



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

Lidiane Moreira de Souza

**Influência do exercício físico resistido sobre a
musculatura esquelética de ratos com infarto do
miocárdio**

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

Orientadora: Profa. Titular. Marina Politi Okoshi

Coorientadora: Dra. Mariana Janini Gomes

Botucatu
2019

Lidiane Moreira de Souza

Influência do exercício físico resistido sobre a
musculatura esquelética de ratos com infarto do
miocárdio

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

Orientadora: Profa. Titular Marina Politi Okoshi

Coorientadora: Dra. Mariana Janini Gomes

Botucatu

2019

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

Souza, Lidiane Moreira de.

Influência do exercício físico resistido sobre a musculatura esquelética de ratos com infarto do miocárdio / Lidiane Moreira de Souza. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Marina Politi Okoshi

Coorientador: Mariana Janini Gomes

Capes: 40101002

1. Infarto do miocárdio. 2. Exercícios físicos. 3. Estresse oxidativo. 4. Metabolismo energético. 5. Músculo esquelético.

Palavras-chave: Infarto do miocárdio; estresse oxidativo; exercício físico resistido; metabolismo energético; músculo esquelético.

“Viver é um rasgar-se e remendar-se.”

Guimarães Rosa

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Isaltino e Maria Goreti (*in memoriam*), aos meus irmãos, Marcos, Márcia, Iranildo e Graciane, e ao meu companheiro de vida Luiz Henrique.

Agradecimento especial

Agradeço a Profª Titular **Marina Politi Okoshi**, pela oportunidade de tê-la como orientadora, pela dedicação e atenção dada durante esses dois anos. Obrigado por me direcionar, ensinar, incentivar e por toda paciência e compreensão. Muito obrigado por participar dessa etapa da minha formação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a dádiva da vida e por me oportunizar viver ao lado de pessoas maravilhosas.

Aos meus pais, Isaltino e Maria Goreti (*in memorian*), por me apoiarem nessa jornada e por sempre respeitar as minhas decisões. Pai e mãe, obrigado por me ensinar a respeitar ao próximo e ser gentil com todos. Esse ensinamento é eterno.

Aos meus irmãos, Marcos, Márcia e Iranildo que, mesmo não estando presentes, acredito que torcem pelo meu melhor. Em especial a minha irmã Grá, que sempre cuidou de mim e, mesmo em momentos de discussões, esteve sempre ao meu lado. Você não sabe o quanto foi e é importante na minha vida. Obrigada por tudo!

A todos meus familiares, em especial a minha madrinha Neide e meu primo Aguinaldo, mesmo de longe me apoiando e na torcida pelo meu sucesso.

A minha sogra, D. Nadir, que me acolheu em sua família e me adotou como filha.

Ao meu companheiro de vida e de aventuras, Luiz Henrique que, quando meu choro ecoou, me abraçou, me deu amor e cuidou de mim. Obrigado por aceitar quem eu sou. Te amo!

Ao meu amigo de vida e parceiro de laboratório, Éder, por me apresentar a Prof^a Marina, e por estar em sempre presente. Obrigado!

Aos amigos que conheci ao longo da estrada, Adriana, Thainá, Seiji, Wiliam, Stéfany, Kátina, Vinícius, Olívia, Youssef, Lucas Belo, Larissa. Obrigada por todas as conversas e risos.

Aos amigos da pós-graduação e iniciação científica, Thierres, Felipe, Leiliane, Patrícia, Amanda, Ingrid, David e Mariana Gatto, pela amizade e colaboração nesse trabalho.

A minha coorientadora, Dra. Mariana Janini, pela atenção, dedicação, aprendizado e amizade. Valeu pela paciência!

Ao Prof. Tit. Dr. Katashi Okoshi, agradeço pela avaliação ecocardiográfica de todos os animais desse trabalho, bem como pela disposição e paciência em nos ensinar.

Ao Prof. Dr. Leonardo Zornoff pela cirurgia de indução de infarto nos animais.

A Prof^a Dr^a Ana Angélica Henrique Fernandes, pela análise das enzimas antioxidantes, realizada no laboratório de pesquisa do Departamento de química e Bioquímica do Instituto de Biociências de Botucatu, Unesp.

A Prof^a Dr^a Camila Renata Correa, pelas análises e avaliação do malondialdeído e carbonilação de proteínas, pela paciência e disponibilidade para ensinar.

Ao pesquisador Dr. Gilson Murata e sua equipe, do Departamento de fisiologia e biofísica do ICB-USP, pela realização dos ensaios enzimáticos de metabolismo.

Ao Prof. Dr. Renato Ferretti do Departamento de anatomia do Instituto de Biociências de Botucatu, por permitir utilizarmos o laboratório de pesquisa na reta final para análises de proteínas.

Aos professores Dr. Ricardo Damatto e Dr^a Luana Pagan pelas valiosas sugestões e críticas proferidas no exame de qualificação, contribuindo para o aperfeiçoamento desse trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, da Seção de Pós-graduação e da Unidade de pesquisa experimental – Unipex, em especial a Ana Mengue. Muito obrigada a todos e todas!

As minhas orientadoras de iniciação científica, Prof^a Dr^a Patrícia Monteiro Seraphim, e de treinamento técnico, Prof^a Dr^a Sandra Lia do Amaral Cardoso, vocês foram fundamentais na minha formação. Muito obrigada pelo aprendizado e amizade.

A CAPES, pelo suporte financeiro.

Agradeço a todos e todas que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	3
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	7
OBJETIVOS	12
MATERIAL E MÉTODOS	14
Grupos experimentais	15
Teste de esforço	16
Teste de carga máxima	16
Protocolo de exercício físico resistido.....	17
Avaliação cardíaca por ecocardiograma.....	17
Coleta da musculatura esquelética e de outros tecidos para análise.....	19
Análise histológica do coração	19
Análise histológica da musculatura esquelética	20
Análise da atividade de enzimas antioxidantes e dosagem de hidroperóxido de lipídeo	20
Quantificação sérica de malondialdeído sérico	21
Quantificação sérica de proteínas carboniladas	22
Avaliação do metabolismo energético.....	22
Atividade enzimática da creatina quinase	23
Análise da expressão proteica por Western blot.....	23
Análise estatística	25
RESULTADOS	26
Caracterização dos grupos experimentais e variáveis anatômicas	27
Avaliação da capacidade funcional e da força muscular	28
Avaliação ecocardiográfica	30
Estudo histológico	36
Avaliação do estresse oxidativo	38
Avaliação do metabolismo energético.....	40
Expressão proteica por Western Blot	41
DISCUSSÃO	44
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	55

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Adaptação ao protocolo de exercício físico resistido.....	17
Tabela 2 - Tamanho amostral e mortalidade.	27
Tabela 3 - Variáveis anatômicas.	28
Tabela 4 - Avaliação ecocardiográfica inicial dos parâmetros estruturais do coração.....	31
Tabela 5 - Avaliação ecocardiográfica final dos parâmetros estruturais do coração.	32
Tabela 6 - Avaliação ecocardiográfica inicial da função sistólica do ventrículo esquerdo.....	33
Tabela 7 - Avaliação ecocardiográfica final da função sistólica do ventrículo esquerdo.	34
Tabela 8 - Avaliação ecocardiográfica inicial da função diastólica do ventrículo esquerdo.....	35
Tabela 9 - Avaliação ecocardiográfica final da função diastólica do ventrículo esquerdo.	36
Tabela 10 - Atividade das enzimas envolvidas no metabolismo energético.	41
Tabela 11 - Expressão proteica.	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Teste de tolerância ao esforço em esteira	29
Figura 2. Teste de carga máxima	30
Figura 3. Cortes histológicos representativos do tamanho da área infartada do ventrículo esquerdo...	37
Figura 4. Morfometria músculo esquelético	38
Figura 5. Atividade das enzimas antioxidantes no músculo esquelético	39
Figura 6. Marcadores de estresse oxidativo	40
Figura 7. Expressão proteica da p70s6K.....	43
Figura 8. Expressão proteica da FoxO3a	43

RESUMO

Introdução: Efeitos benéficos do exercício físico aeróbio foram descritos após infarto do miocárdio (IM) e insuficiência cardíaca. Mais recentemente, foi observado que também a prática de exercícios resistidos é segura e benéfica para pacientes cardiopatas. Entretanto, os mecanismos envolvidos em seus efeitos na musculatura esquelética ainda não estão completamente esclarecidos. Poucos pesquisadores avaliaram os efeitos do exercício físico resistido sobre vias de sinalização celular relacionadas à manutenção da massa muscular esquelética durante o processo de remodelação cardíaca induzida por IM. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do exercício físico resistido sobre alterações fenotípicas e moleculares que ocorrem na musculatura esquelética após o IM. **Métodos:** Três meses após indução de IM, ratos Wistar foram divididos nos grupos Sham (n=14), IM sedentário (IM-Sed, n=9), e IM submetido a exercício resistido (IM-R, n=13). Os ratos foram treinados três vezes por semana, por três meses, em protocolo de exercício resistido em escada. A capacidade funcional foi avaliada pela capacidade máxima de carga e pelo teste de tolerância ao esforço físico em esteira. Ecocardiograma transtorácico foi realizado antes e após o treinamento. A porcentagem de área infartada e o trofismo muscular do sóleo foram avaliados por morfometria. A expressão de proteínas da via do IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina tipo-1)/Akt (proteína quinase B)/mTOR (complexo alvo da rapamicina) foi analisada por Western-blot. A atividade das enzimas antioxidantes catalase, superóxido dismutase e glutatona peroxidase foi avaliada por espectrofotometria. Marcadores do estresse oxidativo foram analisados no músculo ou no soro (hidroperóxido de lipídio, malondialdeído e carbonilação de proteínas). **Análise estatística:** ANOVA de um via complementada com pós teste de Bonferroni ou Dunn. **Resultados:** O exercício resistido aumentou a capacidade de carga máxima, sem alterar a capacidade funcional ou a função do ventrículo esquerdo. A atividade da catalase foi menor no grupo IM-Sed que no Sham e da glutatona peroxidase foi menor no IM-Sed que nos grupos Sham e IM-R. A carbonilação proteica foi maior no grupo IM-R que no IM-Sed. O metabolismo energético não diferiu entre os grupos, exceto pela menor atividade da fosfofrutoquinase no grupo IM-R que no IM-Sed. A expressão proteica da p70s6K e p-FoxO3a, e a relação p-FoxO3a/FoxO3a foram menores no grupo IM-Sed que no Sham e a relação p-p70s6K/p70s6K foi maior no IM-Sed que no Sham. **Conclusões:** O exercício físico resistido em ratos com infarto do miocárdio é seguro, atenua a mortalidade, e melhora a capacidade de carregamento máximo independentemente de alterações na estrutura cardíaca e função ventricular esquerda. No músculo sóleo, o exercício resistido preserva a atividade de enzimas anti-oxidantes e da fosfofrutoquinase e a expressão de proteínas envolvidas no trofismo muscular.

Palavras-Chave: infarto do miocárdio; estresse oxidativo; metabolismo energético, exercício físico resistido; IGF-1; músculo esquelético.

ABSTRACT

Introduction: Beneficial effects of aerobic exercise have been described after myocardial infarction (MI) and heart failure. More recently, it has been observed that resistance exercise is also safe and beneficial for patients with heart disease. However, the mechanisms involved in its effects on skeletal muscle are not yet fully understood. Few researchers have evaluated the effects of resistance exercise on cellular signaling pathways related to maintenance of skeletal muscle mass during the MI-induced cardiac remodeling process. The aim of this study was to evaluate the effects of resistance exercise on phenotypic and molecular changes that occur in skeletal muscle after MI. **Methods:** Three months after MI induction, Wistar rats were divided into Sham (n = 14), sedentary MI (MI-Sed, n = 9), and resistance exercise MI (MI-R, n = 13) groups. The rats were trained three times a week for three months in a climbing ladder protocol. Functional capacity was assessed by maximum load capacity and treadmill physical exercise tolerance test. Transthoracic echocardiography was performed before and after training. The infarction size and soleus muscle cross sectional area were evaluated by morphometry. The protein expression of the IGF-1 (insulin-like growth factor-1) / Akt (protein kinase B) / mTOR (rapamycin target complex) pathway was analyzed by Western blot. The activity of antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase was evaluated by spectrophotometry. Oxidative stress markers (lipid hydroperoxide, malondialdehyde and protein carbonylation) were analyzed in muscle or serum. Statistical analysis: One-way ANOVA followed by with Bonferroni or Dunn posttest. Results: Resistance exercise increased maximal load capacity without altering functional capacity or left ventricular function. Catalase activity was lower in the IM-Sed group than in Sham group and glutathione peroxidase was lower in MI-Sed than the other groups. Protein carbonylation was higher in the IM-R compared to IM-Sed group. Energy metabolism did not differ between groups, except for the lower phosphofructokinase activity in the MI-R group than in the MI-Sed. The protein expression of p70s6K and p-FoxO3a, and the p-FoxO3a / FoxO3a ratio were lower in the MI-Sed group than in Sham and the p-p70s6K / p70s6K ratio was higher in MI-Sed compared to Sham. **Conclusions:** Resistance exercise in rats with myocardial infarction is safe, attenuates mortality, and improves maximum carrying load, regardless changes in cardiac structure and left ventricular function. In the soleus muscle, resistance exercise preserves the activity of antioxidant enzymes and phosphofructokinase and the expression of proteins involved in muscle mass regulation.

Keywords: myocardial infarction; oxidative stress; energy metabolism, resistance exercise; IGF-1; skeletal muscle.

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, as doenças cardiovasculares (DCVs) se constituem na maior causa mundial de mortalidade e morbidade dentre as doenças crônicas não transmissíveis ¹, sendo responsáveis por aproximadamente 17,9 milhões de óbitos anualmente ². No Brasil, as DCVs são as principais causas de morte, tendo sido responsáveis por 358.822 mil óbitos no ano de 2017, o que correspondeu a 27% de todas as mortes ³.

O infarto do miocárdio é uma das principais causas de DCVs. O infarto é definido pela presença de lesão miocárdica aguda causada por isquemia miocárdica que leva à morte dos cardiomiócitos ⁴. Em 2017, foram registradas cerca de 93 mil mortes por IM no Brasil³.

A piora da função ventricular com redução do débito cardíaco leva à intolerância aos esforços físicos com a ocorrência precoce de fadiga e dispneia ^{5,6}. Há cerca de quatro décadas, alterações da musculatura esquelética passaram a ser descritas e reconhecidas como parcialmente responsáveis pela intolerância às atividades físicas que ocorre na insuficiência cardíaca ⁷⁻¹¹. Em estudos experimentais e clínicos, foram observadas atrofia muscular, fibrose, mudança no padrão das fibras musculares, redução de mitocôndrias, alteração da expressão de metaloproteinases e fatores de regulação miogênica, anormalidades metabólicas de enzimas oxidativas e lipolíticas, e diminuição da capacidade para desenvolver força por unidade de área muscular ¹²⁻¹⁷. O conjunto das alterações da musculatura esquelética que ocorrem em doentes com falência cardíaca crônica foi denominado miopatia associada à insuficiência cardíaca ¹⁸.

Entre as anormalidades musculares, destaca a alteração do tipo de fibra muscular, com diminuição das fibras do tipo I (também denominadas vermelhas, lentas ou oxidativas) e aumento na proporção de fibras do tipo II (brancas, rápidas ou glicolíticas) ^{19,20}. A mudança no tipo de fibra muscular é associada à redução da capacidade para exercícios físicos ¹⁹ com diminuição da oxidação de ácidos graxos, o que leva a alterações no metabolismo energético ²¹. De fato, pesquisadores têm sugerido que o processo de remodelação cardíaca é acompanhado por miopatia metabólica generalizada que envolve, principalmente, redução na capacidade oxidativa, mudança na utilização de substratos e alteração na transferência de energia por fosfotransferase quinases ^{21,22}. Em modelos animais, a diminuição da capacidade oxidativa muscular após infarto do miocárdio está relacionada à redução da sinalização pela cascata de transcrição da biogênese mitocondrial ²³.

Outra alteração frequentemente observada durante a remodelação cardíaca é a atrofia muscular ^{13,16}. Inibição da síntese proteica e aumento do catabolismo estão envolvidos no processo de atrofia muscular ¹⁹. Uma via de sinalização anabólica importante no músculo esquelético é a via do fator de crescimento semelhante à insulina tipo-1 (IGF-1)/fosfatidilinositol-3 quinase (PI3K)/proteína quinase B (Akt), que comumente encontra-se alterada na insuficiência cardíaca ¹⁹. Aproximadamente 40% dos pacientes com insuficiência cardíaca têm deficiência de IGF-1 e/ou de seu ativador, o hormônio do crescimento ²⁴⁻²⁶. Em pacientes infartados, a concentração de IGF-1 é reduzida, principalmente, quando há insuficiência cardíaca ²⁷ ou caquexia cardíaca ²⁸. Concentrações menores de IGF-1 estão associadas com diminuição da performance muscular e pior prognóstico(27,29).

O IGF-1, por meio de ligação a seu receptor transmembrana, fosforila o substrato do receptor de insulina 1, que ativa a via PI3K/Akt, levando à inibição da enzima glicogênio sintase quinase-3 (GSK3) e à ativação do complexo 1 do alvo da rapamicina (mTORC-1). A mTORC-1 promove síntese proteica e hipertrofia muscular por meio de fosforilação da p70s6 kinase (p70s6K) e por inibição da eIF-4E-binding protein (4E BP). Além de seu papel na sinalização anabólica, a ativação da Akt também suprime a degradação proteica no músculo esquelético por meio de fosforilação e inativação de fatores de transcrição da forkhead box (FoxO). Portanto, inibição da FoxO, mediada pela fosforilação da Akt, impede a expressão da MuRF-1 e MAFbx e seus efeitos catabólicos no músculo esquelético ^{19,30}.

O estresse oxidativo tem sido considerado importante fator no desenvolvimento de alterações musculares ³¹⁻³⁴. O estresse oxidativo é causado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio e mecanismos antioxidantes. Durante a insuficiência cardíaca, o estresse oxidativo está aumentado tanto no miocárdio como na musculatura esquelética ^{35,36}. No tecido muscular esquelético, o sistema de enzimas antioxidantes composto por superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase protege as células das ações de EROs ³⁷. Em estudos clínicos e experimentais, a expressão e atividade de enzimas antioxidantes encontram-se reduzidas após a injúria cardíaca ^{32,35} e o aumento na produção muscular de EROs está relacionado à atrofia muscular ³⁴. O estresse oxidativo pode modular diversas vias de sinalização intracelular. Em relação à via do IGF-1, o estresse oxidativo está associado a prejuízo na fosforilação da Akt ¹⁹.

Apesar do grande progresso no tratamento do infarto do miocárdio, sua morbidade e mortalidade ainda são elevadas. Além disso, não há terapia específica para

prevenção ou recuperação de alterações da musculatura esquelética associadas à remodelação cardíaca. Exercícios físicos têm papel primordial na manutenção e aumento da massa muscular esquelética. Estudos clínicos mostraram que um programa supervisionado de exercícios físicos é seguro para pacientes infartados. Assim, diretrizes internacionais ^{38,39} e brasileira ⁴⁰ passaram a preconizar a prática regular de exercícios físicos para o tratamento de pacientes estáveis, com insuficiência cardíaca em classes funcionais I a III de acordo com a classificação da New York Heart Association.

Desde o trabalho clássico de Sullivan e cols. ⁴¹, em 1988, diversos estudos têm mostrado efeitos benéficos do exercício físico aeróbio sobre a função cardiovascular, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo e o metabolismo energético em pacientes com insuficiência cardíaca. Além disso, a prática regular de exercícios melhora a capacidade funcional e a qualidade de vida, e reduz internações hospitalares ⁴²⁻⁴⁴. Em relação ao músculo esquelético, o exercício físico propicia aumento na atividade de enzimas antioxidantes, densidade capilar, proporção de fibras musculares do tipo I, área seccional transversa das fibras, e força e resistência muscular ⁴⁵. A adaptação ao treinamento aeróbio envolve aumento de glicólise e do metabolismo oxidativo, com aumento no volume e densidade de mitocôndrias e proteínas mitocondriais e na eficácia da transferência de energia ^{22,46}.

A compreensão dos benefícios do exercício físico em pacientes com falência cardíaca resultou, primariamente, de investigações com exercício físico aeróbio, uma vez que treinamento muscular resistido não era considerado seguro para essa população. Somente mais recentemente, foi observado que a prática de exercícios resistidos é segura e também associada a benefícios complementares àqueles fornecidos pelo exercício aeróbio ^{45,47,48}. Em indivíduos saudáveis, a prática de exercícios resistidos preserva e/ou melhora a capacidade funcional, densidade óssea, força muscular, metabolismo basal e resistência à insulina, reduz o risco de osteoporose e diabetes, e auxilia no controle da hipertensão arterial ^{49,50}. Também em pacientes cardiopatas, foram descritos efeitos benéficos do treinamento resistido como melhora da capacidade física com aumento do consumo máximo de oxigênio, melhora da força e endurance muscular, da performance para atividades de vida diária e da qualidade de vida ^{45,51}. Entretanto, avaliação da musculatura esquelética após exercício resistido foi restrita à análise de área muscular, atividade de enzimas metabólicas, e produção de ATP mitocondrial ^{49,52,53}.

Poucos autores avaliaram os efeitos do exercício físico resistido sobre vias de sinalização relacionadas a manutenção da massa muscular após o infarto do miocárdio ⁵⁴.

Adicionalmente, não está esclarecido se a prática de exercícios resistidos, realizada durante o processo de remodelação ventricular, porém antes da insuficiência cardíaca estar estabelecida, pode prevenir ou atenuar alterações na musculatura esquelética. Neste estudo, testaremos a hipótese que o exercício físico resistido, realizado durante o processo de remodelação cardíaca, previne ou atenua alterações fenotípicas e moleculares da musculatura esquelética após o infarto miocárdio.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do exercício resistido, iniciado durante a fase de remodelação cardíaca compensada, sobre alterações fenotípicas e moleculares que ocorrem na musculatura esquelética após o infarto do miocárdio em ratos.

Objetivos Específicos

1. Avaliar o processo de remodelação cardíaca por meio de ecocardiograma;
2. Analisar a capacidade funcional e a força muscular geral *in vivo*;
3. Determinar a área seccional transversa das fibras musculares;
4. Quantificar o estresse oxidativo e a atividade de enzimas antioxidantes no músculo sóleo;
5. Avaliar componentes do metabolismo energético no músculo sóleo;
6. Verificar se o treinamento resistido atenua ou previne alterações musculares e se este potencial efeito benéfico é mediado pela via IGF-1/Akt/mTOR.

MATERIAL E MÉTODOS

Grupos experimentais

Foram utilizados ratos Wistar machos, com peso corporal entre 200 e 250 g, provenientes do Biotério do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista, 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 projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, sob Certificado n°1268/2018.

O infarto do miocárdio foi induzido de acordo com o método previamente descrito em nosso laboratório ⁵⁵. Em resumo, os ratos foram anestesiados com cloridrato de ketamina (60 mg/kg) e submetidos a toracotomia lateral esquerda. Após a exteriorização do coração, o átrio esquerdo foi afastado e a artéria coronária descendente anterior esquerda ligada com fio mononylon 5.0 entre a saída da artéria pulmonar e o átrio esquerdo. A seguir, o coração foi recolocado no tórax, os pulmões foram inflados com pressão positiva e o tórax fechado por sutura com algodão. Os animais pertencentes ao grupo controle foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, porém sem a ligação da artéria coronária responsável pela produção do infarto.

Foram constituídos, inicialmente, dois grupos de animais: controle (Sham) e infarto do miocárdio (IM). Três meses após a cirurgia, os ratos foram submetidos a ecocardiograma transtorácico e subdivididos nos seguintes grupos: 1) Sham (n=14); 2) IM sedentário (n=26); e 3) IM submetido a exercício físico resistido (n=21).

Estudos prévios de nosso laboratório em ratos com insuficiência cardíaca mostraram que a inclusão de 10 a 15 animais por grupo é suficiente para mostrar diferenças nas estruturas cardíacas, na função do ventrículo esquerdo (VE) e em variáveis relacionadas à miopatia associada à insuficiência cardíaca ^{12,31,32,56}. Como a mortalidade no período pós-operatório é de aproximadamente 40%, optamos por iniciar cada grupo experimental com aproximadamente 20 animais.

Como em estudos prévios ^{14,57} verificamos que, a partir do sexto mês pós-cirurgia, os ratos passam a apresentar insuficiência cardíaca e elevada mortalidade, optamos

por iniciar o experimento três meses após a indução do infarto. O protocolo de treinamento foi aplicado durante três meses. Antes e após o período de exercícios, foi realizada avaliação das estruturais cardíacas e função do ventrículo esquerdo por ecocardiograma transtorácico, e da capacidade funcional e força muscular. No dia subsequente ao ecocardiograma final, os ratos foram anestesiados e eutanasiados para coleta de sangue e obtenção de tecidos ^{14,57}.

Teste de esforço

A capacidade funcional foi avaliada pelo teste de tolerância ao esforço físico, realizado antes e ao término do treinamento. O teste consistiu em corrida em esteira rolante, sem inclinação, iniciado na velocidade de 5 m/min, com incrementos de 3 m/min a cada três min, até a exaustão do animal. A exaustão foi definida por incapacidade do rato de correr e/ou dificuldade na coordenação motora para trocar passos. A velocidade máxima de corrida foi registrada e a distância total percorrida calculada ^{33,58}. Os ratos foram adaptados ao ambiente de teste durante uma semana antes das avaliações, por 5 min/dia.

Teste de carga máxima

A determinação da carga máxima para o exercício resistido foi realizada em teste em escada especialmente construída para ratos (110 cm de altura, com 54 degraus de ferro posicionados a cada 2 cm e 80 graus de inclinação). Antes do teste, os ratos foram familiarizados com o aparato por meio de três subidas na escada por três dias. Antes da primeira tentativa, os animais foram mantidos na câmara, no topo da escada (20x20x20 cm), durante 60 s, para que percebessem que o ambiente não representava ameaça. Na primeira tentativa, os ratos foram colocados na porção mais alta da escada, próximo à porta da câmara. Na segunda tentativa, o animal foi posicionado no meio da escada e, na terceira tentativa, colocado na base da escada. Entre cada tentativa houve período de 60 s de recuperação com os ratos posicionados dentro da câmara no topo da escada ⁵⁹.

Após os três dias de familiarização, a carga máxima foi avaliada por meio de subidas em escada com aumento progressivo da carga. Inicialmente, foi colocado peso correspondente a 75% do peso corporal do animal que, progressivamente, foi acrescido de 15% até que o rato não conseguisse subir todos os degraus. O maior peso com o qual o rato foi capaz de subir o comprimento total da escada foi considerado sua capacidade máxima de carga ^{60,61}. O teste foi repetido após 45 dias, para ajuste da intensidade do exercício, e ao final do período experimental, de 12 semanas.

Protocolo de exercício físico resistido

O exercício resistido foi realizado três vezes por semana, em dias alternados, com aumento gradativo de carga, de acordo com protocolo adaptado de Leite et al. ^{62,63}. Inicialmente, houve um período de adaptação, no qual os ratos foram estimulados a subir a escada sem carga. A seguir, foi adicionada carga correspondente a 15% do peso corporal, que foi aumentada gradativamente, conforme exposto na Tabela 1. A partir da segunda semana, as sessões de treinamento consistiram de quatro subidas na escada com cargas correspondentes a 50%, 75%, 90% e 100% da capacidade máxima, previamente estabelecida para cada rato. O período de recuperação entre cada subida foi de 2 min. O treinamento foi mantido até o final do período experimental de 12 semanas.

Tabela 1- Adaptação ao protocolo de exercício físico resistido.

Dias	Carga (% do peso corporal)	Quantidade de subidas
1º	0	3
2º	15	3
3º	30	3

Avaliação cardíaca por ecocardiograma

As estruturas cardíacas e a função do VE foram avaliadas por ecocardiograma transtorácico, utilizando-se equipamento da marca General Electric Medical Systems, modelo Vivid S6 (Tirat Carmel, Israel), com transdutor multifrequencial de 5 a 11,5 MHz. Após anestesia com cloridrato de ketamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg), por via intramuscular, os ratos foram posicionados em decúbito lateral esquerdo^{33,64}. As variáveis foram obtidas de acordo com a metodologia previamente descrita em nosso laboratório⁵⁶. A avaliação dos fluxos transvalvar mitral e aórtico foi realizada com o mesmo transdutor operando em 5,0 MHz. As estruturas cardíacas foram medidas manualmente com o auxílio de um paquímetro de precisão, de acordo com as recomendações da American Society of Echocardiography⁶⁵. As estruturas cardíacas foram medidas em, pelo menos, cinco ciclos cardíacos consecutivos. As seguintes variáveis estruturais foram analisadas: diâmetros diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do ventrículo esquerdo (VE), espessura diastólica da parede posterior do VE (EDPP), e diâmetros da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE). A espessura relativa da parede posterior do VE foi calculada como $2 \times \text{EDPP} / \text{DDVE}$. A massa do VE foi calculada pela fórmula $[(\text{DDVE} + \text{EDPP} + \text{EDSIV})^3 - \text{DDVE}^3] \times 1,04$, na qual 1,04 representa a densidade específica do miocárdio. O índice de massa do VE foi calculado pela divisão da massa do VE pelo peso corporal e o tamanho do infarto calculado pela divisão da medida endocárdica do segmento infartado pelo perímetro endocárdico total. A função sistólica foi avaliada pelas seguintes variáveis: porcentagem de encurtamento endocárdico (% enc. endoc.): $[(\text{DDVE} - \text{DSVE}) / \text{DDVE}]$; porcentagem de encurtamento mesocárdico (% enc. mesoc.): $[(\text{DDVE} + \frac{1}{2} \text{EDPP} + \frac{1}{2} \text{EDSIV}) - (\text{DSVE} + \frac{1}{2} \text{ESPP} + \frac{1}{2} \text{ESSIV})] / (\text{DDVE} + \frac{1}{2} \text{EDPP} + \frac{1}{2} \text{EDSIV})$; velocidade de encurtamento da parede posterior do VE (VEPP), que é a tangente máxima do movimento sistólico da parede; fração de ejeção do VE (FE): $[(\text{DDVE}^3 - \text{DSVE}^3) / \text{DDVE}^3]$; velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral (onda S'), obtida por Doppler tissular; e índice de performance miocárdica do VE, conhecido como índice de Tei. A função diastólica foi analisada pelos seguintes índices: razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; tempo de desaceleração da onda E (TDE); tempo de relaxamento isovolumétrico em valores absolutos (TRIV) e normalizados pela frequência cardíaca (TRIVn): $\text{TRIV} / (\text{R-R})^{0,5}$, sendo que R-R é a distância entre dois complexos R ao eletrocardiograma em segundos; pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral (E') e pico de velocidade de deslocamento

diastólico tardio do anel mitral (A'), obtidas por Doppler tissular; e razão entre as ondas E e E' (E/E').

Coleta da musculatura esquelética e de outros tecidos para análise

Os ratos foram pesados, anestesiados com tiopental (150 mg/Kg; i.p.), e eutanasiados por decapitação. Após coleta de sangue, o coração foi retirado por toracotomia mediana. Os átrios, o ventrículo direito (VD) e o VE, incluindo o septo, foram dissecados e pesados separadamente. O sangue foi centrifugado a 4 °C, a 4.000 rpm por 15 min; amostras do soro foram separadas e armazenadas a -80 °C até o momento das dosagens. A seguir, o tecido epitelial dos membros posteriores foi removido e os músculos gastrocnêmios rebatidos, possibilitando a retirada dos músculos sóleos. Imediatamente após a dissecação, as amostras musculares foram pesadas, congeladas em nitrogênio líquido e conservadas a -80 °C. O peso dos pulmões foi utilizado para determinação do grau de congestão pulmonar. O pulmão inteiro e fragmentos dos ventrículos direito e esquerdo foram pesados antes e após desidratação em estufa a 65 °C por 72 h para avaliar o grau de edema dos tecidos.

Análise histológica do coração

Amostras anelares do VE foram fixadas em solução de formal a 10% por 24 h e, a seguir, lavadas em água corrente e transferidas para solução com etanol 70%, de acordo com o método previamente descrito⁵⁷. Para o cálculo do tamanho do infarto, foi realizado corte com distância de 5 a 6 mm do ápice do VE. Os valores obtidos nessa região correspondem à média dos valores obtidos em cortes de todo o coração. Os cortes histológicos foram corados em lâmina com picrossirius red e examinados em microscópio Leica DM LS acoplado a câmera de vídeo, que envia imagens digitais a computador dotado do programa Image Proplus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA). O tamanho do infarto foi determinado pela razão entre a soma dos comprimentos epicárdico e endocárdico do segmento infartado e a soma das

circunferências epicárdica e endocárdica totais. O valor foi expresso em porcentagem da área total do VE.

Análise histológica da musculatura esquelética

O trofismo muscular foi avaliado por análise morfométrica. Para o preparo das lâminas histológicas, amostras do sóleo foram transferidas para câmara de micrótomo criostato (-20 °C). Os blocos de tecido foram, então, fixados em suportes metálicos do criostato (JUNG CM 1800 - Leica) e orientados de modo que os cortes fossem feitos transversalmente à direção das fibras. Os cortes foram corados por hematoxilina e eosina. A área seccional das fibras musculares foi avaliada em microscópio com sistema computadorizado de imagem. Em cada lâmina, foram mensuradas as áreas seccionais de 150 a 200 fibras por examinador cego ao tratamento.

Análise da atividade de enzimas antioxidantes e dosagem de hidroperóxido de lipídeo

Amostras do músculo esquelético sóleo ($\cong$ 100 mg) foram descongeladas e homogeneizadas em Potter Elvehjem com pistilo de teflon, em 2 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0. Os homogenatos foram centrifugados a 10.000 rpm por 15 min, em centrífuga a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado para determinação da concentração de proteínas totais e do hidroperóxido de lipídeo, e da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase ⁶⁶. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro Pharmacia Biotech (com software Swift II, England), em leitor de microplaca (μ Quant-MQX 200 com Kcjunior software, Bio-Tec Instruments, USA). Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

A atividade da glutathione peroxidase (GSH-Px, E.C. 1.11.1.9) foi determinada por oxidação da glutathione em presença de peróxido de hidrogênio e cumene hidroperóxido. A atividade da superóxido dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1) foi determinada pela alteração na redução do nitroblue-tetrazólio (NBT) por radicais superóxido gerados pela mistura NADH

(nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido) e fenazina metassulfato em pH fisiológico. A atividade da catalase (Cat, E.C. 1.11.1.6) foi determinada em tampão fosfato pH 7,0, utilizando-se 12,5 µL de amostra e peróxido de hidrogênio (30%). As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 240 nm

A concentração de hidroperóxido de lipídio foi determinada pela oxidação do Fe^{2+} (sulfato ferroso amoniacal). O Fe^{3+} formado reage com alaranjado de xilenol formando composto colorido. As leituras foram realizadas a 560 nm. As análises descritas nesta seção foram realizadas no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, sob orientação da Prof. Dra. Ana Angélica Fernandes.

Quantificação sérica de malondialdeído sérico

Para avaliar o estresse oxidativo sistêmico, foi quantificada a concentração sérica de malondialdeído (MDA). Alíquotas da amostra de 250 µL foram adicionadas de 750 µL de ácido tricloroacético 10% para precipitação de proteínas. As amostras foram centrifugadas (3000 rpm por 5 min; Eppendorf® Centrifuge 5804-R, Hamburg, Germany). Ao sobrenadante foi adicionado ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67% na proporção 1:1. 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 através do coeficiente de extinção molar ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e das absorbâncias das amostras; o resultado foi expresso em nmol/g de proteína ⁶⁷. O ensaio foi realizado na Unidade de Pesquisa Experimental da FMB, UNESP, sob orientação da pesquisadora Dra. Camila Renata Correa Camacho.

Quantificação sérica de proteínas carboniladas

A carbonilação de proteínas foi quantificada pelo método adaptado de Mesquita et al. ⁶⁸, em 100 µL da amostra para 100 µL 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH; 10 mM em HCl 2 M). As amostras foram incubadas por 10 min em temperatura ambiente. A seguir, após adição de 50 µL de NaOH (6 M), as amostras foram novamente incubadas por 10 min em temperatura ambiente. A leitura foi realizada a 450 nm em leitor de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA). O resultado foi obtido da absorbância das amostras e do coeficiente de extinção molar ($22000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) e expresso em mol/mg de proteínas. O ensaio foi realizado sob orientação da Dra. Camila Renata Correa Camacho.

Avaliação do metabolismo energético

Nesta etapa, foram analisadas as atividades máximas de enzimas que participam do metabolismo da glicose, fosfofrutoquinase (PFK, E.C.2.7.1.11) e piruvato quinase (PK, EC 2.7.1.40); da via anaeróbica, lactato desidrogenase (LDH, EC 1.1.1.27); do ciclo de Krebs e via aeróbica, citrato sintase (CS, E.C. 4.1.3.7); e da oxidação de ácidos graxos, carnitina palmitoiltransferase 1 (CPT1, EC 2.3.1.21). Amostras do músculo sóleo ($\cong 30 \text{ mg}$) foram homogenizadas em 50 mM de Tris-HCl, 1 mM de EDTA, e coquetel de inibidor de protease, pH 7,4, utilizando esferas de zircônio (0,5 mm) durante 5 min a 4 °C, em homogenizador Bullet Blender® (Next Advance, Inc., NY, USA). O lisado foi centrifugado a 12000 rpm durante 10 min a 4 °C e o sobrenadante coletado. Todas as atividades enzimáticas foram determinadas a 25 °C utilizando espectrofotômetro de microplacas Spectra Max 250 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Para avaliação da atividade da fosfofrutoquinase, foram utilizados 10 µL de amostra e tampão de ensaio contendo 50 mM Tris HCl, 2 mM MgSO_4 , 5 mM KCl, 0,2 mM NADH, 1 mM ATP, 3 mM de frutose 6 fosfato (F6P), 2 mM de fosfoenolpiruvato (PEP), 2 U de lactato desidrogenase (LDH), 4 U de piruvato quinase (PK) e 0,05% triton x-100. A reação foi iniciada pela adição da F6P; a oxidação de NADH foi acompanhada pela medida do decréscimo na absorbância em 340 nm ⁶⁹. Para a mensuração da atividade da piruvato quinase (PK), foi utilizado 1 µL de amostra e tampão contendo 100 mM KH_2PO_4 , 10 mM MgCl_2 , 80

mM KCl, 0,05% Triton x 100, 9 U LDH, 0,17 mM NADH, 5 mM ADP e, como iniciador da reação, 2 mM de PEP. A leitura da absorbância foi efetuada a 340 nm em placas ultravioleta (UV) ⁷⁰. Para as análises enzimáticas de LDH, utilizamos kits comerciais da LABTEST, seguindo o protocolo do fabricante (LDH liquiform, Labtest, Belo Horizonte, MG, Brasil). A atividade da citrato sintase foi medida em mistura de reação contendo 2 µL da amostra adicionados a 100 mM de Tris-HCl, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de EDTA, 0,2 mM de ácido 2-nitrobenzóico (ditio-bis), 0,3 mM de acetil-CoA, e 0,5 mM de oxaloacetato (omitido no controle), em pH 8,1. A taxa de alteração da absorbância foi monitorada a 412 nm ⁷¹. A atividade máxima da enzima carnitina palmitoiltransferase 1 foi avaliada utilizando 20 µL de amostra em tampão (pH 8,1) constituído de 60 mM Tris-HCl, 1,5 mM EDTA, 0,25 mM DTNB, Triton X-100 0,05% (v/v), e 0,035 mM palmitoil-CoA. A reação foi iniciada com a adição de 1,25 mM L-carnitina e as absorbâncias lidas a 412 nm ⁷². Os ensaios descritos nesta seção foram realizados no Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da USP, sob orientação do pesquisador Dr. Gilson Murata.

Atividade enzimática da creatina quinase

A atividade da creatina quinase foi avaliada em solução com 10 µL da amostra e tampão contendo 50 mM Tris HCl, 2 mM MgSO₄, 5 mM KCl, 0,2 mM NADH, 1 mM ATP, 10 mM creatina, 2 mM de fosfoenolpiruvato, 2 U de lactato desidrogenase, 4 U de piruvato quinase e 0,05% triton x-100. A reação foi iniciada pela adição da creatina; a oxidação de NADH foi acompanhada pela medida do decréscimo na absorbância em 340 nm em leitor de placas de 96 poços, considerado como branco a ausência do homogenato. O ensaio foi realizado no Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da USP, sob orientação do pesquisador Dr. Gilson Murata.

Análise da expressão proteica por Western blot

A expressão das proteínas envolvidas na sinalização anabólica da via IGF1/Akt/mTOR (IGF-1, IGF-1R, p-Akt-Ser473, total Akt, p-mTOR-Ser2448, total mTOR, p-p70s6K-Thr389, total p70s6K, p-FoxO3a e total FoxO3a) foi avaliada por Western blot.

A proteína de fragmentos do músculo sóleo (30-40 mg) foi extraída em tubos com tampão RIPA, utilizando esferas de zircônio (0,5 mm) durante 5 min a 4 °C, em homogenizador 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. O conteúdo de proteínas do sobrenadante foi quantificado pelo método de Bradford. As amostras das proteínas foram diluídas em tampão Laemmli [1:1] (Sigma, ref. S3401) 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 40%, APS e Temed) e de resolução (Tris-HCl 240 mM, pH 8,8, poliacrilamida 40%, APS e Temed), na concentração de 6 a 12%, dependendo do peso molecular da proteína analisada. A corrida eletroforética 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 membrana de nitrocelulose em sistema Trans Blot (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) utilizando-se tampão de transferência (Tris 25 mM, glicina 192 mM, metanol 20% e SDS 0,1%). Regiões inespecíficas de ligação do anticorpo primário à membrana foram bloqueadas por incubação com solução a 5% de leite em pó desnatado dissolvido em tampão TBS-T, pH 7,4 (Tris-HCl 20 mM, NaCl 137 mM e Tween 20 0,1%) por 60 min a temperatura ambiente sob constante agitação. Em seguida, 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 overnight, a 4 °C, com o anticorpo primário [1:1000] diluído na solução de bloqueio, sob agitação constante. Após a incubação com o anticorpo primário, a membrana foi lavada e incubada com o anticorpo secundário [1:5000] em solução bloqueadora por 90 min. A seguir, a membrana foi lavada com TBST. Os sinais foram visualizados com auxílio de kit para quimioluminescência (ECL Western Blotting Substrate, Pierce Protein Research Products, Rockford, USA) e analisador de imagens Image Quant LAS 4000 (GE Healthcare Life Sciences). As bandas foram quantificadas por densitometria utilizando-se o programa Gel Pro 3.1. Os resultados obtidos para as proteínas alvo foram

normalizados pelos resultados da proteína constitutiva GAPDH (sc-32233, Santa Cruz Biotechnology) ⁷³.

Análise estatística

Os resultados estão apresentados em média e desvio padrão ou mediana e quartis, de acordo com a distribuição. As comparações entre os grupos foram realizadas por análise de variância de uma via com pós-teste de Bonferroni, ou Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. O tamanho do infarto foi comparado pelo teste t de Student e a mortalidade pelo teste de Goodman. O nível de significância considerado foi de 5%.

RESULTADOS

Caracterização dos grupos experimentais e variáveis anatômicas

Neste estudo, somente foram incluídos ratos com infarto do miocárdio $\geq 30\%$ da área total do VE. Assim, após análise histológica do tamanho do infarto, animais com infartos menores que 30% foram excluídos do estudo, sendo 13 ratos do grupo IM-Sed e 7 do IM-R. Quatro ratos do grupo IM-Sed e 1 do IM-R faleceram durante o estudo. Na Tabela 2, estão apresentados os dados referentes ao tamanho amostral e à mortalidade durante o protocolo experimental.

Tabela 2 - Tamanho amostral e mortalidade.

Grupo	Tamanho amostral			
	Início do treinamento	Exclusão	Óbito	Final do treinamento
Sham	14	0	0	14
IM-Sed	26	13	4*	09
IM-R	21	7	1	13

Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido. Teste de Goodman; * $p < 0,05$ vs Sham.

As variáveis anatômicas estão apresentadas na Tabela 3. O peso corporal final não diferiu entre os grupos. O peso do ventrículo direito e dos átrios, em valores absolutos ou normalizados pelo peso corporal, foi maior nos grupos infartados que no Sham. O peso dos pulmões e a relação peso dos pulmões/peso corporal foram maiores no grupo IM-Sed que no Sham. O peso do músculo sóleo não diferiu entre os grupos.

Tabela 3 - Variáveis anatômicas.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=9)	IM-R (n=13)
PC (g)	552 (527-582)	531 (511-572)	526 (476-570)
VE (U/S)	3,98 (3,61-4,11)	4,13 (3,94-4,41)	3,97 (3,57-4,15)
VD (g)	0,24 (0,21-0,26)	0,36 (0,30-0,43)*	0,34 (0,30-0,50)*
VD/PC (mg/g)	0,43 (0,41-0,45)	0,71 (0,52-0,86)*	0,65 (0,56-0,94)*
VD (U/S)	3,91 (3,77-4,22)	4,38 (4,00-4,93)	4,20 (4,09-4,27)
Átrios (g)	0,10 (0,09-0,14)	0,15 (0,11-0,31)*	0,16 (0,14-0,19)*
Átrios/PC (mg/g)	0,19 (0,15-0,27)	0,32 (0,22-0,54)*	0,31 (0,24-0,40)*
Pulmão (g)	1,98 ± 0,68	2,98 ± 0,89*	2,64 ± 0,70
Pulmão/PC (mg/g)	3,65 (3,19-3,70)	5,18 (4,43-7,24)*	4,82 (3,77-5,27)
Pulmão (U/S)	4,49 (4,38-4,53)	4,28 (4,01-4,84)	4,50 (4,22-4,87)
Sóleo (g)	0,25 (0,23-0,27)	0,23 (0,20-0,25)	0,25 (0,21-0,27)
Sóleo/PC (mg/g)	0,46 ± 0,05	0,43 ± 0,07	0,48 ± 0,10

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. PC: peso corporal; VE: ventrículo esquerdo; VD: ventrículo direito; U/S: relação entre peso úmido e peso seco. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs Sham.

Avaliação da capacidade funcional e da força muscular

Teste de esforço

No teste de esforço inicial, os grupos infartados tiveram menor distância percorrida, tempo de permanência na esteira, e velocidade atingida que o grupo Sham. Ao final do estudo, não observamos diferenças entre os grupos (Figura 1).

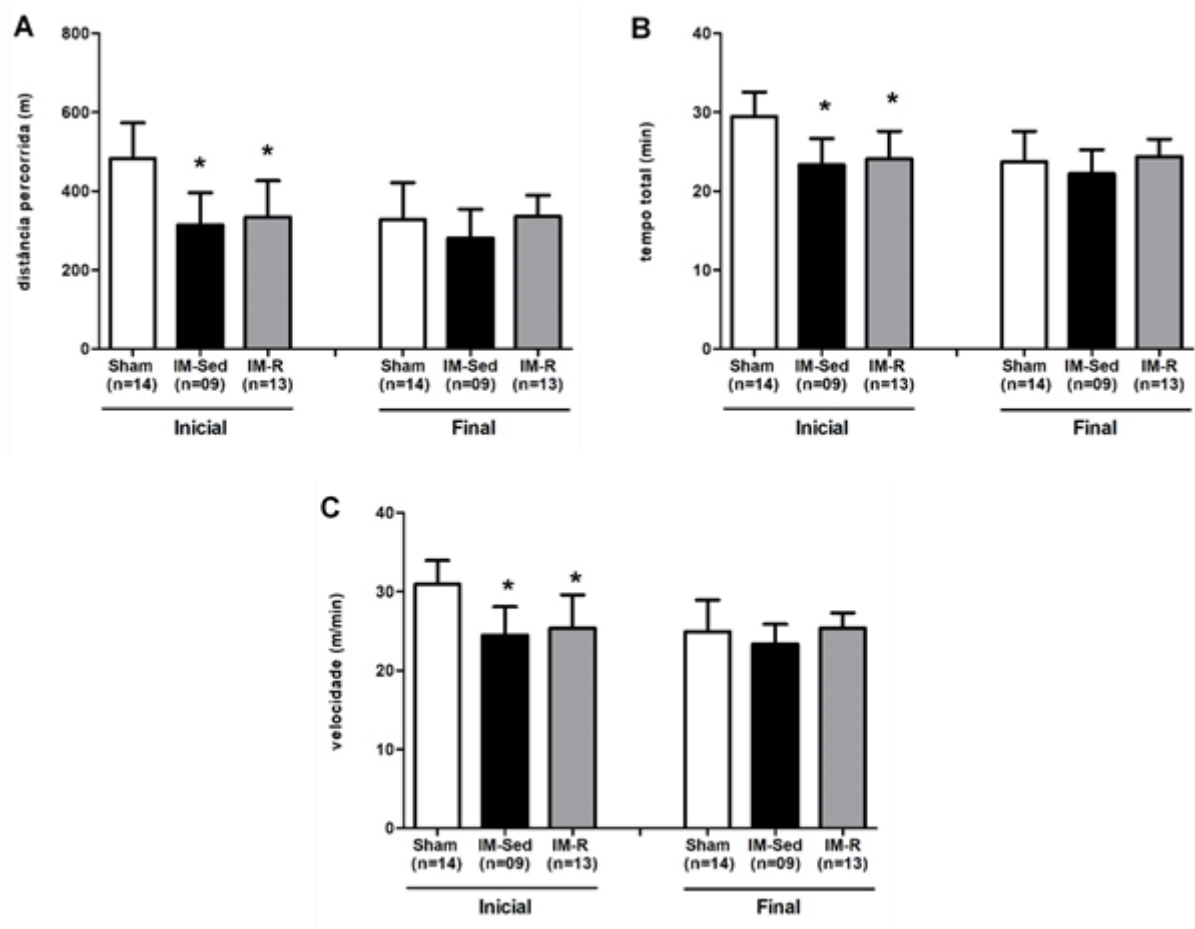


Figura 1. Teste de tolerância ao esforço em esteira antes (Inicial) e após (Final) 12 semanas de treinamento resistido. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido. A: distância total percorrida; B: tempo de permanência na esteira; C: velocidade máxima atingida; n: tamanho amostral. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs Sham.

Teste de Carga Máxima

Antes do treinamento, o grupo IM-Sed apresentou menor capacidade de carga máxima que o Sham. Ao final do período experimental, o grupo IM-R teve maior carga máxima que os grupos Sham e IM-Sed (Figura 2).

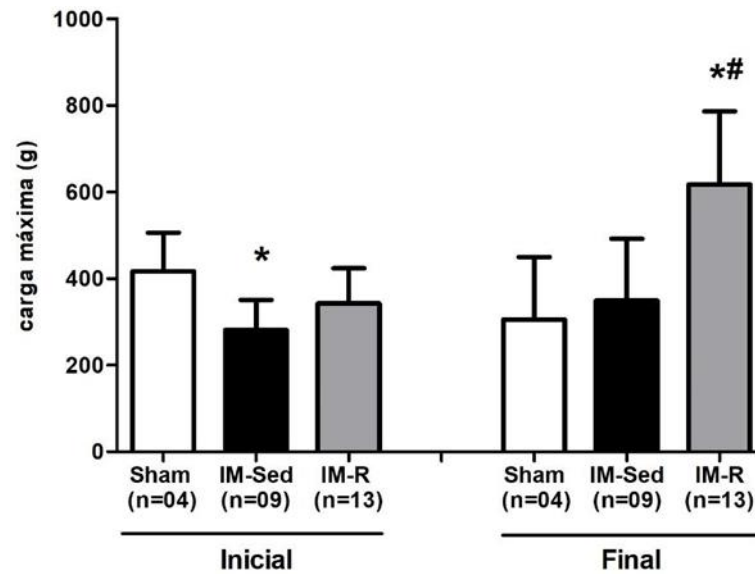


Figura 2. Teste de carga máxima antes (Inicial) e após (Final) 12 semanas de treinamento resistido. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs Sham; # $p < 0,05$ vs IM-Sed.

Avaliação ecocardiográfica

As variáveis cardíacas estruturais antes do treinamento estão apresentadas na Tabela 4. Os diâmetros diastólico e sistólico do VE, a espessura diastólica da parede posterior do VE, o diâmetro do átrio esquerdo, a massa do VE, e as áreas sistólica e diastólica do VE foram maiores em ambos os grupos infartados que no Sham. A porcentagem de variação da área do VE foi menor nos grupos infartados que no Sham. Não observamos diferenças significantes entre os grupos IM-R e IM-Sed.

Tabela 4 - Avaliação ecocardiográfica inicial dos parâmetros estruturais do coração.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=09)	IM-R (n=13)
PC (g)	471 ± 46,6	458 ± 42,7	447 ± 46,9
DDVE (mm)	7,97 (7,70-8,58)	10,4 (10,0-10,9)*	9,79 (9,63-10,4)*
DDVE/PC (mm/kg)	17,3 ± 1,39	23,2 ± 2,68*	22,8 ± 2,56*
DSVE (mm)	4,10 (3,81-4,30)	8,16 (7,99-8,62)*	7,89 (7,23-8,55)*
EDPP (mm)	1,33 (1,27-1,37)	1,65 (1,54-1,95)*	1,65 (1,49-1,74)*
Esp. rel. VE	0,33 (0,32-0,34)	0,30 (0,30-0,34)	0,32 (0,30-0,37)
AO (mm)	4,01 (3,83-4,01)	3,94 (3,78-4,01)	3,83 (3,61-4,01)
AE (mm)	5,29 (5,11-5,66)	7,66 (6,70-8,27)*	6,75 (6,27-7,41)*
AE/AO	1,35 (1,32-1,39)	1,94 (1,67-2,27)*	1,80 (1,55-1,99)*
AE/PC (mm/kg)	11,6 (10,4-12,3)	17,4 (13,9-19,5)*	15,34 (13,29-17,54)*
Massa VE (g)	0,71 (0,65-0,80)	1,53 (1,28-1,69)*	1,13 (1,08-1,63)*
Índice MVE (g/kg)	1,54 (1,46-1,66)	3,58 (2,70-3,95)*	2,74 (2,43-3,58)*
Área diástole (mm²)	44,2 ± 7,43	89,5 ± 14,7*	80,5 ± 14,3*
Área sístole (mm²)	15,6 (12,5-18,0)	61,6 (55,6-72,1)*	52,2 (43,1-58,9)*
% variação área	65,7 ± 5,52	28,6 ± 8,19*	33,7 ± 7,59*
Perímetro (mm)	sem infarto	36,3 ± 2,88	34,4 ± 3,03
Perímetro IM (mm)	sem infarto	15,0 ± 3,60	13,0 ± 2,97
% de área infartada	sem infarto	41,2 ± 7,61	37,6 ± 6,72

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral; PC: peso corporal; DDVE e DSVE: diâmetros diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo (VE), respectivamente; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do VE; Esp. rel. VE: espessura relativa do VE; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo; MVE: massa do VE; IM: infarto do miocárdio. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs Sham.

Após o período de treinamento físico, os grupos infartados apresentaram o mesmo padrão de remodelação cardíaca observado na avaliação inicial. Não foram observadas diferenças entre os grupos IM-R e IM-Sed (Tabela 5).

Tabela 5 - Avaliação ecocardiográfica final dos parâmetros estruturais do coração.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=09)	IM-R (n=13)
PC final (g)	552 (527-582)	531 (511-572)	526 (476-570)
DDVE (mm)	8,34 ± 0,43	11,1 ± 0,88*	10,9 ± 0,82*
DDVE/PC (mm/kg)	14,9 (14,3-15,7)	21,5 (18,5-22,2)*	20,8 (19,8-22,4)*
DSVE (mm)	4,09 ± 0,38	8,96 ± 1,33*	8,62 ± 1,16*
EDPP (mm)	1,42 (1,38-1,43)	1,80 (1,64-2,01)*	1,69 (1,60-1,73)*
Esp. rel. VE	0,34 (0,33- 0,35)	0,32 (0,30-0,36)	0,31 (0,28-0,32)*
AO (mm)	4,21 ± 0,15	4,01 ± 0,23	4,06 ± 0,27
AE (mm)	5,68 ± 0,46	8,23 ± 1,30*	7,80 ± 1,26*
AE/AO	1,38 (1,24-1,44)	2,22 (1,63-2,34)*	1,86 (1,78-2,23)*
AE/PC (mm/kg)	10,1 (9,21-11,1)	15,9 (12,0-17,5)*	14,6 (12,8-17,1)*
Massa VE (g)	0,87 (0,76-0,91)	1,66 (1,47-1,98)*	1,61 (1,39-1,78)*
Índice MVE (g/kg)	1,51 (1,45-1,59)	3,32 (2,75-3,97)*	3,06 (2,55-3,46)*
Área diástole (mm²)	49,2 (47,0-51,1)	89,9 (85,1-96,1)*	93,5 (79,9-105)*
Área sístole (mm²)	14,7 (14,1-17,7)	64,5 (55,6-72,3)*	59,5 (47,0-76,3)*
% variação área	68,2 ± 4,25	29,7 ± 8,92*	34,5 ± 12,2*
Perímetro (mm)	Sham	37,2 ± 2,86	36,9 ± 3,00
Perímetro IM (mm)	Sham	15,5 ± 3,73	13,5 ± 4,17
% de área infartada	Sham	41,2 ± 7,75	36,1 ± 9,44

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral; PC: peso corporal; DDVE e DSVE: diâmetros diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo (VE), respectivamente; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do VE; Esp. rel. VE: espessura relativa do VE; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo; MVE: massa do VE; IM: infarto do miocárdio. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p< 0,05 vs Sham.

Os índices de função sistólica do VE antes do treinamento estão mostrados na Tabela 6. Os grupos infartados apresentaram menor porcentagem de encurtamento endocárdico e mesocárdico, velocidade de encurtamento da parede posterior do VE, fração de ejeção e fração de variação da área, e maior índice de Tei que o grupo Sham. A velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral (S) foi menor no grupo IM-R que no Sham.

Tabela 6 - Avaliação ecocardiográfica inicial da função sistólica do ventrículo esquerdo.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=09)	IM-R (n=13)
FC (bpm)	292 ± 25,1	295 ± 26,1	276 ± 23,9
% enc. endoc.	49,3 ± 4,10	20,7 ± 6,20*	21,9 ± 6,24*
% enc. mesoc.	56,4 ± 3,58	31,4 ± 5,78*	32,4 ± 5,99*
VEPP (mm/s)	40,5 ± 5,58	24,5 ± 7,67*	28,6 ± 8,37*
Índice Tei	0,47 (0,44-0,53)	0,74 (0,63-0,89)*	0,76 (0,63-0,81)*
FE (%)	0,86 (0,84-0,89)	0,51 (0,43-0,57)*	0,50 (0,42-0,58)*
FVA (%)	65,7 ± 5,52	40,9 ± 10,29*	37,2 ± 9,13*
S' lateral (cm/s)	3,64 ± 0,28	3,26 ± 0,49	3,03 ± 0,43*
S' septal (cm/s)	3,32 ± 0,31	3,01 ± 0,28	2,76 ± 0,59*
S' média (cm/s)	3,48 ± 0,24	3,13 ± 0,36	2,90 ± 0,46*

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral; FC: frequência cardíaca; bpm: batimentos por minuto; % enc. endoc. e mesoc.: porcentagem de encurtamento endocárdico e mesocárdico, respectivamente; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE); Tei: índice de performance miocárdica; FE: fração de ejeção; FVA: fração de variação da área do VE; S': velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral das paredes lateral e septal e sua média. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs Sham.

O mesmo padrão de disfunção sistólica do VE foi observado ao final do protocolo experimental (Tabela 7). A onda S' septal e média foi menor nos grupos infartados que no Sham.

Tabela 7 - Avaliação ecocardiográfica final da função sistólica do ventrículo esquerdo.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=09)	IM-R (n=13)
FC (bpm)	280,15 ± 39,18	300,67 ± 32,26	292,15 ± 20,54
%enc.endoc.	51,03 ± 3,26	19,83 ± 6,27*	21,10 ± 6,45*
%enc.mesoc.	57,735 ± 2,35	30,60 ± 5,76*	31,19 ± 6,31*
VEPP (mm/s)	41,49 ± 6,18	25,41 ± 9,35*	27,96 ± 6,20*
Índice Tei	0,47 ± 0,06	0,62 ± 0,14*	0,66 ± 0,12*
FE	0,88 (0,87-0,90)	0,46 (0,40-0,54)*	0,53 (0,42-0,59)*
FVA (%)	68,22 ± 4,25	42,69 ± 9,33*	37,57 ± 10,50*
S' lateral (cm/s)	3,49 ± 0,46	3,07 ± 0,62	3,00 ± 0,54
S' septal (cm/s)	3,33 ± 0,33	2,53 ± 0,44*	2,85 ± 0,51*
S' média (cm/s)	3,41 ± 0,34	2,80 ± 0,49*	2,93 ± 0,45*

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral; FC: frequência cardíaca; bpm: batimentos por minuto; % enc. endoc. e mesoc.: porcentagem de encurtamento endocárdico e mesocárdico, respectivamente; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE); Tei: índice de performance miocárdica; FE: fração de ejeção; FVA: fração de variação da área do VE; S': velocidade máxima de deslocamento sistólico do anel mitral das paredes lateral e septal e sua média. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs Sham.

Os índices de função diastólica, avaliados antes e após o treinamento, estão apresentados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente. Não foram observadas diferenças entre os três grupos, exceto pelo aumento da onda E mitral no grupo IM-Sed em relação ao Sham antes do treinamento.

Tabela 8 - Avaliação ecocardiográfica inicial da função diastólica do ventrículo esquerdo.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=09)	IM-R (n=13)
E mitral (cm/s)	80,3 ± 7,53	99,1 ± 16,5*	88,5 ± 18,3
A mitral (cm/s)	47,0 (45,0-55,0)	44,0 (21,0-64,0)	42,0 (23,3-57,5)
E/A	1,65 (1,47-1,82)	2,02 (1,44-5,27)	1,63 (1,41-4,70)
TDE (ms)	48,0 (45,0-49,0)	39,0 (36,0-44,5)	43,0 (37,0-56,5)
TRIV (ms)	26,0 (22,0-26,0)	30,0 (25,5-33,0)	30,0 (25,0-32,3)
TRIV/R-R	54,8 ± 6,83	63,1 ± 10,7	62,0 ± 13,3
E' média (cm/s)	4,09 ± 0,66	4,10 ± 0,52	3,76 ± 0,50
E' lateral (cm/s)	3,96 ± 0,73	4,33 ± 0,86	3,75 ± 0,58
E' septal (cm/s)	4,23 ± 0,69	3,87 ± 0,61	3,77 ± 0,76
E/E' média	19,1 (17,7-21,7)	24,1 (21,4-25,1)	25,1 (19,8-26,6)
A' média (cm/s)	3,07 (2,65-3,74)	2,90 (2,50-4,05)	3,00 (2,55-3,50)
A' lateral (cm/s)	3,70 ± 1,06	3,32 ± 1,18	2,89 ± 0,71
A' septal (cm/s)	2,70 (2,37-3,27)	3,30 (2,40-4,50)	3,20 (2,70-3,70)
E'/A'	1,30 ± 0,40	1,35 ± 0,47	1,31 ± 0,38

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral; E: pico de velocidade do fluxo de enchimento mitral inicial; A: pico de velocidade do fluxo de enchimento mitral tardio; TDE: tempo de desaceleração da onda E mitral; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico; TRIV/R-R: TRIV normalizado para frequência cardíaca; E': pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral; A': pico de velocidade de deslocamento diastólico tardio do anel mitral. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs Sham.

Tabela 9 - Avaliação ecocardiográfica final da função diastólica do ventrículo esquerdo.

	Sham (n=14)	IM-Sed (n=09)	IM-R (n=13)
E mitral (cm/s)	77,0 (74,0-85,5)	102 (78,5-120)	77,5 (72,0-121)
A mitral (cm/s)	50,8 ± 14,8	38,6 ± 27,7	47,3 ± 20,8
E/A	1,71 (1,41-1,80)	4,27 (1,30-5,99)	1,41 (1,24-5,53)
TDE (ms)	49,0 (45,8-54,0)	33,0 (33,0-47,5)	39,5 (37,0-53,0)
TRIV (ms)	26,0 (22,0-29,0)	24,0 (22,0-33,0)	26,0 (23,0-31,5)
TRIV/R-R	52,7 (50,0-61,8)	57,0 (49,0-69,0)	59,3 (53,2-68,5)
E' média (cm/s)	3,99 ± 0,68	4,18 ± 0,76	3,92 ± 0,56
E' lateral (cm/s)	4,02 ± 0,84	4,39 ± 1,06	4,23 ± 1,11
E' septal (cm/s)	3,96 ± 0,61	3,97 ± 1,22	3,62 ± 0,94
E/E' média	21,1 (16,9-22,1)	22,5 (20,4-24,9)	21,8 (18,8-27,8)
A' média (cm/s)	3,88 ± 1,24	3,31 ± 1,34	3,83 ± 0,79
A' lateral (cm/s)	3,65 (2,70-4,90)	2,70 (2,30-2,90)	3,90 (3,30-4,35)
A' septal (cm/s)	3,80 ± 1,16	3,44 ± 1,31	3,75 ± 0,90
E'/A'	1,14 ± 0,44	1,38 ± 0,42	1,07 ± 0,30

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral; E: pico de velocidade do fluxo de enchimento mitral inicial; A: pico de velocidade do fluxo de enchimento mitral tardio; TDE: tempo de desaceleração da onda E mitral; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico; TRIV/R-R: TRIV normalizado para frequência cardíaca; E': pico de velocidade de deslocamento diastólico inicial do anel mitral; A': pico de velocidade de deslocamento diastólico tardio do anel mitral. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p<0,05 vs Sham.

Estudo histológico

Tamanho do infarto

O tamanho da área infartada não diferiu entre os grupos (IM-Sed 39,6 ± 5,95; IM-R 38,8 ± 6,52 % da área total do VE; P > 0,05; Figura 3).

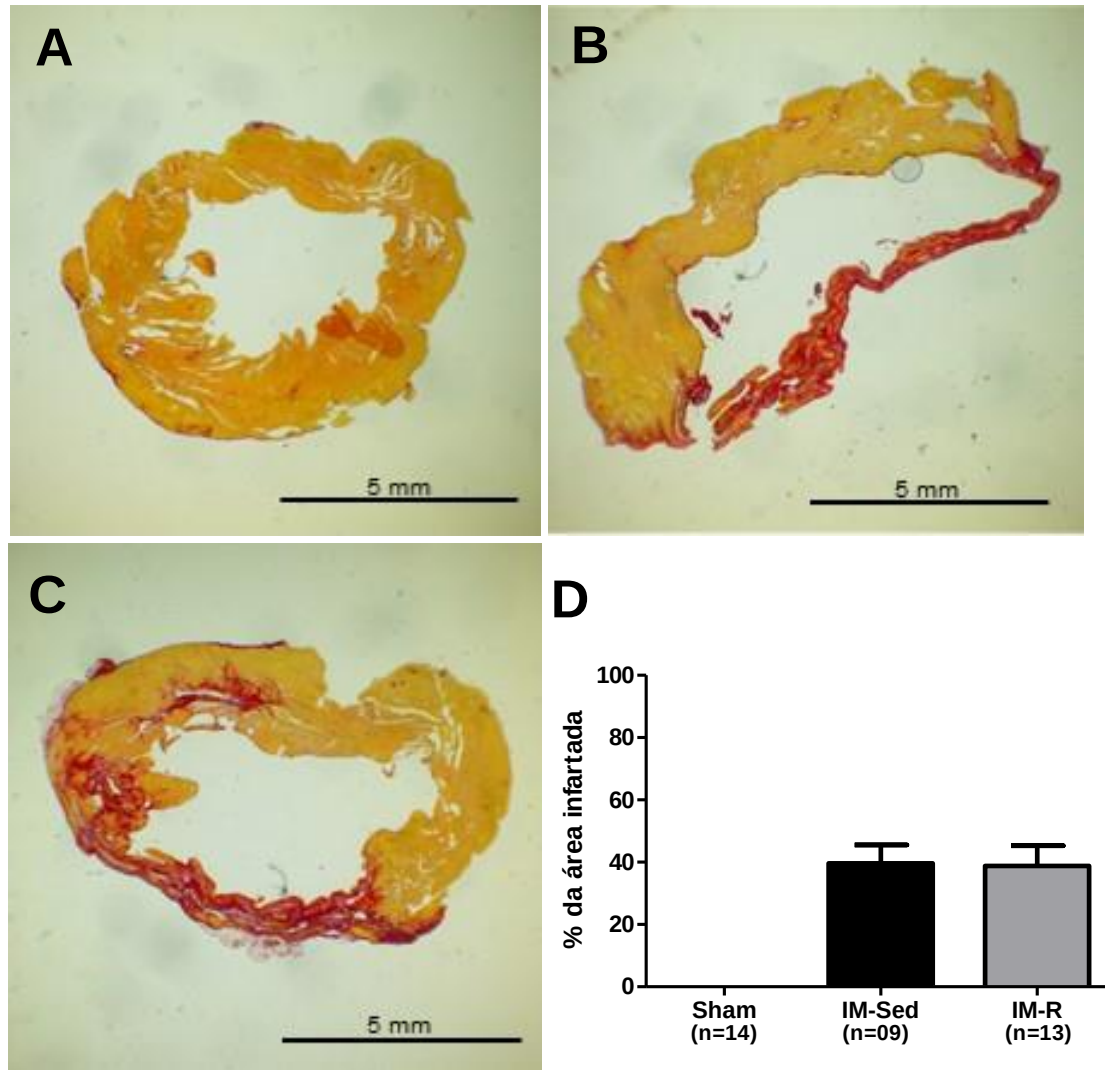


Figura 3. Cortes histológicos representativos do tamanho da área infartada do ventrículo esquerdo. Coloração: picosirius red. A: grupo controle (Sham); B: infarto do miocárdio (IM) sedentário (IM-Sed); C: IM submetido a exercício resistido (IM-R); D: porcentagem de área infartada do ventrículo esquerdo; n: tamanho amostral. Resultados expressos em média e desvio padrão.

Área seccional transversa do músculo esquelético

A área seccional das fibras do músculo sóleo não diferiu entre os grupos (Sham 4.494 ± 991 ; IM-Sed 4.117 ± 433 ; IM-R $4.414 \pm 1.004 \mu\text{m}^2$; $p > 0,05$; Figura 4).

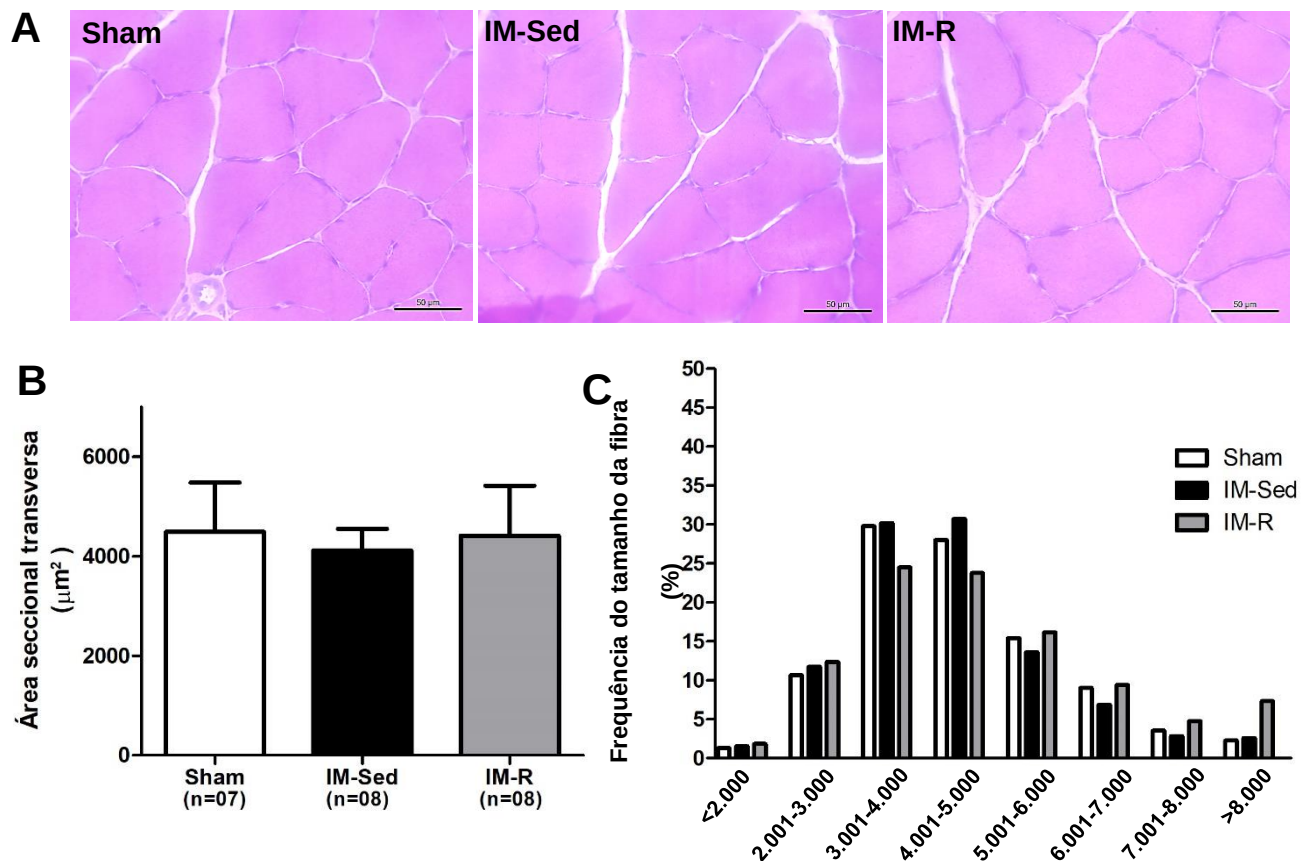


Figura 4.

A) Cortes histológicos representativos do músculo esquelético sóleo corados por hematoxilina e eosina. Objetiva: 40x. B) Área seccional transversa do músculo sóleo; n: tamanho amostral. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão; $p=0,66$. C) Distribuição da área seccional transversa das fibras musculares. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido.

Avaliação do estresse oxidativo

Atividade de enzimas antioxidantes

A atividade da catalase foi menor no grupo IM-Sed que no Sham (Sham $56,4 \pm 4,95$; IM-Sed: $39,8 \pm 10,0$; IM-R $46,7 \pm 6,83$ nmol/g de tecido) e a atividade da glutathione peroxidase foi menor no grupo IM-Sed que no IM-R e Sham (Sham $168 \pm 33,0$; IM-Sed $126 \pm 27,5$; IM-R $169 \pm 26,1$ nmol/mg de tecido). A superóxido dismutase não diferiu entre os grupos (Sham $16,9 \pm 1,17$; IM-Sed $17,6 \pm 2,40$; IM-R $15,4 \pm 1,37$ nmol/mg de proteína; Figura 5).

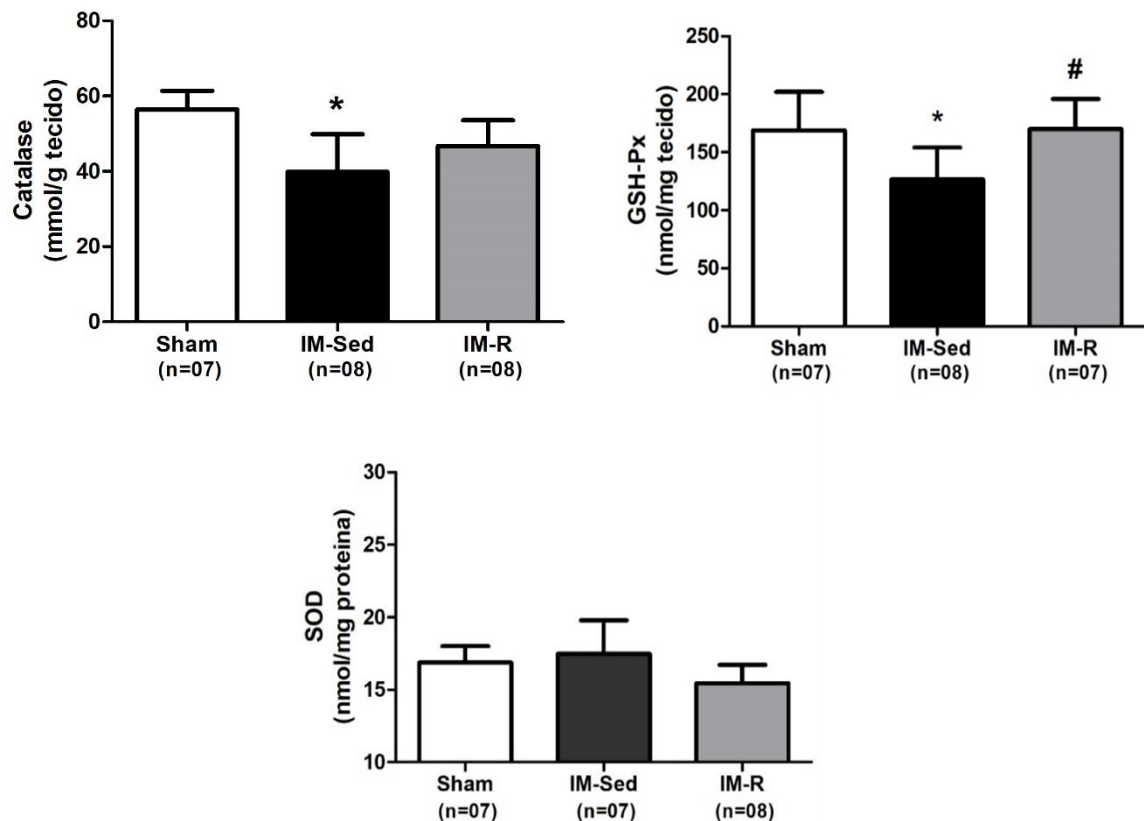


Figura 5. Atividade das enzimas antioxidantes catalase, glutatona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) no músculo sóleo. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs Sham; # $p < 0,05$ vs IM-Sed.

Marcadores de estresse oxidativo

A concentração muscular do hidroperóxido de lipídeo (Sham $106 \pm 16,5$; IM-Sed $121 \pm 12,9$; IM-R $109 \pm 14,2$ nmol/g de tecido) e a concentração sérica de malondialdeído [Sham $5,05$ ($4,77$ - $5,36$); IM-Sed $4,71$ ($3,72$ - $5,36$); IM-R $5,07$ ($3,50$ - $6,48$) $\mu\text{mol/mL}$] não diferiram entre os grupos (Figura 6 A e B). A concentração sérica de proteínas carboniladas foi maior no IM-R que no IM-Sed (Sham $3,17 \pm 0,11$; IM-Sed $2,99 \pm 0,14$; IM-R $3,21 \pm 0,15$ nmol/mg de proteína; Figura 6 C).

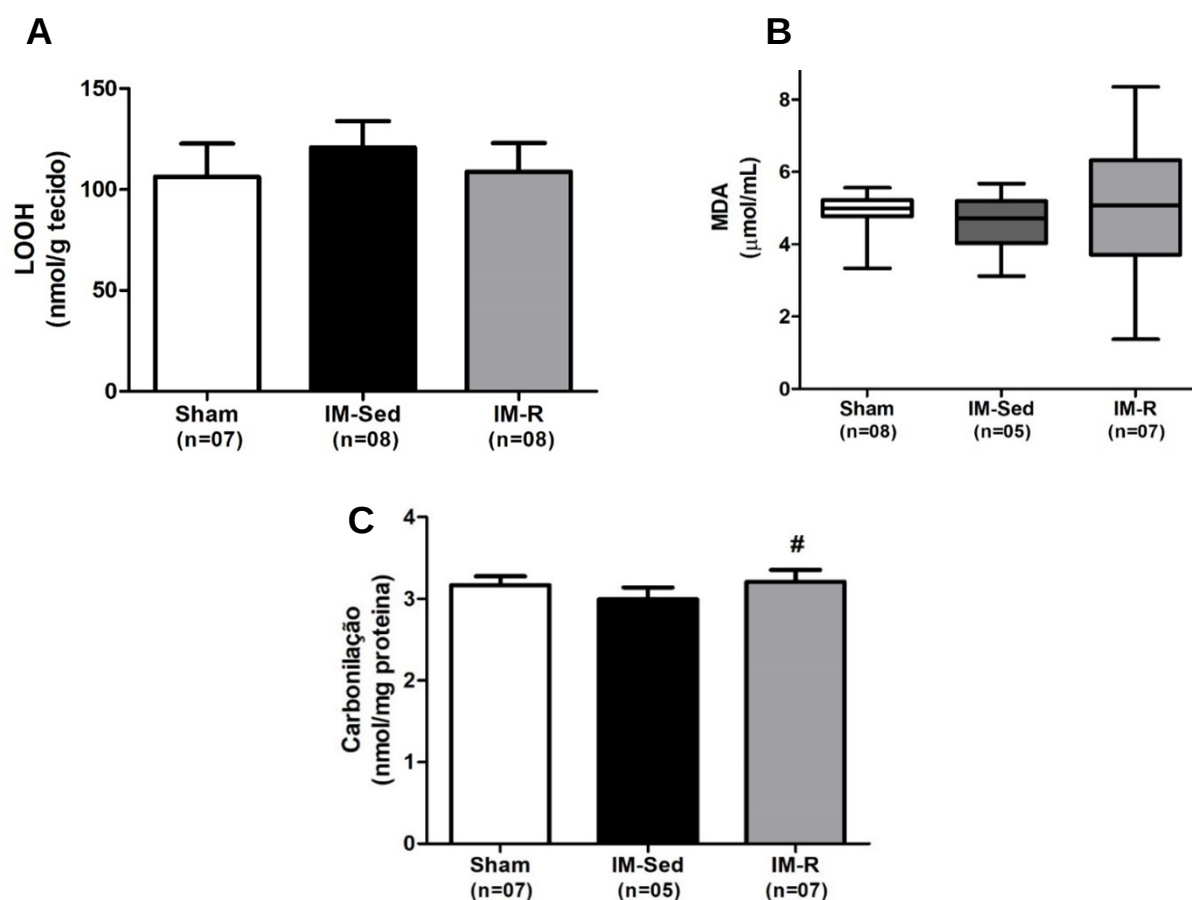


Figura 6. Marcadores de estresse oxidativo. A: Concentração de hidroperóxido de lipídeo (LOOH) no músculo sóleo; B: Concentração sérica de malondialdeído (MDA); C: Concentração sérica de proteínas carboniladas. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão ou mediana e percentis; ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; [#] $p < 0,05$ vs IM-Sed.

Avaliação do metabolismo energético

A atividade das enzimas que participam do metabolismo da glicose e de ácidos graxos no músculo sóleo não diferiu entre os grupos, exceto pela menor atividade da fosfofrutoquinase no grupo IM-R em relação ao IM-Sed (Tabela 10).

Tabela 10 - Atividade das enzimas envolvidas no metabolismo energético.

	Sham	IM-Sed	IM-R
PFK (nmol/min*g de proteína)	17,0 ± 2,21	21,4 ± 5,42	15,5 ± 4,12 [#]
PK (umol/min*g de proteína)	203 ± 32,2	187 ± 47,4	200 ± 42,7
LDH (nmol/min*g de proteína)	495 ± 136	525 ± 55,9	543 ± 133
CS (umol/min*g de proteína)	66,0 ± 8,02	66,1 ± 10,1	65,9 ± 9,67
CK (nmol/min*g de proteína)	29,5 ± 3,41	31,8 ± 4,31	28,7 ± 4,26
CPT1 (nmol/min*g de proteína)	2,47 ± 0,60	2,35 ± 0,32	2,54 ± 0,47

Dados expressos em média ± desvio padrão. Sham: grupo controle (n=07); IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário (n=08); IM-R: IM submetido a exercício resistido (n=07); PFK: fosfofrutoquinase; PK: piruvato quinase; LDH: lactato desidrogenase; CS: citrato sintase; CK: creatina quinase; CPT1: carnitina palmitoiltransferase 1 (CPT1). ANOVA e Bonferroni; [#] p< 0,05 vs IM-Sed.

Expressão proteica por Western Blot

Os resultados da expressão proteica estão apresentados na Tabela 11. A forma total da proteína p70s6K foi menor no grupo IM-Sed comparado ao grupo Sham (Figura 7). Esse mesmo comportamento foi observado com a forma fosforilada da FoxO3a que foi reduzida no grupo IM-Sed versus Sham (Figura 8). As demais proteínas não diferiram entre os grupos estudados.

A razão entre as formas fosforilada e total da p70s6K foi maior no grupo IM-Sed que no Sham (Figura 7) e da FoxO3a foi menor no IM-Sed que no Sham (Figura 8).

Tabela 11 - Expressão proteica.

		Sham (n=8)	IM-Sed (n=6)	IM-R (n=8)	p
IGF-1		1,00 ± 0,46	1,01 ± 0,78	0,73 ± 0,29	0,507
IGF-1R		1,00 ± 0,16	0,94 ± 0,28	0,69 ± 0,26	0,053
Akt	Fosforilada Ser473	1,00 ± 0,30	1,03 ± 0,24	0,78 ± 0,20	0,169
	Total	1,00 ± 0,48	0,69 ± 0,29	0,74 ± 0,19	0,218
	Fosforilada/Total	1,13 ± 0,41	1,66 ± 0,58	1,11 ± 0,38	0,070
mTOR	Fosforilada Ser2448	1,00 ± 0,41	0,63 ± 0,25	0,83 ± 0,48	0,273
	Total	1,14 ± 0,50	0,99 ± 0,70	0,94 ± 0,31	0,704
	Fosforilada/Total	0,89 (0,63-1,17)	0,69 (0,35-1,82)	0,77 (0,51-1,61)	0,838
p70s6K	Fosforilada Thr389	1,00 ± 0,19	0,87 ± 0,34	0,87 ± 0,35	0,642
	Total	1,00 ± 0,43	0,46 ± 0,32*	0,54 ± 0,29	0,038
	Fosforilada/Total	1,14 ± 0,48	2,29 ± 0,73*	1,97 ± 0,78	0,018
FoxO3a	Fosforilada Ser294	1,00 ± 0,33	0,34 ± 0,19*	0,87 ± 0,45	0,013
	Total	1,00 ± 0,47	0,60 ± 0,40	0,96 ± 0,41	0,202
	Fosforilada/Total	1,13 ± 0,43	0,43 ± 0,29*	0,94 ± 0,40	0,018

Dados expressos em média ± desvio padrão ou mediana e percentis. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo-1; IGF-1R: receptor de IGF-1; Akt: proteína quinase B; mTOR: complexo alvo da rapamicina; FoxO3a: fator de transcrição Forkhead tipo 3a. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs Sham.

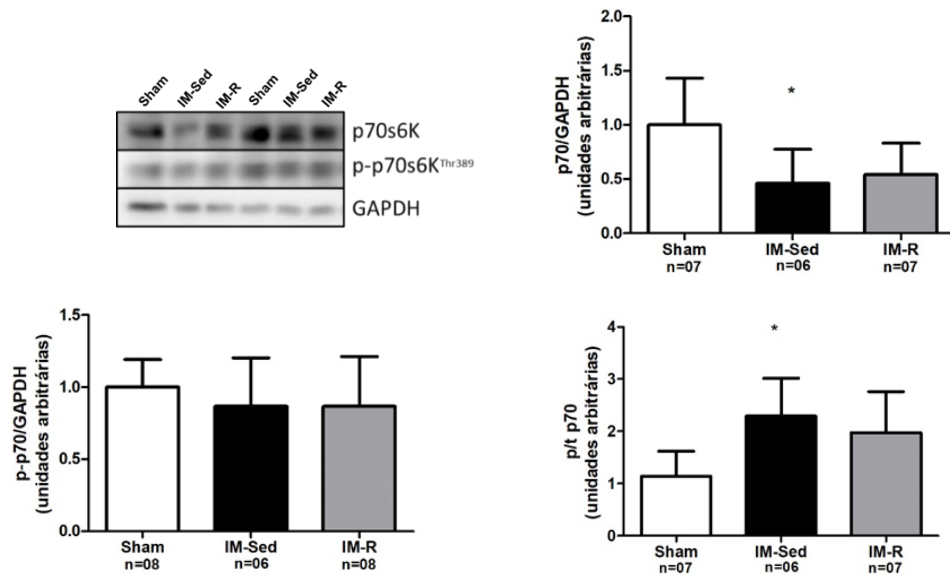


Figura 7. Expressão proteica da p70s6K em suas formas total e fosforilada (p) normalizadas pela expressão proteica do GAPDH e razão entre as formas fosforilada e total (p/t) no músculo sóleo. Técnica: Western blot. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs Sham.

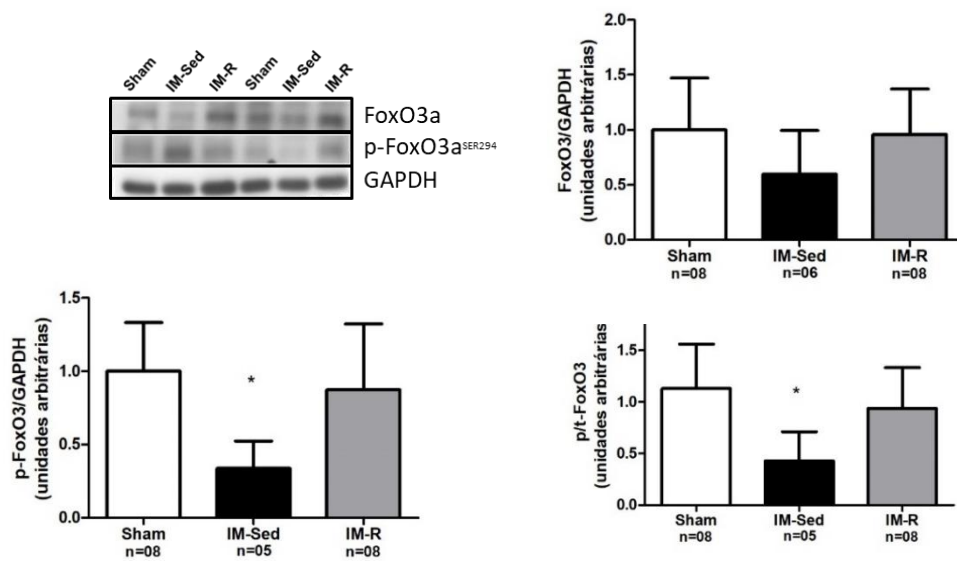


Figura 8. Expressão proteica da FoxO3a em suas formas total e fosforilada (p) normalizadas pela expressão proteica do GAPDH e razão entre as formas fosforilada e total (p/t) no músculo sóleo. Técnica: Western blot. Sham: grupo controle; IM-Sed: infarto do miocárdio (IM) sedentário; IM-R: IM submetido a exercício resistido; n: tamanho amostral. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs Sham

DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliamos a influência do exercício físico resistido sobre a capacidade funcional, a estrutura cardíaca e função do ventrículo esquerdo de ratos com infarto do miocárdio. Adicionalmente, analisamos o trofismo muscular, marcadores do metabolismo energético e do estresse oxidativo, e a expressão de proteínas envolvidas na via anabólica IGF-1/Akt/mTOR no músculo sóleo de ratos infartados.

O modelo experimental de infarto do miocárdio decorrente da ligadura da artéria coronária descendente anterior esquerda em ratos é amplamente utilizado para investigar a fisiopatologia e o tratamento da remodelação cardíaca⁷⁴⁻⁷⁶. É considerado um método prático, de custo relativamente baixo, com boa reprodutibilidade dos resultados^{77,78}. Contudo, uma das desvantagens do modelo é que a ligadura da artéria descendente anterior esquerda pode levar a diferentes tamanhos de IM e, conseqüentemente, a diferentes graus de injúria cardíaca e disfunção ventricular⁷⁸⁻⁸⁰.

Com o objetivo de avaliar ratos com graus homogêneos de injúria cardíaca, neste estudo foram incluídos apenas os animais que apresentaram infartos com tamanho igual ou superior a 30% da área total do ventrículo esquerdo. Antes do treinamento, os grupos IM-Sed e IM-R apresentaram tamanhos de infarto semelhantes, estimados por ecocardiograma transtorácico. Ao final do protocolo experimental, o tamanho do infarto foi reavaliado por ecocardiograma e confirmado por morfometria em lâminas histológicas do VE.

Ao final do estudo, ambos os grupos infartados apresentaram aumento do peso do ventrículo direito e átrios, em valores absolutos e normalizados pelo corporal, comparados ao grupo Sham. O grupo IM-Sed apresentou aumento do peso dos pulmões, em valores absolutos e normalizados pelo peso corporal, comparado ao grupo Sham. Essa alteração não foi observada no grupo IM-R. Aumento do peso dos pulmões tem sido considerado um indicador fidedigno de insuficiência cardíaca em ratos portadores de injúria cardíaca^{78,81,82}. Em estudo prévio, foi observado que o exercício resistido atenuou a congestão pulmonar de ratos infartados⁸³. Portanto, podemos sugerir que o treinamento resistido preveniu o desenvolvimento de edema pulmonar no grupo IM-R.

Após o infarto do miocárdio, inicia-se uma cascata progressiva de mudanças estruturais cardíacas e funcionais do ventrículo esquerdo que resulta em remodelação cardíaca e disfunção ventricular^{74,84}. Para analisar as alterações causadas pela injúria cardíaca, foi realizado ecocardiograma transtorácico. Após três meses da cirurgia, os ratos infartados foram

divididos em dois grupos de animais, IM-Sed e IM-R, constituídos por animais com tamanho de infarto e grau de comprometimento cardíaco semelhantes antes da intervenção do exercício resistido.

Decorridos seis meses da indução do infarto e três meses de exercício resistido, foi realizada nova avaliação ecocardiográfica. A remodelação cardíaca nos dois grupos de ratos infartados foi caracterizada por dilatação do átrio esquerdo e hipertrofia do ventrículo esquerdo, caracterizada por aumento dos diâmetros sistólico e diastólico, da espessura diastólica da parede posterior, da massa, e das áreas sistólica e diastólica. O tamanho do infarto não diferiu entre os grupos IM-Sed e IM-R. O exercício resistido não alterou o padrão de remodelação cardíaca.

Ao final do estudo, a disfunção ventricular sistólica foi evidente em ambos os grupos de ratos infartados, que apresentaram redução da porcentagem de encurtamento mesocárdico e endocárdico, da velocidade de encurtamento da parede posterior do VE, fração de ejeção, fração de variação da área do VE, e da onda S' (septal e média), e aumento do índice de Tei em relação ao grupo Sham. Não identificamos diferenças entre os grupos IM-Sed e IM-R. Em ratos que iniciaram exercício resistido incremental uma semana após indução de infarto, durante 10 semanas, foram observados atenuação da dilatação do VE e aumento da porcentagem de encurtamento e taxa máxima de contração e relaxamento ventricular ⁷⁵. Em nosso estudo, como o exercício resistido foi iniciado três meses após a indução do infarto, é possível que as alterações cardíacas já estivessem bem estabelecidas e, portanto, dificilmente reversíveis pelo treinamento físico resistido.

Durante o protocolo experimental, o grupo IM-Sed teve maior mortalidade que o Sham. Apesar de não termos observado diferença na mortalidade entre os grupos infartados, é possível que o treinamento resistido tenha reduzido a mortalidade dos ratos infartados. Estudos adicionais com maior número de ratos são necessários para estabelecer o efeito do treinamento resistido sobre a mortalidade no infarto do miocárdio.

A intolerância aos exercícios físicos está associada a diminuição da qualidade de vida e pior prognóstico da insuficiência cardíaca ^{18,85}. Para avaliar a capacidade funcional, foi realizado teste de esforço máximo em esteira, que é amplamente utilizado para determinar a resistência (tempo total percorrido), velocidade máxima atingida e distância total percorrida durante o teste ^{58,86}. Essas variáveis, em conjunto, indicam a capacidade funcional ^{79,87-90}. Três meses após a indução do infarto, os grupos infartados apresentaram redução das variáveis do

teste em relação ao Sham. Entretanto, ao final do protocolo de exercício resistido, não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais. Os resultados mostram que, apesar do grau importante de disfunção ventricular sistólica, a capacidade funcional foi preservada nos ratos infartados. A especificidade do exercício resistido pode ter contribuído para a falta de melhora da capacidade funcional no grupo IM-R.

Para determinar a carga do exercício resistido, foi realizado teste de carga máxima^{59,60}, que consiste no acoplamento de cargas incrementais na cauda do rato para a subida da escada. O movimento de escalada assemelha-se funcionalmente aos treinos resistidos realizados por humanos, com as ações dinâmicas musculares, caracterizadas pelas fases de contração concêntrica e excêntrica^{91,92}. O exercício resistido é considerado um componente importante em programas de condicionamento físico que visam melhorar a qualidade de vida, atuando no aumento de força muscular geral e na manutenção da massa muscular⁹³. Como esperado ao final de 12 semanas de treinamento, o grupo IM-R apresentou maior capacidade de carregamento máximo que os grupos Sham e IM-Sed, mostrando a eficiência do protocolo de exercício resistido.

O músculo esquelético sóleo é composto, em sua maioria, por fibras de contração lenta com metabolismo predominantemente oxidativo. Estudos em ratos infartados mostraram que o músculo sóleo é habitualmente sensível às alterações que caracterizam a miopatia associada à insuficiência cardíaca^{14,32,58}. Estudos em ratos que realizaram exercício resistido em escada mostraram que o músculo sóleo é altamente recrutado nos movimentos de escalada, sendo, portanto, considerado um bom músculo para avaliar os efeitos do exercício resistido⁹⁴.

Neste estudo, o peso do músculo sóleo e a área seccional transversa das fibras do sóleo não diferiram entre os grupos. Em estudos prévios de nosso laboratório^{14,95} e da literatura^{54,58}, foi observada redução da área seccional das fibras do sóleo após infarto do miocárdio. Neste estudo, podemos sugerir que, apesar do grau evidente de disfunção ventricular, os ratos ainda se encontravam em fase de remodelação cardíaca compensada, hemodinamicamente estável, e sem insuficiência cardíaca.

A próxima etapa deste estudo foi avaliar a influência do exercício resistido sobre a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, que compõem o principal sistema endógeno de defesa antioxidante frente ao aumento das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio⁹⁶. A superóxido dismutase representa a primeira

defesa contra o ânion radical superóxido, catalisando a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em presença do íon H^+ . A catalase, por sua vez, catalisa a formação de água e oxigênio a partir de H_2O_2 formado pela reação da superóxido dismutase. Já a atividade da glutathione peroxidase é dependente de sua capacidade de reagir com H_2O_2 e peróxidos orgânicos pela oxidação da glutathione reduzida a glutathione oxidada ⁹⁷.

Neste estudo, observamos que a atividade da catalase foi menor no grupo IM-Sed que no Sham e a atividade da GSH-Px foi menor no grupo IM-Sed que nos grupos IM-R e Sham. Atividade reduzida dessas enzimas no músculo esquelético após infarto do miocárdio já havia sido previamente observada em estudos clínicos e experimentais ^{32,35,58}. Neste estudo, mostramos que o exercício resistido foi capaz de preservar a atividade da catalase e da glutathione peroxidase. Este resultado foi semelhante ao encontrado por Cai e colaboradores ⁵⁴, em estudo no qual o exercício resistido foi iniciado uma semana após a indução do infarto. Portanto, podemos concluir que o exercício físico resistido, independentemente do período de início, pode melhorar a atividade do sistema antioxidante endógeno da musculatura esquelética após o infarto do miocárdio.

Neste estudo, avaliamos dois marcadores sistêmicos de estresse oxidativo, a concentração sérica de malondialdeído e de proteínas carboniladas. A concentração de malondialdeído não diferiu entre os grupos. Entretanto, a carbonilação de proteínas foi maior no grupo IM-R que no IM-Sed. A carbonilação de proteínas é definida como uma modificação pós-traducional irreversível que resulta na adição de fração carbonil reativa na estrutura da proteína ⁹⁸. O malondialdeído e a carbonilação de proteínas têm sido amplamente utilizados para avaliar alterações induzidas pelo exercício no equilíbrio entre os sistemas antioxidantes e a produção de espécies reativas de oxigênio ⁹⁹. Em indivíduos saudáveis, o exercício físico induz aumento discreto das espécies reativas de oxigênio, que por sua vez, leva a adaptações benéficas ao regular positivamente os sistemas antioxidantes celulares e estimular os sistemas de reparo de danos oxidativos ^{37,54,100}. Em relação ao exercício resistido, sua prática pode induzir alterações no balanço redox caracterizadas por aumento em biomarcadores oxidantes com duração de até quatro dias após o exercício em humanos ¹⁰⁰. Em nosso estudo, o aumento da carbonilação de proteínas pode ser considerado um estímulo sistêmico para indução de sistemas antioxidantes. Como avaliamos a concentração sérica das proteínas carboniladas, estudos adicionais são necessários para determinar se o músculo esquelético é responsável pelo aumento da carbonilação de proteínas.

O estresse oxidativo muscular foi avaliado pela concentração de hidroperóxido de lipídeo no músculo sóleo, que não diferiu entre os três grupos. Resultado semelhante foi encontrado por Martinez et al.³² em ratos infartados. A peroxidação lipídica é causada por uma espécie reativa de oxigênio, geralmente o radical hidroxil, que abstrai um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado e deixa um elétron desemparelhado no carbono, caracterizando a etapa de iniciação do processo de lipoperoxidação. A seguir, ocorre a fase de propagação, na qual há formação do radical peroxil (LOO•), que é capaz de retirar um átomo de H⁺ do ácido graxo adjacente gerando, assim, o hidroperóxido de lipídeo. Nas células, a lipoperoxidação pode levar a degeneração e perda de função de proteínas da membrana, prejudicando funções essenciais como a atividade de enzimas intrínsecas e transportadores de ATP¹⁰¹.

Os dados referentes ao balanço oxidativo nos permitem levantar a hipótese que o exercício resistido, ao aumentar a concentração sérica de proteínas carboniladas, estimula a atividade muscular das enzimas anti-oxidantes catalase e glutathione peroxidase.

O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas a oxigênio e os sistemas antioxidantes tem papel importante na regulação da homeostase do metabolismo celular^{102,103}. Sob concentrações intracelulares elevadas, as espécies reativas de oxigênio diminuem a atividade do ciclo do ácido cítrico, favorecendo o metabolismo de carboidratos^{104,105}. Neste estudo avaliamos a atividade máxima de enzimas-chave envolvidas no metabolismo da glicose (fosfofrutoquinase e piruvato quinase), da via anabólica (lactato desidrogenase), do ciclo do ácido cítrico e aeróbio (citrato sintase), e da oxidação dos ácidos graxos (carnitina palmatoiltransferase 1), e um marcador de dano tecidual (creatina quinase).

O músculo esquelético é capaz de adaptar seu metabolismo frente a estímulos diversos como o exercício físico, sendo modulado pelo tipo e intensidade da atividade e disponibilidade de nutrientes, e autorregulado conforme a taxa de utilização da glicose^{106,107}. Nas fases iniciais do exercício de intensidade progressiva, a demanda energética é satisfatoriamente suprida por mecanismos oxidativos (ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa), por meio da degradação preferencial de ácidos graxos. No entanto, a produção de energia por estes mecanismos é dependente da contínua conversão de glicogênio a oxaloacetato para formar citrato. A conversão de glicogênio a oxaloacetato controla diretamente a oxidação do acetil-CoA derivado tanto do piruvato de fontes de carboidratos como de ácidos graxos¹⁰⁸.

Dentre as enzimas da via glicolítica, a fosfofrutoquinase é a enzima que limita a taxa da glicólise e catalisa a conversão de frutose-6-fosfato em 1,6-bifosfato de frutose na fase preparatória da glicólise ¹⁰⁹. A piruvato quinase catalisa a última reação da fase final da glicólise. A citrato sintase é uma transferase que controla o primeiro passo do ciclo do ácido cítrico e catalisa a reação de condensação de um resíduo de acetato contendo dois carbonos e uma acetil-CoA com a molécula de oxaloacetato contendo quatro carbonos para formar um citrato de seis carbonos ¹¹⁰. A lactato desidrogenase catalisa a interconversão de piruvato e lactato, que são metabólitos críticos do combustível do músculo esquelético, particularmente durante o exercício ¹¹¹. A carnitina palmitoil transferase-1 tem papel de mediação do transporte lipídico mitocondrial atuando na oxidação dos ácidos graxos e na geração de energia celular ¹¹². Neste estudo, o metabolismo energético não diferiu entre os grupos, exceto pela menor atividade da fosfofrutoquinase no grupo IM-R em relação ao IM-Sed.

Finalmente, analisamos a expressão de proteínas da via anabólica do fator de crescimento semelhante a insulina tipo-1 (IGF-1)/proteína quinase B (Akt)/complexo 1 alvo da rapamicina (mTOR). Analisamos, especificamente, a expressão das proteínas IGF-1, IGF-1 receptor, Akt, mTOR, p70s6K e FoxO3a (fator de transcrição da forkhead box), que é inibida pela fosforilação da Akt.

A expressão do IGF-1 e IGF-1R não diferiu entre os grupos experimentais. O IGF-1 pode suprimir a quebra de proteínas e promover o crescimento muscular. Para mediar tais ações, ele deve ligar-se e ativar seu receptor ^{113,114}. O IGF-1R é membro da família de tirosina quinases receptoras e é composto por um heterotetrâmero de membrana. Cada hemi-receptor possui duas subunidades ligadas covalentemente, α e β ¹¹⁵. As subunidades α são extracelulares e contêm os locais de ligação ao ligante, enquanto as subunidades β contêm o domínio intracelular com um aglomerado de resíduos de tirosina que, após ativação do receptor, são fosforilados, recrutando proteínas de substrato e mediando a sinalização desta via ^{116,117}. Nossos resultados diferem daqueles do estudo de Cai et al. ⁵⁴, que observaram aumento da expressão muscular do IGF-1 em ratos submetidos a exercício resistido iniciado precocemente após infarto do miocárdio. Provavelmente, os resultados divergentes são decorrentes do período de início do protocolo de exercício, se precoce ou tardiamente após a indução do infarto.

Após o acoplamento do IGF-1 ao seu receptor ocorre uma cascata de eventos moleculares como, por exemplo, a ativação da Akt. Essa proteína estimula a síntese proteica ativando a mTOR. Por sua vez, a mTOR está envolvida no controle de várias funções celulares

como a síntese proteica e a autofagia ¹¹⁸. Nossos resultados mostraram que Akt e mTOR não se alteraram mediante o infarto do miocárdio e o exercício resistido. Aumento da razão entre forma fosforilada e forma total da Akt foi observada no músculo sóleo de ratos infartados, tanto sedentários como submetidos a exercício resistido precocemente ⁵⁴. Em ratos saudáveis, exercício resistido de diferentes intensidades induziu aumento da fosforilação da mTOR, indicando a participação dessa proteína no ganho de massa muscular ¹¹⁹.

A seguir, investigamos a proteína p70s6K, que é a parte final da via IGF-1/Akt/mTOR. Observamos redução da sua forma total, com aumento da razão entre as formas fosforilada e total no grupo IM-Sed em relação ao Sham. Em ratos saudáveis, o exercício resistido promove aumento da expressão muscular p70s6K, que parece contribuir para o aumento da massa muscular ^{119,120}. Em nosso estudo, a menor expressão da p70s6K não foi associada a atrofia muscular provavelmente porque a forma fosforilada da proteína ainda encontrava-se preservada. É possível que a redução de sua expressão seja uma alteração precoce, que precede o desenvolvimento de atrofia muscular. O exercício resistido preservou a expressão desta proteína.

A fosforilação da Akt inibe ou atenua o sistema catabólico induzindo a fosforilação da FoxO3 ¹²¹. A FoxO3 é um fator de transcrição que pertence à família FoxO (do inglês Forkhead Box subgroup O). Na musculatura esquelética, pode ser encontrada em três isoformas: FoxO1, FoxO3 e FoxO4, que regulam a expressão de genes envolvidos no ciclo celular, e participam da reparação de danos ao DNA, resistência ao estresse oxidativo, metabolismo energético e apoptose ¹²². No músculo esquelético, a FoxO3 é conhecida por induzir a atrofia por meio da transcrição de moléculas relacionadas à proteólise muscular como a muscle-specific RING finger protein 1 (MuRF-1) e atrogin-1 (também conhecida como muscle atrophy F-box protein, MAFbx) ^{123,124}. A FoxO3 atua no núcleo celular; quando fosforilada, mediante atividade da Akt, se transloca para o citoplasma e perde sua ação de transcrição dos genes MuRF-1 e Atrogin-1 ^{121,125}.

Neste estudo, o grupo IM-Sed teve redução da expressão da forma fosforilada da FoxO3 e da razão entre as formas fosforilada e total em relação ao grupo Sham. Na remodelação cardíaca, o aumento de neurohormônios como angiotensina e aldosterona está associado ao desenvolvimento de atrofia muscular e caquexia cardíaca ¹⁸. Os resultados deste estudo nos permite levantar a hipótese que a preservação da massa muscular no IM-Sed foi decorrente, pelo menos em parte, da redução da forma fosforilada da FoxO3. Em humanos, o

exercício resistido agudo reduziu a expressão gênica da FoxO3 no músculo esquelético ¹²⁶. Em camundongos com insuficiência cardíaca induzida por mutação no gene da troponina cardíaca T, verificou-se aumento da atividade da FoxO3 no músculo esquelético e miopatia esquelética ¹²⁷. Estes dados sugerem papel importante da FoxO3 no desenvolvimento de alterações da musculatura esquelética. Em nosso estudo, o exercício resistido promoveu a preservação dessa via de catabolismo muscular. Não identificamos estudos que tenham avaliado a expressão proteica da FoxO3 em modelos de infarto do miocárdio e exercício resistido.

CONCLUSÃO

O exercício físico resistido em ratos com infarto do miocárdio é seguro, atenua a mortalidade, e melhora a capacidade de carregamento máximo independentemente de alterações na estrutura cardíaca e função ventricular esquerda. No músculo sóleo, o exercício resistido preserva a atividade de enzimas anti-oxidantes e da fosfofrutoquinase e a expressão de proteínas envolvidas no trofismo muscular.

REFERÊNCIAS

1. Joseph P, Leong D, McKee M, Anand SS, Schwalm JD, Teo K, et al. Reducing the global burden of cardiovascular disease, part 1: The epidemiology and risk factors. *Circ Res*. 2017;121(6):677–94.
2. WHO. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva. WHO. 2018
3. DATASUS (2017). Disponível em <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>> Acesso em 27 de novembro de 2019.
4. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Circulation ESC / ACC / AHA / WHF EXPERT CONSENSUS DOCUMENT Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation*. 2018. 1–34 p.
5. Wilson JR, Mancini DM, Dunkman WB. Exertional fatigue due to skeletal muscle dysfunction in patients with heart failure. *Circulation*. 1993;87(2):470–5.
6. Williams AD, Selig S, Hare DL, Hayes A, Krum H, Patterson J, et al. Reduced exercise tolerance in CHF may be related to factors other than impaired skeletal muscle oxidative capacity. *J Card Fail*. 2004;10(2):141–8.
7. Mancini DM, McCully KK, Wilson JR, Walter G, Mullen JL, Reichek N, et al. Contribution of skeletal muscle atrophy to exercise intolerance and altered muscle metabolism in heart failure. *Circulation*. 2012;85(4):1364–73.
8. Harrington D, Anker SD, Coats AJS. Preservation of exercise capacity and lack of peripheral changes in asymptomatic patients with severely impaired left ventricular function. *Eur Heart J*. 2001;22(5):392–9.
9. Agapitou V, Dimopoulos S, Kapelios C, Karatzanos E, Manetos C, Georgantas A, et al. Hormonal imbalance in relation to exercise intolerance and ventilatory inefficiency in chronic heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2013;32(4):431–6.
10. Coats AJS. Origin of symptoms in patients with cachexia with special reference to weakness and shortness of breath. *Int J Cardiol*. 2002;85(1):133–9.
11. von Haehling S. The wasting continuum in heart failure: from sarcopenia to cachexia. *Proc Nutr Soc*. 2015;74(4):367–77.

12. Lima ARR, Martinez PF, Damatto RL, Cezar MDM, Guizoni DM, Bonomo C, et al. Heart failure-induced diaphragm myopathy. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(2):333–45.
13. Carvalho RF, Cicogna AC, Rocha Campos GE, Fogaça De Assis JM, Padovani CR, Okoshi MP, et al. Myosin heavy chain expression and atrophy in rat skeletal muscle during transition from cardiac hypertrophy to heart failure. *Int J Exp Pathol*. 2003;84(4):201–6.
14. Lima ARR, Martinez PF, Okoshi K, Guizoni DM, Zornoff LAM, Campos DHS, et al. Myostatin and follistatin expression in skeletal muscles of rats with chronic heart failure. *Int J Exp Pathol*. 2010;91(1):54–62.
15. Damatto RL, Martinez PF, Lima ARR, Cezar MDM, Campos DHS, Oliveira Junior SA, et al. Heart failure-induced skeletal myopathy in spontaneously hypertensive rats. *Int J Cardiol*. 2013;167(3):698–703.
16. Cunha TF, Bechara LRG, Bacurau AVN, Jannig PR, Voltarelli VA, Dourado PM, et al. Exercise training decreases NADPH oxidase activity and restores skeletal muscle mass in heart failure rats. *J Appl Physiol*. 2017;122(4):817–27.
17. Bacurau AVN, Jannig PR, De Moraes WMAM, Cunha TF, Medeiros A, Barberi L, et al. Akt/mTOR pathway contributes to skeletal muscle anti-atrophic effect of aerobic exercise training in heart failure mice. *Int J Cardiol*. 2016;214:137–47.
18. Okoshi MP, Capalbo RV, Romeiro FG, Okoshi K. Cardiac Cachexia: Perspectives for Prevention and Treatment. *Arq Bras Cardiol*. 2016;1–7.
19. Kinugawa S, Takada S, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H. Skeletal Muscle Abnormalities in Heart Failure. *Int Heart J*. 2015;56(5):475–84.
20. Drexler H, Münzel T, König H, Funke E, Just H, Riede U. Alterations of skeletal muscle in chronic heart failure. *Circulation*. 1992;85(5):1751–9.
21. Tsuda M, Fukushima A, Matsumoto J, Takada S, Kakutani N, Nambu H, et al. Protein acetylation in skeletal muscle mitochondria is involved in impaired fatty acid oxidation and exercise intolerance in heart failure. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2018;9(5):844–59.

22. Ventura-Clapier R. Exercise training, energy metabolism, and heart failure. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(3):336–9.
23. Garnier A, Fortin D, Zoll J, N’Guessan B, Mettauer B, Lampert E, et al. Coordinated changes in mitochondrial function and biogenesis in healthy and diseased human skeletal muscle. *FASEB J*. 2005;19(1):43–52.
24. Saccà L. Heart failure as a multiple hormonal deficiency syndrome. *Circ Hear Fail*. 2009;2(2):151–6.
25. Jankowska EA, Biel B, Majda J, Szklarska A, Lopuszanska M, Medras M, et al. Anabolic deficiency in men with chronic heart failure: Prevalence and detrimental impact on survival. *Circulation*. 2006;114(17):1829–37.
26. Ciccoira M, Kalra PR, Anker SD. Growth hormone resistance in chronic heart failure and its therapeutic implications. *J Card Fail*. 2003;9(3):219–26.
27. Petretta M, Colao A, Sardu C, Scopacasa F, Marzullo P, Pivonello R, et al. NT-proBNP, IGF-I and survival in patients with chronic heart failure. *Growth Horm IGF Res*. 2007;17(4):288–96.
28. Anker SD, Volterrani M, Pflaum CD, Strasburger CJ, Osterziel KJ, Doehner W, et al. Acquired growth hormone resistance in patients with chronic heart failure: Implications for therapy with growth hormone. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(2):443–52.
29. Niebauer J, Pflaum CD, Clark AL, Strasburger CJ, Hooper J, Poole-Wilson PA, et al. Deficient insulin-like growth factor I in chronic heart failure predicts altered body composition, anabolic deficiency, cytokine and neurohormonal activation. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(2):393–7.
30. Rom O, Reznick AZ. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. *Free Radic Biol Med*. 2016;98:218–30.
31. Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, Oliveira SA, Damatto RL, Cezar MDM, et al. Modulation of MAPK and NF- κ B Signaling Pathways by Antioxidant Therapy in Skeletal Muscle of Heart Failure Rats. *Cell Physiol Biochem*. 2016;39(1):371–84.

32. Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, Junior SAO, Damatto RL, Cezar MDM, et al. Influence of N-acetylcysteine on oxidative stress in slow-twitch soleus muscle of heart failure rats. *Cell Physiol Biochem*. 2015;35(1):148–59.
33. Gomes MJ, Martinez PF, Campos DHS, Pagan LU, Bonomo C, Lima ARR, et al. Beneficial effects of physical exercise on functional capacity and skeletal muscle oxidative stress in rats with aortic stenosis-induced heart failure. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016.
34. Brum PC, Bacurau A V., Cunha TF, Bechara LRG, Moreira JBN. Skeletal myopathy in heart failure: Effects of aerobic exercise training. *Exp Physiol*. 2014;99(4):616–20.
35. Linke A, Adams V, Schulze PC, Erbs S, Gielen S, Fiehn E, et al. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: Increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation*. 2005;111(14):1763–70.
36. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative Stress and Heart Failure. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2011;13–15(301):H2181–90.
37. Gomes MJ, Martinez PF, Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDDM, Lima ARR, et al. Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise. *Oncotarget*. 2017;8(12):20428–40.
38. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(16):e147–239.
39. Ponikowski A del G de TP, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69(12):1167.-1167.
40. Bocchi E, MArcondes-Braga F, Bacal F, Ferraz A, Albuquerque D, Rodrigues D. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica - 2012. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(1 supl. 1):1–33.
41. Sullivan M, Higginbotham M, Coob F. Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction. Hemodynamic and metabolic effects. *Circulation*.

- 1988;78(3 I):506–15.
42. Belardinelli R, Georgiou D, Cianci G, Purcaro A. Randomized, controlled trial of long-term moderate exercise training in chronic heart failure: Effects on functional capacity, quality of life, and clinical outcome. *Circulation*. 1999;99(9):1173–8243.
 43. O'Connor CM, Whellan DJ, Lee KL, Keteyian SJ, Cooper LS, Ellis SJ, et al. Efficacy and Safety of Exercise Training in Patients With Chronic Heart Failure. *Jama*. 2009;301(14):1439.
 44. Palau P, Núñez E, Domínguez ELOY, Sanchis J, Núñez JULIO. Physical therapy in heart failure with preserved ejection fraction: A systematic review. *Eur J Prev Cardiol*. 2016;23(1):4–13.
 45. Mandic S, Myers J, Selig SE, Levinger I. Resistance versus aerobic exercise training in chronic heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2012;9(1):57–64.
 46. Poole DC, Hirai DM, Copp SW, Musch TI. Muscle oxygen transport and utilization in heart failure: implications for exercise (in)tolerance. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2012;302(5):H1050–63.
 47. Jewiss D, Ostman C, Smart NA. The effect of resistance training on clinical outcomes in heart failure: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2016;221:674–81.
 48. Giuliano C, Karahalios A, Neil C, Allen J, Levinger I. The effects of resistance training on muscle strength, quality of life and aerobic capacity in patients with chronic heart failure - A meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2017;227:413–23.
 49. Williams MA, Haskell WL, Ades PA, Amsterdam EA, Bittner V, Franklin BA, et al. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: A scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2007;116(5):572–84.
 50. Claudio A, Rodrigues R, Castro T De, Negrão CE, Stein R, Serra SM, et al. Diretriz de Reabilitação Cardíaca. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84(5):431–40.
 51. Levinger I, Bronks R, Cody D V., Linton I, Davie A. Resistance training for

- chronic heart failure patients on beta blocker medications. *Int J Cardiol.* 2005;102(3):493–9.
52. Magnusson G, Gordon A, Kaijser L, Sylvén C, Isberg B, Karpakka J, et al. High intensity knee extensor training, in patients with chronic heart failure. Major skeletal muscle improvement. *Eur Heart J.* 1996;17(7):1048–55.
 53. Pu CT, Johnson MT, Forman DE, Hausdorff JM, Roubenoff R, Foldvari M, et al. Randomized trial of progressive resistance training to counteract the myopathy of chronic heart failure. *J Appl Physiol.* 2001;90(6):2341–50.
 54. Cai M, Wang Q, Liu Z, Jia D, Feng R, Tian Z. Effects of different types of exercise on skeletal muscle atrophy, antioxidant capacity and growth factors expression following myocardial infarction. *Life Sci.* 2018;213:40–9.
 55. Guizoni DM, Oliveira-Junior SA, Noor SLR, Pagan LU, Martinez PF, Lima ARR, et al. Effects of late exercise on cardiac remodeling and myocardial calcium handling proteins in rats with moderate and large size myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2016;221:406–12.
 56. Damatto RL, Lima ARR, Martinez PF, Cezar MDM, Okoshi K, Okoshi MP. Myocardial myostatin in spontaneously hypertensive rats with heart failure. *Int J Cardiol.* 2016;215:384–7.
 57. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LAM, Oliveira SA, Campos DHS, Lima ARR, et al. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol.* 2011;111(2):543–51.
 58. Moreira JBN, Bechara LRG, Bozi LHM, Jannig PR, Monteiro AWA, Dourado PM, et al. High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *J Appl Physiol.* 2013;114(8):1029–41.
 59. Cassilhas RC, Reis IT, Venâncio D, Fernandes J, Tufik S, De Mello MT. Animal model for progressive resistance exercise: A detailed description of model and its implications for basic research in exercise. *Motriz Rev Educ Fis.* 2013;19(1):178–84.
 60. Krug ALO, Macedo AG, Zago AS, Rush JWE, Santos CF, Amaral SL. High-

- intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. *Muscle and Nerve*. 2016;53(5):779–88.
61. Sanches IC, Conti FF, Sartori M, Irigoyen MC, De Angelis K. Standardization of resistance exercise training: Effects in diabetic ovariectomized rats. *Int J Sports Med*. 2014;35(4):323–9.
 62. Leite RD, Prestes J, Bernardes CF, Shiguemoto GE, Pereira GB, Duarte JO, et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(6):1079–86.
 63. Leite RD, Durigan RDCM, De Souza Lino AD, De Souza Campos MV, Souza MDG, Selistre-De-Araújo HS, et al. Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats. *Metabolism*. 2013;62(10):1477–84.
 64. Okoshi MP, Cezar MDM, Iyomasa RM, Silva MB, Costa LCO, Martinez PF, et al. Effects of early aldosterone antagonism on cardiac remodeling in rats with aortic stenosis-induced pressure overload. *Int J Cardiol*. 2016;222:569–75.
 65. 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(3):233–70.
 66. Feriani DJ, Coelho-Júnior HJ, de Oliveira JCMF, Delbin MA, Mostarda CT, Dourado PMM, et al. Pyridostigmine improves the effects of resistance exercise training after myocardial infarction in rats. *Front Physiol*. 2018;9(FEB):1–11.
 67. Lo ATC, Francisqueti FV, Hasimoto FK, Ferraz APCR, Minatel IO, Garcia JL, et al. Brazilian *Curcuma longa* L. attenuates comorbidities by modulating adipose tissue dysfunction in obese rats. *Nutrire*. 2018;43(1):1–8.
 68. Mesquita CS, Oliveira R, Bento F, Geraldo D, Rodrigues J V, Marcos JC. Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. *Anal Biochem*. 2014;458:69–71.

69. Hengartner H, Harris JI. Purification by affinity chromatography, properties and crystallisation of phosphofructokinase from thermophilic micro-organisms. *FEBS Lett.* 1975;55(1):282–5.
70. Zammit VA, Beis I, Newsholme EA. Maximum activities and effects of fructose biphosphate on pyruvate kinase from muscles of vertebrates and invertebrates in relation to the control of glycolysis. *Biochem J.* 1978;174(3):989–98.
71. Alp PR, Newsholme EA, Zammit VA. Activities of citrate synthase and NAD⁺-linked and NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochem J.* 1976;154(3):689–700.
72. Bieber LL, Abraham T, Helmrath T. A rapid spectrophotometric assay for carnitine palmitoyltransferase. *Anal Biochem.* 1972;50(2):509–18.
73. Rosa CM, Gimenes R, Campos DHS, Guirado GN, Gimenes C, Fernandes AAH, et al. Apocynin influence on oxidative stress and cardiac remodeling of spontaneously hypertensive rats with diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2016;15(1):126.
74. Katz SD. Pathophysiology of Chronic Systolic Heart Failure. A View from the Periphery. *Ann Am Thorac Soc.* 2018;15(1):S38–41.
75. Garza MA, Wason EA, Cruger JR, Chung E, Zhang JQ. Strength training attenuates post-infarct cardiac dysfunction and remodeling. *J Physiol Sci.* 2019;69(3):523–30.
76. Dor-Haim H, Lotan C, Horowitz M, Swissa M. Intensive exercise training improves cardiac electrical stability in myocardial-infarcted rats. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(7):1–9.
77. Minicucci MF, Azevedo PS, Martinez PF, Lima ARR, Bonomo C, Guizoni DM, et al. Critical infarct size to induce ventricular remodeling, cardiac dysfunction and heart failure in rats. *Int J Cardiol.* 2011;151(2):242–3.
78. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LAM, Oliveira SA, Campos DHS, Lima ARR, et al. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol.* 2011;111(2):543–51.

79. Hentschke VS, Capalonga L, Rossato DD, Perini JL, Alves JP, Quagliotto E, et al. Functional capacity in a rat model of heart failure: impact of myocardial infarct size. *Exp Physiol*. 2017;102(11):1448–58.
80. Azevedo PS, Polegato BF, Minicucci MF, Paiva SAR, Zornoff LAM. Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. *Arq Bras Cardiol*. 2016;106(1):62–9.
81. Pascual-Figal DA, Pérez-Martínez MT, Asensio-Lopez MC, Sanchez-Más J, García-García ME, Martinez CM, et al. Pulmonary Production of Soluble ST2 in Heart Failure. *Circ Heart Fail*. 2018;11(12):e005488.
82. Hamdani N, Franssen C, Lourenço A, Falcão-Pires I, Fontoura D, Leite S, et al. Myocardial titin hypophosphorylation importantly contributes to heart failure with preserved ejection fraction in a rat metabolic risk model. *Circ Heart Fail*. 2013;6(6):1239–49.
83. Alves JP, Nunes RB, Stefani GP, Dal Lago P. Resistance training improves hemodynamic function, collagen deposition and inflammatory profiles: experimental model of heart failure. *PLoS One*. 2014;9(10):e110317.
84. Pfeffer M, Pfeffer J, Fischbein M, Fletcher P, Spadaro J, Kloner R, et al. Myocardial Infarct Size and Ventricular Function in Rats. *Circ Res*. 1979;44:503–12.
85. Carbone S, Billingsley HE, Rodriguez-Miguel P, Kirkman DL, Garten R, Franco RL, et al. Lean Mass Abnormalities in Heart Failure: The Role of Sarcopenia, Sarcopenic Obesity, and Cachexia. *Curr Probl Cardiol*. 2019; 28; pii: S0146-2806(19)30057-X
86. Batista DF, Gonçalves AF, Rafacho BP, Santos PP, Minicucci MF, Azevedo PS, et al. Delayed rather than early exercise training attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2013;170(1):e3–4.
87. Daliang Z, Lifang Y, Hong F, Lingling Z, Lin W, Dapeng L, et al. Netrin-1 plays a role in the effect of moderate exercise on myocardial fibrosis in rats. *PLoS One*. 2019;14(2):1–11.

88. Ribeiro LP, Freitas-Lima LC, Naumann GB, Meyrelles SS, Lunz W, Pires SF, et al. Cardiac protein expression patterns are associated with distinct inborn exercise capacity in non-selectively bred rats. *Brazilian J Med Biol Res.* 2018;51(3):1–10.
89. Pagan LU, Damatto RL, Cezar MDM, Lima ARR, Bonomo C, Campos DHS, et al. Long-term low intensity physical exercise attenuates heart failure development in aging spontaneously hypertensive rats. *Cell Physiol Biochem.* 2015;36(1):61–74.
90. Ferreira JCB, Rolim NPL, 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(8):760–5.
91. Lee S, Farrar RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. *J Exerc Physiol.* 2003;6(2):80–7
92. Hornberger TA, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol.* 2004;29(1):16–31.
93. Martín Del Campo Cervantes J, Habacuc Macías Cervantes M, Monroy Torres R. Effect of a Resistance Training Program on Sarcopenia and Functionality of the Older Adults Living in a Nursing Home. *J Nutr Health Aging.* 2019;23(9):829–36.
94. Krause Neto W, De Assis Silva W, Ciená AP, Anaruma CA, Gama EF. Vertical Climbing for Rodent Resistance Training: a Discussion about Training Parameters. *Int J Sport Sci.* 2016;6(1A):36–49.
95. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LAM, Carvalho RF, Oliveira Junior SA, Lima ARR, et al. Chronic heart failure-induced skeletal muscle atrophy, necrosis, and changes in myogenic regulatory factors. *Med Sci Monit.* 2010;16(12):BR374-83.
96. Ismaeel A, Holmes M, Papoutsi E, Panton L, Koutakis P. Resistance Training, Antioxidant Status, and Antioxidant Supplementation. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2019;29(5):539–47.
97. Campos JC, Gomes KMS, Ferreira JCB. Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases. *Food Chem Toxicol.* 2013;62:107–19.

98. Fedorova M, Bollineni RC, Hoffmann R. Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies. *Mass Spectrom Rev.* 33(2):79–97.
99. Wadley AJ, Turner JE, Aldred S. Factors influencing post-exercise plasma protein carbonyl concentration. *Free Radic Res.* 2016;50(4):375–84.
100. Nikolaidis MG. The Effects of Resistance Exercise on Muscle Damage, Position Sense, and Blood Redox Status in Young and Elderly Individuals. *Geriatrics.* 2017;2(3): pii: E20.
101. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008;88(4):1243–76.
102. Katz A. Modulation of glucose transport in skeletal muscle by reactive oxygen species. *J Appl Physiol.* 2007 Apr;102(4):1671–6.
103. Silveira LR, Pinheiro CH da J, Zoppi CC, Hirabara SM, Vitzel KF, Bassit RA, et al. Regulation of glucose and fatty acid metabolism in skeletal muscle during contraction. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2011;55(5):303–13.
104. Garnier A, Fortin D, Deloménie C, Momken I, Veksler V, Ventura-Clapier R. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles. *J Physiol.* 2003;551(2):491–501.
105. Andersson U, Leighton B, Young ME, Blomstrand E, Newsholme EA. Inactivation of aconitase and oxoglutarate dehydrogenase in skeletal muscle in vitro by superoxide anions and/or nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;249(2):512–6.
106. Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Prog Lipid Res.* 2014;53:124–44.
107. Webb BA, Dosey AM, Wittmann T, Kollman JM, Barber DL. The glycolytic enzyme phosphofructokinase-1 assembles into filaments. *J Cell Biol.* 2017;216(8):2305–13.
108. Goedecke JH, St Clair Gibson A, Grobler L, Collins M, Noakes TD, Lambert E V. Determinants of the variability in respiratory exchange ratio at rest and during

- exercise in trained athletes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279(6):E1325-34.
109. Tarnopolsky MA. Myopathies Related to Glycogen Metabolism Disorders. *Neurotherapeutics.* 2018;15(4):915–27.
 110. Wilmore JH, Costill DL. Physical energy: fuel metabolism. *Nutr Rev.* 2001;59(1 Pt 2):S13-6.
 111. Liang X, Liu L, Fu T, Zhou Q, Zhou D, Xiao L, et al. Exercise Inducible Lactate Dehydrogenase B Regulates Mitochondrial Function in Skeletal Muscle. *J Biol Chem.* 2016;291(49):25306–18.
 112. Miotto PM, Steinberg GR, Holloway GP. Controlling skeletal muscle CPT-I malonyl-CoA sensitivity: the importance of AMPK-independent regulation of intermediate filaments during exercise. *Biochem J.* 2017;474(4):557–69.
 113. Satchek JM, Ohtsuka A, McLary SC, Goldberg AL. IGF-I stimulates muscle growth by suppressing protein breakdown and expression of atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287(4):E591-601.
 114. Rommel C, Bodine SC, Clarke BA, Rossman R, Nunez L, Stitt TN, et al. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nat Cell Biol.* 2001;3(11):1009–13.
 115. De Meyts P, Whittaker J. Structural biology of insulin and IGF1 receptors: implications for drug design. *Nat Rev Drug Discov.* 2002;1(10):769–83.
 116. Dupont J, LeRoith D. Insulin and insulin-like growth factor I receptors: similarities and differences in signal transduction. *Horm Res.* 2001;55(2):22–6.
 117. Vassilakos G, Barton ER. Insulin-Like Growth Factor I Regulation and Its Actions in Skeletal Muscle. *Compr Physiol.* 2018;9(1):413–38.
 118. Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, Blaauw B, Sandri M. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.* 2013;280(17):4294–314.
 119. Luciano TF, Marques SO, Pieri BL, de Souza DR, Araújo L V, Nesi RT, et al.

- Responses of skeletal muscle hypertrophy in Wistar rats to different resistance exercise models. *Physiol Res*. 2017;66(2):317–23.
120. Ogasawara R, Sato K, Matsutani K, Nakazato K, Fujita S. The order of concurrent endurance and resistance exercise modifies mTOR signaling and protein synthesis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;306(10):E1155-62.
 121. Stitt TN, Drujan D, Clarke BA, Panaro F, Timofeyeva Y, Kline WO, et al. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors. *Mol Cell*. 2004;14(3):395–403.
 122. Sanchez AMJ, Candau RB, Bernardi H. FoxO transcription factors: their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(9):1657–71.
 123. Fielitz J, Kim M-S, Shelton JM, Latif S, Spencer JA, Glass DJ, et al. Myosin accumulation and striated muscle myopathy result from the loss of muscle RING finger 1 and 3. *J Clin Invest*. 2007;117(9):2486–95.
 124. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;307(6):E469-84.
 125. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, Lin MZ, Juo P, Hu LS, et al. Akt Promotes Cell Survival by Phosphorylating and Inhibiting a Forkhead Transcription Factor. *Cell*. 1999;96(6):857–68.
 126. Reitelseder S, Agergaard J, Doessing S, Helmark IC, Schjerling P, van Hall G, et al. Positive muscle protein net balance and differential regulation of atrogene expression after resistance exercise and milk protein supplementation. *Eur J Nutr*. 2014;53(1):321–33.
 127. Okada K, Naito AT, Higo T, Nakagawa A, Shibamoto M, Sakai T, et al. Wnt/ β -Catenin Signaling Contributes to Skeletal Myopathy in Heart Failure via Direct Interaction With Forkhead Box O. *Circ Heart Fail*. 2015;8(4):799–808.