

## 1 Introdução

A prática regular de exercícios físicos leva a uma série de adaptações fisiológicas no organismo de forma gradual que variam conforme as características do treinamento. Dentre as adaptações estão as cardiovasculares, com especial destaque para a hipertrofia cardíaca (HC) que ocorre frente a alterações hemodinâmicas que modificam as condições de sobrecarga cardíaca durante as sessões de treinamento físico (MORGANROTH, MARON, HENRY & EPSTEIN, 1975). Essa HC decorrente do treinamento é uma resposta compensatória ao aumento da tensão na parede ventricular. Os cardiomiócitos, portanto, hipertrofiam a fim de normalizar a tensão sobre a parede do miocárdio (COLAN, 1997; URHAUSEN & KINDERMANN, 1992).

Com o intuito de abordar essa questão, desenvolvemos em nosso laboratório um aparato de treinamento físico de força para animais, baseado no modelo de TAMAKI, UCHIYAMA e NAKANO (1992). Assim, conseguimos reproduzir, em ratos Wistar, adaptações crônicas similares às encontradas em seres humanos, tais como o aumento de força e HC (BARAUNA, BATISTA, COSTA ROSA, CASARINI, KRIEGER & OLIVEIRA, 2005). Além disso, demonstramos que neste modelo de treinamento de força, ocorre o desenvolvimento de hipertrofia fisiológica concêntrica e diminuição da pressão arterial diastólica e média de repouso, sendo que essas alterações ocorreram sem alteração na função ventricular (BARAUNA, ROSA, IRIGOYEN & DE OLIVEIRA, 2007). Ainda, mostramos que mesmo sendo uma HC concêntrica não ocorrem mudanças nos marcadores de hipertrofia patológica como FNP (fator natriurético atrial) e razão alfa MCP (miosina de cadeia pesada) pela beta MCP (BARAUNA, MAGALHAES, KRIEGER & OLIVEIRA, 2008), portanto caracterizando essa HC como fisiológica. Embora, já se tenha bem estabelecido a ocorrência da HC através do treinamento físico, poucos estudos tem sido realizado com o objetivo de investigar os mecanismos e as vias de sinalização envolvidas na hipertrofia decorrente do treinamento de força.

Um dos pontos fundamentais a ser atingido para o desenvolvimento da hipertrofia nos cardiomiócitos é o balanço positivo entre a síntese e a degradação de proteínas sarcoméricas. Esses mecanismos se iniciam através de sinais bioquímicos que são mediados por receptores, canais iônicos ou por proteínas ancoradas a membrana, como as integrinas. De forma geral, receptores do tipo tirosina quinase

são associados com a HC fisiológica, enquanto, receptores acoplados a proteína G estão relacionados com a hipertrofia patológica (CLERK, CULLINGFORD, FULLER, GIRALDO, MARKOU, PIKKARAINEN & SUGDEN, 2007; MCMULLEN & JENNINGS, 2007). Interessantemente, em um estudo anterior do nosso laboratório, utilizando esse modelo de treinamento de força verificamos que o bloqueio dos receptores de angiotensina II (Ang II) do tipo I (AT1), que é um receptor acoplado a proteína G, inibiu a HC em ratos durante o treinamento de força. Além disso, foi observado aumento da expressão protéica e gênica do receptor AT1 com o treinamento físico (BARAUNA, et al., 2008).

Vários estudos tem sido conduzidos utilizando o treinamento físico aeróbico para mostrar a importância da via do receptor de tirosina quinase, o qual leva ativação da via PI3K-Akt-mTOR no desenvolvimento da HC fisiológica (DEBOSCH, TRESKOV, LUPU, WEINHEIMER, KOVACS, COURTOIS & MUSLIN, 2006; KEMI, CECI, WISLOFF, GRIMALDI, GALLO, SMITH, CONDORELLI & ELLINGSEN, 2008; MCMULLEN, SHIOI, ZHANG, TARNAVSKI, SHERWOOD, KANG & IZUMO, 2003), no entanto, ainda não se tem bem descrito os mecanismos de sinalização celular da HC induzida pelo treinamento físico de força, quando relacionados com a participação do receptor AT1 o qual está, classicamente envolvido com a HC patológica. Portanto, não se sabe se este receptor ativa vias de sinalização intracelular relacionadas a HC fisiológica, como a observada em nosso modelo de treinamento de força.

No presente estudo, examinamos as prováveis vias de sinalização celular envolvida com a HC fisiológica, como a via da PI3K-Akt-mTOR e o envolvimento do receptor AT1 nesta via. Resultados da literatura mostram ligações na via fisiológica de hipertrofia PI3K-Akt-mTOR com o receptor AT1 (LIU, CHENG, YU, SUN, ZENG, WANG, LIAO & FU, 2006). Os autores observaram que a ANG II foi responsável por aumentar a atividade da PI3K e a fosforilação da AKT, a qual foi bloqueada pelo “wortmannin” um inibidor da PI3K, o mesmo acontecendo com o bloqueio do receptor AT1 pelo valsartan, o qual também diminui a ativação da PI3-K/AKT pela ANG II. Através de diversos experimentos foi mostrado que algumas isoformas de PKCs, as quais podem ser ativadas pelo receptor AT1, também são capazes de, independentemente da PI3-K, ativar a mTOR via PKC/c-Raf/MEK/ERK (MOSCHELLA, RAO, MCDERMOTT & KUPPUSWAMY, 2007).

Além da via da PI3K-Akt-mTOR outras vias que podem ser ativadas pelo receptor AT1 e estar envolvida com a HC fisiológica provocada pelo treinamento de força é a via das MAPKs. Esta é uma classe de proteínas classificadas em três categorias, a família da c-Jun NH2-terminal kinase (JNK), a família da quinase regulada extracelularmente (ERK) e a família da p38. Essas proteínas são conhecidas por participarem da ativação de determinados fatores de transcrição responsáveis por numerosos processos fisiológicos tais como proliferação, diferenciação, inflamação, apoptose e hipertrofia (MARTINEAU & GARDINER, 2001). Atualmente, não se sabe se existe relação direta da JNK, ERK e p38 nas adaptações provocadas pelo exercício físico ou mesmo em situações patológicas. Contudo, algumas evidências têm mostrado que estas quinases podem ter múltiplas funções na regulação gênica em resposta ao exercício físico (ATHERTON, BABRAJ, SMITH, SINGH, RENNIE & WACKERHAGE, 2005). Com isso, nosso objetivo foi estudar as vias celulares relacionadas com o aumento da síntese de proteína que são ativas com o exercício físico de força e a participação do receptor AT1 na ativação dessas vias intracelulares em ratos submetidos a uma sessão de exercício de força.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Gerais**

Estudar a participação do receptor AT1 na ativação de vias de sinalização intracelular relacionadas com o aumento da síntese de proteínas em ratos submetidos a uma sessão de exercício de força.

### **2.2 Específicos**

Verificar através da expressão protéica, por técnica de western blott, a fosforilação das MAPKs: ERK, P38, JNK e AKT/mTor/p70<sup>S6K</sup>, após 5 e 30 minutos da realização de uma sessão de exercício de força.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Hipertrofia Cardíaca

A hipertrofia cardíaca (HC) é uma resposta compensatória ao aumento de tensão provocado na parede do ventrículo, que ocorre frente a alterações hemodinâmicas que modificam as condições de sobrecarga cardíaca em situações fisiológicas como a do exercício físico ou então em condições patológicas como a da hipertensão ou estenose aórtica (COLAN, 1997; URHAUSEN & KINDERMANN, 1992). Essas adaptações que ocorrem no coração estão relacionadas a sobrecarga hemodinâmica, a fatores neuro-humorais e também possui uma forte influência de fatores genéticos (RUWHOF & VAN DER LAARSE, 2000).

A hipertrofia cardíaca que acontece em resposta ao exercício físico foi reconhecida no final do século de XIX, com os trabalhos de Henschen, que observou corações crescidos em esquiadores de campo através de uma técnica considerada hoje bem rudimentar e imprecisa: a percussão do tórax (ROST, 1997). Naquela época os pesquisadores deram o nome a esse aumento do tamanho do coração, que ocorria em resposta ao treinamento de “Coração de Atleta” e que posteriormente foi confirmada em necropsia. Mais tarde, em 1975, com o advento da ecocardiografia foi possível os pesquisadores compreenderem melhor os padrões de hipertrofia que acontecem nos atletas de diferentes tipos modalidade esportivas (MORGANROTH, et al., 1975).

A hipertrofia no coração em resposta a sobrecarga de trabalho que ocorre durante as sessões de exercício é caracterizada como fisiológica e se destaca por acontecer de forma simétrica no coração, sem prejuízo na função ventricular e nem indícios de regiões de fibroses (BARBIER, LEBILLER, VILLE, RANNOU-BEKONO & CARRE, 2006; PLUIM, ZWINDERMAN, VAN DER LAARSE & VAN DER WALL, 2000). Esta hipertrofia pode acontecer de duas formas: uma causada pela sobrecarga de volume, verificada com o treinamento físico aeróbico, como nos esportes de *endurance*, nos quais prevalecem formas isotônicas ou dinâmicas de exercício, caracterizando a hipertrofia excêntrica e outra causada pela sobrecarga de pressão, em esportes de força, nos quais componentes isométricos ou estáticos são mais prevalentes durante o exercício e é caracterizada como hipertrofia concêntrica (FAGARD, 1997).

A HC excêntrica, observada no coração de atletas que realizam treinamento aeróbico, ocorre devido à sobrecarga de volume, ou seja, aumento da pré-carga devido ao aumento do retorno venoso durante as sessões de exercício, o que gera um elevado pico de tensão diastólica, induzindo ao crescimento dos miócitos. Neste caso, ocorre adição em série de novos sarcômeros e conseqüente aumento em comprimento pelo aumento no número das miofibrilas, gerando um aumento da cavidade do ventrículo esquerdo (VE) para normalizar o estresse na parede do miocárdio. A cavidade do VE aumentada gera um elevado pico de tensão sistólica, que estimula o crescimento dos miócitos, pela adição de novos sarcômeros também em paralelo, aumentando também a espessura da parede do VE. Como conseqüência, a relação entre a parede ventricular e o raio do VE permanece inalterada (FAGARD, AUBERT, STAESSEN, EYNDE, VANHEES & AMERY, 1984).

A HC concêntrica decorrente do treinamento de força (TF), é gerada pela sobrecarga pressórica que ocorre no VE, ou seja, pelo aumento da pós-carga, que é caracterizado pelo elevado pico de tensão sistólica. Como resposta a essa sobrecarga hemodinâmica ocorre aumento no diâmetro dos miócitos, pela adição de novos sarcômeros em paralelo, o que leva a um aumento na espessura da parede do VE (COLAN, 1997; GROSSMAN, JONES & MCLAURIN, 1975; SHAPIRO, 1997). Tanto atletas como animais experimentais que realizam exercícios estáticos ou isométricos desenvolvem um aumento predominante da espessura da parede ventricular esquerda, sem alteração no tamanho da cavidade do VE. Esta hipertrofia é caracterizada pelo aumento da razão entre a espessura da parede e do raio do VE (BARAUNA, et al., 2007; COLAN, 1997; PLUIM, et al., 2000).

Em condições patológicas, como a hipertensão ou estenose aórtica, o desenvolvimento da HC se faz a custa de importantes alterações estruturais do miocárdio e isso acontece de maneira que desestabiliza a relação entre a pressão sistólica da cavidade e a razão da espessura da parede com o raio ventricular (GROSSMAN, et al., 1975). Ao mesmo tempo ocorre um aumento dos elementos intersticiais que vão formar regiões de fibrose no miocárdio. Além disso, ocorrem também modificações nas proporções dos diferentes tipos de proteínas estruturais dos sarcômeros, como a actina e a miosina, prejudicando a função de relaxamento do ventrículo esquerdo (WEBER & BRILLA, 1991). A disfunção endotelial das artérias e a

fibrose promovem modificações na estrutura do miocárdio, possibilitando uma isquemia subendocárdica que acontece pela redução da reserva coronária. Além disso, o estiramento dos vasos que se destinam às porções subendocárdicas diminuem sua capacidade vasodilatadora, tornando-os menos adequados para fornecimento de fluxo para a massa aumentada (SABA, ROMAN, PINI, SPITZER, GANAU & DEVEREUX, 1993).

Além das patologias citadas acima, existem outras anormalidades cardiovasculares que estão associadas ao desenvolvimento da HC, como a cardiomiopatia hipertrófica que geralmente levam jovens atletas a morte súbita, quando submetidos a esforço físico vigoroso. Esta é caracterizada por cardiomegalia (peso cardíaco maior que 500g), dilatação atrial esquerda, cavidade do VE de tamanho pequeno ou normal, hipertrofia septal assimétrica e desarranjo das miofibrilas do septo, envolvendo pelo menos 5% da massa muscular (MARON, DOERER, HAAS, TIERNEY & MUELLER, 2009). Esses eventos de morte súbita, quando acontecem durante a realização de esportes sem prévios sinais ou sintomas, geram grandes impactos. No entanto, a utilização de avaliação cardiológica de atletas tem sido difundida em todos os setores esportivos como uma maneira de se detectar possíveis sinais de uma hipertrofia patológica e que não pode ser confundida com a hipertrofia que acontece em atletas saudáveis (THIENE, BASSO & CORRADO, 1999).

### **3.2 Treinamento de Força**

Força pode ser definida sob vários aspectos: Interação de um objeto com tudo aquilo que o cerca, inclusive outros objetos, ou agente que produz ou tende a produzir uma mudança no estado de repouso ou de movimento de um objeto (ENOKA, 2000). Pode ser, de acordo com WIECEK, MCCARTNEY e MCKELVIE (1990), definida quanto às suas manifestações em força máxima, força explosiva e força de resistência, sendo que a principal diferença entre elas está na carga de treinamento utilizada. Nos dias atuais o nome mais utilizado para o treino de força é “musculação” que, na verdade, foi o termo mais bem difundido entre os praticantes desta atividade, por causa do aumento da massa muscular (hipertrofia das fibras do tipo II) e melhora na capacidade contrátil na musculatura esquelética (DESCHENES & KRAEMER, 2002).

Somente a partir de meados da década de 80 que começaram a ser desvendadas as respostas, tanto crônicas quanto agudas, do TF sobre o sistema cardiovascular. Isso ocorreu, em grande parte, pela dificuldade que se tem, até hoje, em padronizar um modelo de treinamento que seja representativo do treinamento realizado pelos seres humanos e que possa ser reproduzido em um modelo animal (LOWE & ALWAY, 2002).

Em um estudo realizado por MACDOUGALL, TUXEN, SALE, MOROZ e SUTTON (1985) foi mostrado, pela primeira vez, a medida direta tanto da pressão arterial (PA) quanto da frequência cardíaca (FC), em indivíduos realizando o exercício *leg-press* até a exaustão em intensidades entre 80-100% de 1RM ( Uma Repetição Máxima). Eles observaram grandes oscilações na PA entre cada repetição, sendo que em um dos indivíduos a PA chegou a atingir 480/350 mmHg. Alguns mecanismos sugeridos para explicar esse aumento na PA, incluem a compressão mecânica do músculo esquelético sobre os vasos, a elevada pressão intratorácica devido a ocasional realização da manobra de Valsava e a necessidade de manutenção da pressão de perfusão devido ao aumento na pressão intramuscular (LENTINI, MCKELVIE, MCCARTNEY, TOMLINSON & MACDOUGALL, 1993; MCCARTNEY, MCKELVIE, MARTIN, SALE & MACDOUGALL, 1993). Estudos posteriores têm confirmado essa resposta pressórica aguda muito alta e acrescentado, entre os mecanismos, fatores como o número de repetições (WIECEK, MCCARTNEY & MCKELVIE, 1990), a carga relativa levantada (MACDOUGALL, MCKELVIE, MOROZ, SALE, MCCARTNEY & BUICK, 1992; MCCARTNEY, et al., 1993; MITCHELL & WILDENTHAL, 1974; SALE, MOROZ, MCKELVIE, MACDOUGALL & MCCARTNEY, 1993) e massa muscular envolvida (MACDOUGALL, MCKELVIE, MOROZ, SALE, MCCARTNEY & BUICK, 1992; MCCARTNEY, 1999). Entretanto, dentre todos os fatores, a manobra de Valsava parece ser a que mais contribui para elevar a pressão. A realização da manobra ocorre de maneira quase que voluntária e obrigatória em cargas acima de 80-85% de 1RM e tem a função de estabilizar o tronco e facilitar a produção de força (MACDOUGALL, et al., 1992; MACDOUGALL, et al., 1985).

As novas descobertas e o avanço das pesquisas no campo da fisiologia cardiovascular fizeram com que, na década de 90, os exercícios de força passassem a ser recomendados não só para melhora da força, mas também como uma

indicação para benefícios sobre a saúde cardiovascular e doenças crônicas (POLLOCK, FRANKLIN, BALADY, CHAITMAN, FLEG, FLETCHER, LIMACHER, PINA, STEIN, WILLIAMS & BAZZARRE, 2000). Em 1990 o “American Heart Association” e “American College of Sports Medicine (ACSM)” publicaram o primeiro guia de recomendação para a prática de atividade física, não somente visando a estética, mas a promoção da saúde e qualidade de vida de jovens, idosos, hipertensos e cardiopatas.

As adaptações crônicas ao TF ainda não estão bem elucidadas e podem variar de acordo com a carga de treinamento utilizada. Resultados na literatura mostram que não ocorrem alterações na FC (RICCI, LAJOIE, PETITCLERC, PERONNET, FERGUSON, FOURNIER & TAYLOR, 1982) ou encontra-se levemente diminuída (KANAKIS & HICKSON, 1980) nos indivíduos treinados em relação aos controles e o mesmo é observado em relação à pressão sistólica e diastólica de repouso (FLECK, 1988; KELLEY & KELLEY, 2000). Os trabalhos que mostram diminuição da PA utilizaram-se de cargas moderadas entre 60-70% de 1RM. Resultados do nosso laboratório, usando o mesmo modelo de treinamento que foi utilizado neste projeto, encontraram resultados semelhantes a esses descritos na literatura (BARAUNA, JUNIOR, COSTA ROSA, CASARINI, KRIEGER & OLIVEIRA, 2005). Sobre o desenvolvimento da HC devido ao treinamento físico de força, todavia, poucos estudos foram realizados (EFFRON, 1989), assim como pouco se sabe dos mecanismos envolvidos nessa adaptação.

### **3.3 Modelo de Treinamento de Força em Animais**

A utilização do modelo animal para estudar as adaptações do músculo ao treinamento é principalmente pelo fato de se poder sacrificar os animais e remover todos os tecidos e utilizar técnicas que permitem uma grande variedade de análises fisiológicas, bioquímicas, histoquímica e moleculares que, dificilmente, poderiam ser utilizadas em seres humanos. Além disso, o controle do experimento e a manipulação de animais com tratamentos ou até mesmo a utilização de animais modificados geneticamente permitem que o investigador consiga manipular variáveis em desenhos experimentais bem elucidativos.

No entanto, a natureza da sobrecarga com o TF em seres humanos, durante a execução das séries, apresentam muitas diferenças em relação aos modelos animais que mimetizam os estímulos empregados para induzir as adaptações no músculo. Os



modelos de treinamento com humanos, geralmente, consistem de períodos intermitentes com baixo número de repetições, altas cargas e longos períodos de recuperação entre as sessões. Isso dificulta a simulação destes protocolos de TF com animais, o que não acontece com os modelos de treinamento aeróbico como corrida em esteira ou natação.

O músculo esquelético sempre despertou a curiosidade dos pesquisadores por ter uma grande capacidade de adaptação, quando é submetido a uma sobrecarga. Uma das questões que sempre intrigou os pesquisadores e que ainda é ponto de muitas controvérsias é o entendimento de como a célula muscular processa cada estímulo que recebe para desenvolver a hipertrofia. Na tentativa de desvendar estes mecanismos, diversos modelos experimentais como o modelo de alongamento muscular crônico; o modelo de sobrecarga compensatória; o modelo de estimulação elétrica em animal inconsciente; o modelo de condicionamento do animal ao exercício e o modelo de treinamento com estimulação elétrica foram elaborados com o objetivo de simular as adaptações que o TF induz sobre a musculatura de humanos (LOWE & ALWAY, 2002; TIMSON, 1990).

Por isso, diversos modelos têm sido criados por vários laboratórios na tentativa de assemelhar-se com o exercício de agachamento realizado pelos atletas que utilizam TF (FLUCKEY, KRAEMER & FARRELL, 1995; HO, ROY, TWEEDLE, HEUSNER, VAN HUSS & CARROW, 1980; KLITGAARD, 1988; KRISAN, COLLINS, CRAIN, KWONG, SINGH, BERNARD & YASPELKIS, 2004; TAMAKI, UCHIYAMA & NAKANO, 1992). O maior desafio dos pesquisadores é treinar os animais para realizarem o movimento desejado. Em alguns casos os animais recebem comida como recompensa pelo movimento realizado ou um choque elétrico na cauda ou na pata caso não realizem o movimento. A vantagem desses modelos que mimetizam o agachamento, realizado pelos seres humanos é a possibilidade de utilizar protocolos semelhantes aos utilizados por atletas de força e, dentre todos os outros modelos apresentados, é o que tem resultados de hipertrofia mais próximos aos encontrados em humanos (LOWE & ALWAY, 2002).

No entanto, a execução das séries do TF em atletas apresentam muitas diferenças em relação aos modelos animais, que mimetizam os estímulos para induzir as adaptações no músculo cardíaco. Os modelos de treinamentos com

humanos, geralmente consistem de períodos intermitentes com baixos números de repetições, altas cargas e longos períodos de recuperação entre as sessões, o que não acontece nos modelos animais, por isso que os pesquisadores têm tanta dificuldade para simular estes protocolos de treinamento de força com animais

TAMAKI, et al (1992) desenvolveram, em 1992, um modelo que é hoje utilizado em vários laboratórios e foi utilizado nesse projeto. O modelo foi desenvolvido para comparar as adaptações metabólicas do músculo esquelético entre o TF e o de velocidade, em ratos. Posteriormente, esse modelo foi usado por NOTOMI, OKAZAKI, OKIMOTO, SAITOH, NAKAMURA & SUZUKI, 2000; YASPELKIS, SINGH, TREVINO, KRISAN e COLLINS (2002) e mais recentemente por DE CASSIA CYPRIANO ERVATI PINTER, PADILHA, DE OLIVEIRA, VASSALLO e DE FUCIO LIZARDO (2008) para estudar respostas cardiovasculares ao TF.

Nosso laboratório foi o primeiro a utilizar o modelo de treinamento de TAMAKI, et al (1992), para estudar as adaptações cardiovasculares ao treinamento com um protocolo que consistiu de quatro séries de 10 a 12 repetições e carga de 65 a 75% de 1RM, durante quatro semanas. Mostramos que este modelo foi capaz de induzir um aumento significativo de 12% na relação peso do ventrículo/ peso corporal e uma diminuição de 14% e 13% nos valores da pressão arterial diastólica e média, respectivamente. Além disso, reproduzimos em ratos Wistar adaptações crônicas similares às encontradas em seres humanos, como hipertrofia esquelética, principalmente, dos músculos com predomínio de fibras brancas. Foi mostrado também que o grupo controle que recebeu somente a estimulação elétrica (EE) não teve mudança nos níveis de catecolaminas plasmáticas e nem hipertrofia da glândula adrenal. Esses marcadores de estresse crônico poderiam ter influenciado os resultados, uma vez que neste modelo a utilização de um estímulo elétrico no animal é fundamental para a realização do exercício. Além disso, todos os outros resultados encontrados no grupo EE não foram diferentes do grupo controle (BARAUNA, et al., 2005).

Nosso grupo, utilizando este mesmo protocolo adaptado de TAMAKI, et al (1992) demonstrou-se que o aumento da massa cardíaca é proporcional ao tempo de treinamento (1 a 3 meses). Nesse trabalho, valores de hipertrofia cardíaca semelhantes foram encontrados por três diferentes métodos: massa ventricular

estimada pela ecocardiografia, diâmetro dos miócitos e peso das câmaras cardíacas. Em relação à função diastólica analisada pelo tempo de relaxamento isovolumétrico, função sistólica analisada pela fração de ejeção e fração de encurtamento não foram encontradas diferenças significativas, durante os três meses de treinamento entre os grupos estudados. O estudo com ecocardiograma possibilitou mostrar que houve um aumento similar no septo e na massa livre da parede posterior, sem redução no diâmetro interno da cavidade ventricular no fim da diástole, resultando em um aumento relativo da parede com três meses de treinamento. Estes resultados sugerem que o protocolo empregado neste estudo induziu uma hipertrofia concêntrica, sem nenhum traço de disfunção ventricular ou redução do tamanho da cavidade do ventrículo esquerdo (BARAUNA, et al., 2007).

Em 2008, DE CASSIA CYPRIANO ERVATI PINTER, PADILHA, DE OLIVEIRA, VASSALLO e DE FUCIO LIZARDO, 2008), utilizando este modelo de TF adaptado em nosso laboratório, verificaram que oito semanas de treinamento foi capaz de melhorar a performance de contratilidade dos músculos papilares e a atividade da miosina ATPase cardíaca nos animais treinados. Além disso, os autores mostraram que os animais treinados apresentaram no final do protocolo, redução na pressão arterial diastólica e sistólica de repouso, diferentemente, dos resultados de BARAUNA, et al., 2005 que somente observaram redução na pressão arterial diastólica de repouso.

Nesses trabalhos, acima, que utilizaram o modelo de TAMAKI, et al (1992) verificou-se que o protocolo de TF foi capaz de induzir a HC, além de outras adaptações cardiovasculares hemodinâmicas e funcionais, semelhantes as encontradas nos seres humanos quando submetidos ao TF (BARAUNA, ROSA, IRIGOYEN & DE OLIVEIRA, 2007). No entanto, sabe-se que esta hipertrofia promovida pelo TF não é idêntica à promovida pelo treinamento físico aeróbico, devido às diferentes formas de estresse que são provocadas pela sobrecarga hemodinâmica na parede do ventrículo esquerdo (IEMITSU, MAEDA, JESMIN, OTSUKI, KASUYA & MIYAUCHI, 2006). Por isso, passa a ser de grande interesse desvendar os mecanismos dessas adaptações ao TF que ainda não estão bem elucidados.

### 3.4 Sistema Renina Angiotensina

O Sistema Renina Angiotensina (SRA) é um complexo sistema hormonal, cujo papel fundamental está relacionado com o controle da PA, tanto a longo quanto a curto prazo, e homeostasia hidroeletrolítica do organismo (FLEMING, KOHLSTEDT & BUSSE, 2005; MENARD, 1993). Trabalhos relacionados com SRA são encontrados na literatura desde o século XVIII. Naquela época, os pesquisadores verificaram a importância de extratos renais na regulação da pressão arterial, no entanto foi somente em 1934 que se observou de forma convincente a participação do sistema renal na hipertensão, em um elegante experimento realizado por Goldblatt e colaboradores, com cachorros submetidos a constrição das artérias renais, mostrando que estes animais desenvolviam a hipertensão (GOLDBLATT, 1934).

Hoje, sabe-se que este sistema hormonal inicia-se com a liberação da renina pelas células justaglomerulares, localizadas nas paredes das arteríolas aferentes dos glomérulos renais, e tem a secreção controlada principalmente por três mecanismos: 1) Alterações na reabsorção de NaCl resulta na transmissão de sinais químicos que modificam a liberação da renina. O aumento do fluxo de NaCl pela mácula densa inibe a liberação de renina, e a diminuição do fluxo de NaCl estimula a liberação da renina. 2) Aumento ou diminuição da pressão nos vasos pré-glomerulares inibem e estimulam, respectivamente, a liberação da renina. 3) Ativação dos adrenoreceptores  $\beta$ -1 das células justaglomerulares pela norepinefrina liberada pelo SNS aumentam a liberação da renina (RE, 2004).

A renina liberada possui uma ação de especificidade muito grande pelo seu substrato, o angiotensinogênio, que é secretado constantemente pelo fígado. Na circulação este substrato é clivado pela renina, formando o decapeptídeo angiotensina I que sob a ação da enzima conversora de angiotensina I (ECA), proteína de membrana cujos sítios ativos estão voltados para o espaço extracelular, cliva a Ang I convertendo-a em angiotensina II (Ang II). A Ang II pode se ligar a dois subtipos de receptores (AT1 e AT2) de membrana. Esses receptores pertencem a família dos receptores acoplados a proteína G, com sete domínios transmembrânicos, sendo que o AT1 possui 359 aminoácidos e em roedores é encontrado nas isoformas AT1a e AT1b e são 95% idênticos (IWAI & INAGAMI, 1992; SASAMURA, HEIN, KRIEGER, PRATT, KOBILKA & DZAU, 1992), enquanto o receptor AT2 é

formado por 363 aminoácidos, sendo 34% de sua seqüência idêntica a do AT1. Apesar da Ang II ser agonista dos dois receptores, acredita-se que as ações mediadas pelo AT2 sejam antagonistas as do AT1 (DINH, FRAUMAN, JOHNSTON & FABIANI, 2001). A ação da Ang II sobre seus receptores tem um importante papel no desenvolvimento da hipertrofia no coração e uma potente ação vasoconstritora na regulação da pressão arterial. Por isso, vários estudos têm mostrado a participação do SRA no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca (TANG, DEVEREUX, RAO, OBERMAN, HOPKINS, KITZMAN & ARNETT, 2002).

Essa visão clássica do SRA, onde o sistema seria essencialmente dependente da existência do hormônio circulante para produzir seus efeitos fisiológicos, vem sendo modificada nos últimos anos (SKRBIC & IGIC, 2009). Hoje, o SRA é visto de forma mais ampla, onde a multiplicidade de funções do sistema é produto também da ação “parácrina” e “autócrina” da Ang II e de alguns de seus metabólitos produzidos localmente em vários tecidos (DANSER & SCHALEKAMP, 1996). Além disso, vários novos componentes do SRA têm sido descobertos, adicionando complexidade, mas também, possibilitando uma melhor compreensão das funções deste sistema em situações fisiológicas e patológicas (FUNKE-KAISER, REINEMUND, STECKELINGS & UNGER, 2009).

O coração pode formar Ang I localmente e convertê-la em Ang II, estima-se que aproximadamente 90% da Ang I e mais de 75% da Ang II presentes no tecido cardíaco são sintetizados localmente por intermédio dos componentes do SRA endógeno (ECA) e derivados da circulação (renina e angiotensinogênio). A mais importante evidência para um SRA local no coração é a presença de ECA (LINDPAINTNER, WILHELM, JIN, UNGER, LANG, SCHOELKENS & GANTEN, 1987), a atividade de renina e mRNA para renina e angiotensinogênio em células cardíacas (DZAU, BRODY, ELLISON, PRATT & INGELFINGER, 1987; HORIUCHI, NAKAMURA, TANG, BARRETT & DZAU, 1991) Existem evidências de que o SRA plasmático pode ser, principalmente, importante na estabilidade hemodinâmica aguda, enquanto o SRA cardíaco estaria mais envolvido na manutenção hemodinâmica e mudanças estruturais à longo prazo. Até o momento acredita-se que todos os componentes do SRA podem ser encontrados no cérebro (MORIMOTO & SIGMUND, 2002), coração (FLEMING, et al., 2005;

MENARD, 1993), vasos e tecido adiposo (BADER, PETERS, BALATU, MULLER, LUFT & GANTEN, 2001).

Diversos estudos têm mostrado que existe um alto número de genes envolvidos na resposta cardiovascular. Em situações patológicas, como a hipertensão, estudos sugerem que a hipertrofia cardíaca seja, em parte, determinada por fatores genéticos. Por exemplo, filhos normotensos de pais hipertensos tem massa ventricular esquerda maior que filhos de pais normotensos (HANSEN, NIELSEN, HYLDEBRANDT & FROBERG, 1992). Entre os genes candidatos, atualmente mais estudados e que apresentam uma relação muito alta com a hipertrofia, são os do SRA. Recentemente, buscou-se relacionar os polimorfismos do SRA e o treinamento físico, como nos estudos realizados com o genótipo do gene da ECA em humanos, que consiste na presença (inserção, alelo I) ou ausência (deleção, alelo D) de um fragmento de 287 pares de bases. Resultados deste estudo mostraram que o alelo I, está associado com uma maior eficiência metabólica e melhor rendimento em esportes de resistência (MONTGOMERY, 1997). Por outro lado, o alelo D está associado com o melhor rendimento em esportes de curta duração com predomínio anaeróbico e resposta anabólica (NAZAROV, WOODS, MONTGOMERY, SHNEIDER, KAZAKOV, TOMILIN & ROGOZKIN, 2001). O mais interessante foi que trabalhos como os de MONTGOMERY, 1997; MYERSON, MONTGOMERY, WHITTINGHAM, JUBB, WORLD, HUMPHRIES e PENNELL (2001) encontraram uma relação direta do peso cardíaco, em resposta ao treinamento físico, com uma variante mais ativa da enzima (alelo D).

### **3.5 Mecanismo de Sinalização Intracelular e o SRA**

O aumento na síntese protéica que ocorre na hipertrofia cardíaca é dependente de um estímulo extracelular, que desencadeia uma cascata bioquímica de sinalização intracelular até chegar ao núcleo da célula de maneira que leva ao aumento da transcrição gênica e da síntese protéica.

O primeiro estímulo para a hipertrofia cardíaca é o estresse mecânico que acontece no miocárdio através do aumento de tensão sistólica e diastólica, proporcionando estiramento nos cardiomiócitos e um aumento na liberação dos fatores neuro-humorais. No entanto, a HC pode ser induzida apenas pela sobrecarga hemodinâmica, como já demonstrado em diversos estudos conduzidos com bloqueio

dos receptores adrenais (humoral) ou simpatectomia (neural) (COOPER, KENT, UBOH, THOMPSON & MARINO, 1985) , como também experimentos que tiveram aumento da sobrecarga em corações isolados de ratos (KIRA, KOCHER, GORDON & MORGAN, 1984) e trabalhos *in vitro* com o estiramento mecânico em cultura de cardiomiócitos, que induziu um aumento da síntese de proteínas (SADOSHIMA, XU, SLAYTER & IZUMO, 1993). Isto, provavelmente, porque o estresse mecânico é o fator primário para HC em resposta a sobrecarga hemodinâmica (RUWHOF & VAN DER LAARSE, 2000).

Uma das formas com que o estiramento é percebido pelos cardiomiócitos é através das integrinas, que são uma família de receptores da superfície celular, que estão ligados a matriz extracelular e ao citoesqueleto. As integrinas são compostas por uma subunidade  $\alpha$  e uma  $\beta$  e possui uma região de grande domínio extracelular, uma região transmembrânica e normalmente um pequeno domínio citoplasmático. Estas proteínas foram descobertas como proteínas de adesão celular, no entanto, hoje sabe-se que elas funcionam como transdutores de sinais na regulação da expressão de genes para o crescimento celular nas células cardíacas (HYNES, 1992). Em um estudo realizado com fibroblastos cardíacos foi observado que o estiramento mecânico é capaz de ativar duas vias das MAPK (Mitogen-activated protein kinases) através das integrinas (MACKENNA, DOLFI, VUORI & RUOSLAHTI, 1998). E em outro estudo a superexpressão da subunidade  $\beta$  da integrina, nos cardiomiócitos, fez com que ocorresse um aumento na síntese de proteína celular, mostrando a importância desta proteína para o desenvolvimento da HC (ROSS, PHAM, SHAI, GOLDBERGER, FENCZIK, GLEMBOTSKI, GINSBERG & LOFTUS, 1998).

A transmissão do sinal da integrina para o citoesqueleto ocorre em locais que existem proteínas intermediárias como a vinculina, tensina e  $\alpha$  actina em sítios especializados da membrana celular, conhecidos como complexo de adesão focal. Após o estímulo mecânico, a agregação das integrinas leva um aumento marcante da fosforilação em tirosina de enzimas como Src e FaK (Focal adhesion kinase) e o recrutamento de várias proteínas celulares sinalizadoras pela malha de actina. Em um estudo com estímulo de sobrecarga pressórica verificou-se uma ativação rápida e duradoura da FAK em miocárdio de ratos e essa ativação se acompanhou de ativação de vias de crescimento celular representadas pela ativação da ERK 1/2 (Extracellular-regulated kinase), mostrando que a FAK é um elemento central do

mecanismo de mecanotransdução em miocárdio (INGBER, 1991; LEWIS & SCHWARTZ, 1995).

Além das integrinas que podem induzir a sinalização intracelular, o estresse mecânico também pode causar a deformação de proteínas de membranas, as quais podem permitir a passagem de íons como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  e que também tem sido proposto como um mecanismo de transdução para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca em resposta ao estiramento mecânico nos miócitos. A distorção do canal iônico, provocada pelo estímulo mecânico, pode iniciar fenômenos elétricos localizados, representados por despolarização ou hiperpolarização da membrana celular. Dessa forma esses íons podem ativar enzimas como as fosfolipases, PKC, íons da bomba sódio e potássio (RUKNUDIN, SACHS & BUSTAMANTE, 1993).

Uma outra forma pela qual a sinalização intracelular pode ocorrer é através da ação de fatores de crescimento e hormônios que incluem a endotelina (ET-1) (YAMAZAKI, KOMURO, KUDOH, ZOU, SHIOJIMA, HIROI, MIZUNO, MAEMURA, KURIHARA, AIKAWA, TAKANO & YAZAKI, 1996), Ang II (SADOSHIMA, et al., 1993), fator de crescimento tumoral ( $\text{TGF-}\beta$ ) (CALDERONE, TAKAHASHI, IZZO, THAIK & COLUCCI, 1995), fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1) (NERI SERNERI, BODDI, MODESTI, CECIONI, COPPO, PADELETTI, MICHELUCCI, COLELLA & GALANTI, 2001), Miotrofina (SEN, KUNDU, MEKHAIL, CASTEL, MISONO & HEALY, 1990) e fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (SEKO, TAKAHASHI, SHIBUYA & YAZAKI, 1999). Estes podem agir de forma sistêmica ou indiretamente pela sobrecarga hemodinâmica, promovendo a expressão ou liberação destes fatores pelos miócitos cardíacos e também por células como os fibroblastos, células endoteliais e células do músculo liso vascular, que vão interferir na HC de forma autócrina, parácrina e sistêmica (HEINEKE & MOKKENTIN, 2006). De maneira geral, as evidências da participação desses fatores no desenvolvimento da HC, por sobrecarga hemodinâmica são baseadas em demonstrações de que os mesmos são produzidos no miocárdio em situações de sobrecarga e por também induzirem a expressão de fenótipos estruturais e moleculares de hipertrofia, quando administrados a animais ou cardiomiócitos isolados (SADOSHIMA, et al., 1993).

Embora, existam alguns mecanismos possíveis para dar início a sinalização intracelular responsável para que ocorra HC, o ponto fundamental a ser atingido pela



célula é o balanço positivo entre a síntese e a degradação de proteínas sarcoméricas. Nesta revisão daremos ênfase às vias de síntese como a da PI3K-AKT-mTOR-p70<sup>S6K</sup>, das MAPKs e da Calcineurina, as mais importantes no desenvolvimento da HC e que podem ser ativadas por diferentes estímulos (HEINEKE & MOKKENTIN, 2006; MCMULLEN & JENNINGS, 2007).

### Via da PI3K-AKT-mTOR

#### *PI3K*

Phosphoinositide 3 Kinase (PI3K) é alvo de muitos receptores do tipo tirosina quinase, incluindo os receptores de IGF-I e de insulina, e também receptores acoplados a proteína G. A PI3K desempenha funções cruciais em muitos aspectos nos processos biológicos, como organização do citoesqueleto, transporte de membrana, crescimento celular e apoptose (SHIOI, MCMULLEN, KANG, DOUGLAS, OBATA, FRANKE, CANTLEY & IZUMO, 2002). A PI3K é um heterodímero, que consiste de uma subunidade p85 regulatória e uma subunidade catalítica p110 ( $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ ) (OUDIT, SUN, KERFANT, CRACKOWER, PENNINGER & BACKX, 2004). A subunidade p110 $\alpha$  é ativada por um fator de crescimento que se liga ao receptor de tirosina quinase, enquanto a p110 $\gamma$  é ativada pela subunidade  $\beta\gamma$  da proteína Gq/11 (SHIOJIMA & WALSH, 2006).

Em um experimento com animais transgênicos que expressavam constitutivamente o receptor de IGF-1, verificou-se que a ativação da via PI3K-Akt-p70<sup>S6K</sup> é associado a uma hipertrofia com fenótipo fisiológico. Os mesmos autores encontraram que animais que expressavam o receptor de IGF-1 e eram mutados para a PI3K(p110) tiveram o desenvolvimento da hipertrofia alterado, mostrando que a PI3K(p110) é um importante alvo para o desenvolvimento da hipertrofia, quando ativado pelo o receptor de IGF-1 (CATALUCCI, LATRONICO, ELLINGSEN & CONDORELLI, 2008; MCMULLEN, et al., 2003). Similarmente, camundongos com deleção gênica da subunidade regulatória p85 mostraram um tamanho reduzido do coração, após o treinamento físico de natação por 4 semanas (LUO, MCMULLEN, SOBKIW, ZHANG, DORFMAN, SHERWOOD, LOGSDON, HORNER, DEPINHO, IZUMO & CANTLEY, 2005).

Em outros trabalhos, os autores CATALUCCI, et al (2008); MCMULLEN, SHIOI, HUANG, ZHANG, TARNAVSKI, BISPING, SCHINKE, KONG, SHERWOOD, BROWN, RIGGI,

KANG e IZUMO, (2004); MCMULLEN, et al (2003) observaram que a p110 $\alpha$  é requerida para crescimento normal do coração induzida pelo treinamento físico, enquanto a p110 $\gamma$  é requerida para a hipertrofia por estímulos patológicos. A expressão constitutiva da isoforma p110 $\alpha$ , em corações de animais transgênicos, leva a HC como observado em atletas (SHIOI, KANG, DOUGLAS, HAMPE, YBALLE, LAWITTS, CANTLEY & IZUMO, 2000), ou seja, aumento na massa do miocárdio com manutenção da função cardíaca. Por outro lado, a expressão de uma forma inativa da p110 $\alpha$  no coração impediu o desenvolvimento da HC em resposta ao exercício físico (McMULLEN et al, 2003; 2004).

CRACKOWER, OUDIT, KOZIERADZKI, SARAO, SUN, SASAKI, HIRSCH, SUZUKI, SHIOI, IRIE-SASAKI, SAH, CHENG, RYBIN, LEMBO, FRATTA, OLIVEIRA-DOS-SANTOS, BENOVIC, KAHN, IZUMO, STEINBERG, WYMAN, BACKX e PENNINGER (2002) mostraram que a PI3K(p110 $\alpha$ ) regula o tamanho do coração, enquanto a PI3K(p110 $\gamma$ ) que é ativada por receptor acoplado a proteína G (GPCR) regula a contratilidade cardíaca. Em estudos posteriores observou-se que animais transgênicos que expressavam a p110 $\beta$  e foram submetidos à sobrecarga de pressão, apresentaram em apenas uma semana uma redução de 35% na fração de encurtamento com uma significativa dilatação do coração, enquanto que os animais que expressavam a p110 $\alpha$  somente apresentaram diminuição na função contrátil após quatro semanas. Estes estudos demonstram que a p110 $\alpha$  desempenha uma função importante na contratilidade cardíaca em condições de estímulos patológicos, enquanto em condições basais a p110 $\beta$  parece ser mais importante para a função contrátil do coração (DORN & FORCE, 2005).

### AKT

Uma vez ativada, a PI3K $\alpha$  fosforila o fosfatidilinositol 4,5 bisfosfato da membrana plasmática, na posição 3' do anel inositol. Isto leva ao recrutamento da proteína quinase Akt (também conhecida como PKB) e seu ativador, proteína quinase-1 dependente de fosfoinosítideo-3 (PDK1) do sarcolema, via interação entre domínios de homologia da *pleckstrina quinase* e do lipídeo 3'-fosforilado. Ao ser recrutada a proteína PDK1 fosforila a Akt ativando-a (CANTLEY, 2002). A Akt é uma serina treonina quinase, existente em três isoformas (LAWLOR & ALESSI, 2001; MENDE,

MALSTROM, TSICHLIS, VOGT & AOKI, 2001). Entretanto, dos três genes existentes para a Akt, somente dois são expressos no coração, sendo eles a Akt1 e a Akt2. Em estudo recente, KEMI, et al (2008) avaliaram a participação da via da Akt na HC após treinamento em esteira por 6 semanas em camundongos e observaram que, embora a expressão total de Akt não fosse alterada, a expressão da proteína fosforilada (ativada) estava aumentada. Recentemente, um estudo realizado em camundongos nocautes para Akt1 demonstrou que o treinamento de natação não foi capaz de gerar HC nesse grupo de animais. Isto sugere a participação da Akt 1 na HC induzida pelo treinamento físico juntamente com a PI3K $\alpha$  (DEBOSCH, et al., 2006).

Em um experimento de curva de tempo, realizado com animais por MIYAMOTO, TAKEISHI, TAKAHASHI, SHISHIDO, ARIMOTO, TOMOIKE e KUBOTA (2004) para comparar a ativação de vias de sinalização hipertrófica em modelos de sobrecarga patológica de volume e pressão, foi possível verificar as diferentes respostas da fosforilação das proteínas ao longo do tempo, no coração. A proteína AKT foi ativada com 15 min e após 1 dia seu alvo GSK-3 $\beta$  (quinase glicogênio sintase 3 $\beta$ ) e p70<sup>S6K</sup> foram aumentadas 15 minutos após o início da sobrecarga de pressão. Com a sobrecarga de volume, porém, a AKT ficou ativada no período de 1 dia e uma semana, e seu alvo GSK-3 $\beta$  foi ativada na sexta semana e a p70<sup>S6K</sup> na sexta e décima segunda semanas. Estes resultados mostraram como dois estímulos hemodinâmicos diferentes (sobrecarga de pressão ou volume) podem induzir sinalizações distintas para o desenvolvimento da HC.

### *mTOR*

Quando ativada, a Akt age em duas moléculas diferentes, uma é a GSK3 $\beta$  inibindo-a. A GSK3 $\beta$  tem a função de controlar negativamente a HC. A outra é a proteína quinase mTOR, cuja ativação pela Akt aumenta a síntese protéica (CANTLEY, 2002; PROUD, 2004). Uma vez ativada, a mTOR pode ativar as proteínas quinases S6 (S6K1 e S6K2), que aumentam a biossíntese ribossomal, tradução de proteínas, progressão do ciclo celular e hipertrofia. No entanto, estudos realizados com ablação genética da S6K1 e S6K2 não alteraram o crescimento cardíaco induzido pelo treinamento físico, sugerindo que a mTOR deve atuar através de outros alvos além das S6Ks (MCMULLEN, et al., 2004). Contudo, a mTOR também aciona a liberação da

4EBP1 (4e-binding protein) do eIF4E (eukaryotic translation initiation factor 4E) (fator de iniciação da tradução). Uma vez liberado da ligação com o 4EBP1, o eIF4E liga-se a um outro fator de iniciação o eIF4G (eukaryotic translation initiation factor 4G) e este, por sua vez, leva a iniciação da tradução ribossomal (CANTLEY, 2002; PROUD, 2004). Portanto, parece que a falta de efeito pela ablação das S6Ks, pode ser devido a mTOR atuar na via da eIF4E para promover a HC, embora não existam estudos que comprovem que esta via da mTOR-4EBP1-eIF4E seja responsável pela hipertrofia observada após o treinamento físico. Estudos mais recentes observaram ativação da mTOR após o treinamento físico com aumento na expressão de seus substratos S6K1 e 4E-BP1. É possível que, tanto a ativação de S6K1, quanto de 4E-BP1 via Akt-mTOR estejam envolvidas no processo de HC induzida pelo treinamento físico, embora não se saiba de que forma cada uma das vias participa nesse processo (KEMI, et al., 2008).

KEMI, et al (2008), utilizando um protocolo de corrida em esteira por cinco semanas, mostrou que a ativação da AKT/mTor é uma importante sinalização para o desenvolvimento da hipertrofia fisiológica, enquanto que a sobrecarga imposta por compressão transversal da aorta (CTA) não foi significativa em ativar esta via. No mesmo ano KIM, WENDE, SENA, THEOBALD, SOTO, SLOAN, WAYMENT, LITWIN, HOLZENBERGER, LEROITH e ABEL (2008) realizaram um experimento com treinamento de natação, durante cinco semanas, em animais nocautes para o receptor de IGF-1 e insulina, os autores observaram que o receptor de IGF-1 é aumentado com o treinamento nos cardiomiócitos e que a deleção no gene do IGF-1R foi responsável pela atenuação da hipertrofia, enquanto os animais nocautes para o receptor de insulina tiveram a hipertrofia conservada.

Portanto, fica claro a importância da via IGF1-PI3K-Akt-mTOR no desenvolvimento da HC induzida pelo treinamento físico aeróbico, uma vez que vários estudos demonstraram que a inibição desta via impede esta adaptação, enquanto a ativação induz HC (MCMULLEN, et al., 2003; SHIOI, et al., 2002). Entretanto, mais estudos são necessários para melhor entender os mecanismos e vias intracelulares envolvidas na HC, principalmente com o TF.

### *p70<sup>S6K</sup>*

O aumento da síntese de proteína pode ocorrer pelo aumento na taxa de transcrição ou tradução, o que inclui aumento da biogênese de componentes da tradução, ou por ambos. A tradução é largamente controlada através de fosforilação de proteínas como a S6 40 ribossomal (proteína S6) ativada pela p70/85 S6 quinase (*p70<sup>S6K</sup>*) que por sua vez é a ativada pela mTor. Já foram identificadas duas isoformas de *p70<sup>S6K</sup>*: a isoforma com 70-kDa e a isoforma com 85-kDa. A isoforma p85 é, predominantemente expressa no núcleo, enquanto que a isoforma 70-kDa está presente, principalmente no citoplasma. Ambas as isoformas são chamados coletivamente p70/85S6K, p70S6K, ou *p70<sup>S6K</sup>* e quando fosforilada ativa a proteína S6 e induz o aumento da biossíntese ribossomal, promovendo aumento na tradução de proteínas, progressão do ciclo celular e hipertrofia. A isoforma p85 apresenta funções adicionais no controle do ciclo celular, participando na mudança de fase G1 para a fase S do ciclo celular e no aumento da síntese de DNA (KIM, AKCAKANAT, SINGH, SHARMA & MERIC-BERNSTAM, 2009; PARK, BACHMANN, SHIRAZI & CHEN, 2002; PHIN, KUPFERWASSER, LAM & LEE-FRUMAN, 2003).

Pelo menos duas grandes vias de sinalização foram descritas para a fosforilação e ativação da S6K1: a via dependente de PKC e uma via independente de PKC que ocorre através da ativação da PI3K. Vários estudos demonstram que a ERKs são capazes de ativar a S6K1. Além disso, uma isoforma da PKC  $\delta$  também tem se mostrado capaz de ativar diretamente a mTOR, indicando a possibilidade de ativação da S6K1 sem o envolvimento da via c-Raf/MEK/ERK. Em um experimento com cultura de células demonstrou-se pela primeira vez que c-Raf é um componente crítico para mediar PKC na fosforilação de S6K1 e mTOR. Além disso, demonstrou-se que a ativação da PKC para ativação da S6K1 e da mTOR exige o envolvimento de ambas MEK1/2 e ERK1/2 (IIJIMA, LASER, SHIRAIISHI, WILLEY, SUNDARAVADIVEL, XU, MCDERMOTT & KUPPUSWAMY, 2002; MOSCHELLA, RAO, MCDERMOTT & KUPPUSWAMY, 2007).

Estudos realizados com ablação genética da S6K1 e S6K2 não alteraram o crescimento muscular induzido pelo treinamento físico, sugerindo que a mTOR deve atuar através de outros alvos além das S6Ks (MCMULLEN, SHIOI, HUANG, ZHANG, TARNAVSKI, BISPING, SCHINKE, KONG, SHERWOOD, BROWN, RIGGI, KANG & IZUMO,

2004). Contudo, a mTOR também aciona a dissociação da 4EBP1 do eIF4E (fator de iniciação da tradução). Uma vez liberado da ligação com o 4EBP1, o eIF4E liga-se a um outro fator de iniciação o eIF4G, e este por sua vez leva a iniciação da tradução ribossomal (CANTLEY, 2002; PROUD, 2004). Portanto, parece que a falta de efeito pela ablação das S6Ks, pode ser devido a mTOR atuar na via da eIF4E para promover a HC, embora não existam estudos que comprovem que esta via da mTOR-4EBP1-eIF4E seja responsável pela hipertrofia observada após o treinamento físico aeróbico (MOSCHELLA, et al., 2007; PARK, et al., 2002).

No experimento realizado por KEMI et al, 2008 verificou-se que a ativação da p70<sup>S6K</sup> é fundamental no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento e que ativação desta via ocorre pela via da PI3k, por outro lado, não foi observada a ativação da p70<sup>S6K1</sup>, após os animais terem sido submetidos a CTA por quatro semanas. Além disso, observou-se que a ativação da mTOR após o treinamento físico levou a um aumento na fosforilação de seus substratos S6K1 e 4E-BP1. É possível que tanto a ativação de S6K1, quanto de 4E-BP1 via Akt-mTOR estejam envolvidas no processo de HC induzida pelo treinamento físico, embora não se saiba de que forma cada uma das vias participa nesse processo.

#### Via das MAPKs

As MAPKs são uma classe de proteínas conhecidas por participarem da ativação de determinados fatores de transcrição responsáveis por numerosos processos fisiológicos como proliferação, diferenciação, inflamação, apoptose e hipertrofia (MARTINEAU & GARDINER, 2001). Essas classes de proteínas podem ser classificadas em três categorias, a família da c-Jun NH2-terminal quinase (JNK) também conhecida como proteína quinase ativada por estresse, a família da quinase regulada extracelularmente (ERK) e a família da p38 (SHARMA, HE & BAZAN, 2003).

Vários trabalhos têm demonstrado aumento na atividade da MAPK, imediatamente após um curto período de corrida, exercício cíclico ou estimulação elétrica, sendo que os mecanismos mais prováveis ao estímulo mecânico são: pela liberação de fatores de crescimento estocados na matriz extracelular, pelo influxo de íons através de canais sensitivos ao estresses na membrana, pela estimulação mecânica em receptores da membrana ou diretamente na proteína quinase

(MARTINEAU & GARDINER, 2001). Apesar destes mecanismos já estarem descritos na literatura, ainda não se sabe como a intensidade, a duração e a forma do estímulo mecânico agem sobre as vias das MAPKs para desencadear a resposta hipertrófica.

Nesse sentido, diversos estudos já foram realizados com o objetivo de verificar as alterações morfológicas e funcionais no sistema cardiovascular provocadas pela deleção ou super-expressão das MAPKs, como o estudo clássico realizado por BUENO, DE WINDT, TYMITZ, WITT, KIMBALL, KLEVITSKY, HEWETT, JONES, LEFER, PENG, KITSIS e MOLKENTIN (2000) com animais transgênicos que apresentavam hiper-expressão de MEK1. Neste estudo, verificou-se que a ativação da ERK1/2 estava relacionada a hipertrofia fisiológica associada a uma melhora da função cardíaca. Além disso, as MAPKs têm sido estudadas por uma variedade de modelos que mimetizam o estresse mecânico no músculo cardíaco, no entanto a resposta e magnitude com que a ativação das vias da ERK, JNK e p38 respondem a diferentes formas de exercícios ainda não estão claramente entendidas, embora algumas evidências sugerem que estas quinases podem ter múltiplas funções na regulação gênica em resposta ao exercício físico (ATHERTON, et al., 2005).

Em um experimento de curva temporal realizado por MIYAMOTO, et al (2004) para comparar a ativação de vias de sinalização hipertrófica em modelos de sobrecarga patológica de volume e pressão, foi possível verificar as diferentes respostas da fosforilação das proteínas MAPKs ao longo do tempo. Com sobrecarga de pressão ocorreu um aumento da fosforilação das proteínas ERK 1/2, P38 e STAT3 (Proteínas transdutoras de sinais e ativadoras da transcrição) com 1h e 3h, 1dia, e 3h e 1 dia, respectivamente, períodos que antecederam a hipertrofia concêntrica desenvolvida pelo animal. Estes resultados mostraram que a hipertrofia induzida por sobrecarga de pressão ou volume pode, independente dos estímulos hemodinâmicos, induzirem vias distintas de MAPKs para o desenvolvimento da hipertrofia.

IEMITSU, et al (2006) realizou um elegante experimento para estudar o efeito do exercício físico na expressão das MAPKs no músculo cardíaco. Neste trabalho foi realizado uma curva temporal para avaliar a expressão das proteínas ERK 1\2, JNK e p38 logo após uma sessão de exercício na esteira, após quatro, oito e doze semanas de treinamento e também foi avaliado o efeito agudo após estes períodos de treinamento. Com isso, os autores mostraram que uma única sessão de exercício

promove um aumento das três MAPKs e que após a quarta semana os animais ainda respondiam ao efeito agudo aumentando a expressão das MAPKs, mas este valor foi diminuído na oitava semana de treinamento. Na décima segunda semana os animais não alteravam mais a expressão das MAPKs com o estímulo agudo. Com este experimento os autores mostraram que a ativação da ERK 1\2, JNK e p38, gradualmente declinam com o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício.

#### Via da calcineurina

A via da calcineurina é uma importante via no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca patológica, tendo um papel importante para o aumento da síntese de proteína devido o aumento sustentado na concentração de cálcio dentro da célula. Uma vez ativada, a calcineurina muda o estado da proteína NFAT3 (fator nuclear ativador da células T) de desfosforilado para a forma fosforilada que é uma forma ativa desta proteína. O NFAT3 desfosforilado migra para o núcleo onde se liga ao DNA, regulando, assim, a transcrição genética (MOLKENTIN, LU, ANTOS, MARKHAM, RICHARDSON, ROBBINS, GRANT & OLSON, 1998). Trabalhos com animais transgênicos mostraram que a calcineurina tem uma importante participação no aumento da síntese de proteínas durante o remodelamento cardíaco em condições de patológicas (RITTER et al, 2002). Em um estudo que buscou comparar a participação da via da calcineurina no desenvolvimento da HC em situação patológica, como a compressão transversal da aorta e infarto agudo do miocárdio, com uma situação de exercício como a natação ou uma corrida voluntária em animais, indicou que a via calcineurina-NFAT não foi aumentada ou até mesmo teve uma pequena diminuição com o treinamento, enquanto em condições patológicas foi encontrado um aumento desta proteína (WILKINS, DAI, BUENO, PARSONS, XU, PLANK, JONES, KIMBALL & MOLKENTIN, 2004).

O SRA tem sido exaustivamente estudado por ser um importante sistema que em condições patológicas como hipertensão arterial, estenose aórtica, sobrecarga de pressão crônica no coração e aumento da atividade simpática, sofre grandes alterações dos seus componentes locais e sistêmicos, principalmente da Ang II que irá desencadear o desenvolvimento da hipertrofia do ventrículo esquerdo (HEINEKE & MOLKENTIN, 2006). Apesar de se conhecer a participação do SRA na hipertrofia



cardíaca patológica, pouco se sabe da participação deste sistema no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca fisiológica. Nesta situação, ainda não se definiu, claramente, se o SRA ou alguns dos seus componentes encontram-se ativado no miocárdio hipertrofiado pelo treinamento físico de modo similar às condições patológicas (MCMULLEN & JENNINGS, 2007).

O receptor AT1 é considerado um receptor pleiotrópico por ser capaz de ativar vias específicas através da proteína Gq/11 (USHIO-FUKAI, GRIENDLING, AKERS, LYONS & ALEXANDER, 1998), ou Gi/o e G11/12 (YIN, YAN & BERK, 2003) em tecidos específicos. Além disso, o receptor AT1 pode sinalizar, induzindo cascatas de sinalização via tirosina-quinases (PyK2, Src, Tyk2 e FAK), (YIN, et al., 2003), MAPKs, (ZOU, AKAZAWA, QIN, SANO, TAKANO, MINAMINO, MAKITA, IWANAGA, ZHU, KUDOH, TOKO, TAMURA, KIHARA, NAGAI, FUKAMIZU, UMEMURA, IIRI, FUJITA & KOMURO, 2004), proteínas scaffolds, (YIN, ZHENG, YAN & BERK, 2005), receptores de tirosina quinase (CHIU, SANTISKULVONG & ROZENGURT, 2005) e a via do fator nuclear  $\kappa\beta$  (DROGE, 2002). Como também pode sinalizar vias independentes da proteína G como a via da  $\beta$  arrestina (THOMAS & QIAN, 2003) e a via da Jak (Janus Kinase) /STAT, (WANG, YANG, CHANG & HUNG, 2004) que não dependem da proteína G para ser ativadas.

Investigações experimentais, utilizando modelos animais, mostram que a Ang II, através do receptor AT1, pode induzir HC e que doses de inibidores de ECA ou de bloqueador do receptor AT1 pode levar a uma regressão da hipertrofia, independente da redução da pressão sistólica, mostrando que o SRA tem uma importante participação no desenvolvimento da hipertrofia (TURNER & HOOPER, 2002). No entanto, um importante estudo em cultura de células de miócitos de ratos demonstrou que o estresse mecânico pode ativar os receptores AT1, sem o envolvimento da Ang II (ZOU, et al., 2004). Além disso, os autores mostraram *in vivo* que a sobrecarga de pressão por compressão transversal da aorta, associada ao uso de bloqueador do receptor AT1, preveniu o desenvolvimento da hipertrofia patológica em animais que não expressavam o angiotensinogênio. Por isso, tem se dado uma especial atenção ao receptor AT1, devido ao fato de ser conhecido como um sensor mecânico nos cardiomiócitos e poder induzir a HC sem o envolvimento do seu agonista, o que não acontece com outros tipos de GPCRs como os receptores de endotelina 1 e de

catecolaminas (KUDOH, KOMURO, HIROI, ZOU, HARADA, SUGAYA, TAKEKOSHI, MURAKAMI, KADOWAKI & YAZAKI, 1998).

Independente da forma como o receptor AT1 possa ser ativado, é geralmente aceito que receptores acoplados a proteína G são necessários para induzir a hipertrofia patológica, enquanto receptores do tipo tirosina quinase são associados com a hipertrofia fisiológica. Provavelmente, isso acontece pela duração e intensidade do estímulo, que são dois pontos fundamentais que diferenciam o exercício físico que promove uma sobrecarga intermitente no coração, do estímulo patológico que gera uma sobrecarga crônica no coração o que passa a ser um fator determinante para o recrutamento das vias Gq/fosfolipase C  $\beta$ /Ca<sup>+</sup> (Gq/PLC  $\beta$ /Ca<sup>++</sup>), que modula a sinalização da PKC (Proteína kinase C) e da calcineurina/NFAT de forma contínua (HUNYADY & CATT, 2006).

No entanto, apesar de aceito que receptores acoplados a proteína G são necessários para induzir a hipertrofia patológica, alguns trabalhos demonstram que receptores como o AT1 podem ativar vias de síntese de proteína. O trabalho realizado por LIU, et al (2006) com fibroblastos, mostrou que a Ang II foi responsável por aumentar a atividade da PI3K e a fosforilação da AKT, sendo esta fosforilação da AKT bloqueada por um inibidor da PI3K, o mesmo acontecendo com o bloqueio do receptor AT1, o qual também diminuiu a ativação da PI3K/AKT pela Ang II. Isso ocorreu, pelo menos em parte, via transativação do receptor do fator de crescimento da epiderme. Resultados semelhantes foram encontrados em células musculares lisas vasculares (BOKOMEYER et al, 2000). Outra forma de ativar a AKT foi mostrada por MOSCHELLA, et al (2007) através de diversos experimentos onde isoformas de PKCs foram capazes de, independentemente da PI3K, ativar a mTOR via PKC/c-Raf/MEK/ERK.

Portanto, dada a quantidade de vias que podem ser ativadas e a interligação existente na sinalização celular, para o desenvolvimento da HC em situações patológicas ou fisiológicas, pouco se sabe da participação do receptor AT1, que é um receptor acoplado a proteína G, na ativação dessas vias com a sobrecarga imposta pelo TF.

## **4 JUSTIFICATIVA**

Apesar de se conhecer a participação do SRA na hipertrofia cardíaca patológica, pouco se sabe da participação do mesmo no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca fisiológica. Nesta situação, ainda não se definiu, claramente, como o SRA ou alguns dos seus componentes encontram-se ativado no miocárdio hipertrofiado pelo treinamento físico de modo similar as condições patológicas. Recentemente, foi demonstrado que o bloqueio dos receptores AT1 durante o TF inibiu a HC em ratos (BARAUNA, et al., 2007), ocorrendo ainda um aumento na expressão desses receptores com o TF. Portanto, como foi demonstrado que o receptor AT1 está envolvido com o desenvolvimento da HC induzido pelo TF, passa a ser de interesse, estudar a ativação de vias de sinalização intracelular que possam ser ativadas pelo receptor AT1.

Uma das características do receptor AT1 é a capacidade de poder ativar diferentes vias de sinalização e estar envolvido com diferentes funções nos tecidos (HUNYADY & CATT, 2006). Verificar a ativação de vias de sinalização que possam estar relacionadas com este receptor é de fundamental importância para o entendimento da gênese do processo de HC fisiológica. Esse projeto deu continuidade a uma linha de investigação do projeto de pesquisa que foi aprovado pela FAPESP.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Amostra**

Trinta e seis ratos Wistar, pesando entre 250 e 300g foram aleatoriamente distribuídos em seis grupos:

Controle (CO, n=6);

Controle tratado com losartana (CO Los, n=6);

Exercitado e sacrificado 5 min após o exercício (Exe 5, n=6);

Tratado com losartana, exercitado e sacrificado 5 min após o exercício (Exe 5 Los, n=6);

Exercitado e sacrificado 30 min após o exercício (Exe 30, n=6);

Tratado com losartana, exercitado e sacrificado 30 min após o exercício (Exe 30 Los, n=6).

Os tempos de 5 e 15 minutos, após o exercício, foram escolhidos para o sacrifício dos animais por compreender um intervalo de tempo que as proteínas MAPKs, AKT e mTor, sabidamente já se encontram fosforiladas em resposta ao exercício físico aeróbico e também ao estímulo de sobrecarga hemodinâmica. O losartana (20 mg.kg<sup>-1</sup>) foi administrado na água de beber dos animais, durante a semana que antecedeu o protocolo de exercício, com dose suficiente para que ocorresse o bloqueio do receptor AT1. Além disso, esta dose já tinha sido testada, anteriormente em nosso laboratório e verificamos que não interferia na pressão arterial dos animais durante a realização do exercício de força. Todos os animais foram alojados em gaiolas individuais, receberam água e ração própria *ad libitum*, foram mantidos em ambiente com temperatura média de aproximadamente 25°C e submetidos a um regime de 12 horas claro/escuro, durante o período do experimento. Todos os protocolos utilizados neste estudo estavam de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (Processo nº 2009/34 aprovado em 04-09-2009).

## **5.2 Protocolo de Exercício Físico de Força**

O exercício foi realizado usando-se um aparato de exercício de força adaptado (TAMAKI, et al., 1992) e padronizado em nosso laboratório, conforme mostrado na figura 1 (BARAUNA, et al., 2005). A adaptação foi realizada por 4 dias, 1x/dia, com um dia de recuperação entre o terceiro e o quarto dia. Os animais foram colocados no aparato, conforme mostrado na figura 1 e adaptados com 4 séries de 12 repetições e intervalo de 1min e 30s entre as séries. As patas posteriores dos animais são colocadas sobre uma placa de metal, a qual está conectada a um estimulador elétrico, assim, o animal recebe um estímulo elétrico de 10-15v, 0,3s de duração, 4s de intervalo entre as repetições. Este exercício de agachamento é muito semelhante ao realizado por humanos que fazem TF com levantamento de peso. No dia seguinte ao último dia de adaptação foi realizado um teste de 1RM. O teste de 1RM é realizado da seguinte forma: É colocada uma anilha com aproximadamente 700g na barra de madeira do aparato de exercício de força. Em seguida o animal é estimulado a realizar o exercício. Após a realização do movimento um avaliador classifica o agachamento

realizado pelo animal. Essa classificação permite ao avaliador aumentar ou diminuir o peso barra em mais duas outras tentativas subseqüentes até que se possa estipular na última tentativa o peso que o animal suporta levantar de maneira eficiente. Entre cada tentativa o animal permanece em recuperação durante cinco minutos.

Quarenta e oito horas após o teste os animais realizaram a sessão de exercício de força com sobrecarga de 80% de 1 RM. Após a sessão, cada animal foi anestesiado com éter e decapitado, o coração do animal foi retirado e as câmaras separadas em ventrículo esquerdo (VE) e ventrículo direito (VD) para pesagem. Somente o VE foi colocado em solução tampão, homogeneizado e adequadamente armazenadas em freezer ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) para posterior análise.

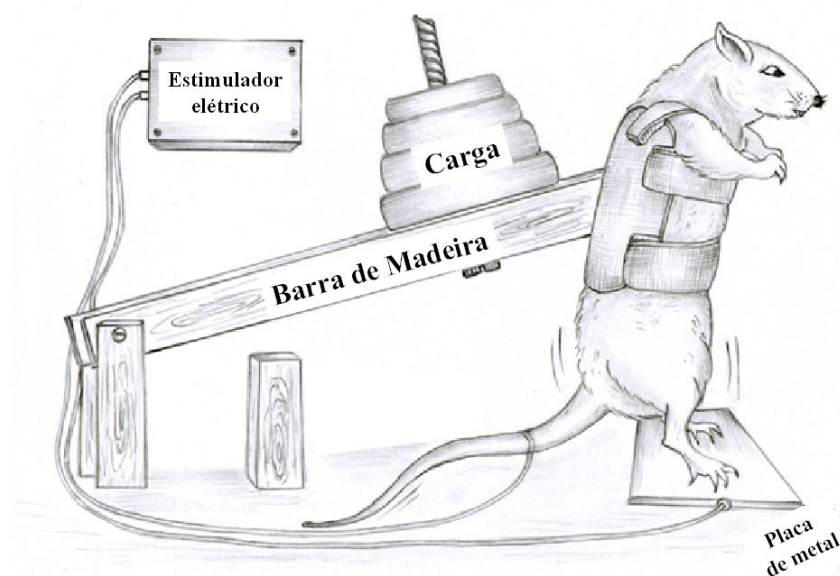


Figura 1. Modelo do aparato de treinamento

### 5.3 Análise da Expressão Protéica

As amostras coletadas foram imediatamente homogeneizadas em tampão de extração contendo (Trisma base 100mM, SDS 10%, para-hidroximercuriobenzoato (p-OHHgBz) 1mM; fenilmetilsulfonilfluoreto (PMSF) 1mM; pepstatina A 1mM; orto-fenantrolina 30mM e ácido etilendinitrotetracético (EDTA) 10mM) e colocadas em banho a  $100^{\circ}\text{C}$  por 10 min. As amostras foram mantidas no gelo e centrifugadas (3.000 rpm X 10 min) e mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Os homogenatos foram centrifugados por

15 minutos, a 12.000 rpm, a 4°C. O sobrenadante foi retirado, diluído em tampão Laemmli na proporção de 1:4 e aquecidos em água fervente por 5 min (LAEMMLI, 1970) para ser posteriormente submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE 8%) no aparelho para minigel (*Mini-Protean*). A transferência das proteínas separadas no gel foi feita eletricamente para uma membrana de nitrocelulose utilizando-se um aparelho da *Bio-Rad* por aproximadamente 2h sob 120 volts (TOWBIN, OZBEY & ZINGEL, 2001). As membranas foram bloqueadas pela incubação com 10 ml de solução bloqueadora (leite desnatado Molico 5%, Tris 10mM, NaCl 150 mM e Tween 20 0,02%) a 4°C, *overnight* ou por 2h na temperatura ambiente. Estas membranas foram posteriormente incubadas a 4°C com o anticorpo primário para AKT total e AKT fosforilada, mTOR total e mTOR fosforilada, p70<sup>S6K</sup> total e p70<sup>S6K</sup> fosforilada, ERK total e ERK fosforilada, p38 total e P38 fosforilada, JNK total e JNK fosforilada (abcam) (1:1000) diluído em solução bloqueadora (leite desnatado Molico 3%, Tris 10mM, NaCl 150 mM e Tween 20 0,02%). Em seguida, as membranas foram lavadas três vezes por dez minutos com solução basal. As bandas existentes nas membranas incubadas foram visualizadas através do uso do Kit para detecção por quimioluminescência. O método de quimioluminescência consiste nos seguintes passos: após incubação da membrana com o anticorpo primário, a membrana foi novamente incubada por 1h com o anticorpo secundário anti-*rabbit* marcado com horseradish peroxidase em solução bloqueadora (1:2000). Em seguida, as membranas foram lavadas novamente três vezes com solução basal e incubadas com 1 ml de cada um dos dois reagentes do kit por 1 minuto, e a seguir os filmes de raio-X foram expostos às membranas. Esta exposição pode durar entre 30 segundos e dois minutos. Para se medir a intensidade das bandas nas auto-radiografias, as figuras escaneadas foram analisadas utilizando o programa de análise de densitometria óptica *Scion Image*, fornecido gratuitamente pela NIH (USA) via Internet (<http://www.scioncorp.com/>).

## 6 ANÁLISE DOS DADOS

A comparação entre os grupos foi feita por ANOVA two way e o teste *post hoc* de Duncan foi utilizado para comparação entre as médias, quando foram observadas

alterações significativas pela ANOVA. Os valores de  $P < 0,05$  foram aceitos como estatisticamente significativos. Todos os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

## 7 RESULTADOS

### Peso corporal

A Tabela 1 mostra o peso corporal dos animais. Não houve diferença no peso corporal entre os grupos.

### Repetição Máxima

Pode-se observar que todos os grupos iniciaram o protocolo com 1RM semelhantes (tabela 1). Analisando a carga de 1RM normalizados pelo peso corporal, verificou-se que os animais levantaram cerca de três vezes do seu peso corporal e também não foi verificado diferença entre os grupos.

### Índice de Hipertrofia Cardíaca

Não foi observado alteração na relação do peso do ventrículo esquerdo e peso corporal entre os grupos.

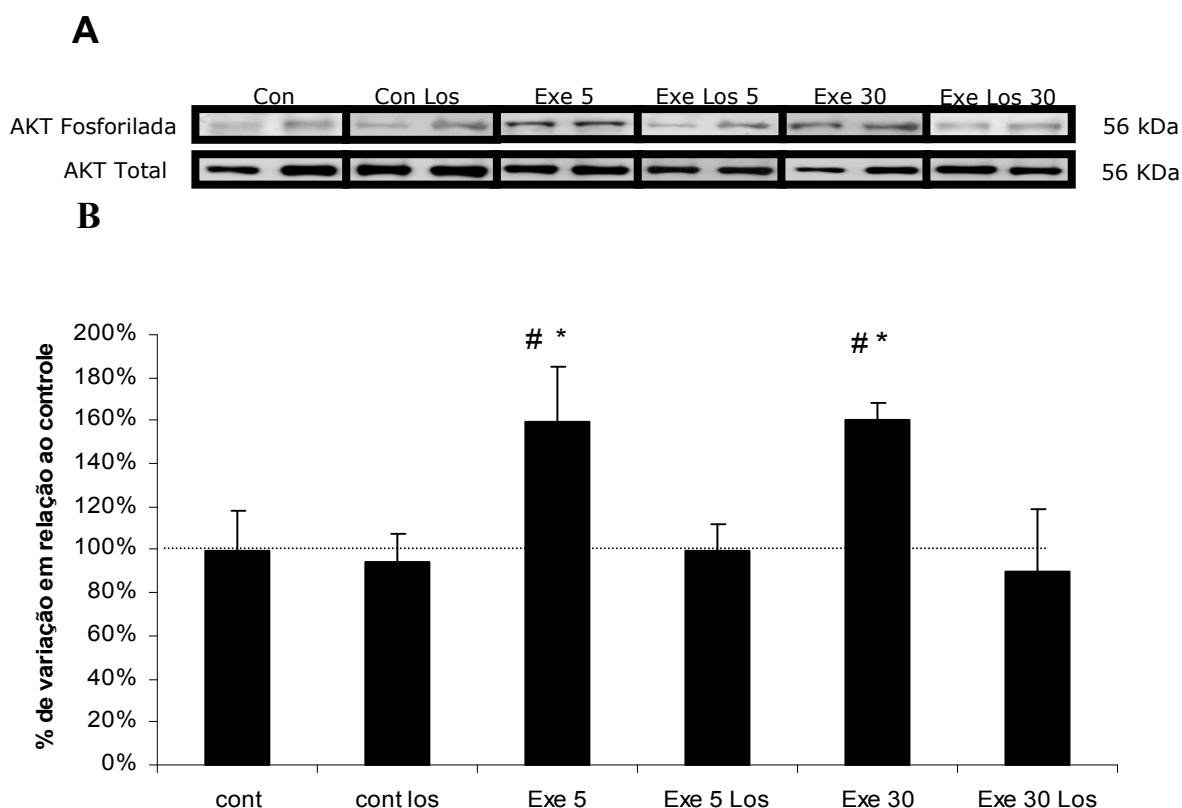
TABELA-1 Valores do peso corporal, da relação peso do ventrículo esquerdo/peso corporal, da repetição máxima absoluta e relativa dos animais.

	Con	Con los	Ex 5	Exe 5 los	Exe 30	Exe 30 los
PC (g)	273,3 $\pm$ 3,1	275,1 $\pm$ 4,5	275,3 $\pm$ 3,6	272,6 $\pm$ 4,9	274,3 $\pm$ 3,6	277,3 $\pm$ 3,9
VE/PC(mg/g)	2,04 $\pm$ 0,02	2,05 $\pm$ 0,04	2,04 $\pm$ 0,03	2,06 $\pm$ 0,05	2,05 $\pm$ 0,04	2,03 $\pm$ 0,03
1RM (g)	1212,5 $\pm$ 46	1208,3 $\pm$ 51	1216,6 $\pm$ 66	1225 $\pm$ 44	1220,3 $\pm$ 60	1208,3 $\pm$ 43
1RM /PC(g/g)	4,4 $\pm$ 0,1	4,39 $\pm$ 0,16	4,41 $\pm$ 0,21	4,49 $\pm$ 0,17	4,44 $\pm$ 0,20	4,35 $\pm$ 0,16

PC peso corporal; VE/PC ventrículo esquerdo/ peso corporal; 1RM uma repetição máxima; 1RM uma repetição máxima/ peso corporal.

### 7.1 Expressão protéica da AKT

No grupo Exe 5 e Exe 30 houve um aumento de 62,68% e 62,44% na fosforilação da proteína AKT, quando comparado ao grupo controle, respectivamente, sendo este efeito bloqueado pelo losartana no grupo Exe 5 Los (60,63 %) e Exe 30 Los (78,53%) (Figura 2).



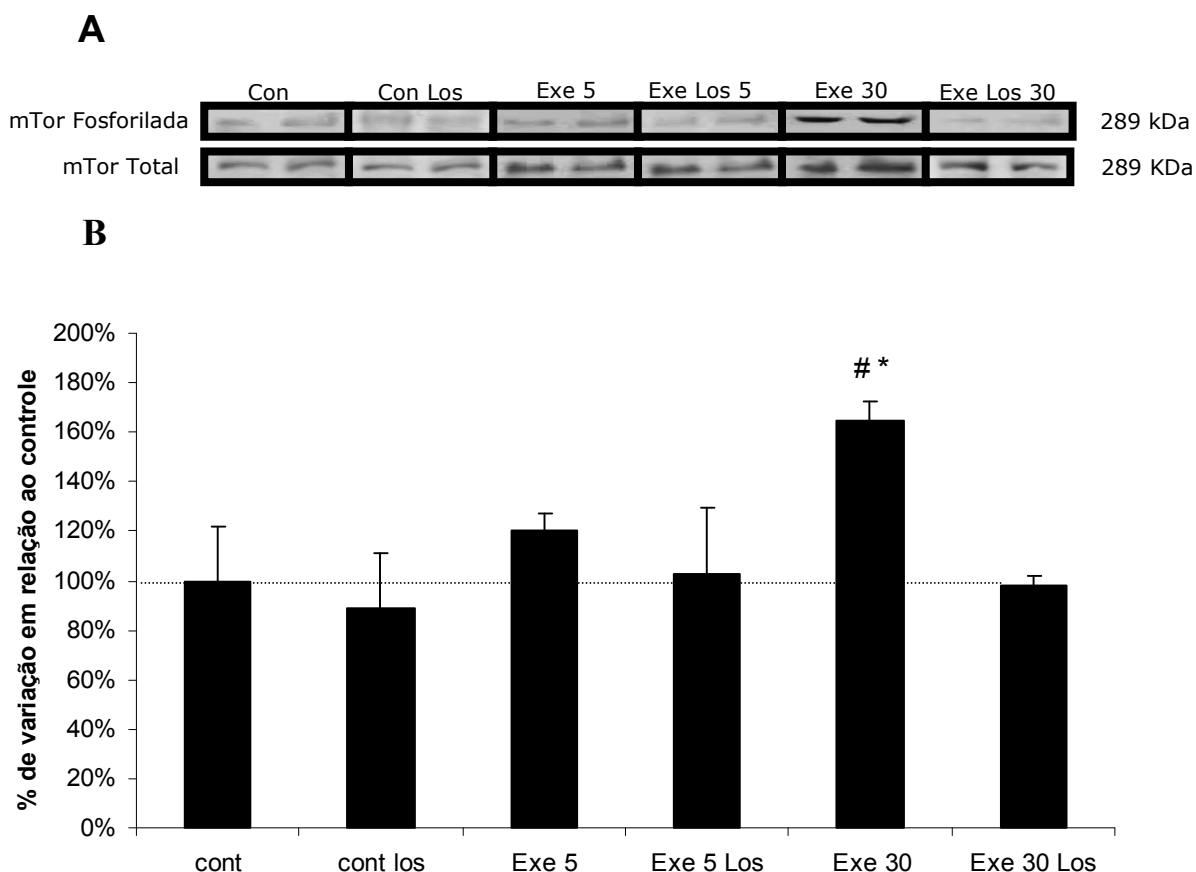
**FIGURA 2- A.** Representação da expressão protéica fosforilada e total em cada grupo estudado. **B.** AKT fosforilada/AKT total. As barras representam o resultado da desitometria e mostra a relação da expressão protéica da AKT fosforilada/ total. A linha tracejada representa o grupo controle. Dados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão. \*P < 0,05 vs. os grupos cont ou con los. #P < 0,05 vs. os grupos Exe 5 ou Exe 30 Los.

### 7.2 Expressão protéica da mTOR

A proteína mTOR, alvo de fosforilação da proteína AKT aumentou 64,45% no grupo Exe 30, quando comparado com o grupo controle (figura 3), mostrando que a



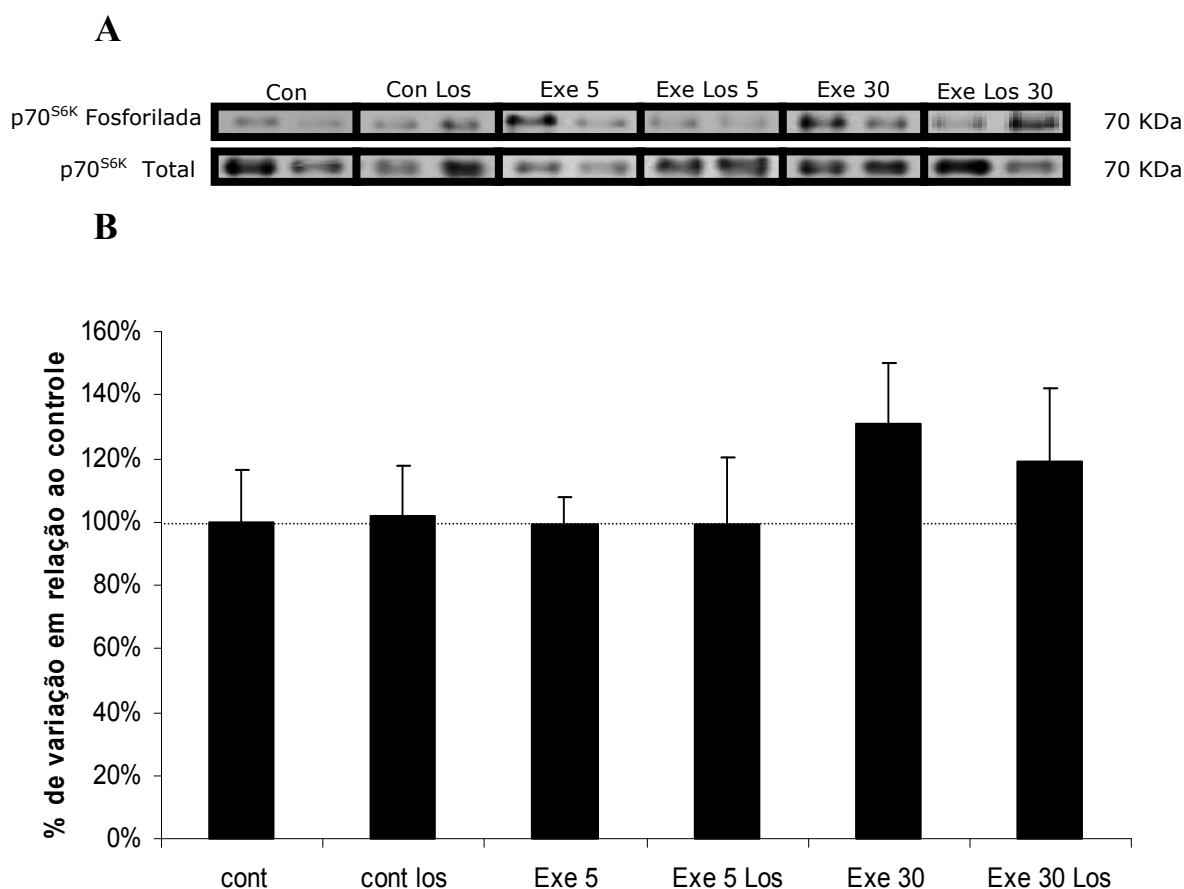
via AKT-mTOR é ativada por uma sessão de exercício de força neste modelo. Porém, somente foi observada diferença na fosforilação da mTOR entre o grupo Exe 30 e o grupo Exe 30 Los (67,86%). Isso que o receptor AT1 desempenha um papel importante na ativação da AKT/mTOR após uma sessão de exercício de força (Figura 3).



**FIGURA 3- A.** Representação da expressão protéica fosforilada e total em cada grupo estudado. **B.** mTOR fosforilada/mTOR total. As barras representam o resultado da desitometria e mostra a relação da expressão protéica da AKT fosforilada/ total. A linha tracejada representa o grupo controle. Dados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão. \*P < 0,05 vs. grupos cont ou con los. #P < 0,05 vs. grupos Exe 5 ou Exe 30 Los.

### 7.3 Expressão protéica da p70<sup>S6K</sup>

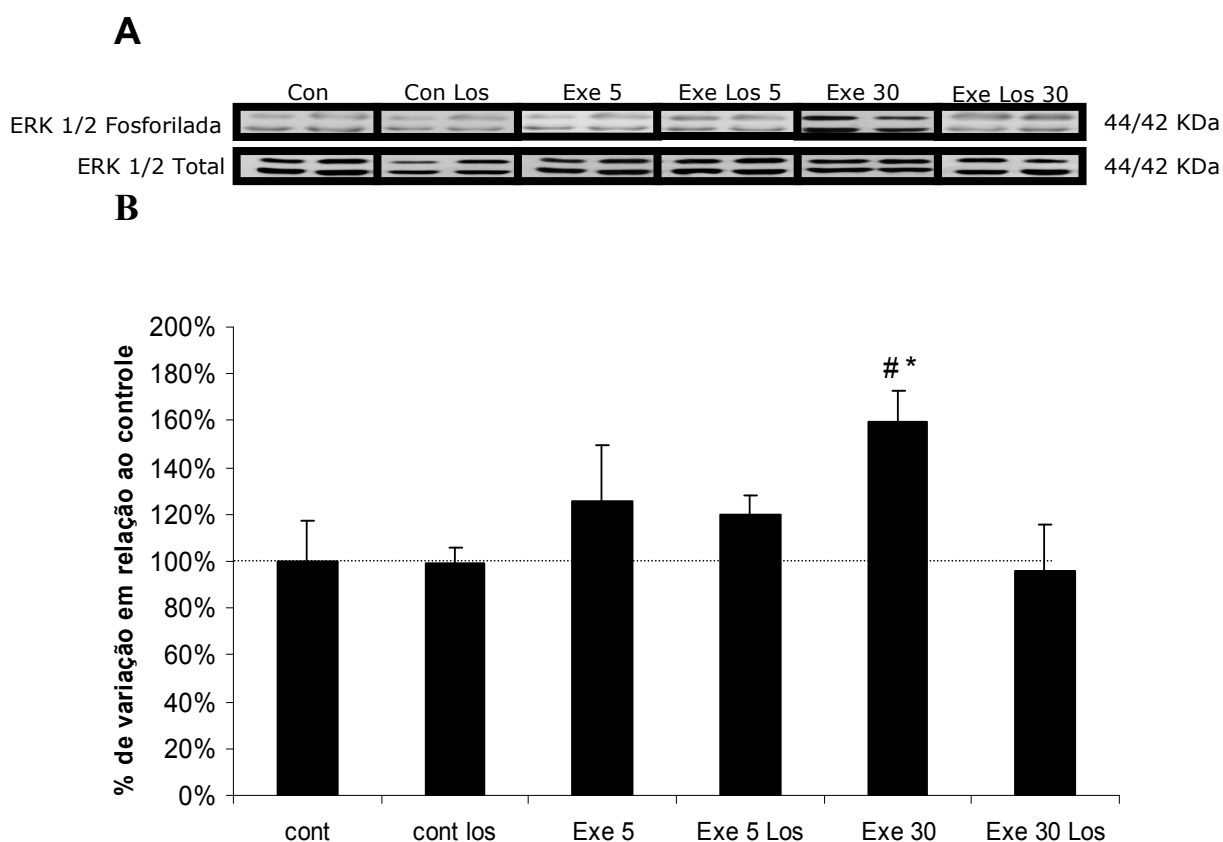
Não houve diferença significativa na fosforilação da p70<sup>S6K</sup> entre os grupos estudados (Figura 4).



**FIGURA 4- A.** Representação da expressão protéica fosforilada e total em cada grupo estudado. **B.** p70<sup>S6K</sup> fosforilada/ p70<sup>S6K</sup> total. As barras representam o resultado da desitometria e mostra a relação da expressão protéica da p70<sup>S6K</sup> fosforilada/ total. A linha tracejada representa o grupo controle. Dados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

#### 7.4 Expressão protéica da ERK 1/2

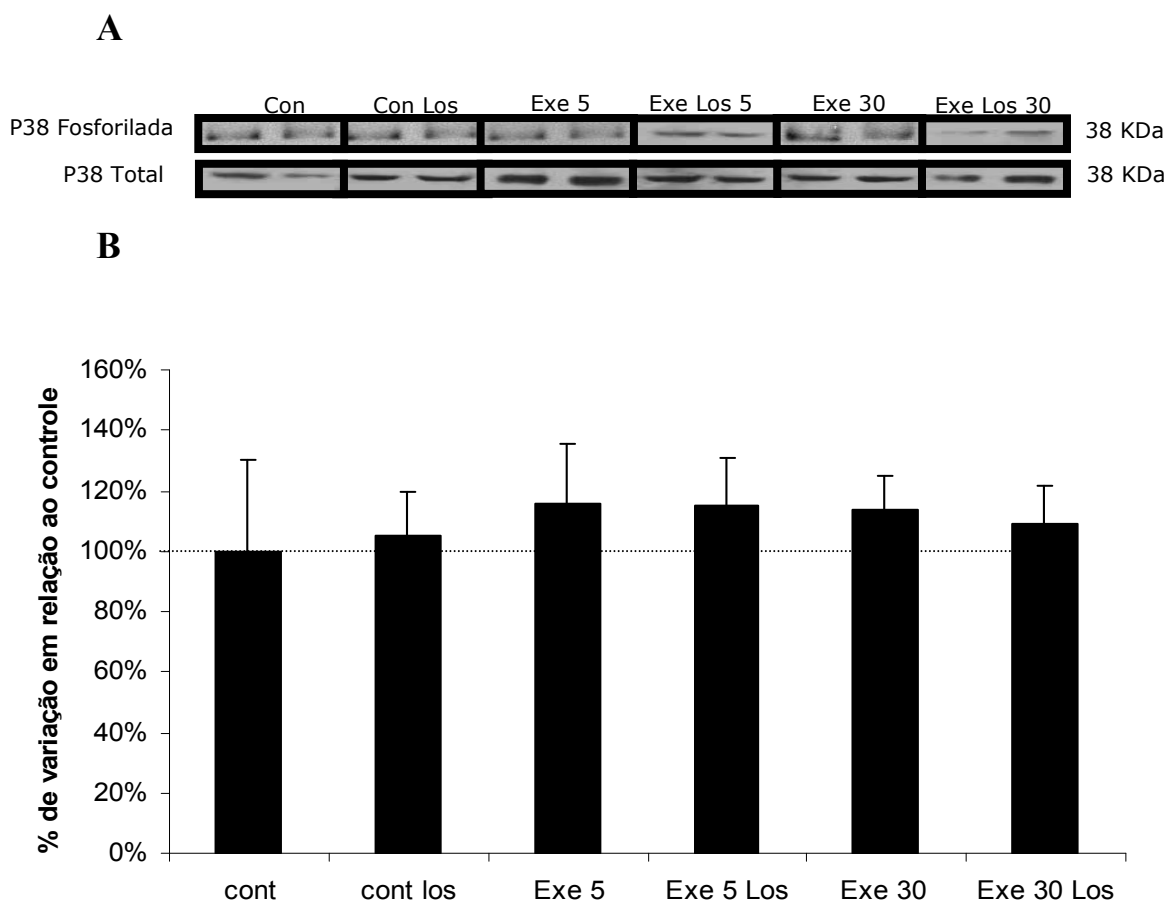
Apenas no grupo Exe 30 ocorreu um aumento de 59,12 % na fosforilação da proteína ERK 1 / 2, quando comparado com o grupo controle. Também verificou-se uma diferença de 65,88% neste grupo comparado com o grupo Exe Los 30 (Figura 5).



**FIGURA 5- A.** Representação da expressão protéica fosforilada e total em cada grupo estudado. **B.** ERK 1/2 fosforilada/ ERK 1/2 total. As barras representam o resultado da desitometria e mostra a relação da expressão protéica da ERK 1/2 fosforilada/ total. A linha tracejada representa o grupo controle. Dados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão. \*P < 0,05 vs. grupos cont ou con los. #P < 0,05 vs. grupos Exe 5 ou Exe 30 Los.

### 7.5 Expressão protéica da p38

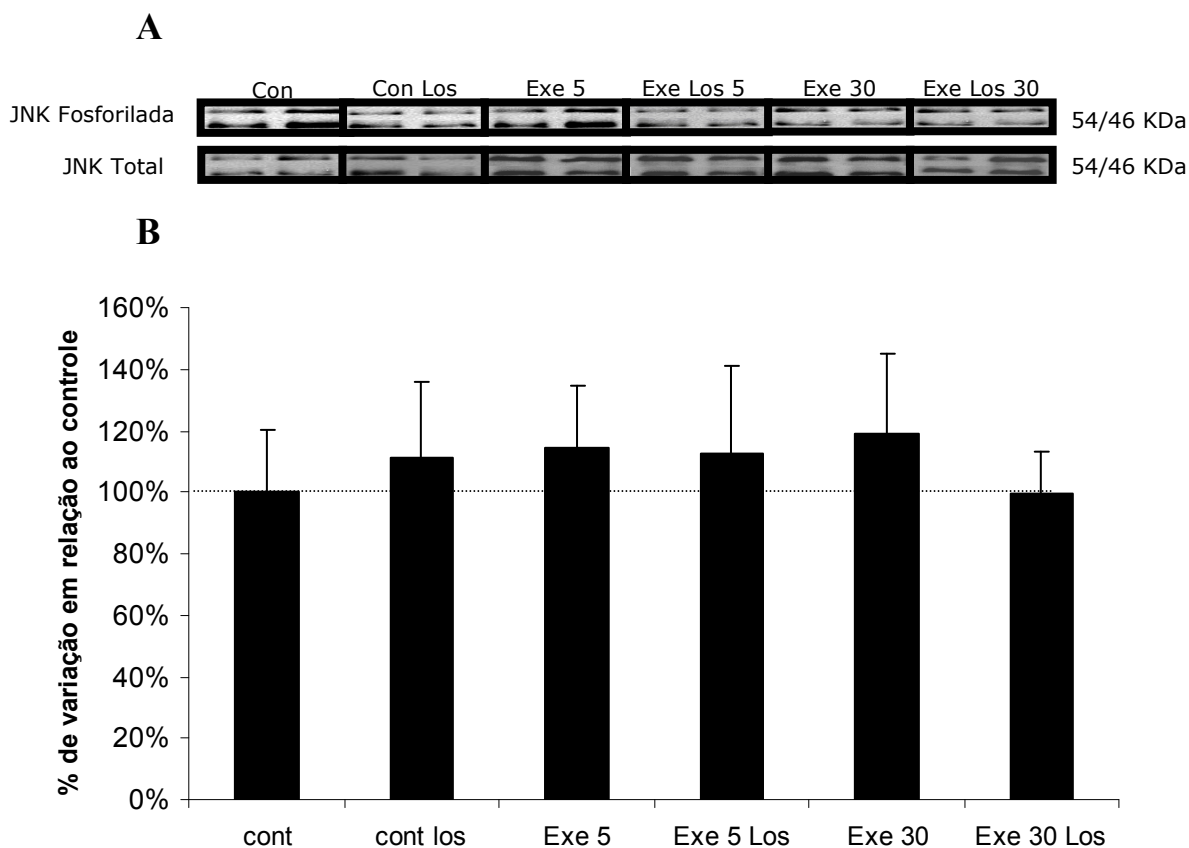
Não houve diferença significativa na fosforilação da P38 entre os grupos estudados (Figure 6).



**FIGURA 6- A.** Representação da expressão protéica fosforilada e total em cada grupo estudado. **B.** p38 fosforilada/p38 total. As barras representam o resultado da desitometria e mostra a relação da expressão protéica da P38 fosforilada/ total. A linha tracejada representa o grupo controle. Dados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

## 7.6 Expressão protéica da JNK

Não houve diferença significativa na fosforilação da JNK entre nenhum dos grupos estudados (Figure 7).



**FIGURA 7- A.** Representação da expressão protéica fosforilada e total em cada grupo estudado. **B.** JNK fosforilada/JNK total. As barras representam o resultado da desitometria e mostra a relação da expressão protéica da JNK fosforilada/ total. A linha tracejada representa o grupo controle. Dados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

## 8 DISCUSSÃO

Nesse estudo, investigamos a participação do receptor de Ang II tipo I na sinalização intracelular induzida por uma sessão de exercício de força. Demonstramos que uma sessão de exercício de força foi capaz induzir a ativação da via AKT-mTOR e da proteína ERK 1/2 no coração, via receptor AT1. A carga de trabalho cardíaco aumentado, durante as sessões de exercício de força é um bom modelo *in vivo* para estudar o efeito da sobrecarga de pressão, na ativação de vias

de sinalização intracelular, responsáveis pelas adaptações nos cardiomiócitos. Recentemente, em um estudo experimental com modelo de treinamento de força, o bloqueio do receptor AT1 foi capaz de prevenir o desenvolvimento da HC, portanto sugerindo a participação do receptor AT1 na sinalização intracelular associada à HC fisiológica. E essa participação do AT1 no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, pelo treinamento de força, ocorreu sem alteração na concentração da Ang II, na atividade da enzima conversora de angiotensina I, da renina plasmática e com diminuição da expressão do angiotensinogênio no coração, sugerindo que a participação deste receptor na ativação das vias intracelulares ocorreu pelo estiramento mecânico (BARAUNA, et al., 2008). Resultados semelhantes foram encontrados com treinamento físico de natação com animais que apresentaram atenuação da hipertrofia cardíaca quando tratados com losartana, embora o inibidor da enzima conversora de angiotensina I também tenha prevenido, em parte, a HC. Isso mostra que a Ang II pode ter participação na ativação do receptor no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca neste modelo (OLIVEIRA, et al., 2009).

A presença da Ang II é um ponto que pode diferenciar a ativação das vias intracelulares através do receptor AT1. ZOU, et al.,( 2004) verificaram que o receptor AT1 funciona como um sensor mecânico, ativando vias de sinalização hipertrófica, quando submetido ao estiramento mecânico em cultura de cardiomiócitos, na ausência da Ang II e essa ativação aconteceu com menor participação na ativação da proteína G e com maior ativação via Jak2. Interessantemente, FRANK, KUHN, BRORS, HANSELMANN, LUDDE, KATUS e FREY (2008), verificaram que o receptor AT1 ativado por estiramento mecânico foi responsável pela ativação de genes responsáveis por cardioproteção em cultura de cardiomiócitos e que isso ocorreu, provavelmente pela capacidade do receptor AT1 ativar vias que independem da proteína G. Enquanto, a presença da Ang II tem se mostrado fundamental para ativar a via da proteína G e promover o desenvolvimento de HC em modelos patológicos como nos trabalhos de WETTSCHURECK, RUTTEN, ZYWIETZ, GEHRING, WILKIE, CHEN, CHIEN e OFFERMANN (2001) que os autores mostraram que animais nocautes para a proteína Gq/G11 não apresentaram HC, após serem submetidos a sobrecarga de pressão pela CTA. Por outro lado, MENDE, KAGEN, COHEN, ARAMBURU, SCHOEN e NEER (1998), mostraram que a ativação crônica da proteína Gq/G11 foi suficiente para

promover o desenvolvimento de HC patológica. No entanto, a ativação da proteína G parece não ser primordial para que ocorra HC, conforme mostrado por ZHAI, et al., (2005). Neste trabalho, foi demonstrado em animais que superexpressavam o receptor AT1 e que apresentavam deleção da proteína G, um alto grau de HC, sendo que a participação do receptor AT1, nesse caso, ocorreu pela ativação de vias que independem da proteína G, como por exemplo, a via da Jak2\STAT2 (OSHIMA, et al., 2005). Nesse trabalho, os autores também observaram redução de fibrose e apoptose no coração dos animais, suportando a idéia de que o receptor AT1 pode ativar vias independentes da proteína G, como em situações de exercício e promover as adaptações fisiológicas como as observadas nesse modelo de treinamento.

Hormônios envolvidos com o aumento da síntese de proteína e hipertrofia dos cardiomiócitos, como IGF-1 estão aumentados em atletas profissionais (NERI SERNERI, BODDI, MODESTI, CECIONI, COPPO, PADELETTI, MICHELUCCI, COLELLA & GALANTI, 2001; WALSH, 2006) e ratos treinados (SCHEINOWITZ et al, 2003). Esse aumento na produção de IGF-1 cardíaco com o treinamento físico aeróbico está associado com o desenvolvimento da HC fisiológica. Animais nocaute para o receptor de IGF-1, quando submetidos ao treinamento de natação confirmaram a participação do receptor de IGF-1R na HC fisiológica (KIM, et al., 2008). Essa ativação do receptor de IGF-1 é associada com a via da PI3K-AKT-mTOR, como verificado nos trabalhos que utilizaram animais que não expressavam a subunidade p110 alfa da PI3K, ou animais com inativação gênica para AKT, que não apresentavam HC quando submetidos ao treinamento aeróbico (DEBOSCH, et al., 2006). Embora, esta via tenha sido sugerida para induzir a HC fisiológica em animais após de treinamento de natação, esteira rolante com intensidade moderada ou de treinamento físico intervalado de alta intensidade (DEBOSCH, et al., 2006; KEMI, et al., 2008; MCMULLEN, et al., 2003), um aumento inesperado foi verificado na fosforilação da AKT nos animais com inativação do receptor de IGF-1R treinados. Isto sugere uma outra via de ativação para a AKT com o treinamento físico aeróbico, que não depende da via do receptor de IGF-1R. Interessantemente, no presente trabalho, mostramos que o receptor AT1 participa da ativação da AKT em miocárdio de ratas submetidos a uma sessão de exercício de força. Embora o receptor AT1 participe da ativação de vias de sinalização celular envolvida com o desenvolvimento da HC patológica (AKHTER,

LUTTRELL, ROCKMAN, IACCARINO, LEFKOWITZ & KOCH, 1998; LEVY, GARRISON, SAVAGE, KANNEL & CASTELLI, 1990), o presente trabalho demonstrou que este receptor também ativa a via da AKT-mTOR, característica do desenvolvimento da HC fisiológica. Anteriormente, usando este modelo de treinamento de força nosso grupo já havia mostrado o desenvolvimento da HC fisiológica concêntrica, sem disfunção ou redução da cavidade ventricular, sem alteração da expressão de dois importantes marcadores de hipertrofia cardíaca patológica, o ANP e a relação alfa MHC/beta MHC (BARAUNA, et al., 2005; BARAUNA, et al., 2007).

No experimento realizado por MIYAMOTO, et al., (2004) para verificar a ativação de vias hipertróficas em modelo de sobrecarga de pressão imposta no coração, notou-se que a fosforilação da proteína  $p70^{S6K}$  ocorreu após 15 minutos nos animais submetidos a sobrecarga de pressão. O fato da  $p70^{S6K}$  ainda não estar ativa em nosso modelo, acreditamos ser principalmente devido ao estímulo necessário para ativação desta proteína, uma vez que os animais que realizaram o exercício e foram sacrificados 5 ou 30 minutos após o exercício não apresentaram diferença estatística em relação ao grupo controle, embora possa ter ocorrido aumento na fosforilação desta proteína em intervalo de tempo não estudado. Como a fosforilação da  $p70^{S6K}$  está diretamente envolvida com aumento de síntese de proteína na célula, no presente estudo o intuito foi verificar se estava ocorrendo aumento na fosforilação desta proteína com participação do receptor AT1 via AKT-mTor. Todavia, dados da literatura ainda não são claros em demonstrar se a via da mTor, por ativação da proteína  $p70^{S6K}$ , participa do desenvolvimento da hipertrofia cardíaca fisiológica em resposta ao treinamento físico aeróbico, via PI3K\AKT\mTor (KIM, et al., 2009; MOSCHELLA, et al., 2007).

Um estudo com animais submetidos a um protocolo de exercício, duas vezes por semana, em esteira, encontrou aumento na fosforilação da ERK 1/2, sendo que nesses animais ainda não havia a presença de HC (NAKAMURA, YOSHIDA, TAKEDA, DOHI & IKEDA, 2002). No entanto, em animais que já apresentavam HC quando submetidos ao treinamento de natação, não se observou aumento na fosforilação da ERK 1/2 (MCMULLEN, et al., 2003). Em um elegante estudo para verificar a ativação das MAPKs no coração de animais, verificou-se que a fosforilação da proteína ERK1/2, em resposta ao exercício, ocorreu imediatamente após a sessão de exercício



aeróbico. Contudo, esse efeito agudo na ativação desta proteína, diminuiu gradualmente com o treinamento. Estes resultados foram observados em animais treinados por oito semanas, quando submetidos a 30 minutos de exercício, que apresentavam aumento nos níveis de fosforilação da ERK 1/2, enquanto animais que foram submetidos a doze semanas de treinamento e já apresentavam HC não tiveram aumento nos níveis de fosforilação da ERK 1/2, após 30 minutos de exercício físico aeróbico (IEMITSU, et al, 2006). Os dados do nosso trabalho mostram que a ativação desta proteína ocorreu 30 minutos após o protocolo de exercício e a resposta dessa proteína ao exercício físico de força foi semelhante aos promovidos pelo exercício físico aeróbico. Classicamente, a ativação das MAPKs ocorrem via proteína Gq, após a estimulação de receptores, como por exemplo os adrenérgicos, de endotelina-1 e o AT1 em animais submetidos a modelo de sobrecarga pressórica (CLERK, AGGELI, STATHOPOULOU & SUGDEN, 2006; TAKEISHI, HUANG, ABE, GLASSMAN, CHE, LEE, KAWAKATSU, LAWRENCE, HOIT, BERK & WALSH, 2001; WETTSCHURECK, RUTTEN, ZYWIETZ, GEHRING, WILKIE, CHEN, CHIEN & OFFERMANN, 2001). No presente estudo verificamos que o aumento na fosforilação da ERK 1/2 ocorreu através do receptor AT1 após a sessão de exercício de força. Entretanto, não se sabe por qual via de sinalização o receptor AT1 ativa a ERK1/2. Desta forma, o modelo usado aqui passa a ser um bom modelo para entender como está sendo ativada e regulada a expressão gênica da ERK 1/2, no desenvolvimento da HC fisiológica.

A ativação da JNK em animais submetidos ao exercício físico ocorre com o pico de fosforilação da JNK e p38, aproximadamente com 30 minutos após uma sessão de exercício em animais sedentários. O presente trabalho mostrou que a fosforilação da JNK e p38 não aumentaram após 5 e 30 minutos de exercício, isso pode ter ocorrido, provavelmente, pela intensidade do exercício, uma vez que já foi demonstrado que a ativação dessas proteínas é diretamente proporcional a intensidade do exercício (BOLUYT, LOYD, ROTH, RANDALL & SONG, 2003). O fato da JNK e P38 não ter sido fosforiladas 30 minutos após o exercício, pode ser um fator determinante para diferenciar as adaptações promovidas pelo exercício físico de força das adaptações promovidas pelo exercício físico aeróbico no coração, uma vez que o protocolo utilizado no presente trabalho foi com intensidade alta de 80% de 1RM.

## **9 LIMITAÇÕES**

Embora não tenha sido a intenção neste estudo, não foi possível, com a utilização de uma sessão de exercício saber o quanto a ativação das vias de síntese, como a PI3K-AKT-mTor e MAPKs, está relacionada com o desenvolvimento da hipertrofia fisiológica pelo TF.

Outra limitação deste estudo foi a determinação dos tempos estudados, 5 e 30 minutos. Não se sabe se estes são realmente os tempos representativos do pico de expressão das proteínas fosforiladas.

## **10 CONCLUSÕES**

O presente estudo demonstrou que uma sessão de exercício de força foi capaz de ativar AKT, mTOR e ERK 1/2 no coração dos animais. O bloqueio do receptor AT1 por losartana foi capaz de inibir a ativação destas proteínas. Assim, podemos concluir que o receptor AT1 tem uma participação na transdução para ativação da AKT, mTOR e ERK 1/2 após uma sessão de exercício de força. Ainda, esta via de sinalização pode ser uma das vias responsáveis pelo desenvolvimento da HC com o TF, uma vez que já demonstramos, anteriormente, que ocorre aumento da expressão protéica do receptor AT1 no coração, o qual é bloqueado pelo uso de losartana, em animais treinados por 2 meses.

## **11 COMENTÁRIOS**

Diferentes trabalhos têm estudado a ativação das proteínas PI3K-AKT-mTOR, comparando modelo de sobrecarga de pressão através da CTA com o efeito do treinamento aeróbico em animais experimentais, o qual provoca uma sobrecarga de volume no coração (DEBOSCH, et al., 2006; KEMI, et al., 2008). Entendemos que um modelo de TF capaz de promover uma sobrecarga de pressão fisiológica parece ser a melhor forma de comparação com a sobrecarga de pressão imposta por CTA no coração, sendo, mais adequada para o estudo das sinalizações responsáveis por adaptações morfológicas características do estímulo pressórico, seja fisiológico ou patológico.

## 12 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AKHTER, S. A.; LUTTRELL, L. M.; ROCKMAN, H. A.; IACCARINO, G.; LEFKOWITZ, R. J.; KOCH, W. J. Targeting the receptor-Gq interface to inhibit in vivo pressure overload myocardial hypertrophy. **Science**, Washington, v.280, n.5363, p.574-7, 1998.

American College of Sports Medicine position stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness in healthy adults. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.22, n.2, p.265-74, 1990.

ATHERTON, P. J.; BABRAJ, J.; SMITH, K.; SINGH, J.; RENNIE, M. J.; WACKERHAGE, H. Selective activation of AMPK-PGC-1alpha or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. **The Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v.19, n.7, p.786-8, 2005.

BADER, M.; PETERS, J.; BALATU, O.; MULLER, D. N.; LUFT, F. C.; GANTEN, D. Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research. **Journal of Molecular Medicine**, New York, v.79, n.2-3, p.76-102, 2001.

BARAUNA, V. G.; BATISTA, M. L., JR.; COSTA ROSA, L. F.; CASARINI, D. E.; KRIEGER, J. E.; OLIVEIRA, E. M. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. **Clinical Experimental Pharmacology and Physiology**, v.32, n.4, p.249-54, 2005.

BARAUNA, V. G.; MAGALHAES, F. C.; KRIEGER, J. E.; OLIVEIRA, E. M. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, Hagerstown, v.295, n.2, p.R381-7, 2008.

BARAUNA, V. G.; ROSA, K. T.; IRIGOYEN, M. C.; DE OLIVEIRA, E. M. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. **Clinical Medicine Research**, v.5, n.2, p.114-20, 2007.

BARBIER, J.; LEBILLER, E.; VILLE, N.; RANNOU-BEKONO, F.; CARRE, F. Relationships between sports-specific characteristics of athlete's heart and maximal oxygen uptake. **European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation**, v.13, n.1, p.115-21, 2006.

BOLUYT, M. O.; LOYD, A. M.; ROTH, M. H.; RANDALL, M. J.; SONG, E. Y. Activation of JNK in rat heart by exercise: effect of training. **American Journal Physiology Heart Circulation Physiology**, v.285, n.6, p.H2639-47, 2003.

BUENO, O. F.; DE WINDT, L. J.; TYMITZ, K. M.; WITT, S. A.; KIMBALL, T. R.; KLEVITSKY, R.; HEWETT, T. E.; JONES, S. P.; LEFER, D. J.; PENG, C. F.; KITSIS, R. N.; MOLKENTIN, J. D. The MEK1-ERK1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice. **EMBO Journal** v.19, n.23, p.6341-50, 2000.

CALDERONE, A.; TAKAHASHI, N.; IZZO, N. J., JR.; THAIK, C. M.; COLUCCI, W. S. Pressure- and volume-induced left ventricular hypertrophies are associated with distinct myocyte phenotypes and differential induction of peptide growth factor mRNAs. **Circulation**, Dallas, v.92, n.9, p.2385-90, 1995.

CANTLEY, L. C. The phosphoinositide 3-kinase pathway. **Science**, Washington, v.296, n.5573, p.1655-7, 2002.

CANTLEY, L. C. The phosphoinositide 3-kinase pathway. **Science**, Washington, v.296, n.5573, p.1655-7, 2002.

CATALUCCI, D.; LATRONICO, M. V.; ELLINGSEN, O.; CONDORELLI, G. Physiological myocardial hypertrophy: how and why? **Frontiers in Bioscience**, v.13, p.312-24, 2008.

CHIU, T.; SANTISKULVONG, C.; ROZENGURT, E. EGF receptor transactivation mediates ANG II-stimulated mitogenesis in intestinal epithelial cells through the PI3-kinase/Akt/mTOR/p70S6K1 signaling pathway. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver**, v.288, n.2, p.G182-94, 2005.

CLERK, A.; AGGELI, I. K.; STATHOPOULOU, K.; SUGDEN, P. H. Peptide growth factors signal differentially through protein kinase C to extracellular signal-regulated kinases in neonatal cardiomyocytes. **Cell Signal**, v.18, n.2, p.225-35, 2006.

CLERK, A.; CULLINGFORD, T. E.; FULLER, S. J.; GIRALDO, A.; MARKOU, T.; PIKKARAINEN, S.; SUGDEN, P. H. Signaling pathways mediating cardiac myocyte gene expression in physiological and stress responses. **Journal Cell Physiology**, v.212, n.2, p.311-22, 2007.

COLAN, S. D. Mechanics of left ventricular systolic and diastolic function in physiologic hypertrophy of the athlete's heart. **Clinical Cardiology**, v.15, n.3, p.355-72, 1997.

COOPER, G. T.; KENT, R. L.; UBOH, C. E.; THOMPSON, E. W.; MARINO, T. A. Hemodynamic versus adrenergic control of cat right ventricular hypertrophy. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v.75, n.5, p.1403-14, 1985.

CRACKOWER, M. A.; OUDIT, G. Y.; KOZIERADZKI, I.; SARAO, R.; SUN, H.; SASAKI, T.; HIRSCH, E.; SUZUKI, A.; SHIOI, T.; IRIE-SASAKI, J.; SAH, R.; CHENG, H. Y.; RYBIN, V. O.; LEMBO, G.; FRATTA, L.; OLIVEIRA-DOS-SANTOS, A. J.; BENOVIC, J. L.; KAHN, C. R.; IZUMO, S.; STEINBERG, S. F.; WYMAN, M. P.;

BACKX, P. H.; PENNINGER, J. M. Regulation of myocardial contractility and cell size by distinct PI3K-PTEN signaling pathways. **Cell**, v.110, n.6, p.737-49, 2002.

DANSER, A. H.; SCHALEKAMP, M. A. Is there an internal cardiac renin-angiotensin system? **Heart**, London, v.76, n.3 Suppl 3, p.28-32, 1996.

DE CASSIA CYPRIANO ERVATI PINTER, R.; PADILHA, A. S.; DE OLIVEIRA, E. M.; VASSALLO, D. V.; DE FUCIO LIZARDO, J. H. Cardiovascular adaptive responses in rats submitted to moderate resistance training. **European Journal of Applied Physiology**, London, v.103, n.5, p.605-13, 2008.

DEBOSCH, B.; TRESKOV, I.; LUPU, T. S.; WEINHEIMER, C.; KOVACS, A.; COURTOIS, M.; MUSLIN, A. J. Akt1 is required for physiological cardiac growth. **Circulation**, Dallas, v.113, n.17, p.2097-104, 2006.

DESCHENES, M. R.; KRAEMER, W. J. Performance and physiologic adaptations to resistance training. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, Hagerstown, v.81, n.11 Suppl, p.S3-16, 2002.

DINH, D. T.; FRAUMAN, A. G.; JOHNSTON, C. I.; FABIANI, M. E. Angiotensin receptors: distribution, signalling and function. **Clinical Science**, London, v.100, n.5, p.481-92, 2001.

DORN, G. W., 2ND; FORCE, T. Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v.115, n.3, p.527-37, 2005.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v.82, n.1, p.47-95, 2002.

DZAU, V. J.; BRODY, T.; ELLISON, K. E.; PRATT, R. E.; INGELFINGER, J. R. Tissue-specific regulation of renin expression in the mouse. **Hypertension**, v.9, n.6 Pt 2, p.336-41, 1987.

EFFRON, M. B. Effects of resistive training on left ventricular function. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.21, n.6, p.694-7, 1989.

FAGARD, R. H. Impact of different sports and training on cardiac structure and function. **Cardiology Clinical**, v.15, n.3, p.397-412, 1997.

FAGARD, R.; AUBERT, A.; STAESSEN, J.; EYNDE, E. V.; VANHEES, L.; AMERY, A. Cardiac structure and function in cyclists and runners. Comparative echocardiographic study. **British Heart Journal**, v.52, n.2, p.124-9, 1984.

FLECK, S. J. Cardiovascular adaptations to resistance training. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.20, n.5 Suppl, p.S146-51, 1988.

FLEMING, I.; KOHLSTEDT, K.; BUSSE, R. New fACEs to the renin-angiotensin system. **Physiology**, v.20, p.91-5, 2005.

FLUCKEY, J. D.; KRAEMER, W. J.; FARRELL, P. A. Pancreatic islet insulin secretion is increased after resistance exercise in rats. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.79, n.4, p.1100-5, 1995.

FRANK, D.; KUHN, C.; BRORS, B.; HANSELMANN, C.; LUDDE, M.; KATUS, H. A.; FREY, N. Gene expression pattern in biomechanically stretched cardiomyocytes: evidence for a stretch-specific gene program. **Hypertension**, v.51, n.2, p.309-18, 2008.

FUNKE-KAISER, H.; REINEMUND, J.; STECKELINGS, U. M.; UNGER, T. Adapter proteins and promoter regulation of the angiotensin II type 2 receptor - implications for cardiac pathophysiology. **Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System**, v.10, p.1-11, 2009.

GOLDBLATT, H. Hypertension of Renal Origin. Historical and Experimental Background. **American Journal Surgery**, Belle Mead, v.107, p.21-5, 1934.

GROSSMAN, W.; JONES, D.; MCLAURIN, L. P. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. **The Journal of Clinical Investigation**, v.56, n.1, p.56-64, 1975.

HANSEN, H. S.; NIELSEN, J. R.; HYLDEBRANDT, N.; FROBERG, K. Blood pressure and cardiac structure in children with a parental history of hypertension: the Odense Schoolchild Study. **Journal of Hypertension**, v.10, n.7, p.677-82, 1992.

HEINEKE, J.; MOLKENTIN, J. D. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways. **Nature Reviews of Molecular Cell Biology**, v.7, n.8, p.589-600, 2006.

HO, K. W.; ROY, R. R.; TWEEDLE, C. D.; HEUSNER, W. W.; VAN HUSS, W. D.; CARROW, R. E. Skeletal muscle fiber splitting with weight-lifting exercise in rats. **American Journal of Anatomy**, v.157, n.4, p.433-40, 1980.

HORIUCHI, M.; NAKAMURA, N.; TANG, S. S.; BARRETT, G.; DZAU, V. J. Molecular mechanism of tissue-specific regulation of mouse renin gene expression by cAMP. Identification of an inhibitory protein that binds nuclear transcriptional factor. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.266, n.24, p.16247-54, 1991.

HUNYADY, L.; CATT, K. J. Pleiotropic AT1 receptor signaling pathways mediating physiological and pathogenic actions of angiotensin II. **Molecular Endocrinology** v.20, n.5, p.953-70, 2006.

HYNES, R. O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. **Cell**, v.69, n.1, p.11-25, 1992.

IEMITSU, M.; MAEDA, S.; JESMIN, S.; OTSUKI, T.; KASUYA, Y.; MIYAUCHI, T. Activation pattern of MAPK signaling in the hearts of trained and untrained rats following a single bout of exercise. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.101, n.1, p.151-63, 2006.

IJIMA, Y.; LASER, M.; SHIRAISHI, H.; WILLEY, C. D.; SUNDARAVADIVEL, B.; XU, L.; MCDERMOTT, P. J.; KUPPUSWAMY, D. c-Raf/MEK/ERK pathway controls protein kinase C-mediated p70S6K activation in adult cardiac muscle cells. **Journal Biological Chemistry**, v.277, n.25, p.23065-75, 2002.

INGBER, D. Integrins as mechanochemical transducers. **Current Opinion in Cell Biology**, v.3, n.5, p.841-8, 1991.

IWAI, N.; INAGAMI, T. Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. **FEBS Letters**, v.298, n.2-3, p.257-60, 1992.

KANAKIS, C.; HICKSON, R. C. Left ventricular responses to a program of lower-limb strength training. **Chest**, v.78, n.4, p.618-21, 1980.

KATONA, P. G.; MCLEAN, M.; DIGHTON, D. H.; GUZ, A. Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.52, n.6, p.1652-7, 1982.

KELLEY, G. A.; KELLEY, K. S. Progressive resistance exercise and resting blood pressure : A meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension**, v.35, n.3, p.838-43, 2000.

KEMI, O. J.; CECI, M.; WISLOFF, U.; GRIMALDI, S.; GALLO, P.; SMITH, G. L.; CONDORELLI, G.; ELLINGSEN, O. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. **Journal Cell Physiology**, v.214, n.2, p.316-21, 2008.

KIM, D.; AKCAKANAT, A.; SINGH, G.; SHARMA, C.; MERIC-BERNSTAM, F. Regulation and localization of ribosomal protein S6 kinase 1 isoforms. **Growth Factors**, v.27, n.1, p.12-21, 2009.

KIM, J.; WENDE, A. R.; SENA, S.; THEOBALD, H. A.; SOTO, J.; SLOAN, C.; WAYMENT, B. E.; LITWIN, S. E.; HOLZENBERGER, M.; LEROITH, D.; ABEL, E. D. Insulin-like growth factor I receptor signaling is required for exercise-induced cardiac hypertrophy. **Molecular Endocrinology**, v.22, n.11, p.2531-43, 2008.

KIRA, Y.; KOCHER, P. J.; GORDON, E. E.; MORGAN, H. E. Aortic perfusion pressure as a determinant of cardiac protein synthesis. **American Journal Physiology**, Bethesda, v.246, n.3 Pt 1, p.C247-58, 1984.

KLITGAARD, H. A model for quantitative strength training of hindlimb muscles of the rat. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.64, n.4, p.1740-5, 1988.

KORZICK, D. H.; HUNTER, J. C.; MCDOWELL, M. K.; DELP, M. D.; TICKERHOOF, M. M.; CARSON, L. D. Chronic exercise improves myocardial inotropic reserve capacity through alpha1-adrenergic and protein kinase C-dependent effects in Senescent rats. **Journals of Gerontology Series A: Biological Science and Medical**, v.59, n.11, p.1089-98, 2004.

KRISAN, A. D.; COLLINS, D. E.; CRAIN, A. M.; KWONG, C. C.; SINGH, M. K.; BERNARD, J. R.; YASPELKIS, B. B., 3RD. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high-fat-fed rodent skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.96, n.5, p.1691-700, 2004.

KUDOH, S.; KOMURO, I.; HIROI, Y.; ZOU, Y.; HARADA, K.; SUGAYA, T.; TAKEKOSHI, N.; MURAKAMI, K.; KADOWAKI, T.; YAZAKI, Y. Mechanical stretch induces hypertrophic responses in cardiac myocytes of angiotensin II type 1a receptor knockout mice. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.273, n.37, p.24037-43, 1998.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, Basingstoke, v.227, n.5259, p.680-5, 1970.

LAWLOR, M. A.; ALESSI, D. R. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? **Journal Cell Science**, v.114, n.Pt 16, p.2903-10, 2001.

LENTINI, A. C.; MCKELVIE, R. S.; MCCARTNEY, N.; TOMLINSON, C. W.; MACDOUGALL, J. D. Left ventricular response in healthy young men during heavy-intensity weight-lifting exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.75, n.6, p.2703-10, 1993.

LEVY, D.; GARRISON, R. J.; SAVAGE, D. D.; KANNEL, W. B.; CASTELLI, W. P. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. **The New England Journal Medicine**, Massachusetts, v.322, n.22, p.1561-6, 1990.

LEWIS, J. M.; SCHWARTZ, M. A. Mapping in vivo associations of cytoplasmic proteins with integrin beta 1 cytoplasmic domain mutants. **Molecular Biology of the Cell**, v.6, n.2, p.151-60, 1995.

LI, J. S.; SHARIFI, A. M.; SCHIFFRIN, E. L. Effect of AT1 angiotensin-receptor blockade on structure and function of small arteries in SHR. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.30, n.1, p.75-83, 1997.

LINDPAINTNER, K.; WILHELM, M. J.; JIN, M.; UNGER, T.; LANG, R. E.; SCHOELKENS, B. A.; GANTEN, D. Tissue renin-angiotensin systems: focus on the heart. **Journal of Hypertension**, v.5, n.2, p.S33-8, 1987.



LIU, H. W.; CHENG, B.; YU, W. L.; SUN, R. X.; ZENG, D.; WANG, J.; LIAO, Y. X.; FU, X. B. Angiotensin II regulates phosphoinositide 3 kinase/Akt cascade via a negative crosstalk between AT1 and AT2 receptors in skin fibroblasts of human hypertrophic scars. **Life Science**, v.79, n.5, p.475-83, 2006.

LOWE, D. A.; ALWAYS, S. E. Animal models for inducing muscle hypertrophy: are they relevant for clinical applications in humans? **The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy**, v.32, n.2, p.36-43, 2002.

LUO, J.; MCMULLEN, J. R.; SOBKIW, C. L.; ZHANG, L.; DORFMAN, A. L.; SHERWOOD, M. C.; LOGSDON, M. N.; HORNER, J. W.; DEPINHO, R. A.; IZUMO, S.; CANTLEY, L. C. Class IA phosphoinositide 3-kinase regulates heart size and physiological cardiac hypertrophy. **Molecular and Cellular Biology**, v.25, n.21, p.9491-502, 2005.

MACDOUGALL, J. D.; MCKELVIE, R. S.; MOROZ, D. E.; SALE, D. G.; MCCARTNEY, N.; BUICK, F. Factors affecting blood pressure during heavy weight lifting and static contractions. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.73, n.4, p.1590-7, 1992.

MACDOUGALL, J. D.; TUXEN, D.; SALE, D. G.; MOROZ, J. R.; SUTTON, J. R. Arterial blood pressure response to heavy resistance exercise. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.58, n.3, p.785-90, 1985.

MACKENNA, D. A.; DOLFI, F.; VUORI, K.; RUOSLAHTI, E. Extracellular signal-regulated kinase and c-Jun NH2-terminal kinase activation by mechanical stretch is integrin-dependent and matrix-specific in rat cardiac fibroblasts. **The Journal of Clinical Investigation**, v.101, n.2, p.301-10, 1998.

MARON, B. J.; DOERER, J. J.; HAAS, T. S.; TIERNEY, D. M.; MUELLER, F. O. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. **Circulation**, Dallas, v.119, n.8, p.1085-92, 2009.

MARTINEAU, L. C.; GARDINER, P. F. Insight into skeletal muscle mechanotransduction: MAPK activation is quantitatively related to tension. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.91, n.2, p.693-702, 2001.

MCCARTNEY, N. Acute responses to resistance training and safety. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.31, n.1, p.31-7, 1999.

MCCARTNEY, N.; MCKELVIE, R. S.; MARTIN, J.; SALE, D. G.; MACDOUGALL, J. D. Weight-training-induced attenuation of the circulatory response of older males to weight lifting. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.74, n.3, p.1056-60, 1993.

MCMULLEN, J. R.; JENNINGS, G. L. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure.

**Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.34, n.4, p.255-62, 2007.

MCMULLEN, J. R.; SHIOI, T.; HUANG, W. Y.; ZHANG, L.; TARNAVSKI, O.; BISPING, E.; SCHINKE, M.; KONG, S.; SHERWOOD, M. C.; BROWN, J.; RIGGI, L.; KANG, P. M.; IZUMO, S. The insulin-like growth factor 1 receptor induces physiological heart growth via the phosphoinositide 3-kinase(p110alpha) pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v.279, n.6, p.4782-93, 2004.

MCMULLEN, J. R.; SHIOI, T.; ZHANG, L.; TARNAVSKI, O.; SHERWOOD, M. C.; KANG, P. M.; IZUMO, S. Phosphoinositide 3-kinase(p110alpha) plays a critical role for the induction of physiological, but not pathological, cardiac hypertrophy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.100, n.21, p.12355-60, 2003.

MENARD, J. Anthology of the renin-angiotensin system: a one hundred reference approach to angiotensin II antagonists. **Journal of Hypertension**, v.11, n.3, p.S3-11, 1993.

MENDE, I.; MALSTROM, S.; TSICHLIS, P. N.; VOGT, P. K.; AOKI, M. Oncogenic transformation induced by membrane-targeted Akt2 and Akt3. **Oncogene**, v.20, n.32, p.4419-23, 2001.

MENDE, U.; KAGEN, A.; COHEN, A.; ARAMBURU, J.; SCHOEN, F. J.; NEER, E. J. Transient cardiac expression of constitutively active Galphaq leads to hypertrophy and dilated cardiomyopathy by calcineurin-dependent and independent pathways. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v.95, n.23, p.13893-8, 1998.

MITCHELL, J. H.; WILDENTHAL, K. Static (isometric) exercise and the heart: physiological and clinical considerations. **Annual Review Medicine**, Palo Alto, v.25, p.369-81, 1974.

MIYAMOTO, T.; TAKEISHI, Y.; TAKAHASHI, H.; SHISHIDO, T.; ARIMOTO, T.; TOMOIKE, H.; KUBOTA, I. Activation of distinct signal transduction pathways in hypertrophied hearts by pressure and volume overload. **Basic Research in Cardiology**, v.99, n.5, p.328-37, 2004.

MOLKENTIN, J. D.; LU, J. R.; ANTOS, C. L.; MARKHAM, B.; RICHARDSON, J.; ROBBINS, J.; GRANT, S. R.; OLSON, E. N. A calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy. **Cell**, v.93, n.2, p.215-28, 1998.

MONTGOMERY, H. Should the contribution of ACE gene polymorphism to left ventricular hypertrophy be reconsidered? **Heart**, v.77, n.6, p.489-90, 1997.

MORGANROTH, J.; MARON, B. J.; HENRY, W. L.; EPSTEIN, S. E. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. **Annals of Internal Medicine**, v.82, n.4, p.521-4, 1975.

MORIMOTO, S.; SIGMUND, C. D. Angiotensin mutant mice: a focus on the brain renin-angiotensin system. **Neuropeptides**, Basingstoke, v.36, n.2-3, p.194-200, 2002.

MOSCHELLA, P. C.; RAO, V. U.; MCDERMOTT, P. J.; KUPPUSWAMY, D. Regulation of mTOR and S6K1 activation by the nPKC isoforms, PKCepsilon and PKCdelta, in adult cardiac muscle cells. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.43, n.6, p.754-66, 2007.

MOSCHELLA, P. C.; RAO, V. U.; MCDERMOTT, P. J.; KUPPUSWAMY, D. Regulation of mTOR and S6K1 activation by the nPKC isoforms, PKCepsilon and PKCdelta, in adult cardiac muscle cells. **Journal Molecular Cell Cardiology**, v.43, n.6, p.754-66, 2007.

MYERSON, S. G.; MONTGOMERY, H. E.; WHITTINGHAM, M.; JUBB, M.; WORLD, M. J.; HUMPHRIES, S. E.; PENNELL, D. J. Left ventricular hypertrophy with exercise and ACE gene insertion/deletion polymorphism: a randomized controlled trial with losartan. **Circulation**, Dallas, v.103, n.2, p.226-30, 2001.

NAKAMURA, A.; YOSHIDA, K.; TAKEDA, S.; DOHI, N.; IKEDA, S. Progression of dystrophic features and activation of mitogen-activated protein kinases and calcineurin by physical exercise, in hearts of mdx mice. **FEBS Letters**, v.520, n.1-3, p.18-24, 2002.

NAZAROV, I. B.; WOODS, D. R.; MONTGOMERY, H. E.; SHNEIDER, O. V.; KAZAKOV, V. I.; TOMILIN, N. V.; ROGOZKIN, V. A. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes. **European Journal of Human Genetics**, v.9, n.10, p.797-801, 2001.

NEGRAO, C. E.; MOREIRA, E. D.; SANTOS, M. C.; FARAH, V. M.; KRIEGER, E. M. Vagal function impairment after exercise training. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.72, n.5, p.1749-53, 1992.

NERI SERNERI, G. G.; BODDI, M.; MODESTI, P. A.; CECIONI, I.; COPPO, M.; PADELETTI, L.; MICHELUCCI, A.; COLELLA, A.; GALANTI, G. Increased cardiac sympathetic activity and insulin-like growth factor-I formation are associated with physiological hypertrophy in athletes. **Circulation Research**, Baltimore, v.89, n.11, p.977-82, 2001.

NOTOMI, T.; LEE, S. J.; OKIMOTO, N.; OKAZAKI, Y.; TAKAMOTO, T.; NAKAMURA, T.; SUZUKI, M. Effects of resistance exercise training on mass, strength, and turnover of bone in growing rats. **European Journal of Applied Physiology**, London, v.82, n.4, p.268-74, 2000.

NOTOMI, T.; OKAZAKI, Y.; OKIMOTO, N.; SAITOH, S.; NAKAMURA, T.; SUZUKI, M. A comparison of resistance and aerobic training for mass, strength and turnover of

bone in growing rats. **European Journal of Applied Physiology**, v.83, n.6, p.469-74, 2000.

OLIVEIRA, E. M.; SASAKI, M. S.; CERENCIO, M.; BARAUNA, V. G.; KRIEGER, J. E. Local renin-angiotensin system regulates left ventricular hypertrophy induced by swimming training independent of circulating renin: a pharmacological study. **Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System**, v.10, n.1, p.15-23, 2009.

ODUIT, G. Y.; SUN, H.; KERFANT, B. G.; CRACKOWER, M. A.; PENNINGER, J. M.; BACKX, P. H. The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.37, n.2, p.449-71, 2004.

PARK, I. H.; BACHMANN, R.; SHIRAZI, H.; CHEN, J. Regulation of ribosomal S6 kinase 2 by mammalian target of rapamycin. **Journal Biology Chemistry**, v.277, n.35, p.31423-9, 2002.

PHIN, S.; KUPFERWASSER, D.; LAM, J.; LEE-FRUMAN, K. K. Mutational analysis of ribosomal S6 kinase 2 shows differential regulation of its kinase activity from that of ribosomal S6 kinase 1. **Biochemical Journal**, v.373, n.Pt 2, p.583-91, 2003.

PLUIM, B. M.; ZWINDERMAN, A. H.; VAN DER LAARSE, A.; VAN DER WALL, E. E. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation**, Dallas, v.101, n.3, p.336-44, 2000.

POLLOCK, M. L.; FRANKLIN, B. A.; BALADY, G. J.; CHAITMAN, B. L.; FLEG, J. L.; FLETCHER, B.; LIMACHER, M.; PINA, I. L.; STEIN, R. A.; WILLIAMS, M.; BAZZARRE, T. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. **Circulation**, Dallas, v.101, n.7, p.828-33, 2000.

PROUD, C. G. mTOR-mediated regulation of translation factors by amino acids. **Biochem Biophys Research Commun**, v.313, n.2, p.429-36, 2004.

PROUD, C. G. mTOR-mediated regulation of translation factors by amino acids. **Biochemical Biophys Research Commun**, v.313, n.2, p.429-36, 2004.

RE, R. N. Mechanisms of disease: local renin-angiotensin-aldosterone systems and the pathogenesis and treatment of cardiovascular disease. **Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine**, v.1, n.1, p.42-7, 2004.

RICCI, G.; LAJOIE, D.; PETITCLERC, R.; PERONNET, F.; FERGUSON, R. J.; FOURNIER, M.; TAYLOR, A. W. Left ventricular size following endurance, sprint, and

strength training. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.14, n.5, p.344-7, 1982.

ROSS, R. S.; PHAM, C.; SHAI, S. Y.; GOLDHABER, J. I.; FENCZIK, C.; GLEMBOTSKI, C. C.; GINSBERG, M. H.; LOFTUS, J. C. Beta1 integrins participate in the hypertrophic response of rat ventricular myocytes. **Circulation Research**, v.82, n.11, p.1160-72, 1998.

ROST, R. The athlete's heart. Historical perspectives--solved and unsolved problems. **Cardiology Clinical**, v.15, n.3, p.493-512, 1997.

RUKNUDIN, A.; SACHS, F.; BUSTAMANTE, J. O. Stretch-activated ion channels in tissue-cultured chick heart. **American Journal Physiology**, Bethesda, v.264, n.3 Pt 2, p.H960-72, 1993.

RUWHOF, C.; VAN DER LAARSE, A. Mechanical stress-induced cardiac hypertrophy: mechanisms and signal transduction pathways. **Cardiovasc Research**, v.47, n.1, p.23-37, 2000.

SABA, P. S.; ROMAN, M. J.; PINI, R.; SPITZER, M.; GANAU, A.; DEVEREUX, R. B. Relation of arterial pressure waveform to left ventricular and carotid anatomy in normotensive subjects. **Journal of the American College of Cardiology**, v.22, n.7, p.1873-80, 1993.

SADOSHIMA, J.; XU, Y.; SLAYTER, H. S.; IZUMO, S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. **Cell**, v.75, n.5, p.977-84, 1993.

SALE, D. G.; MOROZ, D. E.; MCKELVIE, R. S.; MACDOUGALL, J. D.; MCCARTNEY, N. Comparison of blood pressure response to isokinetic and weight-lifting exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v.67, n.2, p.115-20, 1993.

SASAMURA, H.; HEIN, L.; KRIEGER, J. E.; PRATT, R. E.; KOBILKA, B. K.; DZAU, V. J. Cloning, characterization, and expression of two angiotensin receptor (AT-1) isoforms from the mouse genome. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.185, n.1, p.253-9, 1992.

SEKO, Y.; TAKAHASHI, N.; SHIBUYA, M.; YAZAKI, Y. Pulsatile stretch stimulates vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion by cultured rat cardiac myocytes. **Biochem Biophys Res Commun**, v.254, n.2, p.462-5, 1999.

SEN, S.; KUNDU, G.; MEKHAIL, N.; CASTEL, J.; MISONO, K.; HEALY, B. Myotrophin: purification of a novel peptide from spontaneously hypertensive rat heart that influences myocardial growth. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.265, n.27, p.16635-43, 1990.

SHAPIRO, L. M. The morphologic consequences of systemic training. **Cardiology Clinical**, v.15, n.3, p.373-9, 1997.

SHARMA, G. D.; HE, J.; BAZAN, H. E. p38 and ERK1/2 coordinate cellular migration and proliferation in epithelial wound healing: evidence of cross-talk activation between MAP kinase cascades. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.278, n.24, p.21989-97, 2003.

SHIOI, T.; KANG, P. M.; DOUGLAS, P. S.; HAMPE, J.; YBALLE, C. M.; LAWITTS, J.; CANTLEY, L. C.; IZUMO, S. The conserved phosphoinositide 3-kinase pathway determines heart size in mice. **EMBO Journal**, v.19, n.11, p.2537-48, 2000.

SHIOI, T.; MCMULLEN, J. R.; KANG, P. M.; DOUGLAS, P. S.; OBATA, T.; FRANKE, T. F.; CANTLEY, L. C.; IZUMO, S. Akt/protein kinase B promotes organ growth in transgenic mice. **Molecular and cellular biology**, v.22, n.8, p.2799-809, 2002.

SHIOJIMA, I.; WALSH, K. Regulation of cardiac growth and coronary angiogenesis by the Akt/PKB signaling pathway. **Genes & Development**, v.20, n.24, p.3347-65, 2006.

SKRBIC, R.; IGIC, R. Seven decades of angiotensin (1939-2009). **Peptides**, v.30, p.1945-1950, 2009.

TAKEISHI, Y.; HUANG, Q.; ABE, J.; GLASSMAN, M.; CHE, W.; LEE, J. D.; KAWAKATSU, H.; LAWRENCE, E. G.; HOIT, B. D.; BERK, B. C.; WALSH, R. A. Src and multiple MAP kinase activation in cardiac hypertrophy and congestive heart failure under chronic pressure-overload: comparison with acute mechanical stretch. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.33, n.9, p.1637-48, 2001.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.24, n.8, p.881-6, 1992.

TANG, W.; DEVEREUX, R. B.; RAO, D. C.; OBERMAN, A.; HOPKINS, P. N.; KITZMAN, D. W.; ARNETT, D. K. Associations between angiotensinogen gene variants and left ventricular mass and function in the HyperGEN study. **American Heart Journal**, v.143, n.5, p.854-60, 2002.

THIENE, G.; BASSO, C.; CORRADO, D. Is prevention of sudden death in young athletes feasible? **Cardiologia**, v.44, n.6, p.497-505, 1999.

THOMAS, W. G.; QIAN, H. Arresting angiotensin type 1 receptors. **Trends Endocrinol Metabolism**, v.14, n.3, p.130-6, 2003.

TIMSON, B. F. Evaluation of animal models for the study of exercise-induced muscle enlargement. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.69, n.6, p.1935-45, 1990.

TOWBIN, H.; OZBEY, O.; ZINGEL, O. An immunoblotting method for high-resolution isoelectric focusing of protein isoforms on immobilized pH gradients. **Electrophoresis**, London, v.22, n.10, p.1887-93, 2001.

TURNER, A. J.; HOOPER, N. M. The angiotensin-converting enzyme gene family: genomics and pharmacology. **Trends in pharmacological sciences**, v.23, n.4, p.177-83, 2002.

URHAUSEN, A.; KINDERMANN, W. Echocardiographic findings in strength- and endurance-trained athletes. **Sports Medicine**, v.13, n.4, p.270-84, 1992.

USHIO-FUKAI, M.; GRIENDLING, K. K.; AKERS, M.; LYONS, P. R.; ALEXANDER, R. W. Temporal dispersion of activation of phospholipase C-beta1 and -gamma isoforms by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. Role of alphaq/11, alpha12, and beta gamma G protein subunits. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.273, n.31, p.19772-7, 1998.

WALSH, K. Akt signaling and growth of the heart. **Circulation**, Dallas, v.113, n.17, p.2032-4, 2006.

WANG, T. L.; YANG, Y. H.; CHANG, H.; HUNG, C. R. Angiotensin II signals mechanical stretch-induced cardiac matrix metalloproteinase expression via JAK-STAT pathway. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v.37, n.3, p.785-94, 2004.

WEBER, K. T.; BRILLA, C. G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. **Circulation**, Dallas, v.83, n.6, p.1849-65, 1991.

WETTSCHURECK, N.; RUTTEN, H.; ZYWIETZ, A.; GEHRING, D.; WILKIE, T. M.; CHEN, J.; CHIEN, K. R.; OFFERMANN, S. Absence of pressure overload induced myocardial hypertrophy after conditional inactivation of Galphaq/Galpha11 in cardiomyocytes. **Nature Medicine**, v.7, n.11, p.1236-40, 2001.

WETTSCHURECK, N.; RUTTEN, H.; ZYWIETZ, A.; GEHRING, D.; WILKIE, T. M.; CHEN, J.; CHIEN, K. R.; OFFERMANN, S. Absence of pressure overload induced myocardial hypertrophy after conditional inactivation of Galphaq/Galpha11 in cardiomyocytes. **Nature Medicine**, v.7, n.11, p.1236-40, 2001.

WIECEK, E. M.; MCCARTNEY, N.; MCKELVIE, R. S. Comparison of direct and indirect measures of systemic arterial pressure during weightlifting in coronary artery disease. **American Journal Cardiology**, New York, v.66, n.15, p.1065-9, 1990.

WILKINS, B. J.; DAI, Y. S.; BUENO, O. F.; PARSONS, S. A.; XU, J.; PLANK, D. M.; JONES, F.; KIMBALL, T. R.; MOKENTIN, J. D. Calcineurin/NFAT coupling participates in pathological, but not physiological, cardiac hypertrophy. **Circulation Research**, v.94, n.1, p.110-8, 2004.

YAMAZAKI, T.; KOMURO, I.; KUDOH, S.; ZOU, Y.; SHIOJIMA, I.; HIROI, Y.; MIZUNO, T.; MAEMURA, K.; KURIHARA, H.; AIKAWA, R.; TAKANO, H.; YAZAKI, Y. Endothelin-1 is involved in mechanical stress-induced cardiomyocyte hypertrophy. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.271, n.6, p.3221-8, 1996.

YASPELKIS, B. B., 3RD; SINGH, M. K.; TREVINO, B.; KRISAN, A. D.; COLLINS, D. E. Resistance training increases glucose uptake and transport in rat skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.175, n.4, p.315-23, 2002.

YIN, G.; YAN, C.; BERK, B. C. Angiotensin II signaling pathways mediated by tyrosine kinases. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, London, v.35, n.6, p.780-3, 2003.

YIN, G.; ZHENG, Q.; YAN, C.; BERK, B. C. GIT1 is a scaffold for ERK1/2 activation in focal adhesions. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.280, n.30, p.27705-12, 2005.

ZOU, Y.; AKAZAWA, H.; QIN, Y.; SANO, M.; TAKANO, H.; MINAMINO, T.; MAKITA, N.; IWANAGA, K.; ZHU, W.; KUDOH, S.; TOKO, H.; TAMURA, K.; KIHARA, M.; NAGAI, T.; FUKAMIZU, A.; UMEMURA, S.; IIRI, T.; FUJITA, T.; KOMURO, I. Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II. **Nature Cell Biology**, v.6, n.6, p.499-506, 2004.