



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EFEITOS DE UMA SESSÃO AGUDA DE NATAÇÃO ATÉ  
EXAUSTÃO SOBRE A CONTRATILIDADE E  
TRANSIENTE DE  $Ca^{2+}$  DE CARDIOMIÓCITOS  
ISOLADOS DO VENTRÍCULO ESQUERDO DE RATOS  
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS EM FASE DE  
FUNÇÃO CARDÍACA COMPENSADA E  
DESCOMPENSADA**

**MARIA CECÍLIA TELES**

**OURO PRETO**

**MINAS GERAIS – BRASIL**

**2022**

**MARIA CECÍLIA TELES**

**EFEITOS DE UMA SESSÃO AGUDA DE NATAÇÃO ATÉ EXAUSTÃO SOBRE  
A CONTRATILIDADE E TRANSIENTE DE  $Ca^{2+}$  DE CARDIOMIÓCITOS  
ISOLADOS DO VENTRÍCULO ESQUERDO DE RATOS  
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS EM FASE DE FUNÇÃO CARDÍACA  
COMPENSADA E DESCOMPENSADA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito para obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Mauro César Isoldi

**OURO PRETO**

**MINAS GERAIS – BRASIL**

**2022**

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

T269e Teles, Maria Cecília.

Efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão sobre a contratilidade e transiente de CA<sup>2+</sup> de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos em fase de função cardíaca compensada e descompensada. [manuscrito] / Maria Cecília Teles. - 2022.

89 f.

Orientador: Prof. Dr. Mauro César Isoldi.

Tese (Doutorado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos.

1. Hipertensão. 2. Fadiga. 3. Contração Miocárdica. 4. Canais de Cálcio  
Tipo T. I. Isoldi, Mauro César. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 616.12-008.331.1

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
REITORIA  
ESCOLA DE FARMACIA  
PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM CIENCIAS  
FARMACEUTICAS



**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Maria Cecília Teles**

**Efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão sobre a contratilidade e transiente de  $Ca^{2+}$  de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos em fase de função cardíaca compensada e descompensada**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito para obtenção do título de doutora em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 19 de agosto de 2022.

**Membros da banca**

Doutor Mauro César Isoldi - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto  
Doutora Ana Cristina Rodrigues Lacerda - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Doutor Marco Fabrício Dias Peixoto - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Doutora Gabriela Guerra Leal de Souza - Universidade Federal de Ouro Preto  
Doutora Glenda Nicioli da Silva - Universidade Federal de Ouro Preto

Mauro César Isoldi, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 07/11/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Mauro Cesar Isoldi, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 11/11/2022, às 08:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0425559** e o código CRC **3E41576B**.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a DEUS, que me carregou quando faltaram forças. Por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

À minha mãe, meu alicerce, pelo amor incondicional, carinho, força, e por crer e apoiar todos os meus sonhos. Agradeço as orações e a torcida que sempre me dão força nos momentos em que eu mais preciso. Ao meu pai por estar sempre ao meu lado me apoiando. À minha irmã e meu cunhado, pelo eterno afeto e apoio. Os meus familiares que mesmo distantes sempre me apoiaram nessa jornada.

A meu orientador Prof. Dr. Mauro Cesar Isolid, pelos ensinamentos, orientação e condução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio José Natali por gentilmente ceder seu laboratório para execução dos experimentos, e a equipe do BioEx, que foi fundamental para condução deste projeto, em especial gostaria de agradecer ao Alexandre Portes, Franciany Silva, Meilene Fidelis, por toda contribuição ao longo dos experimentos

À minha IC, Luciana, que sempre esteve ao meu lado em todas as coletas, obrigada pela dedicação e apoio em todos os momentos.

Aos colegas do laboratório de Sinalização Celular que em algum momento acompanharam o desenvolvimento dessa tese. Em especial a Bianca e Alexandre que me auxiliaram nas análises de dados.

À Bioclin (Química Básica LTDA) pela doação dos quites.

A banca, por aceitarem o convite e pela participação.

## RESUMO

**TELES, MA. Efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão sobre a contratilidade e transiente de  $Ca^{2+}$  de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos em fase de função cardíaca compensada e descompensada** [tese]. Ouro Preto: Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto; 2022. Orientador: Mauro César Isoldi.

A hipertensão arterial sistêmica é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. Estudos mostram o exercício realizado de forma exaustiva leva a danos cardíacos, mas pouco se sabe sobre os efeitos de uma sessão de natação até exaustão em animais hipertensos. Diante disso nosso objetivo foi investigar os efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão sobre as propriedades mecânicas de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos espontaneamente hipertensos em fase de função cardíaca compensada e descompensada. Os animais foram alocados em cinco grupos, cada um composto por 7 animais: normotenso controle (NC); normotenso exaustão (NE); hipertenso controle na fase compensada (HC); hipertenso exaustão na fase compensada (HE), hipertensos exaustão na fase descompensada, já na fase de insuficiência cardíaca (IC). Os animais dos grupos exaustão foram submetidos a um protocolo de natação até exaustão, que consistia em natação por um período de 180 minutos com 5% da carga corporal, imediatamente após o exercício esses animais foram eutanasiados e o coração foi removido para isolamento dos cardiomiócitos. Foram avaliados o tempo de natação até exaustão, hipertrofia ventricular, transiente de cálcio e a contratilidade celular nas frequências de estimulação de 1, 3, 5 e 7 Hz. Os animais normotensos apresentaram uma massa corporal mais elevada do que os animais hipertensos na fase compensada e descompensada ( $p \leq 0,05$ ), a relação do peso do ventrículo esquerdo pelo peso corporal apresentou um aumento nos animais hipertenso na fase compensada e descompensada em relação aos seus controles ( $p < 0,00$ ). Os animais normotensos conseguiram manter a natação apenas por 14 minutos  $\pm$  3 minutos e 41 segundos, enquanto os animais espontaneamente hipertensos na fase compensada completaram o protocolo proposto de 180 minutos, os animais hipertensos na fase descompensada mantiveram a natação por apenas 4,83  $\pm$  1,57 minutos. Em relação aos dados de contratilidade e transiente foram encontrados os seguintes dados: A amplitude de contração apresentou um aumento quando os animais hipertensos na fase compensada e descompensada foram submetidos ao exercício exaustivo, além disso a velocidade de contração e a velocidade de relaxamento foram aumentadas (1Hz). Quando analisado o

transiente de cálcio, o exercício exaustivo levou a uma redução da amplitude de cálcio nos animais hipertensos na fase compensada (1, 3, 5 Hz) e uma redução no tempo para atingir o decaimento do cálcio (1Hz), a velocidade de liberação e recaptação do cálcio foi reduzida nos animais hipertensos na fase compensada quando submetido ao exercício (1, 3, 5, 7 Hz). A natação até exaustão provocou alterações adversas no mecanismo contrátil dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo, entretanto tais mecanismos devem ser mais explorados.

**Palavras Chave:** hipertensão, cardiomiócitos isolados, exaustão, natação, contratilidade, transiente de cálcio

## ABSTRACT

**TELES, MA. Effects of an acute session of swimming to exhaustion on contractility and transient  $\text{Ca}^{2+}$  of cardiomyocytes isolated from the left ventricle of spontaneously hypertensive rats in the phase of compensated and decompensated cardiac function** Ouro Preto: School of Pharmacy, Federal University of Ouro Preto; 2022. Advisor: Mauro César Isoldi.

Systemic arterial hypertension is a multifactorial clinical condition characterized by high and sustained levels of blood pressure. Studies show that exhaustive exercise leads to heart damage, but little is known about the effects of a bout of exhaustion swimming in hypertensive animals. Therefore, our objective was to investigate the effects of an acute session of swimming until exhaustion on the mechanical properties of cardiomyocytes isolated from the left ventricle of spontaneously hypertensive rats in the phase of compensated and decompensated cardiac function. The animals were allocated 5 into five groups, each consisting of 7 animals: normotensive control (NC); normotensive exhaustion (NE); control hypertensive in the compensated phase (HC); hypertensive exhaustion in the compensated phase (HE), hypertensive exhaustion in the decompensated phase, already in the heart failure (HF) phase. The animals in the exhaustion groups were submitted to a protocol of swimming until exhaustion, which consisted of swimming for 180 min with 5% of body load, immediately after exercise; these animals were euthanized and the heart was removed for isolation of cardiomyocytes. Swimming time to exhaustion, ventricular hypertrophy, calcium transient and cell contractility at stimulation frequencies of 1, 3, 5 and 7 Hz were evaluated. Normotensive animals had a higher body mass than hypertensive animals in the compensated and decompensated phases ( $p \leq 0.05$ ), the ratio of left ventricular weight by body weight showed an increase in hypertensive animals in the compensated and decompensated phase compared to their controls ( $p < 0.00$ ). Normotensive animals could keep swimming for only 14 minutes  $\pm$  3 minutes and 41 seconds, while spontaneously hypertensive animals in the compensated phase completed the proposed protocol of 180 minutes, old hypertensive animals kept swimming for only 4.83  $\pm$  1.57 minutes. . Regarding contractility and transient data, the following data were found: The contraction amplitude increased when hypertensive animals in the compensated and decompensated phase were subjected to exhaustive exercise, in addition, the contraction velocity and relaxation velocity were increased (1Hz). When analyzing the calcium transient, exhaustive exercise reduced calcium amplitude in hypertensive animals in the



compensated phase (1, 3, 5 Hz) and a reduction in the time to reach calcium decay (1Hz), the velocity of calcium release and reuptake was reduced in hypertensive animals in the compensated phase when submitted to exercise Swimming until exhaustion caused adverse changes in the contractile mechanism of isolated left ventricular cardiomyocytes, however such mechanisms should be further explored.

**Keywords:** hypertension, isolated cardiomyocytes, exhaustion, swimming, contractility, calcium transient

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Acoplamento excitação contração no músculo cardíaco..	18
<b>Figura 2.</b> Imagem representativa da sessão aguda de exercício	26
<b>Figura 3.</b> Imagem representativa do posicionamento do animal no final do protocolo.	27
<b>Figura 4.</b> Imagem representativa da mensuração da pressão arterial e frequência cardíaca dos animais.	28
<b>Figura 5.</b> Imagem representativa do programa utilizado para registro das contrações e aquisição das imagens dos cardiomiócitos isolados.	33
<b>Figura 6.</b> Traçado representativo de uma contração celular estimulada na frequência de 1 Hz, e os parâmetros avaliados	34
<b>Figura 7.</b> Traçado representativo dos parâmetros avaliados através do transiente de $[Ca^{2+}]_i$	35
<b>Figura 8.</b> Traçados representativos das imagens de fluorescência para o transiente de $[Ca^{2+}]_i$ em cardiomiócitos isolados de ratos.	36
<b>Figura 9.</b> Representação das dimensões medidas em imagem de um cardiomiócito ventricular esquerdo de rato..	37
<b>Figura 10.</b> Dimensões de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo.	41
<b>Figura 11.</b> Tempo total de natação até exaustão para os grupos exaustão.	42
<b>Figura 12.</b> Amplitude de contração de miócitos isolados do ventrículo esquerdo.	43
<b>Figura 13.</b> Tempo para o pico de contração (ms) de miócitos isolados do ventrículo esquerdo.	44
<b>Figura 14.</b> Tempo para 50% do relaxamento dos cardiomiócitos de miócitos isolados do ventrículo esquerdo.	46
<b>Figura 15.</b> Velocidade de contração	47
<b>Figura 16.</b> Velocidade de relaxamento	48
<b>Figura 17.</b> Amplitude do transiente de $Ca^{2+}$ .	49
<b>Figura 18.</b> Tempo para o pico do transiente de $Ca^{2+}$ .	50
<b>Figura 19.</b> Tempo para 50 % de decaimento do $Ca^{2+}$ .	51
<b>Figura 20.</b> Velocidade de liberação do $Ca^{2+}$ .	52
<b>Figura 21.</b> Velocidade de recaptação do $Ca^{2+}$ .	54
<b>Figura 22.</b> Fotomicrografia representativa do músculo gastrocnêmio.	55
<b>Figura 23.</b> Fotomicrografias representativas do músculo gastrocnêmio exibindo fibras de colágeno tipo I e III	56

**Figura 24.** Fotomicrografia representativa do rim..... 58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características gerais e cardiovasculares .....	39
<b>Tabela 2.</b> Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca de repouso (FCR) dos grupos experimentais. ....	40
<b>Tabela 3.</b> Relação do peso do músculo esquelético pelo peso corporal. ....	54
<b>Tabela 4.</b> Estrutura e morfologia do músculo gastrocnêmio .....	54
<b>Tabela 5.</b> Morfometria do rim dos diferentes grupos .....	57
<b>Tabela 6.</b> Valores de creatina quinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH).....	59

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

FC – Frequência cardíaca

HAS - hipertensão arterial sistêmica

HC – Grupo hipertenso controle

HE - Grupo hipertenso exaustão

IC – Grupo insuficiente cardíaco

NC - Grupo normotenso controle

NCX1 - trocador de sódio / cálcio

NE - Grupo normotenso exaustão

PA- Pressão arterial

PAD – Pressão arterial diastólica

PAS – Pressão arterial sistólica

PBL – fosfolambam

RS – Reticulo sarcoplasmático

RyR2 - receptores de rianodina tipo 2

SERCA2 - bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase

SHR - ratos espontaneamente hipertensos

VD – Ventrículo direito

VE – Ventrículo esquerdo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
1.1	Hipertensão arterial .....	16
1.2	Hipertensão e acoplamento excitação contração no miocárdio .....	17
1.3	Exercício físico e hipertensão .....	19
1.4	Exercício exaustivo e efeitos adversos no miocárdio .....	20
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
3.1	Objetivo Geral.....	23
3.2	Objetivos específicos .....	23
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>24</b>
4.1	Animais .....	24
4.2	Protocolo de Natação .....	25
4.2.1	Aclimação ao meio líquido .....	25
4.2.2	Protocolo de exercício agudo de natação até exaustão .....	25
4.3	Pressão arterial caudal e frequência cardíaca.....	27
4.4	Peso Corporal.....	29
4.5	Coleta e processamento de amostras .....	29
4.5.1	Eutanásia e decapitação .....	29
4.5.2	Processamento das análises histológicas .....	29
4.5.3	Isolamento dos Cardiomiócitos .....	30
4.5.3.1	Soluções de isolamento .....	31
4.5.3.2	Solução de perfusão tampão HEPES.....	31
4.5.3.3	Mensuração da Contratilidade Celular .....	32
4.5.3.4	Medidas do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ : .....	34
4.5.4	Mensuração do comprimento e largura celular.....	36
4.5.5	Análises bioquímicas .....	37
4.6	Análise estatística .....	37
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
<b>5.1</b>	<b>Características gerais e cardiovasculares</b> .....	<b>38</b>

<b>5.2</b>	<b>Dimensões dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo .....</b>	<b>40</b>
<b>5.3</b>	<b>Desempenho dos animais no protocolo de natação até exaustão .....</b>	<b>41</b>
<b>5.4</b>	<b>Função contrátil de miócitos isolados do ventrículo esquerdo .....</b>	<b>42</b>
<b>5.5</b>	<b>Cálcio intracelular e transiente de miócitos isolados do ventrículo esquerdos.</b>	<b>48</b>
<b>5.6</b>	<b>Estrutura e morfologia do músculo esquelético.....</b>	<b>53</b>
<b>5.7</b>	<b>Morfometria dos glomérulos .....</b>	<b>56</b>
<b>5.8</b>	<b>Análises bioquímicas .....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>60</b>
6.1	Características gerais e cardiovasculares e morfologia dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo.....	60
6.2	Desempenho dos animais no protocolo de natação até exaustão.....	61
6.3	Efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão no transiente de $Ca^{2+}$ e contratilidade de animais normotensos.....	63
6.4	Diferenças entre animais Wistar e SHR quando analisado o transiente de $Ca^{2+}$ e contratilidade.....	64
6.5	A natação até exaustão promove efeitos sobre a função cardíaca de animais SHR	67
6.6	Existe diferenças entre a função cardíaca de animais Wistar e SHR submetidos a uma sessão aguda de natação até exaustão (HE x NE x IC).....	68
6.7	O músculo esquelético de animais normotensos e hipertensos apresenta alteração na concentração de colágeno .....	70
6.8	Alterações na morfologia do rim .....	71
6.9	Análises bioquímicas .....	72
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>74</b>
	<b>ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS ....</b>	<b>86</b>
	<b>ANEXO 2 PRODUÇÕES CIENTÍFICAS .....</b>	<b>87</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais (BARROSO et al., 2021). Acredita-se que 1 bilhão de pessoas em todo o mundo tenham hipertensão, que hoje é considerado um problema grave de saúde pública no mundo, pois a hipertensão é um importante fator de risco para doenças cardiovasculares. Várias orientações de tratamento, medidas farmacológicas (EDWARDS et al., 2014) e não farmacológicas, como o exercício físico (SEMLITSCH et al., 2013) são sugeridas para manter a pressão sanguínea em níveis aceitáveis.

A hipertensão leva ao aumento do risco de desenvolvimento de insuficiência cardíaca (IC) que é uma síndrome clínica complexa resultante de comprometimentos estruturais ou funcionais do enchimento ventricular ou ejeção do sangue. A IC pode levar a uma limitação da tolerância ao exercício bem como fadiga e dispneia (YANCY et al., 2013, 2017). Em hipertensos, o miocárdio tem que ejetar o sangue contra uma pós carga aumentada levando ao aumento da massa ventricular esquerda, que acarreta em alterações na função contrátil do miocárdio (BROOKSBY; LEVI; JONES, 1992; GWATHMEY; MORGAN, 1993; MCARDLE, 2013). Alterações no mecanismo de excitação contração do miocárdio estão relacionadas a alterações nas proteínas que regulam a homeostase do cálcio, levando a uma disfunção contrátil. Dentre as proteínas que regulam o cálcio e que apresentam alterações são encontradas a ATPase (SERCA2), o canal de liberação do cálcio no retículo sarcoplasmático e o trocador de sódio / cálcio (NCX1) (ARAI et al., 1993; DUPONT et al., 2012).

A prevenção da hipertensão e o controle da pressão arterial consiste em mudanças no estilo de vida, principalmente quanto a prática regular de atividade física. Estudos sugerem que quanto maior o nível de atividade física menor a incidência de doenças cardiovasculares, sugerindo que uma baixa capacidade aeróbica é um forte preditor de futuras doenças cardiovasculares e mortalidade (LEGGIO et al., 2014).

Estudos mostram o efeito hipotensor pós exercício em humanos (BOCALINI et al., 2017; HALLIWILL et al., 2013; LEGGIO et al., 2014), em animais, além da redução



dos níveis pressóricos, foi demonstrado (LOCATELLI et al., 2014) atraso no aparecimento de hipertensão em ratos (RODRIGUES et al., 2007; SOARES et al., 2011).

Apesar de ser documentado na literatura que o exercício crônico realizado de forma moderada tem efeitos benéficos para a saúde cardiovascular (BARROSO et al., 2021), entretanto também já foram descritos os efeitos deletérios do exercício exaustivo realizado de forma aguda, Ljones et al. (2017) mostrou que a função contrátil de cardiomiócitos e transiente de cálcio em modelo animal normotenso foi comprometida e levando a lesão cardíaca e estresse oxidativo nos animais e esse processo parece ser associado com aumento do estresse nitro-oxidativo, da sinalização apoptótica e desregulação do sistema matriz metaloproteinase (OLÁH et al., 2015).

Esses estudos mostram que o exercício realizado de forma exaustiva leva a danos cardíacos, entretanto existem poucos estudos que avaliam esses efeitos principalmente em animais que apresentam alguma patologia como a hipertensão, diante disso, nosso interesse é investigar se uma sessão de exercício agudo até a exaustão exerce algum efeito na contratilidade e transiente de cálcio de ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

## 1.1 Hipertensão arterial

No Brasil a Hipertensão arterial atinge 32,5% de indivíduos adultos e contribui para 50% das mortes por doenças cardiovasculares. A mortalidade por patologias hipertensivas apresentou um aumento entre 2002 e 2009, além de as doenças cardiovasculares serem responsáveis por alta frequência de internações e apresentar custos socioeconômicos elevados (BARROSO et al., 2021).

Estudos sobre a fisiopatologia da hipertensão arterial são realizados com modelos experimentais de hipertensão, os quais permitem a investigação e compreensão das alterações fisiológicas que na maioria das vezes não podem ser estudadas em humanos (KUNDU; RAO, 2008).

O rato espontaneamente hipertenso (SHR) tem sido usado para estudos de doenças cardiovasculares, pois suas alterações são semelhantes a hipertensão essencial ou primária em humanos (CANIFFI et al., 2020a; KUNDU; RAO, 2008; LOCATELLI et al., 2017). Okamoto e Aoki na década de 1960 desenvolveram essa linhagem, através do cruzamento entre animais Wistar-Kyoto com pressão sanguínea elevada (OKAMOTO; AOKI, 1963). A elevação da pressão arterial nestes animais inicia por volta das 5 – 6 semanas de vida e com 7 – 15 semanas apresenta hipertensão espontânea, entre 20 – 28 semanas atingem um platô e com 18 meses esse animal já entra em um quadro de insuficiência cardíaca (YAMORI, 1984). É encontrado também nestes animais aumento na frequência intrínseca do marcapasso cardíaco, a partir da terceira semana de vida, resultando em aumento da frequência cardíaca (DICKHOUT; LEE, 1998).

Animais hipertensos apresentam uma hipertrofia compensatória do VE, seguido de um remodelamento patológico no qual ocorre fibrose, alterações microvasculares, aumento da massa cardíaca, apoptose, disfunção cardíaca e consequente insuficiência cardíaca (CANIFFI et al., 2020a; KRZESIAK et al., 2019; SILVA et al., 2017). Além disso, são observados nesses animais, alterações no funcionamento fisiológico do miocárdio e já foram demonstradas alterações patológicas nas atividades mecânicas e elétricas de cardiomiócitos ventriculares de animais SHR (KRZESIAK et al., 2019; LOCATELLI et al., 2017; ROMAN-CAMPOS et al., 2012; SHOROFSKY et al., 1999) que, conseqüentemente, afetarão a funcionalidade do miocárdio.

No SHR a partir do 3º mês de vida inicia-se o processo de hipertrofia cardíaca, na fase adulta o quadro hipertensivo associa-se com um aumento da resistências periférica e

consequente redução no débito cardíaco, já em estágios finais, chamada fase descompensada, o coração acabará falhando devido a incapacidade de manter o débito cardíaco que supra as demandas do organismo (DUCHATSCH et al., 2021; FROHLICH, 1977; LOCATELLI et al., 2017; POTTS; MCKEOWN; SHOUKAS, 1998; THOMAS et al., 1997).

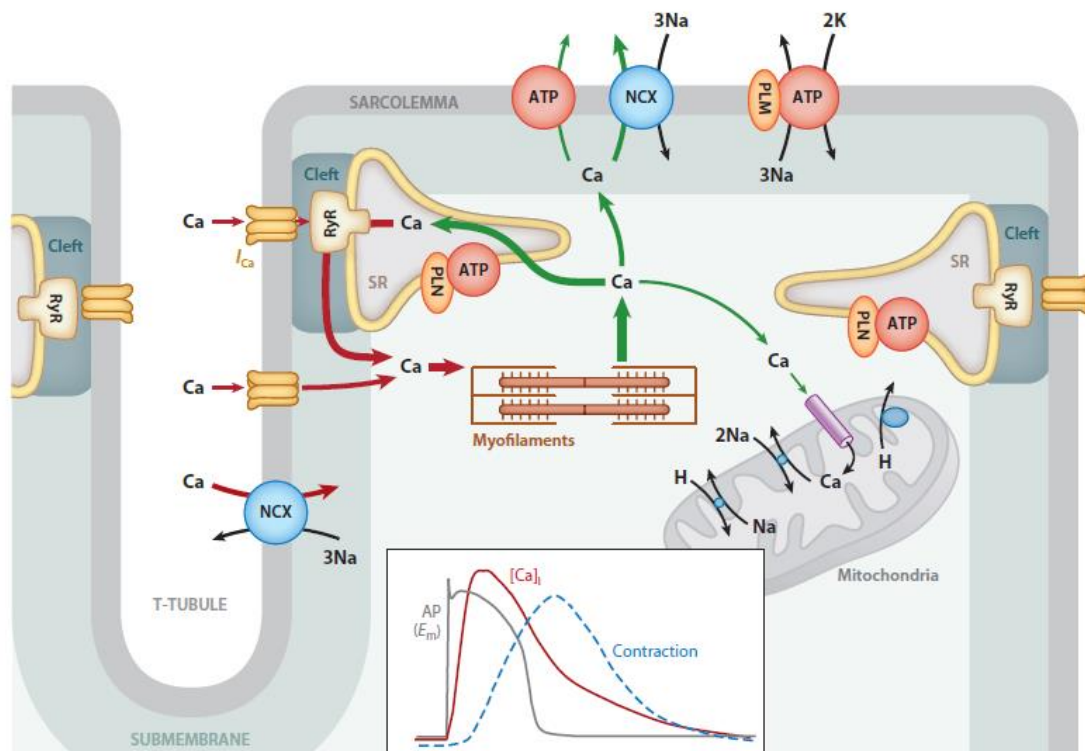
Além das alterações encontradas no miocárdio já existem relatos na literatura que animais SHR apresentam alterações na morfologia e estrutura do músculo esquelético, dentre elas abundância de fibras de colágeno, oclusão e degeneração dos capilares e miopatia (HERNÁNDEZ et al., 2008). À medida que os animais vão ficando mais velhos essa miopatia progride, devido a ação negativa de miocinas sobre o músculo esquelético e levam ao estado sarcopenico (BEREZIN; BEREZIN; LICHTENAUER, 2021). Além disso, também ocorre redução da porcentagem e tamanho das fibras do tipo I, função contrátil prejudicada e aumento da sinalização apoptótica (BLOEMBERG et al., 2014).

## **1.2 Hipertensão e acoplamento excitação contração no miocárdio**

No músculo cardíaco, um potencial de ação inicia o acoplamento excitação contração, de forma espontânea nas células do marcapasso cardíaco e através de junções comunicantes para as células contráteis (SILVERTHORN, 2017). O processo de acoplamento excitação contração está representado na Figura 1. De forma resumida, quando o potencial de ação é deflagrado ocorre a entrada de sódio para o meio intracelular, o que leva a despolarização da membrana, com consequente abertura dos canais tipo L, permitindo que ocorra o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  (ARONSEN; LOUCH; SJAASTAD, 2016; EISNER et al., 2013). Os receptores de rianodina tipo 2 (RyR2) são ativados pelo aumento da concentração intracelular de cálcio e liberam mais destes íons que estava contido no retículo sarcoplasmático (RS), aumentando ainda mais sua concentração. O  $\text{Ca}^{2+}$  liga-se a troponina C, presente nos filamentos de actina, a tropomiosina é deslocada e libera o sítio de ligação da actina permitindo a formação de pontes cruzadas com a miosina e subsequente contração muscular (ARONSEN; LOUCH; SJAASTAD, 2016; EISNER et al., 2013).

Para que ocorra o processo de relaxamento, o  $\text{Ca}^{2+}$  precisa ser recaptado para o RS, para isso a proteína fosfolambam (PLB) é fosforilada deixando assim de inibir a bomba de  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase (SERCA2), que bombeia o  $\text{Ca}^{2+}$  para o retículo, onde permanece

armazenado. Para que haja a redução dos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  no citosol a SERCA2 atua em conjunto com o trocador de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (NCX), que bombeia três íons  $\text{Na}^+$  para o meio intracelular e leva um íon  $\text{Ca}^{2+}$  para o meio extracelular, reduzindo assim os níveis de  $\text{Ca}^{2+}$ . Dessa forma a tropomiosina se movimenta e bloqueia novamente os sítios de ligação entre actina e miosina, levando ao relaxamento do músculo (EISNER et al., 2013, 2017).



**Figura 1.** Acoplamento excitação-contracção no músculo cardíaco. Esta figura mostra os eventos celulares que levam à contracção e ao relaxamento nas células cardíacas contráteis. A entrada de  $\text{Ca}$  via corrente de cálcio ativa a liberação de  $\text{Ca}$  do retículo sarcoplasmático (RS) via receptor rianodina (RyR), resultando na ativação do miofilamento. Captação de  $\text{Ca}$  para o RS via  $\text{Ca}$ -ATPase [modulada por fosfolambam (PLN)] e extrusão via NCX permite relaxamento. As setas vermelhas indicam influxo de  $\text{Ca}$  e as verdes o efluxo do  $\text{Ca}$ . AP, potencial de ação; ATP, ATPase; EM, potencial de membrana; PLM, fosfolambam; Túbulo T, túbulo transverso. Fonte: (BERS, 2014).

A hipertensão altera a mecânica contrátil dos cardiomiócitos, que está associada com a dinâmica do íon  $\text{Ca}^{2+}$ , que é um dos responsáveis por desencadear o processo de excitação-contracção conforme explicado acima (BERS, 2008). Estudos mostram que a hipertensão afeta o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ , aumentam o tempo de duração do potencial de ação (ROMAN-CAMPOS et al., 2012), além de causar um desarranjo nos túbulos T que impede o alinhamento com os RyR2, o que prejudica a liberação do  $\text{Ca}^{2+}$  contido no

retículo sarcoplasmático, prejudicando assim o processo contrátil (KRZESIAK et al., 2019).

Devido ao aumento da resistência periférica observado na hipertensão, o miocárdio tem uma dificuldade em ejetar o sangue, dessa forma a amplitude de contração apresenta-se aumentada. Além disso, devido a redução da atividade de NCX e SERCA2, os tempos de relaxamento e de contração apresentam aumentados (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013; ROMAN-CAMPOS et al., 2012).

### **1.3 Exercício físico e hipertensão**

A hipertensão arterial sistêmica leva ao remodelamento do miocárdio, sendo que na fase inicial da hipertensão denominada fase compensatória, a função cardíaca pode ser mantida apesar de ocorrer crescimento hipertrófico cardíaco, a partir de 18 meses ocorre a transição para a fase descompensada, onde os animais apresentam o desempenho do miocárdio prejudicado, caracterizado a insuficiência cardíaca (BELL et al., 2004a; MIGUEL-CARRASCO et al., 2010; PFEFFER; PFEFFER; FISHBEIN, 1979). Ainda na fase compensatória, 12 – 16 semanas, ocorre deposição de colágeno que resulta em fibrose do ventrículo e conseqüente rigidez do miocárdio (DÍEZ et al., 2002), após esse período com 17 – 24 semanas pode ser encontrado níveis elevados de marcadores pró-inflamatórios (HUANG et al., 2012; MIGUEL-CARRASCO et al., 2010), além de aumento do estresse oxidativo e alterações na estrutura e função cardíaca, entretanto sabe-se que o treinamento físico pode ser utilizado como um forte aliado no combate a patologias cardiovasculares, dentre elas a hipertensão (BARROSO et al., 2021), pois traz inúmeros benefícios ao sistema cardiovascular dentre eles aumento da sensibilidade ao cálcio, melhora a função cardíaca e a contratilidade dos cardiomiócitos, além de controlar o quadro inflamatório e reduzir o estresse oxidativo (DA COSTA et al., 2020).

Estudos mostram que o exercício aeróbio é eficaz quando realizado na fase compensatória, atenuando a disfunção sistólica e restaurando a elasticidade do ventrículo em animais SHR (LIBONATI et al., 2011), além disso, os cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo apresentaram função contrátil e expressão das proteínas regulatórias do cálcio (SERCA2 e PBL) normalizada (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013; GARCIARENA et al., 2009), aumento da expressão de proteínas relacionadas à geração de força, antioxidantes e anti-inflamatórias (HUANG et al., 2012; PETRIZ et al., 2015).

Em estudos subsequentes foi realizado um protocolo de natação de baixa intensidade por um período de seis semanas, foi encontrada melhora nos parâmetros cardiovasculares e atenuação no processo de remodelação cardíaca quando avaliada as propriedades estruturais e mecânicas do ventrículo esquerdo no início da fase compensatória de animais SHR (LOCATELLI et al., 2017).

Já em estudo realizado por Rodrigues e colaboradores (2018) o treinamento aeróbio levou ao aumento da disponibilidade de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular e acelerou a mobilização desses íons em cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos hipertensos, mas a contratilidade celular não apresentou alteração.

Quando realizado o treinamento de força também foi encontrada eficácia quando avaliada a função contrátil dos cardiomiócitos, com expressão aumentada de SERCA2 (MELO et al., 2015a, 2015b).

#### **1.4 Exercício exaustivo e efeitos adversos no miocárdio**

O papel da prática regular de exercício físico é reconhecido para prevenção, controle e tratamento de doenças cardiovasculares (LEE, 1993; THOMPSON et al., 2003). Entretanto estudos mostram que após sessões de exercício aeróbio extenuante em indivíduos saudáveis podem levar a elevação de biomarcadores relacionados com dano cardíaco, devido ao alto grau de estresse imposto sobre as estruturas do miocárdio (MIDDLETON et al., 2008; PERK et al., 2012; SCHARHAG et al., 2008; SHAVE et al., 2007, 2010).

Ainda segundo ELLIOTT (2015) o acúmulo de evidências sugere que episódios agudos de exercício extenuante prolongado podem causar uma disfunção cardíaca transitória, dentre elas redução no manuseio de cálcio nos cardiomiócitos, o que leva a questionamentos sobre as consequências do exercício até exaustão para a saúde cardiovascular.

OLÁH et al. (2015) demonstraram que a atividade física exaustiva tem efeito adverso no coração, onde o comprometimento funcional observado é associado ao aumento do estresse oxidativo, aumento da sinalização apoptótica e desregulação do sistema de metaloproteinase.

LJONES et al. (2017) demonstram que o exercício agudo exaustivo está associado a uma redução na amplitude do  $\text{Ca}^{2+}$ , um aumento no tempo para remoção do  $\text{Ca}^{2+}$  diastólico e encurtamento fracionado reduzido no ventrículo direito (VD) e no esquerdo

(VE). Os níveis de expressão de fosfolambam fosforilada (Ser16 e Thr17) aumentaram no VE, mas não VD. O estudo também mostrou redução na fosforilação oxidativa e capacidade no transporte de elétrons no processo de respiração mitocondrial com substratos complexos I e II no VD, mas não VE. Níveis elevados de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, foram encontradas em humanos após exercício físico exaustivo (RADÁK et al., 2003; VOLLAARD; SHEARMAN; COOPER, 2005), a geração de espécies reativas de oxigênio após exercício exaustivo em ratos provocando danos no miocárdio também já foi relatada (MUTHUSAMY et al., 2012).

A produção de espécies reativas de oxigênio leva a peroxidação de proteínas e lipídeos, lesão de DNA e disfunção celular, tais processos levam a danos celulares irreversíveis com conseqüente morte, sendo que esses danos também são encontrados em patologias cardiovasculares (TSUTSUI; KINUGAWA; MATSUSHIMA, 2011).

## 2 JUSTIFICATIVA

Estudos mostram que o exercício quando realizado de forma intensa e exaustiva podem causar malefícios ao coração, pois aumentam a demanda por oxigênio estimulando assim a fosforilação oxidativa, gerando assim espécies reativas de oxigênio e induzindo o estresse oxidativo (DEATON; MARLIN, 2003; MUAZ BELVIRANLI; HAKKI GÖKBEL, 2006). O aumento dos níveis de ROS leva a remodelação patológica, fibrose, peroxidação lipídica, mutação do DNA, disfunções celulares e contráteis, alterações na manipulação do cálcio, além de apoptose, ou seja, ocorre aumento de biomarcadores relacionados ao dano cardíaco (GIORDANO, 2005; KURA et al., 2020; RAMACHANDRA et al., 2021; SAWYER et al., 2002; TAKIMOTO; KASS, 2007).

Diante disso, nosso objetivo é entender como a maquinaria contrátil dos cardiomiócitos, se adapta a uma sessão aguda de exercício físico até exaustão, principalmente no que se refere à regulação do  $Ca^{2+}$  por essa célula, além disso, comparamos esses mesmos efeitos em animais hipertensos na fase compensada (16 semanas) e na fase descompensada (18 meses), pois na literatura não há estudos que avaliem a função contrátil e o transiente de cálcio de animais hipertensos nessas fases.



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Investigar os efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão sobre as propriedades mecânicas de cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo de ratos normotensos, hipertensos na fase compensada (sem insuficiência cardíaca) e hipertensos descompensados (com insuficientes cardíaca).

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Analisar a creatina quinase e lactato desidrogenase;
- Avaliar o índice de atrofia ou hipertrofia, além da estrutura do músculo esquelético dos animais dos diferentes grupos;
- Avaliar se há diferenças no tempo de natação até a exaustão entre animais normotenso, hipertensos na fase compensada (sem insuficiência cardíaca) e hipertensos na fase descompensada (com insuficiência cardíaca)
- Avaliar a função contrátil dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo dos diferentes grupos;
- Avaliar o transiente de cálcio intracelular dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo dos diferentes grupos.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Animais

Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos (SHR), nesse modelo os animais desenvolvem hipertensão até dois meses de idade, sendo a sobrecarga de pressão progressiva (OKAMOTO; AOKI, 1963). Adaptações compensatórias se estabilizam e são mantidas entre 12 a 18 meses (fase compensada), quando ocorre a fase de transição para a insuficiência cardíaca (18 a 24 meses, fase descompensada) e o desempenho miocárdico fica prejudicado (BELL et al., 2004a; BOLUYT; BING; LAKATTA, 1995; OKAMOTO; AOKI, 1963).

Para o grupo controle foram utilizados animais Wistar provenientes do Centro de Ciência Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto, e os animais SHR foram provenientes da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (4 animais por gaiola), onde recebiam água e ração comercial *ad libitum* sendo mantidos em ambiente com temperatura média de  $(25 \pm 1^\circ \text{C})$  e ciclo claro – escuro (12 h-12 h), desde as 4 semanas de vida. Os animais Wistar, e hipertensos foram mantidos nessas condições até atingirem 16 semanas de vida, já os animais insuficientes cardíacos foram mantidos até os 18 meses, no Centro de Ciência Animal da UFOP.

Os animais foram aleatoriamente separados em 5 grupos, com 7 animais em cada grupo, conforme a seguir:

- NC (grupo normotenso controle): ratos normotensos que não foram submetidos ao protocolo de exaustão;
- NE (grupo normotenso exaustão): ratos normotensos que foram submetidos ao protocolo de exaustão;
- HC (hipertenso controle na fase compensada): ratos hipertensos que não foram submetidos ao protocolo de exaustão;
- HE (hipertenso exaustão na fase compensada): ratos hipertensos que foram submetidos ao protocolo de exaustão;
- IC (insuficiente cardíaco, fase descompensada): ratos SHR com 18 meses que foram submetidos ao protocolo de exaustão;

Não foi possível incluir o grupo controle na fase descompensada devido a perda dos animais até atingirem a idade de 18 meses.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (parecer nº 10/2018) (Anexo 1). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

## **4.2 Protocolo de Natação**

### **4.2.1 Aclimação ao meio líquido**

Todos os animais foram submetidos à aclimação ao meio líquido em piscina, durante três dias consecutivos e em horários alternados, por um período 10 minutos de natação (temperatura da água  $32 \pm 1^\circ \text{C}$ ) sem sobrecarga.

### **4.2.2 Protocolo de exercício agudo de natação até exaustão**

Previamente ao protocolo de natação os animais foram pesados para confecção das cargas, correspondentes a 5% da massa corporal, a qual foi afixada na cauda dos animais. Os animais foram alocados em uma piscina com água mantida entre  $32 \pm 1^\circ \text{C}$  e foram submetidos a natação por 3 h com 5% do peso corporal (carga de trabalho) anexado a cauda (OLÁH et al., 2015), a **Figura 2**. Imagem representativa da sessão aguda de exercício representa o protocolo de exercício agudo. Esse protocolo de natação, com peso preso à cauda, foi escolhido pois estudo prévio sugere que seja um exercício exaustivo capaz de gerar lesão cardíaca, além de estresse oxidativo em animais (NIE et al., 2010).



**Figura 2.** Imagem representativa da sessão aguda de exercício

A partir do momento em que o animal, com uma sobrecarga de 5% do peso corporal, foi colocado na água, o cronômetro foi disparado e foram marcados 180 minutos. Nesse momento os animais foram retirados da água e eutanasiados. Os animais que não conseguiram manter o tempo de 180 minutos, foram retirados da água quando não conseguiam mais subir a superfície para respirar dentro de um período de 10 segundos, a contagem era iniciada quando os animais encontravam-se 10 cm abaixo da superfície da água (CASIMIRO-LOPES et al., 2012)., após serem retirados da água os animais eram posicionados em decúbito dorsal, conforme demonstrado na **Figura 3**, caso esses animais não retornassem para a posição prona era considerado que o animal estava em exaustão (LIU et al., 2005). O número de imersões no fundo da piscina não foi contado porque os ratos têm esse comportamento (CASIMIRO-LOPES et al., 2008).



**Figura 3.** Imagem representativa do posicionamento do animal no final do protocolo.

#### **4.3 Pressão arterial caudal e frequência cardíaca**

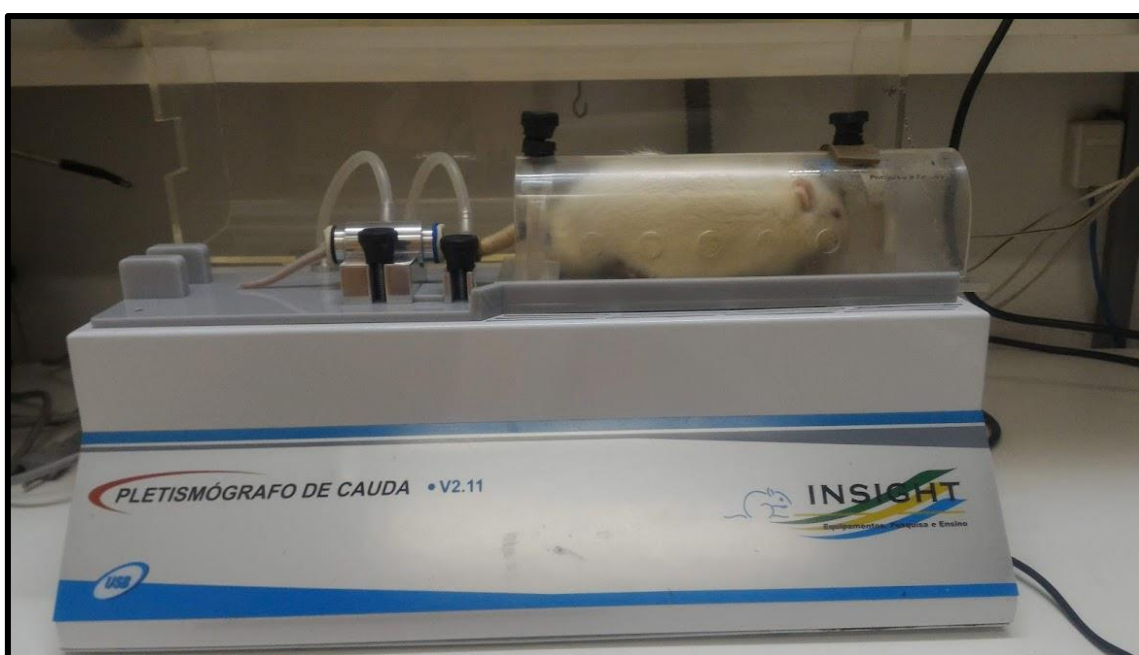
A aferição da frequência cardíaca (FC) e da pressão arterial (PA) de todos os animais foi realizada quando os animais completaram 16 semanas para os grupos NC, NE, HC, HE e IC para confirmação do estado hipertensivo por meio de método não

invasivo e sem utilização de anestésico. O grupo IC passou por uma nova mensuração quando completou 18 meses de idade.

Por um período de sete dias antes da realização das mensurações, todos os ratos foram aclimatados às condições e aos aparatos utilizados para as medidas da FC e da PA. Os registros foram realizados em um único momento, em sala própria para finalidade, onde a temperatura e a luminosidade foram devidamente controladas e o ambiente calmo, sem influência de agentes externos.

As medidas foram realizadas por método não invasivo através de pletismografia (INSIGHT) de cauda, conforme descrito previamente (ZACARIAS et al., 2017).

Os animais foram posicionados em um dispositivo de contenção ventilados, conforme demonstrado na **Figura 4** e aquecidos a uma temperatura de 29-32° C por 10 minutos, para que ocorresse a vasodilatação do animal. O manguito de pressão foi posicionado na cauda, onde a sensibilidade de pulso é maior. O manguito foi acionado e inflado até ocluir a passagem de sangue pela artéria da cauda e o sinal de pulso cessasse. Posteriormente o manguito foi desinflado, e a PA foi determinada a partir do momento da recaptação do sinal, foram realizadas de três a cinco medidas da PA para cada animal, e calculada a média dos valores. Foram considerados hipertensos e incluídos no experimento aqueles que apresentaram  $PAS \geq 150$  mmHg (OKAMOTO; AOKI, 1963).



**Figura 4.** Imagem representativa da mensuração da pressão arterial e frequência cardíaca dos animais.

#### **4.4 Peso Corporal**

O peso corporal dos animais foi mensurado antes do início dos procedimentos para confecção das sobrecargas. O peso do animal foi utilizado para calcular os índices de hipertrofia ventricular, através da razão do peso do ventrículo esquerdo pelo peso corporal de cada animal.

#### **4.5 Coleta e processamento de amostras**

##### **4.5.1 Eutanásia e decapitação**

Ao final do protocolo de exercício os animais dos grupos NE, HE e IC, foram imediatamente eutanasiados por decapitação, sem a utilização de anestesia prévia, com a utilização de guilhotina própria para roedores (Insight EB 271), Ribeirão Preto, SP-Brasil), já os animais dos grupos controles (NC e HC) foram colocados na água por 5 minutos e posteriormente foram eutanasiados. Após a eutanásia, o sangue foi coletado e processado para congelamento, o coração, o rim direito, o músculo gastrocnêmio foram dissecados, pesados e armazenados, conforme cada análise.

##### **4.5.2 Processamento das análises histológicas**

Fragmentos do rim e do músculo gastrocnêmio foram armazenados em uma solução fixadora de Karnovsky por um período de 24 horas, posteriormente foram desidratados em etanol e incluídos em metacrilato (Historesin, Leica Microsystems, Nussloch, Germany). Utilizando um micrótomo rotativo (RM 2255 Leica Biosystems, Nussloch, Germany) secções histológicas de 3  $\mu\text{m}$  de espessura foram obtidas. Utilizou-se uma a cada 10 secções, com um intervalo mínimo de 30  $\mu\text{m}$  entre os cortes para evitar análise de áreas repetidas. Ao final do processo as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) ou Picrosirius Red para avaliar as principais alterações estruturais.

As análises quantitativas foram realizadas por meio de técnicas morfométricas digitais, os testes foram realizados em uma lâmina única de cortes de tecido de cada animal. Cinco imagens aleatórias do tecido do rim e do músculo gastrocnêmio foram obtidas de cada animal no microscópio (Olympus BX-53, Tokyo, Japan), acoplado à

câmera digital (Olympus AX-70; Tokyo, Japan). Todas as imagens foram capturadas e analisadas nos softwares de processamento e análise de imagens Image-Pro-Plus (IpWin32).

Foi utilizada a técnica de coloração de Picrosirius Red (Junqueira 1979) para análise quantitativa das fibras de colágeno (tipos I e III), e a contagem das fibras em microscópio óptico de luz polarizada foi realizada através da análise de birrefringência digital. Cinco imagens aleatórias do músculo gastrocnêmio, de cada animal, foram obtidas com lente objetiva de 20× (1 pixel = 0,456µm), no microscópio (Olympus BX-53, Tokyo, Japan), acoplado à câmera digital (Olympus AX-70; Tokyo, Japan). A luz polarizada permitiu distinguir duas cores: a coloração verde, característica das fibras de colágeno tipo III, e o espectro vermelho, indicando fibras de colágeno denso tipo I. O software Image-Pro-Plus foi usado para analisar as imagens

#### **4.5.3 Isolamento dos Cardiomiócitos**

O isolamento de cardiomiócitos foi realizado conforme descrito por NATALI et al. (2002, 2015). A eutanásia dos animais foi realizada imediatamente após a sessão de exercício agudo, para os grupos exercício, e os grupos controles após serem retirados da imersão em água, através do procedimento de decapitação e sem o uso de anestésico.

Após a eutanásia, o coração foi removido através de toracotomia, e antes da perfusão das soluções de isolamento o mesmo foi lavado em solução contendo 750 mM de CaCl<sub>2</sub>, para retirar o excesso de sangue. O coração foi então seco e pesado antes de ser montado em um aparelho de perfusão Langendorff, no qual a aorta ascendente foi fixada com um fio de sutura em uma agulha de aço inoxidável modificada (cânula), e dessa forma o coração isolado foi colocado em um sistema de perfusão (Langendorff adaptado) e perfundido com a solução de isolamento, contendo 750 mM de CaCl<sub>2</sub>, em um fluxo constante até que os vasos coronários estivessem limpos.

Logo em seguida, a perfusão foi alterada para uma solução sem cálcio contendo 0,1 mM de ácido tetraetilenoglicol (EGTA), durante 4 a 6 minutos, para o rompimento dos discos intercalares entre os miócitos e quelação de Ca<sup>2+</sup>. Para finalizar a perfusão foi alterada para uma solução contendo 1 mg.ml<sup>-1</sup> de colagenase tipo II (Worthington, EUA), 0,1 mg.ml<sup>-1</sup> de protease (Sigma-Aldrich, EUA) por 10-15 minutos para digestão das fibras



colágenas extracelulares. Todas as soluções utilizadas no isolamento foram mantidas a temperatura de 35-37°C e oxigenadas (O<sub>2</sub> 100% - White Martins, Brasil).

Após a perfusão, o coração digerido foi então removido da cânula e o ventrículo esquerdo foi separado do ventrículo direito e dos átrios, pesado em balança de precisão (Gehaka – Brasil, modelo AG200) e cortado em pequenos pedaços. As amostras foram colocadas em um balão contendo 5 ml de solução enzimática (colagenase e protease). Os frascos foram agitados por 5 min em banho maria a 37 °, sendo o tecido cardíaco oxigenado (O<sub>2</sub> 100% – White Martins, Brasil) durante todo o procedimento. A seguir, o conteúdo dos frascos foi filtrado e centrifugado (3000 rpm) por 30 segundos. O sobrenadante foi removido e os cardiomiócitos foram suspensos na solução de 750 µM de CaCl<sub>2</sub>, esse processo foi repetido três vezes. Os cardiomiócitos foram armazenados em placas de Petri na geladeira (5°C) e usadas dentro de 2-3 horas após o isolamento.

#### **4.5.3.1 Soluções de isolamento**

As soluções utilizadas para o isolamento dos cardiomiócitos foram feitas usando-se uma solução básica com água deionizada ultrapura (Milli-Q) e a seguinte composição (em mM): NaCl (130) – 7,6 g/L; MgCl<sub>2</sub> (1,43) – 0,28 g/L; KCl (5,4) – 0,4 g/L; ácido etanosulfônico – hidroxietil piperazina (HEPES) (5) – 0,062 g/L, taurina (20) – 2,38 g/L; creatina (10) – 1,3 g/L; pH = 7,3; temperatura ambiente.

##### *Solução A:*

Para se fazer a solução de isolamento contendo Ca<sup>2+</sup>, foram adicionados 375 µM de CaCl<sub>2</sub> (1 M) em 500 ml de solução básica.

##### *Solução B:*

Para a solução de isolamento livre de Ca<sup>2+</sup>, foram adicionados 250 µM de EGTA (100 mM) em 250 ml de solução básica.

##### *Solução C:*

Para a solução enzimática de isolamento, foram adicionados 20 mg de colagenase, 2 mg de protease e 15 µL de CaCl<sub>2</sub> (100 mM) em 20 ml de solução básica.

#### **4.5.3.2 Solução de perfusão tampão HEPES**

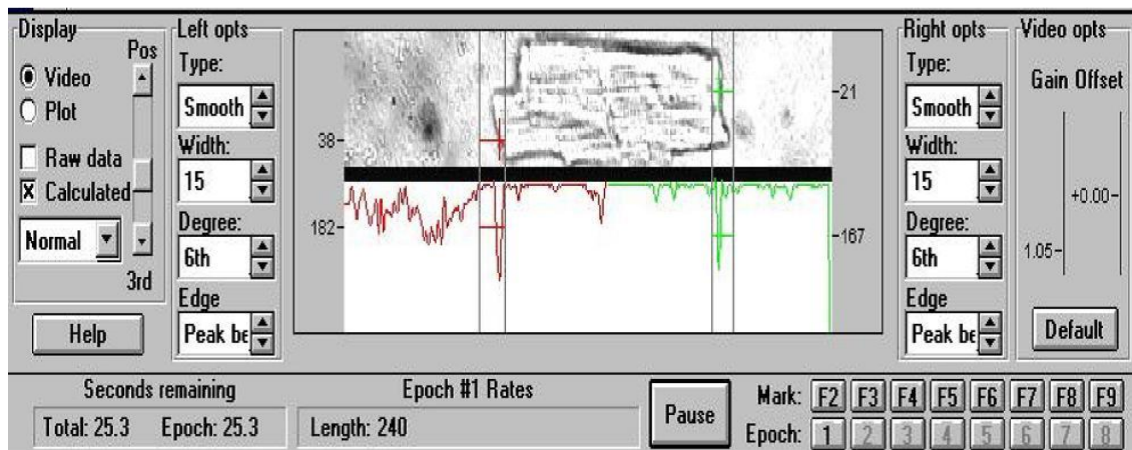
Durante as análises da contratilidade celular e transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , os cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo foram banhados com uma solução fisiológica contendo (em mM): solução estoque: NaCl(113) – 65,99 g/l; HEPES (5) – 11,9 g/l;  $NaH_2PO_4$  (1) – 1,42 g/l;  $MgSO_4$  (1) – 2,46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

#### 4.5.3.3 Mensuração da Contratilidade Celular

A contratilidade celular foi medida como descrito anteriormente por LOCATELLI et al. (2017), resumidamente as contrações dos cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo foram medidas através da técnica de alteração do comprimento dos cardiomiócitos usando-se o sistema de detecção de bordas (Ionoptix, EUA) montado num microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA). Os cardiomiócitos isolados foram acomodados em uma câmara experimental giratória com a base de vidro montada no microscópio, e banhados pela solução de perfusão tampão HEPES em temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ C$ ). Foram visualizados em um monitor através de uma câmera (Myocam, Ionoptix, EUA) acoplada ao microscópio invertido, utilizando-se um programa de detecção de imagens (Ionwizard, Ionoptix, EUA) com uma frequência de 240 Hz.

Os cardiomiócitos foram estimulados externamente à frequência de 1Hz, 3 Hz, 5Hz e 7 Hz com pulsos de tensão de 5 ms de duração e uma intensidade de 20 V utilizando-se um par de eletrodos de aço, acoplado nos dois lados internos da câmara, através de um estimulador elétrico (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA). As bordas dos cardiomiócitos foram identificadas com duas janelas (direita e esquerda) e definidas através do ajuste do contraste (preto e branco) gerado pela qualidade da imagem projetada dos cardiomiócitos. As contrações dos cardiomiócitos após a estimulação elétrica foram capturadas pelo sistema de detecção de bordas (Ionwizard, Ionoptix, EUA) e armazenadas para análise posterior **Figura 5**. O encurtamento celular (expresso como uma porcentagem de comprimento da célula em repouso), tempo até o pico da contração,

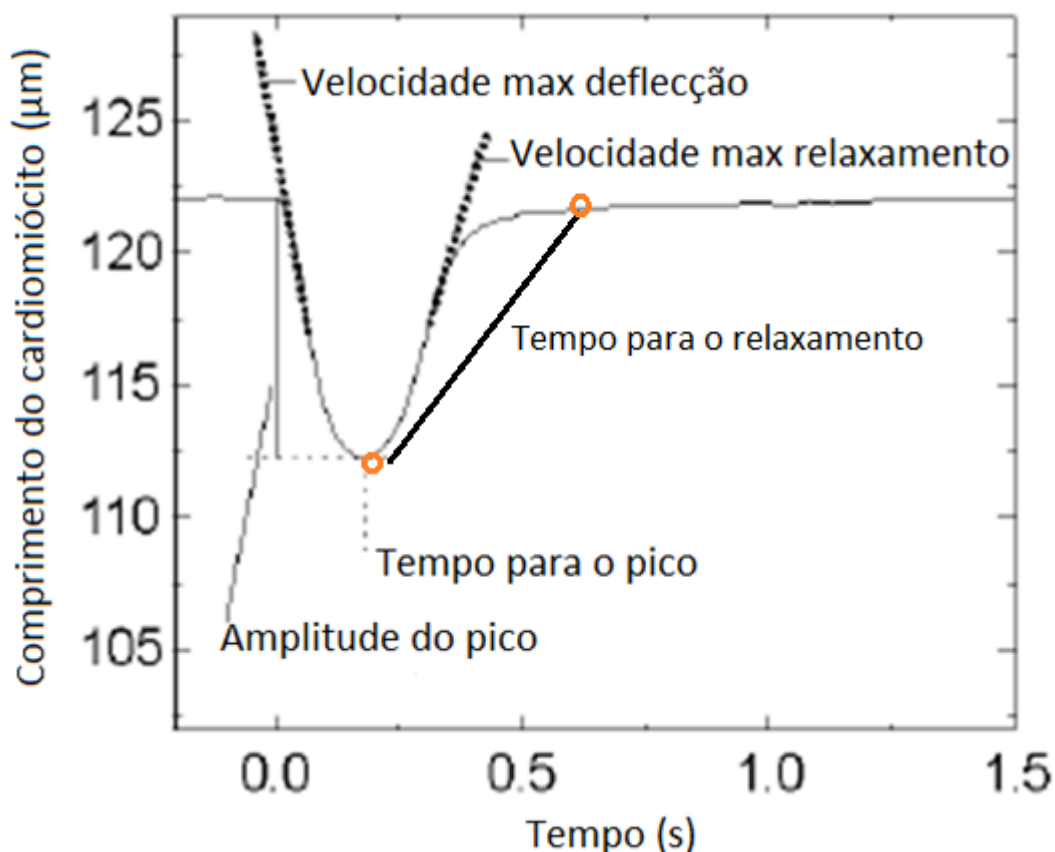
tempo até 50% do relaxamento e a velocidade contração e relaxamento foram calculados.



**Figura 5.** Imagem representativa do programa utilizado para registro das contrações e aquisição das imagens dos cardiomiócitos isolados. A definição das bordas direita e esquerda é projetada através dos picos verde e vermelho, respectivamente (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013).

Os cardiomiócitos selecionados para análise estavam em boas condições, com as bordas (direita e esquerda) e as estriações sarcoméricas bem definidas, em repouso e relaxados, sem apresentar contrações involuntárias. Os registros foram realizados em temperatura ambiente ( $\sim 25^{\circ}\text{C}$ ), até quatro horas após o isolamento dos cardiomiócitos.

A partir dos registros obtidos, foram analisadas a amplitude de contração (variação do comprimento celular de repouso, %), tempo para o pico de contração (tempo para atingir o pico de contração, milissegundos) e tempo para 50% do relaxamento (tempo para 50% do relaxamento celular, milissegundos), além das velocidades de contração e relaxamento. Os principais parâmetros avaliados estão demonstrados na **Figura 6**.



**Figura 6.** Traçado representativo de uma contração celular estimulada na frequência de 1 Hz, e os parâmetros avaliados (Adaptado do Manual Ion Optix).

#### 4.5.3.4 Medidas do transiente de $[Ca^{2+}]_i$ :

As mensurações do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  do VE foram realizadas conforme descrito por Rodrigues *et al.* (2018), resumidamente, foi utilizado um microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA). Os miócitos foram incubados com o indicador fluorescente de  $Ca^{2+}$ , permeável à membrana plasmática, Fura-2 ácido aminopolicarboxílico (Fura-2AM, ThermoFisher, Waltham, EUA).

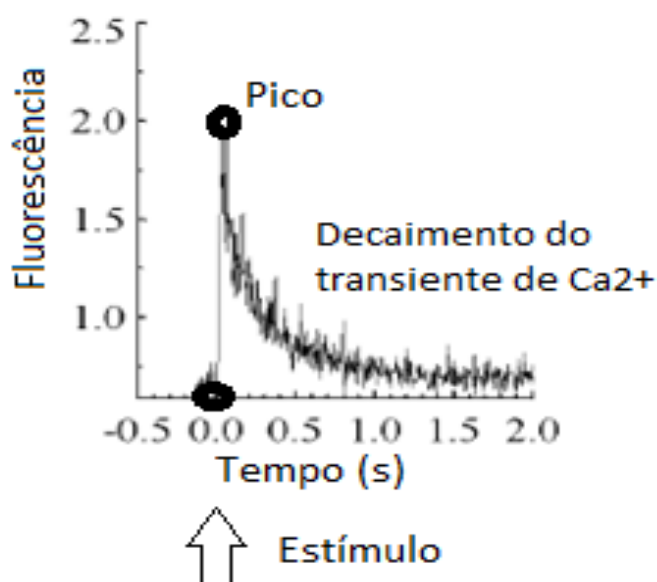
Fura-2 AM (5  $\mu$ M) foi preparado em uma solução de estoque a base de dimetilsulfóxido – DMSO (50  $\mu$ l de DMSO em 50 $\mu$ g de Fura-2 AM). Adicionou-se 10 $\mu$ l dessa solução de Fura-2 AM/DMSO em 4 ml de meio celular contidos em tubo falcon envolvido com folha fina de alumínio. A solução foi agitada em superfície plana por 10 min (velocidade  $\pm$  120x/mim). Em seguida o tubo foi centrifugado (3.000 rpm), removeu-se o sobrenadante e adicionou-se aproximadamente 4ml de EGTA. Após esse

procedimento, os cardiomiócitos foram levados para um refrigerador por 30 min (todo procedimento foi realizado sem contato da luz com a solução).

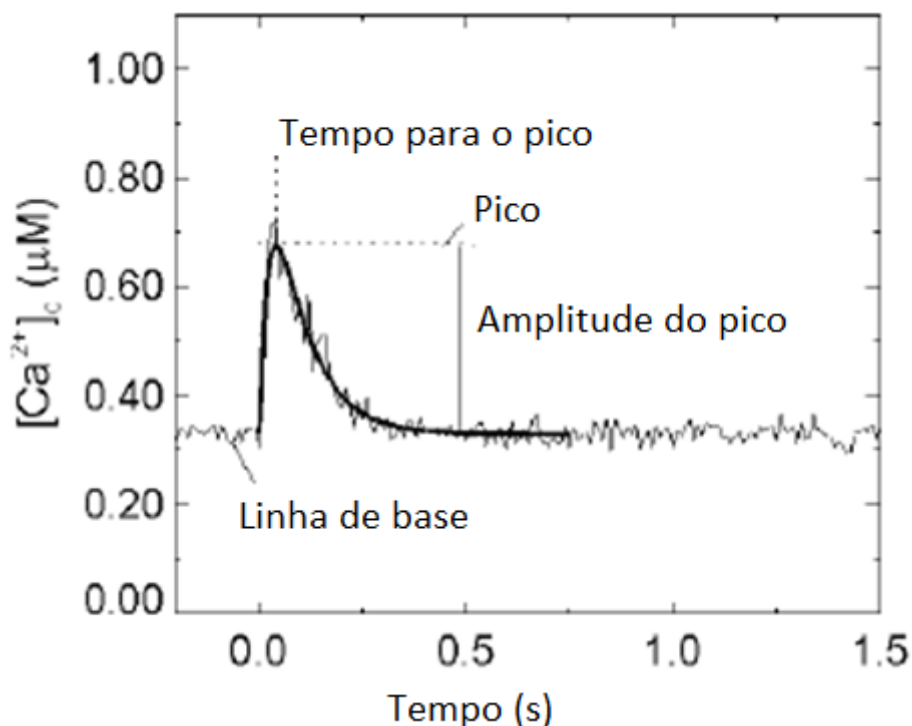
Utilizou-se um sistema de excitação dupla que detecta a fluorescência excitada por luz UV com 340 e 380nm (Ionoptix - EUA). Foi colocada uma pequena quantidade da solução em uma câmara de superfusão que recebeu solução tampão. O miócito foi posicionado dentro de uma janela (ajustável) com bordas aparentes, e foram estimulados eletricamente (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA) por um par de eletrodos de platina acoplado nos dois lados internos da câmara, com um pulso supra-limiar de 0,2 ms e 20V (*voltage square pulse*), na frequência de 1 Hz, 3 Hz, 5Hz e 7Hz para produzir condições estacionárias. A emissão de fluorescência foi detectada entre 340 e 380 nm, por um tubo fotomultiplicador.

Somente foram utilizados cardiomiócitos que possuíam bordas e estrias regulares definidas, relaxados em repouso, sem apresentar contrações espontâneas. Os registros foram feitos respeitando até quatro horas após o isolamento dos cardiomiócitos e na temperatura ambiente (~ 25 °C). Foram registradas as medidas de amplitude do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$ , tempo para o pico do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  e tempo para 50% do decaimento de  $[Ca^{2+}]_i$ .

Os parâmetros avaliados são demonstrados na **Figura 7** e **Figura 8**.



**Figura 7.** Traçado representativo dos parâmetros avaliados através do transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  (Adaptado do Manual Ion Optix).



**Figura 8.** Traçados representativos das imagens de fluorescência para o transiente de  $[Ca^{2+}]_i$  em cardiomiócitos isolados de ratos (Adaptado do Manual Ion Optix).

#### 4.5.4 Mensuração do comprimento e largura celular

Os cardiomiócitos isolados foram acomodados em uma câmara experimental e banhados pela solução de perfusão em temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ C$ ). Através de uma câmara (MyoCam, Ionoptix, Milton, MA, EUA) acoplada a um microscópio invertido (Nikon Eclipse TS100, Melville, NY EUA) imagens das células foram capturadas, posteriormente no monitor de um microcomputador, utilizando um programa de captação de imagens (M-Vision 5XX, Ionoptix, Milton, MA, EUA), essas imagens foram visualizadas horizontalmente, com aumento de 400x por meio de uma lente de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, Melville, NY EUA). O comprimento do miócito foi determinado a partir da medição realizada na imagem da célula projetada no monitor, desde a borda direita até a borda esquerda. A largura celular foi determinada medindo-se a imagem gerada no monitor, desde a borda superior até a borda inferior (**Figura 9**). Para medida do comprimento e da largura dos cardiomiócitos foi utilizada uma régua de precisão de 1 milímetro. Sendo que na calibração do sistema, cada centímetro correspondia a 12 micrômetros. As células usadas para medição estavam em boas

condições, sem apresentar contrações espontâneas, com as bordas e as estriações sarcoméricas definidas e relaxadas em repouso. Foram usadas 60 células por grupo, sendo 10 células de cada animal.



**Figura 9.** Representação das dimensões medidas em imagem de um cardiomiócito ventricular esquerdo de rato. As linhas indicam como foram obtidos o comprimento (amarelo) e largura (vermelho).

#### 4.5.5 Análises bioquímicas

Amostras de sangue foram colhidas e processadas no momento da eutanásia para análise da creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) e posteriormente armazenadas no  $-80^{\circ}$  até o momento das análises. As amostras de CK e LDH foram medidas em analisador automático (CM200, Wiener, Argentina) no Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC, UFOP) de acordo com instruções do fabricante dos kits da marca Bioclin® (Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, Brasil).

#### 4.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas através do software GraphPad Prism 8.0®. Previamente as análises foram realizadas os testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk, conforme o número da amostra. Para os dados que apresentaram distribuição normal, realizou-se ANOVA de uma via, com o *post-hoc* de Tukey para localizar a diferença entre os grupos. Quando a distribuição foi considerada não normal, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis, com *post-hoc* de Dunn's. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio-padrão da média. O nível de significância adotado foi de 5%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características gerais e cardiovasculares

Os resultados obtidos referentes a caracterização dos grupos, peso corporal, peso dos ventrículos, peso do ventrículo esquerdo, peso relativo do ventrículo esquerdo, estão apresentados na **Tabela 1**.

Os animais normotensos apresentaram uma massa corporal mais elevada do que os animais HC, HE e IC, além disso o peso do coração e dos ventrículos do grupo IC foi significativamente maior do que os demais grupos experimentais ( $p < 0,00$ ), o peso do ventrículo esquerdo apresentou aumento no grupo IC quando comparado aos grupos HC e HE ( $p \leq 0,01$ ), entretanto quando calculada relação do peso do ventrículo esquerdo com a massa corporal os grupos HC, HE e IC apresentaram uma relação aumentada ( $p < 0,00$ ), o que caracteriza um quadro hipertrófico do ventrículo esquerdo nos animais hipertensos. Já a relação dos pesos dos ventrículos pelo peso corporal, os grupos HE e IC apresentaram maior relação, sendo o grupo IC o com maior relação. O peso do rim direito foi significativamente reduzido nos grupos hipertensos (HC e HE) quando comparado os grupos normotensos (NC e NE), já o grupo IC apresentou aumento significativo em relação aos grupos hipertensos (HC e HE), entretanto quando calculada a relação da massa do rim com o peso corporal os animais hipertensos e insuficientes foram os que apresentaram maior relação.



**Tabela 1.** Características gerais e cardiovasculares

	NC	NE	HC	HE	IC	<i>p</i>
PC (g)	436,3±36,90	436,6±29,08	275,3±13,69* <sup>‡</sup>	259,6±17,84* <sup>‡</sup>	374,6±36,71* <sup>‡£α</sup>	0,00
Peso do coração (g)	1,414±0,11	1,470±0,18	1,260±0,07 <sup>‡</sup>	1,205±0,067* <sup>‡</sup>	2,469±0,29* <sup>‡£α</sup>	0,00
PV(g)	1,30±0,09	1,33±0,16	1,17±0,13	1,21±0,07	2,105±0,57* <sup>‡£α</sup>	0,00
PVE (g)	0,837±0,07	0,848±0,11	0,765±0,133	0,776±0,102	1,035±0,23 <sup>£α</sup>	0,01
PV/PC	3,00±0,32	3,06±0,31	4,28±0,63	4,70±0,58* <sup>‡</sup>	5,80±1,85* <sup>‡£</sup>	0,00
PVE/PC (mg/g)	1,93±0,26	1,94±0,22	2,79±0,60* <sup>‡</sup>	3,01±0,40* <sup>‡</sup>	2,83±0,68* <sup>‡</sup>	0,00
Peso do rim direito (g)	1,352±0,12	1,254±0,07	1,00±0,06* <sup>‡</sup>	0,99±0,15* <sup>‡</sup>	1,36±0,13 <sup>£α</sup>	0,00
Peso do rim/PC (mg/g)	3,0±0,21	2,87±0,19	3,64±0,20* <sup>‡</sup>	3,29±1,57 <sup>‡</sup>	3,66±0,39 <sup>‡</sup>	0,00

Dados expressos em média ± desvio padrão de 6 a 7 animais por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle. NE, grupo normotenso exaustão. HC, grupo hipertenso controle. HE, grupo hipertenso exaustão; IC, grupo insuficiente cardíaca exaustão. PC, peso corporal. PV, peso do ventrículo. PVE, peso do ventrículo esquerdo. \*, significativamente diferente de NC; <sup>‡</sup>, significativamente diferente do NE; <sup>£</sup>, significativamente diferente de HC; <sup>α</sup>, significativamente diferente de HE.

Os valores de frequência cardíaca e pressão arterial dos animais dos grupos experimentais estão apresentados na **Tabela 2**. A FC, PAS e PAD foram significativamente maiores nos grupos hipertensos (HC e HE) e no grupo IC em comparação aos normotensos ( $P < 0,00$ ). O que confirma o estado hipertensivo dos animais SHR. Não houve diferença significativa quando comparados os grupos NC e NE, além disso, não houve diferença quando comparado os grupos HC e HE, o que demonstra a homogeneidade entre os grupos.

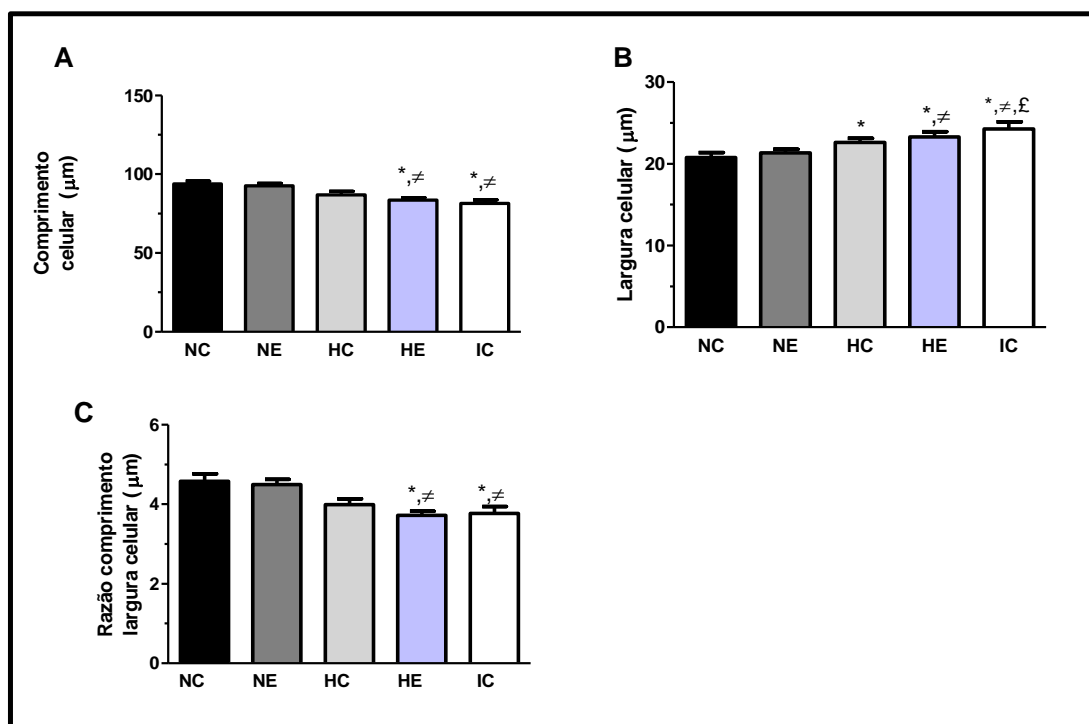
**Tabela 2.** Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca de repouso (FCR) dos grupos experimentais.

	NC	NE	HC	HE	IC	<i>p</i>
FC (bpm)	373,4±64,56	349,8±27,11	435,0±20,09* <sup>‡</sup>	457,9±39,46* <sup>‡</sup>	380,5±21,54 <sup>£α</sup>	0,000
PAS (mmHg)	137,5±12,39	133,0±14,21	223,2±16,41* <sup>‡</sup>	253,7±30,76* <sup>‡</sup>	257,9±21,74* <sup>‡</sup>	0,00
PAD (mmHg)	84,67±18,25	88,08±15,28	200,1±14,63* <sup>‡</sup>	231,1±26,82* <sup>‡</sup>	234,6±27,35* <sup>‡</sup>	0,00

Dados expressos em média ± desvio padrão de 6 a 7 animais por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle. NE, grupo normotenso exaustão. HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, grupo insuficiente cardíaca exaustão; FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica. PAD, pressão arterial diastólica. \*, significativamente diferente de NC; <sup>‡</sup>, significativamente diferente do NE; <sup>£</sup>, significativamente diferente de HC; <sup>α</sup>, significativamente diferente de HE.

## 5.2 Dimensões dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo

As dimensões dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo estão apresentadas na **Figura 10**. O comprimento dos cardiomiócitos dos grupos HE e IC foram significativamente menores em relação aos grupos NC e NE. Além disso, observa-se que a largura foi estatisticamente maior nos grupos HC, HE, IC, entretanto a razão comprimento largura seguiu o mesmo padrão do comprimento.

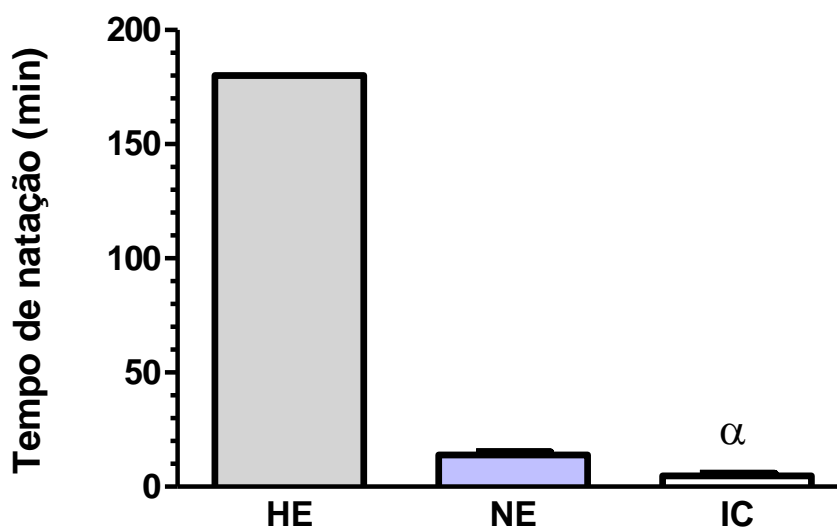


**Figura 10.** Dimensões de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo. Comprimento (A); Largura (B); Razão comprimento/largura (C). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 6 a 7 animais por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, grupo insuficiente cardíaca exaustão.

\*, significativamente diferente de NC;  $\neq$ , significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC;  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

### 5.3 Desempenho dos animais no protocolo de natação até exaustão

A **Figura 11** mostra o tempo total até a exaustão dos grupos normotensos, hipertensos e insuficientes cardíacos quando submetidos ao protocolo de natação onde foi observado que apenas os animais hipertensos conseguiram completar o protocolo proposto (180 minutos). No grupo NE o ponto exaustão coincidiu com o afogamento de dois animais, o que é comum de acontecer em protocolos de natação (OLÁH et al., 2015). Os animais normotensos conseguiram manter a natação por  $13,98 \pm 3,41$  minutos, já os animais insuficientes cardíacos mantiveram a natação por apenas  $4,83 \pm 1,57$  minutos. Diante disso, foi realizado o teste estatístico apenas entre NE e IC, no qual podemos observar que houve uma diferença significativa ( $p < 0,00$ ), pois os animais IC apresentaram uma redução no desempenho, enquanto os animais SHR na fase compensada apresentaram um desempenho aumentado.



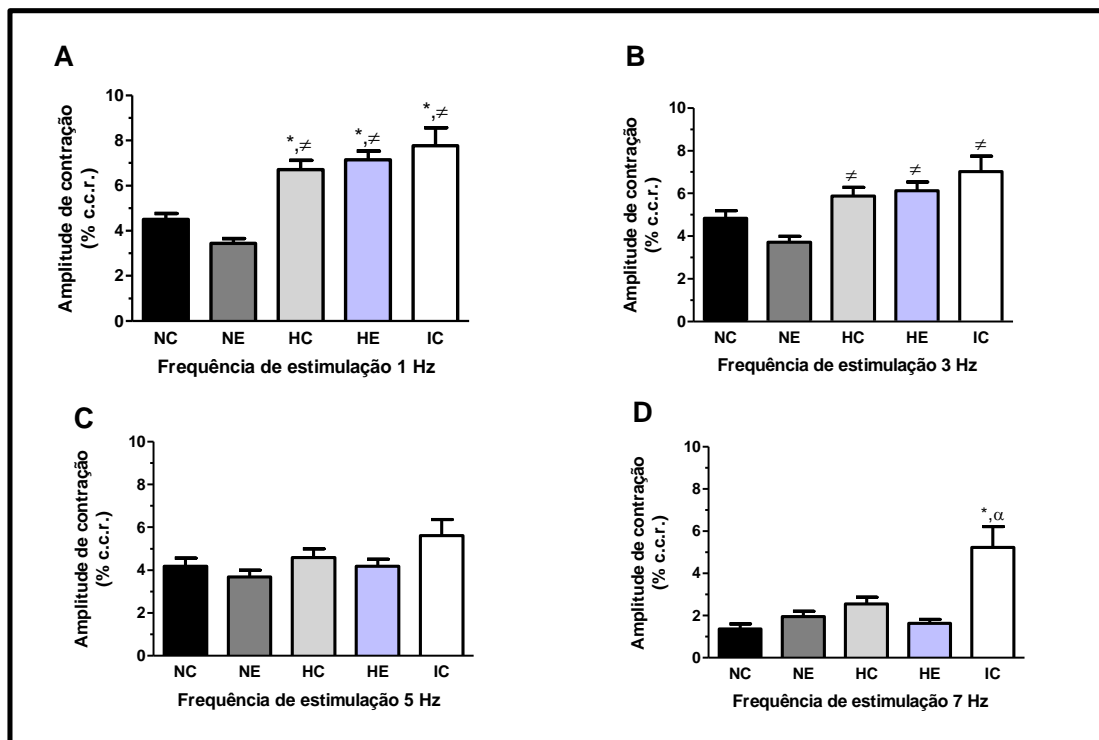
**Figura 11.** Tempo total de natação até exaustão para os grupos exaustão. NE, normotenso exaustão; HE, hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão, n=7 animais por grupo experimental.  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

#### 5.4 Função contrátil de miócitos isolados do ventrículo esquerdo

A **Figura 12** apresenta os resultados de contratilidade dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo dos grupos experimentais.

A amplitude de contração dos grupos normotensos e hipertensos na estimulação de 1Hz não apresentou diferença significativa quando realizado exercício até a exaustão. Foi observada diferença significativa quando comparado o grupo HC, HE, IC com o grupo NC e NE (NC:  $4,50 \pm 2,41$ ; NE:  $3,44 \pm 2,13$ ; HC:  $6,71 \pm 3,88$ ; HE:  $7,14 \pm 3,61$ ; IC:  $7,77 \pm 4,25$ ;  $p < 0,00$ ). O que mostra que independente do exercício a amplitude do pico de contração para os animais hipertensos e insuficientes cardíacos é aumentada Figura 12A. Na estimulação de 3 Hz o grupo HC, HE e IC apresentaram aumento significativo em relação ao grupo NE, o qual após a sessão aguda de exercício apresentou uma queda na amplitude (NC:  $4,84 \pm 3,08$ ; NE:  $3,72 \pm 2,59$ ; HC:  $5,87 \pm 3,92$ ; HE:  $6,12 \pm 3,78$ ; IC:  $7,02 \pm 4,08$ ;  $p < 0,00$ ) Figura 12B. Quando as células foram estimuladas a 5Hz não foi observada diferença (NC:  $4,18 \pm 2,89$ ; NE:  $3,68 \pm 2,76$ ; HC:  $4,59 \pm 3,77$ ; HE:  $4,17 \pm 3,07$ ; IC:  $5,61 \pm 3,92$ ;  $p = 0,32$ ) Figura 12 C e por fim na estimulação de 7 Hz apenas o grupo IC apresentou aumento significativo na amplitude de contração em relação ao NC

e HE (NC:  $1,36 \pm 1,13$ ; NE:  $1,95 \pm 1,37$ ; HC:  $2,55 \pm 2,59$ ; HE:  $1,63 \pm 1,46$ ; IC:  $5,22 \pm 4,42$ ;  $p < 0,00$ ) Figura 12 D.

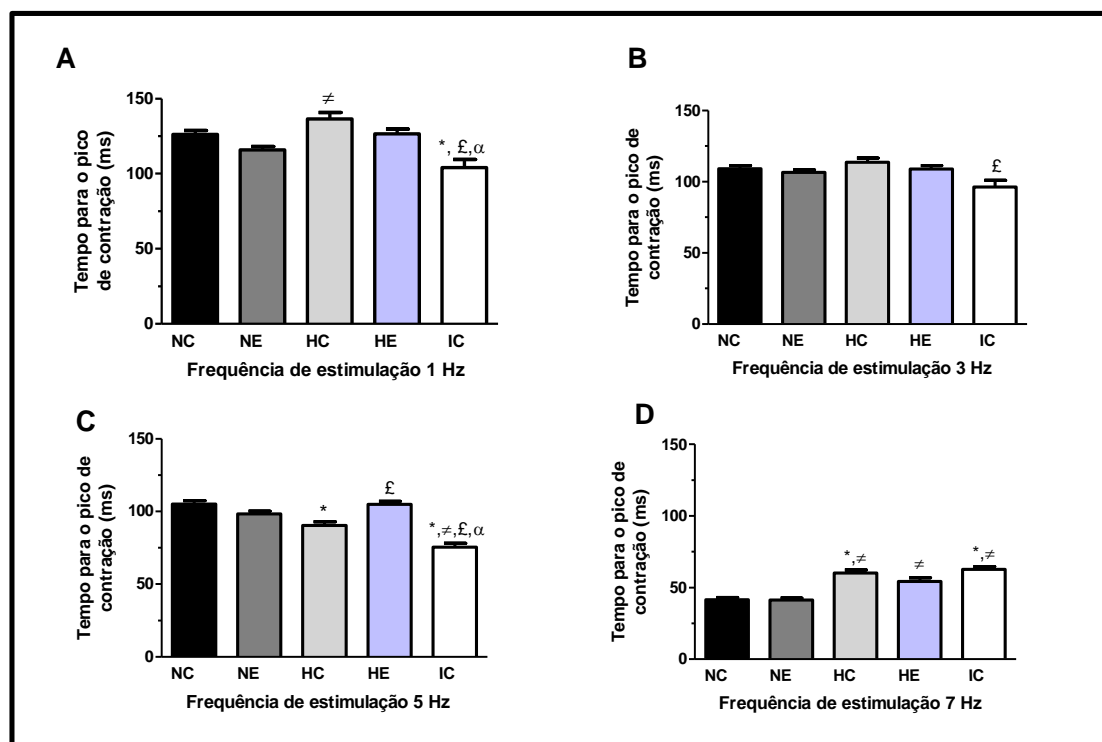


**Figura 12.** Amplitude de contração de miócitos isolados do ventrículo esquerdo nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz(C), 7Hz (D) (% de variação do comprimento celular de repouso). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão.

\*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.

Quando analisado o tempo para o pico de contração, sob a estimulação de 1Hz, o grupo HC apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo NE, e o grupo IC *versus* NC, HC e HE, onde os mesmos apresentaram redução no tempo para atingir o pico de contração. Os demais grupos não apresentaram diferenças nos tempos de contração, entretanto pode se observar que os grupos submetidos a sessão aguda de exercício apresentaram tempos reduzidos para atingirem o pico quando comparados aos seus respectivos controles (NC:  $126,1 \pm 24,15$  ms; NE:  $115,9 \pm 20,82$ ms; HC:  $136,6 \pm 40,63$ ms; HE:  $126,6 \pm 28,01$ ms; IC:  $104,0 \pm 28,3$ ;  $p < 0,00$ ) **Figura 13** A. Considerando a estimulação de 3 Hz os animais do grupo IC apresentaram redução significativa no tempo

para atingir o pico quando comparados ao HE (NC:  $109,2 \pm 18,44$  ms; NE:  $106,6 \pm 16,82$ ms; HC:  $113,5 \pm 28,83$  ms; HE:  $108,8 \pm 21,29$  ms; IC:  $96,17 \pm 25,79$ ;  $p < 0,00$ ) Figura 13B. Quando a estimulação dos cardiomiócitos foi ajustada para 5Hz o grupo HC apresentou uma redução significativa em relação ao NC, o HE apresentou um aumento significativo em relação ao HC e o IC apresentou uma redução significativa em relação aos demais grupos (NC:  $105,2 \pm 16,10$  ms; NE:  $98,41 \pm 15,90$  ms; HC:  $90,41 \pm 23,83$  ms; HE:  $105,0 \pm 19,34$  ms; IC:  $75,38 \pm 15,19$ ;  $p < 0,00$ ) Figura 13C. Considerando a estimulação de 7Hz os animais hipertensos e insuficientes cardíacos apresentaram um aumento no tempo para atingir o pico independente da sessão aguda de exercício (NC:  $41,5 \pm 7,43$  ms; NE:  $41,41 \pm 7,52$  ms; HC:  $60,2 \pm 17,53$  ms; HE:  $54,34 \pm 20,13$  ms; IC:  $62,74 \pm 8,38$ ;  $p < 0,00$ ) Figura 13 D.

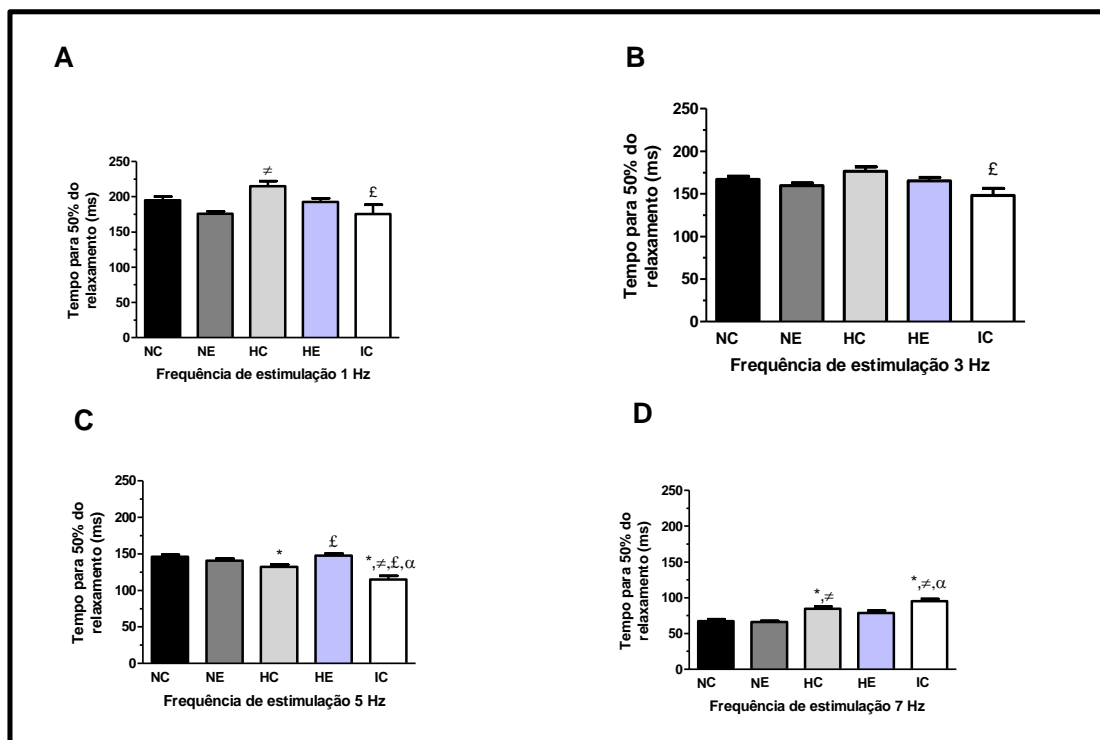


**Figura 13.** Tempo para o pico de contração (ms) de miócitos isolados do ventrículo esquerdo nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão.

\*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.

O tempo para 50% do relaxamento, em um 1HZ, seguiu o mesmo padrão do tempo para o pico de contração onde o grupo HC apresentou um aumento significativo, já o grupo IC apresentou uma redução (NC:  $195,2 \pm 44,88\text{ms}$ ; NE:  $175,7 \pm 34,36$ ; HC:  $214,9 \pm 70,34\text{ms}$ ; HE:  $192,8 \pm 45,91\text{ms}$ ; IC:  $175,5 \pm 70,15\text{ms}$  –  $p < 0,00$ ), além disso, os grupos NE e HE apresentaram redução no tempo para 50% do relaxamento em relação ao seus grupos controles **Figura 14 A** . Com uma estimulação de 3Hz o tempo para 50% do relaxamento do grupo IC apresentou uma redução significativa em relação ao HC (NC:  $167,0 \pm 32,58\text{ms}$ ; NE:  $159,7 \pm 27,04$ ; HC:  $176,8 \pm 48,26 \text{ ms}$ ; HE:  $165,6 \pm 35,97 \text{ ms}$ ; IC:  $148,1 \pm 45,33 \text{ ms}$  –  $p < 0,00$ ). Apesar de não ter havido diferença significativa uma sessão de exercício leva a redução do tempo para metade do relaxamento **Figura 14 B**.

Sob a estimulação de 5Hz o grupo HC apresentou redução em relação ao NC, o grupo HE em relação ao HC apresentou aumento e o grupo IC apresentou redução em relação a todos os grupos (NC:  $146,4 \pm 16,92 \text{ ms}$ ; NE:  $141,0 \pm 18,22$ ; HC:  $132,2 \pm 29,38 \text{ ms}$ ; HE:  $147,7 \pm 21,39 \text{ ms}$ ; IC:  $115,0 \pm 24,33 \text{ ms}$  –  $p < 0,00$ ) **Figura 14 C**. Já na estimulação de 7Hz o grupo HC apresentou um aumento no tempo para 50% do relaxamento em relação aos grupos NC e NE, o grupo IC apresentou aumento em relação ao NC, NE e HE (NC:  $67,32 \pm 12,38 \text{ ms}$ ; NE:  $65,88 \pm 10,27$ ; HC:  $84,72 \pm 20,59 \text{ ms}$ ; HE:  $78,90 \pm 21,79 \text{ ms}$ ; IC:  $95,16 \pm 13,97 \text{ ms}$  –  $p < 0,00$ ) **Figura 14 D**.

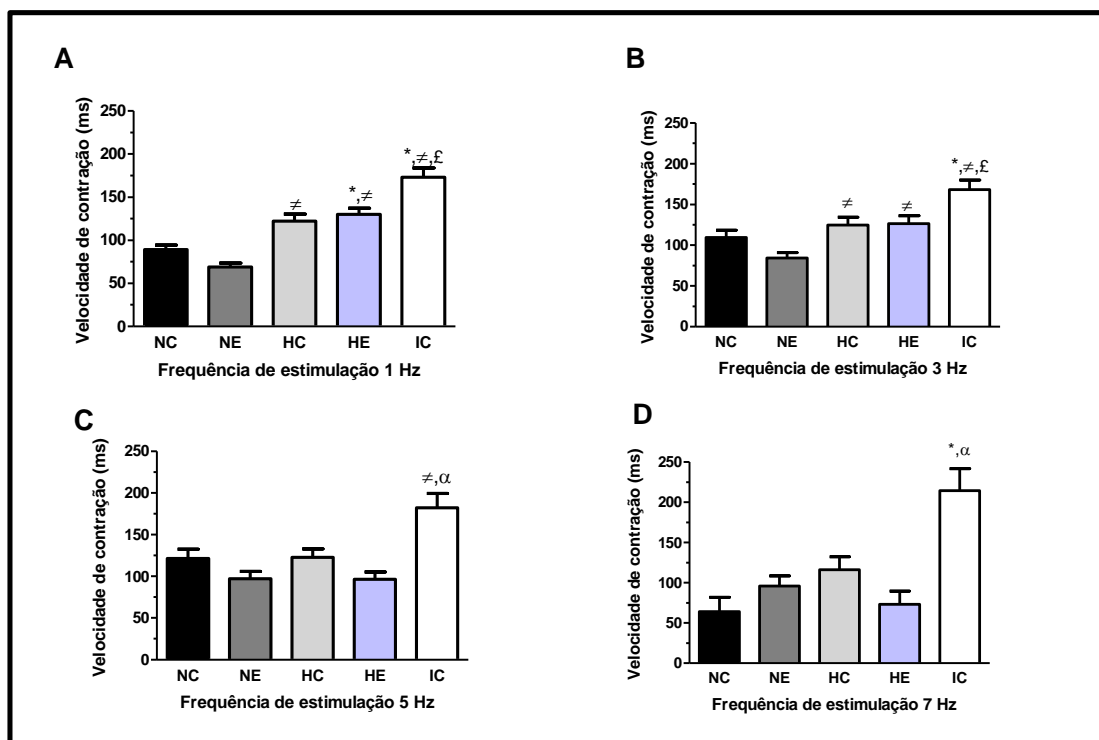


**Figura 14.** Tempo para 50% do relaxamento dos cardiomiócitos de miócitos isolados do ventrículo esquerdo nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão.

\*, significativamente diferente de NC;  $\neq$ , significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC;  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

A velocidade de contração, em 1Hz, apresentou um aumento do tempo no grupo HC em relação ao NE, o HE foi aumentado em relação ao NC e NE e o IC em relação ao NE, NE e HC (NC:  $89,27 \pm 44,80$  ms; NE:  $68,97 \pm 41,46$  ms; HC:  $122,1 \pm 73,07$  ms; HE:  $129,9 \pm 64,97$  ms; IC:  $173,0 \pm 47,41$  ms –  $p < 0,00$ ) **Figura 15 A**. Com a estimulação de 3Hz o grupos HC e HE apresentaram aumento na velocidade de contração e o grupo IC em relação ao NC, NE e HC (NC:  $109,8 \pm 72,17$ ; NE:  $84,29 \pm 61,81$ ; HC:  $125,0 \pm 85,93$ ; HE:  $126,5 \pm 83,34$ ; IC:  $168,3 \pm 53,46$  ms –  $p < 0,00$ ) **Figura 15 B**. Sob a estimulação de 5Hz apenas o grupo IC apresentou velocidade mais lenta em relação ao NE e HE (NC:  $121,6 \pm 71,21$ ; NE:  $97,05 \pm 66,54$ ; HC:  $122,5 \pm 82,35$ ; HE:  $96,27 \pm 74,80$ ; IC:  $182,0 \pm 65,58$  ms –  $p < 0,00$ ) **Figura 15 C**, e por fim em 7Hz o mesmo padrão foi seguido pelo grupo IC em relação aos grupos NC e HE (NC:  $64,10 \pm 64,11$ ; NE:  $96,13 \pm 53,20$ ; HC:  $116,5 \pm 79,20$ ; HE:  $73,22 \pm 72,11$ ; IC:  $214,4 \pm 90,82$  ms –  $p < 0,00$ ) **Figura 15 D**.

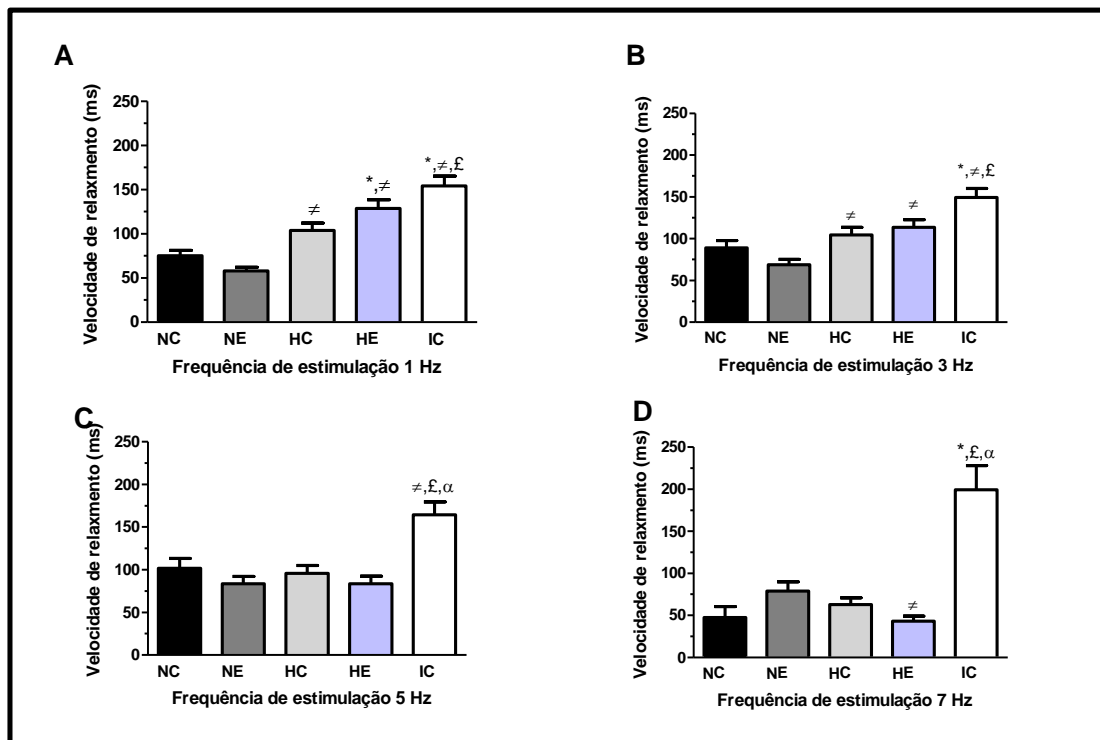




**Figura 15.** Velocidade de contração (ms) nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão. \*, significativamente diferente de NC;  $\neq$ , significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC;  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

As velocidades de relaxamento do cardiomiócitos isolado seguiram padrões semelhante aos da velocidade de contração, onde sob a estimulação de em 1Hz, apresentou um aumento do tempo no grupo HC em relação ao NE, o HE foi aumentado em relação ao NC e NE e o IC em relação ao NC, NE e HC (NC:  $75,26 \pm 53,07$ ; NE:  $57,74 \pm 41,02$ ; HC:  $103,9 \pm 74,93$ ; HE:  $128,7 \pm 85,50$ ; IC:  $154,2 \pm 48,30$  ms –  $p < 0,00$ ) 16 A. Com a estimulação de 3Hz o grupos HC e HE apresentaram aumento na velocidade de contração em relação ao NE e o grupo IC em relação ao NC, NE e HC (NC:  $89,09 \pm 70,87$ ; NE:  $68,92 \pm 56,47$ ; HC:  $104,4 \pm 80,67$ ; HE:  $113,4 \pm 79,29$ ; IC:  $149,2 \pm 49,16$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 16 B. Sob a estimulação de 5Hz apenas o grupo IC apresentou velocidade aumento na velocidade *versus* o NC, HC e HE (NC:  $101,7 \pm 75,53$ ; NE:  $83,37 \pm 68,43$ ; HC:  $95,84 \pm 80,11$ ; HE:  $83,48 \pm 78,74$ ; IC  $164,4 \pm 57,01$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 16 C, e por fim em 7Hz o mesmo padrão foi seguido pelo grupo IC em relação aos grupos NC, HC e HE

(NC:  $47,35 \pm 49,09$ ; NE:  $79,09 \pm 47,55$ ; HC:  $63,06 \pm 59,82$ ; HE:  $43,11 \pm 46,27$ ; IC:  $199,2 \pm 95,29$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 16 D.

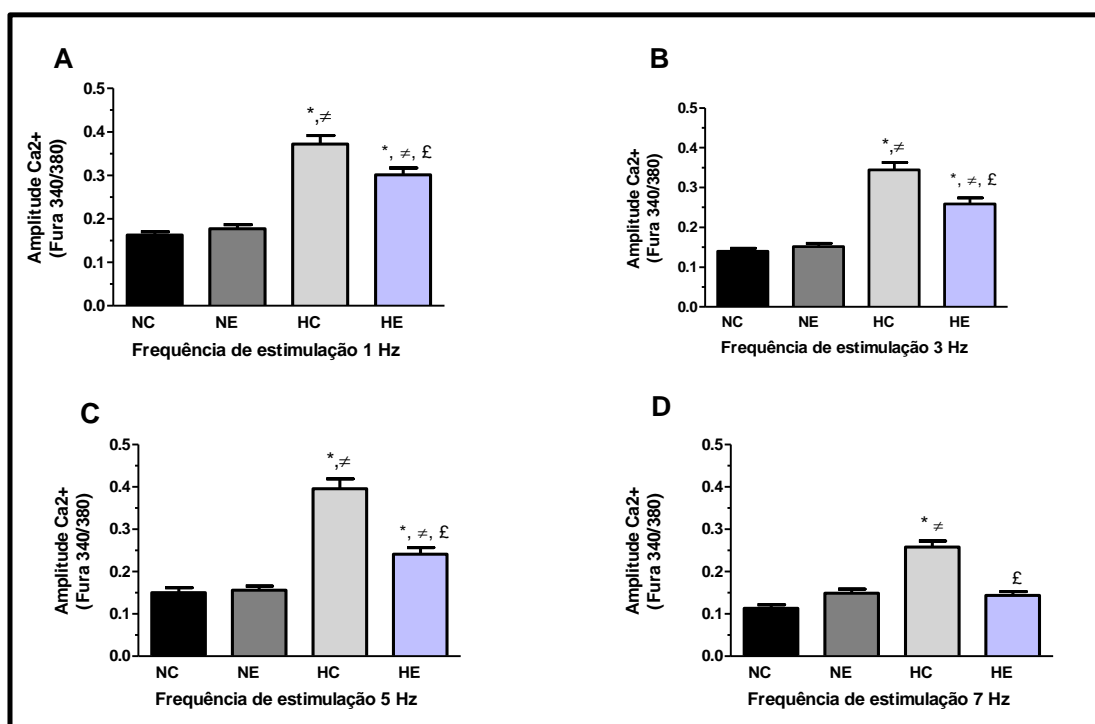


**Figura 16.** Velocidade de relaxamento (ms) nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão. \*, significativamente diferente de NC;  $\neq$ , significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC;  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

### 5.5 Cálcio intracelular e transiente de miócitos isolados do ventrículo esquerdo

Quando avaliado o transiente de cálcio sob estimulação de 1Hz o grupo HC apresentou amplitude do transiente elevado quando comparado ao grupo NC e NE. Já o grupo HE apresentou uma amplitude reduzida quando comparado o grupo HC e uma amplitude elevada quando comparada ao grupo NC. Os grupos NC e NE não apresentaram diferença significativa (NC:  $0,16 \pm 0,60$ ; NE:  $0,17 \pm 0,08$ ; HC:  $0,37 \pm 0,16$ ; HE:  $0,30 \pm 0,14$  –  $p < 0,00$ ) Figura 17A. Nas frequências de estimulação de 3 e 5 Hz os mesmos padrões foram seguidos (NC:  $0,14 \pm 0,062$ ; NE:  $0,15 \pm 0,07$ ; HC:  $0,34 \pm 0,15$ ;

HE:  $0,25 \pm 0,13$ –  $p<0,00$ ) Figura 17 B e (NC:  $0,15 \pm 0,090$ ; NE:  $0,15 \pm 0,09$ ; HC:  $0,39 \pm 0,18$ ; HE:  $0,24 \pm 0,12$ –  $p<0,00$ ) Figura 177 C. E por fim na frequência de estimulação de 7 Hz o grupo HC apresentou aumento em relação ao NC e NE e já o grupo HE apresentou redução significativa em relação ao seu controle (NC:  $0,11 \pm 0,06$ ; NE:  $0,14 \pm 0,09$ ; HC:  $0,25 \pm 0,11$ ; HE:  $0,14 \pm 0,07$ –  $p<0,00$ ) Figura 17 D.

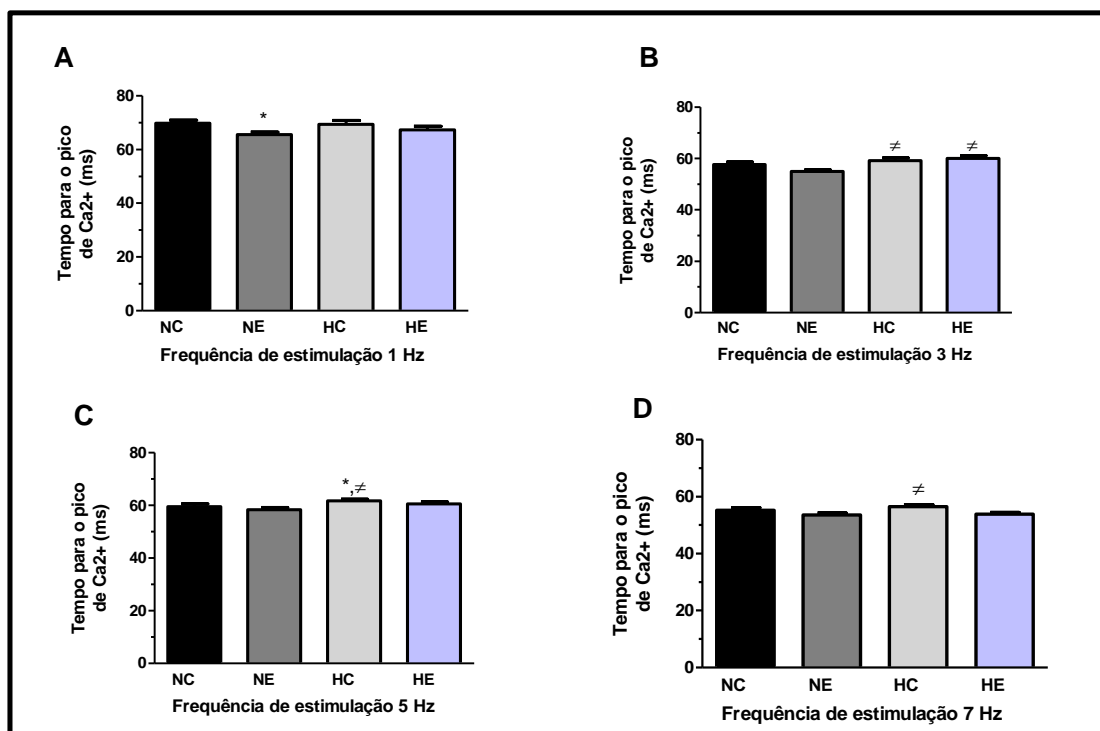


**Figura 17.** Amplitude do transiente de  $Ca^{2+}$  nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão.

\*, significativamente diferente de NC; #, significativamente diferente do NE;  $\epsilon$ , significativamente diferente de HC;  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

O tempo para o pico do transiente de  $Ca^{2+}$  quando os cardiomiócitos foram estimulados a uma frequência de 1Hz foi reduzido nos grupos exercícios, entretanto somente foi encontrada diferença significativa quando comparado o grupo NC com NE (NC:  $69,86 \pm 9,28$  ms; NE:  $65,59 \pm 8,65$ ms; HC:  $69,35 \pm 13,10$ ms; HE:  $67,37 \pm 11,45$ ms –  $p<0,004$ ) Figura 18 A, sob a estimulação de 3 Hz o grupo HC e HE apresentaram aumento estatístico em relação ao NE (NC:  $57,7 \pm 7,88$ ms; NE:  $54,95 \pm 6,09$ ms; HC:  $59,25 \pm 8,21$ ms; HE:  $60,08 \pm 9,36$ ms –  $p<0,00$ ) Figura 18 B. Com 5 Hz o grupo HC apresentou um aumento no tempo para o pico em relação ao NC e NE (NC:  $59,52 \pm 8,18$

ms; NE:  $58,37 \pm 6,94$  ms; HC:  $61,69 \pm 5,35$ ms; HE:  $60,5 \pm 5,602$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 18 C . Sob a estimulação de 7 Hz o exercício levou a uma redução no tempo para o pico, entretanto essa diferença não foi significativa, apenas foi significativo o aumento do tempo entre o grupo HC e NE (NC:  $55,23 \pm 6,68$  ms; NE:  $53,60 \pm 5,9$  ms; HC:  $56,53 \pm 5,66$  ms; HE:  $53,84 \pm 5,32$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 18 D.

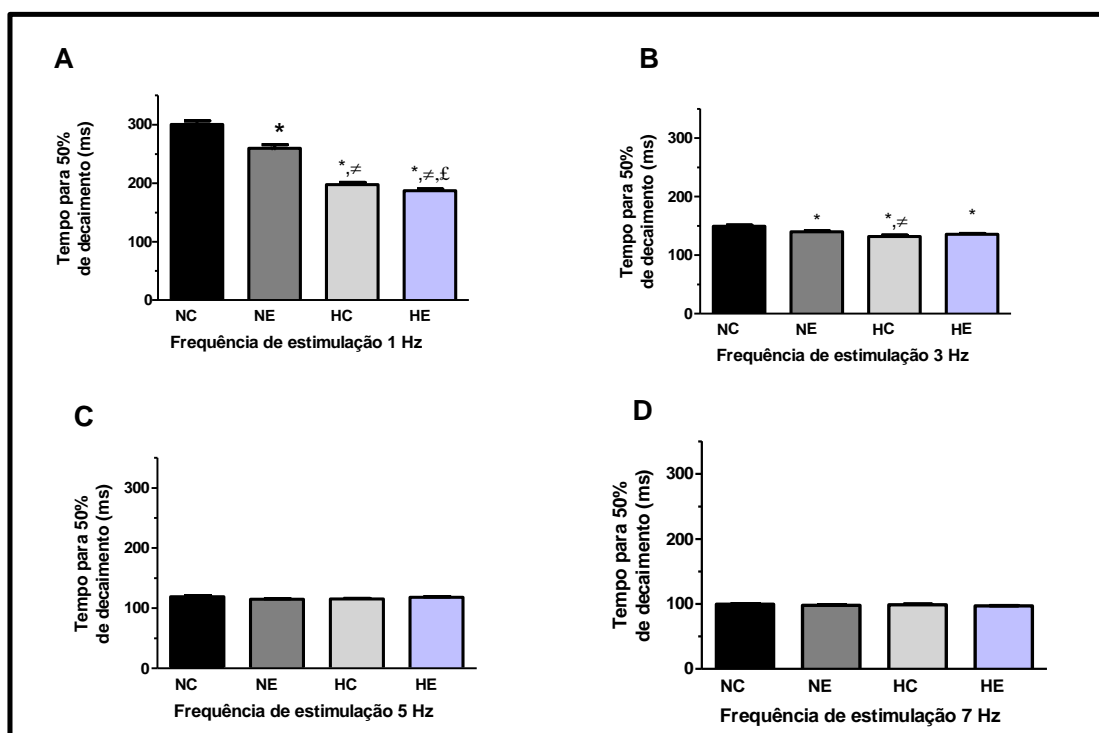


**Figura 18.** Tempo para o pico do transiente de  $Ca^{2+}$  nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão.

\*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.

Os tempos para 50% do decaimento do cálcio foram reduzidos nos grupos exaustão e os mesmos apresentaram redução quando comparados aos seus controles. O grupo HC apresentou diferença quando comparado ao NC, NE e HE, o que pode ser indicio que durante o exercício a recaptção do cálcio é aumentada (NC:  $300,3 \pm 51,06$ ms; NE:  $259,4 \pm 60,45$ ms ; HC:  $197,3 \pm 31,81$ ms; HE:  $187,2 \pm 23,39$ ms –  $p < 0,001$ ) Figura 19 A. Com 3 Hz de estimulação o grupo NE apresentou redução em relação a seu controle, e o grupo HC apresentou redução em relação ao NC e NE, sugerindo que a hipertensão

leva a uma recaptação mais rápida do  $\text{Ca}^{2+}$ , além disso, o grupo HE apresentou redução em relação ao NC (NC:  $149,3 \pm 16,72$  ms; NE:  $139,8 \pm 14,98$  ms ; HC:  $132,1 \pm 16,72$  ms; HE:  $135,5 \pm 15,12$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 19 B. Nas estimulações de 5Hz (NC:  $119,2 \pm 12,89$  ms; NE:  $114,8 \pm 10,99$  ms ; HC:  $115,3 \pm 7,8$  ms; HE:  $118,0 \pm 10,05$  ms –  $p < 0,06$ ) Figura 19 C e 7 Hz (NC:  $99,5 \pm 7,8$  ms; NE:  $97,71 \pm 6,97$  ms ; HC:  $98,66 \pm 6,21$  ms; HE:  $96,92 \pm 6,34$  ms –  $p < 0,14$ ) não foram encontradas diferenças Figura 19 D.

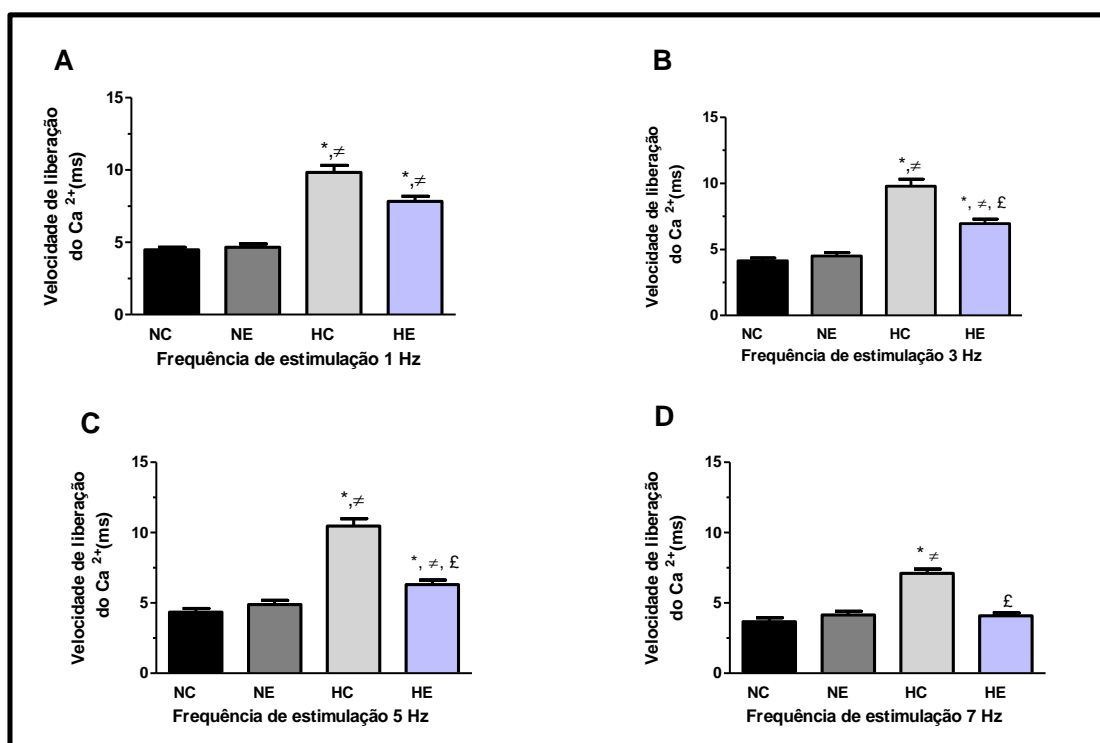


**Figura 19.** Tempo para 50 % de decaimento do  $\text{Ca}^{2+}$  nas frequências de estimulação 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão.

\*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.

Em relação a velocidade de liberação do  $\text{Ca}^{2+}$  no geral os grupos hipertensos apresentaram aumento em relação aos seus controles. Sendo que na estimulação de 1 Hz os grupos HC e HE apresentaram um aumento nesse parâmetro em relação HC e HE (NC:  $4,48 \pm 1,39$ ; NE:  $4,66 \pm 2,18$ ; HC:  $9,84 \pm 3,84$ ; HE:  $7,82 \pm 2,89$  - ms –  $p < 0,00$ ) Figura 20 A, na estimulação de 3 e 5 Hz o mesmo padrão foi seguido para os grupos hipertensos, entretanto o grupo que realizou exercício apresentou uma velocidade menor em relação

ao seu controle (3 Hz: NC:  $4,16 \pm 1,55$ ; NE:  $4,52 \pm 2,21$ ; HC:  $9,79 \pm 4,42$ ; HE:  $6,95 \pm 2,82$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 20 B; (5Hz: NC:  $4,32 \pm 1,98$ ; NE:  $4,87 \pm 2,41$ ; HC:  $10,45 \pm 3,88$ ; HE:  $6,29 \pm 2,53$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 20 C. Já com 7Hz HC apresentou aumento da velocidade em relação ao NC e NE, e quando os animais hipertensos (HE) foram submetidos ao exercício foi observada uma redução (NC:  $3,66 \pm 1,95$ ; NE:  $4,14 \pm 2,08$ ; HC:  $7,09 \pm 2,44$ ; HE:  $4,07 \pm 1,67$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 20 D.

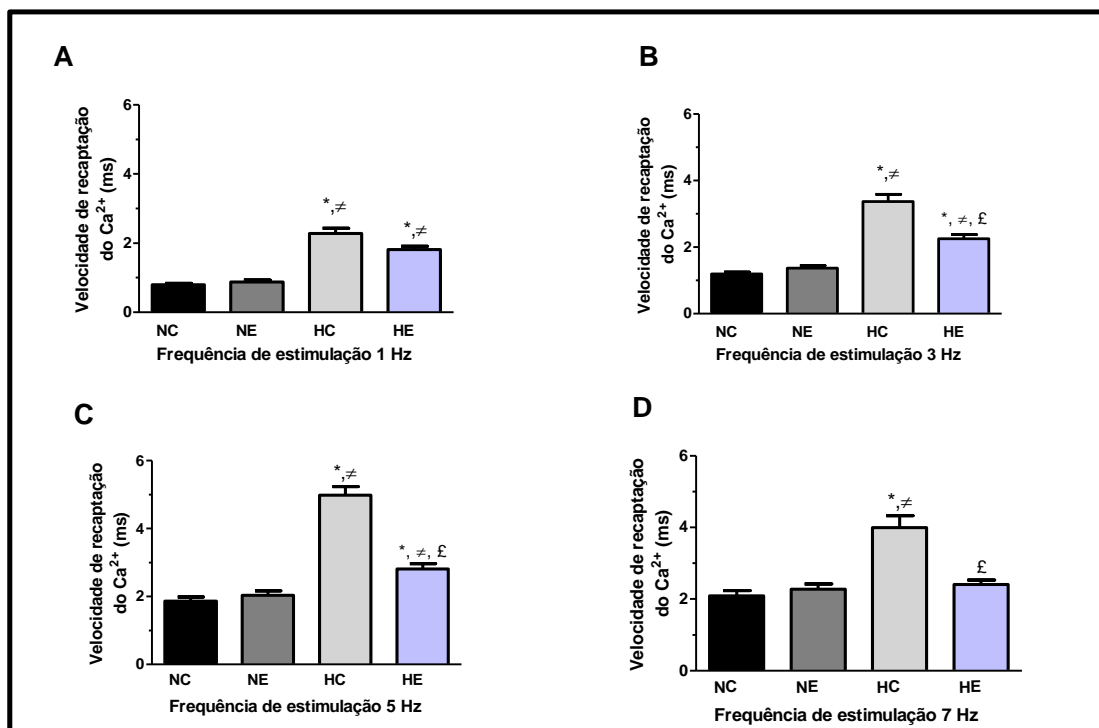


**Figura 20.** Velocidade de liberação do  $\text{Ca}^{2+}$  nas frequências de estimulação. 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão.

\*, significativamente diferente de NC;  $\neq$ , significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC;  $\alpha$ , significativamente diferente de HE.

Quando analisada a velocidade de recaptção do cálcio podemos observar que o padrão foi semelhante a velocidade de liberação nas frequências de estimulação de 1Hz ( NC:  $0,79 \pm 0,33$ ; NE:  $0,87 \pm 0,49$ ; HC:  $2,28 \pm 1,21$ ; HE:  $1,81 \pm 0,78$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 21 A; 3 Hz (NC:  $1,18 \pm 0,54$ ; NE:  $1,36 \pm 0,75$ ; HC:  $3,37 \pm 1,74$ ; HE:  $2,25 \pm 1,02$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 21 B, 5 Hz (NC:  $1,86 \pm 0,94$ ; NE:  $2,04 \pm 1,04$ ; HC:  $4,98 \pm 1,93$ ; HE:  $2,81 \pm 1,15$  ms –

$p < 0,00$ ) Figura 21 C e para 7Hz (NC:  $2,08 \pm 1,08$ ; NE:  $2,27 \pm 1,22$ ; HC:  $3,99 \pm 2,67$ ; HE:  $2,40 \pm 1,04$  ms –  $p < 0,00$ ) Figura 21 D.



**Figura 21.** Velocidade de recaptação do  $Ca^{2+}$  nas frequências de estimulação de 1Hz (A), 3Hz (B), 5Hz (C), 7Hz (D). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão de 70 a 90 células por grupo experimental. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão.

\*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.

## 5.6 Estrutura e morfologia do músculo esquelético

O peso corporal dos animais hipertensos foi menor, sendo assim para calcular o índice de atrofia ou hipertrofia muscular a massa muscular foi normalizada pelo peso corporal dos animais. Esses dados são apresentados na **Tabela 3**, onde podemos observar que os animais hipertensos na fase compensada e descompensada apresentaram uma redução significativa em sua massa muscular em relação ao controle normotenso, o que pode indicar um quadro de atrofia da musculatura esquelética.

**Tabela 3.** Relação do peso do músculo esquelético pelo peso corporal.

	NC	NE	HC	HE	IC	<i>p</i>
<b>PMG/PC</b> (mg/g)	5,93±0,50	5,74±0,77	4,78±0,45*	4,63±0,50*≠	4,73±0,33*	0,00
<b>PMS/PC</b> (mg/g)	0,33±0,13	0,38±0,06	0,40±0,14	0,36±0,018	0,30±0,02	0,72
<b>PMELD/PC</b> (mg/g)	0,42±0,06	0,41±0,13	0,41±0,04	0,40±0,012	0,43±0,02	0,30

Dados expressos em média ± desvio padrão da média. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão; PC, peso corporal; PMG, peso do músculo gastrocnêmio; PMS, peso do músculo sóleo; PMELD, peso do músculo extensor longo dos dedos; MG, musculo gastrocnêmio; \*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.

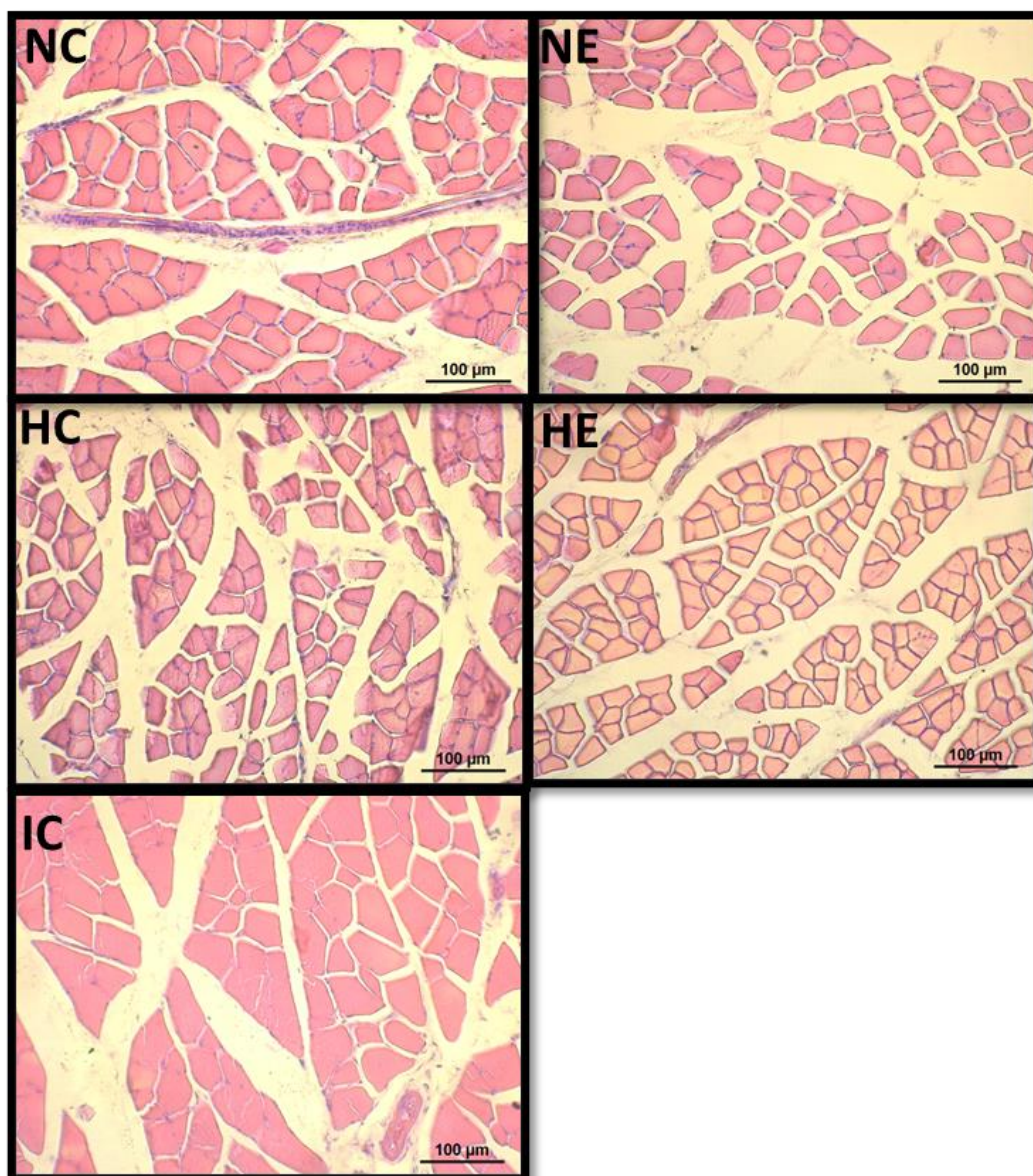
Os animais hipertensos apresentaram alterações na estrutura das fibras musculares, onde a área das fibras apresentou-se menor, já os animais IC apresentaram aumento na área em relação aos grupos HC e HE, conforme pode ser observado na **Tabela 4** e **Figura 22**. Além disso, houve alteração nas proporções de tipos de colágeno, onde os animais hipertensos apresentaram aumento do colágeno tipo I em relação aos animais normotensos e o grupo IC apresentou redução significativa em relação aos grupos HC e HE. Quando foi analisado o colágeno total o mesmo padrão de resultados foi seguido e o colágeno tipo III não apresentou diferença. O conteúdo de colágeno do músculo esquelético pode ser observado nitidamente na **Figura 23**.

**Tabela 4.** Estrutura e morfologia do músculo gastrocnêmio

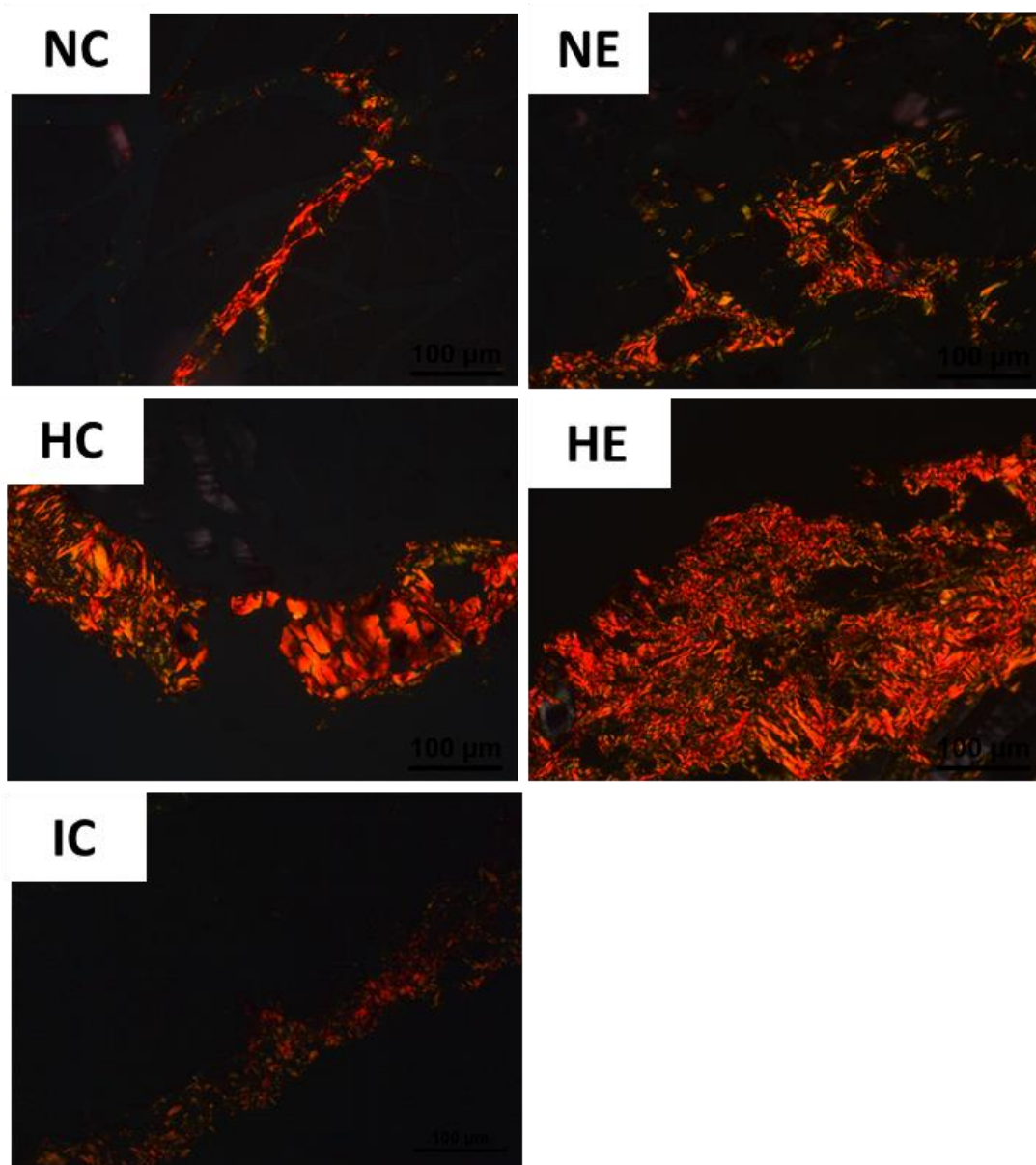
	NC	NE	HC	HE	IC	<i>p</i>
<b>Área</b>	1700±1034	1544±492,7	977,5±353*≠	1023±299,3*≠	1466±454£α	0,00
<b>Colágeno total</b>	1,32±0,20	1,58±0,14	2,79±0,33*≠	2,53±0,26*≠	1,056±0,17£α	0,00
<b>Colágeno tipo I</b>	0,90±0,17	0,825±0,14	2,37±0,32*≠	2,26±0,28*≠	0,38±0,44£α	0,00
<b>Colágeno tipo III</b>	0,28±0,046	0,34±0,05	0,317±0,039	0,314±0,04	0,327±0,07	0,50

Dados expressos em média ± erro padrão. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão. \*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.





**Figura 22.** Fotomicrografia representativa do músculo gastrocnêmio. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão.



**Figura 23.** Fotomicrografias representativas do músculo gastrocnêmio exibindo fibras de colágeno tipo I e III. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiência cardíaca exaustão.

### 5.7 Morfometria dos glomérulos

Na **Tabela 5** está representada a morfometria do rim dos diferentes grupos. São apresentados os valores referentes à área glomerular, a área da capsula em relação da área do glomérulo. Em relação a área do glomérulo e área da cápsula o grupo IC apresentou aumento significativo em relação aos demais grupos. Já a relação entre a área da capsula e a área do glomérulo o grupo NE apresentou uma redução, o grupo HC e HE apresentou

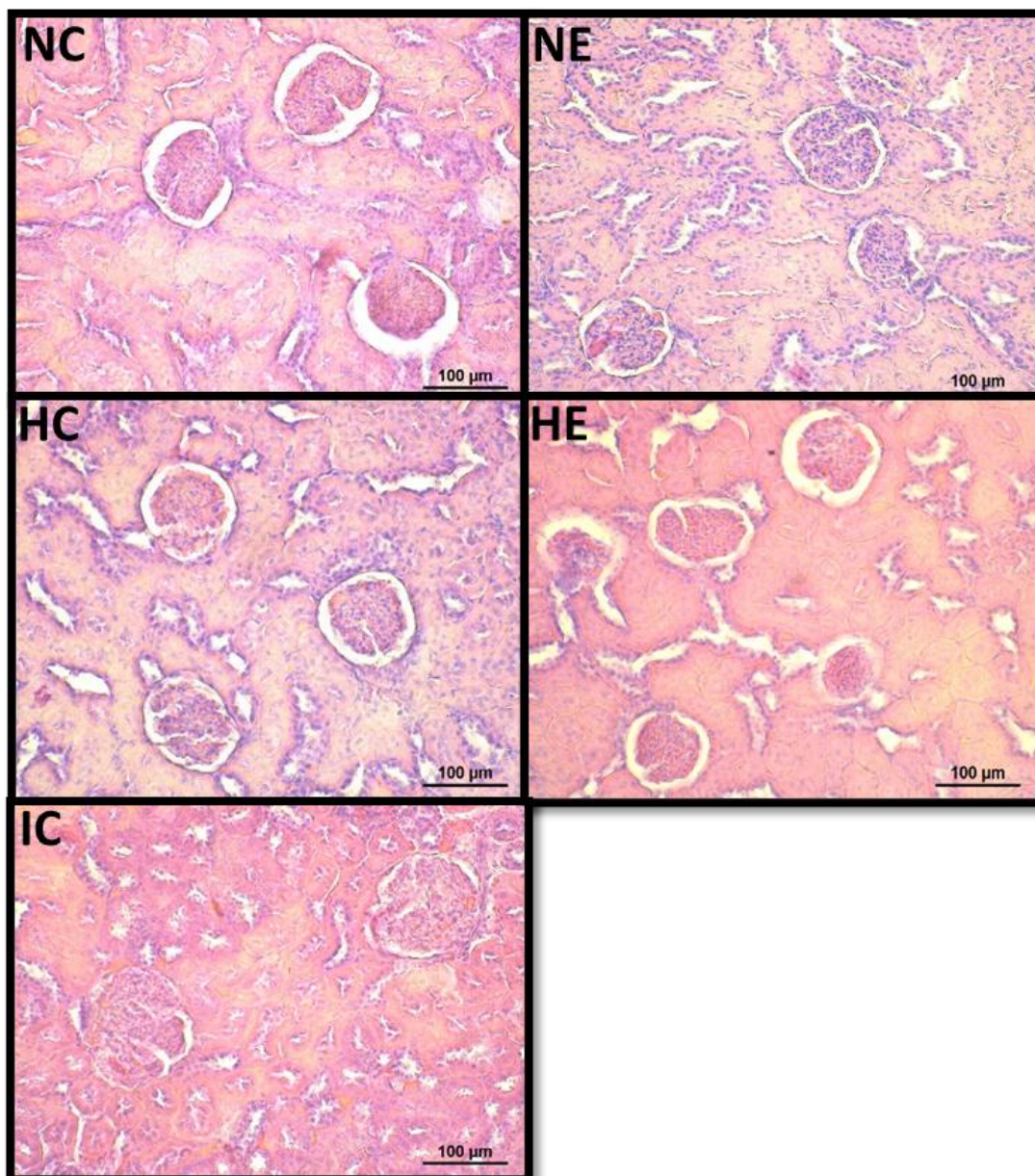
aumento quando comparado ao NC e NE e o grupo IC apresentou redução em relação ao HC e ao HE. A **Figura 24**. Fotomicrografia representativa do rim. mostra as imagens dos corpúsculos renais.

**Tabela 5.** Morfometria do rim dos diferentes grupos

	NC	NE	HC	HE	IC	<i>p</i>
<b>AG</b>	1637± 269,5	1697±395,1	1588±337,0	1507±286,8	2306±384,7*≠α£	0,00
<b>AC</b>	2340±546,3	2206±502,9	2572±393,9≠	2519±628,9	3107±517,5*≠α£	0,00
<b>Relação AC/AG</b>	1,387±0,3227	1,277±0,2439*	1,633±0,3543*≠	1,638±0,3905*≠	1,360±0,1931α£	0,00

AG, Área do glomérulo; AC, Área da capsula; Dados expressos em média ± desvio padrão. NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão; AG, área do glomérulo; AC, área da capsula.

\*, significativamente diferente de NC; ≠, significativamente diferente do NE; £, significativamente diferente de HC; α, significativamente diferente de HE.



**Figura 24.** Fotomicrografia representativa do rim.

NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão.

### 5.8 Análises bioquímicas

Os dados bioquímicos estão apresentados na Tabela 6 , entretanto apenas o grupo IC apresentou aumento significativo em relação ao controle NC.

**Tabela 6.** Valores de creatina quinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH).

	<b>NC</b>	<b>NE</b>	<b>HC</b>	<b>HE</b>	<b>IC</b>	<b>p</b>
<b>CK</b>	19455±19455	14736±5463	14454±5088	13795±1921	7268±2862*	0,00
<b>LDH</b>	1721± 261,7	1850±1308	1697±585,9	1279±269,8	1657±1514	0,36

CK, creatina quinase; LDH, lactato desidrogenase; NC, grupo normotenso controle; NE, grupo normotenso exaustão; HC, grupo hipertenso controle; HE, grupo hipertenso exaustão; IC, insuficiente cardíaco exaustão.

\*, significativamente diferente de NC;

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Características gerais e cardiovasculares e morfologia dos miócitos isolados do ventrículo esquerdo

Os animais SHR (HC, HE e IC) apresentaram menor peso corporal e maior peso relativo dos ventrículos e do ventrículo esquerdo ( $p < 0,00$ ) quando comparados aos animais normotensos, o que indica hipertrofia ventricular provocada pela hipertensão. Como era previsto e já foi demonstrado por demais estudos (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2014b; FILHO et al., 2008); os animais SHR apresentam um quadro hipertrófico do ventrículo esquerdo, que comumente é encontrado na hipertensão e insuficiência cardíaca (CANIFFI et al., 2020b; COLLINS et al., 2013; LIU et al., 2018).

A hipertrofia ventricular é definida como aumento da massa do ventrículo e é um dos mecanismos pelos quais o coração compensa estados de sobrecarga hemodinâmica crônica e é uma das complicações da hipertensão arterial, podendo levar a arritmias e infarto do miocárdio (LOCATELLI et al., 2017; MÁLEK, 2013; QUIROGA et al., 2020). A sobrecarga de pressão imposta ao miocárdio ativa uma cascata de sinalização que está envolvida no mecanismo de hipertrofia, dentre elas podem ser identificadas BNP, MYH7, além de células inflamatórias que são envolvidas também nesse processo, TLR-4, p-NFkB, TNF- $\alpha$ , IL-6 (HUANG et al., 2020). Como resultado o ventrículo desses animais vai apresentar aumento de sua massa, aumento da espessura de suas paredes, aumento do peso relativo do VE e do tamanho das células do miocárdio (CANIFFI et al., 2020b; COLLINS et al., 2013; LIU et al., 2018), o que corrobora nossos achados de aumento da massa dos ventrículos e aumentos do peso relativo dos ventrículos e do ventrículo esquerdo ( $p < 0,00$ ) quando comparados aos animais normotensos.

Animais SHR nas fases iniciais da hipertensão (16 a 28 semanas já apresentam hipertrofia, entretanto neste momento, a hipertrofia ainda é compensada e o miocárdio pode ainda não apresentar disfunções na quantidade de sangue bombeada, essa fase estabiliza entre 48 a 72 semanas, quando ocorre a transição para IC (72 a 96 semanas), e o desempenho miocárdico é prejudicado (BELL et al., 2004b; COLLINS et al., 2013; VEGA et al., 2017) o que pode ser uma das explicações para o desempenho reduzido dos animais IC no estudo atual.

Devido à sobrecarga pressórica presente nos animais SHR, ocorre hipertrofia concêntrica patológica, caracterizada pela adição de sarcômeros em paralelo aumentando

dessa forma a largura dos cardiomiócitos (BERNARDO et al., 2010; VEGA et al., 2017), no presente estudo foi encontrado aumento da largura dos cardiomiócitos isolados nos grupos hipertensos quando comparados aos normotensos, sendo que a largura foi ainda maior nos animais do grupo IC, os quais já se encontram na fase descompensada presente a partir dos 18 meses de vida, levando assim a prejuízos no desempenho do miocárdio (BELL et al., 2004b; COLLINS et al., 2013); Além de ter sido encontrada aumento da largura, a razão entre comprimento e largura apresentou redução nos grupos hipertensos e o comprimento foi reduzido, dessa forma podemos inferir que o miocárdio apresenta paredes espessas e pequenas cavidades conforme já demonstrado por estudos prévios (BELL et al., 2004b; BERNARDO et al., 2010; VEGA et al., 2017).

## **6.2 Desempenho dos animais no protocolo de natação até exaustão**

Um dos principais achados relacionados ao desempenho foi que os animais hipertensos (grupo HE), conseguiram manter a natação por 3 horas e os animais normotensos (grupo NE) apresentaram um desempenho reduzido em aproximadamente 92% em relação aos animais hipertensos na fase compensada e os animais SHR na fase descompensada (grupo IC) tiveram uma redução de 97% em relação aos normotensos. Corroborando nossos achados SILVA et al. (2017), também encontrou um desempenho aumentado dos animais SHR em relação aos seus controles normotensos, entretanto o exercício foi realizado na esteira.

Mas nossos resultados vão contra ao encontrados por Oláh et al. (2015) onde os animais Wistar sem treinamento prévio conseguiram manter a natação por 3 horas, com uma carga de 5% do peso corporal do animal, entretanto em estudo realizado por Casimiro-Lopes et al. (2008), com animais Wistar em um protocolo de natação com 5% do peso corporal conseguiram manter a natação por aproximadamente 250 segundos, e estudo realizado posteriormente os animais mantiveram a natação por aproximadamente 300 segundos, a diferença foi que neste último eram ratas (CASIMIRO-LOPES et al., 2008). Em nosso protocolo apenas os animais SHR na fase compensada conseguiram manter a natação por 3 horas, esse desempenho aumentado pode ser explicado por alterações encontradas em animais espontaneamente hipertensos.

Animais SHR possuem uma desregulação autonômica, onde é encontrada uma redução do tônus vagal, além de uma hiperatividade simpática que conseqüentemente leva a uma hiperatividade adrenérgica, causando assim a elevação da pressão arterial na

hipertensão (FERREIRA MIRANDA et al., 2021; MANCIA; GRASSI, 2014). Essa hiperatividade está relacionada com aumento da liberação de adrenalina e norepinefrina, assim ativando os adrenoreceptores pós sinápticos  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  ou  $\beta$  (BERG et al., 2012; FERREIRA MIRANDA et al., 2021; GUYENET, 2006). Os receptores  $\beta_1$  estão presentes no coração e levam ao aumento da força de contração e da frequência cardíaca, e nos vasos sanguíneos os receptores adrenérgicos  $\beta_2$  levam a vasodilatação e  $\alpha$  a vasoconstrição (LANDS; LUDUENA; BUZZO, 1967; SILVERTHORN, 2017).

Sendo assim nossa hipótese é que como os animais SHR além de já apresentarem, nas fases iniciais da hipertensão, redução da atividade vagal e aumento da estimulação simpática, quando são colocadas em situações estressoras, como na natação levam ao aumento da descarga simpática pelo encéfalo, aumentando a frequência e força de contração cardíaca, redirecionando o fluxo sanguíneo para musculatura esquelética ativa, além de levar a maior mobilização da glicose para geração de energia para contração muscular. Sendo assim esses animais podem estar recebendo mais subsídios para geração de energia, e como esses animais na fase compensada ainda não apresentam disfunção ventricular o miocárdio responde a estimulação, o que pode ter levado ao aumento do desempenho na natação desses animais. Diferente dos animais normotensos que não apresentam disfunção autonômica.

Segundo Kolwicz et al. (2007) os receptores  $\beta$  adrenérgicos podem perder a sensibilidade, nas fases finais da hipertensão, ou seja, na fase descompensada, o que não é encontrada na fase compensada, sendo assim, seguindo nossa hipótese os animais SHR na fase descompensada (IC), podem apresentar uma disfunção autonômica ainda mais prejudicada, além de nesse estágio o miocárdio já apresentar falhas e dessa forma não consegue manter um débito cardíaco normal para atender as demandas impostas, o que pode ter levado a uma redução do desempenho no protocolo de natação. Essa falha pode estar relacionada também a redução da sensibilidade dos receptores beta e consequente piora do inotropismo, que são causadas pelo envelhecimento.

Além disso, ocorrem alterações no metabolismo do coração de ratos SHR, estudos mostram que animais com 25 semanas possuem a homeostase energética prejudicada causada por alterações nos níveis de fosfato de alta energia (SHIMAMOTO et al., 1982), e a medida que esses animais envelhecem (16 – meses) apresentam resistência à insulina, o que vai comprometer o fornecimento de energia para o miocárdio (PATERNOSTRO et al., 1995) Esses resultados em animais podem ser confirmados pela pesquisa de



BERTERO; MAACK (2018) que chegaram à conclusão que pacientes com insuficiência cardíaca apresentam alterações no metabolismo de ATP, no déficit energético e estresse oxidativo e que essas sejam as causas da disfunção contrátil com a progressão da doença, além disso foi demonstrado que esses indivíduos apresentam intolerância ao exercício, devido a fadiga causada pela miopatia relacionada a fase de insuficiência cardíaca (BEREZIN; BEREZIN; LICHTENAUER, 2021).

### **6.3 Efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão no transiente de $Ca^{2+}$ e contratilidade de animais normotensos**

Quando analisado os animais NC e NE na frequência de estimulação de 1, 3, 5 e 7 Hz após uma sessão aguda de natação podemos observar que os parâmetros contrateis: amplitude de contração, e os tempos para o pico e tempo para o relaxamento, além disso, a diferença da velocidade de contração e a velocidade de relaxamento também não foram significativas.

A amplitude do cálcio intracelular também não apresentou diferença, o que pode ser uma explicação para a amplitude de contração não ter aumentado mesmo durante o exercício. Sob a estimulação de 1Hz o cálcio chegou ao pico com um tempo reduzido, ao que indica o exercício leva a uma liberação mais rápida do cálcio, bem como sua recaptação, pois sob a estimulação de 1 e 3 Hz o cálcio foi recaptado de forma mais rápida. Podemos inferir que durante o exercício a velocidade de manipulação do cálcio pode estar aumentada, devido a maior atividade das proteínas gerenciadoras do cálcio, estudos mostram que o aumento da atividade de SERCA2 leva ao aumento da taxa de recaptação do  $Ca^{2+}$ , o que pode explicar o seu decaimento com tempo reduzido (BERS, 2014).

Ljones et al. (2017) também não encontrou diferença no tempo para o relaxamento dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo após exercício até exaustão, entretanto foi encontrada redução na amplitude do  $Ca^{2+}$ , o que contrapõe nossos achados onde os animais exercitados não apresentaram diferença em relação aos seus controles. Ainda segundo Ljones et al. (2017), a amplitude e duração do transiente de  $Ca^{2+}$ , são mecanismos que podem interferir diretamente na força de contração do coração, mas vale ressaltar que a força de contração também está atrelada a pré carga e pós carga e como esses parâmetros não foram avaliados isso não pode ser afirmado.

Oláh et al. (2015) realizou um protocolo de natação forçada e encontrou prejuízo na função contrátil quando avaliada através de um cateter de condutância inserido no

ventrículo esquerdo, o que também difere do presente estudo onde não foram encontradas alterações contrateis quando analisados cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo, essas diferenças podem ter ocorrido devido ao tempo reduzido de natação dos nossos animais em comparação com os do estudo de Oláh et al. (2015), além disso, esses autores não descreveram detalhes de como esses animais foram mantidos nadando por 3 horas, visto que outros estudos com animais normotensos a natação foi mantida por menos de 5 minutos (CASIMIRO-LOPES et al., 2008, 2012).

Em estudo realizado por Rodrigues et al. (2018) no qual os animais foram submetidos ao treinamento aeróbio por 8 semanas foi encontrada uma redução no tempo de 50% do relaxamento e aumento no tempo para o pico de contração, o que contrapõe nossos resultados, nos quais não encontramos diferenças significativas nos parâmetros de contratilidade, entretanto vale ressaltar que no presente estudo foi realizado apenas uma sessão de natação até exaustão. Ainda contrapondo nossos achados onde encontramos uma redução no tempo para o pico e no tempo para 50% do decaimento do  $\text{Ca}^{2+}$ , o programa de treinamento utilizado por Rodrigues et al. (2018) aumentou o tempo de decaimento do  $\text{Ca}^{2+}$ .

Dessa forma podemos inferir que os dados relacionados a contratilidade e transiente de cálcio precisam ser melhor explorados até mesmo no exercício crônico, pois os dados encontrados na literatura ainda são controversos, os protocolos são variados e as análises de outros parâmetros que poderiam explicar essas variações muitas vezes não são analisadas.

#### **6.4 Diferenças entre animais Wistar e SHR quando analisado o transiente de $\text{Ca}^{2+}$ e contratilidade**

Os cardiomiócitos de animais hipertensos quando estimulados na frequência de 1, 3, 5 e 7 Hz apresentaram aumento da amplitude do transiente de  $\text{Ca}^{2+}$ , entretanto a amplitude de contração apesar de ter sido aumentada em todas as frequências apenas sob a estimulação de 1Hz foi significativa. O aumento da amplitude de cálcio sem o aumento da amplitude de contração observado em 3, 5, 7 Hz, podem ser explicados pela menor sensibilidade dos miofilamentos de cálcio, dessa forma a tropomiosina não é deslocada para formação das pontes cruzadas (RAIN et al., 2013). Já aumento na amplitude de  $\text{Ca}^{2+}$  pode explicar o aumento da amplitude de contração dos cardiomiócitos estimulados a

1Hz, pois as concentrações elevadas de cálcio favorecem a formação de maior número de pontes cruzadas e conseqüentemente aumentam a força contrátil (SILVERTHORN, 2017). Estudos prévios (BROOKSBY; LEVI; JONES, 1992; MCCROSSAN; BILLETTER; WHITE, 2004; ROMAN-CAMPOS et al., 2012) corroboram com o estudo atual onde encontraram amplitude de contração aumentadas nos animais SHR, além disso esses autores também encontraram aumento no tempo para o pico do transiente de  $Ca^{2+}$  igualmente encontramos na estimulação de 5Hz, esse tempo aumentado para atingir o pico pode estar relacionado a atividade dos receptores de rianodina (RyR2) , e apesar desse tempo ter sido mais lento ( $61,69 \pm 3,5ms$ ) para os animais hipertensos o tempo para o pico de contração foi reduzido para esse mesmo grupo ( $90,41 \pm 23,83ms$ ), apesar disso em 7Hz o tempo para atingir o pico de contração apresentou aumento, ou seja, o cálcio foi liberado de forma mais lenta para o sarcoplasma, através dos RyR2, apesar disso, o tempo para o pico não teve alteração em 7Hz.

O tempo para o decaimento do  $Ca^{2+}$  foi mais rápido no grupo hipertenso (1 e 3Hz) o que pode ser devido a uma recaptção mais rápida do cálcio em animais hipertensos. E não atrelados a isso o tempo para 50% do relaxamento também foi mais rápido com 5Hz e mais longo em 7Hz. Esse prolongamento pode ser relacionado a menor expressão e atividade de SERCA2 que é fosforilada pela fosfolambam (BERS, 2002, 2014). Apesar dessas proteínas não terem sido avaliadas essas alterações já foram demonstradas em animais SHR. Além disso, as velocidades de liberação e velocidade de recaptção do  $Ca^{2+}$  foram mais rápidas em animais SHR, os achados de Carneiro Junior et al. (2013) em 1Hz são semelhantes aos nossos em 5Hz quando consideramos o tempo aumentado para atingir o pico de  $Ca^{2+}$ , entretanto contrapõe quando analisamos o tempo de recaptção do  $Ca^{2+}$  que em 1 e 3Hz em nosso estudo foi reduzido.

Contrapondo com nossos achados o tempo para o pico do transiente de  $Ca^{2+}$  e a amplitude não apresentaram diferença (1Hz) e corroborando nossos achados a fase de decaimento do cálcio apareceu mais lenta nos SHR (KRZESIAK et al., 2019). Além disso, quando avaliados os parâmetros de contratilidade (amplitude de contração, velocidade máxima de encurtamento e velocidade máxima de relaxamento) não foram encontradas diferenças significativas (KRZESIAK et al., 2019), esse resultado difere nossos achados, pois encontramos um aumento na amplitude de contração dos animais SHR controles (1Hz). Além de velocidade de liberação e recaptção do cálcio mais rápida (1, 3, 5 e 7Hz).

Entretanto Locatelli et al. (2017) encontrou resultados similares ao do presente estudo quando analisada a amplitude de contração e o tempo para o pico de contração, segundo estudos prévios isso é o observado em SHR na fase inicial compensada (ROMAN-CAMPOS et al., 2012) e a causa seria as disfunções induzidas por hipertensão nas proteínas reguladoras do cálcio (RyR2; SERCA2a; PLB) no miocárdio (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013, 2014a).

Estudos anteriores mostraram que a hipertensão e a IC promovem disfunções graves que podem afetar as unidades reguladoras do cálcio, incluindo os receptores de rianodina (RyR2), perda da interação RyR2-FLB, além de faíscas de  $Ca^{2+}$  dissíncronas (LEHNART et al., 2004) o que prejudicará o processo contrátil. Fowler et al. (2005) encontraram em seu estudo que o processo de hipertrofia compensada em animais SHR altera a mudança na ciclagem de  $Ca^{2+}$  e isso é devido a uma diminuição na atividade de NCX nas células subepicárdicas, aumentando assim o conteúdo de  $Ca^{2+}$  do retículo sarcoplasmático, e dessa forma a força de contração é mantida, o que vence a pós-carga aumentada. Outros estudos além de encontrarem redução na atividade de NCX demonstraram também redução na atividade de SERCA2, o que reflete nos tempos de contração e relaxamento dos cardiomiócitos (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2013; ROMAN-CAMPOS et al., 2012), além disso, foi encontrada também a redução da expressão gênica dos RyR2 e aumento da frequência das faíscas de  $Ca^{2+}$ , apesar de sua amplitude apresentar redução (CARNEIRO-JÚNIOR et al., 2014a) Entretanto os mecanismos que levam às mudanças transitórias na ciclagem de  $Ca^{2+}$  não são totalmente compreendidas, pois já foi relatado aumento da expressão de SERCA2a no citoplasma e nos núcleos de animais SHR, além de uma propagação intracelular acelerada em SHR, foi encontrado também aumento da carga de  $Ca^{2+}$  no retículo e em estoques perinucleares, mas a liberação fracionada desse  $Ca^{2+}$  não foi alterada (PLAČKÍČ et al., 2016). Além disso, em estudo realizado por Silva-Cutini et al. (2019) foi encontrado aumento significativo da proteína SERCA 2a, da proteína PLB total e a fração PLB fosforilada (p-PLB), aumento da escala na razão PLB / PLB total fosforilada quando comparado os animais SHR versus WKY.

Acreditamos que essas contraposições sejam devido a progressão do estado hipertensivo nesses animais, apesar de serem animais de mesma idade, os fatores ambientais podem influenciar no desenvolvimento da hipertensão.

## **6.5 A natação até exaustão promove efeitos sobre a função cardíaca de animais SHR**

Quando os animais (SHR) foram submetidos a sessão aguda de natação até exaustão houve uma redução na amplitude do transiente de  $\text{Ca}^{2+}$ , entretanto essa redução na amplitude não interferiu na amplitude de contração, que não sofreu alterações em nenhuma das frequências de estimulação (1, 3, 5 e 7 Hz). Apesar do tempo para atingir o pico de contração ter apresentado aumento (5Hz), o tempo para o pico do cálcio não apresentou aumento mesmo quando esses animais foram submetidos ao exercício. O tempo para o relaxamento foi aumentado no grupo exercitado (5Hz), apesar de o tempo de decaimento do  $\text{Ca}^{2+}$  ter sido reduzido apenas em 1Hz. Além disso as velocidades de liberação e recaptção do cálcio foram aumentados (3, 5 e 7Hz).

Dessa forma podemos inferir que os animais hipertensos submetidos ao exercício exaustivo, apesar de não terem apresentado diferenças na amplitude de contração, o que pode ter contribuído para um tempo de natação prolongado, apresentaram redução da amplitude, além de rapidez na liberação e recaptção do cálcio, esses efeitos podem ser devido a condição exaustiva que esses animais foram submetidos.

Apesar dessas disfunções observadas na liberação, recaptção e amplitude do cálcio, a contração do miocárdio não apresentou diferença, isso pode ser explicado pelo fato da contração do miocárdio não está atrelada apenas ao cálcio, mas também a pré carga, que apesar de não ter sido mensurada é aumentada durante o exercício.

Estudos com animais SHR realizando apenas uma sessão de exercício são limitados, diante disso, realizamos algumas comparações com o treinamento.

Rodrigues et al. (2018) e Krzesick et al. (2019) realizaram um treinamento com animais SHR e não encontraram diferenças na amplitude de contração, esses dados corroboram com nossos achados onde não foram encontradas diferenças, na amplitude de contração.

Quando avaliado o transiente Rodrigues et al. (2018) encontrou um aumento da amplitude do transiente e Krzesick et al. (2019) não encontrou diferença, ambos os resultados contrapõe o estudo atual, onde foi encontrada redução, mostrando que uma única sessão de exercício exaustivo pode prejudicar a manipulação do cálcio, visto que além da amplitude está reduzida, também encontramos aumento na velocidade de liberação e recaptção do cálcio.

## **6.6 Existe diferenças entre a função cardíaca de animais Wistar e SHR submetidos a uma sessão aguda de natação até exaustão (HE x NE x IC)**

Os animais Wistar apresentaram um tempo de natação inferior aos animais SHR (14 minutos  $\pm$  3 minutos e 41 segundos), os quais conseguiram completar o protocolo de 180 minutos, conforme proposto. Esses achados contrapõem os achados no estudo de Oláh et al. (2015), onde animais Wistar nadaram por 180 minutos com uma carga de 5% do peso corporal. Como eles não completaram o protocolo esses animais deveriam ser excluídos, entretanto todos os animais do grupo Wistar apresentaram tempo de natação similares, diante disso, temos que realizar mais análises para definirmos o que foi alterado intracelular e assim conseguirmos explicar essa diferença. Já os animais IC apresentaram um pior desempenho (4,833  $\pm$  1,578 minutos) no protocolo proposto que pode ser explicado pelas disfunções encontradas em estágios avançados da hipertensão, no qual os animais já são insuficientes cardíacos.

Quando analisamos os três grupos que realizaram exercício, NE, HE e IC, encontramos que a amplitude de contração foi aumentada nos grupos hipertensos na fase compensada (HE) e hipertensos na fase descompensada (IC) na estimulação de 1Hz, isso pode ser explicado pelo aumento da amplitude do transiente de  $Ca^{2+}$  encontrada no grupo HE, infelizmente não foi possível mensurar os dados de transiente para o grupo IC, pois quando os cardiomiócitos eram marcados com o FURA, as células morreram, o que impossibilitou as análises. Ainda sobre a amplitude de contração o grupo IC manteve o aumento (3hz) em relação ao NE e por fim na estimulação de 7hz o grupo IC apresentou aumento em relação ao HE. Quanto a amplitude do transiente o grupo HE apresentou aumento em relação ao NE (1, 3 e 5Hz).

Em relação ao tempo para o pico do cálcio o grupo HE apresentou aumento em relação ao NE (3Hz), ou seja, o animal hipertenso quando submetido ao exercício agudo exaustivo apresenta uma lentidão na liberação do cálcio. Além disso, o tempo para o pico de contração do grupo IC foi reduzido em relação ao HE (1 e 5Hz), e ao NE (5Hz). E por fim em 7Hz o grupo HE apresentou aumento. O tempo para metade do relaxamento no grupo IC apresentou redução em relação ao NE e HE (5Hz), entretanto foi encontrado um aumento em 7hz. Esse aumento encontrado na estimulação de 7Hz pode ser devido a essa estimulação ser semelhante ao animal estar sendo submetido ao exercício. Já o tempo para o decaimento de 50% do cálcio foi reduzido no grupo HE em relação ao NE em 1Hz.

E por fim os animais hipertensos (HC e HE) apresentaram aumento significativo nas velocidades de contração e relaxamento em 1 e 3Hz e quando esses animais (HE) foram submetidos ao exercício exaustivo essas velocidades foram ainda mais rápidas, e de forma significativa, os animais IC seguiram o mesmo padrão (1, 3, 5 Hz). E sob a estimulação de 5 Hz suas velocidades de contração e relaxamento foram ainda bem maiores em relação aos normotensos e hipertensos na fase compensada. Ou seja, os cardiomiócitos levaram um tempo maior para contrair e relaxar, o que pode estar relacionado com uma disfunção contrátil causada pelo exercício exaustivo e que está relacionada com a fase da hipertensão, pois todo o processo foi mais lento no animal velho.

Estudos mostram que animais SHR apresentam atividade simpática aumentada no coração e nos vasos sanguíneos (BING et al., 2002; GRASSI; SERAVALLE; QUARTI-TREVANO, 2010; TRIPPODO; FROHLICH, 1981; ZHANG-JAMES; MIDDLETON; FARAONE, 2013), apesar de não termos mensurado a atividade simpática, esses animais possuem um aumento na frequência de estimulação no nodo sinoatrial e aumento da força de contração através da estimulação de receptores adrenérgicos  $\beta_2$  e redistribuição do fluxo sanguíneo nas arteríolas e veias através da ativação dos receptores adrenérgicos  $\alpha$  e  $\beta_2$  (SILVERTHORN, 2017; TRIPPODO; FROHLICH, 1981). Além disso, sabe-se que durante atividade física realizada de forma aguda ocorrem ajustes fisiológicos no débito cardíaco, na ventilação e vasodilatação no músculo esquelético (HEINONEN et al., 2014). O débito cardíaco aumenta, devido ao volume de ejeção e frequência cardíaca aumentarem (WEINER; BAGGISH, 2012), até que ocorra estabilização e o débito cardíaco seja mantido, a frequência cardíaca aumenta e a vasodilatação leva a uma queda no volume sistólico, ocorre aumento do fluxo sanguíneo para pele, e redução do tempo de enchimento ventricular (ROWELL et al., 1969; ROWLAND, 2012). Essas mudanças na função vascular combinadas com aumento da função cardíaca aumentam o fluxo sanguíneo para o músculo esquelético e redistribuem o débito cardíaco (PLOWMAN; SMITH, 2013). Tais alterações que ocorrem durante o exercício podem explicar o aumento do desempenho dos animais SHR, além da manipulação das proteínas gerenciadoras do  $Ca^{2+}$ , entretanto mais análises precisam ser realizadas para conseguirmos explicar tais mecanismos. Além disso, estudos mostram que exercícios extremos podem aumentar transitoriamente o risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares agudas, dentre eles morte súbita, redução aguda da função cardíaca,

desencadear arritmias, causar fibrilação atrial, e esses eventos levam ao remodelamento patológico da vasculatura e coração (EIJSSVOGELS; FERNANDEZ; THOMPSON, 2016).

### **6.7 O músculo esquelético de animais normotensos e hipertensos apresenta alteração na concentração de colágeno**

Quando analisamos o índice de atrofia ou hipertrofia encontramos que o músculo gastrocnêmio dos animais hipertensos na fase compensada e (HC e HE) e descompensada (IC) apresentaram atrofia em relação aos animais normotensos. Essa redução pode estar associada a patologia da hipertensão, que além de levar a prejuízos dos cardiomiócitos compromete também o metabolismo e função da musculatura esquelética (LIANTONIO et al., 2014; PRAVENEK et al., 2014). Liantonio et al. (2014) encontrou atrofia do músculo sóleo de animais SHR, o que contraria nossos achados que apesar dos animais hipertensos na fase descompensada (IC) terem apresentado uma redução a mesma não foi significativa, também podemos observar que o grupo HE apresentou uma redução na relação do peso do músculo/peso corporal, o que poderia estar relacionado com a utilização dos estoques de glicogênio armazenados no músculo para manutenção do exercício (KAWAMURA; MURAOKA, 2018), visto que animais SHR possuem alterações metabólicas que favorecem o consumo de glicose (ŠILHAVÝ et al., 2020). Quando analisado o músculo extensor longo dos dedos o mesmo apresentou um aumento que também não foi significativo, mas que foi similar ao encontrado no estudo de (LIANTONIO et al., 2014).

Já o músculo gastrocnêmio dos animais hipertensos além de ter apresentado atrofia, analisando o peso do músculo em relação ao peso corporal, esses animais apresentaram em corte transversal uma redução da área da fibra muscular que foi significativa. O que pode ser causado por capilarização prejudicada e a resistência à insulina (HERNÁNDEZ et al., 2008; ŠILHAVÝ et al., 2020) e desregulação na homeostase do cálcio, em animais SHR, que pode levar a miopatia conforme demonstrado em estudos prévios (HERNÁNDEZ et al., 2008; LIANTONIO et al., 2014).

No músculo esquelético de animais SHR a sinalização para apoptose e marcadores de estresse celular estão aumentados (MCMILLAN et al., 2012). Bloemberg et al. (2014) avaliou os músculos gastrocnêmio, sóleo e plantar e foi encontrado aumento de fatores relacionados a autofagia no músculo gastrocnêmio e plantar de animais SHR,



principalmente em fibras rápidas. Entretanto no músculo sóleo foi demonstrado ausência de fatores relacionados a autofagia, o que pode ser uma explicação para ausência de atrofia no músculo sóleo apresentada em nosso trabalho.

Quando avaliada a quantidade de colágeno total e colágeno tipo I também foi encontrado aumento nos grupos hipertensos na fase compensada quando comparado aos normotensos, sendo que o colágeno tipo I apresentou um aumento de aproximadamente 63% nos grupos HC e HE em relação aos seus controles NC e NE.

Em estudo realizado por Hernandez et al. (2008) também foi encontrado aumento de colágeno, entretanto o tipo não foi especificado, mostrando assim a presença de fibrose no músculo esquelético de animais SHR, além disso foi encontrado aumento de vacúolos autofágicos, presença de macrófagos e contornos irregulares, o que é indicio de atrofia. Segundo Hernandez et al. (2008) esse processo sugere que ocorreu um dano crônico que não foi reparado com sucesso, sendo assim considerado um tipo de miopatia leve. Stilhano (2017), ainda confirma que a hipertensão contribui para fibrose através da sinalização pela Angiotensina II no músculo esquelético e cardíaco, além disso parece existir um papel do fator estimulante da colônia granulocito-macrófago (GM-CSF) na fibrose do músculo esquelético, entretanto esse tema ainda é pouco explorado na literatura.

Curiosamente o grupo hipertenso velho (IC) apresentou uma redução de 83% do colágeno tipo I em relação aos hipertensos na fase compensada (HC e HE), mais estudos são necessários acompanhando as fases de evolução da hipertensão.

## **6.8 Alterações na morfologia do rim**

A hipertensão é uma das causas de doenças renais (CARVALHO et al., 2020; SUSIC; FROHLICH, 2011), segundo Pfeffer; Pfeffer; Fishbein (1979) animais espontaneamente hipertensos desenvolvem hipertrofia cardíaca patológica, insuficiência cardíaca e disfunção renal. Sievers; Eckardt (2019) classifica essas alterações como nefropatia hipertensiva, que combina alterações patológicas da microvasculatura nos glomérulos e do tubulointerstício, sendo que a gravidade da hipertensão arterial se correlaciona com a gravidade dos danos renais, além disso podem ser encontradas alterações na estrutura anatômica do rim, incluindo os glomérulos e células imunes.

Em nosso estudo foi encontrado aumento do peso do rim, da área do glomérulo e da capsula nos animais hipertensos descompensados (IC) em relação aos demais grupos, além disso, quando calculada a área da capsula pela área do glomérulo, os animais hipertensos (HC, HE) apresentaram uma maior relação que seus controles (NC e NE) e o grupo IC apresentou uma redução em relação aos hipertensos (HC e HE). A relação do peso do rim pelo peso corporal foi aumentada nos animais SHR compensados e descompensados o que corrobora com achados de estudos prévios (YUN et al., 2018).

O aumento do peso do rim encontrado é compatível com lesões renais, onde já foi encontrada hiperplasia e fibrose intersticial (AGARWAL et al., 2012).

Uma relação aumentada entre a área da capsula e do glomérulo, é um indicio que existe um espaço maior para circulação e filtração, e nos animais IC foi observada uma redução significativa dessa area em relação aos animais hipertensos isso pode indicar uma maior área de lesão e conforme já foi descrito danos renais são mais graves em animais SHR descompensados (FELD et al., 1977; KOMATSU et al., 1995; PAIVA et al., 2013).

## **6.9 Análises bioquímicas**

A creatina quinase (CK) e a lactato desidrogenase são utilizados como marcadores de lesão tecidual, e após uma sessão de exercício agudo ocorrem variações que dependem do protocolo de exercício utilizado (BRANCACCIO; MAFFULLI; LIMONGELLI, 2007). Milione et al. (2014) encontrou aumento de creatina quinase após 30 minutos de natação com 4,5% do peso corporal do animal, entretanto a coleta foi realizada através punção, nossa coleta foi realizada no momento da eutanásia o que pode ter comprometido a amostra e ter levado a valores fora do padrão mesmo para os grupos controle, mesmo depois da análise ter sido realizada em duplicata os valores mantiveram os mesmos. Olah et al. (2015) também encontrou aumento tanto de LDH quanto de CK após um protocolo de natação com 5% do peso corporal, o que mostrou que a lesão muscular estava presente, a forma que foi realizada a coleta de Olah et al. (2015) também diferiu da que utilizamos.

## 7 CONCLUSÃO

- Os animais hipertensos na fase compensada e descompensada apresentaram hipertrofia do ventrículo esquerdo, sendo que os animais do grupo hipertenso velho apresentam aumento da largura dos cardiomiócitos;
- Os animais SHR na fase compensada e descompensada apresentam variações contráteis que podem ter sido causadas pelas alterações nas proteínas gerenciadoras do cálcio presente nesses animais, conforme já foi demonstrado em estudos prévios;
- Os animais hipertensos na fase compensada quando submetidos ao exercício apresentam lentidão na fase sistólica e uma fase diastólica mais rápida, entretanto é dependente da frequência de estimulação. E seu desempenho aumentado pode ser explicado por esses animais encontrarem na fase inicial da hipertensão e ainda conseguirem manter o débito cardíaco normal;
- Os animais hipertensos na fase descompensada quando submetidos ao exercício tiveram um desempenho precário devido as alterações contráteis apresentadas, que são causadas pelas diversas frequências de estimulação;
- Os animais hipertensos apresentaram redução da área da fibra muscular, além de aumento do colágeno tipo I, mais proeminente nos animais SHR na fase compensada.

## 8 REFERÊNCIAS

- AGARWAL, D. et al. Chronic exercise preserves renal structure and hemodynamics in spontaneously hypertensive rats. **Antioxidants & redox signaling**, v. 16, n. 2, p. 139–152, 15 jan. 2012.
- ARAI, M. et al. Alterations in sarcoplasmic reticulum gene expression in human heart failure. A possible mechanism for alterations in systolic and diastolic properties of the failing myocardium. **Circulation Research**, v. 72, n. 2, p. 463–469, 1993.
- ARONSEN, J. M.; LOUCH, W. E.; SJAASTAD, I. Cardiomyocyte Ca<sup>2+</sup> dynamics: clinical perspectives. **Scandinavian Cardiovascular Journal**, v. 50, n. 2, p. 65–77, 3 mar. 2016.
- BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 3 mar. 2021.
- BELL, D. et al. Temporal characteristics of cardiomyocyte hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. **Cardiovascular Pathology**, v. 13, n. 2, p. 71–78, 2004a.
- BELL, D. et al. Temporal characteristics of cardiomyocyte hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. **Cardiovascular Pathology**, v. 13, n. 2, p. 71–78, 1 mar. 2004b.
- BEREZIN, A. E.; BEREZIN, A. A.; LICHTENAUER, M. Myokines and Heart Failure: Challenging Role in Adverse Cardiac Remodeling, Myopathy, and Clinical Outcomes. **Disease Markers**, v. 2021, p. 1–17, 13 jan. 2021.
- BERG, T. et al. Plasma Norepinephrine in Hypertensive Rats Reflects  $\alpha(2)$ -Adrenoceptor Release Control Only When Re-Uptake is Inhibited. **Frontiers in neurology**, v. 3, 2012.
- BERNARDO, B. C. et al. **Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. Pharmacology and Therapeutics**, out. 2010.
- BERS, D. M. Cardiac excitation–contraction coupling. **Nature**, v. 415, n. 6868, p. 198–205, jan. 2002.
- BERS, D. M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. **Annual Review of Physiology**, v. 70, p. 23–49, 2008.
- BERS, D. M. Cardiac sarcoplasmic reticulum calcium leak: basis and roles in cardiac dysfunction. **Annual review of physiology**, v. 76, p. 107–127, fev. 2014.
- BERTERO, E.; MAACK, C. Metabolic remodelling in heart failure. **Nature Reviews Cardiology**, v. 15, n. 8, p. 457–470, 18 ago. 2018.

BING, O. H. L. et al. Studies of Prevention, Treatment and Mechanisms of Heart Failure in the Aging Spontaneously Hypertensive Rat. **Heart Failure Reviews**, v. 7, p. 71–88, 2002.

BLOEMBERG, D. et al. Autophagy is altered in skeletal and cardiac muscle of spontaneously hypertensive rats. **Acta Physiologica**, v. 210, n. 2, p. 381–391, fev. 2014.

BOCALINI, D. S. et al. Post-exercise hypotension and heart rate variability response after water- and land-ergometry exercise in hypertensive patients. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, 1 jun. 2017.

BOLUYT, M. O.; BING, O. H. L.; LAKATTA, E. G. The ageing spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from stable compensated hypertrophy to heart failure. **European Heart Journal**, v. 16, n. SUPPL. N, p. 19–30, 1995.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. **British Medical Bulletin**, v. 81–82, n. 1, p. 209–230, dez. 2007.

BROOKSBY, P.; LEVI, A. J.; JONES, J. V. Contractile properties of ventricular myocytes isolated from spontaneously hypertensive rat. **Journal of Hypertension**, v. 10, n. 6, p. 521–527, jun. 1992.

BULL, F. C. et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. **British Journal of Sports Medicine**, v. 54, n. 24, p. 1451–1462, dez. 2020.

CANIFFI, C. et al. Cardiac morphological and functional changes induced by C-type natriuretic peptide are different in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 38, n. 11, p. 2305–2317, nov. 2020a.

CANIFFI, C. et al. Cardiac morphological and functional changes induced by C-type natriuretic peptide are different in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 38, n. 11, p. 2305–2317, nov. 2020b.

CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. The benefits of endurance training in cardiomyocyte function in hypertensive rats are reversed within four weeks of detraining. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 57, n. 1, p. 119–128, abr. 2013.

CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Effect of exercise training on Ca<sup>2+</sup> release units of left ventricular myocytes of spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 11, p. 960–965, 29 ago. 2014a.

CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Effect of exercise training on Ca<sup>2+</sup> release units of left ventricular myocytes of spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 11, p. 960–965, 1 nov. 2014b.

CARVALHO, S. H. R. et al. Parâmetros histológicos cardíacos e renais de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos ao treinamento em natação. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 32577–32593, 2020.

CASIMIRO-LOPES, G. et al. Maximum Acute Exercise Tolerance in Hyperthyroid and Hypothyroid Rats Subjected to Forced Swimming. **Hormone and Metabolic Research**, v. 40, n. 4, p. 276–280, abr. 2008.

CASIMIRO-LOPES, G. et al. Maternal prolactin inhibition during lactation affects physical performance evaluated by acute exhaustive swimming exercise in adult rat offspring. **Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme**, v. 44, n. 2, p. 123–129, 2012.

COLLINS, H. E. et al. Diurnal variation in excitation-contraction coupling is lost in the adult spontaneously hypertensive rat heart. **Journal of Hypertension**, v. 31, n. 6, p. 1214–1223, 2013.

DA COSTA, T. S. R. et al. Training-induced deactivation of the AT1 receptor pathway drives autonomic control and heart remodeling during the transition from the pre-to hypertensive phase in spontaneously hypertensive rats. **Circulation Journal**, v. 84, n. 8, p. 1294–1303, 2020.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J. Exercise-associated oxidative stress. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 2, n. 3, p. 278–291, 1 set. 2003.

DICKHOUT, J. G.; LEE, R. M. K. W. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 274, n. 3 43-3, 1998.

DÍEZ, J. et al. Losartan-Dependent Regression of Myocardial Fibrosis Is Associated With Reduction of Left Ventricular Chamber Stiffness in Hypertensive Patients. **Circulation**, v. 105, n. 21, p. 2512–2517, 28 maio 2002.

DUCHATSCH, F. et al. Dexamethasone and Training-Induced Cardiac Remodeling Improve Cardiac Function and Arterial Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, v. 26, n. 2, p. 189–199, 1 mar. 2021.

DUPONT, S. et al. The onset of left ventricular diastolic dysfunction in SHR rats is not related to hypertrophy or hypertension. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 302, n. 7, p. 1524–1532, 1 abr. 2012.

EDWARDS, E. W. et al. Top 10 landmark studies in hypertension. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 8, n. 6, p. 437–447, 1 jun. 2014.

EIJSSVOGELS, T. M. H.; FERNANDEZ, A. B.; THOMPSON, P. D. Are There Deleterious Cardiac Effects of Acute and Chronic Endurance Exercise? **Physiological reviews**, v. 96, n. 1, p. 1–2, 2016.

EISNER, D. et al. Calcium flux balance in the heart. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 58, n. 1, p. 110–117, 1 maio 2013.

EISNER, D. A. et al. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. **Circulation Research**, v. 121, n. 2, p. 181–195, 7 jul. 2017.

ELLIOTT, A. D.; LA GERCHE, A. The right ventricle following prolonged endurance exercise: are we overlooking the more important side of the heart? A meta-analysis. **British Journal of Sports Medicine**, v. 49, n. 11, p. 724–729, 1 jun. 2015.

FELD, L. G. et al. Selectivity of renal injury and proteinuria in the spontaneously hypertensive rat. **Kidney international**, v. 12, n. 5, p. 332–343, 1977.

FERREIRA MIRANDA, M. T. et al. Exercise training ameliorates adrenergic control in spontaneously hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 43, n. 2, p. 101–111, 17 fev. 2021.

FILHO, A. G. et al. Selective increase of angiotensin(1-7) and its receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats subjected to physical training. **Experimental Physiology**, v. 93, n. 5, p. 589–598, 2008.

FOWLER, M. R. et al. Decreased Ca<sup>2+</sup> extrusion via Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange in epicardial left ventricular myocytes during compensated hypertrophy. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 5 57-5, p. 2431–2438, maio 2005.

FROHLICH, E. D. The adrenergic nervous system and hypertension state of the art. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 52, n. 6, p. 361–368, 1 jun. 1977.

GARCIARENA, C. D. et al. Endurance Training in the Spontaneously Hypertensive Rat Conversion of Pathological into Physiological Cardiac Hypertrophy. 2009.

GIORDANO, F. J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. v. 115, 2005.

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

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 5, p. 335–346, maio 2006.

GWATHMEY, J. K.; MORGAN, J. P. Sarcoplasmic reticulum calcium mobilization in right ventricular pressure-overload hypertrophy in the ferret: relationships to diastolic

dysfunction and a negative treppe. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, v. 422, n. 6, p. 599–608, mar. 1993.

HALLIWILL, J. R. et al. Postexercise hypotension and sustained postexercise vasodilatation: what happens after we exercise? **Experimental physiology**, v. 98, n. 1, p. 7–18, 2013.

HEINONEN, I. et al. Organ-Specific Physiological Responses to Acute Physical Exercise and Long-Term Training in Humans. **Physiology**, v. 29, n. 6, p. 421–436, nov. 2014.

HERNÁNDEZ, N. et al. Morphological alterations in skeletal muscle of spontaneously hypertensive rats. **Investigacion clinica**, v. 49, n. 1, p. 79–91, mar. 2008.

HUANG, C. Y. et al. Bioactive peptides attenuate cardiac hypertrophy and fibrosis in spontaneously hypertensive rat hearts. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 28, n. 1, p. 94–102, 1 jan. 2020.

HUANG, C.-Y. et al. Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. **Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 5, p. 883–891, 1 mar. 2012.

KAWAMURA, T.; MURAOKA, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. 2018.

KOLWICZ, S. C. et al. Effects of forskolin on inotropic performance and phospholamban phosphorylation in exercise-trained hypertensive myocardium. **J Appl Physiol**, v. 102, p. 628–633, 2007.

KOMATSU, K. et al. Glomerular dynamics and morphology of aged spontaneously hypertensive rats. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition. **Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)**, v. 25, n. 2, p. 207–213, 1995.

KRZESIAK, A. et al. High-intensity intermittent training is as effective as moderate continuous training, and not deleterious, in cardiomyocyte remodeling of hypertensive rats. **J Appl Physiol**, v. 126, p. 903–915, 2019.

KUNDU, S.; RAO, J. P. The story of spontaneously hypertensive rat ( SHR ): A Review. **Al Ameen Journal of Medical Sciences**, v. 1, n. 1, p. 65–66, 2008.

KURA, B. et al. Oxidative Stress-Responsive MicroRNAs in Heart Injury. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 1, p. 358, 5 jan. 2020.

LANDS, A. M.; LUDUENA, F. P.; BUZZO, H. J. Differentiation of receptors responsive to isoproterenol. **Life Sciences**, v. 6, n. 21, p. 2241–2249, 1 nov. 1967.

LEE, C. The definition and assessment of physical activity in cardiovascular risk reduction research. **Australian journal of public health**, v. 17, n. 3, p. 190–194, 1993.



LEGGIO, M. et al. Effects of exercise training on systo–diastolic ventricular dysfunction in patients with hypertension: an echocardiographic study with tissue velocity and strain imaging evaluation. **Hypertension Research** 2014 **37:7**, v. 37, n. 7, p. 649–654, 3 abr. 2014.

LEHNART, S. E. et al. Cardiac Ryanodine Receptor Function and Regulation in Heart Disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1015, n. 1, p. 144–159, 1 maio 2004.

LIANTONIO, A. et al. Calcium Homeostasis Is Altered in Skeletal Muscle of Spontaneously Hypertensive Rats. **The American Journal of Pathology**, v. 184, n. 10, p. 2803–2815, out. 2014.

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

LIU, C. et al. Alamandine attenuates hypertension and cardiac hypertrophy in hypertensive rats. **Amino acids**, v. 50, n. 8, p. 1071–1081, 12 ago. 2018.

LIU, C.-C. et al. Lycopene supplementation attenuated xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in skeletal muscle tissues of rats after exhaustive exercise. **British Journal of Nutrition**, v. 94, n. 4, p. 595–601, 8 out. 2005.

LJONES, K. et al. Acute exhaustive aerobic exercise training impair cardiomyocyte function and calcium handling in Sprague-Dawley rats. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0173449, 8 mar. 2017.

LOCATELLI, J. et al. Swim training attenuates the adverse remodeling of LV structural and mechanical properties in the early compensated phase of hypertension. **Life Sciences**, v. 187, p. 42–49, 2017.

LOCATELLI, J.; DE ASSIS, L. V. M.; ISOLDI, M. C. Calcium handling proteins: Structure, function, and modulation by exercise. **Heart Failure Reviews**, v. 19, n. 2, p. 207–225, mar. 2014.

MÁLEK, F. Arteriální hypertenze a chronické srdeční selhání (Arterial hypertension and chronic heart failure). 2013.

MANCIA, G.; GRASSI, G. The Autonomic Nervous System and Hypertension. **Circulation Research**, v. 114, n. 11, p. 1804–1814, 23 maio 2014.

MCARDLE, W. D. ; K. F. I. ; K. V. L. **McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano.** 6. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

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

MCMILLAN, E. M. et al. Decreased DNA fragmentation and apoptotic signaling in soleus muscle of hypertensive rats following 6 weeks of treadmill training. **J Appl Physiol**, v. 113, p. 1048–1057, 2012.

MELO, S. F. S. et al. Resistance Training Regulates Cardiac Function through Modulation of miRNA-214. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 4, p. 6855, 26 mar. 2015a.

MELO, S. F. S. et al. Exercise training restores the cardiac microRNA-1 and -214 levels regulating Ca<sup>2+</sup> handling after myocardial infarction. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 15, n. 1, p. 1–8, 9 dez. 2015b.

MIDDLETON, N. et al. Cardiac troponin T release is stimulated by endurance exercise in healthy humans. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 52, n. 22, p. 1813–1814, 25 nov. 2008.

MIGUEL-CARRASCO, J. L. et al. Captopril reduces cardiac inflammatory markers in spontaneously hypertensive rats by inactivation of NF- $\kappa$ B. **Journal of Inflammation (London, England)**, v. 7, p. 21, 2010.

MILIONI, F. et al. Efeitos do exercício agudo sobre biomarcadores séricos de ratos diabéticos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 20, n. 1, p. 32–36, 2014.

MUAZ BELVIRANLI; HAKKI GÖKBEL. ACUTE EXERCISE INDUCED OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT CHANGES. **Eur J Gen Med**, v. 3, n. 3, p. 126–131, 2006.

MUTHUSAMY, V. R. et al. Acute exercise stress activates Nrf2/ARE signaling and promotes antioxidant mechanisms in the myocardium. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 2, p. 366–376, 15 jan. 2012.

NATALI, A. J. et al. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. **The Journal of Physiology**, v. 541, n. Pt 3, p. 863, 6 jun. 2002.

NATALI, A. J. et al. Voluntary exercise delays heart failure onset in rats with pulmonary artery hypertension. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 3, p. H421–H424, 1 ago. 2015.

NIE, J. et al. Temporal association of elevations in serum cardiac troponin T and myocardial oxidative stress after prolonged exercise in rats. **European Journal of Applied Physiology** 2010 110:6, v. 110, n. 6, p. 1299–1303, 14 ago. 2010.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, n. 3, p. 282–293, 20 mar. 1963.

OLÁH, A. et al. Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. **International Journal of Cardiology**, v. 182, n. C, p. 258–266, mar. 2015.

PAIVA, F. et al. Alterações histológicas dos rins e expressão das metalotioneínas e das proteínas de choque térmico em ratos Wistar após exposição ao fungicida tirame. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 95–102, fev. 2013.

PATERNOSTRO, G. et al. Decreased GLUT-4 mRNA content and insulin-sensitive deoxyglucose uptake show insulin resistance in the hypertensive rat heart. **Cardiovascular research**, v. 30, n. 2, p. 205–11, ago. 1995.

PERK, J. et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). **European heart journal**, v. 33, n. 13, p. 1635–1701, 13 jul. 2012.

PETRIZ, B. A. et al. NanoUPLC/MSE proteomic analysis reveals modulation on left ventricle proteome from hypertensive rats after exercise training. **Journal of Proteomics**, v. 113, p. 351–365, 15 jan. 2015.

PFEFFER, J. M.; PFEFFER, M. A.; FISHBEIN, M. C. Cardiac function and morphology with aging in the spontaneously hypertensive rat. **The American journal of physiology**, v. 237, n. 4, 1979.

PLAČKIĆ, J. et al. Enhanced nucleoplasmic Ca<sup>2+</sup> signaling in ventricular myocytes from young hypertensive rats. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 101, p. 58–68, 1 dez. 2016.

PLOWMAN, S.; SMITH, D. Exercise physiology for health fitness and performance. 2013.

POTTS, J. T.; MCKEOWN, K. P.; SHOUKAS, A. A. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 274, n. 4 43-4, 1998.

PRAVENEK, M. et al. Recent progress in the genetics of spontaneously hypertensive rats. **Physiological Research**, v. 63, n. SUPPL., 2014.

QUIROGA, C. et al. Moderate Exercise in Spontaneously Hypertensive Rats Is Unable to Activate the Expression of Genes Linked to Mitochondrial Dynamics and Biogenesis in Cardiomyocytes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, 19 ago. 2020.

RADÁK, Z. et al. Super-marathon race increases serum and urinary nitrotyrosine and carbonyl levels. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 33, n. 8, p. 726–730, 1 ago. 2003.

RAIN, S. et al. Right ventricular diastolic impairment in patients with pulmonary arterial hypertension. **Circulation**, v. 128, n. 18, p. 2016–2025, 29 out. 2013.

RAMACHANDRA, C. J. A. et al. Oxidative stress in cardiac hypertrophy: From molecular mechanisms to novel therapeutic targets. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 166, p. 297–312, 1 abr. 2021.

RODRIGUES, J. A. et al. Physical Exercise and Regulation of Intracellular Calcium in Cardiomyocytes of Hypertensive Rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 111, n. 2, p. 172–179, 2018.

RODRIGUES, M. C. et al. Evidence for a role of AT2 receptors at the CVLM in the cardiovascular changes induced by low-intensity physical activity in renovascular hypertensive rats. **Peptides**, v. 28, n. 7, p. 1375–1382, 1 jul. 2007.

ROMAN-CAMPOS, D. et al. Chronic exercise partially restores the transmural heterogeneity of action potential duration in left ventricular myocytes of spontaneous hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, p. no-no, jan. 2012.

ROWELL, L. B. et al. **Human Cardiovascular Adjustments to Rapid Changes in Skin Temperature during Exercise** *Circulation Research*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://ahajournals.org>>.

ROWLAND, T. Echocardiography and Circulatory Response to Progressive Endurance Exercise. **Sports Medicine** 2008 38:7, v. 38, n. 7, p. 541–551, 7 out. 2012.

SAWYER, D. B. et al. Role of Oxidative Stress in Myocardial Hypertrophy and Failure. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 34, n. 4, p. 379–388, 1 abr. 2002.

SCHARHAG, J. et al. Exercise-associated increases in cardiac biomarkers. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 8, p. 1408–1415, 2008.

SEMLITSCH, T. et al. Increasing Physical Activity for the Treatment of Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Medicine** 2013 43:10, v. 43, n. 10, p. 1009–1023, 28 jun. 2013.

SHAVE, R. et al. Exercise-induced cardiac troponin T release: a meta-analysis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 12, p. 2099–2106, 1 dez. 2007.

SHAVE, R. et al. Exercise-Induced Cardiac Troponin Elevation: Evidence, Mechanisms, and Implications. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 56, n. 3, p. 169–176, 13 jul. 2010.

SHIMAMOTO, N. et al. Myocardial energy metabolism in the hypertrophied hearts of spontaneously hypertensive rats. **Basic research in cardiology**, v. 77, n. 4, p. 359–371, jul. 1982.

SHOROFISKY, S. R. et al. Cellular Mechanisms of Altered Contractility in the Hypertrophied Heart. **Circulation Research**, v. 84, n. 4, p. 424–434, 5 mar. 1999.

SIEVERS, L. K.; ECKARDT, K.-U. Molecular Mechanisms of Kidney Injury and Repair in Arterial Hypertension. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 9, 30 abr. 2019.

ŠILHAVÝ, J. et al. Downregulation of the *Glo1* Gene Is Associated with Reduced Adiposity and Ectopic Fat Accumulation in Spontaneously Hypertensive Rats. **Antioxidants**, v. 9, n. 12, p. 1179, 26 nov. 2020.

SILVA, S. D. et al. Temporal changes in cardiac oxidative stress, inflammation and remodeling induced by exercise in hypertension: Role for local angiotensin II reduction. **PLOS ONE**, v. 12, n. 12, p. e0189535, 12 dez. 2017.

SILVA-CUTINI, M. A. et al. Long-term treatment with kefir probiotics ameliorates cardiac function in spontaneously hypertensive rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 66, p. 79–85, 1 abr. 2019.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada**. 7. ed. Porto Alegre: [s.n.].

SOARES, E. R. et al. Cardiac and renal effects induced by different exercise workloads in renovascular hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 6, p. 573–582, 2011.

STILHANO, R. S. **Estudo da fibrose no músculo esquelético mediada por receptores de angiotensina e tratamento do músculo lesionado por prp e terapia gênica**. Disponível em: <<https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/47124>>. Acesso em: 8 jul. 2022.

SUSIC, D.; FROHLICH, E. D. Hypertensive Cardiovascular and Renal Disease and Target Organ Damage: Lessons from Animal Models. **Cardiorenal Medicine**, v. 1, n. 3, p. 139–146, 2011.

TAKIMOTO, E.; KASS, D. A. Role of Oxidative Stress in Cardiac Hypertrophy and Remodeling. **Hypertension**, v. 49, n. 2, p. 241–248, fev. 2007.

THOMAS, C. J. et al. ANP Enhances Bradycardic Reflexes in Normotensive but Not Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**, v. 29, n. 5, p. 1126–1132, 1997.

THOMPSON, P. D. et al. Exercise and Physical Activity in the Prevention and Treatment of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. **Circulation**, v. 107, n. 24, p. 3109–3116, 24 jun. 2003.

TRIPPODO, N. C.; FROHLICH, E. D. **Circulation Research CONTROVERSIES IN CARDIOVASCULAR RESEARCH\* Similarities of Genetic (Spontaneous) Hypertension Man and Rat**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://ahajournals.org>>.

TSUTSUI, H.; KINUGAWA, S.; MATSUSHIMA, S. Oxidative stress and heart failure. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 6, p. 2181–2190, dez. 2011.

VEGA, R. B. et al. Molecular Mechanisms Underlying Cardiac Adaptation to Exercise. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1012–1026, 2 maio 2017.

VOLLAARD, N. B. J.; SHEARMAN, J. P.; COOPER, C. E. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 35, n. 12, p. 1045–1062, 2005.

WEINER, R. B.; BAGGISH, A. L. Exercise-Induced Cardiac Remodeling. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 54, n. 5, p. 380–386, 1 mar. 2012.

YAMORI, Y. **Development of the Spontaneously Hypertensive Rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications, in Handbook of Hypertension Vol. 4. Experimental and genetic models of hypertension**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=ZDWBDAAAQBAJ&pg=PA224&lpg=PA224&dq=Development+of+the+Spontaneously+Hypertensive+Rat+...1/1>>.

YANCY, C. W. et al. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 16, p. e147–e239, 15 out. 2013.

YANCY, C. W. et al. 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. **Circulation**, v. 136, n. 6, p. e137–e161, 8 ago. 2017.

YUN, L. et al. The effects of single and combined application of ramipril and losartan on renal structure and function in hypertensive rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 40, n. 7, p. 617–623, 3 out. 2018.

ZACARIAS, A. C. et al. Swimming training induces liver adaptations to oxidative stress and insulin sensitivity in rats submitted to high-fat diet. **Redox Report**, v. 22, n. 6, p. 515–523, 2 nov. 2017.

ZHANG-JAMES, Y.; MIDDLETON, F. A.; FARAONE, S. V. Genetic architecture of Wistar-Kyoto rat and spontaneously hypertensive rat substrains from different sources  
Zhang-James Y, Middleton FA, Faraone SV. Genetic architecture of Wistar-Kyoto rat and spontaneously hypertensive rat substrains from different sources. **Physiol Genomics**, v. 45, p. 528–538, 2013.

**ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro - ICEB-II, Sala 29  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370  
Email: [ceua@ufop.ufop.br](mailto:ceua@ufop.ufop.br)



**OFÍCIO CEUA Nº. 16/2019, de 31 de outubro de 2019**

**Ilustríssimo(a) Senhor(a)**

**Professor(a) Doutor(a) Mauro Cesar Isoldi**

**ICEB/UFOP**

Senhor(a) Pesquisador(a),

Estamos enviando o certificado de aprovação de adendo do protocolo nº. 2018/10, intitulado "Efeitos da atividade física aguda extenuante sob as proteínas gerenciadoras de cálcio e canais TRP em cardiomiócitos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR)".

2. Atendendo ao art. 6º, IX, da Resolução Normativa CONCEA nº 1, de 09.07.2010, solicitamos que encaminhe a CEUA/UFOP o relatório final do projeto, após executá-lo, conforme modelo do site da CEUA.

Atenciosamente,

**Prof.ª Dr.ª Paula Melo de Abreu Vieira**  
Coordenadora da CEUA/UFOP.

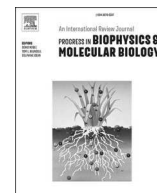


## **ANEXO 2 PRODUÇÕES CIENTÍFICAS**



Contents lists available at ScienceDirect

## Progress in Biophysics and Molecular Biology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/pbiomolbio](http://www.elsevier.com/locate/pbiomolbio)

## Cardiac changes in spontaneously hypertensive rats: Modulation by aerobic exercise

Maria Cecília Teles<sup>a,\*</sup>, Alexandre Martins Oliveira Portes<sup>b</sup>, Bianca Iara Campos Coelho<sup>c</sup>, Letícia Teresinha Resende<sup>b</sup>, Mauro Cesar Isoldi<sup>b</sup><sup>a</sup> Laboratory of Cell Signaling, Department Pharmacy, Federal University of Ouro Preto, Ouro Preto, 35400-000, MG, Brazil<sup>b</sup> Laboratory of Cell Signaling, Department of General Biology, Federal University of Ouro Preto, Ouro Preto, 35400-000, MG, Brazil<sup>c</sup> Laboratory of Cell Signaling, Department Nutrition, Federal University of Ouro Preto, Ouro Preto, 35400-000, MG, Brazil

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Hypertension  
Aerobic exercise  
Oxidative stress  
Inflammation  
Cardiac hypertrophy  
Contractility

## ABSTRACT

Systemic arterial hypertension is a multifactorial clinical condition characterized by high and sustained levels of blood pressure. For a better understanding of the pathophysiology of hypertension, studies are conducted with spontaneously hypertensive animals, which allow the investigation of physiological changes that in most cases cannot be studied in humans. In these animals, myocardial remodeling, increased pro-inflammatory markers, redox imbalance and contractile dysfunctions that lead to changes in cardiac function can be observed. However, it can be inferring that aerobic training improves cardiac function and cardiomyocyte contractility, in addition to controlling inflammation and reducing oxidative stress in cardiac muscle, despite this, the precise mechanisms by which physical exercise improves cardiovascular control are not fully understood. In this review, we provide an overview of the pathophysiological changes that affect the heart of spontaneously hypertensive animals and their modulation by aerobic exercise.

## 1. Introduction

Arterial hypertension is a non-communicable chronic disease that affects more than 30% of the world population, characterized by high and persistent blood pressure levels. It is a multifactorial condition related to genetic/epigenetic, social, and environmental factors, and is a risk factor for cardiovascular diseases, such as cardiac hypertrophy, myocardial infarction, vascular hypertrophy, atherosclerosis, chronic kidney disease, stroke and early mortality, in to furthermore, cardiovascular diseases are responsible for a high frequency of hospitalizations and have high socioeconomic costs (Go et al., 2014; Ning et al., 2018; Barroso et al., 2021).

Studies on the pathophysiology of arterial hypertension are conducted with experimental models of hypertension, these models allow the investigation and understanding of physiological changes that in most cases cannot be studied in humans (Doggrell and Brown, 1998). The spontaneously hypertensive rat (SHR) has been used for studies of cardiovascular diseases, as its alterations are similar to essential or primary hypertension in humans (Locatelli et al., 2017; Caniffi et al., 2020; Slama et al., 2004). Okamoto and Aoki in the 1960 developed this

lineage by crossing Wistar-Kyoto animals with high blood pressure (OKAMOTO and AOKI, 1963). The elevation of blood pressure starts around 5–6 weeks of life and at 7–15 weeks presents spontaneous hypertension, between 20 and 28 weeks they reach a plateau (Yamori, 1984).

Hypertensive animals present compensatory hypertrophy of the left ventricle (LV), followed by pathological remodeling in which fibrosis, microvascular alterations, increased cardiac mass, apoptosis, cardiac dysfunction and consequent heart failure (HF) occurs (Caniffi et al., 2020; Silva et al., 2017; Krzesiak et al., 2019). Additionally, changes in the physiological functioning of the myocardium are observed in these animals and pathological changes in the mechanical and electrical activities of ventricular cardiomyocytes from SHR animals have already been demonstrated (Locatelli et al., 2017; Krzesiak et al., 2019; Shorofsky et al., 1999; Roman-Campos et al., 2012) which will consequently affect the functionality of the myocardium. In adult SHR, hypertension is associated with decreased cardiac output, increased total peripheral resistance, and cardiac hypertrophy occurs over time, starting at the 3rd month of life, in late stages, cardiac function is compromised, which leads to HF (Locatelli et al., 2017; Frohlich, 1977; Thomas et al., 1997;

\* Corresponding author. Department Pharmacy, Federal University of Ouro Preto, 35400-000, Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil.

E-mail address: [maria.magalhaes@aluno.ufop.edu.br](mailto:maria.magalhaes@aluno.ufop.edu.br) (M.C. Teles).<https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2022.11.001>

Received 10 June 2022; Received in revised form 10 October 2022; Accepted 1 November 2022

Available online 5 November 2022

0079-6107/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## Effects of an acute swimming session until exhaustion in myocytes isolated from Wistar rats

Efeitos de uma sessão aguda de natação até exaustão sobre miócitos isolados de animais Wistar

Efectos de una sesión aguda de natación hasta el agotamiento en miocitos aislados de animales Wistar

Received: 07/30/2022 | Reviewed: 08/09/2022 | Accept: 08/11/2022 | Published: 08/21/2022

**Maria Cecília Teles**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1490-7012>  
Federal University of Ouro Preto, Brazil  
E-mail: [maria.magalhaes@aluno.ufop.edu.br](mailto:maria.magalhaes@aluno.ufop.edu.br)

**Lucas Rogério dos Reis Caldas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7155-6319>  
Federal University of Minas Gerais, Brazil  
E-mail: [lucasrrcaldas7@gmail.com](mailto:lucasrrcaldas7@gmail.com)

**Luciana Fernandes Barros**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0018-8755>  
Federal University of Ouro Preto, Brazil  
Email: [luciana\\_sorrab@hotmail.com](mailto:luciana_sorrab@hotmail.com)

**Bianca Iara Campos Coelho**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3632-8978>  
Federal University of Ouro Preto, Brazil  
E-mail: [bianca.campos@aluno.ufop.edu.br](mailto:bianca.campos@aluno.ufop.edu.br)

**Franciany de Jesus Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9836-9820>  
Federal University of Viçosa, Brazil  
E-mail: [francianysilva@hotmail.com.br](mailto:francianysilva@hotmail.com.br)

**Mauro Cesar Isoldi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4961-5332>  
Federal University of Ouro Preto, Brazil  
E-mail: [mauro.isoldi@ufop.edu.br](mailto:mauro.isoldi@ufop.edu.br)

### Abstract

The role of regular physical exercise is recognized for the prevention, control and treatment of cardiovascular diseases. However, studies show that after strenuous aerobic exercise sessions in healthy individuals can lead to cardiac damage, due to the high degree of stress imposed on myocardial structures. This study verifies the effects of swimming to exhaustion on contraction and relaxation velocities, as well as the velocity of calcium release and reuptake in cardiomyocytes isolated from the left ventricle. Wistar animals aged 16 weeks were submitted to a protocol of swimming until exhaustion with a load of 5% of body weight and later the cardiomyocytes were isolated. It was observed that an acute session of swimming until exhaustion promoted an increase in the velocity of contraction and relaxation and an increase in the velocity of calcium release. Exercise to exhaustion promotes adverse effects on the myocardium, however more studies are needed to explain these effects and demonstrate the molecular mechanisms involved in the process.

**Keywords:** Acute exercise; Myocardium; Swimming.

### Resumo

O papel da prática regular de exercício físico é reconhecido para prevenção, controle e tratamento de doenças cardiovasculares. Entretanto, estudos mostram que após sessões de exercício aeróbico extenuante em indivíduos saudáveis podem levar a dano cardíaco, devido ao alto grau de estresse imposto sobre as estruturas do miocárdio. Este estudo tem como objetivo verificar os efeitos da natação até exaustão nas velocidades de contração e relaxamento, bem como a velocidade de liberação e recaptção do cálcio em cardiomiócitos isolados do ventrículo esquerdo. Animais Wistar com 16 semanas foram submetidos a um protocolo de natação até exaustão com carga de 5% do peso corporal e posteriormente os cardiomiócitos foram isolados. Foi observado que uma sessão aguda de natação até a exaustão promoveu aumento na velocidade de contração e relaxamento e aumento na velocidade de liberação do cálcio. O exercício até a exaustão promove efeitos adversos no miocárdio, entretanto mais estudos são necessários para explicar esses efeitos e demonstrar os mecanismos moleculares envolvidos no processo.

**Palavras-chave:** Exercício agudo; Miocárdio; Natação.

