

Expressão de proteína de estresse no miocárdio de ratos espontaneamente hipertensos em resposta ao treinamento físico

Myocardial stress protein expression in response to exercise training in spontaneously hypertensive rats

Luiz Henrique Marchesi Bozi¹, Stéphano Freitas Soares Melo¹, Elizabeth Pacheco Batista Fontes², Karina Ana Silva¹, Cynthia Aparecida Castro¹, Judson Fonseca Quintão Junior¹, Antônio José Natali¹

RESUMO

Objetivo: Testar se o treinamento físico com corrida forçada ou voluntária afeta de forma distinta a expressão de proteína de estresse no miocárdio durante a fase compensatória da hipertensão. **Métodos:** *Spontaneously hypertensive rats* (SHR, 4 meses de idade) foram aleatoriamente divididos em três grupos: SHR controle (SHR-CON, N = 6), SHR corrida voluntária (SHR-CV, N = 6) e SHR corrida forçada (SHR-CF, N = 6). Ratos Wistar normotensos da mesma idade serviram de controle (W-CON, N = 6). Animais SHR-CV tiveram livre acesso a rodas de corrida voluntária e os SHR-CF foram submetidos à corrida em esteira a 18 m/min, 0% de inclinação, 60 min/dia, cinco dias/semana, por oito semanas. Fragmentos do ventrículo esquerdo foram coletados e o conteúdo da proteína de estresse (Hsp72) foi determinado por *Western blot*. **Resultados:** A pressão sanguínea dos animais não foi afetada pelos treinamentos aplicados. A razão peso do coração/peso corporal foi maior nos grupos SHR-CON ($4,63 \pm 0,03$ mg/g), SHR-CV ($4,62 \pm 0,18$ mg/g) e SHR-CF ($4,41 \pm 0,26$ mg/g) comparada ao grupo W-CON ($P < 0,05$, $4,07 \pm 0,27$ mg/g), mas não foi afetada pelos treinamentos. O conteúdo de Hsp72 aumentou em 80% no grupo SHR-CON, comparado ao grupo W-CON ($P < 0,05$). Nos grupos exercitados, esse aumento não foi estatisticamente diferente entre corrida forçada e voluntária ($P > 0,05$, 10% e 3%, respectivamente), comparado a SHR-CON. **Conclusão:** A sobrecarga hemodinâmica durante a fase de compensação da hipertensão aumenta a expressão da proteína de estresse (Hsp72) no miocárdio. Entretanto, a

ABSTRACT

Objective: To test whether running training either enforced or voluntary would impact distinctly on the stress protein expression in the myocardium in the compensated phase of hypertension. **Methods:** Four-month-old male spontaneously hypertensive rats (SHR) were assigned randomly into SHR control (SHR-CON, N = 6), SHR voluntary running (SHR-VR, N = 6), and SHR enforced running (SHR-ER, N = 6) groups. Age matched male normotensive Wistar rats served as control group (W-CON, N = 6). SHR-VR group animals had free access to running wheels and those from SHR-ER group were subjected to running program on a treadmill at 18 m/min, 0% grade, 60 min/day, 5 days/wk for 8 weeks. Fragments of the left ventricle were collected at sacrifice and the relative immunoblot contents of stress protein (Hsp72) were determined. **Results:** Blood pressure was not affected by either enforced or voluntary exercise training regimens. Heart to body weight ratio was higher in SHR-CON (4.63 ± 0.03 mg/g), SHR-VR (4.62 ± 0.18 mg/g) and SHR-ER (4.41 ± 0.26 mg/g) than in W-CON ($P < 0.05$, 4.07 ± 0.27 mg/g), but no effect of exercise was observed. Hsp72 content increased by 80% in SHR-CON compared to W-CON ($P < 0.05$), while in exercised SHR groups such increase was not statistically different in response to either enforced or voluntary running ($P > 0.05$, 10% and 3%, respectively), compared SHR-CON. **Conclusion:** Hemodynamic overload in the compensated phase of hypertension enhances the expression of stress protein (Hsp72) in the myocardium, nevertheless, superimposing running training either enforced or voluntary

Recebido: 15/3/2010 Aceito: 26/4/2010

1 Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

2 Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV.

Correspondência para: Antônio José Natali. Campus Universitário. Departamento de Educação Física – UFV. Av. Peter Henry Rolfs, s/n – 36570-000 – Viçosa, MG. Telefone: (31) 3899-4390. Telefax: (31) 3899-2249. E-mail: anatali@ufv.br

superposição de treinamento físico com corrida forçada ou voluntária não promove maior expressão dessa proteína.

PALAVRAS-CHAVE

Hsp72, atividade física, hipertensão, miocárdio.

did not promote further distinct increase in the expression of Hsp72.

KEYWORDS

Hsp72, physical activity, hypertension, myocardium.

INTRODUÇÃO

Ratos espontaneamente hipertensos (SHR – *spontaneously hypertensive rats*) apresentam altos níveis de pressão sanguínea durante a fase de hipertensão estabelecida. Na fase compensatória da hipertensão, a hipertrofia concêntrica do miocárdio frequentemente se manifesta com função sistólica normal ou aumentada e com eficiência mecânica, apesar da disfunção diastólica¹. Nas fases tardias da hipertensão, todavia, a hipertrofia concêntrica está frequentemente associada à maior suscetibilidade a lesões isquêmicas, possivelmente por causa de alterações bioquímicas e metabólicas intrínsecas ao miocárdio hipertrofiado².

Hipertensão e exercício regular impõem sobrecarga hemodinâmica ao miocárdio, apesar de os mecanismos do processo adaptativo do miocárdio a essas sobrecargas serem distintos. Enquanto a hipertensão promove impactos negativos à estrutura e à função do miocárdio ao induzir hipertrofia patológica do tipo concêntrica³, o exercício aeróbio regular promove hipertrofia fisiológica do tipo excêntrica⁴. Essas adaptações ocorrem para normalizar o estresse imposto às paredes ventriculares por meio de sobrecarga pressórica pela hipertensão ou sobrecarga volumétrica pelo exercício aeróbio³. A exposição de células a diferentes tipos de estresse aumenta a expressão da forma induzível da família das proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*) de peso molecular 70-kDa (HSP70), também conhecida como proteína de estresse, a Hsp72, que confere resistência celular a vários tipos de estresse⁵. O aumento da síntese da Hsp72 funciona como um marcador específico da resposta do miocárdio ao estresse, uma vez que a expressão dessa proteína aumenta no miocárdio em resposta à sobrecarga hemodinâmica imposta tanto pela hipertensão quanto pelo exercício⁶⁻⁸.

O treinamento aeróbio é reconhecido como uma intervenção não medicamentosa eficiente para reduzir a pressão arterial em humanos e em ratos SHR⁹⁻¹¹. Apesar de a redução da pressão sanguínea em resposta ao treinamento físico em ratos SHR não ser unanimidade entre os estudos¹¹⁻¹³, o exercício regular previne o crescimento desproporcional de mitocôndrias e miofibrilas, eventos característicos da hipertrofia patológica do ventrículo esquerdo, pois o exercício assegura o desenvolvimento regular e necessário das mitocôndrias¹⁴. Essas adaptações benéficas ao exercício regular parecem estar associadas a mecanismos

antiapoptose, uma vez que a disfunção mitocondrial tem relação com a ativação da cascata da apoptose¹⁵. A apoptose parece exercer um papel negativo no remodelamento cardíaco durante a fase compensatória do desenvolvimento da hipertensão em ratos SHR¹⁶ e a Hsp72 está envolvida na proteção de miócitos cardíacos contra a apoptose¹⁷.

Entretanto, de acordo com estudos realizados em nosso laboratório¹⁸ e em outros^{19,20}, os níveis de estresse do exercício e a indução da expressão de Hsp72 no miocárdio em resposta ao exercício são distintos quando programas de corrida forçada em esteira e corrida voluntária são aplicados a ratos normotensos. O objetivo deste estudo foi, portanto, testar se o treinamento físico com corrida forçada ou voluntária afeta de forma distinta a expressão de proteína de estresse (Hsp72) no miocárdio de ratos SHR durante a fase compensatória da hipertensão.

MATERIAL E MÉTODOS

Dezoito ratos SHR e seis ratos Wistar normotensos (4 meses de idade) foram usados. Formaram-se quatro grupos, a saber: SHR controle (SHR-CON, N = 6), SHR corrida voluntária (SHR-CV, N = 6), SHR corrida forçada (SHR-CF, N = 6) e Wistar normotensos controle (W-CON, N = 6). Todos os animais foram manejados de forma similar, porém os grupos SHR-CON e W-CON não executaram exercício. Os animais foram alojados em gaiolas individuais de aço inox (25 x 20 x 18 cm), receberam água e ração própria *ad libitum*, foram mantidos em ambiente com temperatura média de 22 °C e submetidos a um regime de luminosidade de 12 horas de escuridão por 12 horas de claridade durante o período do experimento.

Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal de Viçosa, e foram seguidas as normas estabelecidas no *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1996) e nos "Princípios éticos na experimentação animal", do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os ratos do grupo SHR-CV tiveram livre acesso à roda de corrida voluntária, acoplada às suas respectivas gaiolas de aço inox (25 x 20 x 18 cm), por oito semanas. Essa roda de corrida voluntária tem uma circunferência interna de 1,53 m, e o número de voltas foi registrado por um contador de voltas

mecânico. Dessa forma, a distância percorrida pelos animais foi calculada pelo número de voltas realizadas. Observa-se que os roedores são animais de hábitos noturnos e, portanto, exercitam-se normalmente durante a fase de escuridão do ciclo de luminosidade.

Conhecidas as metragens médias semanais e totais percorridas pelos animais do grupo SHR-CV, elaborou-se o protocolo de treinamento para o grupo SHR-CF, de forma que as metragens fossem similares entre os dois grupos. Assim, os ratos do grupo SHR-CF foram submetidos a um regime de corrida forçada em esteira rolante motorizada (Insight Instrumentos Científicos, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por oito semanas (adaptado de Samelman²¹). Os animais iniciaram o programa de exercício correndo à velocidade de 15 m/min, 0% inclinação, por 15 minutos no primeiro dia, cinco dias por semana. Essa duração foi aumentada em cinco minutos por dia, de maneira que, no último dia da segunda semana, os animais correram durante 60 minutos. A partir do primeiro dia da terceira semana, a velocidade passou para 17 m/min. Da quarta à oitava semana, a sessão de exercício foi mantida com a duração de 60 minutos por dia, 18 m/min, 0% de inclinação, cinco dias por semana.

Esse programa de corrida em esteira foi aplicado durante a fase de escuridão do ciclo de luminosidade para não diferir do grupo SHR-CV. Os animais foram motivados a correr com leves toques no dorso. Observa-se que esses animais foram alojados em gaiolas individuais de aço inox (25 x 20 x 18 cm), da mesma forma que os animais dos demais grupos. Assim, considera-se que a movimentação (voluntária) dos animais nessas gaiolas, fora do período de treinamento, não é suficiente para provocar adaptações que possam confundir aquelas provocadas pelas corridas voluntária e forçada. Portanto, em nenhum dos quatro grupos é necessário contabilizar a movimentação dos animais nas suas respectivas gaiolas, por considerar que é semelhante para todos os animais.

As medidas da pressão arterial de repouso foram realizadas antes do início do treinamento (*baseline*, animais com 4 meses de idade) e 36 horas após a última sessão de exercício (animais com 6 meses de idade) por método não invasivo, estando os animais conscientes²².

Para evitar a resposta aguda do exercício e preservar a resposta crônica, a eutanásia dos animais foi realizada 48 horas após a última sessão de exercício. Coletaram-se fragmentos do ventrículo esquerdo, que foram envolvidos em papel-alumínio, identificados, imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C para análise posterior.

Para a análise do conteúdo de Hsp72, os fragmentos das amostras foram retirados do *freezer* e, depois de pesados, foram macerados para obtenção de um extrato tecidual, ao qual foi adicionado o respectivo tampão (composição 15 mM

Tris HCl; 600 mM de NaCl; 1 mM PMSF, pH 7,5). A 60 mg de extrato, foram adicionados 1.200 µl de tampão de extração (proporção de 1:20). Em seguida, colocaram-se as amostras em *ependorfs*, os quais foram identificados e mantidos em gelo por, aproximadamente, cinco minutos.

Após esse período de incubação, os restos celulares foram descartados por centrifugação a 14.000 g, a 4°C, durante 20 minutos, e o sobrenadante foi armazenado a -20°C. Os extratos de proteínas totais foram quantificados de acordo com o método de Bradford²³, utilizando-se as três réplicas preconizadas.

Eletroforese em géis de poli(acrilamida) (PAGE) com detergente dodecil sulfato sódico (SDS) foi realizada, essencialmente, como descrito por Laemmli²⁴. O extrato de proteína foi incubado por cinco minutos, a 100°C, em tampão da amostra [glicerol 10% (v/v), SDS 2,3%, azul de bromofenol 0,25%, 2-mercaptoetanol 5% (v/v) e Tris-HCl 0,0625 mol/L, pH 6,8], antes de ser aplicado no gel. A eletroforese foi conduzida por, aproximadamente, 16 horas, a 48 V, no tampão de corrida [Tris-HCl 0,025 mol/L, glicina 0,2 mol/L, EDTA 1 mmol/L e SDS 3,5 mmol/L].

Esse procedimento foi realizado para obtenção de três géis. Um desses foi corado com solução corante [metanol 40% (v/v), CH₃COOH 7,5% (v/v) e *coomassie brilliant blue* R-250 0,01%] por, aproximadamente, 12 horas e descorado em solução descorante [metanol 10% (v/v) e ácido acético 7,5% (v/v)]. Os outros dois géis foram submetidos à técnica de *immunoblotting*, para verificar se o anticorpo Monoclonal *Anti-Heat Shock Protein 70* contra Hsp72 de animais era capaz de reconhecer a proteína de interesse.

As proteínas foram transferidas para a membrana de nitrocelulose, usando-se o sistema de transferência da Biorad (EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Após a transferência (em aproximadamente uma hora, a 0,70 ampere constante), a membrana de nitrocelulose foi imersa em solução de bloqueio (caseína – Non-fat Dry Milk, Biorad) por uma hora.

Em seguida, foram realizadas quatro lavagens, por 15 minutos cada, à temperatura ambiente, com TBS-T [Tris-HCl 0,01 mol/L, NaCl 1,5 mmol/L, Tween-20 0,1% (v/v), pH 7,6]. A membrana foi incubada com o anticorpo Monoclonal *Anti-Heat Shock Protein 70* (Sigma), em uma diluição de 1:5.000 por três horas sob agitação.

Após o período de incubação, a membrana foi lavada com TBS-T quatro vezes, por 15 minutos cada, e, em seguida, foi incubada com o anticorpo Anti-Mouse IgG [fosfatase alcalina – Sigma], em uma diluição de 1:10.000 por, aproximadamente, duas horas. A membrana foi lavada extensivamente com TBS-T, novamente por quatro vezes, de 15 minutos cada. Subsequentemente, foi incubada com tampão da enzima [Tris-HCl 0,1 mol/L, pH 9,8, NaCl 0,1 mol/L, MgCl₂ 0,5 mol/L] por 10 minutos.

A atividade da fosfatase alcalina foi detectada, usando-se os substratos NBT [azul-nitrotetrazolium, Gibco/Brl] e BCIP

[5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, Gibco/Br]. As bandas dos *immunoblottings* foram quantificadas por meio de densitometria computadorizada, utilizando-se o *personal densitometer*, equipado com o programa Image Quant, versão 5.2 (Molecular Dynamics – EUA).

As comparações das médias da pressão sanguínea, peso corporal, ganho de peso, peso absoluto do coração, peso relativo do coração e conteúdo de Hsp72 foram feitas utilizando-se ANOVA *one-way*, seguida do teste *post hoc* de Bonferroni. As comparações da pressão sanguínea nos momentos antes e após treinamento físico foram feitas usando-se o teste *t* de Student. As análises foram feitas no programa Sigma Stat (versão 3.0 – Richmond – CA) e utilizou-se o nível de significância de até 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais do grupo CV percorreram, voluntariamente, distâncias distintas, de acordo com a capacidade individual, enquanto no grupo CF todos os animais foram forçados a percorrer a mesma distância. Dessa forma, a distância percorrida pelos animais do grupo CV será apresentada como média (média \pm EPM), e a dos animais do grupo CF, como valor absoluto para o grupo.

Os animais do grupo CV percorreram $4,85 \pm 0,55$ km/semana, enquanto os do grupo CF percorreram, no mesmo período, 5 km/semana. Não houve, portanto, diferença entre as distâncias percorridas nos dois modelos ($P > 0,05$).

Os animais do grupo W-CON apresentaram pressão sanguínea mais baixa comparada às dos grupos SHR-CON, SHR-CV e SHR-CF, tanto no início quanto no final do período experimental (Tabela 1). Entretanto, após as oito semanas de treinamento físico a pressão sanguínea não foi alterada nos grupos SHR-CV e SHR-CF. Nos animais SHR sedentários, a pressão sanguínea também não foi alterada (Tabela 1).

A resposta da pressão sanguínea ao treinamento físico aeróbico em animais SHR é variável nos estudos apresentados na literatura. Por exemplo, em animais SHR mais jovens que os do presente estudo, durante a fase de aceleração da hipertensão, um programa de treinamento de corrida em esteira por oito

semanas a uma velocidade de 18 m/min e duração de 120 min/sessão não alterou a pressão sanguínea¹². Por outro lado, um programa de treinamento com corrida em esteira por 18 semanas a uma velocidade de 16 a 20 m/min e duração de 60 min/sessão reduziu a pressão sanguínea¹¹. É possível que o programa de treinamento usado no presente estudo (oito semanas) não tenha sido longo o suficiente para reduzir a pressão sanguínea dos animais. De fato, um programa de corrida voluntário de quatro meses reduziu a pressão sanguínea de ratos SHR em ratos mais velhos do que os usados no presente estudo²⁵.

O peso do coração não diferiu entre os grupos experimentais, porém o peso relativo do coração (peso do coração/peso corporal) foi maior nos animais dos grupos SHR-CON, SHR-CV e SHR-CF do que no grupo W-CON (Tabela 1). Esses resultados mostram que a sobrecarga pressórica crônica da hipertensão resultou em hipertrofia cardíaca durante a fase compensatória dessa doença ($\sim 13,80\%$). Resultados similares foram apresentados na literatura (por exemplo: Reger *et al.*¹³). Os mecanismos responsáveis por esse processo não estão completamente esclarecidos, todavia existem evidências de que a proteína G- α_q desempenha um papel distinto na indução de hipertrofia patológica. Uma das três subunidades (α , β e γ) das proteínas G heterotriméricas da família Gq liga-se aos receptores da superfície celular, conhecidos como GPCR (*G protein-coupled receptors*). A formação de fatores parácrinos e autócrinos cardíacos, incluindo angiotensina II, endotelina 1 e GPCR ativado por noradrenalina, resulta em dissociação da Gq e consequente ativação da cascata de moléculas de sinalização³.

Entretanto, o programa de exercício usado no presente estudo superposto à hipertensão não afetou o grau de hipertrofia cardíaca nos animais SHR. Resultados variados têm sido apresentados na literatura. Enquanto Lajoie *et al.*¹² demonstraram aumento no peso relativo do coração de ratos SHR com 3 meses de idade submetidos a treinamento com sessões de corrida a 18 m/min com duração de 120 min, Reger *et al.*¹³ não observaram hipertrofia cardíaca em ratos SHR mais velhos (8 meses) exercitados em esteira a 25 m/min durante quatro meses.

Tabela 1. Pressão sanguínea e peso do coração

	W-CON (N = 6)	SHR-CON (N = 6)	SHR-CV (N = 6)	SHR-CF (N = 6)
PS Pré (mmHg)	110,30 \pm 4,00*	168,70 \pm 2,90	181,60 \pm 6,00	184,38 \pm 7,29
PS Pós (mmHg)	112,20 \pm 3,00*	169,00 \pm 3,00	180,80 \pm 7,30	183,25 \pm 8,47
PCor (mg)	1629,01 \pm 13,09	1763,03 \pm 23,95	1796,05 \pm 11,06	1790,17 \pm 98,07
PCor/PC (mg/g)	4,07 \pm 0,27*	4,63 \pm 0,03	4,62 \pm 0,18	4,61 \pm 0,26

Dados são média \pm desvio-padrão; W: rato Wistar normotenso; SHR: *spontaneously hypertensive rats*; CON: controle; CV: corrida voluntária; CF: corrida forçada; N: número de animais; PS: pressão sanguínea; Pré: antes do período experimental; Pós: após o período experimental; PCor: peso do coração; PC: peso corporal; PCor/PC: razão do PCor pelo PC; *: $P < 0,05$ vs. SHR-CON, SHR-CV e SHR-CF.

Essas diferenças entre os estudos podem estar relacionadas a diferentes fatores, entre eles intensidade e duração do exercício e a fase da hipertensão.

Os níveis de Hsp73 foram similares em todos os animais, independentemente do grupo experimental, e não foram afetados pela hipertensão ou pelo treinamento físico. Esses resultados eram esperados, pois a Hsp73 é um membro constitutivo da família das HSP70 (Figura 1A). Os níveis de Hsp72 aumentaram em 80% nos animais do grupo SHR-CON comparados aos dos animais W-CON, enquanto nos animais dos grupos SHR-CV e SHR-CF o aumento dos níveis de Hsp72 não foi estatisticamente diferente, comparado aos dos animais SHR sedentários ($P > 0,05$, 3% e 10%, respectivamente, Figura 1B).

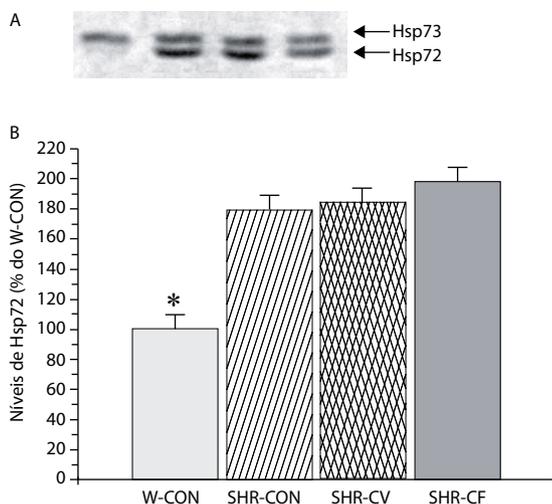


Figura 1. (A) Acúmulo de proteína de estresse (Hsp72, Hsp73) no ventrículo esquerdo de ratos normotensos ou SHR. Quantidades iguais de proteínas do ventrículo esquerdo de ratos dos quatro grupos foram separadas por SDS-PAGE submetidas a *immunoblotting* com anticorpo monoclonal para HSP70. **(B)** Níveis médios de Hsp72 do ventrículo esquerdo dos respectivos grupos. W: rato Wistar normotenso; SHR: *spontaneously hypertensive rats*; CON: controle; CV: corrida voluntária; CF: corrida forçada. Dados são média \pm desvio-padrão; N: 6 animais por grupo; *: $P < 0,05$ vs. SHR-CON, SHR-CV e SHR-CF.

Estudos prévios demonstraram que a hipertensão induz hipertrofia cardíaca do tipo concêntrica, um processo adaptativo ocorrido durante a fase compensatória para normalizar o estresse sobre a parede ventricular³. O aumento nos níveis de Hsp72 observado nos animais SHR-CON reflete a alta intensidade do estresse intracelular gerado pela sobrecarga pressórica da hipertensão e confirma o estresse hemodinâmico imposto ao miocárdio nessa fase da hipertensão^{3,6}, uma vez que o aumento da síntese de Hsp72 é um marcador específico para a resposta ao estresse⁵.

Porém, nenhum dos modelos de exercício, forçado ou voluntário, superposto à hipertensão promoveu aumento adicional aos níveis de Hsp72 no miocárdio dos animais SHR. Esses dados diferem dos apresentados por Lajoie *et al.*¹², que demonstraram aumento de 71% na expressão de Hsp72 no miocárdio de ratos SHR que correram em esteira a 18 m/min, 120 min/dia, por oito semanas. A intensidade e a duração do programa de exercício usadas no presente estudo correspondem àquelas normalmente prescritas para humanos hipertensos, de acordo com o American College of Sports Medicine²⁶, sendo a intensidade usada considerada baixa para ratos SHR¹¹.

Em relação à corrida voluntária, um modelo de exercício intermitente, sabe-se que as adaptações dos animais a esse tipo de exercício são menos contaminadas pelos efeitos adversos ao exercício em si por causa do menor estresse do próprio modelo, se comparada à corrida forçada em esteira^{20,27}. Nossos resultados concordam com os de Noble *et al.*¹⁹, em que o treinamento com corrida voluntária (~ 5 km/semana), por oito semanas, não foi suficiente para induzir aumento nos níveis de Hsp72 no miocárdio de ratos normotensos. Por outro lado, em ratas normotensas a corrida voluntária por oito semanas (~ 7 km/dia) aumentou a expressão de Hsp72 no miocárdio²⁸. Possivelmente, a ausência de aumento significativo de Hsp72 em resposta à corrida voluntária no presente estudo deve-se à baixa distância corrida pelos animais (~ 1 km/dia). Esse baixo desempenho pode estar relacionado à idade dos animais usados (6 meses)²⁹⁻³¹.

CONCLUSÃO

A sobrecarga hemodinâmica durante a fase de compensação da hipertensão aumenta a expressão da proteína de estresse (Hsp72) no miocárdio. Entretanto, a superposição de treinamento físico com corrida forçada ou voluntária não promove maior expressão dessa proteína.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG – CDS nº 933/04).

REFERÊNCIAS

1. Tubau JF, Wikman-Coffelt J, Massie BM, Wievers R, Parmley WW. Improved myocardial efficiency in the working perfused hearts of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1987;10:396-403.
2. Friehs I, Del Nido PJ. Increased susceptibility of hypertrophied hearts to ischemic injury. *Ann Thorac Surg*. 2003;75:S678-84.
3. McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34:255-62.
4. Naylor LH, George K, O'Driscoll G, Green DJ. The athlete's heart: a contemporary appraisal of the 'Morganroth Hypothesis'. *Sports Med*. 2008;38(1):69-90.
5. Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther*. 1998;80:183-201.
6. Delcayre C, Samuel J-L, Marotte F, Best-Belpomme M, Mercadier JJ, Rappaport L. Synthesis of stress proteins in rat cardiac myocytes 2-4 days after imposition of hemodynamic overload. *Clin Invest*. 1988;82:460-8.

7. Milne KJ, Noble EG. Exercised-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J Appl Physiol*. 2002;93:561-8.
8. Lunz W, Oliveira EC, Neves MTD, Fontes EPB, Dias CMGC, Natali AJ. Anabolic steroid- and exercise-induced cardiac stress protein (HSP72) in the rat. *Braz J Med Biol Res*. 2006;39:889-93.
9. Hoffmann P, Friberg DE, Thore'n P. Effect of spontaneous running on blood pressure, heart rate and cardiac dimensions in developing and established spontaneously hypertension in rats. *Acta Physiol Scand*. 1987;129:535-42.
10. Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. *Sports Med*. 2000;30:193-206.
11. Veras-Silva AC, Mattos KC, Gava NS, Brum PC, Negrão CD, Krieger EM. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1997;273:H2627-31.
12. Lajoie C, Calderone A, Béliveau L. Exercise training enhanced the expression of myocardial proteins related to cell protection in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Physiol*. 2004;449:26-32.
13. Reger PO, Barbe MF, Amin A, et al. Myocardial hypoperfusion/reperfusion tolerance with exercise training in hypertension. *J Appl Physiol*. 2006;100:541-7.
14. Crisman RP, Tomanek RJ. Exercise training modifies myocardial mitochondria and myofibril growth in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1985;248:H8-14.
15. Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of Bax results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO*. 1998;17:3878-85.
16. Liu JJ, Peng L, Bradeley CJ, Zulli A, Shen J, Buxton BF. Increased apoptosis in the heart of genetic hypertension, associated with increased fibroblasts. *Cardiovasc Res*. 2000;45:729-35.
17. Suzuki K, Sawa Y, Kagi Suzuki K, Sawa Y, Kagisaki K, et al. Reduction in myocardial apoptosis associated with overexpression of heat shock protein 70. *Basic Res Cardiol*. 2001;95:397-403.
18. Melo SFS, Lunz W, Fontes EPB, et al. Níveis distintos de Hsp72 no miocárdio de ratas em resposta aos exercícios voluntário e forçado. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(5):423-9.
19. Noble EG, Moraska A, Mazzeo RS, et al. Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill run training. *J Appl Physiol*. 1999;86:1696-701.
20. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tsurudome Y, Itoh H, Kasai H. Effects of forced and spontaneous exercise on 8-hydroxydeoxyguanosine levels in rat organs. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;24:678-82.
21. Samelman TR. Heat shock protein expression is increased in cardiac and skeletal muscles of Fischer 344 rats after endurance training. *Exp Physiol*. 2000;85(1):92-102.
22. Hefti F, Fischli W, Gerold M. Cilazapril prevents hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1986;8:641-8.
23. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.
24. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680-5.
25. Chicco AJ, McCune SA, Emter CA, et al. Low-intensity exercise training delays heart failure and improves survival in female hypertensive heart failure rats. *Hypertension*. 2008;51:1-7.
26. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and Hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(3):533-53.
27. Moraska A, Deak T, Spencer RL, Roth D, Fleshner M. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol*. 2000;279(4):R1321-9.
28. Chicco AJ, Schneider CM, Hayward R. Voluntary exercise protects against acute doxorubicin cardiotoxicity in the isolated perfused rat heart. *Am J Physiol*. 2005;289(2):R424-31.
29. Holloszy JO, Smith EK, Vining M, Adams S. Effect of voluntary exercise on longevity of rats. *J Appl Physiol*. 1985;59:826-31.
30. Russel JC, Epling WF, Pierce D, Amy RM, Boer DP. Induction of voluntary running by rats. *J Appl Physiol*. 1987;63:254-53.
31. Kingwell BA, Arnold PJ, Jennings GL, Dart AM. The effects of voluntary running on cardiac mass and aortic compliance in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 1998;16(2):181-5.