UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

EFEITOS DOS TREINAMENTOS AERÓBICOS CONTÍNUO E INTERVALADO
NA FUNÇÃO VASOMOTORA DE RATOS INFARTADOS

Luís Gustavo Oliveira de Sousa

SÃO PAULO
2010

EFEITOS DOS TREINAMENTOS AERÓBICOS CONTÍNUO E INTERVALADO
NA FUNÇÃO VASOMOTORA DE RATOS INFARTADOS

LUÍS GUSTAVO OLIVEIRA DE SOUSA

Dissertação apresentada à Escola de
Educação Física e Esporte da Universidade
de São Paulo, como requisito para obtenção
do grau de Mestre em Educação Física.

ORIENTADOR: PROF.DR. PAULO RIZZO RAMIRES

AGRADECIMENTOS

À Deus, que nos dá força nos momentos difíceis, dando tranquilidade, paz e saúde para trabalharmos todos os dias;

Aos meus pais Vilma Araújo e Paulo Fernando de Sousa e aos meus irmãos Paulo Fernando e Ana Cristina, pelo apoio, carinho, paciência e por terem acreditado em mim;

À Professora Dra. Patrícia Chakur Brum, conselheira e amiga de todas as horas e minha segunda mãe aqui em São Paulo, sempre atenciosa e companheira;

Aos meus tios José Bonifácio, Maria Luiza e Lêda Maria pelo auxílio constante e por acreditarem no meu potencial;

Aos meus eternos amigos e mestres do Recife Profa. Dra. Francisca Martins Bion e aos Professores. Ms. Sérgio Cahú Rodrigues, Rosa Idalina e Chokito, por terem sempre me ajudado nos momentos difíceis e por terem me incentivado a seguir o que eu acreditava que era certo;

Ao meu grande amigo e irmão Mário Filho por todo o apoio, conselhos e por nossa amizade que só cresce a cada dia;

À professora Carla Roberta do ICB e seus alunos, Katherine, Gabi, João Paulo, Karine, Teca e Felipe, por abrir as portas do seu laboratório para que eu fizesse meus experimentos e finalizasse essa dissertação;

Aos amigos do ICB, Renato, Alcione, Amanda, Diogo, Carlão, e a todos que fazem parte dessa família;

Aos meus grandes amigos e irmãos do Recife: Geyson, Luciano, Jean (Biu), Felipe Pit, Kuki, Paulinho, Halisson Santos, George Harisson, Ivson Galvão e Inaldo Freire por todo apoio e amizade;

Ao meu grande amigo e irmão, Luiz Bechara o qual carinhosamente chamo de “papai”, sempre disposto e pronto para ajudar, com certeza contribuiu muito para a finalização da minha dissertação e para minha formação profissional e pessoal;

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS	vii
	LISTA DE QUADROS	ix
	LISTA DE SIGLAS, ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	x
	RESUMO	xii
	ABSTRACT	xiii
1	INTRODUÇÃO	1
2	JUSTIFICATIVA	5
3	OBJETIVO	6
3.1	Geral	6
3.1.1	Específicos	6
4	REVISÃO DA LITERATURA	7
4.1	Endotélio	7
4.2	Óxido nítrico	8
4.3	Disfunção endotelial e infarto do miocárdio	10
4.4	Treinamento físico aeróbico contínuo e endotélio	12
4.5	Treinamento físico aeróbico intervalado e endotélio	14
5	MATERIAIS E MÉTODOS	15
5.1	Amostra e manipulação dos animais	15
5.2	Protocolo experimental	16
5.2.1	Sequência experimental	17
5.3	Protocolo de cirurgia cardíaca para indução do infarto do miocárdio	17
5.4	Caracterização do infarto do miocárdio	18
5.5	Protocolo de determinação da potência aeróbica.	18
5.6	Protocolos de treinamento físico	20
5.6.1	Equalização do treinamento físico	21
5.6.2	Determinação da velocidade de corrida	22
5.7	Morte dos animais	23
5.8	Remoção e preparação da aorta	23
5.9	Estudo da reatividade vascular “ <i>in vitro</i> ”	25
5.9.1	Estudo da resposta vasodilatadora à acetilcolina	26
5.9.2	Resposta vasoconstritora à noradrenalina	26

5.9.3	Resposta vasodilatadora independente do endotélio	26
5.9.4	Variáveis avaliadas na reatividade vascular	27
5.10	<i>Western blot</i>	28
5.11	Quantificação de nitrato e nitrito vascular	29
5.12	Índice de produção de espécies reativas de oxigênio vascular	29
5.13	Análise estatística	30
6	RESULTADOS	30
6.1	Massa Corporal	32
6.1.1	Razão massa do coração/massa corporal	33
6.2	Capacidade funcional pós-treinamento físico	34
6.2.1	Consumo pico de oxigênio (VO_{2pico})	34
6.2.2	Distância total percorrida	35
6.3	Resposta vasomotora aórtica <i>in vitro</i>	36
6.3.1	Relaxamento à acetilcolina	36
6.3.2	Resposta constritora à noradrenalina	37
6.3.3	Resposta vasodilatadora endotélio-independente	38
6.4	Concentração de nitrato e nitrito vascular	39
6.5	Expressão da enzima eNOS/p-eNOS (ser ¹¹⁷⁷)	40
6.6	Expressão e atividade da enzima Akt-1	41
6.7	Expressão protéica da enzima NADPH oxidase (NOX-1)	42
6.8	Índice de produção de superóxido no vaso	43
7	DISCUSSÃO	45
7.1	Efeitos dos TC e TI na massa corporal e hipertrofia cardíaca em ratos IM	46
7.2	Efeitos dos protocolos de TC e TI na capacidade funcional em ratos IM	47
7.3	Efeitos dos protocolos de TC e TI na vasomotricidade aórtica em ratos IM	49
7.4	Efeitos dos protocolos de TC e TI no estresse oxidativo e biodisponibilidade de óxido nítrico em ratos IM	50
8	CONCLUSÕES	54
	REFERÊNCIAS	54

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Estímulos e mecanismos envolvidos na síntese e remoção de NO e seu	
1 -	efeito parácrino.....	10
FIGURA	Valores de $VO_{2\text{pico}}$ em três diferentes inclinações na esteira	
2 -	Rolante.....	19
FIGURA	Esquema de remoção e preparação da	
3 -	aorta.....	24
FIGURA	Massa corporal dos grupos cirurgia fictícia (SHAM), infarto- sedentário	
4 -	(IM-SED), infarto TF contínuo (IM-TC) e infarto TF intervalado (IM-TI).....	32
FIGURA	Razão massa do coração/massa corporal.....	33
5 -		
FIGURA	Consumo de oxigênio de pico após o período de treinamento físico ou	
6 -	sedentarismo.....	34
FIGURA	Distância total percorrida após o TF ou sedentarismo	
7 -		35
FIGURA	Curva concentração-efeito à acetilcolina (ACh) em anéis da aorta torácica	
8 -		36
FIGURA	Curva concentração-efeito à noradrenalina em anéis da aorta torácica	
9 -		37
FIGURA	Curva concentração-efeito ao nitroprussiato de sódio (NPS) em anéis da	
10 -	aorta torácica dos	38
FIGURA	Razão nitrato/nitrito vascular nos homogenatos dos anéis da aorta	
11 -	torácica dos.....	39
FIGURA	Razão da expressão protéica da p-eNOS/eNOS (~145 KDa) (relação	
12	estequiométrica) em anéis da aorta torácica.....	40
FIGURA	Razão da expressão protéica da pAkt/Akt-1 (~60 KDa) (relação(relação	
13	estequiométrica) em anéis da aorta torácica.....	41
FIGURA	Expressão protéica (<i>Western Blot</i>) da subunidade NOX-1(~ 70 KDa) da	
14	enzima NAD(P)H oxidase em anéis da aorta torácica dos.....	42
FIGURA	Representação qualitativa do índice de produção vascular de.....	44

FIGURA	Sumário esquemático dos resultados representando o efeito dos TC e TI	
16	no controle e biodisponibilidade de NO.....	53

LISTA DE QUADROS

QUADRO	Distribuição dos grupos de acordo com os fatores experimentais	
1 -	estudados:.....	16
QUADRO	Sequência experimental	17
2		
QUADRO	Representação esquemática dos protocolos de	21
3	treinamento.....	
QUADRO	Consumo de oxigênio ao longo de um teste de intensidade	22
4	progressiva....	
QUADRO	Representação esquemática do protocolo experimental realizado nos	
5 -	experimentos de reatividade	27
	vascular.....	

LISTA DE SIGLAS, ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

ACh	Acetilcolina
Akt	Proteína serina/treonina quinase
ATP	Adenosina trifosfato
BH ₄	Tetrahidrobiopterina
Ca ⁺²	Cálcio
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
CaM	Camodulina
cNOS	Oxído nítrico sintase constitutiva
CO ₂	Dioxído de carbono
DHE	Dihidroetídio
EC ₅₀	Concentração eficiente para gerar o efeito igual a 50% da resposta máxima
E _{max}	Efeito máximo
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GCs	Guanilato ciclase solúvel
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
IM	Infarto do miocárdio
IM-TI	Infarto do miocárdio treinamento aeróbico intervalado
IM-TC	Infarto do miocárdio treinamento aeróbico contínuo
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
KCL	Cloreto de potássio
KH ₂ PO ₄	Fosfato de potássio monobásico
L-NAME	N-nitro-L-arginine methyl ester
m	Metro
M	Molar
MgSO ₄	Sulfato de magnésio
Min	Minuto
mL	Mililitro

Mm	Milimetro
mM	Milimolar
NaCl	Cloreto de sódio
NAD(P)H	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
NE	Noradrenalina
nNOS	Óxido nítrico neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NPS	Nitroprussiato de sódio
O ₂ [·]	Ânio superóxido
OH [·]	Radical hidroxila
ONOO [·]	Proxinitrito
pD ₂	Log EC ₅₀ (sensibilidade)
Ser	Serina
SHAM	Grupo Sham-controle
SOD	Superóxido dismutase
TC	Treinamento físico aeróbico
TI	Treinamento aeróbico intervalado
ul	Microlitro

RESUMO

EFEITOS DOS TREINAMENTOS AERÓBICOS CONTÍNUO E INTERVALADO NA FUNÇÃO VASOMOTORA DE RATOS INFARTADOS

Autor: LUÍS GUSTAVO OLIVEIRA DE SOUSA

Orientador: PROF.DR. PAULO RIZZO RAMIRES

O objetivo do presente estudo foi avaliar comparativamente os efeitos dos treinamentos físicos aeróbico contínuo (TC) e aeróbico intervalado (TI) na tolerância ao esforço e na resposta vasomotora, analisando as vias de produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), em aorta torácica isolada de ratos infartados pós-ligadura da coronária esquerda (IM). As sessões de treino de ambos TC e TI foram equalizados pelo gasto calórico total, distância total percorrida e intensidade média do $VO_{2\text{pico}}$. Após 48 h da última sessão de treino, os ratos foram sacrificados e feita a retirada da aorta torácica para as análises funcionais e bioquímicas. Resultados: o IM promoveu disfunção endotelial aórtica, evidenciada por um menor relaxamento à ACh e maior constrição à NE. O grupo IM-SED apresentou menor capacidade funcional (menor tolerância ao esforço e menor $VO_{2\text{pico}}$). Por outro lado, ambos os grupos IM-TC e IM-TI aumentaram a vasodilatação à ACh e diminuíram a vasoconstrição à NE. Além disso, ambos os TC e TI foram eficientes em aumentar a tolerância ao esforço e $VO_{2\text{pico}}$ nos grupos IM. Estes efeitos benéficos do TC e TI na função endotelial aórtica estavam associados ao aumento da via de produção de NO (ativação da eNOS por maior expressão da Akt total e fosforilada) e diminuição da produção de superóxido (redução da NOX-1), acarretando em maior biodisponibilidade de NO. Deste modo, podemos concluir que ambos os TC e TI foram igualmente efetivos em atenuar o estresse oxidativo, restaurar a função endotelial aórtica e aumentar a capacidade funcional de ratos infartados.

Palavras-chave: óxido nítrico, treinamento aeróbico contínuo, treinamento aeróbico intervalado, estresse oxidativo, função endotelial.

ABSTRACT

EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL AEROBIC TRAINING IN THE VASOMOTOR FUNCTION OF INFARCTED RATS

Author: LUÍS GUSTAVO OLIVEIRA DE SOUSA

Adviser: PROF.DR. PAULO RIZZO RAMIRES

The aim of this study was to evaluate comparatively the effects of continuous aerobic physical training (CT) and aerobic interval training (IT) on exercise tolerance and vasomotor response, analyzing the process of production of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) bioavailability in thoracic aorta isolated from post-infarcted rats induced by left coronary artery ligation (MI). The training sessions of both CT and IT were equalized by total caloric expenditure, total distance running and average intensity of VO_{2peak} . 48 h after the last training session, rats were sacrificed and the thoracic aorta was removed for the functional and biochemical analysis. Results: MI caused aortic endothelial dysfunction, evidenced by a lower relaxation to ACh and increased constriction to NE. The IM-SED group had lower functional capacity (lower exercise tolerance and lower VO_{2peak}). Moreover, both groups CT and IT increased vasodilation to ACh and reduced vasoconstriction to NE. Furthermore, both CT and IT were effective in increasing exercise tolerance and VO_{2peak} in IM groups. These beneficial effects of CT and IT on aortic endothelial function were associated with increased NO production pathway (activation of eNOS by increased expression of total and phosphorylated Akt), and decreased superoxide production (reduction of NOX-1), resulting in increased bioavailability of NO. Thus, we conclude that both CT and IT were equally effective in attenuating oxidative stress, restore aortic endothelial function and increase the functional capacity of infarcted rats.

Keywords: endothelial function, aerobic interval training, aerobic continuous training, nitric oxide