carga, o treinamento foi mantido até o final do período experimental, totalizando quatro meses. O protocolo foi adaptado de Moreira et al. (2013).

Tabela 1: Adaptação ao protocolo de exercício físico

Semanas	Velocidade (m/min)	Duração (min)
1 ^a	5	10
2 ^a	7,5	15
3 ^a	10-12	25
4 ^a	13-14	30
5 ^a	15-17	40

m: metros; min: minutos

Medida da pressão arterial

A pressão arterial caudal foi aferida indiretamente na cauda. Os ratos foram previamente aquecidos à temperatura de 40 °C por 5 min e as medidas determinadas por pletismografia, 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 *in vivo*

As estruturas cardíacas e a função do VE foram avaliadas por ecocardiograma transtorácico antes e após o protocolo de exercício físico. O exame

que antecede o exercício físico teve como objetivo certificar a homogeneidade dos grupos. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg) e cloridrato de Xilazina (1 mg/kg), por via intraperitoneal. A seguir, foi realizada tricotomia da região anterior do tórax e os animais posicionados em decúbito lateral esquerdo. Utilizou-se equipamento da General Electric Medical Systems, modelo Vivid S6 (Tirat Carmel, Israel), dotado de transdutor multifrequencial de 5 a 11,5 MHz. Com o transdutor operando em 5,0 MHz, foram avaliados os fluxos transvalvar mitral e aórtico. As variáveis estruturais e funcionais do coração foram obtidas de acordo com a metodologia previamente descrita em nosso laboratório (Reyes et al., 2017; Pagan et al., 2019; Gomes et al., 2020;). Com o auxílio de um paquímetro, foram medidas manualmente as estruturas cardíacas, de acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography (Lang et al., 2015). As estruturas cardíacas foram medidas em, no mínimo, cinco ciclos cardíacos consecutivos. As seguintes estruturas foram avaliadas: diâmetros diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do VE; e diâmetros da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE). A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices: 1) porcentagem de encurtamento endocárdico (% Δ endo); 2) velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), que é a tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior; e 3) velocidade de deslocamento do anel mitral (onda S) obtida por Doppler tissular. A função diastólica do VE foi analisada pelas seguintes variáveis: 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) velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral (onda E') obtida por Doppler tissular; e 5) razão entre as ondas E e E' (E/E'). Adicionalmente, foi calculado o índice de performance miocárdica do VE, denominado índice de Tei (Tei et al., 1997).

Análise histológica do ventrículo esquerdo

Amostras do VE foram transferidas para câmara de micrótomo criostato (-20 °C), onde permaneceram por 20 a 30 min para estabelecimento do equilíbrio térmico. A seguir, os blocos de tecido foram 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 μ m. Os cortes foram corados por 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). Para as análises morfométricas, foi utilizado 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).

A hipertrofia cardíaca foi avaliada pelos pesos dos ventrículos direito e esquerdo normalizados pelo peso corporal dos animais. Foram colhidos fragmentos do pulmão e do fígado, após a retirada do coração do tórax, para determinação da relação peso seco/peso úmido desses órgãos.

Zimografia da metaloproteinases

A atividade da MMP-2 foi avaliada por zimografia, utilizando-se o método adaptado de Tyagi et al. (1993). Aproximadamente 20 mg do miocárdio do VE congelado foram adicionados a 200 μ L do seguinte tampão de extração de proteína: 50 mM Tris, pH 7,4; 0,2 M NaCl; 0,1% Triton X; e 10 mM CaCl_2 . As amostras foram trituradas a 21.000 rpm e centrifugadas a 13.000 g, por 20 min, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado, a proteína quantificada pelo método de Bradford (1976), e a concentração final ajustada para 3 μ g/ μ L. Amostras contendo 20 μ g de proteína foram diluídas em tampão contendo 0,5 M Tris, pH 6,8; glicerol; e 0,05% de azul de bromofenol. O gel de separação utilizado foi de poliacrilamida a 8% e 1% de gelatina, e a corrida foi realizada com aparato Bio-Rad mini-protean, a 100 V por 1 h, contendo tampão Tris-glicina-SDS pH 8,3. Terminada a corrida, cada gel foi lavado 2 vezes por 30 min, em 2,5% Triton X-100 e, após, em tampão Tris-HCl 50 mM pH 8,4. Posteriormente, o gel foi incubado por 17 h em tampão Tris-HCl 50 mM pH 8,4 com 500 mM de CaCl_2 , em agitação contínua, à temperatura de 37 °C. Após o período de incubação, o gel foi corado com Comassie blue 2,5% por 1 h e descorado com solução de metanol 30% e ácido acético 10%.

Controle positivo foi adicionado para confirmar o peso molecular das bandas (R & D Systems). Os géis foram fotografados no analisador de imagens Image Quant LAS 4000 (GE Healthcare Life Sciences) e o programa Gelpro foi utilizado para avaliar a densidade, que mede a área de digestão de gelatina em unidade de imagem denominada pixel.

Concentração miocárdica de malondialdeído (MDA)

Amostras de tecido congelado do VE foram pesadas e colocadas em tubos Eppendorf. O tampão KPi 50 mM e EDTA 1 mM, pH 7,4, foi adicionado mantendo a proporção de 100 μ L de tampão para 10 mg de tecido. Trinta minutos após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm por 5 min a 4 °C e o sobrenadante removido. Após adição de 500 μ L de tampão de acetato de sódio anidro 2M, pH 3,5, com 0,2% de ácido tiobarbitúrico (TBA), as amostras foram incubadas por 45 min a 100 °C. Durante a reação, uma molécula de MDA reage com duas moléculas de TBA e produz cromogênio rosa com absorção máxima de 532-535 nm. A seguir, foram adicionados 500 μ L do tampão KH_2PO_4 50 mM, pH 6,8, e as amostras foram agitadas e centrifugadas a 13.000 rpm por 15 min a 4 °C. Após, 200 μ L do sobrenadante foram removidos e 200 μ L do tampão KH_2PO_4 50 mM, pH 3,5, foram adicionados e agitados. A seguir, as amostras foram pipetadas em placa de Elisa para serem analisadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). O ensaio foi realizado na Unidade de Pesquisa Experimental da FMB, UNESP, sob orientação da pesquisadora Dra. Camila R. C. Camacho.

Concentração sérica de malondialdeído

Para avaliar a peroxidação lipídica sistêmica, foi mensurada a concentração sérica de MDA por HPLC. Foram utilizados 100 μ L de soro tratados com 700 μ L de tricloroacético 10% para precipitação de proteínas. As amostras foram centrifugadas (3000 rpm por 10 min; Eppendorf® Centrifuge 5804-R, Hamburg, Germany). Ao sobrenadante foram adicionados 200 μ L de ácido tiobarbitúrico (TBA). A seguir, as amostras foram aquecidas por 15 min a 100 °C. O MDA reage com o TBA na proporção 1:2 MDA-TBA; após resfriamento, foi

realizada a leitura a 535 nm em leitor de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA). A concentração de MDA foi obtida pelas absorbâncias das amostras; o resultado foi expresso em mol/g de proteína. O ensaio foi realizado na Unidade de Pesquisa Experimental da FMB, UNESP, sob orientação da pesquisadora Dra. Camila R. C. Camacho.

Expressão proteica por Western blot

A expressão proteica foi avaliada por Western blot. As seguintes proteínas foram avaliadas: colágeno tipos I e III, p-ERK, ERK total, pp38-MAPK, p38-MAPK total, IGF-1, GAPDH, p-Akt-Ser473 e total Akt. A proteína do tecido cardíaco (30-40 mg) foi extraída em tubo contendo tampão RIPA, utilizando esferas de zircônio (0,5 mm) durante 5 min a 4 °C, em homogeneizador Bullet Blender® (Next Advance, Inc., NY, USA). Após o procedimento de homogeneização, as amostras foram centrifugadas por 20 min, a 12.000 rpm, a 4 °C e o conteúdo de proteínas do sobrenadante foi quantificado pelo método de Bradford (1976). As amostras das proteínas foram diluídas em tampão Laemmli (Tris-HCl 240 mM, SDS, 0,8%, glicerol 40%, azul de bromofenol 0,02% e β -mercaptoetanol 200 mM) e separadas por eletroforese utilizando sistema Mini-Protean 3 Electrophoresis Cell (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). A corrida eletroforética foi realizada em gel bifásico de empilhamento (Tris-HCl 240 mM, pH 6,8, poliacrilamida 30%, APS e Temed) e de resolução (Tris-HCl 240 mM, pH 8,8, poliacrilamida 30%, APS e Temed), na concentração de 6 a 12%, dependendo do peso molecular da proteína analisada. A corrida por eletroforese foi efetuada a 120 V (Power Pac HC 3.0A, Bio-Rad, Hercules, CA, USA), por aproximadamente 2 h, com tampão de corrida (Tris 0,25 M, glicina 192 mM e SDS 1%). Em seguida, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose em sistema Mini-Trans Blot (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) com uso de tampão de transferência (Tris 25 mM, glicina 192 mM, metanol 20% e SDS 0,1%). O bloqueio dos sítios inespecíficos de ligação do anticorpo primário à membrana foi efetuado por incubação com solução a 0,5% de leite em pó desnatado dissolvido em tampão TBS-T, pH 7,4 (Tris-HCl 20 mM, NaCl 137 mM e detergente Tween 20 0,1%) por até 120 min à temperatura ambiente sob constante agitação. Posteriormente, a membrana foi lavada três vezes em solução

basal (Tris 1,0 M, pH 2,8, NaCl 5,0 M e Tween 20) e incubada com o anticorpo primário [1:1000 - 1:100] diluído na solução bloqueadora, sob agitação constante por cerca de 12 h. Após a incubação com o anticorpo primário, a membrana foi incubada com o anticorpo secundário [1:5000 - 1:2000] em solução bloqueadora por 90 min. A seguir, a membrana foi lavada com TBST e os sinais foram visualizados com auxílio de kit para quimioluminescência (ECL Select Western Blotting Detection Reagen, Amersham/Cytiva, Amersham, England) e analisador de imagens Image Quant LAS 4000 (GE Healthcare Life Sciences). O programa Gel Pro 3.1 foi utilizado para quantificar por densitometria as bandas obtidas nas imagens. Os resultados obtidos para as proteínas alvo foram normalizados pelos resultados da proteína constitutiva GAPDH. Anticorpos primários (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA): p-ERK (sc-16982), ERK total (sc-93), pp38-MAPK (sc-17852), p38-MAPK total (sc-7972), IGF-1 (sc-74116), GAPDH (sc-32233) e (Cell Signaling Technology, Inc. Danvers, MA, EUA): IGF1R (D23H3), Akt (p-Akt-Ser473 #9271) e total Akt #9272). Anticorpos secundários: (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA): anti-mouse (sc-2005) e anti-rabbit (sc-2004).

Análise estatística

As comparações entre os grupos foram realizadas pela análise de variância (ANOVA), complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey, quando os resultados apresentaram distribuição normal. Nos casos em que a distribuição não foi normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparações múltiplas de Dunn. A comparação da frequência de sinais de insuficiência cardíaca entre os grupos SHR-EX e SHR foi realizada pelo teste de Goodman. As conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%

RESULTADOS

Caracterização dos grupos experimentais

Para a constituição dos grupos nesse estudo foram utilizados 24 ratos normotensos Wistar, e 41 SHR, divididos em controle (n=27) e exercitados (n=16). Três ratos do grupo Wistar, seis do SHR e dois do SHR-EX morreram durante o período experimental.

Ao final do período experimental, o grupo SHR teve maior frequência de ratos com os sinais de insuficiência cardíaca ascite, derrame pleural e taquipneia que o W (Figura 1). O grupo SHR-EX apresentou menor porcentagem de animais com taquipneia e efusão pleural que o SHR e maior frequência de efusão pleural e taquipneia que o W.

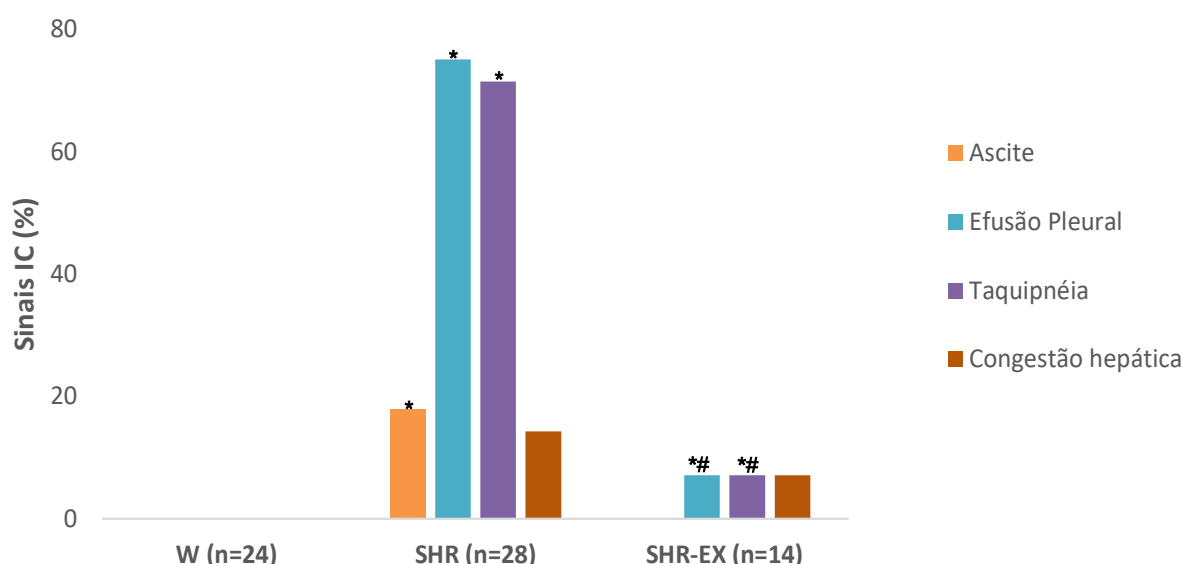


Figura 1. Frequência de sinais de insuficiência cardíaca. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: ratos espontaneamente hipertensos exercitados. Teste de Goodman; * $p < 0,05$ vs W; # $p < 0,05$ vs SHR.

Teste de esforço

Os resultados do teste de esforço estão apresentados na Figura 2. No início e no final do protocolo, os grupos SHR e SHR-EX apresentaram melhor desempenho funcional em relação ao W e o SHR-EX teve maior distância percorrida e maior tempo de permanência em esteira que o SHR ao final do protocolo.

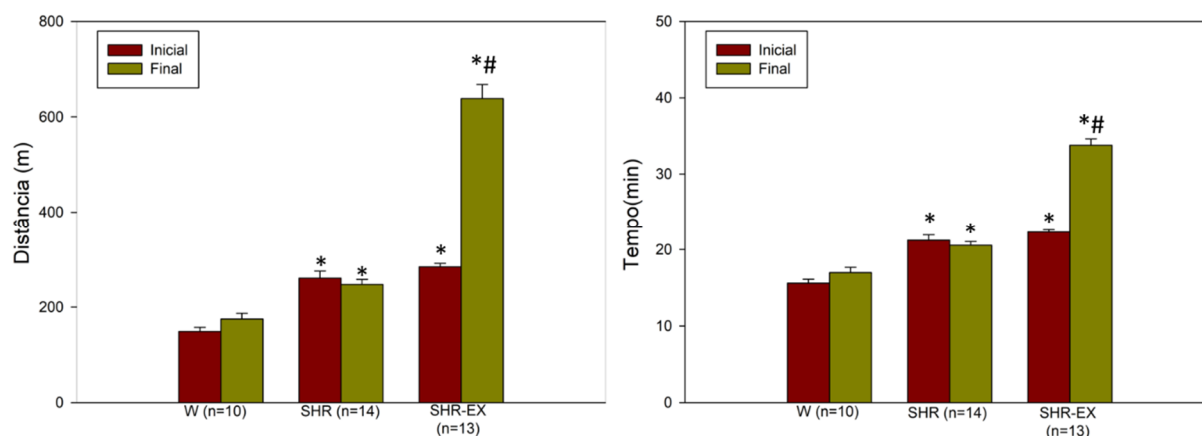


Figura 2. Teste de esforço inicial e final. Distância percorrida e tempo de permanência na esteira durante o teste de esforço. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. Valores expressos em média e desvio padrão; ANOVA e tukey; * $p<0,05$ vs W; # $p<0,05$ vs SHR.

Pressão arterial sistólica

Os grupos SHR e SHR-EX tiveram valores iniciais e finais de pressão arterial sistólica maiores que o W. A pressão arterial não diferiu entre os grupos SHR-EX e SHR (Tabela 2).

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

	W (n=23)	SHR (n=8)	SHR-EX (n=14)
PAS inicial (mmHg)	109 ± 15,6	175 ± 24,7*	174 ± 19,3*
PAS final (mmHg)	119 (111- 126)	163 (154-193)*	188 (174 – 204)*

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn; * $p<0,05$ vs W.

Análise histológica do ventrículo esquerdo

O menor diâmetro transverso dos cardiomiócitos não diferiu entre os grupos (Figuras 3-5). Os seguintes diâmetros (μm) foram observados: W (n=8) 18,8

± 2 ; SHR (n=8) $20,6 \pm 2,88$; SHR-EX (n=8) $20,8 \pm 1,48$ e os valores expressos em média e desvio padrão.

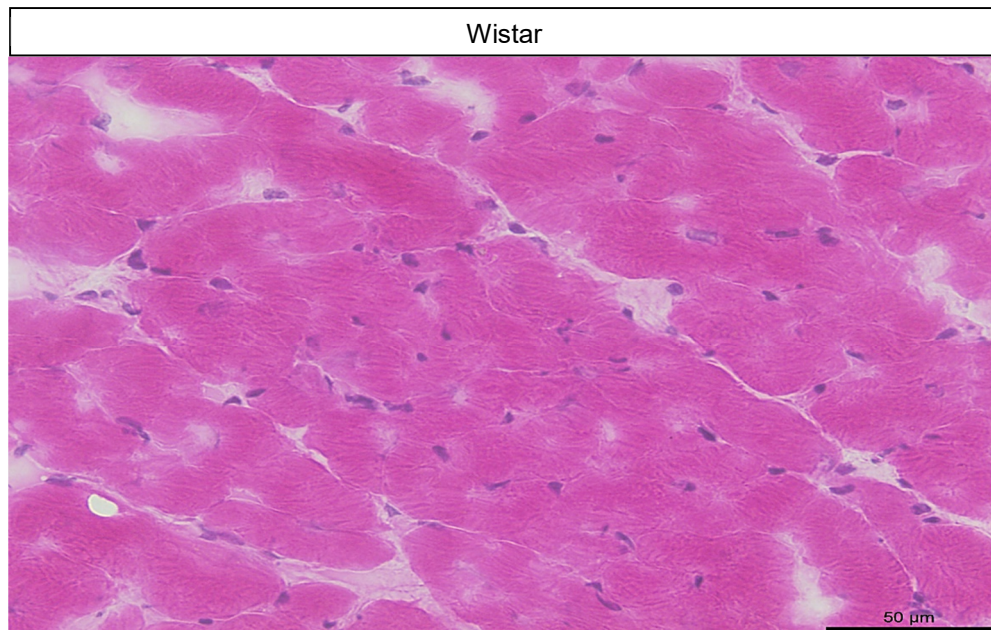


Figura 3. Lâmina representativa do grupo Wistar corada em hematoxilina e eosina, utilizada para avaliar o menor diâmetro transverso dos miócitos. Barra: 50 μm .

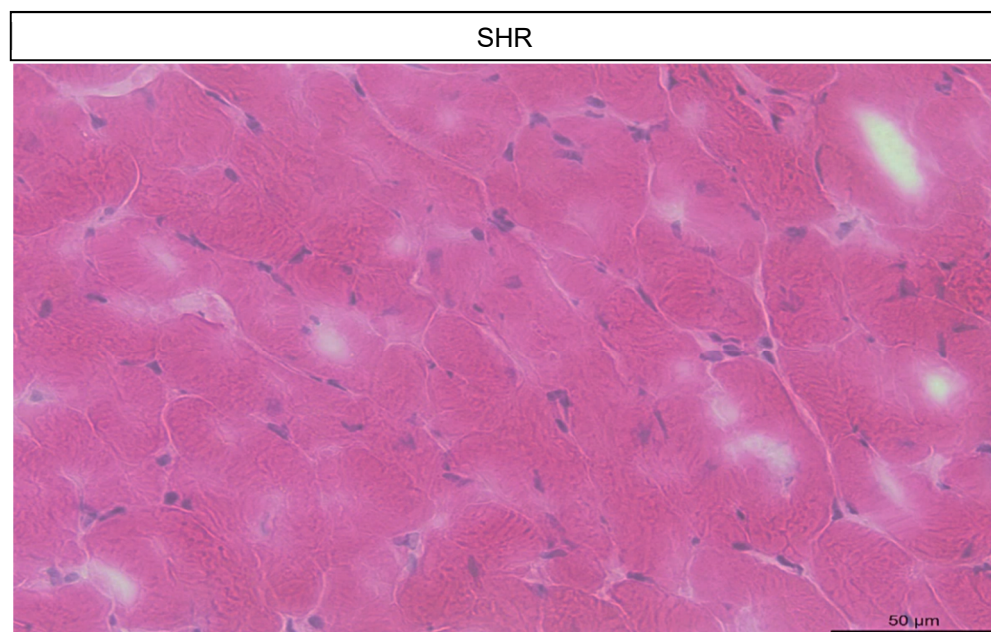


Figura 4. Lâmina representativa do grupo SHR corada em hematoxilina e eosina, utilizada para avaliar o menor diâmetro transverso dos miócitos. Barra: 50 μm .



Figura 5. Lâmina representativa do grupo SHR exercitado corada em hematoxilina e eosina, utilizada para avaliar o menor diâmetro transverso dos miócitos. Barra: 50 μm .

Avaliação ecocardiográfica

Para assegurar homogeneidade entre os grupos SHR-EX e SHR foi realizada avaliação ecocardiográfica antes do período de exercício físico. As variáveis estruturais do coração na avaliação final estão apresentadas na Tabela 3. Os grupos SHR e SHR-EX tiveram menor DDVE e peso corporal e maior EDPP, DDVE/PC, IMVE e espessura relativa do VE que o grupo W. As variáveis FC, DSVE, AO, AE, AE/AO, e MVE não diferiram entre os grupos. O grupo SHR-EX teve maior AE/PC que o W.

Tabela 3. Análise ecocardiográfica dos parâmetros estruturais do coração

	W (n=19)	SHR (n=25)	SHR-EX (n=14)
PC (g)	624 (542-686)	373 (332-408)*	351 (334-366)*
FC (bpm)	266 (250-290)	250 (228-306)	235(223-257)
DDVE (mm)	8,62 (8,42-8,9)	7,46 (6,99-8,23)*	7,53 (7,12-7,93)*
DSVE (mm)	4,50 ± 0,43	3,71 ± 0,61	3,48 ± 0,55
EDPP (mm)	1,38 ± 0,06	1,62 ± 0,11*	1,58 ± 0,10*
AO (mm)	4,38 ± 0,18	4,43 ± 0,20	4,46 ± 0,20
AE (mm)	6,4 (5,91-6,57)	6,4 (5,93-7,01)	6,1 (5,80-6,62)
AE/AO	1,45 (1,37-1,50)	1,44 (1,36-1,59)	1,36 (1,29-1,49)
DDVE/PC (mm/kg)	13,5 (13,0-15,7)	19,7 (19,1-22,2)*	21,6 (20,5-22,7)*
AE/PC (mm/kg)	10,3 (9,52-11,4)	16,7 (15,5-20,2)	17,0 (16,2-18,6)*
MVE (g)	0,85 (0,81-0,95)	0,83 (0,76-0,96)	0,83 (0,77-0,87)
IMVE (g/kg)	1,45 ± 0,19	2,34 ± 0,31*	2,38 ± 0,30*
Esp. Rel. VE	0,32 (0,31-0,33)	0,43 (0,39-0,47)*	0,42 (0,40-0,44)*

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. PC: peso corporal; FC: frequência cardíaca; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE); DSVE: diâmetro sistólico do VE; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do VE; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo; MVE: massa do VE; IMVE: MVE/PC; Esp. Rel. VE: espessura relativa do VE. ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs W.

A avaliação da função sistólica do VE está apresentada na Tabela 4. A % de encurtamento endocárdio foi maior no SHR-EX que no W. O SHR apresentou menor VEPP que o W. Os grupos SHR e SHR-EX apresentaram menor S' média que o W. O índice de Tei não diferiu entre os grupos.

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

	W (n=19)	SHR (n=24)	SHR-EX (n=14)
% Enc. Endo	46,9 (44,4-51,2)	49,6 (45,2-56,5)	52,6 (50,2-59,6)*
VEPP (mm/s)	42,5± 4,75	35,8 ± 7,94*	39,2 ± 7,06
Índice de Tei	0,45 ± 0,07	0,60 ± 0,07	0,61 ± 0,11
S' média (cm/s)	3,91 ± 0,56	2,80 ± 0,45*	3,16 ± 0,47*

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. Enc. Endo: encurtamento endocárdio; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; Índice de Tei: índice de performance miocárdica; S' média: média das velocidades sistólicas máximas de deslocamento das paredes lateral e septal do anel mitral avaliada por Doppler tissular. ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs W.

Na avaliação da função diastólica do VE (Tabela 5), os grupos SHR e SHR-EX apresentaram menor E' média, E' lateral e A' lateral, e maior TRIV e E/E'

média que o W. O grupo SHR apresentou menor E' septal que o W. O grupo SHR-EX apresentou menor A mitral e maior E/A que o W. As variáveis E mitral, A' média, A' septal e E' média/A' média não diferiram entre os grupos.

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

	W (n=19)	SHR (n=25)	SHR-EX (n=14)
E mitral (cm/s)	77 (69 - 90)	87 (63,5 - 96)	78,5 (72,75 - 90)
A mitral (cm/s)	56 (53 - 62)	53,5 (47,3 - 69,3)	45,0 (37,0 - 56,3)*
E/A	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,6	1,8 ± 0,4*
TRIV (ms)	26 (24 - 30)	35 (33 - 37)*	35 (33 - 40)*
E' média (cm/s)	4,55 (4,35 - 4,8)	4,00 (2,85 - 4,35)*	3,90 (3,69 - 4,21)*
E' lateral (cm/s)	4,80 (4,10 - 5,10)	4,00 (2,80 - 4,30)*	3,75 (3,35 - 4,20)*
E' septal (cm/s)	4,56 ± 0,47	3,69 ± 0,90*	4,17 ± 1,05
E/E' média	17,3 (16,0 - 19,6)	22,9 (20,0 - 23,6)*	20,4 (18,2 - 23,5)*
A' média (cm/s)	3,60 (3,15 - 3,80)	3,45 (2,90 - 3,80)	2,98 (2,70 - 3,95)
A' lateral (cm/s)	3,91 ± 0,56	3,36 ± 0,70*	3,16 ± 0,47*
A' septal (cm/s)	3,30 (2,90 - 4,10)	3,40 (2,90 - 4,30)	3,05 (2,70 - 3,73)
E' média/ A' média	1,28 (1,15 - 1,51)	1,22 (0,82 - 1,43)	1,36 (0,92 - 1,46)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. 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. ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs W.

Variáveis anatômicas

As variáveis anatômicas estão apresentadas na Tabela 6. Os grupos hipertensos apresentaram menor comprimento da tíbia, PC, peso do VD, peso dos átrios e relação entre peso dos átrios/comprimento da tíbia, e maior VE/PC que o W. O grupo SHR teve maior peso úmido/seco do VE e pulmão que o W. A relação peso dos átrios/PC foi maior no SHR que nos grupos SHR-EX e W. O peso dos átrios foi menor no grupo SHR-EX que no SHR. O peso úmido/seco do fígado foi maior no grupo SHR-EX que nos outros grupos.

Tabela 6. Variáveis anatômicas

	W (n=24)	SHR (n=27)	SHR-EX (n=14)
PC (g)	624 (542 – 686)	373 (333 – 409)*	351 (334 – 366)*
Tíbia (cm)	4,70 (4,60 - 4,80)	4,20 (4,10 - 4,30)*	4,25 (4,24 - 4,30)*
VE (g)	1,03 (0,94 - 1,20)	1,03 (0,93 – 1,07)	1,07 (0,94 - 1,17)
VE/PC (g/kg)	1,78 ± 0,40	2,78 ± 0,32*	3,06 ± 0,32*
VE/Tíbia (g/cm)	0,23 ± 0,04	0,24 ± 0,03	0,25 ± 0,03
VD (g)	0,27 ± 0,04	0,21 ± 0,04*	0,19 ± 0,04*
VD/PC (g/kg)	0,40 (0,38 - 0,50)	0,56 (0,50 - 0,68)	0,53 (0,49 - 0,58)
VD/Tíbia (g/cm)	0,057 ± 0,010	0,051 ± 0,010	0,045 ± 0,009*
Átrios (g)	0,12 (0,11 - 0,13)	0,09 (0,08 - 0,11)*	0,07 (0,06 - 0,08)**
Átrios/PC (g/kg)	0,19 ± 0,04	0,25 ± 0,05*	0,21 ± 0,05#
Átrios/Tíbia (g/cm)	0,03 (0,02 - 0,03)	0,02 (0,02 - 0,03)*	0,02 (0,01 - 0,02)*
VE úmido/seco	4,05 (3,70 - 4,22)	4,35 (4,13 - 4,54)*	4,17 (3,45 - 8,33)
VD úmido/seco	4,18 (4,01 - 4,28)	4,31 (4,17 - 4,45)	4,23 (3,76 - 4,63)
Átrios úmido/seco	4,49 (4,10 - 4,82)	4,69 (4,36 - 4,89)	4,58 (4,17 - 5,83)
Pulmão úmido/seco	4,67 (4,47 - 4,97)	4,99 (4,72 - 5,34)*	4,86 (4,73 - 5,19)
Fígado úmido/seco	3,05 (2,99 - 3,13)	3,13 (3,03 - 3,33)	4,25 (4,24 - 4,30)**

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados; PC: peso corporal; Tíbia: comprimento da tíbia; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito. ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs W; # p<0,05 vs SHR.

Análise da atividade da metaloproteinase-2

A atividade da MMP-2 está apresentada na Tabela 7 e Figura 3. O grupo SHR apresentou maior atividade da MMP-2 inativa que os grupos W e SHR-EX e maior atividade da MMP-2 ativa intermediária que o grupo W.

Tabela 7. Avaliação da atividade da metaloproteinase-2 (MMP-2) por Zimografia

	W (n=7)	SHR (n=7)	SHR-EX (n=7)
MMP-2 (inativa)	1,00 (0,79-1,23)	2,18 (1,56-3,68)*	1,68 (1,25-4,39)#
MMP-2 (ativa)	1,00 ± 0,36	1,89 ± 0,84*	1,64 ± 0,50

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. ANOVA e Tukey ou Kruskal Wallis e Dunn; * p<0,05 vs W; # p<0,05 vs SHR.

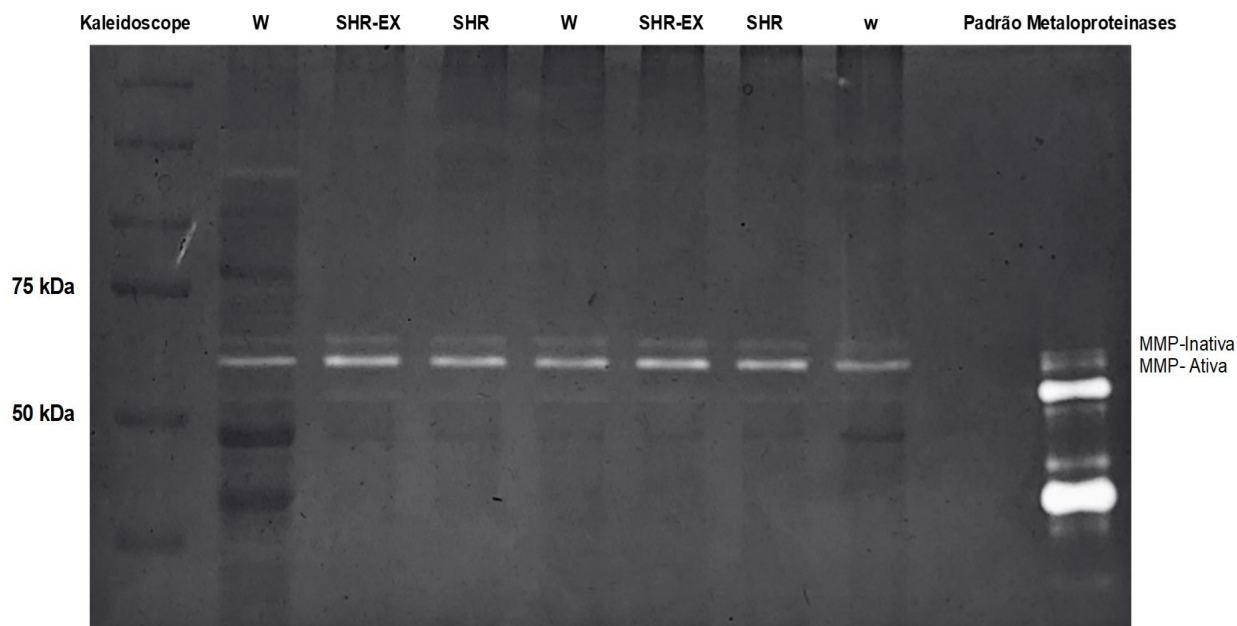


Figura 6. Imagem representativa da atividade da metaloproteinase-2 (MMP-2) avaliada em gel de poliacrilamida mostrado degradação da gelatina em branco. À esquerda, peso molecular aproximado das bandas de degradação. MMP-2 inativa: 72 KDa; MMP-2 ativa: 64 KDa. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados.

Quantificação de malondialdeído (MDA)

A concentração sérica e miocárdica de malondialdeído não diferiu entre os grupos (Tabela 8).

Tabela 8. Produção de malondialdeído (MDA)

	W (n=8)	SHR (n=8)	SHR-EX (n=8)
MDA sérico ($\mu\text{M/L}$)	$1,27 \pm 0,32$	$1,30 \pm 0,24$	$1,38 \pm 0,37$
MDA miocárdico (nmol/mg)	$0,89 \pm 0,56$	$0,90 \pm 0,62$	$0,83 \pm 0,45$

Valores expressos em média e desvio padrão. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. ANOVA.

Expressão proteica do colágeno tipos I e III

A expressão proteica dos colágenos tipos I e III, e a relação colágeno I/colágeno III não diferiram entre os grupos (Tabela 9 e Figura 7).

Tabela 9. Expressão proteica dos colágenos tipos I e III

	W (n=8)	SHR (n=8)	SHR-EX (n=8)
Colágeno tipo I	1,00 ± 0,62	0,85 ± 0,42	0,90 ± 0,42
Colágeno tipo III	0,69 (0,32-1,54)	0,62 (0,25-0,82)	0,59 (0,28-0,73)
Col I/Col III	1,26 (0,69-1,85)	1,45 (0,37-0,42)	1,59 (0,33-0,59)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. ANOVA ou Kruskal-Wallis.

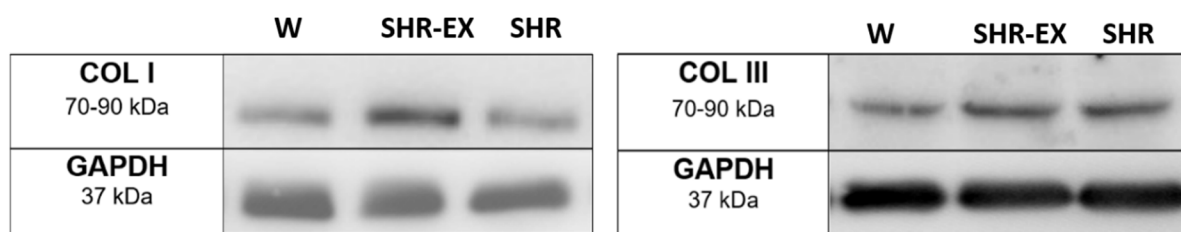


Figura 7. Imagem representativa de gel mostrando a expressão dos colágenos tipos I e III. À esquerda, peso molecular aproximado das bandas do colágeno tipo I (Col I) e GAPDH, à direita, peso molecular aproximado das bandas do colágeno tipo III (Col III) e GAPDH. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados.

Expressão proteica de proteínas das vias das MAPK e IGF-1

A expressão de proteínas da via das MAPK e do IGF-1 e IGF-R não diferiu entre os grupos (Tabela 10 e Figuras 8 a 11).

Tabela 10. Expressão proteica

		W (n=8)	SHR (n=8)	SHR-EX (n=8)
Akt	Fosforilada	1,00 ± 0,78	0,77 ± 0,41	0,76 ± 0,43
	Total	1,00 (0,63-1,39)	0,98 (0,68-2,50)	1,01 (0,72-2,57)
P38	Fosforilada	0,73 (0,44- 1,38)	0,69 (0,58-0,89)	0,85 (0,47-1,53)
	Total	1,00 ± 0,22	0,79 ± 0,16	0,92 ± 0,18
ERK	Fosforilada	1,00 ± 0,59	0,73 ± 0,35	0,86 ± 0,25
	Total	1,00 ± 0,51	0,93 ± 0,35	1,02 ± 0,43
IGF-1		1,00 ± 0,51	128 ± 0,69	1,38 ± 0,92
IGF-R		1,00 ± 0,36	0,83 ± 0,20	1,68 ± 0,57

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados. ANOVA ou Kruskal Wallis.

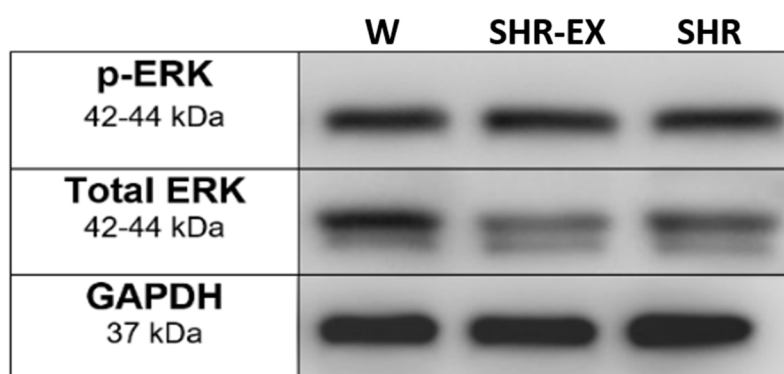


Figura 8. Imagem representativa de gel mostrando a expressão das proteínas ERK formas total e fosforilada (p-ERK) e GAPDH. À esquerda, peso molecular aproximado das bandas. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados.

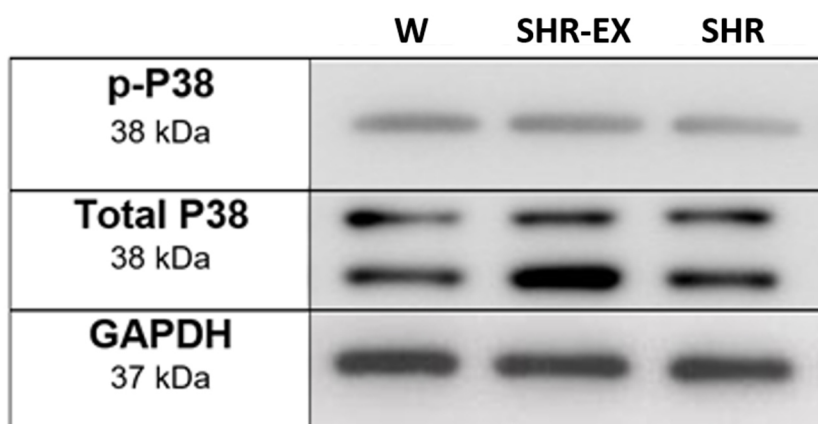


Figura 9. Imagem representativa de gel mostrando a expressão proteica da P38 formas total e fosforilada (p-P38), e GAPDH. À esquerda, peso molecular aproximado das bandas. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados.

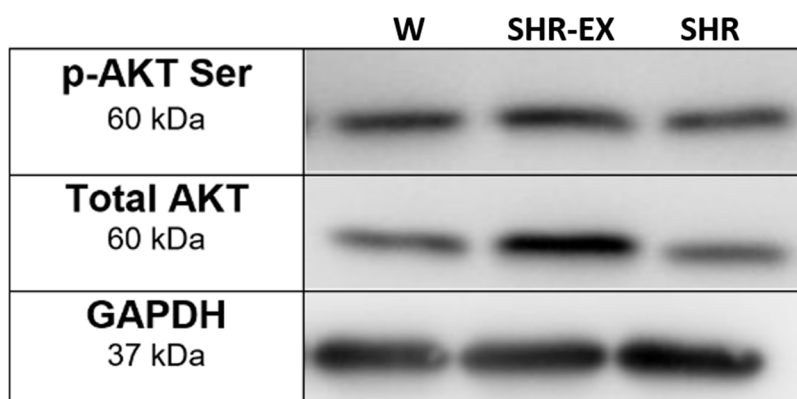


Figura 10. Imagem representativa de gel mostrando a expressão proteica da Akt formas total e fosforilada (p-Akt Ser), e GAPDH. À esquerda, peso molecular aproximado das bandas. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados.

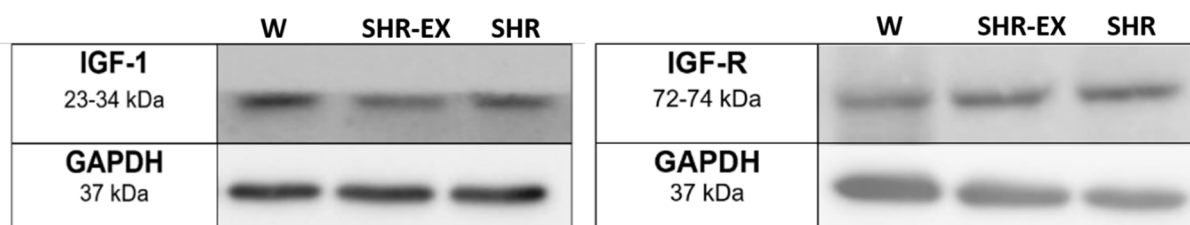


Figura 11. Imagem representativa de gel mostrando a expressão proteica do IGF-1, IGF-R e GAPDH. À esquerda, peso molecular aproximado das bandas. W: ratos Wistar; SHR: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-EX: SHR exercitados.

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio intervalado de alta intensidade em esteira sobre a capacidade funcional, pressão arterial, e remodelação cardíaca de ratos espontaneamente hipertensos na fase que antecede o desenvolvimento de insuficiência cardíaca.

Ratos espontaneamente hipertensos começam a apresentar hipertrofia do VE a partir dos três meses de idade em decorrência da sobrecarga de pressão (Bing 1995; Cicogna et al., 1999). A seguir, permanecem por longo período com hipertrofia compensada e função cardíaca preservada (Pfeffer 1979). A partir de 18 meses de idade, os animais começam a apresentar sinais de insuficiência cardíaca (Bing 2002). Portanto, o treinamento físico foi iniciado aos 13 meses de idade e programado para que, ao seu final, os ratos se encontrassem ainda na fase que antecede o desenvolvimento de insuficiência cardíaca.

O grupo SHR-EX apresentou menor frequência de sinais de insuficiência cardíaca que o grupo SHR, o que mostra que o protocolo de exercício físico atenuou o desenvolvimento de insuficiência cardíaca. No estudo, foi utilizado o protocolo de exercício físico aeróbio intervalado de alta intensidade. O HIIT é caracterizado por exercício de alta intensidade com intervalos de repouso ou exercício em baixa a moderada intensidade (Laursen et al., 2002). Não identificamos na literatura estudos que tenham utilizado protocolos de HIIT em SHR em fase avançada de hipertrofia.

A capacidade física foi avaliada por teste de tolerância ao exercício físico. O grupo SHR teve melhor capacidade funcional que o W. Trabalhos prévios da literatura mostraram que os SHR são mais ativos que ratos normotensos e, antes de apresentarem insuficiência cardíaca considerável, apresentam melhor desempenho funcional que seus pares normotensos. O grupo SHR-EX apresentou melhor desempenho que os grupos W e SHR. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Souza et al. (2017), no qual SHR submetidos a HIIT tiveram aumento da distância percorrida e do tempo de permanência na esteira que animais não treinados. Estudos da literatura (Robinson et al., 2011; Langen et al., 2011) e de nosso grupo (Pagan et al., 2015; Pagan et al., 2019) apresentaram resultados semelhantes ao do presente trabalho.

Exercício físico é considerado importante terapia não farmacológica para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica (Lin & Lee, 2018). Neste trabalho, a pressão arterial sistólica não diferiu entre os grupos SHR-EX e SHR. Resultado semelhante foi observado em nosso laboratório (Pagan et al., 2018) após 16 semanas de treinamento físico aeróbio moderado. Em contraste, Jakovjevic (2018) mostrou que o HIIT realizado em sprints de 30 a 90 seg por sessão com duração de 5 semanas diminuiu a PAS de SHR. Da mesma forma, Suarez (2019) observou que o HIIT reduziu a pressão arterial de animais hipertensos em relação ao valor inicial. Os resultados divergentes provavelmente são decorrentes da duração da hipertensão arterial antes do treinamento físico. Nossos resultados sugerem que a hipertensão arterial não controlada e de longa evolução é pouco responsiva aos exercícios físicos.

A avaliação ecocardiográfica possibilita analisar as estruturas e função cardíaca para determinar o comprometimento causado pela hipertensão não controlada e os possíveis efeitos do treinamento físico. Para garantir a distribuição uniforme entre os grupos, foi realizado ecocardiograma antes do início do protocolo de exercício físico. Ao final do período experimental, foi realizada outra avaliação. Os resultados mostraram que os grupos SHR e SHR-EX apresentaram maiores valores das variáveis estruturais que o grupo W, indicando remodelação cardíaca com hipertrofia concêntrica. A hipertrofia concêntrica ocorre por aumento da pressão intraventricular durante a sístole, denominada pós-carga. O aumento da pós-carga eleva a tensão sistólica parietal e induz aumento dos sarcômeros em paralelo com aumento na espessura do miocárdio (Fernandes et al., 2011; Melo et al., 2015). Os grupos SHR e SHR-EX tiveram piora da função sistólica e diastólica em relação ao grupo W, que permaneceu inalterada após o período de treinamento físico. Resultados semelhantes foram observados por Souza (2017) em SHR, ausência de reversão de hipertrofia ventricular esquerda após treinamento físico.

A avaliação post mortem reforçou os resultados do ecocardiograma. Os grupos SHR e SHR-EX tiveram hipertrofia do VE, caracterizada pelo aumento da relação peso do VE/peso corporal. O treinamento físico atenuou a dilatação dos

átrios e o grau de edema tissular do VE no grupo SHR-EX em relação ao SHR e wistar.

O comprometimento da matriz extracelular foi avaliado por histologia, expressão proteica do colágeno tipos I e III, e por zimografia de metaloproteinases. A matriz intersticial colágena e a expressão proteica do colágeno tipos I e III não diferiram entre os grupos.

Apesar dos grupos SHR e SHR-EX apresentarem maior diâmetro máximo dos miócitos que o grupo W, não detectamos diferença significativa entre os grupos. O crescimento fisiológico normal do coração ocorre principalmente por meio da hipertrofia dos cardiomiócitos, por adição de sarcomeros, em resposta ao crescimento do corpo ou exercício físico. Em contraste, a hipertrofia patológica está associada ao aumento do tecido conjuntivo, além do crescimento dos miócitos, o que leva a prejuízo funcional do coração. A longo prazo, essa resposta adaptativa pode levar a insuficiência cardíaca (Gibb et al., 2018; Shimizu, 2016). O treinamento físico aeróbico sustentado é capaz de transformar a hipertrofia cardíaca patológica induzida pela hipertensão em fisiológica, melhorando não apenas a estrutura miocárdica, mas também a função cardíaca (Garciaarena et al., 2009). Por outro lado, em ratos Dahl, cepa sensível ao aumento da ingestão de sódio, o HIIT aumentou a hipertrofia e a expressão do BNP, marcador sérico de insuficiência cardíaca, sugerindo o potencial papel do HIIT na indução de insuficiência cardíaca em situação prévia de agressão cardíaca (Holloway et al., 2015). Os dados mostram que estudos adicionais são necessários para esclarecer as condições ideais de treinamento, como a intensidade e duração do exercício físico em modelos experimentais de hipertensão.

A progressão da hipertrofia cardíaca é acompanhada de ativação neuro-hormonal e inflamatória, alterações no metabolismo energético cardíaco e no transporte de cálcio, apoptose de cardiomiócitos, estresse oxidativo, fibrose miocárdica, e modificações de proteínas contráteis dos cardiomiócitos (Schulz et al., 2007; Schiattarella et al., 2015). Adicionalmente, ocorre mudanças na ativação das metaloproteinases da matriz extracelular, que são enzimas responsáveis pela remodelação tecidual por proteólise da matriz extracelular e de alvos intracelulares (Parente et al., 2018). A ativação das MMPs, especialmente da MMP-2 e MMP-9, está

associada a remodelamento adverso e dilatação do VE em pacientes com insuficiência cardíaca (Octavia et al., 2012). No coração, a MMP-2 é expressa principalmente nos cardiomiócitos e fibroblastos (Coker et al., 1999; Schiattarella et al., 2015). A MMP-2 é uma enzima constitutiva das artérias e do miocárdio; alterações em sua ativação estão envolvidas no desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares. A MMP-2 é responsável pela degradação de proteínas da matriz extracelular como o colágeno, e de proteínas intracelulares de células musculares lisas vasculares e dos cardiomiócitos (Ali et al., 2010; Belo et al., 2015). O grupo SHR-EX apresentou atenuação da MMP-2 ativa intermediária e da MMP-2 inativa em relação ao grupo SHR, mostrando possível benefício do exercício físico.

A MMP-2 pode ser excessivamente ativada nos cardiomiócitos por estresse oxidativo e degradar proteínas do sarcômero, causando disfunção cardíaca (Wang et al., 2002; Ali et al., 2010; Viapianni et al., 2009). O termo estresse oxidativo refere-se ao desequilíbrio entre a produção e a degradação de espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio, com resultante aumento das espécies reativas. Aumento do estresse oxidativo é associado a doenças cardiovasculares. Indivíduos com hipertensão arterial podem apresentar aumento do estresse oxidativo e diminuição da atividade de enzimas antioxidantes (Redon et al., 2003; Paravicini et al., 2006). Como marcador do estresse oxidativo, foi quantificada a concentração sérica e miocárdica do malondialdeído, que não diferiu entre os grupos. Resultados semelhantes foram encontrados por D'Almeida (2020), em que o HIIT não interferiu nos marcadores de estresse oxidativo. Da mesma maneira, Luo et al., (2021) observaram que o exercício intervalado não teve efeito em marcadores antioxidantes e de estresse oxidativo em SHR. O treinamento contínuo de alta intensidade melhorou a inflamação do tecido vascular, mas não o estresse oxidativo.

O processo de remodelação cardíaca pode cursar com ativação da via de sinalização das MAPKs. As MAPKs, proteínas quinases ativadas por mitógenos, estão envolvidas no processo de hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca. Elas participam de várias atividades celulares como diferenciação, mitose e apoptose (Okoshi et al., 2004; Marber et al., 2011). Neste estudo, foram avaliados dois membros da via das MAPK, a ERK e a p38. A ERK fosforila fatores de transcrição

que estimulam a síntese de proteína e o crescimento celular (Zhang et al., 2003). A ERK1/2 tem papel importante na sinalização de células musculares cardíacas durante o fenótipo hipertrófico. Ela pode ser ativada por fatores humorais ou sobrecarga mecânica, o que leva à sua translocação nuclear. Estudos em camundongos geneticamente deficientes em ERK reforçaram o papel direto dessa via na hipertrofia cardíaca induzida por estresse mecânico (Liang & Sheikh, 2016)

A p38 está envolvida no processo apoptótico, fibrose e na síntese de citocinas inflamatórias. Aumento da fosforilação de p38 está associado ao desenvolvimento de hipertrofia, fibrose intersticial e disfunção miocárdica em camundongos obesos (Zhang et al., 2000). Chang et al., (2011) observaram aumento na expressão da p38, JNK e ERK1/2 associado a hipertrofia ventricular esquerda no coração de ratos diabéticos. Em nosso estudo, a expressão das proteínas da via das MAPK não diferiu entre os grupos, sugerindo que outras vias de sinalização intracelular estejam envolvidas na hipertrofia cardíaca.

A cascata de sinalização envolvida diretamente com a hipertrofia fisiológica é a via do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1/fosfoinositol 3/proteína cinase B. Esta é a principal via no desenvolvimento da hipertrofia fisiológica; sua ativação e, consequentemente, a ativação da via Akt/PKB leva à fosforilação de vários substratos que promovem a regulação do metabolismo, angiogênese, crescimento e sobrevivência celular (DeBosch, et al. 2006; Benito & Nattel 2009). O IGF-1 é um polipeptídeo secretado pelo fígado e liberado na corrente sanguínea em resposta ao hormônio do crescimento (GH) (Ide et al., 2011). O IGF-1 tem papel importante no crescimento, regulando vias anabólicas e catabólicas (Yoshida et al., 2020; Timmer et al., 2018). Entretanto, em nosso estudo não identificamos alterações na expressão do IGF-1 entre os grupos. Em estudo com ratos submetidos ao treinamento físico de alta intensidade, Biglari et al., (2020) observaram aumento da expressão de IGF-1 e hipertrofia do músculo esquelético.

Neste trabalho foi possível mostrar que o exercício intervalado de alta intensidade por tempo prolongado foi seguro, bem tolerado e impactou substancialmente o aumento da capacidade física do grupo SHR-EX. Adicionalmente, o exercício físico aeróbio intervalado de alta intensidade melhorou

o desfecho clínico de insuficiência cardíaca, sem, no entanto, modificar o grau de injúria cardíaca e disfunção ventricular. Neste estudo, é possível que alterações da musculatura esquelética induzidas pelo treinamento físico tenham tido participação importante na melhora da capacidade funcional. Diversos estudos sugerem que parte da intolerância às atividades físicas e cotidianas decorrentes da insuficiência cardíaca esteja relacionada a atrofia e outras alterações da musculatura esquelética associadas à insuficiência cardíaca (Okoshi et al., 2013 e 2017). Estudos adicionais são necessários para identificar vias de sinalização intracelular miocárdica relacionadas à melhora da capacidade funcional de ratos espontaneamente hipertensos submetidos a exercício intervalado de alta intensidade por tempo prolongado.

CONCLUSÃO

O exercício físico intervalado de alta intensidade por tempo prolongado, iniciado em fase que antecede o desenvolvimento de insuficiência cardíaca, aumenta a capacidade funcional, reduz a frequência de sinais de insuficiência cardíaca e atenua a atividade da metaloproteinase-2 em ratos espontaneamente hipertensos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmet I, Wan R, Mattson MP, Lakatta EG, Talan M. Cardioprotection by intermittent fasting in rats. *Circulation* 2005; 112:3115-21.

Albuquerque DC, Neto JD, Bacal F, Rohde LE, Bernardez-Pereira S, Berwanger O, Almeida DR. I Brazilian Registry of Heart Failure - Clinical Aspects, Care Quality and Hospitalization Outcomes. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2015; 433-442.

Ali MA, Cho WJ, Hudson B, Kassiri Z, Granzier H, Schulz R. Titin is a target of matrix metalloproteinase-2: implications in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation*.2010;122(20):2039-47.

Araújo CGS. Fisiologia do exercício físico e hipertensão arterial: uma breve introdução. *Revista Hipertensão*. 2001;30-35.

Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa ADM, Machado CA, et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial-2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 116, 2020; 516-658.

Behr TM, Nerurkar SS, Nelson AH, Coatney RW, Woods TN, Sulpizio A. Hypertensive end-organ damage and premature mortality are p38 mitogen-activated protein kinase-dependent in a rat model of cardiac hypertrophy and dysfunction. *Circulation*. 2001; 104:1292-1298.

Bellafore M, Battaglia G, Bianco A, Farina F, Palma A, Paoli A. The involvement of MMP-2 and MMP-9 in heart exercise-related angiogenesis. *J Transl Med*. 2013; 11:283.

Belo VA, Parente JM, Tanus-Santos JE, Castro MM. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 decreases calponin-1 levels and contributes to arterial remodeling in early hypertension. *Biochem Pharmacol*. 2016; 118:50-8.

Benito B, Nattel S. Exercise training as a treatment for heart failure: potential mechanisms and clinical implications. *J Physiol*. 2009;587(Pt 21):5011-5013.

Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, McMullen JR. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010;128:191-227.

Biglari,S, Afousi, AG, Mafi, F. & Shabkhiz, F. High-intensity interval training-induced hypertrophy in gastrocnemius muscle via improved IGF-I/Akt/FoxO and myostatin/Smad signaling pathways in rats. *Physiology International*, 2020; 107:220-230.

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.

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.

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. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2009;93 supl 1:1-71. 23

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976; 72:248-254.

Brilla CG, Pick R, Tan LB, Janicki JS, Weber KT. Remodeling of the Rat Right and Left Ventricles in Experimental Hypertension. *Circulation Research*. 1990, 1355 1364.

Campos JC, Fernandes T, Bechara LRG, Paixao NA, Brum PC, Oliveira EM, Ferreira JCB. Increased Clearance of Reactive Aldehydes and Damaged Proteins in Hypertension-Induced Compensated Cardiac Hypertrophy: Impact of Exercise Training. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*. 2015. 1-11.

Carabello BA. Concentric versus eccentric remodeling. *Journal Of Cardiac Failure*. 2002, 258-263.

Cezar MDM, Campos DHS, Damatto RL, Martinez PF, Lima ARR, Guizoni DM, et al. O bloqueio da aldosterona na remodelação cardíaca em ratos espontaneamente hipertensos. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2009; 19:46.

Chan J. L., Bluher, S., Yiannakouris, N., Suchard, M. A., Kratzsch, J., & Mantzoros, C. S. Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex

steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans. *Diabetes*, 2002; 51(7), 2105-2112.

Cicogna AC, Okoshi, MP, Okoshi, K. História natural da remodelação miocárdica: da agressão aos sintomas. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, São Paulo, 2000; 10: 8-16.

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. *The American Journal of The Medical Sciences*. 2000; 320:244-248.

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.

Costa, E. C., Hay, J. L., Kehler, D. S., Boreskie, K. F., Arora, R. C., Umpierre, D., ... & Duhamel, T. A. (2018). Effects of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on blood pressure in adults with pre-to established hypertension: a systematic review and meta-analysis of

da Silva, J. F., Giannini, D. T., & Mourilhe-Rocha, R. (2015). Metabolic syndrome in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiovasc Sci*, 28(3), 206-214.

da Silva, JF, Giannini, DT, & Mourilhe-Rocha, R. Metabolic syndrome in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiovasc Sci*. 2015; 28(3), 206-214.

D'Almeida, Thaynara Zanoni. Impacto do treinamento intervalado de alta intensidade sobre o estresse oxidativo do músculo esquelético de ratos espontaneamente hipertensos. 2020. 41f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2020.

Dalpiaz, M. R., Dorneles, G. P., Souza, M. P., Peres, A., Monteiro, M. B., & Souza, M. P. (2016). Treinamento Intervalado de Alta Intensidade: quebrando paradigmas na

reabilitação cardiovascular. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício (RBPFE)*, 10(57), 16-28.

Debosch B, Treskov I, Lupo TS, Weinheimer C, Kovacs A, Courtois M, Muslin AJ. Akt1 Is Required for Physiological Cardiac Growth. *Circulation*. 2006; 209:2097-2104.

Ericsson M, Sjaland C, Andersson KB, Sjaastad I, Christensen G, Sejersted OM, Ellingsen O. Exercise training before cardiac-specific *serca2* disruption attenuates the decline in cardiac function in mice. *Journal Applied Physiology*. 2010; 109:1749-1755 24

Fernandes, Amanda D. F., Fernandes, Gilson C., Mazza, Manuel Rivera, Knijnik, Leonardo M., Fernandes, Gustavo Soares, Vilela, Andre Telis de Badiye, Amit, & Chaparro, Sandra V. A 10-Year Trend Analysis of Heart Failure in the Less Developed Brazil. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 114(2), 2020, 222-231.

Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007; 34:760-765.

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.

Garciaarena 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; 53:70-8-14.

Ghorayeb N, Batlouni M. Hipertrofia ventricular: mecanismos envolvidos na indução e possibilidade de regressão. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo* 1998; 8:298-301.

Gibb AA, Hill BG. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling. *Circ Res* 2018; 123:107-28.

Gomes, MJ., Pagan, LU., Lima, AR., Reyes, DR., Martinez, PF., Damatto, FC., ... & Okoshi, MP. Effects of aerobic and resistance exercise on cardiac remodelling and

skeletal muscle oxidative stress of infarcted rats. *Journal of cellular and molecular medicine*, 2020; 24(9), 5352-5362.

Gonzalez A, Lopez B, Ravassa S, San Jose G, Diez J. Reprint of “The complex dynamics of myocardial interstitial fibrosis in heart failure. Focus on collagen cross linking”. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular. Cell Research*. 2020;1867(3):118521

Grossman W, Jones D, Mclaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *Journal Of Clinical Investigation*. 1975, 56-64.

Grotto, D., Valentini, J., Boeira, S., Paniz, C., Maria, L. S., Vicentini, J., ... & Cardoso, S. G. (2008). Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo: malondialdeído. *Química Nova*, 31(2), 275-279

Hannan AL, Hing W, Simas V, Climstein M, Coombes JS, Jayasinghe R, Byrnes J, Furness J. High-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training within cardiac rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. *Open Access J Sports Med*. 2018; 9:1-17.

Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadriatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PLoS One*. 2015;10(3):e0121138.

Ide, BN, Lazarim, FL, & de Macedo, DV. Hipertrofia muscular esquelética humana induzida pelo exercício físico/Exercise-induced human skeletal muscle hypertrophy. *Revista Ciências em Saúde*, 2011; 1(2), 52-61.

Jakovljevic B, Nikolic Turnic T, Jeremic N, Jeremic J, Bradic J, Ravic M, ... & Zivkovic V. The impact of aerobic and anaerobic training regimes on blood pressure in normotensive and hypertensive rats: focus on redox changes. *Molecular and cellular biochemistry*, 2019; 454(1), 111-121.

Johnsen AB, Hoydal M, Rosbjorgen R, Stolen T, Wisloff U. Aerobic interval training partly reverse contractile dysfunction and impaired Ca^{2+} handling in atrial myocytes from rats with post infarction heart failure. *Plos one*. 2013; 8:e66288

Jugdutt BI. Regulation of fibrosis after myocardial infarction: Implications for ventricular remodeling. In: Jugdutt BI, Dhalla N S. Cardiac Remodeling Molecular Mechanisms. Edmonton: Springer. 2013, 525-539.

Kehat I, Molkentin JD. Molecular Pathways Underlying Cardiac Remodeling During Pathophysiological Stimulation. *Circulation*, 2010; 2727-2735.

Kopeva, KV, Grakova, EV, Shilov, SN, Berezikova, EN, Popova, AA, Neupokoeva, MN, & Teplyakov, AT. Anthracycline-induced cardiotoxicity in women without cardiovascular diseases: molecular and genetic predictors. *Acta Cardiologica*, 2021;1-10.

Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16:233-270.

Langen B, Dost R. Comparison of SHR, WKY and Wistar rats in different behavioural animal models: effect of dopamine D1 and alpha2 agonists. *Atten Defic Hyperact Disord*. 2011; 3:1-12.

Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med*. (2002) 32:53-73.

Liang, Y, & Sheikh, F. Scaffold proteins regulating extracellular regulated kinase function in cardiac hypertrophy and disease. *Frontiers in pharmacology*, 2016; 7, 37.

Lin YY, Lee SD. Cardiovascular Benefits of Exercise Training in Postmenopausal Hypertension. *Int J Mol Sci*. 2018;19(9):2523.

Liu, JX, Zhu, L, & Deng, JM. The effects of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on fat loss and cardiometabolic health in pediatric obesity: A protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 2019; 98(10).

Lu J, Hao J, Du H, Xiao B, Li Y, Yang X, et al. Amlodipine and atorvastatin improved hypertensive cardiac remodeling through regulation of MMPs/TIMPs in SHR rats. *Cell Physiol Biochem*. 2016; 39:47-60.

Luo M, Cao C, Niebauer J, Yan J, Ma X, Chang Q, Zhang T, Huang X, Liu G. Effects of different intensities of continuous training on vascular inflammation and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *J Cell Mol Med*. 2021;25(17):8522-8536

Mafra, D., Abdalla, D. S. P., & Cozzolino, S. M. F. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. *Revista de Nutrição*,1999;12, 205-212.

Maillard, F, Vazeille, E, Sauvanet, P, Sirvent, P, Combaret, L., Sourdrille, A, & Boisseau, N. High intensity interval training promotes total and visceral fat mass loss in obese Zucker rats without modulating gut microbiota. *PLoS One*, 2019; 14(4), e0214660

Malta DC, Gonçalves RPF, Machado IE , Freitas MIF, Azeredo C, Szwarcwald CL et al. Prevalência da hipertensão arterial segundo diferentes critérios diagnósticos. Pesquisa Nacional de Saúde. *Rev Bras Epidemiol*. 2018; 21(sup 1): E180021

Marber MS, Rose B, Wang Y. The p38 mitogen-activated protein kinase pathway- A potential target for intervention in infarction, hypertrophy, and heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2011; 51:485-490.

Melo, SFS, Barauna, VG, Júnior, MAC., Bozi, LHM, Drummond, LR., Natali, AJ, & De Oliveira, EM. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015;16(4), 6855-6867.

Mill JC, Vassallo DV. Hipertrofia cardíaca. *Revista Brasileira Hipertensão*, 2001; 8:63-75.

Mirghani, SJ, Seydyousefi, M, Pekkala, S, Sharifian, S, & Beyshami, G. (2019). Shorter recovery time following high-intensity interval training induced higher body fat loss among overweight women. *Sport Sciences for Health*, 2019;15(1), 157-165.

Miyajima K, Minatoguchi S, Ito Y, Hukunishi M, Matsuno Y, Kakami M, Kawasaki M, Nishigaki K, Takemura G, Fujiwara H. Reduction of QT dispersion by the angiotensin

II receptor blocker valsartan may be related to its anti-oxidative stress effect in patients with essential hypertension. *Hypertension Research*, 2007;30(4), 307-313.

Moreira JB, Bechara LR, Bozi LH, Jannig PR, Monteiro AW, Dourado PM, Wisloff U, Brum PC. High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *J Appl Physiol*. 2013; 114:1029-1041.

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.

Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. heart disease and Stroke Statistics-2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2015, 38-360. 26

Nilson, EAF, Da Silva, EN, & Jaime, PC. Developing and applying a costing tool for hypertension and related cardiovascular disease: attributable costs to salt/sodium consumption. *The Journal of Clinical Hypertension*, 2020; 22(4), 642-648.

Nogueira IC, Santos ZMSA, Mont'Alverne DGB, Martins ABT, Magalhaes CBA. Efeitos do exercício físico no controle da hipertensão arterial em idosos: uma revisão sistemática. *Revista Brasileira Geriatria e Gerontologia*. 2012, 587- 601.

Octavia Y, Tocchetti CG, Gabrielson KL, Janssens S, Crijns HJ, Moens AL. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *J Mol Cell Cardiol*. 2012 ;52(6):1213-25.

Okamoto K, Tabei R, Fukushima M, Nosaka S, Yamori Y. Further Observations of the Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. *Japanese Circulation Journal*. 1966; 703-716.

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, Capalbo RV, Romeiro FG, Okoshi K. Cardiac cachexia: perspectives for prevention and treatment. *Arq Bras Cardiol.* 2017; 108(1): 74-80.
- Okoshi MP, Romeiro FG, Paiva SAR, Okoshi K. Heart failure-induced cachexia. *Arq Bras Cardiol.* 2013; 100(5):476-482.
- Okoshi MP, Yan X, Okoshi K, Nakayama M, Schuldt AJT, O'Connell TD, et al.: Aldosterone directly stimulates cardiac myocyte hypertrophy. *J Card Fail* 2004; 10:511-8.
- Oliveira, J, Mesquita-Bastos, J, Argel de Melo, C, & Ribeiro, F. Post aerobic exercise blood pressure reduction in very old persons with hypertension. *Journal of Geriatric Physical Therapy*, 2016; 39(1), 8-13.
- Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDM, Lima ARR, Bonomo C, Campos DHS, et al. Longterm low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 36:61-74.
- Pagan LU, Damatto RL, Gomes MJ, Lima AR, Cezar MD, Damatto FC, et al. Low intensity aerobic exercise improves cardiac remodeling of adult spontaneously hypertensive rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2019; 23:6504-7.
- Paravicini TM, Touyz RM. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res.* 2006; 71(2):247-58.
- Perez NG, Alvarez BV, Camili6n de Hurtado MC, Cingolani HE. PHi Regulation in Myocardium of the Spontaneously Hypertensive Rat: Compensated Enhanced Activity of the Na⁺-H⁺ Exchanger. *Circulation Research.* 1998; 1192-1200.
- Peterson, JT, Hallak, H, Johnson, L, Li, H, O'Brien, PM, Sliskovic, DR, & Spinale, FG. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in a rat model of progressive heart failure. *Circulation*, 2001; 103(18), 2303-2309.
- 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.

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.

Pires ANS, Mello FA, Costa SM, Chagas D, Cavalieri GV, Salge AKM, Favareto APA, Silva DTR, Pacagnelli FL, Rossi RC. Comparison of general pathological processes in the pulmonary epithelium of spontaneously hypertensive rats submitted to high intensity interval training. *Research, Society and Development*, [S. l.], 2021;10:6

Pluim BMJU, Zwinderman AH, Van Der Laarse A, Van Der Wall EE. The athlete's heart - a meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation.* 2000, 336 344.

Redon J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, et al. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension.* 2003;41(5):1096-101.

Reyes, DR., Gomes, MJ., Rosa, CM., Pagan, LU., Damatto, FC., Damatto, RL., & Okoshi, MP. N-acetylcysteine influence on oxidative stress and cardiac remodeling in rats during transition from compensated left ventricular hypertrophy to heart failure. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017; 44(6), 2310-2321.

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.

Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J, Orellana M, Rivera G. Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003; 42:453-61.

Schiattarella GG, Hill JA. Inhibition of hypertrophy is a good therapeutic strategy in ventricular pressure overload. *Circulation.* 2015;131(16):1435-47.

Schulz, R. Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 47, 2007; 211-242.

Sereneri GG, Modesti PA, Boddi M et al. Cardiac growth factors in human hypertrophy. Relations with myocardial contractility and wall stress. *Circulation Res.* 1999; 57-67.

Shi L, et al. Chronic exercise normalizes changes in Cav1.2 and KCa1.1 channels in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *British Journal Of Pharmacology*, 2015; 1846-1858.

Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2016; 97:245-62

Silva M, Rocha F. Comparativo dos Protocolos de Treino Hiit (Treinamento Intervalado de alta Intensidade) e MICT (Treinamento Contínuo de Intensidade Moderada) Sobre a Redução do Percentual de Gordura Corporal: Revisão literária. Trindade -GO: Bacharel em Educação Física, 2019. pág.:18. Trabalho de conclusão de curso.

Silva, R, Benedet, J. Treinamento Intervalado de Alta Intensidade e emagrecimento. Santa Catarina -RS: Pós-Graduação Personal Training, 2017. pág.: 14.

Siqueira ASE, Siqueira-filho AG, Land, MGP. Analysis of the economic impact of cardiovascular diseases in the last five years in Brazil. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 2017; 39-46.

Souza, FLA. Treinamento intervalado de alta intensidade promove controle pressórico, melhora a tolerância ao exercício e função cardíaca em ratos espontaneamente hipertensos. 2017. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2017.

Su L, Fu J, Sun S, Zhao G, Cheng W, Dou C, et al. (2019) Effects of HIIT and MICT on cardiovascular risk factors in adults with overweight and/or obesity: A meta-analysis. *PloS one*. 2019; 14(1) e0210644

Suarez, Pedro Zavagli. Efeitos de diferentes tipos de treinamento físico aeróbio sobre a morfologia, função e propriedades mecânicas do coração de ratos hipertensos. 2019. 65 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2019.

- Swynghedauw, B. Molecular Mechanisms of Myocardial Remodeling. *Physiological Reviews*. 1999, 215-262.
- 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.
- Tham YK, Bernardo BC, Ooi JY, Weeks KL, McMullen JR. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. *Archives Of Toxicology*, 2015; 1401-1438.
- Timmer, LT, Hoogaars, WM, & Jaspers, RT. The role of IGF-1 signaling in skeletal muscle atrophy. *Muscle Atrophy*, 2018; 109-137.
- Trippodo NC, Frohlich ED. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension: man, and rat. *Circulation Res*, 1981; 309-319.
- Troncoso R, Ibarra C, Vicencio JM, Jaimovich E, Lavandero S. New insights into IGF-1 signaling in the heart. *Trends Endocrinol Metab*. 2014; 128-137.
- Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 30: 2181-2190.
- Tyagi SC, Matsubara L, Weber KT. Direct extraction and estimation of collagenase(s) activity by zymography in microquantities of rat myocardium and uterus. *Clin Biochem* 1993; 26:191-198.
- Vanhoutte PM. Is endothelin involved in the pathogenesis of hypertension? *Hypertension*, 1993; 747-51.
- Vanhoutte, D, & Heymans, S. TIMPs and cardiac remodeling: 'Embracing the MMP-independent-side of the family'. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2010; 48(3), 445-453.
- Vasconcelos, SML, Goulart, MOF., Silva, MAM, & Gomes, ACM. Hipótese oxidativa da hipertensão arterial: uma minirrevisão. *Rev Bras Hipertensão*, 2007; 14(4), 269-74.

Viappiani S, Nicolescu AC, Holt A, Sawicki G, Crawford BD, Leon H, et al. Activation and modulation of 72kDa matrix metalloproteinase-2 by peroxynitrite and glutathione. *Biochem Pharmacol*. 2009;77(5):826-34.

Virani, SS, Alonso, A, Aparicio, HJ, Benjamin, EJ, Bittencourt, MS, Callaway, CW, & American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2021 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2021; 143(8), e254-e743.

Yeves AM, Burgos JI, Medina AJ, Villa-Abrille MC, Enn IL, et al. Cardioprotective role of IGF-1 in the hypertrophied myocardium of the spontaneously hypertensive rats: A key effect on NHE-1 activity. *Acta Physiologic*, 2018; 1-13, 28.

Yoshida, T, & Delafontaine, P. Mechanisms of IGF-1-mediated regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Cells*, 2020; 9(9), 1970.

Zhang LQ, Zhang XQ, Ng YC, Rothblum LI, Musch TI, Moore RL, Cheung JY. Sprint training normalizes Ca^{2+} transients and Ca^{2+} function in postinfarction rat myocytes. *Journal Applied Physiology*. 2000; 89:38-46.

Zhang W, Elimban V, Nijjar MS, Gupta SK, Dhalla NS. Role of mitogen-activated protein kinase in cardiac hypertrophy and heart failure. *Experimental & Clinical Cardiology*. 2003; 173-183.

Zhang, Z, Sheng, H, Shao, J, Beauchamp, RD, & DuBois, RN. Posttranscriptional regulation of cyclooxygenase-2 in rat intestinal epithelial cells. *Neoplasia*, 2000; 2(6), 523-530.