



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE PROMOVE CONTROLE  
PRESSÓRICO, MELHORA A TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO E FUNÇÃO  
CARDÍACA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

**FRANCILENE LIMA AGOSTINHO DE SOUZA**

**TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE PROMOVE CONTROLE  
PRESSÓRICO, MELHORA A TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO E FUNÇÃO  
CARDÍACA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

**FRANCILENE LIMA AGOSTINHO DE SOUZA**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.  
Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Francis Lopes Pacagnelli

636.089 613 6  
S729t

Souza, Francilene Lima Agostinho de  
Treinamento intervalado de alta intensidade promove controle pressórico, melhora a tolerância ao exercício e função cardíaca em ratos espontaneamente hipertensos / Francilene Lima Agostinho de Souza – Presidente Prudente, 2017.  
42 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Francis Lopes Pacagnelli.

1. Treinamento Intervalado de Alta Intensidade. 2. Hipertrofia ventricular esquerda. 3. Ratos espontaneamente hipertensivos. 4. *Rattus norvegicus*.  
I. Título.

**FRANCILENE LIMA AGOSTINHO DE SOUZA**

**TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE PROMOVE  
CONTROLE PRESSÓRICO, MELHORA A TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO E  
FUNÇÃO CARDÍACA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 30 de Outubro de 2017.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francis Lopes Pacagnelli  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

---

Prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp  
Presidente Prudente-SP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ines Cristina Giometti  
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste  
Presidente Prudente-SP

## DEDICATÓRIA

À senhora Geni Berça de Araújo, minha mãe, que dentro das suas limitações e simplicidade me ensinou como ter determinação e integridade, e que, com sua coragem me fez enxergar a importância de evoluir como indivíduo e fazer bem feito, nas condições que se tem.

À minha família, meus amados que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado, nos momentos mais conflitantes deste estudo, não me deixando desistir. Em especial, meu esposo Agnaldo Agostinho, por ser meu referencial de perseverança e intensidade.

À minha querida orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francis Lopes Pacagnelli, um exemplo de ser humano e profissional ética, que foi a minha inspiração em seus ensinamentos e meu porto seguro enquanto tudo ainda era desconhecido. Uma pessoa que não me lançou sozinha ao vôo, mas que me acolheu, ensinou, orientou e acompanhou, fazendo minhas asas alcançarem o que nem eu mesma imaginava ser capaz. Obrigada pelo incentivo constante ao longo destes dois anos e por não me deixar desanimar perante os impasses que tive. Sinto-me honrada em poder aprender com uma profissional tão evidenciada e respeitada por todos.

Aos meus amigos, que acompanharam minha luta e entenderam minhas ausências por estar buscando me aperfeiçoar nos estudos, e em especial à M.e. Eveline Ferraciolli, uma amiga preciosa, que me encorajou a buscar o desconhecido e me mostrou que podemos ir além.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me fez capaz e me presenteou com pessoas iluminadas ao meu redor, para me acolher e nunca me esquecer de onde eu vim e o quanto sou abençoada a cada conquista.

À minha família, que é a minha base, minha estrutura física e emocional, que sempre esteve presente, sustentando-me e confiando na minha capacidade de tornar-me um ser humano melhor.

Aos meus amigos e irmãos, que sempre sorriram e choraram comigo, torcendo para que eu chegasse até aqui e fosse uma profissional melhor.

Aos docentes Dr. Katashi Okoshi, Dr. Antônio Carlos Cicogna e Dr. Dijon Henrique Salomé de Campos, que colaboraram para a realização deste trabalho e aos colegas Thaoan Mariano e Nathalia Zamberlan Ferreira por toda ajuda na parte experimental, vocês foram fundamentais para que o trabalho fosse concretizado.

Aos docentes do Mestrado em Ciência Animal, que de forma exemplar compartilharam seus conhecimentos, contribuindo com a minha formação profissional; e à Unoeste, pela oportunidade de estudo no Mestrado e por todo o apoio dos profissionais que nos atendem com dedicação.

À Faculdade de Medicina da Unesp de Botucatu, que deu todo o apoio científico e tecnológico para a realização desta dissertação.

À minha querida orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francis Lopes Pacagnelli, que se propôs a ensinar-me cada detalhe desta jornada de conhecimento científico, com sua referência de profissionalismo e sabedoria para com seus alunos. Realmente foi uma honra ter tido esta oportunidade de estar sob seus ensinamentos.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o fechamento deste ciclo.

Obrigada!

*“Faça o teu melhor, na condição que você tem,  
enquanto não tem condições melhores para fazer melhor ainda.”*

*(Mario Sergio Cortella)*

## RESUMO

### **Treinamento intervalado de alta intensidade promove controle pressórico, melhora a tolerância ao exercício e função cardíaca em ratos espontaneamente hipertensos**

**Introdução:** a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), um grave problema de saúde pública, pode levar à hipertrofia concêntrica – um importante fator de risco para insuficiência cardíaca, que é considerada um preditor de maior morbimortalidade cardiovascular. Estudos evidenciam que o Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) pode ser indicado para hipertensos. Entretanto, para conhecimento, não há estudos que avaliaram o HIIT na remodelação cardíaca de animais com hipertensão arterial sistêmica. **Objetivo:** avaliar em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos ao HIIT, o controle pressórico, a tolerância aos exercícios e o remodelamento cardíaco. **Métodos:** foram utilizados 20 ratos SHR divididos em dois grupos: sedentários (SHR-SED, n=9) e com treinamento HIIT (SHR-HIIT, n=11); e ratos Wistar Kyoto no grupo controle (WKY, n=6), com 12 meses. Os animais foram familiarizados antes do início do teste durante uma semana com 10 minutos, na velocidade de 6 metros por minutos na esteira adaptada para roedores. Realizou-se um teste de esforço incremental, iniciando-se com 10 minutos de aquecimento na velocidade de 6 metros por minutos, sem inclinação até que os ratos chegassem a exaustão, para graduar a intensidade do exercício. O HIIT foi executado cinco vezes por semana, durante oito semanas. Antes e após o HIIT, a pressão arterial (PA) foi aferida por pletismografia e foi realizado um teste de capacidade máxima ao exercício. O remodelamento cardíaco foi avaliado pelo ecocardiograma e, após eutanásia, avaliou-se o músculo papilar isolado. Para comparação entre os grupos foi utilizado ANOVA seguido de Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn's ( $p < 0.05$ ). **Resultados:** o HIIT diminuiu a PAS (SHR-SED= $\Delta\%12.05$  vs. SHR-HIIT= $\Delta\%-4.34$ ;  $p=0.005$ ), aumentou a distância percorrida, sendo 82,7% maior no grupo SHR-HIIT (SHR-SED= $183.0 \pm 88.08m$  vs. SHR-HIIT= $1126.0 \pm 187.1m$ ;  $p < 0.0001$ ) e reduziu a tensão de repouso do músculo papilar (WKY= $0.77 \pm 0.216$ ; SHR-SED= $1.26 \pm 0.20$ ; SHR-HIIT= $0.67 \pm 0.23$ ;  $p=0.0001$ ). **Conclusão:** o HIIT em ratos SHR diminuiu a variação da PA, melhorou a capacidade funcional e amenizou o remodelamento cardíaco patológico.

**Palavras-chave:** Treinamento Intervalado de Alta Intensidade; Hipertrofia Ventricular Esquerda; Ratos Espontaneamente Hipertensivos; Exercício Físico; Hipertensão Arterial.



## ABSTRACT

### High intensity interval training promotes pressure control, and improves tolerance to exercise and heart function in spontaneously hypertensive rats

**Introduction:** Systemic Arterial Hypertension (SAH) is a serious public health problem, especially for the elderly, and can lead to concentric hypertrophy an important risk factor for heart failure, which is considered a predictor of increased cardiovascular morbimortality. Studies have shown that High Intensity Interval Training (HIIT) may also be indicated for hypertensive patients. However, to the authors' knowledge, no studies have evaluated HIIT in cardiac remodeling of animals with systemic arterial hypertension. **Objective:** to evaluate in spontaneously hypertensive rats (SHR) submitted to HIIT, pressure control, exercise tolerance and cardiac remodeling. **Methods:** 20 SHR rats were divided into two groups: sedentary (SHR-SED, n= 9) and HIIT training (SHR-HIIT, n= 11); and Wistar Kyoto rats composed the control group (WKY, n= 6), 12 months of age. The animals were familiarized with HIIT for a week with 10 minutes on the treadmill adapted for rodents. An incremental stress test was performed to exhaustion to adjust exercise intensity. The HIIT was performed five times a week for eight weeks. Before and after HIIT, blood pressure (BP) was measured by plethysmography and a maximal exercise capacity test was performed. Cardiac remodeling was assessed through echocardiography and after euthanasia, the isolated papillary muscle was evaluated. For comparison between groups, we used ANOVA followed by the Tukey test or Kruskal-Wallis and Dunn tests ( $p < 0.05$ ). **Results:** HIIT decreased the variation ( $\Delta\%$ ) of SBP (SHR-SED= $\Delta\%$  12.5 vs. SHR-HIIT= $\Delta\%$  -4.34;  $p = 0.005$ ), increased the distance traveled, being 82.7% higher in the SHR-HIIT group (SHR-SED= $183.0 \pm 88.08$ m; vs. SHR-HIIT= $1126.0 \pm 187.1$ m;  $p < 0.001$ ) and reduced the resting tension of the papillary muscle (WKY= $0.77 \pm 0.216$ ; SHR-SED= $1.26 \pm 0.20$ ; SHR-HIIT= $0.67 \pm 0.23$ ;  $p = 0.0001$ ). **Conclusion:** In SHR rats, HIIT decreased BP variation, improved functional capacity and ameliorated pathological cardiac remodeling.

**Key-words:** High-Intensity Interval Training; Left Ventricular Hypertrophy; Spontaneously Hypertensive Rats; Physical Exercise; Hypertension.

## LISTA DE ABREVIATURAS

-dT/dt, g/mm <sup>2</sup>	- Velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida
+dT/dt, g/mm <sup>2</sup>	- Velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida
µm <sup>2</sup>	- Micrômetro quadrado
A'	- Onda Diastólica tardia do anel mitral por Doppler tissular
AE	- Átrio esquerdo
ANOVA	- Análise de variância
AO	- Diâmetro da aorta
CaCl <sub>2</sub>	- Cloreto de cálcio
CO <sub>2</sub>	- Dióxido de carbono
DDVE	- Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo
DSVE	- Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo
E'	- Onda Diastólica precoce do anel mitral por Doppler tissular.
E/A'	- Razão entre picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial
EDPP	- Espessura diastólica da parede posterior
EDSIV	- Espessura diastólica da parede septal ventricular
EFM	- Percentual de encurtamento do mesocárdio
EFE	- Percentual de encurtamento do endocárdio
E/TDI-E'	- Onda E/Velocidade inicial anular mitral po Doppler tissular
g	- Grama
HAS	- Hipertensão Arterial Sistêmica
HIIT	- Treinamento Intervalado de Alta Intensidade
h	- Hora
ICC	- Insuficiência cardíaca congestiva
IMVE	- Índice de massa do ventrículo esquerdo
Índice Tei	- Índice de desempenho miocárdico
KCl	- Cloreto de potássio
km/h	- Quilômetro por hora
mg/kg	- Miligrama por quilo
MgSO <sub>4</sub>	- Sulfato de magnésio
MHZ	- Megahertz
min	- Minuto

mmol/L	- Milimol por litro
ms	- Milissegundo
NaCl	- Cloreto de sódio
NaCO <sub>2</sub>	- Bicarbonato de sódio
O <sub>2</sub>	- Oxigênio
onda A	- Velocidades de entrada mitral diastólica tardia
onda E	- Velocidades de entrada mitral diastólica precoce
PAS	- Pressão arterial sistólica
PCF	- Peso corporal final
PCI	- Peso corporal inicial
PEE	- Porcentagem de encurtamento do endocárdio
PEM	- Porcentagem de encurtamento do mesocárdio
S'	- Imagem de Doppler tissular da velocidade sistólica
SHR	- Ratos espontaneamente hipertensos
TD	- Tensão desenvolvida
TR	- Tensão de repouso
TRIV	- Tempo de relaxamento isovolumétrico
TDIS': sistólica	- avaliação por imagem de Doppler tissular da velocidade
TDI-E'	- Velocidade inicial anular mitral por Doppler tissular
TDI-A'	- Velocidade tardia anular mitral por Doppler tissular
VE	- Ventrículo esquerdo
VEPP	- Velocidade de encurtamento da parede posterior
VO <sub>2</sub> max	- Consumo máximo de oxigenio corporal
WKY	- Ratos Wistar-Kyoto

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>11</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>35</b>
	<b>ANEXO A - APROVAÇÃO ÉTICA .....</b>	<b>36</b>
	<b>ANEXO B - NORMAS DA REVISTA: INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY.....</b>	<b>37</b>
	<b>ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO.....</b>	<b>42</b>

## 1 ARTIGO CIENTÍFICO

### ARTIGO ORIGINAL

#### TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE PROMOVE CONTROLE PRESSÓRICO, MELHORA A TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO E FUNÇÃO CARDÍACA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS

HIIT MELHORA A REMODELAÇÃO CARDIACA EM SHR

Francilene Lima Agostinho de Souza<sup>a</sup>, Dijon Henrique Salome Campos<sup>b</sup>, Katashi Okoshi<sup>b</sup>, Thaoan Bruno Mariano<sup>a</sup>, Natalia Zamberlan Ferreira<sup>a</sup>, Veronica Alves de Menezes<sup>c</sup>, Giovana Rampazzo Teixeira<sup>c</sup>, Ines Cristina Giometti<sup>a</sup>, Margarete Jardimetti de Oliveira<sup>a</sup>, Aline de Oliveira Santos<sup>a</sup>, Andreo Fernando Aguiar<sup>d</sup>, Francis Lopes Pacagnelli<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

<sup>b</sup>Departamento de Clínica Médica, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>c</sup>Departamento de Educação Física, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

<sup>d</sup>Centro de Pesquisa em Ciência da Saúde, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina, Paraná, Brasil.

#### **Autora de Correspondência**

Francis Lopes Pacagnelli

Rua José Bongiovani, 700, Cidade Universitária

CEP: 19050-920

Presidente Prudente, São Paulo, Brasil

Telefone: (18) 3229-1000

E-mail: [francispacagnelli@unoeste.br](mailto:francispacagnelli@unoeste.br)

## RESUMO

**Introdução:** O treinamento físico de moderada intensidade é uma estratégia terapêutica para o controle pressórico e atenua o remodelamento patológico. O Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT) é uma proposta para hipertensos que pode contribuir para melhoras funcionais e estruturais cardíacas. Avaliou-se, em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos ao HIIT, o controle pressórico, a tolerância aos exercícios e o remodelamento cardíaco. **Métodos:** 26 ratos com 12 meses foram divididos em: sedentários (SHR-SED, n=9), com treinamento HIIT (SHR-HIIT, n=11) e Wistar Kyoto controle (WKY, n=6). Os animais foram familiarizados com o HIIT por uma semana com 10 minutos na esteira. Realizou-se um teste de esforço incremental até a exaustão para graduar a intensidade do exercício. O HIIT foi executado cinco vezes por semana, durante oito semanas. Antes e após o HIIT a pressão arterial sistólica (PAS) foi aferida por pletismografia e foi realizado um teste de capacidade máxima ao exercício, o remodelamento cardíaco foi avaliado pelo ecocardiograma e o músculo papilar isolado. Para comparação entre os grupos foi utilizado ANOVA One-Way seguido de Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn's ( $p=0,05$ ). **Resultados:** O HIIT diminuiu a variação PAS (SHR-SED= $\Delta\%12.05$  vs. SHR-HIIT= $\Delta\%-4.34$ ;  $p=0.005$ ), aumentou a distância percorrida, sendo 82,7% maior no grupo SHR-HIIT (SHR-SED= $183.0\pm 88.08m$  vs. SHR-HIIT= $1126.0\pm 187.1m$ ;  $p=0.0001$ ) e reduziu a tensão de repouso do músculo papilar (WKY= $0.77 \pm 0.216$ ; SHR-SED= $1.26 \pm 0.20$ ; SHR-HIIT= $0.67 \pm 0.23$ ;  $p=0.0001$ ). **Conclusão:** Estes achados sugerem que o HIIT é uma importante conduta terapêutica, que deve ser considerada para controle pressórico e melhora funcional combinada com atenuação da disfunção cardíaca em hipertensos.

**Palavras-chave:** Exercício Físico, Hipertensão Arterial, Hipertrofia Ventricular Esquerda, Ratos Espontaneamente Hipertensivos, Treinamento Intervalado de Alta Intensidade.

## 1. INTRODUÇÃO

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é um grave problema de saúde pública, acomete especialmente idosos [1], é responsável por 45% dos casos de doença arterial coronariana e 51% dos episódios de acidente vascular encefálico [2]. Estima-se que a HAS contribua para cerca de 9,4 milhões de mortes anuais por doenças cardiovasculares [3], podendo levar a custos de € 20 bilhões por ano [4].

A elevação contínua da pressão arterial sistêmica implica em elevação de pós-carga no Ventrículo Esquerdo (VE), que ocasiona modificações anatômicas e fisiológicas, gerando hipertrofia concêntrica, um importante fator de risco para o desenvolvimento de insuficiência cardíaca sistólica e diastólica considerada preditora de maior morbimortalidade cardiovascular [5]. Dentre os tratamentos não medicamentosos para pressão arterial elevada, os exercícios físicos são tradicionalmente indicados[6].

O exercício físico no controle pressórico tem nível 1 de evidência, com grau de recomendação A, e sua prática vem sendo indicada por profissionais de saúde como primeira opção terapêutica [6]. O exercício contínuo aeróbio de baixa a moderada intensidade é a mais tradicional modalidade indicada para hipertensos por reduzir os níveis pressóricos de repouso e minimizar complicações [6].

No entanto, alguns estudos têm evidenciado que os exercícios do tipo intervalado de alta intensidade também podem ser indicados para indivíduos hipertensos [7-9].

Tais exercícios podem otimizar o tempo e promover maior adesão por suas características de: alternar curtos períodos de exercícios de alta intensidade (85 a 95% do consumo máximo de oxigênio corporal-VO<sub>2</sub> máximo) seguidos de recuperação de moderada ou baixa intensidade (50 a 60% do VO<sub>2</sub> máximo) [6,9,10].

Esses exercícios são considerados melhores para ganhos de condicionamento aeróbio, melhora da autonomia cardíaca e controle lipêmico, tanto em indivíduos hipertensos como normotensos com histórico familiar positivo [7,9]. Entretanto, foi demonstrado que exercício aeróbio de alta intensidade em ratos hipertensos não alterou a pressão arterial sistólica (PAS)

e promoveu agravamento do remodelamento cardíaco com aumento da fibrose e disfunção das proteínas do cálcio [11]. Neste experimento o exercício foi em rodas e de livre acesso, sendo a velocidade, distância e duração mensurados. Por existir resultados controversos em relação ao HIIT em hipertensos elucidar sua influência de forma sistematizada é fundamental para esclarecer sua interferência nos aspectos relacionados ao remodelamento cardíaco na hipertensão e avaliar a sua possível indicação terapêutica.

A hipótese é que o HIIT promova melhoras da pressão arterial, capacidade funcional e amenize o remodelamento cardíaco patológico. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos ao HIIT o controle pressórico, tolerância ao exercício e o remodelamento cardíaco.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Animais**

Todos os procedimentos experimentais envolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentos Animais da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), campus de Botucatu-SP, Brasil (Protocolo CEUA nº 1167-2016) e estão em conformidade com os princípios de cuidados com animais de laboratório formulados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e de acordo com o *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*, publicado pelo *National Research Council* (NIH, publicação revisada em 2011) [12]. Foram utilizados 20 ratos machos espontaneamente hipertensos (SHR) e seis ratos Wistar Kyoto (WKY), com 12 meses de idade, provenientes dos Biotérios Centrais da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas-SP, e da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo-SP, e mantidos no Laboratório de Experimentação Animal da Unesp de Botucatu os quais permaneceram alocados por um período de 9 meses.

Os ratos ficaram alojados em caixas plásticas, contendo de três a quatro animais em cada, durante todo o período anterior e durante o treinamento, com temperatura de 21° a 23°C e umidade relativa do ar de 50% a 60%. Receberam ração (Supralab, Alisul R, Brasil) e água *ad libitum* em ciclos de luminosidade



de 12 horas (claro-escuro) com início do ciclo claro às 19h (ciclo invertido). Os ratos foram divididos em três grupos: espontaneamente hipertensos sedentário (SH-SED, n=9), espontaneamente hipertensos treinados (SHR-HIIT, n=11) e Wistar Kyoto (WKY, n=6).

## **2.2. Desenho Experimental**

Os ratos foram submetidos ao HIIT por 8 semanas. Antes e após iniciar o treinamento foi avaliada a pressão arterial sistólica, teste de capacidade máxima ao exercício e ecocardiograma. Realizou-se novo teste de capacidade máxima ao exercício para ajuste de carga no final da quarta semana. Ao término de oito semanas de treinamento HIIT, foi feito novo ecocardiograma, nova aferição da PAS, realizou-se a eutanásia e posteriormente avaliação do músculo papilar isolado. (Figura 1).

### **2.3. Pressão arterial sistólica (PAS)**

Para avaliar o controle pressórico foi verificada a pressão arterial sistólica por pletismografia, com uso do método do manguito de cauda (Narco Bio-System®, modelo 709-0610, International Biomedical, Inc, EUA), antes e após o período do treinamento [13]. Foi calculado o percentual da variação da PAS ( $\Delta$ ):  $[(\text{valor final} - \text{valor inicial}) \div \text{valor inicial}] \times 100$ .

### **2.4. Estudo ecocardiográfico**

A avaliação ecocardiográfica foi realizada antes e após o período do treinamento (24 horas após última sessão) e para sua realização foi utilizado um ecocardiograma comercialmente disponível (General Electric Medical Systems, Vivid S6, Tirat Carmel, Israel), equipado com uma sonda de multifrequência de 5 a 11,5 MHz. Os ratos foram anestesiados por injeção intramuscular de uma mistura de ketamina (50 mg kg<sup>-1</sup>, IP Dopalen®) e xilazina (0,5 mg kg<sup>-1</sup>, IP, Anasedan®). Uma visão de eixo curto paraesternal bidimensional do ventrículo esquerdo (VE) foi obtida no nível dos músculos papilares. Os traçados do modo M foram obtidos a partir de vistas de eixo curto do VE ou abaixo da ponta dos folhetos da válvula mitral e no nível da valva

aórtica e do átrio esquerdo [13]. As imagens em modo M do VE foram impressas em preto em uma impressora térmica (Sony UP-890MD), a uma velocidade de varredura de 100 mm/s. Todas as estruturas de VE foram medidas manualmente pelo mesmo observador (KO), usando o método da American Society of Echocardiography [13]. As medidas foram feitas a partir da média de pelo menos cinco ciclos cardíacos nos traçados M-mode. A Frequência Cardíaca (FC) foi avaliada e as seguintes variáveis estruturais foram medidas: diâmetro do átrio esquerdo (AE), dimensões diastólica e sistólica do VE, diâmetro diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo (DDVE e DSVE, respectivamente), espessura da parede diastólica posterior do VE, espessura da parede septal diastólica do VE (EDSIV) e diâmetro aórtico (AO). A massa ventricular esquerda foi calculada utilizando a fórmula  $[(DDVE + EDPP \text{ (espessura diastólica da parede posterior)} + EDSIV) - DDVE] \times 1,04$ . A espessura relativa da parede VE (Índice massa do VE) foi calculada pela fórmula  $2 \times EDPP/DDVE$ . A função do VE foi avaliada pelos seguintes parâmetros: porcentagem de encurtamento do endocárdio (PEE), porcentagem de encurtamento do mesocárdio (PEM), velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), velocidades de entrada mitral diastólica precoce e tardia (ondas E e A), Relação E/A e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV). Uma avaliação conjunta da função diastólica e sistólica do VE foi realizada pelo índice de desempenho miocárdico (Índice Tei), conhecido também como índice de performance miocárdica, calculado da seguinte forma:  $[(Tei-a \text{ (tempo de contração isovolumétrica} + \text{tempo de ejeção} + \text{tempo de relaxamento isovolumétrico)} - Tei-b \text{ (tempo de contração isovolumétrica} + \text{tempo de ejeção} + \text{tempo de relaxamento isovolumétrico)}] \div Tei-b$ . O estudo foi complementado com avaliação por imagem de Doppler tissular da velocidade sistólica (TDIS'), diastólica precoce (E') e tardia (A') do anel mitral (velocidades médias das paredes laterais e septais). Foi calculado o percentual da variação do DDVE, IMVE, EFE, EFM, VEPP, índice de TEI ( $\Delta\%$ ).

## 2.5. Capacidade Máxima ao Exercício

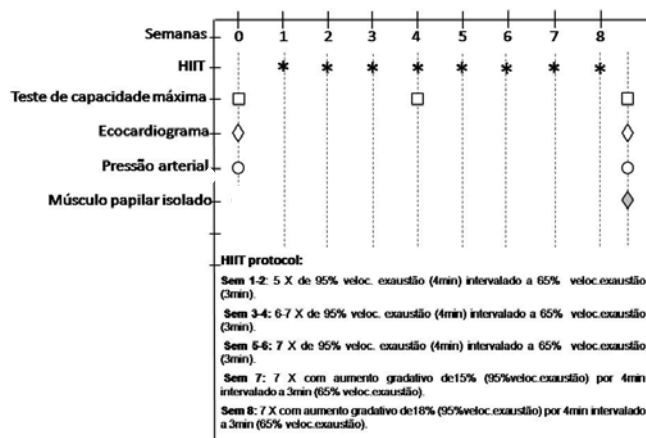
Antes de avaliar a capacidade máxima ao exercício, os ratos foram familiarizados com a esteira rolante (modelo TK 1 – Inbramed, São Paulo,

Brasil) em 6m/min, 0% de inclinação, 10 min, durante uma semana. O protocolo que avalia a capacidade ao exercício iniciou a 6m/min, aumentando 3m/min a cada 3 min até a exaustão [14,15]. Os ratos foram considerados em exaustão quando eles se recusavam a correr mesmo após a estimulação ou quando ficaram incapazes de coordenar os passos. A capacidade funcional foi avaliada pela distância total percorrida, que foi calculada levando-se em consideração a velocidade e duração máxima do teste. Este protocolo foi realizado antes e após 4 semanas do início do treinamento para graduar a intensidade do esforço e 24 horas após o término do treinamento [15]. Foi calculado o percentual da variação  $\Delta(\%)$  da distância e do tempo.

## **2.6. Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT)**

O treinamento foi realizado por aproximadamente 50 min/dia, cinco dias por semana, durante oito semanas, em ciclo invertido e adaptado de Haram et al, 2012 e Moreira et al, 2013 [16, 17]. Ocorreram nos horários entre 14h e 14h50. Cada sessão consistiu-se de três fases: aquecimento, HIIT e recuperação. O HIIT foi iniciado com 95% da velocidade alcançada no teste de exaustão (21m/min) por quatro minutos, intercalados com 65% da velocidade máxima por três minutos, repetidos por cinco vezes na primeira e na segunda semanas. Nas terceira e quarta semanas de HIIT, foram realizadas as mesmas velocidades da primeira, no entanto, repetidas por seis e sete vezes, consecutivamente. Antes do início da quinta semana, um segundo teste foi realizado para reavaliar a velocidade máxima de exaustão; e a carga do treino foi reajustada. Na quinta e sexta semanas, o HIIT foi realizado com protocolo adaptado [16, 17] com velocidade de 23m/min, por quatro minutos intercalados a 12m/min por três minutos, repetidos por sete vezes. Na sétima semana houve um aumento na velocidade de 15% e na oitava de 18%, intercalados a 65% da velocidade máxima por três minutos, repetido sete vezes [18].

Detalhes do HIIT e desenho experimental (Figura 1) estão descritos a seguir.



**Figura 1.** Delineamento Experimental. HIIT: Treinamento Intervalado de Alta Intensidade; Sem.: semanas; Veloc.: velocidade; Min.: minutos.

## 2.6. Dados anatômicos

Dois dias (48 horas) após o programa HIIT, os ratos foram anestesiados com cloridrato de ketamina (50 mg/kg/ip) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg/ip), eutanasiados por decapitação e submetidos à toracotomia mediana [14, 15, 19]. O coração foi removido e os átrios e ventrículos foram separados e pesados. O peso ventricular esquerdo + septo (VE) e pesos atriais foram normalizados pelo comprimento da tibia (PVE/comprimento da tibia, átrios/comprimento da tibia, respectivamente) [15].

## 2.7. Análise funcional do músculo papilar isolado

A função contrátil intrínseca miocárdica (avaliação *ex vivo*) foi realizada pela preparação do músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo [15,19, 20]. Os ratos foram eutanasiados, os corações rapidamente removidos e colocados em solução de Krebs-Henseleit com a seguinte composição em mM: 118,5 NaCl; 4,69 KCl; 2,5 CaCl<sub>2</sub>; 1,16 MgSO<sub>4</sub>; 1,18 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 5,50 glicose e 24,88 NaCO<sub>3</sub>, mantidos à temperatura de 28°C, previamente oxigenada durante dez minutos com 95% de oxigênio (O<sub>2</sub>) e 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Os músculos papilares foram cuidadosamente dissecados, mantendo-se

nas suas extremidades segmentos da parede ventricular, posicionados verticalmente e sua extremidade inferior acoplada a um fio de aço inoxidável, 0,38 mm de diâmetro, conectado a um transdutor de força (Grass FT03 Force Displacement Transducer, GRASS Technologies, An Astro-Med, Inc. Product Group, West Warwick, RI, USA) [20]. Na sequência deste procedimento os músculos papilares foram estimulados 12 vezes por minuto (0,2 Hz) por meio de eletrodos de platina tipo agulha (Grass E8, GRASS Technologies, An Astro-Med, Inc. Product Group, West Warwick, RI, USA), posicionados paralelamente ao eixo longitudinal dos músculos. Os eletrodos foram acoplados a estimulador elétrico (Grass S48, GRASS Technologies, Na Astro-Med, Ic. Product Group, West Warwick, RI, USA), que emitiu estímulos em onda quadrada de 5 milissegundos. A voltagem de estímulo utilizada foi de 12 a 15 volts, aproximadamente 10% acima do valor mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo. Após o período de 60 minutos, – durante os quais os músculos se contraíram contra a pré-carga sem desenvolverem força, contração isotônica, – foi colocada uma carga adicional de 50g, denominada pós-carga, na extremidade do braço curto da alavanca. Após a estabilização do músculo em contração isométrica, este foi progressivamente estirado, por meio do micrômetro, até a força desenvolvida atingir o seu valor máximo ( $L_{max}$ ) e o músculo foi novamente colocado em contração isotônica durante cinco minutos. A seguir, o músculo papilar foi recolocado em contração isométrica para determinação final de  $L_{max}$ . O registro das variáveis foi iniciado após verificar-se que o músculo permaneceu estável em contração isométrica durante 15 minutos. Os seguintes parâmetros mecânicos foram analisados, a partir de curvas obtidas durante uma contração isométrica: tensão desenvolvida (TD,  $g/mm^2$ ), tensão de repouso (TR,  $g/mm^2$ ), velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida ( $+dT/dt$ ,  $g/mm^2/s$ ) e velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida ( $-dT/dt$ ,  $g/mm^2/s$ ). A reserva contrátil miocárdica foi avaliada pelo desempenho do músculo papilar em condição basal e após manobras inotrópicas positivas (10, 30 e 60 segundos), elevação de  $Ca^{2+}$  extracelular (0,625, 1,25 e 2,5 mM) e durante estimulação beta-adrenérgica ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  e  $10^{-6}$  M de isoproterenol). Todos os dados foram normalizados pela área seccional [21]. As contrações isométricas foram registradas em sistema computadorizado de aquisição de dados

(AcqKnowledge<sup>®</sup> MP100, Biopac Systems, Inc, Santa Barbara, CA, USA). A análise das curvas permite determinar os valores dos parâmetros mecânicos.

## **2.8. Análise Estatística**

Os dados foram apresentados em média  $\pm$  desvio padrão. O teste de normalidade Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a distribuição normal dos dados. Para os dados paramétricos foi utilizada ANOVA One-Way, e as diferenças específicas foram avaliadas usando o pós-teste de Tukey. Quando não paramétrico, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn's. As diferenças entre a significância dos grupos foram fixadas em  $p < 0,05$ . O software utilizado foi estatístico GraphPad Prism<sup>®</sup> (GraphPad software, La Jolla, CA, EUA).

## **3. RESULTADOS**

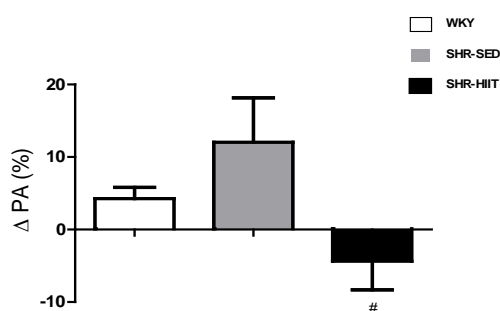
Durante o experimento morreram 12 ratos (quatro WKY, quatro SHR-SED e quatro SHR-HIIT) e todas as análises foram realizadas com os 26 restantes. A Tabela 1 mostra a pressão arterial e as variáveis anatômicas. A pressão arterial sistólica (PAS), antes e após o treinamento, foi maior nos grupos SHR-SED e SHR-HIIT comparado ao WKY. O peso corporal final (PCF) e o peso dos átrios (HIIT) foram menores nos grupos SHR em comparação com o respectivo controle. O peso do VE/comprimento da tibia foi maior nos grupos SHR em comparação com o grupo WKY. Os ratos não apresentaram sinais de insuficiência cardíaca (derrame pleural, ascite, taquipneia e trombo atrial).

Tabela 1. Dados anatômicos e pressão arterial. Dados média  $\pm$  desvio padrão.

VARIÁVEIS	WKY (n=6)	SHR-SED (n=9)	SHR-HIIT (n=11)
PAS Inicial (mmHg)	122.14 $\pm$ 14.94	202.12 $\pm$ 42.21*	210.80 $\pm$ 7.19*
PAS Final (mmHg)	127.42 $\pm$ 16.88	223.8 $\pm$ 31.46 *	200.4 $\pm$ 19.02*
PCF (g)	601.5 $\pm$ 34.93	420.1 $\pm$ 27.72 *	352.9 $\pm$ 33.26*
VE/comp tibia (g/cm)	0.18 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02 *	0.22 $\pm$ 0.05*
Átrios/comp tibia (g/cm)	0.08 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01

WKY: ratos Wistar-Kyoto; SHR-SED: ratos sedentários espontaneamente hipertensos; SHR- HIIT: ratos espontaneamente hipertensos com treinamento intervalado de alta intensidade; PAS: pressão arterial sistólica; VE: peso do ventrículo esquerdo; PCF: peso corporal final; VE/comp tibia: relação ventrículo esquerdo com comprimento da tibia e átrios/compr tibia: relação dos átrios com o comprimento da tibia. Shapiro Wilk e Tukey. \*p <0.05 vs. WKY.

O percentual da variação da pressão arterial sistólica foi menor em 63% no grupo SHR-HIIT comparado ao grupo SHR-SED ( $p < 0.001$ ). (Fig. 2).



**Figura. 2.** Percentual da variação ( $\Delta$ ) entre pressão arterial sistólica inicial e final. WKY: ratos Wistar Kyoto; SHR: ratos espontaneamente hipertensos sedentários; SHR-HIIT: ratos espontaneamente hipertensos com treinamento intervalado de alta intensidade. Testes ANOVA e Tukey. #  $p < 0.05$  vs. SHR-SED.

O protocolo de exercício aumentou a distância e o tempo no grupo SHR-HIIT comparado aos grupos sedentários. Após o treinamento, a distância foi 82,7% maior no grupo SHR-HIIT ( $1126.0 \pm 187.1\text{m}$ ;  $p < 0.001$ ) em comparação ao grupo WKY ( $195.0 \pm 33.4\text{m}$ ,  $p < 0.0001$ ) e foi 74,9% maior do que o grupo SHR-SED ( $283.0 \pm 88.0\text{m}$ ;  $p < 0.0003$ ).

A variação  $\Delta(\%)$  da distância foi maior no grupo SHR-HIIT ( $176,2 \pm 104.5\%$ ;  $p < 0.0002$ ) comparado aos grupos WKY ( $-5.71 \pm 2.64\%$ ;  $p = 0.0002$ ) e SHR-SED ( $6.03 \pm 58.03\%$ ;  $p = 0.0002$ ). (Fig. 3A). A variação  $\Delta$  do tempo foi maior no grupo SHR-HIIT ( $74.24 \pm 32.64\%$ ;  $p = 0.0001$ ) comparado aos grupos WKY ( $-10.37 \pm 5.03\%$ ;  $p < 0.0001$ ) e SHR-SED ( $-14.22 \pm 24.13\%$ ;  $p = 0.0001$ ). (Fig. 3B).

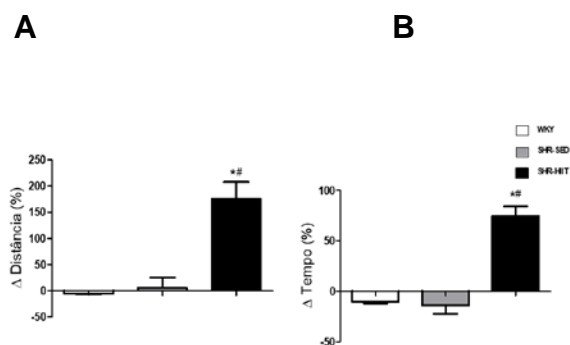


Fig. 3. Evolução da variação  $\Delta$  (%) da distância (A) e tempo (B) percorridos no teste de capacidade máxima ao exercício. WKY: ratos Wistar Kyoto; SHR-SED: ratos espontaneamente hipertensos; SHR-HIIT: ratos espontaneamente hipertensos com HIIT. ANOVA e Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn. \* $p < 0.05$  vs. WKY; #  $p < 0,05$  vs. SHR-SED.

A avaliação ecocardiográfica foi realizada antes do protocolo de exercícios para assegurar a homogeneidade entre os grupos (dados não apresentados). No final do estudo, tanto o SHR-SED quanto o SHR-HIIT apresentaram aumentados: EDPP, AE/AO, AE/PCF, Índice massa e Espessura relativa do VE comparado aos demais grupos. DDVE/PCF, EDPP, AE/PCF e Esp. Rel VE foram aumentados em SHR-HIIT comparado ao SHR-SED. O AO foi menor no grupo SHR-HIIT em comparação com o grupo controle (Tabela 2).



Tabela 2. Dados estruturais ecocardiográficos. Dados em média  $\pm$  desvio padrão.

<b>VARIAVEIS</b>	<b>WKY (n=6)</b>	<b>SHR-SED (n=9)</b>	<b>SHR-HIIT (n=11)</b>
FC (bpm)	240.3 $\pm$ 47.84	268.6 $\pm$ 34.01	262.4 $\pm$ 25.86
DDVE (mm)	7.80 $\pm$ 0.50	7.89 $\pm$ 0.33	7.69 $\pm$ 0.49
DDVE/PCF (mm/Kg)	12.4 $\pm$ 0.94	17.4 $\pm$ 0.63 *	20.35 $\pm$ 1.64**#
DSVE (mm)	3.98 $\pm$ 0.51	3.37 $\pm$ 0.32	3.58 $\pm$ 0.61
EDPP (mm)	1.45 $\pm$ 0.04	1.52 $\pm$ 0.07	1.62 $\pm$ 0.10**#
EDSIV (mm)	1.46 $\pm$ 0.04	1.51 $\pm$ 0.70	1.63 $\pm$ 0.10 *
AO (mm)	4.55 $\pm$ 1.14	4.39 $\pm$ 0.24	4.26 $\pm$ 0.09*
AE (mm)	5.84 $\pm$ 0.41	6.32 $\pm$ 0.61	6.22 $\pm$ 0.22
AE/AO (mm)	1.28 $\pm$ 0.11	1.43 $\pm$ 0.10*	1.45 $\pm$ 0.05*
AE/PCF (mm/Kg)	9.31 $\pm$ 0.73	13.93 $\pm$ 1.27*	16.49 $\pm$ 1.33**#
Massa VE (g)	0.78 $\pm$ 0.08	0.84 $\pm$ 0.04	0.90 $\pm$ 0.16
Ind. Massa VE (g/Kg)	1.25 $\pm$ 0.15	1.87 $\pm$ 0.11*	2.37 $\pm$ 0.37*
Esp. rel VE	0.37 $\pm$ 0.02	0.38 $\pm$ 0.02	0.44 $\pm$ 0.03**#

WKY-SED: ratos Wistar-Kyoto sedentários; SHR-SED: ratos sedentários espontaneamente hipertensos; SHR-HIIT: ratos sedentários espontaneamente hipertensos com treinamento de intervalo de alta intensidade; FC: frequência cardíaca; DDVE e DSVE; Diâmetro diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo (VE), respectivamente; EDPP espessura da parede posterior; EDSIV: espessura da parede septal do VE; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo; massa do VE; (Ind. Massa VE): Índice de massa VE; (Esp rel VE) espessura relativa da parede. Anova e testes de Tukey ou Kruss Kawallis e Dunn. \*p <0,05 vs. WKY; #p <0,05 vs. SHR-SED.

A figura 4 mostra a porcentagem da variação ( $\Delta$ ) entre os parâmetros ecocardiográficos iniciais e finais. O DDVE foi maior no grupo SHR-HIIT que no grupo WKY. Não houve diferença estatística entre os grupos nos outros parâmetros.

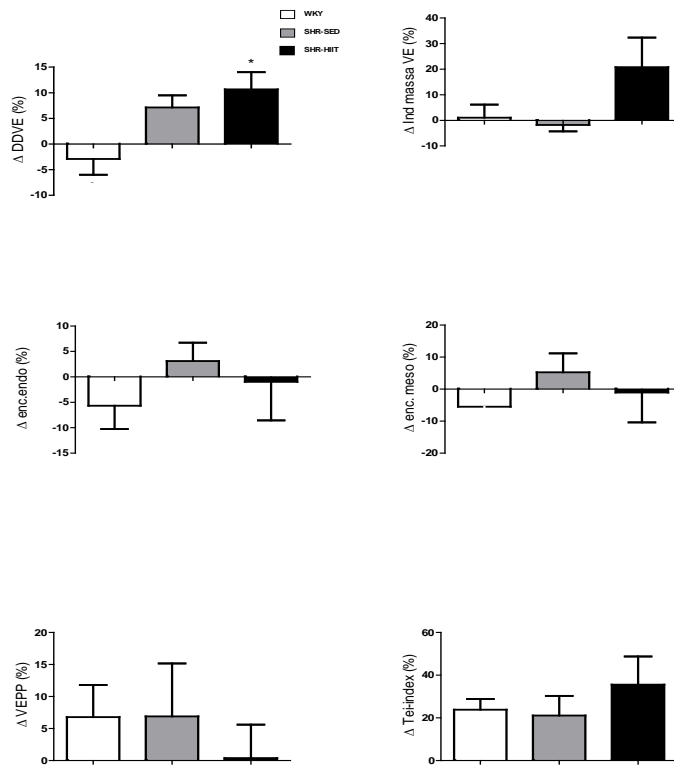


Figura 4. Percentual da variação ( $\Delta$ ) entre parâmetros ecocardiográficos. **A.** DDVE: diâmetro diastólico do VE; **B.** IMVE: índice de massa do VE; **C.** EFE %: encurtamento fracional do endocárdio; **D.** EFM %: encurtamento fracional do mesocárdio; **E.** VEPP mm/s: velocidade de encurtamento da parede posterior; **F.** Índice Tei; índice de desempenho ventricular. Wistar-Kyoto: ratos Wistar-Kyoto; SHR-SED: ratos espontaneamente hipertensos sedentários; SHR-HIIT: ratos espontaneamente hipertensos com treinamento intervalado de alta intensidade. Testes ANOVA e Tukey ou KruskalWallis e Dunn's. \* p < 0.05 vs. WKY.

O grupo SHR-HIIT apresentou menor porcentagem de encurtamento endocárdico e maior TDI-S' comparado ao WKY. Os outros parâmetros não

diferiram entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3. Evolução ecocardiográfica da função do VE. Dados em média  $\pm$  desvio padrão.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>WKY (n=6)</b>	<b>SHR-SED (n=9)</b>	<b>SHR-HIIT (n=11)</b>
PEE %	62.17 $\pm$ 4.81	57.24 $\pm$ 3.38	53.59 $\pm$ 5.7*
PEM %	32.91 $\pm$ 5.34	31.52 $\pm$ 3.02	28.99 $\pm$ 4.69
VEPP (mm/s)	35.38 $\pm$ 4.76	41.03 $\pm$ 7.18	37.06 $\pm$ 4.57
Índice Tei	0.52 $\pm$ 0.08	0.56 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.08
TDI-S'(média mm/s)	4.43 $\pm$ 0.59	4.80 $\pm$ 0.55	5.20 $\pm$ 0.26*
E mitral (cm/s)	75.00 $\pm$ 8.98	80.78 $\pm$ 8.01	81.88 $\pm$ 7.75
A mitral (cm/s)	39.33 $\pm$ 10.16	57.11 $\pm$ 29.10	49.38 $\pm$ 5.52
E/A	1.99 $\pm$ 0.37	1.63 $\pm$ 0.56	1.66 $\pm$ 0.14
TRIV (ms)	32.67 $\pm$ 6.26	30.00 $\pm$ 3.24	30.63 $\pm$ 2.38
TDI-E' / TDI-A'	1.24 $\pm$ 0.25	1.18 $\pm$ 0.17	1.26 $\pm$ 0.44
E/TDI-E' (média)	18.59 $\pm$ 1.53	19.13 $\pm$ 1.97	17.65 $\pm$ 2.69

Dados como média  $\pm$  desvio padrão. WKY-SED: ratos Wistar-Kyoto sedentários; SHR-SED: ratos sedentários espontaneamente hipertensos; SHR-HIIT: exercitado com intervalo de alta intensidade treinando ratos espontaneamente hipertensos; PEE: porcentagem do encurtamento endocardial; PEM: porcentagem de encurtamento do mesocárdio; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; TDI-S': velocidade sistólica anular mitral por imagem de Doppler tecidual (média entre a velocidade da parede lateral e septal); E/A: razão entre picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral. (A); TRIV: tempo de relaxamento isovolúmico; TDI-E': velocidade inicial anular mitral por imagem Doppler de tecido (TDI); TDI-A': velocidade tardia anular mitral por TDI; Média: média entre a velocidade da parede lateral e septal. ANOVA e testes de Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn. \* p < 0,05 vs. WKY;

O grupo SHR-SED apresentou maior TR em comparação ao grupo WKY e o SHR-HIIT foi menor em comparação ao SHR-SED e WKY (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação funcional do músculo papilar. Dados em média  $\pm$  desvio padrão.

Parâmetros		WKY (n=6)	SHR-SED n=9)	SHR-HIIT (n=11)
TD ( $\text{g/mm}^2$ )		7.50 $\pm$ 1.51	8.24 $\pm$ 1.10	7.84 $\pm$ 1.10
TR ( $\text{g/mm}^2$ )		0.77 $\pm$ 0.216	1.26 $\pm$ 0.20*	0.67 $\pm$ 0.23**
+dT/dt ( $\text{g/mm}^2/\text{s}$ )		10.74 $\pm$ 1.36	10.09 $\pm$ 1.27	10.65 $\pm$ 0.89
TD ( $\text{g/mm}^2$ ) Contração Pós- repouso	10s	6.12 $\pm$ 1.62	7.41 $\pm$ 1.01	7.14 $\pm$ 4.13
	30s	6.66 $\pm$ 1.44	7.92 $\pm$ 1.10	7.91 $\pm$ 4.61
	60s	6.80 $\pm$ 1.64	8.01 $\pm$ 1.10	8.20 $\pm$ 4.96
TD ( $\text{g/mm}^2$ ) Extracelular $\{\text{Ca}^{2+}\}$	0.5	5.60 $\pm$ 1.23	6.45 $\pm$ 1.02	5.72 $\pm$ 2.96
	1.5	6.82 $\pm$ 1.37	7.27 $\pm$ 1.08	6.41 $\pm$ 3.24
	2.5	7.13 $\pm$ 1.40	7.69 $\pm$ 1.15	6.86 $\pm$ 3.70
TD ( $\text{g/mm}^2$ ) Isoproterenol	$10^{-8}$	5.49 $\pm$ 1.29	7.09 $\pm$ 1.14	6.02 $\pm$ 3.43
	$10^{-7}$	5.42 $\pm$ 1.52	6.63 $\pm$ 1.09	5.96 $\pm$ 3.56
	$10^{-6}$	5.40 $\pm$ 0.82	6.31 $\pm$ 1.19	5.92 $\pm$ 3.31

Tensão Desenvolvida (TD); Tensão de Repouso (TR); +dT/dt: máxima taxa de tensão desenvolvida. ANOVA e testes de Tukey ou Kruskal-Wallis e Dunn's. \* p < 0.05 vs. WKY; #p < 0.05 vs. SHR-SED.

#### 4. DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo foi que o treinamento intervalado de alta intensidade em ratos espontaneamente hipertensos promoveu redução da variação da pressão arterial, aumento da tolerância aos exercícios (capacidade funcional) e melhora da função diastólica quando analisada *ex vivo* (análise do músculo papilar).

Os ratos da linhagem SHR têm sido amplamente utilizados como modelo genético de hipertensão arterial sistêmica por sua semelhança com a hipertensão em humanos [11,22]. A hipertensão arterial ocasiona remodelamento cardíaco com hipertrofia ventricular esquerda e posterior insuficiência cardíaca [22]. A hipertrofia cardíaca é caracterizada pelo espessamento do miocárdio, como uma resposta adaptativa ao aumento da pós-carga do ventrículo esquerdo; e nos ratos SHR com até 18 meses de idade não há evolução para ICC, sendo essa fase o estágio pré-clínico, com ausência de sinais e sintomas [23]. Como o objetivo deste estudo foi aplicar um treino de alta intensidade, optou-se, portanto, em iniciá-lo na fase que antecede a ICC, com 12 meses de idade, sem sinais clínicos de ICC.

O HIIT promoveu diminuição significativa na variação da PAS o que demonstra um efeito hipotensor nos ratos SHR. Este efeito hipotensor deve ser ressaltado, uma vez que o aumento pressórico é fator preditivo para aumento de morbimortalidade cardiovascular, a redução da PAS diminui os riscos de desenvolver doenças cardiovasculares [16]. Essa melhora pressórica pode refletir em diminuição de custos para o sistema de saúde, uma vez que contribui na diminuição do uso de medicamentos [1,2]. Em um estudo comparando o HIIT com exercícios aeróbios de intensidade moderada em pacientes hipertensos, apontou que ambos promoveram o controle pressórico. Este estudo sugere, ainda, que o efeito hipotensor do HIIT é um importante tratamento não farmacológico da HAS, assim como exercícios aeróbios [24]. Alguns fatores hipotensores podem ser ressaltados com exercícios aeróbios, como o controle baroreflexo, diminuição da resistência vascular periférica, aumento da produção do óxido nítrico (vasodilatação) e neovascularização muscular periférica [18].

No presente estudo, as estruturas cardíacas e a função do VE foram analisadas por ecocardiograma torácico convencional e imagem de Doppler

tecidual. Houve hipertrofia ventricular esquerda nos ratos SHR (VE/comp tibia e Ind. Massa VE), sem reversão pelo treino. O HIIT promoveu aumento da espessura diastólica da parede posterior e Esp. rel VE, DDVE/PCF e  $\Delta\%$ DDVE. No entanto, esta dilatação não foi prejudicial uma vez que não houve disfunção nas funções sistólica e diastólica do VE (VEPP, PEM, E/A). Logo esse aumento do diâmetro do VE pode ter ocorrido, pois o HIIT promoveu aumento do retorno venoso, com aumento da pré-carga do ventrículo esquerdo com conseqüente dilatação ventricular, o que simula as alterações do remodelamento cardíaco fisiológico em coração de atletas [25]. A hipertrofia ventricular esquerda concêntrica em ratos SHR se desenvolve gradualmente a partir de 12 meses de idade [21] e o desempenho do miocárdio piora com os sinais clínicos de ICC com 18 meses de idade quando comparado aos ratos WKY [15]. No nosso estudo importantes dados estruturais e funcionais ecocardiográficos foram avaliados pela variação entre os dados iniciais e finais e não houve alterações na maioria dos parâmetros avaliados (IMVE, EFE, EFM %, VEEP, ÍNDICE Tei). Esses dados são importantes marcadores de evolução clínica e também foram utilizados em estudos anteriores [15].

Estudos em humanos [18, 31], já demonstraram a superioridade do treinamento intervalado, quando comparado ao contínuo, para doenças cardíacas, como insuficiência coronariana, pós-infarto e ICC [18] e verificaram que o exercício intervalado de alta intensidade foi superior ao contínuo moderado na reversão do remodelamento do VE, na função endotelial, com redução do volume sistólico e diastólico final e qualidade de vida em indivíduos com pós-infarto e ICC. O treino foi de 4 repetições por 4 minutos a 90% a 95% do pico da frequência cardíaca intervalado por caminhada de 3-minutos a 50% - 70% frequência cardíaca de pico, 3 vezes por semana durante 12 semanas. Esta melhora pode ser atribuída pela atuação no estágio mais grave da doença, quando já ocorreram alterações estruturais e funcionais. Em contrapartida, [26,27] apontaram em estudo com HIIT uma resposta pouco eficiente nas funções contráteis e cardiometabólicas, contrastando com o presente estudo, que mostra que o HIIT foi capaz de melhorar a função diastólica dos ratos que estavam em disfunção, estágio pré-clínico da HAS.

Outros estudos apontaram, em modelo de ratos hipertensos, que exercícios de alta intensidade têm sido associados a uma piora nas adaptações

cardíacas [11,27,28]. Entretanto, em nosso estudo observou-se melhora da função diastólica pela avaliação do músculo papilar, sugerindo que o volume do treino não interferiu negativamente nas variáveis funcionais do coração. Adverso a isso, quando analisada a função diastólica pela avaliação do músculo papilar, houve uma diferença significativa com relação ao grupo SHR-SED que piorou a tensão de repouso e quando comparado ao grupo e quando comparamos ao grupo WKY e o HIIT foi capaz de melhorar esta função, ou seja, o HIIT melhorou a TR comparado ao grupo controle. Os protocolos do HIIT possuem algumas variações de intensidades e intervalos, porém, suas características são de trabalhar entre picos de 90% a mais de 100% do  $VO_2$  máximo ou da capacidade máxima de exaustão, com intervalos passivos ou ativos de aproximadamente 65% do  $VO_2$  máximo ou da capacidade máxima de exaustão [10, 26-30]. Essas variações podem provocar respostas cardíacas distintas.

No nosso estudo o HITT promoveu importante melhora da capacidade funcional sugerindo melhora da capacidade aeróbia, o que promove aumento da tolerância aos esforços, aspecto fundamental e preditor de aumento de sobrevida [30]. Os aspectos relacionados a essa melhora podem envolver o aumento da biogênese mitocondrial e capacidade oxidativa [30]. Logo, a utilização dessa modalidade de exercício de alta intensidade na fase que antecede a IC pode ser uma alternativa de prevenção do agravamento dos comprometimentos musculares ocasionados por essa doença.

Diante de poucos estudos sobre o HIIT em hipertensos, este estudo se destaca, uma vez que foi o pioneiro em avaliar o coração isolado de ratos hipertensos submetidos a exercício intervalado de alta intensidade. A análise do músculo papilar é uma técnica realizada para avaliar a função do miocárdio sem influência de quaisquer processos que, *in vivo*, interferem nesta função, como a geometria da câmara ventricular e a sobrecarga cardíaca [21]. Na presente pesquisa, a tensão de repouso que representa a função diastólica piorou no grupo SHR e o HIIT foi capaz de reverter essa alteração. Isso demonstra que o HITT é uma modalidade de exercício que pode ser indicada para amenizar a deterioração da função cardíaca mesmo em estágios iniciais de doenças, como na HA. Poucos estudos avaliaram o músculo papilar em

ratos espontaneamente hipertensos. Pagan [15] avaliou a função miocárdica por análise do músculo papilar em ratos SHR após aplicação de treinamento aeróbio moderado e identificou que também houve atenuação da deterioração funcional miocárdica. Os possíveis mecanismos moleculares envolvidos na melhora da função diastólica, no presente estudo, podem estar relacionados com a diminuição da ativação de metaloproteinases, quantidade do colágeno e diminuição de citocinas inflamatórias [31,32].

Este trabalho tem importantes implicações clínicas e contribui para a medicina translacional para pacientes em estágios iniciais de hipertensão arterial sistêmica. O HIIT tem sido amplamente aderido por indivíduos saudáveis e atletas por ser uma modalidade de baixo volume, otimizando o tempo eficiente para alcançar adaptações e melhores desempenhos; e este estudo mostrou ser eficiente também em condições patológicas como na hipertensão.

## **5. CONCLUSÃO**

O treinamento intervalado de alta intensidade reduziu significativamente em ratos espontaneamente hipertensos a variação da PAS, melhorou a capacidade ao exercício e a função cardíaca diastólica em ratos espontaneamente hipertensos, o que demonstra ser uma estratégia terapêutica importante em estágios iniciais de hipertensão arterial sistêmica.



## REFERENCIAS

- [1] Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update, *Euro Heart J* 2014;42:2950–59.
- [2] Farmakis D, Stafylas P, Giamouzis G, Maniadakis N, Parissis N. The medical and socioeconomic burden of heart failure: A comparative delineation with cancer. *Int J Cardiol* 2015;203:279–81.
- [3] Crespo-Leiro MG, Anker SD, Maggioni AP, Coats AJ, Filippatos G, Ruschitzka F. Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry (ESC-HF-LT): 1-year follow-up outcomes and differences across regions. *Eur J Heart Fail* 2016;18:613–25.
- [4] World Health Organization. Cardiovascular diseases mortality: age-standardized death-rate per 100 000 population 2015;2000-12.
- [5] Godmam P, Shahb A, Qureshia W, Yeboahd PN, Freedmane BI, Bowdenf D et al. Blood pressure indices and cardiovascular disease mortality in persons with or without diabetes mellitus. *J Hyp: Post Author Corrections*: 2017;35:1.
- [6] Pescatello LS, MacDonald HV, Lamberti L, Johnson BT. Exercise for Hypertension: A Prescription Update Integrating Existing Recommendations with Emerging Research *Curr Hypertens Rep* 2015; 17: 87.
- [7] Tjonna AE, Lee SJ, Rognmo O, Stolen TO, Bye A, Haram PM, Loennechen JP, Al-Share QY, Skogvoll E, Slordahl SA, Kemi OJ, Najjar SM, Wisloff U. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation* 2008;118:346-54.
- [8] Guimarães GV, Ciolac EG, Carvalho VO, D'Ávila VM, Bortolotto LA, Bocchi EA. Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. *Hypert Res* 2010; 33:627–32.

- [9] Ciolac EG. High-intensity interval training and hypertension: maximizing the benefits of exercise? *Am J Cardiovasc Dis* 2012;2:102-10.
- [10] Ferguson C, Wilson J, Birch KM, Kemi OJ. Application of the speed-duration relationship to normalize the intensity of high-intensity interval training. *PLoS One* 2013;8:e76420.
- [11] Rebelo RMC, Schreckenbach R, Schlüter KD. Adverse cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats: acceleration by high aerobic exercise intensity. *J Physiol* 2012;590:5389-90.
- [12] Institute for Laboratory Animal Research (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, 8th edn. National Academies Press, Washington, DC, USA.
- [13] Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP, Matsubara BB, Gonçalves G, Barros R, Cicogna AC. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J* 2004;45:647-56.
- [14] Rossoni LV, Oliveira RA, Caffaro RR, Miana M, Sanz-Rosa D, Koike MK, Do Amaral SL, Michelini LC, Lahera V, Cachoeiro V. Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2011;29:2349-58.
- [15] Pagan LU, Damato RL, Cezar MDD, Lima ARR, Bonomo, Campos DHS, Gomes MJ, Martinez PF, Oliveira Jr SA, Gimenes R, Rosa CM, Guizoni DM, Moukbel YC, Cicogna AC, Okoshi MP. Long-Term Low Intensity Physical Exercise Attenuates Heart Failure Development in Aging Spontaneously Hypertensive Rats. *Cell Physiol Biochem Prev* 2015;36:61-74.
- [16] Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MO, Al-Share QY, Waldum HL, Gilligan LJ, Koch LG, Britton SL, Najjar SM, Wisloff U. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res* 2009;81:723-32.
- [17] Moreira JBN, Bechara LRG, Bozi LHM, Jannig PR, Monteiro AWA, Dourado PM, Wisløff U, Brum PC. High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *J Appl Physiol* 2013;114:1029-41.

- [18] Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Morten, O.Rognmo O, Haram PM, Tjonna AE, Helgerud J, Slordahl SA, Lee SJ, Videm V, Bye A, Smith GL, Najjar SM, Ellingsen O, Skjaerpe T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation* 2007; 115:3086-94.
- [19] Pacagnelli FL, Okoshi K, Campos DHS, Souza, RWA. Physical training attenuates cardiac remodeling in rats with supra-aortic stenosis. *Exp Clin Cardiol* 2014;20:3889-905.
- [20] Damatto RL, Martinez PF, Lima AR, Cezar MD, Campos DH, Oliveira SAJ, Guizoni DM, Bonomo C, Nakatani BT, Dal Pai Silva M, Carvalho RF, Okoshi K, Okoshi MP: Heart failure-induced skeletal myopathy in spontaneously hypertensive rats. *Int J Cardiol* 2013;167:698-03.
- [21] Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Aragon FF, Okoshi MP: Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. *Am J Med Sci* 2000;320:244-48.
- [22] Okamoto K, Kyuzo A. Development of a Strain of Spontaneously Hypertensive Rats. *Jpn Circ J* 1963;27:282-93.
- [23] Conraads VM, Pattyn N, De Maeyer C, Beckers PB, Coeckelberghs E, Cornelissen VA, Denollet J, Frederix G, Goetschalckx K, Hoymans VYV, Possemiers N, Schepers D, Shivalkar B, Voigt JU, Craenenbroeck EMV, Luc Vanhees. Aerobic interval training and continuous training equally improve aerobic exercise capacity in patients with coronary artery disease: The saintex-cad study. *Int J Cardiol* 2015;179:203-10.
- [24] Ciolac EG, Guimarães GV, D Avila VM, Bortolotto LA, Doria EL, Bocchi EA. Acute effects of continuous and interval aerobic exercise on 24-h ambulatory blood pressure in long-term treated hypertensive patients. *Int J Cardiol* 2009;17:381–87.
- [25] Shenasa M, Shenasa H. Hypertension, left ventricular hypertrophy, and sudden cardiac death. *Int J Cardiol* 2017;237:60-63.
- [26] Batacan RB, Duncan MJ, Dalbo VJ, Buitrago GL, Fenning AS. Effect of different intensities of physical activity on cardiometabolic markers and

- vascular and cardiac function in adult rats fed with a high-fat high-carbohydrate diet. *J Sport Health Sci* 2017; 6:225-30.
- [27] Ellingsen O, Halle M, Conraads VM, Stoylen A, Dalen H, Delagardelle C, Larsen A, Hole T, Mezzani A, Craenenbroeck EMV, Videm V, Beckers PJ, Christle JW, Winzer EB, Mangner N et al. High Intensity Interval Training in Heart Failure Patients with Reduced Ejection Fraction *Circulation* 2017;116:022924.
- [28] Ramirez-Jimenez M, Morales-Palomo F, Pallares JG, Mora-Rodriguez R, Ortega JF. Ambulatory blood pressure response to a bout of HIIT in metabolic syndrome patients. *Eur J Appl Physiol* 2017;117:1403-11.
- [29] Johnsen AB, Hoydal M, Rosbjorgen R, Stolen T, Wisloff U. Aerobic Interval Training Partly Reverse Contractile Dysfunction and Impaired Ca<sup>2+</sup> Handling in Atrial Myocytes from Rats with Post Infarction Heart Failure. *PLoS One* 2013; 8:66288.
- [30] Holloway T M, Bloemberg D, da Silva M L, Quadriatero J, Spriet LL. High-intensity interval and endurance training are associated with divergent skeletal muscle adaptations in a rodent model of hypertension. *Am J Physiol-Regul, Integr Comp Physiol* 2015;308:927-34.
- [31] Gibala M J, Little J P, Macdonald M J, Hawley J A. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol* 2012;590:1077-84.
- [32] Parra J, Cadefau J A, Rodas G, Amigó N, Cussó R. The distribution of rest periods affects performance and adaptations of energy metabolism induced by high-intensity training in human muscle. *Acta physiol Scand* 2000;169:157-65.
- [33] Hotta K, Chen B, Behnke BJ, Ghosh P, Stabley JN, Bramey JA, Sepulveda JL, Delp MD, Muller-Delp JM. Exercise training reverses age-induced diastolic dysfunction and restores coronary microvascular function. *J Physiol* 2017;595:3703-19.

**ANEXOS**

## ANEXO A - APROVAÇÃO ÉTICA

	
<b>CERTIFICADO Nº 1167/2016-CEUA</b>	
<p>Projeto de Pesquisa (Protocolo CEUA 1167-2016) Análise da influência do treinamento intervalado de alta intensidade na remodelação cardíaca de ratos espontaneamente hipertensos, a ser conduzido por Franciene Lima Aguiar de Sousa, orientada pelo Prof. Dr. Francis Lopes Pacagnelli, com a colaboração de Antônio Carlos Cicogna, Dijon Henrique Salomé de Campos e Kátashi Okazaki, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.</p>	
Vigência do projeto	26/09/2016
Espécie/Linhagem	Rato/Wistar - SHR
Nº de animais	10 + 20 (SHR) = <b>30</b>
Peso/Idade	250 gramas/4 meses
Sexo	Macho
Origem	Biotério UNICAMP - CEMIB
<p><b>Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 25/02/2016</b></p> <p><small>Recomendação: A pesquisa deverá ser aplicada por via peritoneal e não venosa.</small></p>	
 Prof. Dr. Ilseme Sousa Rocha Vice-Presidente da CEUA	 Kober Nepeski de Camargo Secretário da CEUA
<small>Dr. Roberto Junior - Av. Pádua - s/nº - Botucatu - SP - CEP: 13.012-670 Fone: (14) 3803-1100/3080-1309 e-mail: secretaria_bioter@fmb.unesp.br</small>	

## **ANEXO B - NORMAS DA REVISTA: INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY**

### **Original**

### **articles**

Text in these articles should not exceed **3,500** words, **50** references and **4** tables/figures. Additional references and/or methods will be published online only.

This category includes the following types of articles:

#### **Original clinical research studies, basic science/translational research papers:**

International Journal of Cardiology publishes articles highlighting all aspects of cardiovascular disease, including original clinical studies in the fields of clinical investigation, pharmacotherapy, genetics, cardiovascular imaging, intervention, structural heart disease, etc.- clinical trials, meta-analyses, pathophysiological investigations, experimental studies with clinical relevance and state-of-the-art papers. Cardiovascular basic science research studies with a strong clinical translational component will be considered for publication. Basic science papers usually depict research carried out in experimental animals, cells, or tissue. The abstract section of these papers should include a paragraph or two (**50-75** words) describing the translational aspect of the work.

#### **PREPARATION**

#### **OF**

#### **MANUSCRIPTS:**

**Original articles and Short communication** should be structured as following:

Divide the manuscript into the following sections: Title page, Structured Abstract, Key words (3-6), Introduction, Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References. The editors will consider the use of other sections if more suitable for certain manuscripts. Type double-spaced. The Title Page should include: 1. The title (not to exceed 25 words) 2. The full list of authors and for each author a numbered footnote. The footnote should state the author's academic affiliation and the following statement of authorship: "This author takes responsibility for all aspects of the reliability and freedom from bias of the data presented and their discussed interpretation". Any author unable to make this statement must instead state their specific contribution to the

manuscript. 3. Corresponding author and contact details 4. Acknowledgement of grant support 5. Any potential conflicts of interest, including related consultancies, shareholdings and funding grants 6. A list of up to 6 keywords

The	Next	Page	Should	Include:
-----	------	------	--------	----------

A Structured Abstract, of no more than 250 words. As this may be the only part of the article read by some readers it must include sufficient detail for an adequate summary of the whole manuscript. The preferred subheadings are Background, Methods, Results and Conclusions, although a merged Methods and Results subheading is also permitted if this permits more economical expression. The Next Page should commence the main article subdivided into the following sections:

The Introduction should be brief and set out why the study has been performed along with a review of relevant previous work only where essential.

The Methods should be sufficiently detailed so that readers and reviewers can understand precisely what has been done. Standard methods can be referenced. Manuscripts reporting data obtained from research conducted in human subjects must include a statement of assurance in the Methods section of the manuscript that (1) informed consent was obtained from each patient and (2) the study protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the institution's human research committee. Manuscripts reporting experiments using animals must include a statement giving assurance that all animals received humane care and that study protocols comply with the institution's guidelines.

A Statistical Methods Section must be included where relevant. This should include the statistical methods used with sufficient clarity for the findings to be reproduced by independent analysis of the dataset, a statement on how the data presented were selected including prospective sample size calculations, the reasons for including/excluding subjects or data points, and what steps the authors have taken, if any, to exclude intentional or unintentional bias in recruitment, measurement, data retention, analysis, reporting and comment.

The Results should be presented precisely. Keep discussion of their importance to a minimum in this section of the manuscript. Present 95% confidence



intervals with p values. When describing normal distributions, denote the standard deviation explicitly, e.g. with the abbreviation SD, rather than a sign. When describing uncertainty of a mean, denote the standard error of the mean explicitly, e.g. with the abbreviation SEM, rather than a sign. It is a condition of final acceptance of manuscripts, for the purpose of scientific integrity, that for each figure, raw numerical values should be uploaded in an Online Data Supplement. These supplement files should be one or more standard spreadsheet files. Raw x and y values for all scatterplots should be given. For bar charts and histograms, underlying raw values and categories should be given. For each Kaplan-Meier survival curve, for each patient a time-to-event-or-censoring and censor status should be given. Authors may additionally optionally upload comprehensive numerical datasets of the study.

The Discussion should directly relate to the study being reported rather than a general review of the topic.

A Study limitations subsection must be included and should disclose any reasons the findings may not be applicable more broadly.

Conclusions should be limited to a brief summary and the implications of the data presented.

References Discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links within ScienceDirect and to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef or PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent the link creation. When copying references, please be careful as they may already contain an error.

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume and issue/book chapter and the pagination must be present. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that incorrect or missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. The reference style used by this journal is Vancouver Numbered. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples

Examples: [1] De Soyza N, Thenabadu PN, Murphy ML, Kane JJ, Doherty JE. Ventricular arrhythmia before and after aortocoronary bypass surgery. *Int J Cardiol* 1981; 1:123-130. [2] Akutsu T. Artificial heart: total replacement and partial support. Amsterdam: Elsevier/North-Holland, 1975. [3] Goldman RH. Digitalis toxicity. In: Bristow MR, editors. Drug-induced heart disease. Amsterdam: Elsevier/North-Holland, 1980:217-40.

Please note that all authors should be listed when six or less; when seven or more, list only the first three and add et al. Do not include references to personal communications, unpublished data or manuscripts either "in preparation" or "submitted for publication". If essential, such material may be incorporated into the appropriate place in the text. Recheck references in the text against reference list after your manuscript has been revised.

Tables should be typed with double spacing and each should be on a separate sheet. They should be numbered consecutively with Arabic numerals, and contain only horizontal lines. Provide a short descriptive heading above each table with footnotes and/or explanations underneath. Figures should ideally be submitted in high-resolution TIF format, or alternatively in GIF, JPEG/JPG, or EPS format. The figures should be placed in separate files, named only with the figure numbers (e.g. "Figure1.tif".) The cost of colour figures will be paid by the author.

Please ensure figures have the appropriate resolution: Line art: 1000 dpi  
 Halftones: 300 dpi Combinations: 500 dpi Colour: 300 dpi Colour combinations:  
 500 dpi.

Figures can appear in colour in the online journal at no additional cost to the author, but if the author requires the paper journal to show the figures in colour there is an additional cost to pay.

For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://authors.elsevier.com/artwork>. Legends for Figures should be typed with double-spacing on a separate sheet.

For each and every gene accession number cited in an article, authors should type the accession number in bold, underlined text. Letters in the accession number should always be capitalised. Example: (GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**.) a B-cell tumor from a chronic

lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048,) and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117).

## ANEXO C - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

### My Author Tasks

[Start New Submission](#)

[Click here](#) to view your submissions with a final decision


### My Submissions with Journal (1)

HIGH INTENSITY INTERVAL TRAINING PROMOTES PRESSURE CONTROL,  
IMPROVES TOLERANCE TO EXERCISE AND HEART FUNCTION IN  
SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

IJC\_2017\_5064

Article Type: Original article

Initial submission : 29/Sep/2017

Current status: With Journal  (29/Sep/2017)