**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
(BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA)**

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O
METABOLISMO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)**

RODRIGO AUGUSTO DALIA

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Câmpus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências da
Motricidade.

**Rio Claro
Estado de São Paulo
Abril - 2010**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
(BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA)**

**INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O
METABOLISMO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)**

RODRIGO AUGUSTO DALIA

**Orientadora: Profa. Dra. Eliete Luciano
Co-Orientadora: Profa. Dra. Maria Alice Rostom de Mello**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Câmpus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências da
Motricidade.

**Rio Claro
Estado de São Paulo
Abril - 2010**

**“Temos o destino que merecemos.
O nosso destino está de acordo
com os nossos méritos.”**
Albert Einstein

“Dedico este trabalho a todos que participaram dele direta e indiretamente”.

AGRADECIMENTOS

Á Deus por iluminar todos nós.

Inicialmente meus agradecimentos a minha família. A meus pais, minhas avós, meu irmão, meu tio pelo incentivo e perseverança em todos esses anos. Com vocês aprendi a viver, sobre a vida, exemplos de honestidade, perseverança, evoluir como pessoa e profissional e entender que temos muito que fazer, e que apenas começamos. Amo Muito Vocês.

A minha namorada, Thays Vital, por me ajudar e estar presente em todos os momentos. Sei que não é fácil agüentar alguém nesta fase, mas você conseguiu superar e ainda me ajudar muito nesta fase final, em todos os aspectos, sempre presente. Sem você não conseguiria chegar. MUITO OBRIGADO. TE AMO!!

A minha orientadora e grande amiga, Profa. Eliete Luciano, pelo exemplo de professora e pesquisadora, por todos os ensinamentos ao longo destes anos de convivência, pela grande amizade que construímos neste tempo, a confiança em mim depositada não teria como expressar em palavras. Mais uma vez agradeço por tudo e todos seus esforços. MUITO OBRIGADO.

Gostaria de estender todos os elogios acima feitos para uma pessoal especial que contribuiu muito para tudo isso, Profa. Maria Alice Rostom de Mello. Sempre disposta a ajudar, independente do que fosse, contribuição enorme para a formação de todos nós, obrigado por tudo e pela amizade também contribuída.

Aos membros da banca, Prof. Claudio Gobatto e Prof. Ricardo Gomes pela contribuição neste trabalho e durante todo o mestrado e pela amizade também contribuída.

Agradeço a Clarice Sibuya por todo o ensinamento durante todo esse tempo, por acolher aos que chegam e aos que já estão há muito tempo. Pela grande amizade que construímos as conversas, risadas, festas em sua casa, tudo isso contribui para a formação de todos nós.

Aos grandes mestres que nos ajudam em todo tempo, não apenas na confecção dessa dissertação, mas durante todo nosso período de ensinamento, não apenas profissional, mas também pessoal Prof. Eduardo Kokubun, Profa. Angelina Zanesco, Prof. Claudio Gobatto, Profa. Lilian Gobbi, Prof. Sebastião Gobbi.

Aos técnicos José Roberto Rodrigues (Beto) e Eduardo Custódio (China) pela contribuição, análises e conversas.

A TODOS os grandes amigos da pós e dos laboratórios, pela ajuda no experimento, e principalmente a AMIZADE durante esses três anos, Leandro (Guloso), José Alexandre, José Diego, Tiago Rezende, Rica Barbieri, Michel, Carla Ribeiro, Lucieli, Carol Ghezzi, Rodrigo Moura, Luciana Arantes, Gustavo Rogatto, Fabrício, Gustavão, Ivan (Barrão), Claudio Meireles, Beck, Tan, Taisa, Pedrão, Marcão Queiroga, Grace, Sandra, Camilinha Papini, Pri Nakamura, Alberto Chiyoda, Américo, Bruninha Mahn, Carlos Sponton, Rômulo, Jamile, Jaliton, em resumo a todos do NAFES, LAFAE e LAFE. Muito Obrigado a todos vocês.

Aos meus grandes irmãos-amigos de infância de Rio Claro, Alexandre Barreto, Eduardo Pastor, Fabio Pastor, Fabrício Gobbo, João Eduardo Dietrich, Lucas Barsotti e Lucas Gaspar, muito obrigado pela amizade que tenho certeza será para sempre.

A todos os funcionários Cristina da Motriz, da limpeza, todos da manutenção e da cantina.

Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq que fomentou este trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	08
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	12
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
1 – INTRODUÇÃO.....	20
2 – OBJETIVOS.....	22
2.1 – Objetivos Gerais.....	22
2.2 – Objetivos Específicos.....	22
3 – REVISÃO DA LITERATURA.....	23
3.1 – Hipertensão Arterial.....	23
3.2 – Modelos Experimentais de Hipertensão.....	24
3.3 – Hipertensão Arterial, Distúrbios Metabólicos.....	25
3.4 – Hipertensão Arterial, Metabolismo e Exercício.....	27
4 – MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 – Animais.....	29
4.2 – Grupos Experimentais.....	30
4.3 – Protocolo Experimental de Treinamento Físico.....	30
4.3.1 – Adaptação ao Meio Líquido.....	30
4.3.2 – Protocolo de Intervenção Física.....	31
4.4 – Avaliações Prévias ao Sacrifício.....	32
4.4.1 – Avaliações Gerais.....	32
4.4.2 – Teste de Tolerância Oral à Glicose – GTTo.....	32
4.4.3 – Teste de Tolerância à Insulina – ITT.....	33
4.5 – Sacrifício dos Animais e Obtenção de Material Biológico.....	33
4.5.1 – Soro.....	33
4.5.2 – Tecidos.....	34
5 – ESTATÍSTICA.....	36
6 – RESULTADOS.....	37

6.1 – Estudo 1: “Tolerância a glicose e sensibilidade a insulina de ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento físico de alta intensidade”.....	38
6.1.1 – Resumo.....	39
6.1.2 – Abstract.....	40
6.1.3 – Introdução.....	41
6.1.4 – Material e Métodos.....	42
6.1.5 – Resultados.....	45
6.1.6 – Discussão.....	50
6.1.7 – Agradecimentos.....	53
6.1.8 – Referências Bibliográficas.....	53
6.2 – Estudo 2: “Influência do treinamento físico de alta intensidade sobre o perfil lipídico e triglicerídeos teciduais de ratos espontaneamente hipertensos”.....	60
6.2.1 – Resumo.....	61
6.2.2 – Abstract.....	62
6.2.3 – Introdução.....	63
6.2.4 – Material e Métodos.....	64
6.2.5 – Resultados.....	67
6.2.6 – Discussão.....	70
6.2.7 – Agradecimentos.....	72
6.2.8 – Referências Bibliográficas.....	72
6.3 – Estudo 3: “Análise do metabolismo cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos perante o treinamento físico de intensidade alta”.....	77
6.3.1 – Resumo.....	78
6.3.2 – Abstract.....	79
6.3.3 – Introdução.....	80
6.3.4 – Material e Métodos.....	81
6.3.5 – Resultados.....	84
6.3.6 – Discussão.....	88
6.3.7 – Agradecimentos.....	91
6.3.8 – Referências Bibliográficas.....	91

6.4 – Outros Resultados.....	98
6.4.1 – Resultados Prévios ao Sacrifício.....	98
6.4.2 – Resultados Após o Sacrifício.....	100
6.4.2.1 – Soro.....	100
6.4.2.2 – Tecidual.....	101
7 – CONCLUSÕES.....	117
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118
9 – ANEXO.....	128
9.1 – Parecer do Comitê de Ética.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS

A.G.L: Ácidos Graxos Livres
ANOVA: Análise de Variância
BSA: albumina sérica bovina
CK: Creatina Quinase
CK-MB: Creatina Quinase Isoforma MB
DC: Débito Cardíaco
DNA: Ácido Desoxirribonucleico
ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FC: Frequência Cardíaca
g: Gramas
GTT: Teste de Tolerância oral à Glicose.
GH: Hormônio do Crescimento
h: Horas
HA: Hipertensão Arterial
HLD: Lipoproteína de Alta Densidade
HVE: Hipertrofia Ventricular Esquerda
IGF-1: Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1.
ITT: Teste de Tolerância à Insulina.
kg: Quilograma
Kitt: Constante de decaimento da glicose durante teste de tolerância à insulina.
LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade
mg: Miligrama
mL: Mililitro
mmHg: Milímetros de Mercúrio
mol: Mol
NO: Óxido Nítrico
ng: Nanograma
OMS: Organização Mundial de Saúde
PAD: Pressão Arterial Diastólica
PAS: Pressão Arterial Sistólica
pmol: Picomol

PTH: Paratormônio

PVC: Cloreto de Polivinila

SHR: Ratos Espontaneamente Hipertensos

SHRS: Rato Espontaneamente Hipertensos Sedentários

SHRT: Ratos Espontaneamente Hipertensos Treinados

RI: Resistência à Insulina

RIA: Radioimunoensaio

SM: Síndrome Metabólica

SNS: Sistema Nervoso Simpático

TCA: Ácido Tricloro Acético

UI: Unidades

VO₂ Máx: Consumo Máximo de Oxigênio

WKY: Wistar Kyoto

WKYS: Wistar Kyoto Sedentário

WKYT: Wistar Kyoto Treinado

μCi: Microcurrie

μEq: Microequivalente

μg: Microgramas

μL: Microlitros

μU: Microunidades

LISTA DE TABELAS

Página

ESTUDO 2

Tabela 1- Ácidos Graxos Livres séricos ($\mu\text{Eq/L}$), Colesterol Total sérico (mg/dL), HDL Colesterol sérico (mg/dl), LDL Colesterol sérico (mg/dl) e Triglicerídeos sérico (mg/dL) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	63
---	-----------

ESTUDO 3

Tabela 1 - Creatina Quinase, Creatina Quinase MB, IGF-1 sérico e GH dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	80
Tabela 2 – Correlação entre Proteínas/DNA e Creatina Quinase MB e IGF-1 cardíaco.....	81

OUTROS RESULTADOS

Tabela 1 – Evolução do comprimento naso-anal (cm) e área sob a curva (cm X 8 semanas) dos animais durante as oito semana de experimento.....	98
Tabela 2 - Albumina sérica (g/dL) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	100
Tabela 3 – Glicogênio Cardíaco (mg/100 mg), Glicogênio Hepático (mg/100 mg); Glicogênio Gastrocnêmio porção Branca (mg/100 mg) e Glicogênio Gastrocnêmio porção Vermelha (mg/100 mg) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	103
Tabela 4 – Colesterol Total da glândula Adrenal (mg/100 mg) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	105
Tabela 5 – Síntese do músculo sóleo (pmol/mg X h) e Degradação do músculo sóleo (pmol/mg X h) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	106
Tabela 6 – Proteínas Hepáticas (mg/100 mg), Proteínas Gastrocnêmio porção Branca (mg/100 mg), Proteínas Gastrocnêmio porção Vermelha (mg/100 mg) e Proteínas do Sóleo (mg/100 mg) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	108

Tabela 7 – DNA Hepático (mg/g), DNA Gastrocnêmio porção Branca (mg/g), DNA Gastrocnêmio porção Vermelha (mg/g) e DNA do músculo Sóleo (mg/g) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	110
Tabela 8 – Proteína/DNA Hepático, Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Branca, Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Vermelha e Proteína/DNA do músculo Sóleo dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	113
Tabela 9 – IGF-1 do músculo Gastrocnêmio (ng/g) dos animais ao final das oito semanas de experimento.....	115

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Delineamento das atividades no transcorrer do experimento.....	24
Figura 2 – Ilustração do período de adaptação ao meio líquido na qual os animais dos grupos treinados passaram anteriormente ao início do protocolo de treinamento físico de alta intensidade.....	26
ESTUDO 1	
<p>Figura 1 – A: Gráfico representativo da evolução peso corporal dos grupos durante as oito semanas de experimento; B: Área sob a curva da evolução do peso corporal dos grupos durante as oito semanas de experimento; C: Gráfico representativo da evolução da ingestão alimentar dos grupos durante as oito semanas de experimento; D: Área sob a curva da evolução da ingestão alimentar dos grupos durante as oito semanas de experimento. E: Gráfico representativo da evolução da ingestão hídrica dos grupos durante as oito semanas de experimento; F: Área sob a curva da evolução da ingestão hídrica dos grupos durante as oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.</p>	42
<p>Figura 2 – A: Glicose sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose; B: Área sob a curva da glicose sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose. C: Insulina sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose; D: Área sob a curva da insulina sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.</p>	43

Figura 3 – A: Glicose sérica dos animais durante o teste de tolerância a insulina; **B:** Constante de remoção da glicose sérica (Kitt) dos animais durante o teste de tolerância a insulina. ^a ≠ de WKYS, ANOVA p<0,05; Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.....

44

ESTUDO 2

Figura 1 – A: Triglicerídeos Cardíacos dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de WKYT, ANOVA p<0,05.; **B:** Triglicerídeos Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de WKYS, ANOVA p<0,05. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.....

64

ESTUDO 3

Figura 1 – A: Proteínas do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA p<0,05; **B:** DNA do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento; **C:** Proteína/DNA do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA p<0,05. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário.....

81

Figura 2 – A: Proteínas do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA p<0,05; **B:** DNA do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento; Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário.....

82

OUTROS RESULTADOS

- Figura 1A:** Gráfico representativo da evolução do comprimento naso-anal dos grupos durante as oito semanas de experimento. Resultados expressos em média, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado..... **99**
- Figura 1B:** Área sob a curva da evolução do comprimento naso-anal dos grupos durante as oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$ **99**
- Figura 2:** Albumina sérica dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS, WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$ **101**
- Figura 3A:** Glicogênio Cardíaco dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS e SHRT, ANOVA $p < 0,05$ **103**
- Figura 3B:** Glicogênio Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado..... **104**
- Figura 3C:** Glicogênio Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado..... **104**
- Figura 3D:** Glicogênio Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYT, ANOVA $p < 0,05$ **105**

Figura 4: Colesterol Total da glândula Adrenal dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA p<0,05.....	106
Figura 5A: Síntese do músculo sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.....	107
Figura 5B: Degradação do músculo sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA p<0,05.....	107
Figura 6A: Proteínas Hepáticas dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.....	108
Figura 6B: Proteínas Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA p<0,05.....	109
Figura 6C: Proteínas Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA p<0,05.....	109
Figura 6D: Proteínas do músculo Sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.....	110

- Figura 7A:** DNA Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYT, ANOVA p<0,05..... 111
- Figura 7B:** DNA Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado..... 111
- Figura 7C:** DNA Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS, ANOVA p<0,05..... 112
- Figura 7D:** DNA do músculo Sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS, ANOVA p<0,05..... 112
- Figura 8A:** Proteína/DNA Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado..... 113
- Figura 8B:** Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA p<0,05..... 114
- Figura 8C:** Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA p<0,05..... 114

Figura 8D: Proteína/DNA do músculo Sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA $p < 0,05$

115

Figura 9: IGF-1 do músculo Gastrocnêmio dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA $p < 0,05$

116

RESUMO

Apesar dos avanços nas pesquisas na área de atividade física e medicina, ainda existem diversas contradições a respeito do real risco e benefício da utilização do exercício físico resistido, principalmente o de força de alta intensidade, para hipertensos no que tange suas variáveis metabólicas. Desta forma, o objetivo desta dissertação foi analisar a influência de um programa de treinamento físico de alta intensidade sobre o metabolismo glicídico, protéico, lipídico e hormonal de ratos espontaneamente hipertensos. Para isso utilizamos ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY), com 20 semanas de vida. Os animais foram divididos em quatro grupos: SHR Sedentário (SHRS); SHR Treinado (SHRT); WKY Sedentário (WKYS); WKY Treinado (WKYT). O treinamento físico de alta intensidade constituía de natação em tanques individuais, na qual os animais realizavam saltos através de uma mochila com velcro acoplada ao tórax do animal, na qual continha uma resistência equivalente a 50% da massa corporal do mesmo, na forma de chumbinhos. Eram realizadas quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série, em cinco dias na semana, durante um período de oito semanas consecutivas. Após o final do treinamento físico os animais passaram pelos testes de tolerância oral a glicose e tolerância a insulina, e após este período os animais foram eutanasiados e coletado soro, através do sangue coletado diretamente do coração, para as dosagens de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL colesterol, proteínas totais, albumina e creatina quinase (CK) e CK-MB, insulina e IGF-1, GH e ácidos graxos livres (A.G.L). Amostras do músculo gastrocnêmio, porções brancas e vermelhas, sóleo, fígado e coração foram coletados e utilizados para avaliação do conteúdo de glicogênio, proteína e DNA. Nos tecidos hepáticos e cardíacos ainda foram coletadas amostras para análise do IGF-1 e do triglicerídeo. Foram retiradas as glândulas supra-renais para avaliação dos níveis de colesterol total através de método enzimático colorimétrico. No músculo sóleo foram retiradas fatiadas para as análises da síntese muscular e outra para sua degradação e ambos incubados em meio adequado. A linhagem de animais SHR apresenta alterações metabólicas importantes como intolerância a glicose, hiperinsulinemia, dislipidemia, aumento das enzimas CK e CK-MB. O treinamento físico de alta intensidade melhorou a sensibilidade a insulina, aumentou a produção de IGF-1 pelo fígado, diminuição das concentrações de IGF-1 cardíaco, diminuiu a razão proteínas/DNA do coração, melhorando o metabolismo músculo esquelético e cardíaco, porém não reverteu o quadro de dislipidemia.

Palavras chave: hipertensão arterial, exercício de alta intensidade, metabolismo, SHR

ABSTRACT

In spite of progress in researches in exercise and medicine area, still several contradictions exist regarding the real risk and benefit of use resistance exercise, mainly the high-intensity, for hypertension in what plays their metabolic variables. This way, objective of this dissertation was to analyze the influence of a high-intensity training program on the glucose, protein, lipids and hormonal metabolism of spontaneously hypertensive rats. For that we used male of lineage of spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto rats (WKY), with 20 weeks of life. The animals were divided in four groups: Sedentary SHR (SHRS); Trained SHR (SHRT); Sedentary WKY (WKYS); Trained WKY (WKYT). The high intensity training constituted of jumps in the water, in individual tanks, wearing a jacket coupled to the thorax containing a lead overload equivalent to 50% of the body mass. Four series of 10 jumps were accomplished, with an interval of 1 minute among each series, five days a week, during eight consecutive weeks. After the end of exercise training the animals went by the glucose tolerance tests and insulin tolerance test, and after this period all animals were killed and serum collected, through the blood collected directly of heart, it trims the glucose, triglycerides, total cholesterol, HLD and LDL cholesterol, total proteins, albumin and creatine kinase (CK) and CK-MB, insulin and IGF-1, GH and free fat acids (FFA). Samples of muscle gastrocnemius, white and red portions, soleus, liver and heart were collected and used for glycogen content, protein and DNA. In the hepatic and heart samples were still collected for analysis of IGF-1 and triglycerides. The supra-renal glands were removed for evaluation levels of total cholesterol through method enzymatic colorimeter. In the soleus muscle they were removed sliced for analyses synthesis and degradation for muscle, both incubated in half appropriate. The lineage of SHR animals presents important metabolic alterations as glucose intolerance, hyperinsulinemia, dyslipidemia, increase of enzymes CK and CK-MB. The high-intensity exercise training improved the insulin sensibility, increased production of liver IGF-1, decrease concentrations of heart IGF-1, decreased rate proteins/DNA of heart, improving the skeletal metabolism and heart muscle, however it didn't revert the dyslipidemia.

Key words: hypertension, high-intensity exercise, metabolism, SHR

1 – INTRODUÇÃO

Dados recentes do World Health Organization e International Society Of Hypertension Writing Group (2003) indicam a existência de quase um bilhão de hipertensos. A tendência é que com o passar dos anos e com o envelhecimento populacional acredita-se que este número alcance um bilhão e meio de pessoas no ano de 2025 (KEARNEY et al., 2005; MCLEAN et al., 2007). A prevalência aumenta com a idade, chegando a 50% em indivíduos entre 60 a 69 anos, e aproximadamente 75% em indivíduos com mais de 70 anos (BURT, WHELTON et al. 1995).

Segundo a V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (2006) a prevalência de indivíduos hipertensos no Brasil gira em torno de 23 a 44%, sendo que a divisão por sexo parece ser igualitária, porém mulheres afro descendentes apresentaram uma prevalência de até 130% maior comparado com mulheres brancas. Nível socioeconômico mais baixo, orientação nutricional deficitária, excesso no consumo de sódio, consumo elevado de bebidas alcoólicas e alto índice de sedentarismo elevam os índices de hipertensão arterial na população brasileira. No ano de 2003 cerca de 27% dos óbitos no Brasil foram causados por doenças cardiovasculares, sendo que no mesmo ano a principal causa de morte foi o acidente vascular cerebral, ambos tendo a hipertensão arterial como principal fator de risco.

A hipertensão arterial (HA), patologia clínica multifatorial, é conceituada como uma síndrome caracterizada pela presença de alterações metabólicas, hormonais e fenômenos tróficos (hipertrofia cardíaca e vascular). Diversos estudos na literatura sugerem a carga genética e história familiar de hipertensão arterial como importante fator predisponente para o desenvolvimento da síndrome metabólica (CORVOL, JEUNEMAITRE, 1997; CUI, HOPPER, HARRAP, 2002; HARRAP, 1994; HARRAP et. al., 2000; HAVLIK et al., 1979).

Dentre as alterações metabólicas apresentadas, a resistência a insulina está presente, podendo alterar o metabolismo protéico, lipídico e também mecanismos celulares e moleculares (CARVALHO-FILHO et al., 2007). Em indivíduos adultos jovens um aumento significativo no peso corporal eleva a incidência de hipertensão arterial, resistência a insulina (RI) e dislipidemia, componentes chave da síndrome metabólica. Nessa população a hiperinsulinemia inicial tem valor importante para o desenvolvimento de hipertensão arterial e dislipidemia (EVERSON et al., 1998).

A terapêutica da HA inclui tanto medidas não-medicamentosas isoladas, quanto associadas a fármacos anti-hipertensivos e outros fármacos. Das medidas não medicamentosas, a mais eficaz e eficiente é o exercício físico, o qual promove melhora da qualidade de vida.

O sedentarismo tem sido implicado como fator de risco para o desenvolvimento da HA. Estudos demonstram que a prática regular de atividade física aeróbica é capaz de reduzir os níveis pressóricos de indivíduos hipertensos, sendo um importante item da terapia da HA (KELLEY, KELLEY, 2000; WHELTON et al., 2002). Uma relação inversa entre a prática de exercício físico e a prevalência da HA tem sido demonstrada na literatura (FAGARD, 1985; WORLD HYPERTENSION LEAGUE, 1991).

O exercício físico implica em benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos, por isso têm chamado atenção de muitos pesquisadores a indicar o treinamento físico como uma conduta não-farmacológica importante no tratamento de diversas patologias como o diabetes, a hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca (TIPTON 1991; WALLBERG-HENRIKSSON; RINCON; ZIERATH, 1998). As explicações apresentadas para a melhora hipertensiva decorrentes do exercício físico geram algumas adaptações do sistema vascular, neuro-humoral e implicam em uma menor resistência vascular periférica, menor produção de catecolaminas e aumento da sensibilidade à insulina, além de atenuação da resposta à norepinefrina, alterações na produção e ação de vasoconstritores e vasodilatadores locais, dentre eles o óxido nítrico e a endotelina-1, e ainda angiogênese e remodelamento vascular (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE, 2004).

Apesar dessas investigações, ainda existem evidentes lacunas do conhecimento científico a respeito do real risco e benefício da utilização do exercício físico resistido, principalmente o de força e alta intensidade, para hipertensos. Assim, estudos com modelo de ratos espontaneamente hipertensos, submetidos ao treinamento físico visando principalmente a análise das variáveis metabólicas e hormonais são fundamentais para a compreensão dos aspectos mencionados.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Analisar a influência de um programa de treinamento físico de alta intensidade sobre o metabolismo glicídico, protéico, lipídico e hormonal de ratos espontaneamente hipertensos.

2.2 – Objetivos Específicos:

Analisar:

- Tolerância oral à glicose e sensibilidade à insulina;
- Concentrações séricas de glicose, ácidos graxos livres, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL colesterol, proteínas totais, albumina, creatina quinase, insulina e IGF-1;
- Concentrações de glicogênio, proteínas teciduais, DNA e razão proteína/DNA no fígado, coração e músculo estriado esquelético;
- Concentrações de triglicerídeos cardíacos e hepáticos;
- Concentrações cardíacas, hepáticas e musculares de IGF-1;
- Síntese e degradação protéica muscular;

3 – REVISÃO DA LITERATURA

3.1 – Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é o principal fator de risco para diversas doenças que comprometem o sistema cardiovascular, como infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, doenças renais e outras, sendo a causa de mais de a metade das mortes ocorridas nos países desenvolvidos (KAPLAN, 1995). Por outro lado, análises clínicas demonstram que a diminuição da incidência de morte e doença cardiovascular reduz diretamente com a queda da pressão arterial (HE; WHELTON, 1999). Estudos apontam também que a diminuição de 2 mmHg na pressão diastólica reduz substancialmente o risco de doenças associadas com a hipertensão (COOK, 1995).

A HA é definida clinicamente pela medida da pressão arterial sistólica (PAS) acima de 140 mmHg e diastólica (PAD) acima de 90 mmHg. Recentemente uma reclassificação dos níveis de pressão arterial foi proposta, tendo como base resultados de estudos populacionais longitudinais, que demonstraram considerável aumento da mortalidade cardiovascular em indivíduos com pressão entre 130-139/85-89 mmHg, quando comparados a indivíduos com pressão arterial abaixo de 120/80 mmHg (VASAN et al. 2001).

A HA pode ser seccionadas em alguns estágios: estágio I ou leve ou limítrofe, PAS entre 140 e 159mmHg e/ou PAD entre 90 e 99mmHg; estágio II ou moderado, PAS entre 160 e 179mmHg e/ou PAD entre 100 e 109mmHg e estágio III ou severo, PAS $\geq$ 180mmHg e/ou PAD $\geq$ 110mmHg (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2004).

A pressão arterial é definida como a combinação entre a resistência vascular periférica e o débito cardíaco, sendo que, pequenas alterações em um desses componentes isolados ou ambos, causam mudanças nos níveis pressóricos (IRIGOYEN et al , 2003)

Independente da etiologia, o nível constantemente elevado de pressão arterial tem como principais causas o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda (HVE), hemorragias cerebrais e insuficiência renal, comprometendo órgãos-alvo como coração, cérebro e rins (GUYTON; HALL, 2002). Essa hipertrofia caracteriza-se por ser concêntrica reduzindo a cavidade interna do ventrículo esquerdo, situação esta que diminui a perfusão miocárdica em relação à massa e, reduzindo a carga de trabalho, a força de contração e o enchimento diastólico ventricular.

O aumento da Pressão arterial também está associado diretamente com alterações estruturais, morfológicas e principalmente funcionais na parede endotelial (FRIDEZ et al., 2003). O endotélio é a porção interna vascular sensível à tensão de estiramento, o chamado *shear-stress*, e é capaz de produzir substâncias vasoativas que modulam o tônus vascular. Entre as substâncias vasodilatadoras o óxido nítrico (NO) é o que produz maior efeito, mas o endotélio também é capaz de produzir substâncias vasoconstritoras como a endotelina (GALLEY; WEBSTER, 2004; VERMA; ANDERSON, 2002).

Diversos estudos já afirmam que pacientes hipertensos apresentam disfunção endotelial devido a uma liberação prejudicada de NO (PERTICONE et al., 2001; QUYYUMI, 1998; TADDEI et al., 1995). No entanto, o desenvolvimento da hipertensão arterial e de doenças ateroscleróticas pode ser precedente da disfunção endotelial (SCHACHINGER; BRITTEN; ZEIHNER, 2000; SHIMOKAWA, 1999).

3.2 – Modelos Experimentais de Hipertensão

Okamoto e Aoki em 1963 apresentaram um novo modelo experimental de hipertensão sem que nenhum recurso fisiológico, farmacológico ou cirúrgico fosse necessário. Este modelo foi denominado SHR. Os animais SHR foram desenvolvidos por uma reprodução genética meticulosa, entre irmãos e irmãs, que uniformemente resultou em animais naturalmente portadores de doença hipertensiva em 100% dos descendentes.

O modelo SHR encontra-se entre os mais estudados; sua importância está na similaridade fisiopatológica com a hipertensão essencial em humanos. Os ratos SHR machos e fêmeas começam a desenvolver HA com 4-5 semanas de vida; apresentam um nível de pressão compatível com a hipertensão espontânea entre a 7ª e a 15ª semanas, atingindo um platô de pressão entre a 20ª e 28ª. Entre as principais vantagens na utilização de modelos animais no estudo de doenças complexas como a HA estão: a homogeneidade genética, a possibilidade de seleção dos cruzamentos, o grande número de animais da progênie e o relativo controle sob os fatores ambientais (OKAMOTO; AOKI, 1963).

A utilização deste modelo como forma de estudo é bem sustentada em diversos modelos, como o de Trippodo e Frohlich, 1981, que demonstram em seu estudo que ambas as formas de hipertensão espontânea (rato e homem) sejam expressões idênticas de uma doença hipertensora determinada geneticamente, possuem origem poligênica e são influenciadas por fatores ambientais.

Animais da linhagem SHR apresentam uma elevação da frequência cardíaca, em comparação com animais da linhagem Wistar Kyoto (WKY) já na 3ª semana de vida, e obtêm relação direta com os níveis de pressão atingidos até a 6ª semana de vida (DICKOUT; LEE, 1998), e com o desenvolvimento da hipertensão arterial, o SHR desenvolve uma progressiva hipertrofia cardíaca (THOMAS et al., 1997). A elevação da pressão arterial nos animais SHR está diretamente relacionada à atividade do sistema nervoso simpático (SNS), a qual parece estar mais elevada nos SHR. Estes animais apresentam disfunção no mecanismo adrenérgico central, originando um aumento na liberação de noradrenalina e subsequente hipertensão (GAVRAS; MANOLIS; GAVRAS, 2001; TRIANTAFYLLIDI et al., 2004).

Devido às alterações do sistema nervoso simpático, esta linhagem acaba desenvolvendo aumento da resistência periférica total (JUDY et al., 1976). As pequenas artérias, arteríolas e, possivelmente, os esfíncteres pré-capilares sejam os principais responsáveis pelo aumento da resistência vascular periférica, sendo que tanto processos ativos quanto estruturais podem ser responsáveis pelo aumento da resistência periférica. Este aumento seria devido a alterações da geometria vascular (FOLKOW et al., 1975), membrana celular da musculatura lisa vascular (OVERBECK, 1972) ou então diminuição da densidade arteriolar da musculatura esquelética (HUTCHINS; DARNELL, 1974).

Outra alteração demonstrada neste modelo animal é disfunções no metabolismo do cálcio, como a hipercalcúria, aumento dos níveis de paratormônio (PTH) e perda de cálcio ósseo (IZAWA et al., 1985).

Assim sendo, fica clara a necessidade de estudos envolvendo os aspectos endócrinos e metabólicos deste modelo de ratos espontaneamente hipertensos especialmente no que diz respeito ao papel do treinamento físico de intensidade elevada.

3.3 – Hipertensão Arterial e Distúrbios Metabólicos

Segundo a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (2004), a hipertensão arterial é um dos critérios de inclusão para o diagnóstico da chamada Síndrome Metabólica (SM). A SM consiste em um transtorno de complexidade múltipla representado por um conjunto de fatores de risco cardiovascular, relacionado ao acúmulo visceral de lipídios e à resistência à insulina. A associação da SM com a doença cardiovascular, aumenta a mortalidade cerca de 1,5 vezes e a cardiovascular em cerca de 2,5 vezes, isto é gera abertura para diversos métodos intervencionais. Os ácidos graxos livres

(AGL) têm importante participação nos mecanismos da síndrome metabólica, têm valor positivo para desenvolvimento futuro de hipertensão e relacionamento direto com a sensibilidade à insulina (FAGOT-CAMPAGNA et al., 1998).

Indivíduos hipertensos não diabéticos apresentam níveis séricos de glicose e insulina maiores que indivíduos normotensos após teste de sobrecarga oral à glicose (FERRANNINI, 1987). Em experimentação animal, ratos espontaneamente hipertensos (SHR) apresentam menor taxa de decaimento da glicose após infusão de insulina (Kitt) do que seus controles normotensos (WKY), por menor envolvimento na sinalização da insulina em tecido muscular e hepático (ZECCHIN et al. 2003). Dados epidemiológicos demonstram que aproximadamente, entre um quarto a um terço dos pacientes hipertensos com peso normal tem resistência à insulina pelo *clamp* euglicêmico ou pelo teste de supressão à insulina (FERRANNINI, 1992).

Um dos possíveis responsáveis pelas alterações patológicas é a resistência à insulina (RI) e hiperinsulinemia compensatória, sendo a insulina diretamente interligada com outros hormônios como adrenalina, leptina e hormônio do crescimento (GH) (CARVALHO-FILHO et al. 2007).

Ferrari et al. (1991), demonstraram que níveis maiores de pressão arterial estão diretamente relacionado a níveis maiores de triglicérides, insulina, colesterol total, LDL-colesterol, maior relação colesterol total/HDL-colesterol em indivíduos com história familiar positiva para hipertensão arterial, comparado com filhos de pais normotensos. Provavelmente, os indivíduos com predisposição genética para hipertensão também apresentam polimorfismos genéticos para obesidade central e alterações metabólicas.

A participação genética na hipertensão tem papel importante no desenvolvimento da SM e de fatores ambientais, tais como, o estresse psicossocial, dieta hipercalórica e a exacerbação do consumo de sal da dieta contribuem para o aparecimento de fenótipos intermediários, como o aumento da atividade simpática, do sistema renina-angiotensina-aldosterona, a ativação do eixo-hipotálamo-hipófise adrenal e a RI, principalmente nos filhos de hipertensos (LOPES, 2005).

Rosenson e Tangney (1998) mostraram que situações clínicas associadas à hipertensão arterial, como a síndrome metabólica, também apresentam maior risco trombótico (disfunção endotelial, aumento de fibrinogênio, maior ativação plaquetária e da via intrínseca e extrínseca da coagulação. Neste sentido, o aumento de LDL-colesterol e redução de HDL-colesterol propiciam maior risco trombótico, pela maior ativação plaquetária. Redução dos

níveis séricos de HDL-colesterol esta tem sido associado à hipertensão arterial, e maior risco trombótico.

A HA e alguns dos fatores de risco para a o desenvolvimento da aterosclerose, como as dislipidemias, parecem estar associadas ao surgimento e agravamento da doença renal hipertensiva (KNOWLES et al., 2000), hipertrofia miocárdica ventricular (SU et al., 2000) e distúrbios cardiovasculares do paciente hipertenso (NEATON et al., 1992).

3.4 – Hipertensão Arterial, Metabolismo e Exercício Físico

O sedentarismo tem sido caracterizado como fator de risco independente para doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão arterial (NATIONAL HEART INSTITUTE, 1996). Estudos têm demonstrado associação inversa entre atividade física de diferentes modalidades, quantidade e intensidade, e a incidência de hipertensão arterial em populações heterogêneas de ambos os sexos (HAAPANEN et al., 1997; HAYASHI et al., 1999; PAFFENBARGER et al., 1991;).

Em pacientes hipertensos, a capacidade de exercício é reduzida em 30% em relação aos normotensos (LIM et al., 1996). O treinamento físico e HA são bem discutidos na literatura, diversos estudos relatam uma redução da PA em animais e humanos submetidos ao exercício físico (HORTA et al., 2005; KOKKINOS; NARAYAN; PAPADEMETRIOU, 2001; TSAI et al., 2004; WALLACE, 2003), sendo que exercício aeróbio diminui a pressão arterial em aproximadamente 75% dos indivíduos com HAS, com reduções de pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) de 11 e 08 mmHg, respectivamente (HAGBERG; PARK; BROWN, 2000).

Arakawa (1993) descreve que os possíveis efeitos anti-hipertensivos do treinamento físico podem estar relacionados a aspectos hormonais como atividade da renina, atividade nervosa simpática e mudanças na interação genética-meio ambiente, como a sensibilidade ao sal e à insulina. A atividade nervosa observada é a diminuição simpática que juntamente com a diminuição dos níveis pressóricos poderiam ser responsáveis pela queda na atividade da renina plasmática, observada após treinamento físico (DUBBERT et al., 1994; TASHIRO et al., 1993).

Em estudo clássico proposto por Wallace (2003) demonstrou que exercícios físicos de intensidade alta, intensidade maior que 75% $\text{VO}_{2\text{ MÁX}}$, não apresentaram diminuição

efetiva nos níveis pressóricos comparados com exercícios de intensidade moderada e baixa. Outro estudo proposto por Hagberg et al. (1989), mostrou que pacientes idosos e hipertensos, submetidos a trinta e sete semanas de treinamento de intensidade moderada, 70% $\text{VO}_2 \text{ MÁX}$, apresentaram diminuição nos valores séricos de norepinefrina e epinefrina concomitantemente a diminuição da insuliménia. No mesmo estudo, idosos hipertensos que realizaram o treinamento físico de intensidade leve, 50% $\text{VO}_2 \text{ MÁX}$ apenas demonstram redução nos níveis séricos de norepinefrina e epinefrina. Esses dados indicam que a intensidade do treinamento é um fator determinante para o efeito do exercício crônico sobre os parâmetros hormonais, como sensibilidade à insulina.

Os valores da pressão arterial mensurados durante o exercício resistido em indivíduos normais apresentaram-se extremamente elevados (MACDOUGALL et al., 1985). Esta elevação é resultado da interação entre o recrutamento da massa muscular, força executada pelo exercício, tipo de contração muscular e a participação da manobra de Valsalva (MACDOUGALL et al., 1992; MCCARTNEY, 1999; MITCHELL, 1985). Outro fator importante que influencia o aumento da pressão arterial é a elevação do débito cardíaco (DC) devido ao aumento da frequência cardíaca (FC) (MACDOUGALL et al., 1992).

Recentemente, o exercício físico resistido passou a ser recomendado para pacientes hipertensos, na maioria das vezes associado com a modalidade aeróbia (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE, 2004). Esta modalidade de exercício é bem conhecida por seus benefícios no sistema músculo-esquelético e osteo-articular, mas ainda são poucos os trabalhos científicos existentes sobre o comportamento da pressão arterial durante esse tipo de exercício.

Com base no exposto anteriormente, não resta dúvida com relação à importância do exercício físico como um excelente meio para evitar não somente a HA, mas também como método de prevenção de outros problemas cardiovasculares. No entanto, embora o número de estudos avaliando os mecanismos deflagrados pelo exercício físico seja cada vez maior, as alterações morfológicas, metabólicas e hormonais a ele associadas são ainda motivo de especulação.

4 – MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Animais

Para a realização deste protocolo experimental foram utilizados ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY) como controle normotenso. As colônias originárias e obtidas do Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB/Unicamp), Campinas, SP, Brasil. Imediatamente após sua chegada no Biotério do Departamento Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP, os animais foram separados em gaiolas contendo cinco ratos, mantidos sob condições controladas de temperatura ($23^{\circ}\text{C} \pm 1$), umidade e luminosidade (ciclos de 12 horas claro/escuro), com livre acesso a água e ração para ratos de laboratório durante todo o experimento. Todos os procedimentos experimentais iniciaram-se a partir da 20ª semana de vida dos animais, sendo esta idade onde atingem o platô de hipertensão (OKAMOTO; AOKI, 1963). Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal – CEUA do Instituto de Biociência da UNESP – Campus de Rio Claro processo número: 001/2009. O delineamento de todo experimento esta ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Delineamento das atividades no transcorrer do experimento.

4.2 – Grupos Experimentais

Após a chegada, os animais foram separados de forma aleatória, de acordo com a linhagem e a inclusão do treinamento físico, da seguinte forma:

SHR Sedentário (SHRS): ratos que apresentavam hipertensão arterial que não realizaram nenhum tipo de atividade física.

SHR Treinado (SHRT): ratos hipertensos que realizaram o protocolo de treinamento físico de alta intensidade.

WKY Sedentário (WKYS): ratos normotensos que não realizaram nenhum tipo de atividade física.

WKY Treinado (WKYT): animais normotensos que realizaram o protocolo de treinamento físico de alta intensidade.

4.3 – Protocolo Experimental de Treinamento Físico

4.3.1 – Adaptação ao meio líquido

Duas semanas antes do início do protocolo de treinamento físico em si, os animais passaram por um período de adaptação ao meio líquido que consistia em 10 dias, sendo cinco dias na primeira semana e conseqüente cinco dias na semana seguinte, em temperatura controlada de $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Esta adaptação tem como objetivo principal minimizar o estresse do animal quando em contato com a água, e adaptá-lo, portanto a prática do treinamento físico proposto.

Inicialmente os ratos foram inseridos em água rasa, por dois dias durante 10 minutos. No terceiro, quarto e quinto dias, os animais foram condicionados no tanque com água no nível alto, na qual os mesmos já realizavam a natação, sem apoio de cauda no fundo do tanque, por um período de cinco, dez e vinte minutos, respectivamente. No início da segunda semana de adaptação foi introduzida a bolsa de velcro, acoplado ao tórax do animal e dentro da mesma, colocado pesos em forma de chumbinho que serviram como instrumento de resistência. Ao início do sexto e sétimos dias, os animais permaneceram com a bolsa de velcro e a resistência de 50% do peso corporal em água rasa, já realizando alguns saltos. Os dias seguintes, oitavo, novo e décimo e ultimo dia de adaptação, os animais permaneciam com a

bolsa de velcro e a resistência de 50% até realizarem uma série de saltos, contendo 10 repetições, como pode observar na Figura 2. Este processo foi adaptado de Manchado-Gobatto, 2007.

Figura 2 – Ilustração do período de adaptação ao meio líquido na qual os animais dos grupos treinados passaram anteriormente ao início do protocolo de treinamento físico de alta intensidade.

4.3.2 – Protocolo de Intervenção Física

Os animais selecionados para o treinamento realizaram exercício de natação, que constitui de saltos em tanque com água, com uma força de resistência de 50% do peso corporal do animal acoplado em seu tórax através de bolsas em velcro, sendo esta resistência na forma de chumbinhos. A temperatura da água foi controlada, e mantida em $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante a realização do exercício, por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura do rato (AZEVEDO, 1994).

Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O treinamento foi realizado cinco dias por semana, tendo os finais de semana como descanso, durante um período de oito semanas consecutivas. Os saltos eram realizados em tubo de PVC, individual, com 100 cm de comprimento, 70 cm de diâmetro, com água numa profundidade correspondente a 150% do comprimento corporal do rato, sendo contabilizado como salto efetivo apenas quando o animal conseguia ultrapassar este limite da altura da água (ROGATTO et al., 2004). Todas as sessões foram iniciadas no período da manhã (08h00).

O modelo de treinamento físico resistindo ou de alta intensidade em natação foi padronizado e amplamente utilizado em nosso laboratório. Em estudo utilizando ratos Wistar adultos, Rogatto, 2001, verificou que após seis semanas de treinamento, os animais treinados apresentaram aumento da sensibilidade periférica a insulina, aumento nos estoques de glicogênio e não alteração da morfologia das glândulas supra-renais, indicando que o treinamento não gerou estresse aos animais.

Utilizando ratos diabéticos experimentais com aloxana, após o período de treinamento físico de alta intensidade favoreceu o crescimento somático dos animais, aumento na massa total muscular (gastrocnêmio), concentrações de glicogênio e proteínas do mesmo músculo, além de melhorar alguns parâmetros séricos como redução nos níveis de ácidos graxos livres (A.G.L) e LDL colesterol (ROGATTO, 2004).

4.4 – Avaliações prévias ao sacrifício

4.4.1 – Avaliações gerais

Todos os animais tiveram peso corporal, comprimento naso-anal e ingestão alimentar e hídrica registrados uma vez por semana. Para fins estatísticos foi utilizado o método trapezoidal de área sob a curva (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 8.0.

4.4.2 – Teste de tolerância oral à glicose – GTTo

O GTTo foi realizado com os animais 48 horas após a última sessão de treinamento, após 15 horas de jejum. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% (2 g/kg de peso) foi administrada aos ratos por meio de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, para a determinação das concentrações de glicose e de insulina.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase (HENRY; CANNON; WILKEMAN, 1974), usando kits comerciais da marca Laborlab® e aquelas de insulina pelo método de radioimunoensaio (RIA). As áreas sob a curva de glicose e de insulina durante o teste foram

calculadas através do método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 8.0.

4.4.3 – Teste de tolerância à insulina – ITT

O ITT foi realizado com os animais no estado alimentado, 48 horas após o GTTo. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de insulina na dose de 30 UI/100g de peso foi administrada por via subcutânea. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando à determinação das concentrações de glicose.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase (HENRY; CANNON; WILKEMAN, 1974), com kit comercial da marca Laborlab®. A constante de remoção da glicose sérica (Kitt) durante o teste foi calculada através da equação $0,693/t_{1/2}$, onde $t_{1/2}$ é a meia vida. A meia vida da glicose foi calculada através de análise q-quadrado das concentrações de glicose entre 0-60 min após a injeção subcutânea de insulina, onde a glicemia reduziu-se linearmente (LUNDBAECK, 1962) utilizando-se o software ORIGIN 8.0.

4.5 – Sacrifício dos animais e obtenção de material biológico

4.5.1 – Soro

Ao final do período experimental, os animais foram anestesiados em câmara de CO₂, 48 horas após a realização do último teste, sendo o sangue coletado diretamente do coração através de agulhas e seringas descartáveis. Posteriormente o sangue foi centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos e seu sobrenadante, soro, utilizado para dosagens de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL colesterol, proteínas totais, albumina e creatina quinase (CK) e CK-MB por métodos enzimáticos colorimétricos através de kits comerciais, insulina e IGF-1 sérico pelo método ELISA, utilizando kits comerciais, hormônio do crescimento (GH) pelo método de radioimunoensaio e ácidos graxos livres (A.G.L) determinados pelo métodos de Regow, 1971.

4.5.2 – Tecidos

Amostras do músculo gastrocnêmio, porções brancas e vermelhas, sóleo, fígado e coração foram coletados e utilizados para avaliação do conteúdo de glicogênio, proteína e DNA. Nos tecidos hepáticos e cardíacos ainda foram coletadas amostras para análise do IGF-1 e do triglicerídeo. Foram retiradas as glândulas supra-renais para avaliação dos níveis de colesterol total através de método enzimático colorimétrico.

- Glicogênio: Foi avaliado por meio do método do fenol em meio ácido descrito por Dubois et al. (1956) com posterior medida da absorbância em espectrofotômetro.

- Proteínas: Obtidas pelo método proposto por Lowry et al. (1951), sendo posteriormente lidas em espectrofotômetro à 650nm.

- DNA: Determinado pelo método da difenilamina e lido em espectrofotômetro à 595nm (GILES; MAYERS, 1965).

- Triglicerídeos: As amostras foram colocadas em tubos contendo 0,5ml de TritonX-100 a 0,1%. Em seguida foram homogeneizadas em Polytron® por 20 segundos em velocidade máxima e, após este procedimento, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm por um período de 10 minutos. O sobrenadante foi extraído para a determinação dos triglicerídeos pelo método fotoespectrometria através de kit comercial (BELMONT et al., 2004).

- IGF-1 tecidual: Foram retiradas amostras de aproximadamente 100 a 200 mg e colocadas em tubos contendo 500 µL de NaCl 0,9%, mantido em meio contendo gelo. As amostras dos tecidos hepático e cardíaco foram homogeneizadas em Polytron® por 20 segundos em velocidade máxima, em seguida, foram centrifugadas a 10.000 rpm, durante 5 minutos a 4°C. Posteriormente foi retirado o sobrenadante obtido e utilizado para dosagem por meio do método de ELISA, kit DSL®.

- Síntese e Degradação do Músculo Sóleo

Para a realização da síntese e degradação protéica foram retiradas fatias longitudinais (70mg) musculares e posteriormente pré-incubadas por 30 minutos em meio RPMI-1640 (com glutamina e sem fenol vermelho e bicarbonato de sódio), suplementado com albumina sérica bovina desengordurada (BSA) [0,1%] e insulina [100u/ml], saturado com mistura gasosa (95% de O₂ e 5% de CO₂). Em seguida, as fatias transferidas para novo meio RPMI com a mesma suplementação, contendo 14C fenilalanina [0,05 uCi/ml] e incubadas por 2 horas. Ao final da incubação, as fatias musculares foram homogeneizadas em ácido tricloro acético (TCA) 5% e centrifugadas a 2.000 rpm por 15 minutos a 4°C. O material TCA

insolúvel foi lavado 3 vezes com TCA 5%. O precipitado resultante é dissolvido em (SDS) 10% à temperatura ambiente por 30 minutos, para a determinação do conteúdo protéico e da radioatividade incorporada às proteínas musculares (DARDEVET et al., 2000). O conteúdo de proteína muscular foi determinado pelo método folin fenol (LOWRY et al., 1951) e a radioatividade incorporada à proteína muscular medida com o auxílio de um cintilador. A síntese protéica foi calculada dividindo-se a radioatividade incorporada pela radioatividade específica da fenilalanina no meio de incubação e expressa como nanomoles de fenilalanina por miligrama de proteína por 2 horas.

A liberação de tirosina pelo músculo isolado na presença de ciclohexamida foi utilizada como índice da degradação protéica. Este método vale-se do fato de que o aminoácido tirosina não é sintetizado nem degradado pelo músculo esquelético. Fatias longitudinais musculares (70mg) foram pré-incubadas em tampão Krebs-Ringer [NaCl 1,2 mmol/L; KCl 4,8 mmol/L; NaHCO₃ 25 mmol/L; CaCl₂ 2,5 mmol/L; KH₂PO₄ 1,2 mmol/L e 87 MgSO₄ 1,2 mmol/L – pH 7,4] suplementado com glicose [5,5 mmol/L], BSA [1,34%], insulina [5u/ml] e ciclohexamida [5,0 mmol/L], saturado com mistura gasosa (95% de O₂ e 5% de CO₂). Em seguida, as fatias foram transferidas para novo meio de mesma composição e incubada por 2 horas. Ao final da incubação, amostras do meio de incubação foram utilizadas para determinação do teor de tirosina (SEIDER et al., 1980).

5 – ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de média $\pm$ desvio padrão. Inicialmente os dados passaram pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilks e posteriormente aplicada à estatística de análise de variância (ANOVA two-way), seguida de teste *post-hoc* de Tukey HSD. Quando oportuno foi utilizado o teste de análise de correlação de Pearson, para determinar-se a correlação entre variáveis. Foi adotado como nível de significância pré-estabelecido em 5%.

6 – RESULTADOS

Os resultados desta dissertação serão apresentados na forma de artigos científicos, já concluídos, que estão em processo de transcrição para a língua inglesa, e posteriormente submetida aos seus periódicos correspondentes. Para isso, dividimos em três estudos:

Estudo 1: “Tolerância a glicose e sensibilidade a insulina de ratos espontaneamente hipertensos submetidos ao treinamento físico de alta intensidade”. Esse trabalho será submetido ao periódico **Experimental Physiology**

Estudo 2: “Influência do treinamento físico de alta intensidade sobre o perfil lipídico e triglicerídeos teciduais de ratos espontaneamente hipertensos”. Esse trabalho será submetido ao periódico **Metabolism: Clinical and Experimental**.

Estudo 3: “Análise do metabolismo cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos perante o treinamento físico de intensidade alta”. Esse trabalho será submetido ao periódico **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**

ESTUDO 1

TOLERÂNCIA A GLICOSE E SENSIBILIDADE A INSULINA DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO FISICO DE ALTA INTENSIDADE

GLUCOSE TOLERANCE AND INSULIN SENSIBILITY IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS SUBMITTED ON HIGH-INTENSIVE TRAINING

Rodrigo Augusto Dalia¹, Lucieli Teresa Cambri¹, José Diego Botezelli¹, Carla Ribeiro¹, José Alexandre Curiacos de Alemeida Leme¹, Leandro Pereira de Moura¹, Ana Carolina Ghezzi¹, Maria Alice Rostom de Mello¹, Eliete Luciano¹.

1-Universidade Estadual Paulista – UNESP , Departamento de Educação Física, Rio Claro – São Paulo – Brasil

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo analisar *in vivo* a tolerância a glicose e a sensibilidade à insulina de animais espontaneamente hipertensos (SHR) após o treinamento físico de alta intensidade. Foram utilizados ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY), com 20 semanas de vida, separados aleatoriamente em SHRS (sedentário) (n=9), SHRT (treinado) (n=9), WKYS (sedentário) (n=9) e WKYT (treinado) (n=9). Antes do início do protocolo de treinamento os animais passaram por duas semanas de adaptação ao meio líquido. Após a adaptação os animais iniciaram o treinamento físico com exercício de natação, que constituiu de saltos em tanque com água, com uma força de resistência equivalente a 50% do peso corporal do animal acoplado ao tórax dos ratos. Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O período de treinamento foi de cinco dias por semana durante oito semanas consecutivas. Foram feitas avaliações do peso corporal, ingestões alimentar e hídrica e os teste de tolerância oral a glicose (GTT_o) e tolerância a insulina (ITT). Os animais SHRS e SHRT apresentaram peso significativamente menor, aumento significativo da ingestão tanto alimentar quanto hídrica comparados com animais controle. Durante GTT_o ambos os grupos hipertensos, apresentaram glicemia significativamente maior comparados com os grupos normotensos. Já para os dados de insulinemia, o grupo SHRS obteve maiores valores comparado com os grupos WKYS e WKYT. No ITT os ratos do grupo SHRT apresentaram valores significativamente maiores de Kitt comparados com o grupo WKYS. Em conclusão, o exercício físico de alta intensidade foi eficaz para melhora a sensibilidade a insulina e o metabolismo da glicose de rato espontaneamente hipertensos.

ABSTRACT

The present study has as objective analyzes *in vivo* glucose tolerance and insulin sensibility of spontaneously hypertensive rats (SHR) after high-intensity training. They were used male rats of lineage spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto (WKY), with 20 weeks life were separate in four groups: sedentary SHR (n =9), trained SHR (n =9), sedentary WKY (n =9) and trained WKY (n =9). Before the beginning the protocol training the animals went by two weeks of adaptation to the liquidate half. After the adaptation animals began the physical training with swimming exercise, constituted of jumps in the water, in individual tanks, coupled to the thorax containing overload equivalent to 50% of the body mass. Each exercise session was composed by four series of 10 jumps, with an interval of 1 minute among each series. The training period was five days a week for eight consecutive weeks. They were made evaluations body weight, food and drink ingestions and glucose tolerance test (GTT) insulin tolerance test (ITT). The animals SHRS and SHRT presented a weight significantly smaller, significant increase of food and drink ingestion compared with control animals. During GTT both hypertensive groups, presented glycemia significantly increased compared with normotensive group. Already for plasma insulin data, SHRS group obtained larger values compared with WKYS and WKYT groups. In ITT rats of SHRT group presented values significantly larger of Kitt compared with WKYS. In conclusion, high-intensity training was effective for improvement the insulin sensibility and glucose metabolism of spontaneously hypertensive rats.

INTRODUÇÃO

Diversos estudos na literatura mostram que pacientes que apresentam o quadro de hipertensão arterial sistêmica, desenvolvem concomitantemente um quadro de alterações no metabolismo da glicose, hiperinsulinemia e uma comprometimento na ação da insulina nos tecidos periféricos (1, 2, 3, 4, 5). A presença de um quadro de resistência a insulina e uma hiperinsulinemia compensatória levam a alterações também no metabolismo dos lipídios (6), resultando em um quadro de diminuição nas concentrações de HDL-colesterol, elevação dos níveis de LDL e VLDL-colesterol e hipertrigliceridemia, conhecido comumente como dislipidemia (7, 8). Diversos estudos também apontam uma ligação entre resistência a insulina e hiperinsulinemia e aumento na formação trombótica pela inibição do processo fibrinolítico (33, 34). Estas alterações consolidadas elevam substancialmente o risco do desenvolvimento de doenças cardíacas (5, 11, 12).

A linhagem de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) é a mais utilizada no modelo genético para o estudo da hipertensão arterial humana. Semelhantemente como acontece com humanos, a linhagem de animais hipertensos também apresenta algumas alterações metabólicas como intolerância a glicose, hiperinsulinemia e resistência a insulina após teste de tolerância oral a glicose (13, 14, 15).

Diversos estudos têm demonstrado uma direta relação entre os níveis de atividade física e sensibilidade à insulina (16, 17, 18). O treinamento físico provoca uma melhora na tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina em indivíduos saudáveis, em obesos não-diabéticos e em portadores de diabetes tipo 1 e 2. (19, 20). O efeito benéfico do exercício pode variar também devido à intensidade do exercício, tanto os exercícios aeróbios quanto com exercícios de força apresentaram efeito positivo sobre a sensibilidade a insulina (21, 22). Porém o exercício físico resistindo ou de alta intensidade para a população hipertensa

apresenta ainda algumas restrições e controvérsias. Por isso ainda são escassos os trabalhos relacionando o exercício físico de alta intensidade para hipertensos sobre parâmetros metabólicos.

Para isso o presente estudo tem como objetivo principal analisar *in vivo* a tolerância a glicose e a sensibilidade a insulina de animais espontaneamente hipertensos (SHR) após o treinamento físico de alta intensidade.

MATERIAL E MÉTODOS

População Estudada

Foram utilizados ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY) como controles normotensos com 20 semanas de vida separados aleatoriamente em SHR sedentário (n=9), SHR treinado (n=9), WKY sedentário (n=9) e WKY treinado (n=9), separados em gaiolas contendo cinco ratos, mantidos sob condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade (ciclos de 12 horas claro/escuro), com livre acesso a água e ração. Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal – CEUA do Instituto de Biociência da UNESP – Campus de Rio Claro.

Protocolo Experimental de Treinamento Físico

Duas semanas antes do início do protocolo de treinamento físico, os animais passaram por um período de adaptação ao meio líquido durante 10 dias, tendo como objetivo

minimizar o estresse do animal quando em contato com a água, e adaptá-lo, portanto a prática do treinamento físico proposto.

Após a adaptação os animais iniciaram o treinamento físico com exercício de natação, que consistiu de saltos em tanque com água, com uma força de resistência de 50% do peso corporal do animal acoplado ao tórax dos ratos através de bolsas com velcro, sendo esta resistência na forma de chumbinhos. A temperatura da água foi controlada, e mantida em $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura do rato (23). Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O período de treinamento foi de cinco dias por semana durante oito semanas consecutivas. Os saltos eram realizados em tubo de PVC, individual, com 100 cm de comprimento, 70 cm de diâmetro, com água numa profundidade correspondente a 150% do comprimento corporal do rato, sendo contabilizado como salto efetivo apenas quando o animal conseguia ultrapassar este limite da altura da água (24).

Avaliações de Peso, Ingestão Hídrica e Alimentar

Todos os animais tiveram peso corporal e ingestão alimentar e hídrica registrados uma vez por semana. Para fins estatísticos foi utilizado o método trapezoidal de área sob a curva (25), utilizando-se o software ORIGIN 8.0.

Teste de tolerância oral à glicose – GTTo

O GTTo foi realizado com os animais na sétima semana de treino, após 15 horas de jejum. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% (2 g/kg de peso) foi

administrada aos ratos por meio de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, para a determinação das concentrações de glicose e de insulina.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase (26), usando kits comerciais da marca Laborlab® e as de insulina pelo método de radioimunoensaio (RIA). As áreas sob a curva de glicose e de insulina durante o teste foram calculadas através do método trapezoidal (25), utilizando-se o software ORIGIN 8.0.

Teste de tolerância à insulina – ITT

O ITT foi realizado com os animais no estado alimentado, 48 horas após o GTTo. Uma primeira coleta de sangue foi feita por meio de pequeno corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de insulina na dose de 30 UI/100g de peso foi administrada por via subcutânea. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando à determinação das concentrações de glicose.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase (26), com kit comercial da marca Laborlab®. A constante de remoção da glicose sérica (Kitt) durante o teste foi calculada através da equação $0,693/t_1=2$, onde $t_1=2$ é a meia vida. A meia vida da glicose foi calculada através de análise q-quadrado das concentrações de glicose entre 0-60 min após a injeção subcutânea de insulina, onde a glicemia reduziu-se linearmente (27) utilizando-se o software ORIGIN 8.0.

Estatística

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de média $\pm$ desvio padrão. Foi aplicada à estatística de análise de variância (ANOVA two-way), seguida de teste *post-hoc* de Tukey HSD. Foi adotado como nível de significância pré-estabelecido em 5%.

RESULTADOS

Os resultados referentes à média do peso corporal e a área sob a curva durante as oito semanas de experimento estão expressos na Figura 1A e B. Durante todo o experimento podemos observar um peso significativamente menor de ambos os grupos hipertensos, sedentários e treinados, comparados com ambos os ratos controles. Um Resultado similar foi observado na ingestão alimentar e hídrica dos grupos e estes dados estão demonstrados nas Figuras 1C e D e 1E e F, respectivamente. Para melhor compreensão de o comportamento alimentar e hídrico, foi utilizado o método de área sob a curva das ingestões e esta apontou um aumento significativo da ingestão tanto alimentar quanto hídrica dos animais hipertensos, comparados com animais controle, sendo que o exercício físico não provocou alterações nas ingestões.

Nas Figuras 2A e C, podemos observar os dados de glicemia e insuliménia, respectivamente, obtidos durante o teste de tolerância oral a glicose (GTT_o). Mais uma vez foi realizada a análise através de área sob a curva, sendo que a glicemia apresentada durante todo o teste foi significativamente maior para ambos os grupos hipertensos comparados com os grupos normotensos. Já para os dados de insulínemia, o grupo SHRS obteve maiores valores comparado com os grupos WKYS e WKYT. Os valores referentes à área sob a curva estão demonstrados nas Figuras 2B e D.

O teste de tolerância a insulina (ITT), valores de glicemia durante todo o teste e a constante de remoção da glicose sérica, estão apresentados nas Figuras 3A e B. Os ratos do grupo SHRT apresentaram valores significativamente maiores de K_{it} comparados com o grupo WKYS, demonstrando maior sensibilidade a insulina após as oito semanas de treinamentos dos animais hipertensos.

Figura 1 – **A:** Gráfico representativo da evolução peso corporal dos grupos durante as oito semanas de experimento; **B:** Área sob a curva da evolução do peso corporal dos grupos durante as oito semanas de experimento. $\neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$; **C:** Gráfico representativo da evolução da ingestão alimentar dos grupos durante as oito semanas de experimento; **D:** Área sob a curva da evolução da ingestão alimentar dos grupos durante as oito semanas de experimento. $\neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$. **E:** Gráfico representativo da evolução da ingestão hídrica dos grupos durante as oito semanas de experimento; **F:** Área sob a curva da evolução da ingestão hídrica dos grupos durante as oito semanas de experimento. $\neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 2 – **A:** Glicose sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose; **B:** Área sob a curva da glicose sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose. $a \neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$; **C:** Insulina sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose; **D:** Área sob a curva da insulina sérica dos animais durante o teste de tolerância oral a glicose. $a \neq$ de WKYS, ANOVA $p < 0,05$. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 3 – **A**: Glicose sérica dos animais durante o teste de tolerância a insulina; **B**: Constante de remoção da glicose sérica (Kitt) dos animais durante o teste de tolerância a insulina. ^a ≠ WKYS, ANOVA $p < 0,05$; Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

DISCUSSÃO

A prevalência mundial da hipertensão arterial esta em constante crescimento, sendo que em muitos países chega de 15 a 25% da população adulta. Para tentar reverter estes números alarmantes, um dos tratamentos não farmacológico mais eficiente e eficaz é a incorporação de um programa de atividade física, sendo este para diminuição dos valores pressóricos já existentes quanto para diminuição do risco de desenvolvimento futuro de hipertensão em pessoas normotensas (28).

No presente estudo, os principais achados foram à presença de hiperfagia e aumento na ingestão hídrica de animais espontaneamente hipertensos, aumento da sensibilidade a insulina e a manutenção da intolerância a glicose depois de oito semanas de treinamento físico de alta intensidade. Como podemos observar nas Figuras 1D e 1F os animais hipertensos apresentaram um comportamento de hiperfagia e aumento da ingestão hídrica durante todo o experimento e o treinamento físico não conseguiu rever este quadro. Este quadro é semelhante ao apresentado em animais diabéticos induzidos por estreptozotocina (29) e que devido as baixas concentrações de insulina (30), apresentam baixas produções de leptina, aumentos nas concentrações de grelina e ambas atuam nas regiões hipotalâmicas responsáveis pelo controle da fome e saciedade (31). Os animais hipertensos diferentemente dos animais com um quadro de diabetes já instalado apresentam um quadro de hiperinsulinemia, após teste de sobrecarga oral de glicose, podendo esta hiperinsulinemia atuar diretamente nos centros hipotalâmicos da ingestão alimentar, dificultando a passagem da própria insulina, leptina e grelina para os meios intracelulares.

Os dados deste estudo corroboram com os achados na literatura que mostram que os animais espontaneamente hipertensos apresentam um quadro de intolerância a glicose, resistência periférica a ação da insulina e insulimemia compensatória (4, 13, 14, 15, 32, 33, 3,

34). Os mecanismos responsáveis por estas alterações ainda não estão completamente desvendados, porém alguns estudos revelam que os animais SHR apresentam uma resistência a fosforilação do receptor de insulina em tirosina e aumento da fosforilação em serina (35), alteração no gene *Cd36* (4), alteração nas concentrações de óxido nítrico (NO) e endotelina-1 (36) e aumento da atividade da glicocinase nas ilhotas, alterando a sensibilidade a glicose das células betas (34).

Estudo proposto por Vêras-Silva et. al. (1997) (37), demonstrou que 18 semanas de exercício físico de alta intensidade em esteira, não foi suficiente para diminuir as pressões sistólica, diastólica, média e os batimentos cardíacos de SHR. Porém os efeitos metabólicos desse treinamento físico para estes animais ainda são desconhecidos. O exercício resistido está altamente relacionando com a diminuição da incidência da síndrome metabólica e das causas de mortalidade e morbidade (38, 39). Alguns fatores como a intolerância a glicose, resistência a insulina e hiperinsulinemia compensatória estão entre os fatores principais da síndrome metabólica (5). Os dados apresentados neste estudo reforçam a teoria que o treinamento físico de alta intensidade provoca melhoras na sensibilidade a insulina, tolerância a glicose e diminuição da hiperinsulinemia. Diversos estudos que utilizaram o exercício físico aeróbio, tanto em animais (40) quanto em humanos (41, 42), apresentaram respostas semelhantes a encontradas neste estudo.

Estudos anteriores já vêm demonstrando os efeitos do exercício resistido em indivíduos que apresentaram alterações na tolerância a glicose e sensibilidade a insulina, como no caso de indivíduos hipertensos e diabéticos tipo 2, na qual após um período de treinamento houve melhoras tanto na sensibilidade a insulina quanto a glicose (43, 44). Esta melhora se deve a necessidade de concentrações menores de insulina para o transporte da glicose do meio extra para o meio intracelular (45) e também ao aumento do número e na ativação dos receptores de insulina na membrana (46). Após a estimulação através de insulina,

o músculo de ratos que foram submetidos ao treinamento apresentou um aumento também na fosforilação das proteínas intracelulares IRS-1 e IRS-2, estas por sua vez ativando o complexo de sinalização molecular da insulina por meio da proteína PI3-quinase e por fim ocorrendo um aumento na captação de glicose através da translocação do seu transportador no tecido muscular o GLUT-4 e também no tecido adiposo (40).

Outra alteração que leva a mudanças no metabolismo da glicose é a diminuição na produção endotelial de óxido nítrico (NO), um vasodilatador, sintetizado ou liberado por animais e indivíduos hipertensos e que provoca uma menor captação e utilização da glicose e resistência a insulina nos tecidos, principalmente muscular e vascular (47). Porém o exercício resistido leva a um aumento do fluxo sanguíneo nas regiões musculares, através da neovascularização e aumento da perfusão de capilares e este fenômeno faz com que aumente a produção de NO pelo tecido endotelial, podendo estar relacionado com o aumento na sensibilidade a insulina e metabolismo da glicose (48).

Devido às diversas alterações provocadas pela hipertensão arterial, outros estudos serão necessários para investigar melhor, em níveis moleculares, quais alterações o exercício físico resistido ou de alta intensidade estaria induzindo diretamente relacionado com a melhora na sensibilidade aos tecidos periférica a ação da insulina e ao metabolismo da glicose.

Em resumo, nosso trabalho demonstrou que o exercício físico de alta intensidade foi eficaz para melhora a sensibilidade a insulina e o metabolismo da glicose de rato espontaneamente hipertensos, através de provavelmente dos mecanismos de sinalização intracelular da insulina e também na melhora do fluxo sanguíneo periférico muscular, altamente relacionado com o óxido nítrico.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Clarice Yoshio Sibuya, Eduardo Custódio e José Roberto Rodrigues da Silva, que auxiliaram o desenvolvimento desse estudo. Esse estudo foi fomentado pelo CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FERRANNINI, E. et. al. Insulin resistance in essential hypertension. **New England Journal of Medicine**, v.317, p350-357, 1987.
2. REAVEN, G.M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v.37, p.1595-1607, 1988
3. GOUVEIA, L. M. F. B.; KETTELHUT, I. C.; FOSS, M. C., Abnormalities of glucose metabolism in spontaneously hypertensive rats, **Braz. J. Med. Boil. Res.**, v33, n.11, p.1357-62, Nov. 2000.
4. PRAVENEK, M. et. al. Genetic analysis of metabolic defects in the spontaneously hypertensive rat. **Mamm. Genome**, v.13, p.253-258, 2002.
5. REDON, J.; CÍFKOVÁ, R.; NARKIEWICZ, K. Hypertension in the metabolic syndrome: summary of the new position statement of the European Society of Hypertension, **Pol. Arch. Med. Wewn.**, v.119, n.4, p.255-60, 2009.

6. REAVEN, G.M.; CHEN, Y-DI. Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. **Diabetes/Metab Rev.**, v.4, p.639-652, 1988.
7. LAWS, A.; REAVEN, G.M. Evidence for an independent relationship between insulin resistance and fasting plasma HDL-cholesterol, triglyceride and insulin concentrations. **J. Int. Med.**, v.231, p.25-30, 1992.
8. AUSTIN, M.A. et. al. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. **J. Am. Med. Assoc.**, v.260, p.1917-1921, 1988.
9. JUHAN-VAGUE, I.; ALESSI, M.C.; VAGUE, P. Increased plasma plasminogen activator inhibitor i levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. **Diabetologia**, v.34, p.457-462, 1991.
10. POTTER VAN LOON, B.J. et. al. The cardiovascular risk factor plasminogen activator inhibitor type I is related to insulin resistance. **Metabolism**, v.42, p.945-949, 1993.
11. REAVEN, G. M.; LAWS, A. insulin resistance compensatory hyperinsulinaemia, and coronary heart disease, **Diabetologia**, v.37, v.9, 1994
12. CASTELLI, W.R. et. al. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. **Circulation**, v.55, p.767-772, 1977.

13. SWISLOCKI, A.; TSUZUKI, A. Insulin resistance and hypertension: glucose intolerance, hyperinsulinemia, and elevated free fatty acids in the lean Spontaneously Hypertensive Rat. **Am. J. Med. Sci.**, v.306, p.282–286, 1993.
14. MONDON, C.E.; REAVEN, G.M. Evidence of abnormalities of insulin metabolism in rats with spontaneous hypertension. **Metabolism**, v.37, p.303–305, 1988.
15. HULMAN, S.; FALKNER, B.; CHEN, Y.Q. Insulin resistance in the spontaneously hypertensive rat. **Metabolism**, v.40, p.359 –361, 1991.
16. RENNIE, K.L. et. al. Metabolic responses to exercise. Effects of endurance training and implications for diabetes. **Diabetes Care**, v. 15, p. 1767-76, 1992.
17. LAKKA, T.A. e.t al. Sedentary life style, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 35, p.1279-86, 2003.
18. SCHNEIDER, S.H.; RUDERMAN, N.B.; Exercise and NIDDM (technical review). **Diabetes Care**, v.13, p.785-9, 1990.
19. ERIKSSON, J.; TAIMELA, S.; KOIVISTO, V.A. Exercise and the metabolic syndrome. **Diabetologia**, v.40, p.125-35, 1997.
20. MILLER, J.P. et. al. Strength training increases insulin action in healthy 50- to 65-yr-old men. **Journal of Applied Physiology**, v.77, p.1122-7, 1994.

21. POLLOCK, M.L. et. al. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: an advisory from the committee on exercise, rehabilitation, and prevention, council on clinical cardiology, American Heart Association. **Circulation**, v.101, p.828-33, 2000.
22. IVY, J.L. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Sports Medicine**, v.24, p.321-36, 1997.
23. AZEVEDO, J.R.M.; **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados após exercício agudo de natação**. 1994. 139f. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiologia) Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.
24. ROGATTO, G.P. et al. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos, **Motriz**, v. Mai:10, n.2, p. 61-6, 2004.
25. MATHEWS, J.N.S. et al. Analysis of serial measurements in medical research. **Brazilian Medicine Journal**, v. 27, p. 230-5, 1990.
26. HENRY, R. J.; CANNON, D.C.; WILKEMAN, J. **Clinical chemistry, principles and techniques**. 2.ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974, 1288p.
27. LUNDBAECK, K. Intravenous glucose tolerance test as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. **Brazilian Medicine Journal**, v2, p. 1507-1513, 1962.

28. VAN BAAK, M. A. Exercise and hypertension: facts and uncertainties. *Br. J. Sports Med.*, v.32, n.1, p.6–10, 1998.

29. ISHII, S. et. al. Role of ghrelin in streptozotocin-induced diabetic hyperphagia. **Endocrinology**, v.143, n.12, p. 4934-37, 2002.

30. GOMES, R.J. et. al. Effects of exercise training on hippocampus concentrations of insulin and IGF-1 in diabetic rats. **Hippocampus.**, v.19, n.10, p.981-7, 2009.

31. DONG, J. et. al. Role of endogenous ghrelin in the hyperphagia of mice with streptozotocin-induced diabetes. **Endocrinology**, v.147 n.6, p. 2634-2642, 2006.

32. YAMORI, Y. et. al. Glucose metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Heurt. J.**, v.19, p.559-560,1978.

33. YAMORI, Y. et. al. Glucose tolerance in spontaneously hypertensive rats. **Jpn. Circ. J.**, v.42, p.841-847, 1978.

34. CHEN, C. et. al. Mechanism of compensatory hyperinsulinemia in normoglycemic insulin-resistant spontaneously hypertensive rats. Augmented enzymatic activity of glucokinase in beta-cells. *J. Clin. Invest.*, v.94, n.1, p.399–404, 1994.

35. ZECCHIN, H.G. et. al. Insulin signaling pathways in aorta and muscle from two animal models of insulin resistance - the obese middle-aged and the spontaneously hypertensive rats. **Diabetologia**, v.46, p.479–491, 2003.
36. POTENZA, M.A. et. al. Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v.289, p.H813–H822, 2005.
37. VÉRAS-SILVAS, A.S. et. al. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am. J. Physiol.**, v.273, n.6 Pt 2, p.H2627-31, 1997.
38. FITZGERALD, S.J, et. al. Muscular fitness and all-cause mortality: prospective observations. **J. Physical Activity Health.**, v.1, p.7–18, 2004.
39. JURCA, R. et. al. Association of muscular strength with incidence of metabolic syndrome in men. **Med Sci Sports Exerc.**, v.37, p.1849–1855, 2005.
40. LUCIANO, E. et. al. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. **European Journal Endocrinology**, v.147, p.149-157, 2002.
41. KAHN, S.E. et. al. Effect of exercise on insulin action, glucose tolerance, and insulin secretion in aging. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.258, n.21, p.E937-E943, 1990.

42. KIRWIN, J.P. et. al. Endurance exercise training reduces glucose stimulated insulin levels in 60-70 year old men and women. **J. Gerontol.**, v.48, p.M84-M90, 1993.

43. CRAIG, B.W.; EVERHART, J.; BROWN, R. The influence of high-resistance training on glucose tolerance in young and elderly subjects. **Mech. Ageing Deu.**, v.49, p.147-157, 1989.

44. MILLER, W.J.; SHERMAN W.M.; IVY, J.L. Effect of strength training on glucose tolerance and post-glucose insulin response. **Med. Sci. Sports Exercise**, v.16, p.539-543, 1984.

45. OLEFSKY, J.M. Insulin resistance and insulin action: an in vitro and in vivo perspective. **Diabetes**, v.30, p.148-162, 1981.

46. CRAIG, B.W. Adaptation of fat cells to exercise: response of glucose uptake and oxidation to insulin. **J. Appl. Physiol.**, v.51, p.1500-1506, 1981.

47. De ANGELIS, K.L.A. et. al. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension**, v.34, n.4 Pt 2, p.768-72, 1999.

48. CLARK, M.G. et. al. Blood flow and muscle metabolism: a focus on insulin action. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.284, p.E241-E258, 2003.

ESTUDO 2

INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O PERFIL LIPÍDICO E TRIGLICERÍDEOS TECIDUAIS DE RATOS ESPONTANEMANETE HIPERTENSOS

INFLUENCE OF HIGH-INTENSIVE TRAINING ON THE LIPIDIS PROFILE AND TISSUE TRYGLYCERIDES IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

Rodrigo Augusto Dalia¹, Lucieli Teresa Cambri¹, José Diego Botezelli¹, Carla Ribeiro¹, José Alexandre Curiacos de Alemeida Leme¹, Leandro Pereira de Moura¹, Gustavo Gomes de Araujo¹, Maria Alice Rostom de Mello¹, Eliete Luciano¹.

1-Universidade Estadual Paulista – UNESP , Instituto de Biociências, Departamento de Educação Física, Rio Claro – São Paulo – Brasil

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a influência de um programa de treinamento físico de alta intensidade sobre o perfil lipídico e sobre a concentração de triglicérides teciduais de ratos espontaneamente hipertensos. Foram utilizados de ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY), com 20 semanas de vida, divididos em quatro grupos: SHRS (sedentário), SHRT (treinado), WKYS (sedentário) e WKYT (treinado). O treinamento físico de alta intensidade consistiu de exercício de natação, utilizando saltos em tanque com água, com uma força de resistência de 50% do peso corporal do animal acoplado ao tórax dos ratos através de bolsas com velcro, sendo esta resistência na forma de chumbinhos. Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O período de treinamento foi de cinco dias por semana durante oito semanas consecutivas. Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados e o soro utilizado para dosagens de triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL colesterol e ácidos graxos livres (AGL). Amostras do coração e do fígado foram pesadas em balança analítica e utilizadas para avaliação do conteúdo de triglicerídeos teciduais. Como resultado o colesterol total e LDL colesterol dos animais dos grupos hipertensos, apresentaram valores significativamente maiores em relação aos grupos normotensos, HDL colesterol dos animais dos grupos SHRS e SHRT apresentavam valores significativamente menores comparados com os grupos WKYS e WKYT. Em conclusão, os animais espontaneamente hipertensos apresentam alterações no perfil lipídico e desenvolvimento um quadro de dislipidemia. Após um período de treinamento físico de alta intensidade, os animais hipertensos não reverteram o quadro de dislipidemia.

ABSTRACT

Objective of this study was verifying the influence of high-intensive program exercise on lipids profile and tissue triglycerides in spontaneously hypertensive rats. The experiment used lineage of male spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto rats (WKY), with 20 weeks of life, divided in four groups: SHRS (sedentary), SHRT (trained), WKYS (sedentary) and WKYT (trained). The high-intensive training constituted of jumps in the water, in individual tanks, wearing a jacket coupled to the thorax containing a lead overload equivalent to 50% of the body mass. Each exercise session was composed by four series of 10 jumps, with an interval of 1 minute among each series. The training period was five days a week for eight consecutive weeks. At the end of experimental period, the animals were killed and serum used for triglycerides, total cholesterol, HDL and LDL cholesterol and free fat acids (FFA). Samples of heart and liver they were heavy in analytical scale and used for content of tissue triglycerides. As result total cholesterol and LDL cholesterol the animals of hypertensive groups, presented values significantly larger in relation to normotensive groups, HDL cholesterol of SHRS and SHRT groups presented values significantly minors compared with WKYS and WKYT groups. In conclusion, the spontaneously hypertensive rats present alterations in lipids profile, development dyslipidemia. After period of high-intensive training, hypertensive animals didn't revert the dyslipidemia.

INTRODUÇÃO

O risco de morbidade e mortalidade de adultos e pessoas idosas aumenta consideravelmente quando associamos a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e a arteriosclerose. Ferrari et. al. (1991) (1), demonstraram que níveis maiores de pressão arterial estão diretamente relacionados com níveis maiores de triglicérides, insulina, colesterol total, LDL-colesterol e maior relação colesterol total/HDL-colesterol em indivíduos com história familiar positiva para hipertensão arterial, comparado com filhos de pais normotensos. Provavelmente, indivíduos com predisposição genética para hipertensão também apresentam polimorfismos genéticos para obesidade central e alterações metabólicas.

Situações clínicas associadas à hipertensão arterial, como a síndrome metabólica, também apresentam maior risco trombótico (disfunção endotelial, aumento de fibrinogênio, maior ativação plaquetária) e da via intrínseca e extrínseca da coagulação. Neste sentido, o aumento de LDL-colesterol e redução de HDL-colesterol propiciam maior risco trombótico, pela maior ativação plaquetária (2). Além do risco cardíaco, a associação da hipertensão arterial e alterações no perfil lipídico leva a consequências danosas no sistema glomerular dos rins (3) e aumenta substancialmente o risco de acidente vascular encefálico (4).

Para que ocorra a diminuição do risco de doenças cardiovasculares, renal e redução na arteriosclerose, é necessário a diminuição nos níveis séricos de colesterol total, através de dietas, utilização de fármacos e principalmente inclusão de um programa de atividade física regular (5, 6). O exercício físico de caráter aeróbio, após um período de treinamento contribui para diminuição de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e elevação de lipoproteína de alta densidade (HDL) (7). Em outro estudo utilizando indivíduos negros, na qual a incidência da hipertensão arterial e suas consequências são maiores, hipertensos, idade entre 35 e 76 anos, foram submetidos a um período de 16

semanas de exercício físico moderado com variação da intensidade de 60% a 80% da frequência cardíaca máxima, onde não apresentaram mudança na massa corpórea, mas a taxa de HDL colesterol aumentou significativamente em 10% (8).

A partir da modalidade de treinamento físico de alta intensidade ou resistido, os resultados encontrados são ainda contraditórios, na qual estudos mostram uma redução nos níveis de colesterol total em indivíduos praticantes de um protocolo de treinamento resistido (9), porém outro estudo apontou nenhuma alteração de HDL-colesterol e LDL-colesterol após sessões de treinamento resistido (10). Quanto a associação entre alterações do perfil lipídico, hipertensão arterial e suas respostas após um treinamento físico de alta intensidade as respostas encontradas na literatura são praticamente inexistentes.

Contudo o presente estudo tem por finalidade principal verificar a influência de um programa de treinamento físico de alta intensidade sobre o perfil lipídico sérico e de triglicérides teciduais de ratos espontaneamente hipertensos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O protocolo experimental consistiu na utilização de ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY) como controle normotensos, com 20 semanas de vida, acomodados em gaiolas contendo cinco ratos, mantidos sob condições controladas de temperatura ($23^{\circ}\text{C} \pm 1$), umidade e luminosidade (ciclos de 12 horas claro/escuro), com livre acesso a água e ração. Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação

Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal – CEUA do Instituto de Biociência da UNESP Processo 001/2009.

Grupos Experimentais

SHR Sedentário (SHRS): ratos que apresentavam hipertensão arterial e que não realizaram nenhum tipo de atividade física (n=9); *SHR Treinado (SHRT)*: ratos hipertensos que realizaram o protocolo de treinamento físico de alta intensidade (n=9); *WKY Sedentário (WKYS)*: ratos normotensos que não realizaram nenhum tipo de atividade física (n=9); *WKY Treinado (WKYT)*: animais normotensos que realizaram o protocolo de treinamento físico de alta intensidade (n=9).

Protocolo de Treinamento Físico

Antes do início do protocolo de treinamento físico, os animais passaram por duas semanas de adaptação ao meio líquido, em 10 dias, sendo cinco dias na primeira semana e cinco dias na semana seguinte. O objetivo principal era minimizar o estresse do animal quando em contato com a água, e adaptá-lo a prática do treinamento físico proposto.

Após a adaptação os animais iniciaram o treinamento físico com exercício de natação, que consistiu de saltos em tanque com água, com uma força de resistência de 50% do peso corporal do animal acoplado ao tórax dos ratos através de bolsas com velcro, sendo esta resistência na forma de chumbinhos. A temperatura da água foi controlada, e mantida em $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura do rato (11). Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O período de treinamento foi de cinco dias por semana durante oito

semanas consecutivas. Os saltos eram realizados em tubo de PVC, individual, com 100 cm de comprimento, 70 cm de diâmetro, com água numa profundidade correspondente a 150% do comprimento corporal do rato, sendo contabilizado como salto efetivo apenas quando o animal conseguia ultrapassar este limite da altura da água (12).

Métodos Bioquímicos

Ao final do período experimental, os animais foram anestesiados em câmara de CO₂, 48 horas após a realização da última sessão de treino, sendo o sangue coletado diretamente do coração através de agulhas e seringas descartáveis. Posteriormente o sangue foi centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos e seu sobrenadante, soro, utilizado para dosagens de triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL colesterol por métodos enzimáticos colorimétricos através de kits comerciais e ácidos graxos livres (AGL) determinados pelo método de Regow, 1971 (13).

Amostras do coração e do fígado foram pesadas em balança analítica e utilizadas para avaliação do conteúdo de triglicerídeos. As amostras foram colocadas em tubos contendo 0,5ml de TritonX-100 a 0,1%. Em seguida foram homogeneizadas em Polytron® por 20 segundos em velocidade máxima e, após este procedimento, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm por um período de 10 minutos. O sobrenadante foi extraído para a determinação dos triglicerídeos pelo método espectrofotometria através de kit comercial (14).

Estatística

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de média $\pm$ desvio padrão. Foi aplicada à estatística de análise de variância (ANOVA two-way), seguida de teste *post-hoc* de Tukey HSD. Foi adotado como nível de significância pré-estabelecido em 5%.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão demonstrados os dados referentes ao perfil lipídico, como AGL, colesterol total, HDL e LDL colesterol e triglicerídeos. Nos casos de colesterol total e LDL colesterol os animais dos grupos hipertensos, SHRS e SHRT, apresentaram valores significativamente maiores em relação aos grupos normotensos, WKYS e WKYT. Quando a variável em destaque é o HDL colesterol, ocorre o comportamento inverso ao anterior, os animais dos grupos SHRS e SHRT apresentavam valores significativamente menores comparados com os grupos WKYS e WKYT. Para as variáveis AGL e triglicerídeos não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

As concentrações de triglicerídeos do músculo cardíaco e do fígado estão apresentadas na Figura 1A e B, respectivamente. O triglicerídeo do músculo cardíaco apresenta como resultado principal e significativo um aumento das concentrações no grupo normotenso treinado em relação ao grupo hipertenso sedentário. Já para o parâmetro hepático de triglicerídeos, observar-se uma concentração significativamente maior no grupo normotenso treinado, comparado com os hipertensos treinados.

Tabela 1- Ácidos Graxos Livres séricos ($\mu\text{Eq/L}$), Colesterol Total sérico (mg/dL), HDL Colesterol sérico (mg/dl), LDL Colesterol sérico (mg/dl) e Triglicerídeos sérico (mg/dL) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	AGL	Colesterol Total	HDL Colesterol	LDL Colesterol	Triglicerídeos
SHRS	624,26 $\pm$ 112,96	145,40 $\pm$ 20,27*	47,20 $\pm$ 2,89*	71,17 $\pm$ 14,98*	136,94 $\pm$ 31,70
SHRT	679,24 $\pm$ 171,82	138,45 $\pm$ 15,59*	44,40 $\pm$ 3,68*	74,58 $\pm$ 12,73*	134,72 $\pm$ 20,29
WKYS	606,31 $\pm$ 178,64	85,57 $\pm$ 4,36	82,20 $\pm$ 10,69	48,74 $\pm$ 5,24	140,04 $\pm$ 33,36
WKYT	531,76 $\pm$ 111,99	81,05 $\pm$ 7,33	75,91 $\pm$ 5,75	44,08 $\pm$ 6,51	169,99 $\pm$ 38,09

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$.

Figura 1 – A: Triglicerídeos Cardíacos dos grupos ao final das oito semanas de experimento. $a \neq$ de WKYT, ANOVA $p < 0,05$.; **B:** Triglicerídeos Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. $a \neq$ de WKYS, ANOVA $p < 0,05$. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

DISCUSSÃO

As alterações nos lipídios e nas lipoproteínas circulantes além de serem um dos fatores de risco para o surgimento de doenças cardiovasculares (DCV) (15), geram um elevado custo para o sistema público de saúde e atualmente estão sendo considerada um problema de saúde pública. O tratamento medicamentoso e visitas médicas constantes têm elevado cada vez mais o custo do tratamento das DCV, porém a implementação da mudança do estilo de vida tendo como principal vertente o exercício físico, tem sido recomendado como o melhor tratamento e diminuição dos custos terapêuticos desta doença (16).

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que os animais hipertensos apresentam uma alteração no perfil lipídico, desenvolvendo um quadro de dislipidemia e a intervenção com o exercício físico de alta intensidade não conseguiu reverter este quadro. Os dados corroboram com alguns estudos da literatura que não apresentam alterações nos lipídios e lipoproteínas após sessões de exercício resistido (15, 17-20). Provavelmente uma das razões para este achado seria o baixo volume de exercício aplicado por sessão, sendo apenas alta a intensidade do treinamento (21).

Outra explicação possível denotaria de alguns mecanismos fisiológicos comumente desenvolvidos pelo exercício aeróbio ou de endurance. Aumento da atividade da enzima lipase lipoproteica presente no músculo esquelético, enzima lipase hormônio sensível, aumento da densidade capilar e da massa muscular levando estes, a um aumento da mobilização e utilização de lipídios como substrato energético durante e após o exercício (22, 23)

Os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) representam o modelo de hipertensão animal mais utilizado para estudos, o qual cujas alterações mais se assemelham ao humano como síndrome metabólica associado à dislipidemia e resistência a insulina (24). Estas

alterações presentes no modelo animal podem ser principalmente deficiências apresentadas no gene *cd36*, o qual possui papel importante no transporte de ácidos graxos, comprometendo a utilização e captação deste pelos tecidos periféricos (25). A consequência desta alteração genética pode ser observado nos nossos resultados nas Figuras 1A e B, na qual os animais hipertensos apresentam concentrações menores de triglicerídeos tanto no músculo cardíaco quanto no tecido hepático, comparado com os animais normotensos.

Estudos prévios em humanos (26-28) demonstram principalmente um aumento das concentrações de HDL-c e diminuição de triglicerídeos circulantes após um período de treinamento resistido. Algumas das respostas encontradas levam em conta aspectos tantos fisiológicos do exercício físico quanto às mudanças no estilo de vida adotado pelos participantes, como melhora nos hábitos alimentares, adotando uma dieta mais saudável. Muitas vezes esta mudança decorre da implementação da atividade física, porém em alguns casos, não revelam fidedignamente o papel do exercício físico resistido proposto. Outro estudo apresenta como limitação o controle dos hábitos e consumo alimentares de seus participantes durante o período experimental (29). A utilização de modelos animais consegue sanar e controlar esta vertente, que em casos de experimentos clínicos parece influenciar nas respostas finais.

Em conclusão, os animais espontaneamente hipertensos apresentam alterações no perfil lipídico, desenvolvendo um quadro de dislipidemia possivelmente agravando o risco de doenças cardiovasculares. Após um período de treinamento físico resistido ou de alta intensidade, os animais hipertensos não reverteram o quadro de dislipidemia, provavelmente pelo volume de treinamento físico e a não ativação de enzimas que alteram o metabolismo que são mais comumente ativadas nos exercícios aeróbios.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Clarice Yoshio Sibuya, Eduardo Custódio e José Roberto Rodrigues da Silva, que auxiliaram o desenvolvimento desse estudo. Esse estudo foi fomentado pelo CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FERRARI, P. et al. Altered insulin sensitivity, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. **American Journal of Medicine**, v. 91, p. 589-96, 1991.
2. ROSENSON, R.S.; TANGNEY, C.C. Antithrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. **JAMA**, v. 279, p. 1643-50, 1998.
3. KNOWLES, J.W. et al. Enhanced atherosclerosis and kidney dysfunction in eNOS^{-/-} ApoE^{-/-} mice are ameliorated by enalapril treatment. **J Clin Invest**, v.105, p.451-8, 2000.
4. PROSPECTIVE STUDY COLLABORATION. Cholesterol, diastolic pressure, and stroke: 13,000 strokes in 450,000 people in 45 prospective cohorts. **Lancet**, v.346, p.1647-53, 1995.
5. LIPID RESEARCH CLINIC PROGRAM. The Lipid Research Clinic Coronary Primary Prevention trial results II The relationship of reduction in incidence of

coronary heart disease to cholesterol lowering. **JAMA**, v.251, p.365-74, 1984.

6. FRICK, M.H. et al. Helsinki Heart Study: Primary prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia; safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. **N Engl J Med**, v.317, p.1237-45, 1987.

7. WOOD, P. D.; HASKELL, W. L. The effect of exercises on plasma high density lipoproteins. **Lipids**, v. 14, p. 417-427, 1979.

8. KOKKINOS, P.F.; et.al. Effects of moderate intensity exercise on serum lipids in African-American men with severe systemic hypertension. **American Journal Cardiology**, v.81, n.6, p.732-735, 1998.

9. TUCKER, L.A.; SILVESTER, L.J. Strength training and hypercholesterolemia: an epidemiologic study of 8499 employed men. **Am J Health Promot**, v.11, p.35– 41, 1996.

10. KOHL, H.W. III et. al. Musculoskeletal strength and serum lipid levels in men and women. **Med Sci Sports Exerc**, v.24, p.1080 –1087, 1992.

11. AZEVEDO, J.R.M.; **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados após exercício agudo de natação**. 1994. 139f. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiologia) Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

12. ROGATTO, G.P. et al. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos, **Motriz**, v. Mai:10, n.2, p. 61-6, 2004.
13. REGOW, B.J.M. et al. Specific determination of free fatty acid in plasm. **Clinica Chimica Acta**, v. 31, p. 187-195, 1971.
14. BELMONTE, M. et al. Rat myocellular and perimysial intramuscular triacylglycerol: a histological approach. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 36, n. 1, p. 60-67, 2004.
15. LeMURA, L.M. et. al. Lipid and lipoprotein profiles, cardiovascular fitness, body composition, and diet during and after resistance, aerobic and combination training in young women. **Eur. J. Appl. Physiol**, v.82, n.5–6, p.451–458, 2000.
16. ROSAMOND, W. et al. Heart disease and stroke statistics - 2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. **Circulation**, v.117, n.4, p.e25–e146, 2008.
17. BOYDEN, T.W et. al. Resistance exercise training is associated with decreases in serum low-density lipoprotein cholesterol levels in premenopausal women. **Arch Intern Med.**, v.153, n.1, p.97-100, 1993.
18. SMUTOK, M.A. et al. Aerobic versus strength training for risk factor intervention in middle-aged men at high risk for coronary heart disease. **Metabolism.**, v.42, n.2, p.177-84, 1993.

19. KOKKINOS, P.F. et al. Strength training does not improve lipoprotein-lipid profiles in men at risk for CHD. **Med Sci Sports Exerc.**, v.23, p.1134 –1139, 1991.

20. ELLIOTT, K.J.; SALE, C.; CABLE, N.T. Effects of resistance training and detraining on muscle strength and blood lipid profiles in postmenopausal women. **Br J Sports Med.**, v.36, p.340 –344, 2002.

21. DURSTINE, J.L.; THOMPSON, P.D. Exercise in the treatment of lipid disorders. **Cardiol Clin.**, v.19, n.3, p.471-88, 2001.

22. SEIP, R.L.; SEMENKOVICH, C.F. Skeletal muscle lipoprotein lipase: molecular regulation and physiological effects in relation to exercise. **Exerc Sport Sci Rev.**, v.26, p.191–218, 1998.

23. KIENS, B.; LITHELL, H. Lipoprotein metabolism influenced by training-induced changes in human skeletal muscle. **J Clin Invest.**, v.183, p.558–64, 1989.

24. AITMAN, T.J. et. al. Quantitative trait loci for cellular defects in glucose and fatty acid metabolism in hypertensive rats. **Nature Genet.**, v.16, p.197-201, 1997.

25. RANDLE, P. J. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. **Diabetes Metab. Rev.**, v.14, p.263–283, 1998.

26. FAHLMAN, M.M. et. al. Effects of endurance training and resistance training on plasma lipoprotein profiles in elderly women. **J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.**, v.57, n.2, p.54–60, 2002.

27. JOHNSON, C.C. et. al. The response of serum lipids and plasma androgens to weight training exercise in sedentary males. **J. Sports Med.**, v.23, p.39–44, 1983.
28. STONE, M.H. et al. Physiological effects of a short term resistive training program on middle-aged untrained men. **Nat. Strength Cond. Assoc. (NSCA) J.**, v.4, n.5, p.16–20, 1982.
29. MARQUES, E. et. al. Effects of resistance and multicomponent exercise on lipid profiles of older women. **Maturitas.**, v.63, n.1, p.84-88, 2009.

ESTUDO 3

**ANÁLISE DO METABOLISMO CARDÍACO DE RATOS ESPONTANEAMENTE
HIPERTENSOS PERANTE O TREINAMENTO FÍSICO DE INTENSIDADE ALTA**

**ANALYSIS HEART METABOLISM OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RAT
IN FRONT OF HIGH-INTENSIVE TRAINING**

Rodrigo Augusto Dalia¹, Lucieli Teresa Cambri¹, José Diego Botezelli¹, Carla Ribeiro¹, José Alexandre Curiacos de Almeida Leme¹, Leandro Pereira de Moura¹, Gustavo Gomes de Araujo¹, Ana Carolina Ghezzi¹, Maria Alice Rostom de Mello¹, Eliete Luciano¹.

1-Universidade Estadual Paulista – UNESP , Instituto de Biociências, Departamento de Educação Física, Rio Claro – São Paulo – Brasil

RESUMO

O objetivo proposto por este estudo é analisar o metabolismo cardíaco de ratos da linhagem espontaneamente hipertensos após um período de treinamento físico de alta intensidade. Foram utilizados ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY), separados aleatoriamente em SHR sedentário (n=9), SHR treinado (n=9), WKY sedentário (n=9) e WKY treinado (n=9). Antes do início do protocolo de treinamento os animais passaram por duas semanas de adaptação ao meio líquido. Após a adaptação os animais iniciaram o treinamento físico com exercício de natação, que constituiu de saltos em tanque com água, com uma força de resistência equivalente a 50% do peso corporal do animal acoplado ao tórax dos ratos. Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O período de treinamento foi de cinco dias por semana durante oito semanas consecutivas. Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados e o soro coletado e dosado proteínas totais, creatina quinase (CK) e CK-MB. Amostras do músculo cardíaco utilizadas para avaliação de proteína, DNA e IGF-1 e também IGF-1 do fígado. As enzimas Creatina Quinase e sua isoforma MB o grupo SHRS apresenta valores significativamente maiores comparado com os grupos SHRT e WKYS. Já para o hormônio GH o grupo SHRS apresentou concentrações menores comparado com ratos controles, WKYS. As concentrações de proteínas do tecido cardíaco do grupo SHRT diminuíram significativamente comparadas com os animais SHRS. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para a variável DNA cardíacos. Para razão proteína/DNA o grupo SHRS apresenta valores maiores comparados com o grupo SHRT. As concentrações de IGF-1 no músculo cardíaco, o SHRS apresentou valores significativamente maiores comparado com os demais grupos. No fígado o exercício físico elevou significativamente a produção de IGF-1 nos animais espontaneamente hipertensos. Em conclusão, os animais espontaneamente hipertensos apresentam hipertrofia cardíaca, representada pelo aumento da razão proteína/DNA e aumento das concentrações circulantes de CK-MB. O período de treinamento físico de alta intensidade foi efetivo para diminuição da hipertrofia cardíaca, via diminuição do IGF-1 cardíaco e conseqüentemente diminuição da ativação dos fatores hipertróficos relacionados à Akt. Além disso, houve uma diminuição também na liberação da enzima CK-MB.

ABSTRACT

The objective proposed by this study is analyze the heart metabolism of spontaneously hypertensive rats after period of high-intensity exercise training. Male of spontaneously hypertensive rats lineage were used (SHR) and Wistar Kyoto rats (WKY), separate in sedentary SHR (n =9), trained SHR (n =9), sedentary WKY (n =9) and trained WKY (n =9). Before the beginning the protocol training the animals went by two weeks of adaptation to the liquidate half. After the adaptation animals began the physical training with swimming exercise, constituted of jumps in the water, in individual tanks, coupled to the thorax containing overload equivalent to 50% of the body mass. Each exercise session was composed by four series of 10 jumps, with an interval of 1 minute among each series. The training period was five days a week for eight consecutive weeks. At the end of experimental period, the animals were killed and collected serum and dosed total proteins, creatine kinase (CK) and CK-MB. Samples of heart muscle used for protein, DNA and IGF-1 and also IGF-1 of liver. The enzymes creatine kinase and his isoform MB the SHRS group presents values significantly larger bought with the SHRT and WKYS groups. Already for the GH, SHRS group presented smaller concentrations compared with controls rats, WKYS. Concentrations of proteins in heart of SHRT group decreased significantly compared with the SHRS animals. They were not found significant differences among the groups for variable heart DNA. For rate protein/DNA the SHRS group presents larger values compared with SHRT group. The concentrations of IGF-1 in heart muscle, SHRS presented values significantly larger compared with the other groups. In liver the exercise training production significantly elevated of IGF-1 in spontaneously hypertensive rats. In conclusion, the spontaneously hypertensive rats present heart hypertrophy, acted by the increase rate protein/DNA and increase of the circulating concentrations of CK-MB. The period of high-intensity exercise training went effective for decrease heart hypertrophy, through decrease of heart IGF-1 and consequently decreases the activation of hypertrophy factors related to Akt. Besides, there was a decrease also liberation of enzyme CK-MB.

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica é uma doença multifatorial que apresenta diversas manifestações como alterações hormonais, vasculares e a hipertrofia cardíaca que é de fundamental importância para evolução do quadro clínico. Dados epidemiológicos apontam que cerca de 25 a 40% dos pacientes hipertensos apresentam um quadro desenvolvido de hipertrofia ventricular esquerda (HVE) (1,2). A HVE esta associada como fator de risco para o desenvolvimento de doenças que aumentam o risco de mortalidade e morbidade entre pacientes hipertensos, como infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca (2).

Diversas mudanças ocorrem no tecido cardíaco devido à hipertensão arterial. Dentre as principais alterações esta o aumento da parede e da massa do ventrículo esquerdo, devido principalmente a proliferação de sarcômeros e miócitos, células especializada da musculatura cardíaca (3,4). A insulina e angiotensina II apresentam também uma relação com a hipertrofia miocárdica, pelas suas características em favorecer a síntese protéica (5,6).

As terapias para o tratamento ou prevenção da HVE passam por fármacos anti-hipertensivos até terapias não-farmacológicas, como por exemplo, o exercício físico. Este pode proporcionar algumas adaptações para a melhora da função cardíaca. O exercício físico aeróbio provoca uma melhora em alguns fatores de crescimento celular no tecido cardíaco como mitocôndrias e miofibrilas em modelos animais que apresentam alterações cardíacas (7, 8). Também proporcionam uma melhora no transporte de cálcio e no colágeno presente no tecido do coração (9, 10). Além disso, alterações concretas causadas pelo exercício aeróbio como diminuição da pressão arterial (11-14) e melhora na resistência a insulina (15-17), auxiliam na melhora do metabolismo cardíaco.

O exercício físico resistido ou de alta intensidade comumente estão relacionados a fatores hipertróficos. A maioria dos estudos relaciona o treino resistido a suas características

hipertroóficas do músculo esquelético (18-21). Outros estudos relacionam a hipertrofia cardíaca fisiológica causada pelo treinamento físico resistido (22-24). Porém quando nos deparamos com quadros patológicos de hipertrofia cardíaca, como a gerada pela hipertensão arterial, os resultados presentes na literatura ainda são muito escassos, tanto em humanos ou utilizando modelos animais.

Com tudo, ainda são pouco exploradas as relações entre a hipertrofia cardíaca patológica e algumas enzimas e fatores de crescimento metabólicos, como creatina quinase (CK) e sua isoforma MB (CK-MB) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1). Ainda se acrescentarmos o exercício físico resistido, é praticamente inexistente as respostas geradas por este tipo de modalidade sobre aspectos metabólicos cardíacos. Sendo assim objetivo proposto por este estudo é analisar o metabolismo cardíaco de ratos da linhagem espontaneamente hipertensos após um período de treinamento físico de alta intensidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizamos ratos machos da linhagem de animais espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos Wistar Kyoto (WKY) como controles normotensos com 20 semanas de vida foram separados aleatoriamente em SHR sedentário (n=9), SHR treinado (n=9), WKY sedentário (n=9) e WKY treinado (n=9), separados em gaiolas contendo cinco ratos, mantidos sob condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade (ciclos de 12 horas claro/escuro), com livre acesso a água e ração. Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi

aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal – CEUA do Instituto de Biociência da UNESP – Campus de Rio Claro.

Protocolo de Treinamento Físico

Antes do início do protocolo de treinamento físico, os animais passaram por duas semanas de adaptação ao meio líquido, em 10 dias, sendo cinco dias na primeira semana e cinco dias na semana seguinte. O objetivo principal eram minimizar o estresse do animal quando em contato com a água, e adaptá-lo a prática do treinamento físico proposto.

Após a adaptação os animais iniciaram o treinamento físico com exercício de natação, que constitui de saltos em tanque com água, com uma força de resistência de 50% do peso corporal do animal acoplado ao tórax dos ratos através de bolsas com velcro, sendo esta resistência na forma de chumbinhos. A temperatura da água foi controlada, e mantida em $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura do rato (25). Cada sessão de exercício era composta por quatro séries de 10 saltos, tendo um intervalo de 1 minuto entre cada série. O período de treinamento foi de cinco dias por semana durante oito semanas consecutivas. Os saltos eram realizados em tubo de PVC, individual, com 100 cm de comprimento, 70 cm de diâmetro, com água numa profundidade correspondente a 150% do comprimento corporal do rato, sendo contabilizado como salto efetivo apenas quando o animal conseguia ultrapassar este limite da altura da água (26).

Avaliações do Soro

Ao final do período experimental, os animais foram anestesiados em câmara de CO_2 , 48 horas após ultima sessão de treinamento, sendo o sangue coletado diretamente do coração através de agulhas e seringas descartáveis. Posteriormente o sangue foi centrifugado a 3000

rpm durante 15 minutos e seu sobrenadante, soro ,utilizado para dosagens de proteínas totais, creatina quinase (CK) e CK-MB (ambas lidas a 37°C) por métodos enzimáticos colorimétricos através de kits comerciais, IGF-1 sérico pelo método ELISA e GH pelo método de radioimunoensaio.

Avaliações Teciduais

Amostras do músculo cardíaco foram coletadas e utilizadas para avaliação do conteúdo de proteína, DNA e IGF-1. No tecido hepático ainda foram coletadas amostras para análise do IGF-1. As proteínas foram obtidas pelo método proposto por Lowry et al. (1951) (27), sendo posteriormente lidas em espectrofotômetro à 650nm, DNA determinado pelo método da difenilamina e lido em espectrofotômetro à 595nm (28) e posteriormente feito a razão proteína/DNA. Para o IGF-1 tecidual foram retiradas amostras de aproximadamente 100 a 200 mg e colocadas em tubos contendo 500 µL de NaCl 0,9%, mantido em meio contendo gelo. As amostras dos tecidos hepático e cardíaco foram homogeneizadas em Polytron® por 20 segundos em velocidade máxima, em seguida, foram centrifugadas a 10.000 rpm, durante 5 minutos a 4°C (29). Posteriormente foi retirado o sobrenadante obtido e utilizado para dosagem por meio do método de ELISA, kit DSL®.

Estatística

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de média $\pm$ desvio padrão. Foi aplicada à estatística de análise de variância (ANOVA two-way), seguida de teste *post-hoc* de Tukey HSD. Foi adotado como nível de significância pré-estabelecido em 5%. Foi realizada a análise de correlação de Pearson, para determinar-se a correlação entre variáveis.

RESULTADOS

Os valores séricos de proteínas totais, enzimas Creatina Quinase e sua isoforma MB e os hormonais de IGF-1 e GH estão apresentados na Tabela 1. Para os valores de proteínas totais não houve diferenças entre os grupos. As enzimas Creatina Quinase e sua isoforma MB o grupo SHRS apresenta valores significativamente maiores comprado com os grupos SHRT e WKYS. Na análise estatística feita para o IGF-1 não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, mas já para o hormônio GH o grupo SHRS apresentou concentrações menores comparado com ratos controles, WKYS.

A Figura 1A demonstra as concentrações de proteínas do tecido cardíaco e verificamos que após o período de treinamento físico, a concentração de proteínas no coração dos grupos de ratos hipertensos treinados diminuiu significativamente comparada com os animais hipertensos sedentários. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para a variável DNA cardíaco, observado na Figura 1B. Para constatar se houve ou não hipertrofia do tecido cardíaco, realizou-se a razão proteína tecidual e seu respectivo valor de DNA, onde apontou que o grupo SHRS apresenta valores maiores, indicando uma hipertrofia do tecido cardíaco e que o treinamento físico proporcionou uma diminuição desses valores, tornando semelhante aos valores do grupo controle, WKYS, visto na Figura 1C.

As concentrações teciduais de IGF-1, especificamente no tecido cardíaco e hepático, estão demonstradas nas Figuras 2A e B, respectivamente. Para as concentrações de IGF-1 presente no músculo cardíaco, o grupo hipertenso sedentário, SHRS, apresentou valores significativamente maiores comparado com os demais grupos experimentais e que o exercício de alta intensidade conseguiu retornar aos valores basais nos animais hipertensos treinados. Em sua região de maior produção, o fígado, o exercício físico elevou significativamente a produção de IGF-1 nos animais espontaneamente hipertensos, nivelando assim a níveis normais.

Na Tabela 2 esta apresentada o teste de correlação de Pearson entre a variável razão proteína/DNA analisada com as variáveis CK-MB e IGF-1 cardíaco. Ambas as análises apresentaram correlações positivas, com um grau considerado moderado e também significativo.

Tabela 1 - Creatina Quinase, Creatina Quinase MB, IGF-1 sérico e GH dos animais ao final das oito semanas de experimento.

	SHR		WKY
	Sedentário (SHRS)	Treinado (SHRT)	Sedentário (WKYS)
Proteínas Totais (g/dL)	7,4 ± 0,2	7,1 ± 0,3	7,2 ± 0,5
CK (U/L)	164,3 ± 62,3 ^a	104,7 ± 46,5	88,0 ± 40,7
CK-MB (U/L)	45,0 ± 11,2 ^a	17,4 ± 4,0	17,3 ± 6,4
GH (ng/mL)	1,0 ± 0,2 ^b	1,8 ± 0,4	2,5 ± 1,4
IGF-1 sérico (ng/mL)	23,2 ± 1,8	22,7 ± 1,8	22,1 ± 1,8

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário.

^a ≠ de SHRT e WKYS, ANOVA p<0,05; ^b ≠ de WKYS, ANOVA p<0,05;

Figura 1 – **A:** Proteínas do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA $p < 0,05$; **B:** DNA do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento; **C:** Proteína/DNA do Coração dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA $p < 0,05$. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário.

Tabela 2 – Correlação entre Proteínas/DNA e Creatina Quinase MB e IGF-1 cardíaco.

Correlação Proteínas/DNA versus	r	p
CK-MB (U/L)	0,659	0,001
IGF-1 cardíaco (ng/g de tecido)	0,560	0,008

SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário.

Figura 2 – **A:** IGF-1 Cardíaco dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA $p < 0,05$; **B:** IGF-1 Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. ^a ≠ de SHRT, ANOVA $p < 0,05$; Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário.

DISCUSSÃO

A principal resposta obtida por este estudo foi à melhora da função e do metabolismo do músculo cardíaco após um período de treinamento físico de alta intensidade em ratos hipertensos. O aumento constante da pressão sanguínea no coração acaba resultando em respostas deletérias ao coração, uma delas é a hipertrofia do tecido cardíaco (30). Além de ser observada em humanos hipertensos, a hipertrofia cardíaca patológica também pode ser constatada em animais, como nos animais espontaneamente hipertensos (SHR), na qual em nosso estudo é sustentado pela maior razão proteína/DNA no músculo cardíaco dos animais sedentários comparados com os demais grupos. Este dado corrobora com o estudo de Christe e Rodgers, 1994 (31) na qual os animais SHR apresentam diversas alterações energéticas e estruturais cardíacas. Utilizamos em nosso estudo o dado de razão proteínas/DNA por ser um fidedigno na constatação de hipertrofia (32) e estar altamente relacionado com adaptações metabólicas.

Os animais hipertensos treinados também apresentaram uma maior produção de IGF-1 pelo fígado. Este dado corrobora com estudos em nosso laboratório na qual o exercício físico aeróbio também elava a produção de IGF-1 em ratos diabéticos induzidos com aloxana (33). O aumento na produção de IGF-1 está diretamente relacionado à produção e liberação do GH (33-35). Não foram encontradas até o momento estudos que observaram a respostas do GH em modelo animais de hipertensão, como no modelo SHR, sendo este o primeiro estudo. Dessa forma observamos que os animais hipertensos apresentam uma deficiência na liberação ou produção de GH, influenciando na produção de IGF-1 pelo fígado.

Em oposição, o exercício físico resistido ou de alta intensidade, aumentou a produção ou liberação de GH. Diversos estudos mostram a elevação nas concentrações de GH

após o treinamento resistido (36-38). Com isso o aumento das concentrações de GH levou ao aumento na produção de IGF-1 pelo tecido hepático.

Diferentemente do fígado, no tecido cardíaco o exercício resistido provocou uma diminuição nas concentrações de IGF-1. Ainda é controvérsia e incerta a participação de diferentes cascatas de sinalização e relações hormonais entre a hipertrofia cardíaca fisiológica e patológica. Provavelmente duas cascatas de sinalização estão relacionadas, a via de sinalização da Insulina/IGF-1 e a via da calcitonina/calmodulina (39). Uma das proteínas chave da via de sinalização da insulina/IGF-1 é a proteína quinase B (Akt), que pode ser ativada por hormônios e alguns fatores de crescimento, como por exemplo, o IGF-1. (40). Uma vez ativada através de toda cascata de sinalização, a Akt desenvolve um importante papel de modulador do crescimento dos miócitos, levando a um quadro de hipertrofia cardíaca (40-42). A diminuição das concentrações de IGF-1 no tecido cardíaco produzido pelo exercício físico de alta intensidade pode ter levado a uma diminuição da fosforilação e da ativação da Akt e conseqüentemente provocando diminuição do fator hipertrófico.

A Tabela 2 demonstra o teste estatístico de correlação de Pearson entre a razão proteína/DNA, um dado de hipertrofia e as concentrações de IGF-1 no coração. Quando relacionamos a razão proteína/DNA e o IGF-1 cardíaco, esta relação apresenta-se grau positivo, indicando correlação moderada e significativa, demonstrando realmente que a diminuição da hipertrofia ocorreu-se pela diminuição das concentrações de IGF-1.

Outro marcador importante que diz respeito à função cardíaca é a enzima creatina quinase (CK). A enzima possui diversas isoenzimas, entre elas a CK-MB, encontrada no músculo cardíaco. O aumento das concentrações circulantes de CK-MB é utilizada na prática clínica como um excelente indicador da existência e da intensidade do infarto do miocárdio (43, 44). Porém estudos também mostram que em casos de hipertrofia cardíaca a enzima CK-MB também se apresenta elevada (45, 46). Isto pode ser demonstrado também em nosso

estudo, onde os animais hipertensos sedentários que apresentam uma hipertrofia cardíaca, também apresentavam elevadas concentrações séricas de CK e CK-MB.

Semelhantemente ao que ocorreu com o IGF-1 do coração, o exercício físico de alta intensidade, após as oito semanas de treinamento, diminuiu as concentrações de CK e sua isoforma MB. Normalmente são reportadas na literatura dados que demonstram a elevação dessas enzimas após o exercício físico, principalmente em atletas de alto nível, sendo um marcador fidedigno de overtraining (47-50). Porém ainda não foram reportados na literatura as repostas da CK e CK-MB após uma sessão aguda ou um período de treinamento resistido ou de alta intensidade em indivíduos ou animais hipertensos, sendo este um estudo pioneiro.

Nossa hipótese de que a diminuição da CK-MB esta intimamente relacionada com a diminuição da hipertrofia cardíaca e conseqüentemente melhora da função é sustentada quando realizamos a correlação entre CK-MB e a razão proteína/DNA. O resultado também é semelhante ao IGF-1 cardíaco, apresentando também uma relação positiva e significativa, onde a diminuição da hipertrofia cardíaca representa concomitantemente a diminuição da liberação da CK-MB provocada pelo treinamento físico resistido.

Em conclusão, os animais espontaneamente hipertensos apresentam alterações importantes no sistema cardiovascular, entre elas a hipertrofia cardíaca, representada pelo aumento da razão proteína/DNA e aumento das concentrações circulantes de CK-MB. O período de treinamento físico de alta intensidade foi efetivo para diminuição da hipertrofia cardíaca, via diminuição do IGF-1 cardíaco e conseqüentemente diminuição da ativação dos fatores hipertróficos relacionados à Akt. Além disso, houve uma diminuição também na liberação da enzima CK-MB.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Clarice Yoshio Sibuya, Eduardo Custódio e José Roberto Rodrigues da Silva, que auxiliaram o desenvolvimento desse estudo. Esse estudo foi fomentado pelo CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SAVAGE, D.D. et al. The spectrum of left ventricular hypertrophy in a general population sample. The Framingham Study. **Circulation**, v.75, p.26–33, 1987.
2. DAHLOF, B. Factors involved in the pathogenesis of the hypertensive cardiovascular hypertrophy. A Review. **Drugs**, v.35, p. 6–26, 1988.
3. LORELL, B.H.; CARABELLO, B.A. Left ventricular hypertrophy. Pathogenesis, detection and prognosis. **Circulation**, v.102, p.470–479, 2000.
4. GANAU, A. et. al. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.19, n.7, p.1550– 1558, 1992.
5. WEBER, K.T.; BRILLA, C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. **Circulation**, v.83, p.1849–1865, 1991.
6. HUNTER, J.J.; CHIEN, K.R. Mechanisms of disease: signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. **N. Eng. J. Med.**, v.341, p.1276–1283.

7. GUSKI, H.; MEERSON, F. Z.; WASSILEW, G. Comparative study of ultrastructure and function of the rat heart hypertrophied by exercise or hypoxia. **Exp. Pathol.**, v.20, n.2, p.108-120, 1981.

8. CRISMAN, R.P.; TOMANEK, R.J. Exercise training modifies myocardial mitochondria and myofibril growth in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v.248, p.H8-H14, 1985.

9. LEVINE, S.N.; KINASEWITZ, G.T. Exercise conditioning increases rat myocardial calcium uptake. **J. Appl. Physiol.**, v.60, p.1673-1679, 1986.

10. BUR
 GESS, M.L. et. al. Exercise- and hypertension-induced collagen changes are related to left ventricular function in rat hearts. **Am. J. Physiol.**, v.270, p.H151-9, 1996.

11. JENNINGS, G.L. et al. The effects of changes in physical activity on major cardiovascular risk factors, hemodynamic, sympathetic function, and glucose utilization in man: a controlled study of four levels of activity. **Circulation**, v.73, p.30-40, 1986.

12. NELSON, L. et. al. Effect of changing levels of physical activity on blood-pressure and hemodynamic in essential hypertension. **Lancet**, v.2, p.473-6, 1986.

13. URATA, H. et. al. Antihypertensive and volume-depleting effects of mild exercise on essential hypertension. **Hypertension**, v.9, p.245-5216, 1987.

14. MARTIN, J.E.; DUBBERT, P.M.; CUSHMAN, W.C. Controlled trial of aerobic exercise in hypertension. **Circulation**, v.81, p.1560-7, 1990.
15. LUCIANO, E. et. al. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. **European Journal Endocrinology**, v.147, p.149-157, 2002.
16. O'DONOVAN, G. et. al. The effects of 24 weeks of moderate- or high-intensity exercise on insulin resistance. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v.95, p.522-528, 2005.
17. TERAN-GARCIA, M. et. al. Endurance training-induced changes in insulin sensitivity and gene expression. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.288, p.E1168-1178, 2005.
18. JONES, D.A.; RUTHERFORD, O.M.; PARKER, D.F. Physiological changes in skeletal muscle as a result of strength training. **Q. J. Exp. Physiol. Med. Sci.**, v.74, p.233-56, 1989.
19. MACDOUGALL, J.D. et. al. Effects of strength training and immobilization on human-muscle fibers. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.**, v.43, p.25-34, 1980.
20. EDGERTON, V.R. Morphology and histochemistry of the soleus muscle from normal and exercised rats. **Am. J. Anat.**, v.127, p.81-8, 1970.
21. HO, K.W. et. al. Skeletal muscle fiber splitting with weight-lifting exercise in rats. **Am. J. Anat.**, v.157, p.433-40, 1980.

22. HAYKOWSKY, M.J. et al. Left ventricular morphology in elite female resistance-trained athletes. **Am. J. Cardiol.**, v.82, p.912-4, 1998.
23. HAYKOWSKY, M.J. et al. Left ventricular morphology in junior and master resistance trained athletes. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.32, p.349-52, 2000.
24. HAYKOWSKY, M.J. et al. Effects of long term resistance training on left ventricular morphology. **Can. J. Cardiol.**, v.16, p.35-8, 2000.
25. AZEVEDO, J.R.M.; **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados após exercício agudo de natação.** 1994. 139f. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiologia) Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.
26. ROGATTO, G.P. et al. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos, **Motriz**, v. Mai:10, n.2, p. 61-6, 2004.
27. LOWRY, O.H. et al. Protein measurement with the felinphenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
28. GILES, K.W.; MYERS, A. An improved diphenylamine methid for the estimed for the estimation of deoxyribonucleic acid. **Nature**, v. 206, p. 93, 1965.

29. D'ERCOLE, A.; UNDERWOOD, L. Tissue and plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor-I concentrations in the human fetus during the first half of gestation. **Pediat. Res. Found.**, v.20, p.253-255, 1986.
30. RICHEY, P.A.; BROWN, S.P. Pathological versus physiological left ventricular hypertrophy: a review. **J. Sports Sci.**, v.16, p.129–141, 1998.
31. CHRISTE, M.E.; RODGERS, R.L. Altered glucose and fatty acid oxidation in hearts of the spontaneously hypertensive rat. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v.26, p.1371–1375, 1994.
32. WINICK, M.; BRASEL, J.A.; ROSSO, P. Nutrition and cell growth. **Curr Concepts Nutr.**, v.1, p.49-97, 1972.
33. LEME, J.A.C.A. et. al. Long-term physical training increases liver IGF-I in diabetic rats. **Growth Hormone & IGF Research**, v.19, n.3, p.262-266, 2009.
34. GOMES, R.J. et. al. Growth factors and glucose homeostasis in diabetic rats: effects of exercise training. **Cell Biochemistry and Function**, v.2, p.195-201, 2009.
35. GOMES, R.J. et. al. Effects of exercise training on hippocampus concentrations of insulin and IGF-1 in diabetic rats. **Hippocampus.**, v.19, n.10, p.981-7, 2009.
36. KRAEMER, W.J. et. al. Hormonal and growth factor responses to heavy-resistance exercise protocols. **J. Appl. Physiol.**, v.69, p.1442-1450, 1990.

37. KRAEMER, W.J. et. al. Endogenous anabolic hormonal and growth factor responses to heavy-resistance exercise in males and females. **Int. J. Sports. Med.**, v.12, p.228-235, 1991.
38. KRAEMER, W.J. et. al. Responses of IGF-1 to endogenous increases in growth hormone after heavy-resistance exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.79, p.1310-1315, 1995.
39. GARCIARENA, C.D. et. al. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat: conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. **Hypertension.**, v.53, n.4, p.708-14, 2009.
40. OUDIT, G.Y. et al. The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v.37, p.449–471, 2004.
41. MATSUI, T. et. al. Phenotypic spectrum caused by transgenic overexpression of activated Akt in the heart. **J Biol Chem.**, v.277, n.25, p.22896-901, 2002
42. SHIOI, T. et. al. Akt/protein kinase B promotes organ growth in transgenic mice. **Mol. Cell. Biol.**, v.22, n.8, p.2799-809, 2002.
43. DE SOUSA, E. et. al. Subcellular creatine kinase alterations: implications in heart failure. **Circ. Res.**, v.85, p.68–76, 1999.
44. INGWALL, J.S. The hypertrophied myocardium accumulates the MB-creatine kinase isozyme. **Eur. Heart J.**, v.5, p.129–139, 1984.

45. INGWALL, J.S. Is the failing myocardium energy-starved? The role of the creatine kinase system. **Heart Failure**, v.10, p.128–135, 1994.
46. VATNER, D.E.; INGWALL, J.S. Effects of moderate pressure overload cardiac hypertrophy on the distribution of creatine kinase isozymes. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.175, p.5–9, 1984.
47. APPLE, F.S.; ROGERS, M.A.; IVY, J.L. Creatine kinase isoenzyme MM variants in skeletal muscle and plasma from marathon runners. **Clin Chem.**, v.32, n.1, p.41-4, 1986.
48. TOTSUKA, M. et. al. Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.93, n.4, p.1280-6, 2002.
49. ECHEGARAY, M.; RIVERA, M.A. Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance. Genetic and molecular evidence. **Sports Med.**, v.31, n.13, p.919-34, 2001.

6.4 – Outros Resultados

6.4.1 – Resultados Prévios ao Sacrifício

Na Tabela 1 e na Figura 1A estão apresentados as médias do comprimento naso-anal dos animais. O teste estatístico de ANOVA detectou uma diferença significativa na área sob a curva do comprimento naso-anal entre os animais hipertensos comparado com os animais normotensos, sendo os hipertensos de comprimento menor, demonstrado na Figura 1B.

Tabela 1 – Evolução do comprimento naso-anal (cm) e área sob a curva (cm X 8 semanas) dos animais durante as oito semana de experimento.

Grupos	Semana								Área Sob Curva
	1	2	3	4	5	6	7	8	
SHRS	22,2 ± 0,7	22,8 ± 0,4	23,0 ± 0,4	23,5 ± 0,6	23,2 ± 0,4	23,9 ± 0,5	23,2 ± 0,2	23,6 ± 0,4	162,7 ± 2,3*
SHRT	23,2 ± 0,5	22,9 ± 0,5	22,8 ± 0,7	23,1 ± 0,5	23,5 ± 0,4	23,3 ± 0,6	23,1 ± 0,3	23,5 ± 0,6	162,1 ± 2,8*
WKYS	25,8 ± 0,5	25,7 ± 0,4	26,1 ± 0,5	26,4 ± 0,4	26,8 ± 0,4	26,7 ± 0,7	26,8 ± 0,8	27,3 ± 0,5	185,3 ± 3,4
WKYT	25,8 ± 0,5	25,7 ± 0,3	26,1 ± 0,6	26,6 ± 0,2	26,6 ± 0,4	26,5 ± 0,5	26,6 ± 0,4	27,0 ± 0,3	184,6 ± 1,2

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * ≠ de WKYS e WKYT, ANOVA p<0,05.

Figura 1A: Gráfico representativo da evolução do comprimento naso-anal dos grupos durante as oito semanas de experimento. Resultados expressos em média, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 1B: Área sob a curva da evolução do comprimento naso-anal dos grupos durante as oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n = 9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS e WKYT, ANOVA $p < 0,05$.

6.4.2 – Resultados Após o Sacrifício

6.4.2.1 – Soro

O valor sérico de albumina esta apresentado na Tabela 2 e nas Figuras 2. O grupo SHRT apresentou valor significativamente menor de albumina comparado com os demais grupos, SHRS, WKYS e WKYT. Para os valores de glicose e proteínas totais não houve diferenças entre os grupos.

Tabela 2 - Albumina sérica (g/dL) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	Albumina
SHRS	3,65 ± 0,13
SHRT	3,49 ± 0,11*
WKYS	3,75 ± 0,12
WKYT	3,63 ± 0,09

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * ≠ de SHRS, WKYS e WKYT, ANOVA p<0,05.

Figura 2: Albumina sérica dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS, WKYS e WKYT, ANOVA $p<0,05$.

6.4.2.2 – Tecidual

Na Tabela 3 estão presentes os dados de glicogênio cardíaco, hepático e do músculo gastrocnêmio porções branca e vermelha. O glicogênio cardíaco está demonstrado na Figura 3A, onde podemos observar uma concentração significativamente menor do grupo normotenso treinado, WKYT, comparado com os grupos SHRS e SHRT. As Figuras 3B e 3C mostram, respectivamente, os dados de glicogênio hepático e glicogênio do músculo gastrocnêmio porção branca, onde os testes estatísticos não apontaram diferenças significativas entre os grupos. As concentrações de glicogênio da porção vermelha do músculo gastrocnêmio são apresentadas da Figura 3D, onde o grupo SHRT contém valores significativamente maiores comparado com o grupo WKYT.

As concentrações de colesterol total da glândula adrenal são apresentadas na Tabela 4, onde observamos uma maior concentração significativa do grupo WKYS em relação ao SHRT, descritos também na Tabela 4.

A incubação do músculo sóleo, síntese e degradação, estão demonstradas na Tabela 5. Nenhuma diferença significativa foi observada na síntese muscular, visto na Figura 5A. Na

Figura 5B, podemos observar uma maior degradação protéica do grupo hipertenso treinado, SHRT, comparado com os animais normotensos sedentários, WKYS.

Na Tabela 6 são descritos os valores quantitativos de proteína dos tecidos hepático, músculo gastrocnêmio porção branca e vermelha e por fim músculo sóleo. Não houve diferenças significativas para o dado de proteína no tecido hepático, como pode ser observado na Figura 6A. A proteína do músculo gastrocnêmico porção branca, mostrado na Figura 6B, apresenta como diferença significativa valores maiores presentes nos animais normotensos treinados em relação aos sedentários. Na porção vermelha do músculo gastrocnêmio, as proteínas apresentam-se em maior quantidade nos animais hipertensos sedentários comparados com os ratos normotensos também sedentários, como demonstrado na Figura 6C. A Figura 6D apresenta apenas os dados de proteínas do músculo sóleo onde nenhuma diferença foi apontada.

Os dados de DNA do fígado, da musculatura do gastrocnêmio porção branca e vermelha e do sóleo estão demonstrado na Tabela 7. Para as concentrações de DNA hepático, mostrado na Figura 7A, os teste estatísticos apontaram uma diferença significativa entre os grupos SHRT e WKYT, sendo o grupo controle o de maior valor. O músculo gastrocnêmio porção branca não apresentou diferença para o dado de DNA, mostrado na Figura 7B. O DNA do músculo gastrocnêmio porção vermelha e sóleo apresentaram o mesmo comportamento, valores significativamente maiores para SHRT em relação ao grupo SHRS, apresentado nas Figuras 7C e 7D respectivamente.

Para constatar se houve ou não hipertrofia do tecido, realizou-se a razão proteína tecidual e seu respectivo valor de DNA e estes dados estão demonstrados na Tabela 8. Na Figura 8A esta explicitada o dado de razão proteína/DNA hepático onde não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos. No músculo gastrocnêmio branco a razão proteína/DNA, demonstrado na Figura 8B, o grupo WKYT apresentou valores significativamente maiores comparado com os grupos SHRT e WKYT. Já em sua porção vermelha, o músculo gastrocnêmio e o músculo sóleo apresentaram-se semelhantes, sendo o grupo hipertenso sedentário significativamente maior que os grupos hipertensos treinado e normotensos sedentário, demonstrado respectivamente nas Figuras 8C e 8D.

Foram analisadas as concentrações teciduais de IGF-1, especificamente no músculo gastrocnêmio como um todo, apresentados na Tabela 9. Na Figura 9 estão às concentrações de IGF-1 encontradas no músculo gastrocnêmio onde não houve diferenças significativas.

Tabela 3 – Glicogênio Cardíaco (mg/100 mg), Glicogênio Hepático (mg/100 mg); Glicogênio Gastrocnêmio porção Branca (mg/100 mg) e Glicogênio Gastrocnêmio porção Vermelha (mg/100 mg) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	Glicogênio Cardíaco	Glicogênio Hepático	Glicogênio Gastrocnêmio Branco	Glicogênio Gastrocnêmio Vermelho
SHRS	0,058 ± 0,007	1,481 ± 0,272	0,130 ± 0,034	0,134 ± 0,033
SHRT	0,060 ± 0,006	1,428 ± 0,421	0,144 ± 0,033	0,157 ± 0,0213#
WKYS	0,053 ± 0,005	1,542 ± 0,326	0,130 ± 0,041	0,120 ± 0,034
WKYT	0,046 ± 0,006*	1,749 ± 0,247	0,180 ± 0,048	0,112 ± 0,036

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * ≠ de SHRS e SHRT; # ≠ de WKYT, ANOVA p<0,05.

Figura 3A: Glicogênio Cardíaco dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * ≠ de SHRS e SHRT, ANOVA p<0,05.

Figura 3B: Glicogênio Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 3C: Glicogênio Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 3D: Glicogênio Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYT, ANOVA $p<0,05$.

Tabela 4 – Colesterol Total da glândula Adrenal (mg/100 mg) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	Colesterol Total Adrenal
SHRS	$1,266 \pm 0,409$
SHRT	$1,026 \pm 0,256\#$
WKYS	$1,695 \pm 0,574$
WKYT	$1,650 \pm 0,576$

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYT; # $\neq$ de WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 4: Colesterol Total da glândula Adrenal dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Tabela 5 – Síntese do músculo sóleo (pmol/mg X h) e Degradação do músculo sóleo (pmol/mg X h) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	Síntese Muscular	Degradação Muscular
SHRS	12,455 $\pm$ 4,336	260,060 $\pm$ 44,961
SHRT	14,818 $\pm$ 5,724	300,461 $\pm$ 48,165*
WKYS	11,733 $\pm$ 4,034	236,131 $\pm$ 39,853
WKYT	18,210 $\pm$ 6,099	237,698 $\pm$ 52,366

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 5A: Síntese do músculo sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 5B: Degradação do músculo sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Tabela 6 – Proteínas Hepáticas (mg/100 mg), Proteínas Gastrocnêmio porção Branca (mg/100 mg), Proteínas Gastrocnêmio porção Vermelha (mg/100 mg) e Proteínas do Sóleo (mg/100 mg) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	Proteínas Hepáticas	Proteínas Gastrocnêmio Branco	Proteínas Gastrocnêmio Vermelho	Proteínas Sóleo
SHRS	5,753 ± 1,444	5,787 ± 1,183	2,780 ± 0,412#	4,848 ± 0,677
SHRT	5,386 ± 1,425	5,751 ± 1,503	2,637 ± 0,539	4,715 ± 0,491
WKYS	6,282 ± 1,345	4,403 ± 0,965	2,200 ± 0,259	4,259 ± 0,575
WKYT	4,714 ± 1,218	6,949 ± 1,329#	2,623 ± 0,297	4,429 ± 0,670

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * ≠ de SHRS, SHRT e WKYS; # ≠ de WKYS, ANOVA p<0,05.

Figura 6A: Proteínas Hepáticas dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 6B: Proteínas Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 6C: Proteínas Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 6D: Proteínas do músculo Sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Tabela 7 – DNA Hepático (mg/g), DNA Gastrocnêmio porção Branca (mg/g), DNA Gastrocnêmio porção Vermelha (mg/g) e DNA do músculo Sóleo (mg/g) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	DNA Hepático	DNA Gastrocnêmio Branco	DNA Gastrocnêmio Vermelho	DNA Sóleo
SHRS	0,103 $\pm$ 0,021	0,037 $\pm$ 0,006	0,066 $\pm$ 0,017	0,092 $\pm$ 0,017
SHRT	0,097 $\pm$ 0,015*	0,041 $\pm$ 0,010	0,086 $\pm$ 0,015#	0,120 $\pm$ 0,030#
WKYS	0,101 $\pm$ 0,012	0,042 $\pm$ 0,011	0,072 $\pm$ 0,010	0,112 $\pm$ 0,015
WKYT	0,125 $\pm$ 0,020	0,029 $\pm$ 0,008	0,075 $\pm$ 0,008	0,105 $\pm$ 0,014

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYT; # $\neq$ de SHRS, ANOVA $p<0,05$

Figura 7A: DNA Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de WKYT, ANOVA $p<0,05$.

Figura 7B: DNA Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 7C: DNA Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 7D: DNA do músculo Sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRS, ANOVA $p<0,05$.

Tabela 8 – Proteína/DNA Hepático, Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Branca, Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Vermelha e Proteína/DNA do músculo Sóleo dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	Proteína/DNA Hepático	Proteína/DNA Gastrocnêmio Branco	Proteína/DNA Gastrocnêmio Vermelho	Proteína/DNA Sóleo
SHRS	52,898 ± 14,850	162,409 ± 51,464	43,911 ± 8,664*	35,791 ± 8,908*
SHRT	57,979 ± 20,103	153,867 ± 61,961	30,677 ± 3,143	38,426 ± 8,859
WKYS	62,678 ± 14,400	113,650 ± 46,950	31,060 ± 5,664	38,869 ± 8,718
WKYT	39,333 ± 15,841	247,209 ± 66,781*	35,082 ± 3,199	42,345 ± 2,463

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * ≠ de SHRT e WKYS; ≠ de SHRT; § ≠ SHRS, SHRT e WKYS, ANOVA p<0,05

Figura 8A: Proteína/DNA Hepático dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n= 9 animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado.

Figura 8B: Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Branca dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 8C: Proteína/DNA Gastrocnêmio porção Vermelha dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 8D: Proteína/DNA do músculo Sóleo dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA $p<0,05$.

Tabela 9 – IGF-1 do músculo Gastrocnêmio (ng/g) dos animais ao final das oito semanas de experimento.

Grupos	IGF-1 Gastrocnêmio
SHRS	$10,979 \pm 2,156$
SHRT	$11,863 \pm 2,163$
WKYS	$10,773 \pm 2,171$
WKYT	$10,667 \pm 2,544$

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupos. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT, WKYS e WKYT; # $\neq$ de SHRS, ANOVA $p<0,05$.

Figura 9: IGF-1 do músculo Gastrocnêmio dos grupos ao final das oito semanas de experimento. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão, $n=9$ animais por grupo. SHRS = hipertenso sedentário; SHRT = hipertenso treinado; WKYS = normotenso sedentário; WKYT = normotenso treinado. * $\neq$ de SHRT e WKYS, ANOVA $p<0,05$.

7 – CONCLUSÕES

Os animais espontaneamente hipertensos são um excelente modelo animais para estudo da hipertensão arterial sistêmica e suas alterações metabólicas e estruturais. A linhagem de animais SHR apresenta alterações metabólicas importantes como intolerância a glicose, hiperinsulinemia, alterações no perfil lipídico, desenvolvendo um quadro de dislipidemia. Além disso, apresenta alterações no sistema cardiovascular, entre elas a hipertrofia cardíaca, representada pelo aumento da razão proteína/DNA e aumento das concentrações circulantes de CK-MB.

Após um período de treinamento físico resistido ou de alta intensidade, os animais hipertensos não reverteram o quadro de dislipidemia, provavelmente pelo volume de treinamento físico e a não ativação de enzimas que alteram o metabolismo que são mais comumente ativadas nos exercícios aeróbios.

Porém o exercício físico de alta intensidade foi eficaz para melhorar a sensibilidade a insulina e o metabolismo da glicose de rato espontaneamente hipertensos, através de provavelmente dos mecanismos de sinalização intracelular da insulina e também na melhoria do fluxo sanguíneo periférico muscular, altamente relacionado com o óxido nítrico. Também foi efetivo na diminuição da hipertrofia cardíaca, via diminuição do IGF-1 cardíaco e conseqüentemente diminuição da ativação dos fatores hipertróficos relacionados à Akt. Além disso, houve uma diminuição também na liberação da enzima CK-MB.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN COLEGE OF SPORTS MEDICINE. Position stand: exercise and hypertension. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. 2004.

ARAKAWA, K. Antihypertensive mechanism of exercise. **Journal of Hypertension**, v. 11, p. 223-229, 1993.

AZEVEDO, J.R.M.; **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados após exercício agudo de natação**. 1994. 139f. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiologia) Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

BELMONTE, M. et al. Rat myocellular and perimysial intramuscular triacylglycerol: a histological approach. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 36, n. 1, p. 60-67, 2004.

BRANDÃO, A.A. et al. **Hipertensão**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

BURT, V.L. et al. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. **Hypertension**, v. 25, p. 305-13, 1995.

CARVALHO-FILHO, M. A. et al.; *Cross-talk* das vias de sinalização de insulina e angiotensina II: implicações com a associação entre diabetes mellitus e hipertensão arterial e doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**; v. 51, n. 2, p. 195-203, 2007

CHOBANIAN, A.V. et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, p. 1206-52, 2003.

COOK, N.R. et al. Implications of small reductions in diastolic blood pressure for primary prevention. **Archives of Internal Medicine**, v. 155, n. 7, p. 701-9, 1995.

CORVOL, P.; JEUNEMAITRE, X. Molecular genetics of human hypertension: role of angiotensinogen. **Endocr Rev**, v.18, p.662-77, 1997.

CUI, J.; HOPPER, J.L.; HARRAP, S.B. Genes and Family Environment Explain Correlations Between Blood Pressure and Body Mass Index. **Hypertension**, v.40, p.7-12, 2002.

DARDEVET, D. et al. Stimulation of *in vitro* rat muscle protein synthesis by leucine decreases with age. **Journal of Nutrition**, v.130, n.11, p.2630-2635, 2000.

DICKOUT, J.G.; LEE, R.M. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **American Journal of Physiology**, v. 274, p. H794-H800, 1998.

DUBOIS, B. et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUBBERT, P.M. et al. Endurance exercise in mild hypertension: effects on blood pressure and associated metabolic and quality of life variables. **Journal Human Hypertension**, v. 8, p. 265-272, 1994.

D'ERCOLE, L. Underwood, Tissue and plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor-I concentrations in the human fetus during the first half of gestation. **Pediatric Research Foundation**, v. 20, p. 253-255, 1986.

EVERSON, S.A. et al. Weight gain and the risk of developing insulin resistance syndrome. **Diabetes Care**, v. 21, p. 1637-43, 1998.

FAGARD, R.; Habitual physical activity, training, and blood pressure in normo and hypertension. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, p. 57-67, 1985.

FAGOT-CAMPAGNA, A. et al. High free fatty acid concentration: an independent risk factor for hypertension in the Paris Prospective Study. **International Journal of Epidemiology**, v. 27, p. 808-13, 1998.

FERRANNINI, E. et al. Insulin resistance in essential hypertension. **New England Journal of Medicine**, v. 317, p. 350-7, 1987.

FERRANINI E. Insulin and blood pressure: possible role of hemodynamics. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 14, n. 1-2, p. 271-84, 1992.

FERRARI, P. et al. Altered insulin sensitivity, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. **American Journal of Medicine**, v. 91, p. 589-96, 1991.

FOLKOW, B. et al. Importance of adaptive changes in vascular design for establishment of primary hypertension studied in man and in spontaneously hypertensive rats. **Circulation Research**, v. 32/33, p. 2-16, 1975.

FRIDEZ, P. et al. Geometrical, functional, and histomorphometric adaptation of rat carotid artery in induced hypertension. **Journal of Biomechanics**, v. 36, n. 5, p. 671-80, 2003.

FULKS, R.M; LI, J.B; GOLDBERG, A.L. Effects of insulin, glucose, and amino acids on protein turnover in rat diaphragm. **The Journal Biological Chemistry**, v. 250, p. 290-298, 1975.

GALLEY, H.F.; WEBSTER, N.R. Physiology of the endothelium. **British Journal of Anaesthesia**, v. 93, n. 1, p. 105-13, 2004.

GAVRAS, I.; MANOLIS A.J.; GAVRAS, H. The alpha-adrenergic receptors in hypertension and heart failure: experimental and clinical studies. **Journal of Hypertension**, v. 19, p. 2115-2124, 2001.

GILES, K.W.; MYERS, A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. **Nature**, v. 206, p. 93, 1965.

GUYTON, A.C.; HALL, E.J.; **Tratado de Fisiologia Médica**. pag. 184-195. 10ª ed-Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HAAPANEN, N. et al. Association of leisure time physical activity with the risk of coronary heart disease, hypertension and diabetes in middle-aged men women. **International Journal of Epidemiolog**, v. 26, p. 739-47, 1997.

HAGBERG, J.M. et al. Effect of exercise training in 60- to 69-year-old persons with essential hypertension. **American Journal Cardiology**, v. 64, p. 348-353, 1989.

HAGBERG, J.M.; PARK, J.J.; BROWN, M.D. The role of exercise training in the treatment of Hypertension. **Sports Medicine**; v. 30, n. 3, p. 193-206, 2000.

HARRAP, S.B. Hypertension: genes versus environment. **Lancet**, v.344:, p.169-71, 1994

HARRAP, S.B. et. al. Familial patterns of covariation for cardiovascular risk factors in adults: the Victorian Family Heart Study. **Am J Epidemiol**, v.152, p.704–715, 2000.

HAVLIK, R.J. et al. Blood pressure agregation in families. **Am J Epidemiol**, v.110, p. 304-12, 1979.

HAYASHI, T. et al. Walking to work and the risk for hypertension in men: the Osaka Health Survey. **Annals of Internal Medicine**, v. 130, p. 21-6, 1999.

HE, J.; WHELTON, P.K. Elevated systolic blood pressure and risk of cardiovascular and renal disease: overview of evidence from observational epidemiologic studies and randomized controlled trials. **American Heart Journal**, v. 138, p. 211-9, 1999.

HENRY, R. J.; CANNON, D.C.; WILKEMAN, J. **Clinical chemistry, principles and techniques**. 2.ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974, 1288p.

HORTA, P.P. et al. Exercise training attenuates blood pressure elevation and adverse remodeling in the aorta of spontaneously hypertensive rats. **Life Science.**, v. 77, p.3336-3343, 2005.

HUTCHINS, P.M.; DARNELL, A.E. Observation of a decreased number of small arterioles in spontaneously hypertensive rats. **Circulation Research**, v. 34/35, p. 161-5, 1974.

IRIGOYEN, M.C. et al. Fisiopatologia da hipertensão: O que avançamos?. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 1, p. 20-45, 2003.

IZAWA, Y. et al. Bone disorders in spontaneously hypertensive rat. **Calcified Tissue International**, v. 37, n. 6, p. 605-607, 1985.

JUDY, W.V. et al. Sympathetic nerve activity: Role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. **Circulation Research**, v. 38, p. 21-9, 1976.

KAPLAN, N. M. Guidelines for the treatment of hypertension: An American view. **Journal of Hypertension**, v. 13, Suppl.2, p. S113-S117, 1995.

KEARNEY, P.M. et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**, v. 15-21, n. 9455, p. 217-23, 2005.

KELLEY, G.A.; KELLEY, K.S. Progressive resistance exercise and resting blood pressure: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension**, v. 35, p. 838-43, 2000.

KNOWLES, J.W. et al. Enhanced atherosclerosis and kidney dysfunction in eNOS^{-/-}-ApoE^{-/-} mice are ameliorated by enalapril treatment. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 105, p. 451-8, 2000.

KOKKINOS, P.F.; NARAYAN, P.; PAPADEMETRIOU, V. Exercise as hypertension therapy. **Cardiology Clinical**, v.19, p.507-516, 2001.

LIM, P.O. et al. Impaired Exercise Tolerance in Hypertensive Patients. **Annals of Internal Medicine**, v. Jan.124, p. 41-55, 1996.

LOPES, H.F. Hipertensão, obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica, **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, n. 3, p. 154-158, 2005.

LOWRY, O.H. et al. Protein measurement with the felinephenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUNDBAECK, K. Intravenous glucose tolerance test as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. **Brazilian Medicine Journal**, v2, p. 1507-1513, 1962.

MACDOUGALL, J.D. et al. Arterial blood pressure response to heavy resistance exercise. **Journal Applied Physiology**, v. 58, p. 785-790, 1965.

MACDOUGALL, J.D. et al. Factor affecting blood pressure during heavy weight lifting and static contractions. **Journal Applied Physiology**, v. 73, n. 4, p. 1590-1597, 1992.

MANCHADO-GOBATTO, F.B; **Protocolos invasivos e não invasivos para avaliação aeróbia e anaeróbia de ratos Wistar**. 2007. 248f. Tese (Doutorado em Ciências da Motricidade) Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2007.

MATHEWS, J.N.S. et al. Analysis of serial measurements in medical research. **Brazilian Medicine Journal**, v. 27, p. 230-5, 1990.

MCCARTNEY, N. Acute responses to resistance training and safety. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 31, n. 1, p. 31-37, 1999.

MCLEAN, D. et al. Canadian Hypertension Education Program. Hypertension Education Program (CHEP) recommendations: management of hypertension by nurses. **Canadian Journal of Cardiovascular Nursing**, v. 17, n. 2, p. 10-6, 2007.

MITCHELL, J.H. Cardiovascular control during exercise: central and reflex neural mechanisms. **The American Journal of Cardiology**, v. 55, p. 34D-41D, 1985.

NATIONAL HEART INSTITUTE. Physical activity and cardiovascular health. **JAMA**, v. 273, p. 241-6, 1996.

NEATON, J.D. et al. Serum cholesterol levels and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. **Archives of Internal Medicine**, v. 152, p. 1490-500, 1992.

NETER, J.E. et al. Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension**, v. 42, p. 878-84, 2003.

OVERBECK, H.W. Vascular responses to cations, osmolality, and angiotensin in renal hypertensive dogs. **American Journal of Physiology**, v. 223, p. 1358-64, 1972.

OKAMOTO, K.; AOKI, K.; Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japan Circulation Journal**, v. 27, p. 282-93, 1963.

PAFFENBARGER, R.S.J.R. et al. Physical activity and hypertension: an epidemiological view. **Annals of Medicine**, v. 23, p. 319-27, 1991.

PERTICONE, F. et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. **Circulation**, v. 104, n. 2, p. 191-6, 2001.

PESCATELLO, L.S. et al. American College of Sports Medicine. Exercise and hypertension. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, p. 533-53, 2004.

QUYYUMI, A.A. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. **American Journal of Medicine**, v. 105, n. 1A, p. 32S-39S, 1998.

ROGATTO, G.P.; **Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre aspectos endócrino-metabólico de ratos Wistar**. 2001. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Motricidade) Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2001.

ROGATTO, G.P.; **Exercício físico de alta intensidade e diabetes experimental: influência do treinamento sobre as variáveis metabólicas e endócrinas relacionadas ao estresse em ratos**. 2004. 147f. Tese (Doutorado em Ciências da Motricidade) Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.

ROGATTO, G.P. et al. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos, **Motriz**, v. Mai:10, n.2, p. 61-6, 2004.

ROSENSON, R.S.; TANGNEY, C.C. Antithrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. **JAMA**, v. 279, p. 1643-50, 1998.

REGOW, B.J.M. et al. Specific determination of free fatty acid in plasm. **Clinica Chimica Acta**, v. 31, p. 187-195, 1971.

SCHACHINGER, V.; BRITTEN, M.B.; ZEHER, A.M. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. **Circulation**, v. 101, n. 16, p. 1899-906, 2000.

SEIDER, M. J. et al. The effects of cutting or of stretching skeletal muscle in vitro on the rates of protein synthesis and degradation. **Biochemistry Journal**, v.188, n.1, p.247-254, 1980.

SHIMOKAWA, H. Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 31, n. 1, p. 23-37, 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 82, n, 4, p. 7-14, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. et al. I Diretriz Brasileira de Diagnostico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, p. 18-28, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Hipertensão**, v. 9, n. 4, p. 122-133, 2006.

SU, S. F, et al. Effects of pravastatin on left ventricular mass in patients with hyperlipidemia and essential hypertension. **The American Journal of Cardiology**, v. 86, p. 514-8, 2000.

TADDEI, S. et al. Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. **Circulation**, v. 91, n. 7, p. 1981-7, 1995.

TASHIRO, R. et al. Crossover comparison between the depressor effects of low and high work-rate exercise in mild hypertension. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 20, p. 689-696, 1993.

THOMAS, C.J. et al. ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 5, p. 1126-32, 1997.

TIPTON, C.M. Exercise, training and hypertension: an update. **Exercise and Sport Sciences Review**, v. 19, p. 447-505, 1991.

TRIANTAFYLLIDI, E. et al. Study of hypertension in spontaneous hypertensive rats by sequencing the genomic DNA of alpha2B receptors. **Hellenic Journal of Cardiology**, v. 45, p. 64-70, 2004.

TRIPPODO, N.C.; FROHLICH, E.D. Similarities of Genetic (Spontaneous) Hypertension. **Circulation Research**, v. 48, p. 309-19, 1981.

TSAI, J.C. et al. The beneficial effect of regular endurance exercise training on blood pressure and quality of life in patients with hypertension. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 26, n. 3, p. 255-265, 2004.

VASAN, R.S. et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 345, p. 1291-7, 2001.

VERMA, S.; ANDERSON, T.J. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. **Circulation**, v. 105, n. 5, p. 546-9, 2002.

WAALKES, T.P; UDENFRIEND, S. Tyrosine in plasma and tissues. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 50, n. 5, p. 733-736, 1957.

WALLACE, J.P. Exercise in hypertension: a clinical review. **Sports Medicine**., v. 33, p. 585-598, 2003.

WALLBERG-HENRIKSSON, H.; RINCON, J.; ZIERATH, J.R. Exercise in the management of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Sports Medicine**, v. 25, n. 1, p. 25-35, 1998.

WHELTON, S.P. et al. Effect of aerobic on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled trials. **Annals of Internal Medicine**, v. 136, p. 493-503, 2002.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION; INTERNATIONAL SOCIETY OF HYPERTENSION WRITING GROUP. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 21, p. 1983-92, 2003.

WORLD HYPERTENSION LEAGUE. Physical exercise in the management of hypertension: a consensus statement by the World Hypertension League. **Journal of Hypertension**, v. 9, p. 283-287, 1991.

ZECCHIN, H. G. et al. Insulin signalling pathways in aorta and muscle from two animal models of insulin resistance -- the obese middle-aged and the spontaneously hypertensive rats. **Diabetologia**, v. 46, p. 479-91, 2003.

9 - ANEXOS

9.1 – Parecer do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Campus de Rio Claro	COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAL CEUA – IB – UNESP - CRC
---	---	--	---

DECISÃO CEUA Nº 001/2009

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Protocolo nº: -.-	Data: 10/06/09
Projeto de Pesquisa: Influência do treinamento físico de alta intensidade sobre o metabolismo de ratos espontaneamente hipertensos (SHR)	

Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Eliete Luciano

Orientando(a): Rodrigo Augusto Dalia

Colaboradores: Profa. Dra. Maria Alice Rostom de Mello Lucieli Teresa Cambri

Objetivo Acadêmico:	☐ TCC ☒ Mestrado ☐ Doutorado ☐ Outros (especificar)
---------------------	---

A Comissão de Ética no Uso de Animal - CEUA do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua 1ª reunião ordinária, realizada em 22/06/2009,

☒ (X)	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
☐ ()	Desde que atendidas as pendências apontadas na reunião (vide anexo), aprova o Projeto de Pesquisa acima citado (prazo máximo de 30 dias).
☐ ()	Referendou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
☐ ()	Aprovou retornar ao interessado para atendimento das pendências encontradas (prazo máximo de 30 dias).
☐ ()	Não Aprovou.
☐ ()	Retirou , devido à permanência das pendências.

Rio Claro, 07 de julho de 2009
Prof. Dr. Célio Fernando Baptista Haddad Coordenador do CEUA

Instituto de Biociências – Seção Técnica Acadêmica
 Avenida 24-A nº 1515 - CEP 13506-900 – Rio Claro - S.P. – Brasil - tel 19 3526-4105 - fax 19 3534-0009 - <http://www.rc.unesp.br>