



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS**

**EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA NA  
SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRITMIAS  
VENTRICULARES**

**SÃO CRISTÓVÃO  
2020**

	<p style="text-align: center;"><b>RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS</b></p> <p style="text-align: center;"><b>EFETOS DO TREINAMENTO DE FORÇA NA SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRITMIAS VENTRICULARES</b></p> <p style="text-align: center;"><b>2020</b></p>
--	--

**RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS**

**EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA NA  
SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRITMIAS  
VENTRICULARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

**Orientadora:** Profa. Dra. Sandra Lauton Santos  
**Co-orientador:** Prof. Dr. José Bianco N. Moreira

**SÃO CRISTÓVÃO  
2020**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S237e Santos, Rodrigo Miguel dos  
Efeitos do treinamento de força na susceptibilidade às arritmias  
ventriculares / Rodrigo Miguel dos Santos ; orientadora Sandra  
Lauton Santos. – São Cristóvão, SE, 2020.  
87 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade  
Federal de Sergipe, 2020.

1. Arritmia. 2. Exercícios físicos. 3. Stress oxidativo. 4. Coração –  
Doenças – Treinamento físico. I. Santos, Sandra Lauton, orient. II.  
Título.

CDU 616.12-008.318:796.015.52

**RODRIGO MIGUEL DOS SANTOS**

**EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA NA  
SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRITMIAS VENTRICULARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

**Presidente: Profa. Dra. Sandra Lauton Santos**

**1º Examinador: Prof. Dr. Márcio Roberto Viana dos Santos**

**2º Examinador: Prof. Dr. Marcos Bezerra de Almeida**

**3º Examinador: Prof. Dr. Antônio José Natali**

**4º Examinador: Prof. Dr. Rogério Brandão Wichi**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes), através do Programa de Doutorado-sanduíche no Exterior (PDSE), com número de protocolo **88881.187403/2018-01**.

## RESUMO

**Efeitos do treinamento de força na susceptibilidade às arritmias ventriculares, Rodrigo Miguel dos Santos, São Cristóvão-SE, 2020.** O treinamento físico é uma importante ferramenta para prevenção de doenças e tem sido usado como auxiliar no tratamento destas, em especial as cardiovasculares. Entretanto, novas evidências indicam que, quando realizado em quantidades excessivas, o exercício físico pode resultar em efeitos indesejáveis no tecido cardíaco. Assim, faz-se importante o estudo de protocolos de dose-resposta, a fim de se entender quais intensidades e frequências de exercício físico passam a ser intoleráveis ou deletérias ao sistema cardiovascular. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do treinamento de força sobre as arritmias cardíacas em ratos saudáveis. Ratos Wistar foram treinados por seis semanas em um protocolo de treinamento de força mimético ao agachamento. Os animais foram alocados aleatoriamente nos grupos controle, baixa, moderada e alta intensidade, treinados três vezes por semana; ou controle, baixa, moderada e alta intensidade, treinados cinco vezes por semana. Após o período de treinamento os animais passaram por um teste *in vivo* de susceptibilidade às arritmias através da injeção intraperitoneal de cafeína e epinefrina, e foram monitorados continuamente através de um eletrocardiograma. Os testes revelaram que os animais treinados cinco vezes por semana e com alta intensidade tiveram maior susceptibilidade às arritmias ventriculares do que os outros grupos. Assim, foram investigadas as alterações cardíacas elétricas e contráteis nos animais treinados com alta intensidade e alto volume. Foi identificado que o treinamento em alta intensidade e alta frequência provocou o prolongamento do intervalo QT. Utilizando a técnica de RT-PCR, investigamos as alterações na expressão dos genes envolvidos na regulação da repolarização cardíaca e observamos um aumento na expressão gênica de *Kcnj2* e *Kcne2*, e redução de *Kcnd3*. Além disso, houve aumento na expressão dos genes codificantes de triadina, calmodulina e da proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina do tipo II delta, e redução da ATPase de cálcio do retículo sarcoplasmático e do trocador sódio/cálcio. Apesar do treinamento de força não ter causado hipertrofia e fibrose cardíaca, esse aumentou a expressão gênica de mediadores relacionados com esse fenômeno, como o peptídeo natriurético atrial, bem como reduziu expressão de actina alfa 1 e as cadeias pesadas de miosina alfa e beta. Para melhor compreender as alterações causadas pelo treinamento de força intenso, foi avaliada a produção de espécies reativas de oxigênio no tecido cardíaco e verificou-se o seu aumento ocasionado pelo aumento da expressão da NADPH oxidase 4. Estas alterações foram seguidas pelo aumento dos danos oxidativos no ventrículo esquerdo e pela redução da expressão dos genes das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e glutathiona peroxidase. Em conjunto, nossos dados mostram que o treinamento de força resulta em condição favorável ao aparecimento de arritmias ventriculares, num efeito dependente da intensidade e da frequência de treinamento.

**Descritores:** Arritmia cardíaca; Treinamento resistido; Intensidade do treinamento; Exercício físico; Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

**Effects of strength training on ventricular arrhythmias susceptibility, Rodrigo Miguel dos Santos, São Cristóvão-SE, 2020.** Physical training is an essential tool for disease prevention and has been used as treatment of diseases, especially for cardiovascular diseases. However, recent evidence suggests a potential negative effect when exercise is performed at excessive amount. It thus becomes important to investigate dose-response exercise protocols, aiming to define the limiting doses, particularly at which the cardiac effects become deleterious. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of strength training on cardiac arrhythmias in healthy rats. Male Wistar rats were trained for six weeks in a squat-mimicking strength training protocol. The animals were randomly allocated to control, low-, moderate- or high-intensity groups, trained three times a week; or control, low-, moderate-, and high-intensity, trained five times a week. After the training period, animals were subjected to in vivo arrhythmias susceptibility assessments, under caffeine and epinephrine stimulation, and were monitored with electrocardiogram examinations. Our findings revealed that animals trained five times a week on high intensity protocols were more susceptible to ventricular arrhythmias than all other groups. Further, electrical and contractile cardiac properties were investigated in animals trained with high intensity and high frequency, where we found strength training caused QT interval prolongation. We also used RT-PCR to assess expression of key genes involved in cardiac repolarization, which revealed an increase in *Kcnj2* and *Kcne2* and reduced *Kcnd3* expression. In addition, we observed an increase in triadin, calmodulin and calcium-dependent protein kinase/calmodulin type II delta expression, along with a reduction in the calcium ATPase of the sarcoplasmic reticulum and the sodium/calcium exchanger. Although strength training did not cause cardiac hypertrophy or fibrosis, it increased mRNA abundance of atrial natriuretic peptide, actin alfa 1 and myosin heavy chains – all biomarkers of pathological cardiac phenotypes. In order to better understand the changes caused by strenuous strength training, production of reactive oxygen species was assessed in cardiac tissue, and its increase was verified due to the increased expression of NADPH oxidase 4. These changes were followed by increased oxidative damage in left ventricles and reduced gene expression of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and glutathione peroxidase. Altogether, our findings show that strength training induces a condition favorable to ventricular arrhythmias appearance, with an effect that is dependent on exercise intensity and frequency.

**Keywords:** Cardiac arrhythmia; Resistance training; Training intensity; Physical exercise; Oxidative stress.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Treinamento de força em alta intensidade e alta frequência aumenta a susceptibilidade às arritmias in vivo. ....	36
<b>Figura 2.</b> Monitoramento do desempenho e da antropometria dos animais durante o período experimental. ....	37
<b>Figura 3.</b> Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência provoca o prolongamento do intervalo QT de ratos. ....	38
<b>Figura 4.</b> Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência não altera a função cardíaca em coração isolado de ratos. ....	39
<b>Figura 5.</b> Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência desregula a expressão de genes dos reguladores do canal para potássio nos ventrículos de ratos. ....	40
<b>Figura 6.</b> Treinamento de força de alta intensidade e frequência desregula a expressão de genes dos reguladores do ciclo de cálcio nos ventrículos de ratos. ....	41
<b>Figura 7.</b> Treinamento de força de alta intensidade e frequência não causa hipertrofia cardíaca em ratos, mas altera a expressão de genes relacionados ao seu controle. ....	42
<b>Figura 8.</b> Treinamento de força de alta intensidade e frequência não aumenta a fibrose intersticial e perivascular em ventrículos de ratos. ....	43
<b>Figura 9.</b> Treinamento de força de alta intensidade e frequência aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio nos ventrículos. ....	45

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Sequência dos oligonucleotídeos utilizados. ....	34
---	----

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	3
2.1. PRINCIPAIS MANIFESTAÇÕES DE ARRITMIAS CARDÍACAS .....	3
<b>2.1.1. Arritmias supraventriculares</b> .....	3
2.1.1.1. Batimentos atriais prematuros .....	3
2.1.1.2. Flutter atrial .....	4
2.1.1.3. Taquicardia atrial .....	4
2.1.1.4. Fibrilação atrial .....	5
<b>2.1.2. Arritmia ventricular</b> .....	5
2.1.2.1. Batimentos ventriculares prematuros .....	6
2.1.2.2. Taquicardia ventricular .....	6
2.1.2.3. Fibrilação ventricular.....	7
2.2. PATOFISIOLOGIA E MECANISMOS DAS ARRITMIAS VENTRICULARES .....	7
2.3. GATILHOS E SUBSTRATOS DAS ARRITMIAS .....	8
<b>2.3.1. Controle autonômico cardíaco</b> .....	9
<b>2.3.2. Alterações eletrofisiológicas</b> .....	9
<b>2.3.3. Contribuição genética</b> .....	13
<b>2.3.4. Inflamação</b> .....	14
<b>2.3.5. Estresse oxidativo</b> .....	14
<b>2.3.6. Remodelamento do tecido cardíaco</b> .....	15
2.4. VISÃO GERAL DAS ARRITMIAS INDUZIDAS PELO EXERCÍCIO.....	16
<b>2.4.1. Incidência e prevalência das arritmias cardíacas em atleta</b> .....	16
<b>2.4.2. Patofisiologia das arritmias cardíacas induzidas pelo exercício físico</b> .....	20
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	23
3.1. OBJETIVO GERAL.....	23
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>4. MÉTODOS</b> .....	24
4.1. ANIMAIS .....	24
4.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	24
4.3. PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE FORÇA .....	25
4.4. ELETROCARDIOGRAMA.....	277
4.5. DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO .....	27

4.6. SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRÍTMIAS CARDÍACAS.....	28
4.7. ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	29
4.8. ANÁLISE HISTOLÓGICA .....	29
4.9. MEDIDA DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO .....	29
4.10. MEDIDA DOS DANOS OXIDATIVOS.....	30
4.11. ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES .....	31
4.12. DOSAGEM DE PROTEÍNAS .....	32
4.13. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA.....	32
4.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
5.1. TREINAMENTO DE FORÇA INTENSO AUMENTA A SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRITMIAS VENTRICULARES .....	35
5.2. ALTERAÇÕES DA FUNÇÃO ELÉTRICA CARDÍACA INDUZIDA PELO TREINAMENTO DE FORÇA DE ALTA INTENSIDADE.....	37
5.3. TREINAMENTO DE FORÇA DE CURTO PRAZO NÃO INDUZ REMODELAMENTO CARDÍACO .....	41
5.4. O ESTRESSE OXIDATIVO É UM FATOR CHAVE PARA O DESENVOLVIMENTO DAS ARRITMIAS INDUZIDAS POR TREINAMENTO DE FORÇA DE ALTA INTENSIDADE E ALTA FREQUÊNCIA .....	44
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>75</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Apesar de todos os avanços científicos e tecnológicos alcançados nos últimos anos, as doenças cardiovasculares ainda aparecem como as principais causas de morte mundialmente (GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators, 2020). Dentre estas doenças, as anormalidades ou perturbações nos batimentos normais do miocárdio, conhecidas como arritmias cardíacas, têm ganhado cada vez mais atenção. A estimativa de morte por arritmias ventriculares aponta para 38 mortes para cada 100.000 pessoas em uma população com 20 anos ou mais (Cobb *et al.*, 2002). No entanto, é importante ressaltar que as arritmias podem estar relacionadas a um número ainda maior de mortes, visto que autopsias revelaram que as arritmias cardíacas podem ser a causa de 56% das mortes súbitas (Tseng *et al.*, 2018).

O exercício físico é um dos mais notáveis promotores de saúde e nos últimos anos tem tido bastante destaque na área médica, sendo a sua prática regular e organizada, denotada como treinamento físico, recomendada em diversas diretrizes médicas como importante ferramenta terapêutica no tratamento de doenças (Carvalho *et al.*, 2020; Colberg *et al.*, 2016; Hayes *et al.*, 2019; Whelton *et al.*, 2018; Williams *et al.*, 2018). Isto tem ocorrido devido aos diversos relatos na literatura demonstrando os efeitos benéficos do treinamento físico na prevenção e tratamento de doenças, especialmente as cardiovasculares. O treinamento de força é uma modalidade de treinamento físico que envolve a contração da musculatura esquelética para mover uma carga ou se opor a uma força contrária. Esta modalidade de treinamento físico também está inserida neste contexto e vem ganhando maior atenção à medida em que o complexo controle de suas variáveis vem sendo decifrado.

O treinamento físico também tem sido relatado como benéfico no tratamento de pacientes com arritmias cardíacas (Ávila *et al.*, 2016; Malmö *et al.*, 2016; Qin *et al.*, 2019). Entretanto, o crescente aumento no número de casos de morte súbita em atletas e ex-atletas, bem como o surgimento de casos de mortes durante o exercício, chamaram atenção para um possível efeito paradoxal do treinamento físico. Ironicamente, uma metanálise demonstrou que o treinamento físico de alta intensidade de longo prazo ou a falta de atividade física estão associados ao aumento do risco de desenvolvimento de arritmias, enquanto que o exercício físico realizado em intensidade moderada pode estar associada à redução deste risco (Nielsen, Wachtell e Abdulla, 2013). Mais recentemente, a *American Heart Association* liberou uma atualização da sua declaração científica sobre os eventos cardiovasculares relacionados ao exercício e as adaptações potencialmente deletérias após treinamento físico de longo prazo (Franklin *et al.*, 2020). Neste documento os autores também sugerem a existência de uma curva

J de associação da dose de atividade física e o risco de arritmias, na qual a inatividade física e altos níveis de atividade física estão associados com a incidência de eventos cardíacos, enquanto níveis baixos e moderados de atividade física reduzem a incidência destes eventos.

Com a crescente adoção de protocolos de alta intensidade na prática de exercício físico, e levando em consideração as evidências recentes que apontam para a necessidade de um melhor controle das variáveis do treinamento tanto para atletas quanto para entusiastas e pacientes, novos estudos nessa linha se fazem necessários. Portanto, neste estudo investigamos os efeitos do treinamento de força – empregado em diferentes variações de intensidade e frequência – na susceptibilidade às arritmias cardíacas em um modelo experimental.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

Alterações na frequência e no ritmo cardíaco são eventos necessários para qualquer ser do reino animal, pois permitem a realização das atividades indispensáveis para a sobrevivência. Isto ocorre quando estamos dormindo, fazendo atividade física e em momentos de estresse, seja ele físico ou mental. No entanto, alterações constantes no ritmo cardíaco com manifestações irregulares podem acarretar sérios problemas de saúde. Estas alterações no ritmo cardíaco gerando sinais irregulares são denominadas arritmias ou disritmias cardíacas. Dentre as principais causas estão as doenças cardíacas preexistentes, condições congênitas, uso de substâncias químicas que causam dependência e estilo de vida inadequado (El-Sherif e Turitto, 2011; La Gerche e Brosnan, 2017; Priori *et al.*, 2015).

As arritmias ventriculares são uma das principais causas de morbidade e morte súbita (Khurshid *et al.*, 2018; Sirichand *et al.*, 2017), e estão atreladas a quase todas as manifestações de doenças cardíacas. Assim, o desenvolvimento dessa condição clínica tem chamado atenção, pois acometem um grande número de pessoas em todo o mundo e evoluem progressivamente para acometimentos cardíacos mais severos, gerando incapacidade física e alta mortalidade.

### 2.1. PRINCIPAIS MANIFESTAÇÕES DE ARRITMIAS CARDÍACAS

#### 2.1.1. Arritmias supraventriculares

As arritmias supraventriculares são aquelas que começam nas áreas acima dos ventrículos, podendo serem iniciadas tanto nos átrios como nas vias de condução elétrica atrial. As arritmias supraventriculares ou atriais costumam ser tão graves quanto as arritmias ventriculares. Dentre os principais tipos de arritmias supraventriculares ocorrem os batimentos atriais prematuros, o flutter atrial, a taquicardia atrial e a fibrilação atrial.

##### 2.1.1.1. Batimentos atriais prematuros

Uma contração atrial prematura é gerada quando um ponto focal no átrio, ao invés do nó sinoatrial (células marcapasso), desencadeia um potencial de ação antes do próximo potencial de ação programado do nó sinoatrial (Conen *et al.*, 2012; Savio-Galimberti, Argenziano e Antzelevitch, 2018). Assim, os átrios se contraem muito cedo, fazendo com que todo o coração contraia fora do momento esperado. Com isso, o batimento cardíaco normal

seguinte costuma ser mais vigoroso. Geralmente não causam danos ao coração, ocorrendo também em indivíduos saudáveis com certa frequência (Conen *et al.*, 2012).

#### 2.1.1.2. Flutter atrial

O flutter atrial ocorre devido a uma região dos circuitos elétricos no tecido atrial apresentar condução lenta, por causa de restrições anatômicas ou alterações nas características teciduais (Cosío, 2017). Como consequência, os átrios batem num ritmo muito rápido, porém com uma frequência regular, prejudicando também o funcionamento dos ventrículos, uma vez que não há tempo suficiente para o enchimento destes. O flutter atrial se assemelha à fibrilação atrial, alcançando frequências cardíacas nos átrios até quatro vezes mais rápidas do que nos ventrículos. Por ser também considerado um circuito reentrante, no flutter atrial o sinal elétrico fica preso no átrio direito, apresentando um padrão circular dentro do átrio. O flutter atrial também traz consigo o risco de desenvolvimento de coágulos de sangue, apesar deste risco não ser tão grande quanto na fibrilação atrial (Said *et al.*, 2020).

#### 2.1.1.3. Taquicardia atrial

A taquicardia supraventricular acontece quando os sinais elétricos nas câmaras superiores cardíacas são disparados automaticamente de forma anormal e instável, através da despolarização espontânea focal dos átrios em uma região que não está no nó sinoatrial (Saoudi, 2001). A origem dessa arritmia pode estar em qualquer região acima do ventrículo, mas os locais comuns são a crista terminal, o seio coronário, as veias pulmonares, o anel tricúspide ou mitral, ou o septo atrial. Logo, os batimentos nos átrios aceleram a frequência cardíaca de forma rápida e regular, onde a frequência pode alcançar de 150 a 250 batimentos por minuto nos átrios. Interessantemente, a taquicardia atrial se diferencia da taquicardia sinusal, que é uma resposta fisiológica aos estímulos para respondermos adequadamente a eventos estressores diários.

Uma das formas de taquicardia supraventricular é a taquicardia atrioventricular por reentrada nodal, que é a forma mais frequente na população em geral (Katrtsis e Camm, 2010). Nela há um mal funcionamento de um importante componente do sistema elétrico cardíaco, denominado nó atrioventricular, o qual controla o ritmo da despolarização cardíaca e a direção do sinal elétrico para que este seja direcionado dos átrios para os ventrículos, sendo o único trajeto elétrico entre ambos. Na taquicardia atrioventricular por reentrada nodal, um trajeto elétrico adicional é formado, originando uma via lenta e uma rápida (Saoudi, 2001). Isto faz

com que um sinal elétrico volte pelo nó atrioventricular enquanto o outro segue sua rota habitual, se movendo em círculo (chamado de reentrada) e passando por áreas que já havia passado anteriormente, iniciando outro batimento cardíaco. Como consequência, o coração contrai num ritmo muito maior do que o usual, podendo atingir uma frequência cardíaca muito rápida de 160 a 220 batimentos por minuto.

#### 2.1.1.4. Fibrilação atrial

A fibrilação atrial é a arritmia cardíaca sustentada mais comum, atingindo aproximadamente 33 milhões de pessoas no mundo e é a segunda maior causa de morte em todo o mundo (Chugh *et al.*, 2014). É caracterizada por um ritmo de contração rápido, irregular e caótico dos átrios (Chung *et al.*, 2020). Nela os impulsos elétricos extras são originados de forma tão rápida que o músculo atrial treme ou fibrila, podendo se estender de poucos minutos até vários dias. A sua ocorrência frequente pode desencadear o remodelamento tecidual dos átrios, bem como levar ao desenvolvimento da cardiomiopatia atrial e a fibrilação atrial persistente (Shinagawa *et al.*, 2002). Ou seja, a fibrilação atrial pode originar ainda mais fibrilação atrial.

Além disso, uma das principais consequências da fibrilação atrial é o aumento do risco de acidente vascular cerebral (Kamel *et al.*, 2016). Isto se dá devido ao acúmulo de sangue nos átrios durante os eventos arrítmicos, levando à formação de coágulos sanguíneos. Desta forma, estes coágulos podem se deslocar do coração e bloquear uma artéria cerebral, gerando o acidente vascular cerebral. O que faz da fibrilação atrial a principal causa de acidente vascular cerebral, principalmente em pessoas com idade mais avançada.

#### 2.1.2. Arritmia ventricular

As arritmias ventriculares são aquelas que ocorrem nos ventrículos cardíacos, podendo ser caracterizadas por padrões de segmentos QRS amplos e complexos, resultantes da condução elétrica anormal. As arritmias ventriculares são originadas principalmente devido a condições cardíacas subjacentes, sendo comumente associadas a ataques cardíacos ou cicatrizes do músculo cardíaco formadas após ataques anteriores (Priori *et al.*, 2015). As principais arritmias ventriculares incluem batimentos ventriculares prematuros, taquicardia ventricular e fibrilação ventricular. Porém a taquicardia e a fibrilação ventricular são arritmias com maior risco de morte. Além disso, as arritmias ventriculares foram o principal foco da presente tese.

### 2.1.2.1. Batimentos ventriculares prematuros

Assim como os batimentos atriais prematuros, os ventriculares ocorrem quando os ventrículos se contraem muito cedo, devido a um impulso elétrico extra originado nos ventrículos, promovendo o batimento dos ventrículos antes do tempo e fora da sequência do batimento cardíaco normal. É o tipo menos severo e o mais comum dentre os distúrbios do ritmo cardíaco (Sirichand *et al.*, 2017). Pode ser desencadeada por estresse, desequilíbrio eletrolítico, excesso de cafeína, nicotina, medicamentos ou exercício físico. Entretanto, nos casos de doença cardíaca preexistente ou um histórico de taquicardia ventricular, os batimentos ventriculares prematuros podem desencadear uma arritmia mais grave.

### 2.1.2.2. Taquicardia ventricular

A taquicardia ventricular é um distúrbio do ritmo cardíaco causado por sinais elétricos anormais nos ventrículos. Nela o nó sinoatrial não controla apropriadamente o batimento dos ventrículos, e impulsos elétricos anormais começam nos próprios ventrículos, assumindo a função de marca-passo e causando batimentos cardíacos rápidos anormais (Shenthar, 2015). Isso geralmente acontece se o coração apresentar algum tipo de sequela ou cicatriz ocasionada por um ataque cardíaco sofrido anteriormente. O batimento cardíaco decorrente de taquicardia ventricular é rápido e regular, podendo alcançar uma frequência cardíaca de mais de 100 batimentos por minuto, que pode durar apenas alguns segundos ou muito mais. No entanto, quanto mais longa for a duração da taquicardia ventricular, maior será o risco de se tornar fibrilação ventricular (Samie e Jalife, 2001), que é um tipo de arritmia ventricular mais severa e que será explicada mais adiante.

Além disso, na taquicardia ventricular o novo sinal elétrico não se move apropriadamente pelo músculo cardíaco ao longo das vias regulares, desta forma o músculo cardíaco não se contrai totalmente (Benito e Josephson, 2012). Como consequência, o coração não se enche adequadamente de sangue, impedindo que o mecanismo de Frank-Starling ocorra e menos sangue será bombeado para o corpo e pulmões. A taquicardia ventricular por si só pode não causar problemas sérios, porém pode gerar maiores implicações clínicas em pessoas com doenças cardíacas preexistentes.

### 2.1.2.3. Fibrilação ventricular

A fibrilação ventricular é a arritmia ventricular mais grave, causada por um problema no ritmo cardíaco que ocorre quando o coração bate com impulsos elétricos rápidos, desorganizados e erráticos (Samie e Jalife, 2001). No qual diversos pontos focais, em diferentes partes dos ventrículos, emitem impulsos elétricos ao mesmo tempo para que ocorra a contração. Esta atividade elétrica desordenada faz os ventrículos baterem de modo caótico, podendo atingir 300 batimentos por minuto. Com isso, os ventrículos tremem ou fibrilam, em vez de contrair normalmente. Isso proíbe o coração de bombear sangue apropriadamente, causando uma queda na pressão sanguínea e consequente corte no suprimento de sangue oxigenado para os órgãos vitais, tendo como desfecho o colapso e a parada cardíaca.

A fibrilação ventricular é geralmente associada a doenças cardíacas subjacentes ou a um trauma grave sofrido, e é uma ameaça à vida. Dentre as causas de parada cardíaca, a fibrilação ventricular tem sido identificada como a desencadeadora em 65-85% destes pacientes (Bradley *et al.*, 2016, 2019; Tseng *et al.*, 2016), reforçando o seu perigo.

## 2.2. PATOFISIOLOGIA E MECANISMOS DAS ARRITMIAS VENTRICULARES

Um ritmo muito rápido de contração dos ventrículos aumenta as demandas metabólicas cardíaca e compromete a eficiência hemodinâmica. Pode ocorrer assincronia ventricular que reduz a eficiência da bomba cardíaca, exacerbando a piora do perfil hemodinâmico. Fatores estressores tais como o aumento transitório da pressão arterial, o exercício físico ou respostas adrenérgicas, não comprometem imediatamente a contratilidade intrínseca das células cardíacas, porém acionam cascatas de sinalização que podem produzir implicações negativas a longo prazo (Ghuran e Camm, 2001; Tverskaya *et al.*, 2018). Dentre estas alterações, os cardiomiócitos passam por um grande número de processos de reprogramação não adaptativa, causando o comprometimento da função contrátil celular. Ao mesmo tempo, as vias de sinalização ativadas por esses distúrbios hemodinâmicos e metabólicos geram alterações eletrofisiológicas, levando ao surgimento de arritmias ventriculares (Ghuran e Camm, 2001). Além disso, as desregulações elétricas induzidas pelo remodelamento do tecido cardíaco prejudicam a propagação do sinal elétrico, causando adicional dissincronia e a perpetuação das arritmias.

Os mecanismos responsáveis pela geração das arritmias cardíacas podem ser classificados em automaticidade anormal, atividade desencadeada e reentrada (Antzelevitch e Burashnikov, 2011; Ghuran e Camm, 2001). Sendo as suas principais características a geração de impulso elétrico anormal ou aumentado, gerando a atividade focal e os distúrbios de condução ou reentrada. A atividade focal pode ser gerada pela aumentada automaticidade e pela atividade desencadeada. A automaticidade causa a geração espontânea de potenciais de ação que não requerem indução por batimentos prévios. Interessantemente, as células contráteis cardíacas não são automáticas em condições normais, mas pode conduzir a ectopia ventricular devido ao aumento no potencial de despolarização da membrana em repouso, causando a automaticidade, geralmente em situações de doença. As causas mais comuns para o surgimento das arritmias focais são as pós-despolarizações precoces que precedem a despolarização total e ocorrem nas fases dois e três da repolarização, bem como as pós-despolarizações tardias, que ocorrem após a repolarização completa (Antzelevitch e Burashnikov, 2011; Obeyesekere, Antzelevitch e Krahn, 2015).

### 2.3. GATILHOS E SUBSTRATOS DAS ARRITMIAS

Para que as arritmias ventriculares aconteçam é necessário que algum gatilho ocorra, atuando como um fator iniciador. Os gatilhos interagem com os substratos (condição que constitui um pré-requisito para a ocorrência de uma arritmia), já presentes no tecido cardíaco, gerando uma janela de vulnerabilidade e permitem com que as arritmias ocorram e/ou se prolonguem. Entre os principais gatilhos estão alguns medicamentos, álcool em excesso, cafeína, drogas ilícitas, o aumento de eletrólitos séricos e da acidez do sangue, insônia, estresse mental e o exercício físico (Brunner *et al.*, 2017; Buckley e Shivkumar, 2016; D'Ascenzi *et al.*, 2015; Folkeringa *et al.*, 2006; Mattioli *et al.*, 2018; Miner *et al.*, 2016; Zuchinali *et al.*, 2016). Os substratos podem ser estruturais e/ou eletrofisiológicos e estático e/ou dinâmico. Pode-se destacar dentre os principais os distúrbios autonômicos, as alterações eletrofisiológicas, defeitos no funcionamento da maquinaria de cálcio, as deficiências genéticas, o remodelamento do tecido cardíaco, o estresse oxidativo e a inflamação, dos quais veremos mais detalhes a seguir.

### 2.3.1. Controle autonômico cardíaco

O tecido cardíaco é densamente innervado pelo sistema nervoso autônomo, o que o torna um órgão motor involuntário. O sistema nervoso autonômico, ao longo do dia, passa por várias alterações para atender às demandas fisiológicas do organismo. Apesar de sua atuação ser fundamental para o funcionamento do coração, desequilíbrios de função deste sistema pode causar consequências severas. Dentre estas consequências, sabe-se que a função autonômica cardíaca associada a alterações anatômicas ou eletrofisiológicas desencadeiam a arritmogênese cardíaca (Chen *et al.*, 2007).

O aumento acentuado da atividade simpática ou a redução do tônus vagal contribui para a gênese de arritmias ventriculares em doenças como o infarto agudo do miocárdio, o que aumenta o risco de morte súbita nestes pacientes (Priori *et al.*, 2015). Este aumento na gênese e na manutenção das arritmias ventriculares devido ao sistema autonômico ocorrem devido ao tônus simpático induzir atividade focal anormal e atividade reentrante, causando instabilidade das propriedades eletrofisiológicas cardíacas (Antzelevitch, 2007; Fukuda *et al.*, 2015; Priori *et al.*, 2015). Concomitantemente, ocorre a redução do período refratário efetivo ventricular, da duração do potencial de ação e do limiar de fibrilação, além do aumento das pós-despolarizações precoce e tardia que geram maior risco de surgimento de arritmias ventriculares (Vaseghi *et al.*, 2014; Wang, M. *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2017).

Este desbalanço faz com que ocorra a neuromodulação do sistema nervoso autônomo cardíaco para balancear a ativação dos tônus simpático e parassimpático, buscando o reequilíbrio entre eles, que ajuda a prevenir a ocorrência das arritmias ventriculares. Porém, quando o reequilíbrio não é alcançado, é possível a ocorrência de remodelamento tecidual que gera mais instabilidade nas propriedades eletrofisiológicas cardíacas. Tal como visto em pacientes com história de taquicardia e fibrilação ventricular, nos quais foram detectados aumento da densidade de nervos simpáticos no coração (Shen e Zipes, 2014; Wang *et al.*, 2018; Wang, Z. *et al.*, 2017).

### 2.3.2. Alterações eletrofisiológicas

O remodelamento elétrico produz um substrato eletrofisiológico para o desenvolvimento de arritmias ventriculares potencialmente letais. Este remodelamento envolve alterações de vários canais iônicos, do acoplamento excitação-contração e das junções comunicantes intercelulares. Uma das características do remodelamento elétrico que facilita a

origem de arritmias são as anormalidades de repolarização, principalmente devido ao prolongamento da duração do potencial de ação. Os mecanismos iônicos responsáveis por este prolongamento do potencial de ação cardíaco envolvem alterações nas correntes de  $K^+$  ( $I_K$ ) e de  $Ca^{2+}$  ( $I_{Ca}$ ) e no componente tardio que modula a corrente de  $Na^+$  ( $I_{Na}$ ). Além das densidades de corrente alteradas, a distribuição espacial dos canais que conduzem a  $I_K$ ,  $I_{Ca}$  e  $I_{Na}$  também pode estar modificada. Essas mudanças alteram acentuadamente os gradientes de repolarização no coração e podem contribuir para o desenvolvimento de ritmos cardíacos anormais (Spragg *et al.*, 2005). Estes distúrbios de repolarização são comumente vistos em indivíduos com insuficiência cardíaca (Antoniou *et al.*, 2017; El-Sherif, Turitto e Boutjdir, 2019; Hegyi *et al.*, 2018). É importante ressaltar que o remodelamento elétrico não ocorre apenas nos miócitos ventriculares, sendo também visto nas células de Purkinje e nos miócitos atriais. De fato, acredita-se que o remodelamento das células de Purkinje produz um substrato particularmente propenso ao desenvolvimento de arritmias ventriculares desencadeadas (Boyden, Hirose e Dun, 2010; Rosen e Cohen, 2006).

As correntes de  $K^+$  desempenham um papel fundamental no decurso do potencial de ação cardíaco, e as alterações induzidas pelo remodelamento nas correntes de  $K^+$  são importantes contribuintes para as anormalidades de repolarização associadas às arritmias ventriculares (Chiamvimonvat *et al.*, 2017; Cho *et al.*, 2017; Osadchii, 2017). Estas alterações podem se originar de canalopatias congênitas ou adquiridas, podendo causar a síndrome do QT longo (LQTS) (Campuzano *et al.*, 2010; El-Sherif, Turitto e Boutjdir, 2019; Modell e Lehmann, 2006).

Além disso, a regulação negativa da expressão da transcrição dos canais iônicos desempenha claramente um papel importante na gênese de patologias cardíacas. A transcrição dos genes que codificam as subunidades reguladoras da  $I_{to}$ , em particular o  $K_{v4.3}$ , apresentam-se reduzidas em pacientes com insuficiência cardíaca ou com a LQTS (Frank-Hansen *et al.*, 2005; Giudicessi *et al.*, 2011). A subunidade  $\beta$  KChIP2, que é crítica para a formação de canais  $I_{to}$  (Kim *et al.*, 2004), também tem expressão anormal em modelo experimental de insuficiência cardíaca (Rose *et al.*, 2005). Assim, evidências apontam para um papel significativo da subunidade  $\beta$  KChIP2 na regulação da  $I_{to}$  na insuficiência cardíaca (Grubb, Calloe e Thomsen, 2012; Liu *et al.*, 2019; Nassal *et al.*, 2017). Além disso, mutações do gene  $KCNJ2$ , que codifica a principal subunidade do canal de potássio  $K_{ir2.1}$  cardíaco, foram mostradas anteriormente como causadoras da LQTS (Fodstad *et al.*, 2004).

Distúrbios na dinâmica de  $Ca^{2+}$  intracelular também são uma característica do acoplamento excitação-contração alterado na progressão do remodelamento elétrico cardíaco,

resultando em diminuição da força contrátil, relaxamento diminuído e aumento da susceptibilidade às arritmias ventriculares. Evidências crescentes demonstram que o aumento da densidade da  $I_{Ca,L}$  é um mecanismo importante para o prolongamento do potencial de ação na hipertrofia cardíaca (Bryant *et al.*, 2015; Fan *et al.*, 2017).

O vazamento aumentado de  $Ca^{2+}$  através dos RyR ou *sparks* de  $Ca^{2+}$  diastólicos em miócitos isolados se traduzem em arritmogênese no coração e tem sido uma área ativa de investigação. Descobertas recentes indicam que é necessário a ocorrência do aumento da carga de  $Ca^{2+}$  do retículo sarcoplasmático para que o aumento do vazamento de  $Ca^{2+}$  desta organela através dos RyR produza arritmias (Batiste *et al.*, 2019; Uehara *et al.*, 2017). A recaptção prejudicada de  $Ca^{2+}$  para o interior do retículo sarcoplasmático também é um fato comum no remodelamento elétrico (Gorski, Ceholski e Hajjar, 2015; Mustroph *et al.*, 2018) e está relacionada à diminuição da expressão e função da  $Ca^{2+}$ -ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a) (Federico *et al.*, 2019; Gorski, Ceholski e Hajjar, 2015; Prunier *et al.*, 2008). Além disso, a fosforilação diminuída de fosfolambam (PLB) secundária à reduzida sensibilidade  $\beta$ -adrenérgica aumenta a inibição da SERCA2a pela PLB. Em particular, distúrbios na expressão de SERCA2a é um mecanismo importante no desenvolvimento da arritmogênese cardíacas (Federico *et al.*, 2019; Prunier *et al.*, 2008). Além disso, o aumento da expressão de SERCA2a suprime as alternâncias cardíacas e reduz a susceptibilidade à arritmia (Lyon *et al.*, 2011; Monte, del *et al.*, 2004).

Outro importante componente da maquinaria de  $Ca^{2+}$  é o trocador de sódio-cálcio (NCX). Alterações de expressão e função do NCX também tem sido vistas no remodelamento elétrico cardíaco, tais como na hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca (Coppini *et al.*, 2018; Homma *et al.*, 2006; Kohajda *et al.*, 2016). Em casos de hipertrofia cardíaca leve a moderada, a expressão do NCX aumenta, mas a  $I_{NCX}$  diminui. A possível explicação para isso é que a expressão aumentada do NCX na hipertrofia seja mediada pela calcineurina (Wang *et al.*, 2001) e a mudança de estado conformacional do NCX para o sarcolema é considerado como o causador da redução na  $I_{NCX}$ . Por outro lado, a expressão e função do NCX aumentam na insuficiência cardíaca e têm sido associadas ao desenvolvimento de pós-despolarizações tardias e as arritmias ventriculares (Bögeholz *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2012).

A  $I_{Na}$  é responsável pela despolarização rápida na fase inicial do potencial de ação (fase 0) e propicia as condições necessárias para a propagação do impulso elétrico (Schram *et al.*, 2002), sendo um fator determinante da velocidade de condução cardíaca. Mudanças na  $I_{Na}$  têm muito pouco impacto na duração do potencial de ação, pois atuam principalmente na velocidade de condução. No entanto, as anormalidades na inativação da  $I_{Na}$  resultam em um componente

tardio grande desta corrente, que flui durante o platô do potencial de ação (Belardinelli, Shryock e Fraser, 2006; Horvath e Bers, 2014). Como consequência, produzem grandes correntes de entrada de  $\text{Na}^+$  durante o platô do potencial de ação cardíaco, causando falha na repolarização e ocasionando pós-despolarizações precoces e taquiarritmias ventriculares com risco de morte, principalmente em tecido fibrótico (Savio-Galimberti, Argenziano e Antzelevitch, 2018; Shryock *et al.*, 2013; Ufret-Vincenty *et al.*, 2001). Diversos estudos têm sugerido que o pico da  $I_{\text{Na}}$  é reduzido em condições patológicas (Antzelevitch *et al.*, 2014; Azam *et al.*, 2017; Chadda *et al.*, 2017; Maier, 2009; Valdivia *et al.*, 2005; Zicha *et al.*, 2004), devido a reduções pós-transcricionais na proteína da subunidade  $\alpha$  do canal  $\text{Na}_{\text{v}1.5}$  (Zicha *et al.*, 2004) e a mecanismos pós-traducionais (Kuryshev *et al.*, 1999; Ufret-Vincenty *et al.*, 2001), como a deficiência na glicosilação do canal  $\text{Na}_{\text{v}1.5}$  (Montpetit *et al.*, 2009; Stocker e Bennett, 2006; Ufret-Vincenty *et al.*, 2001). As alterações na  $I_{\text{Na}}$  provavelmente dependerão da etiologia específica da doença e podem ter implicações profundas na arritmogênese, dada a abundância e importância relativa dessa corrente na propagação da frente de onda elétrica.

Complementarmente, as junções comunicantes contribuem para o controle eletrofisiológico cardíaco através do acoplamento elétrico de baixa resistência entre os miócitos cardíacos adjacentes e permitem o movimento de íons e pequenas moléculas entre as células. A conexina 43 (Cx43), principal subtipo de conexina nos ventrículos cardíacos, exibe expressão heterogênea pelo coração. Esta heterogeneidade na distribuição de conexinas é importante para conferir as diferenças das propriedades eletrofisiológicas regionais dentro do coração (Gutstein *et al.*, 2001). Entretanto, a lateralização e a redução na expressão de Cx43 podem ocorrer, principalmente como uma consequência do remodelamento fibrótico do tecido ventricular (Dupont *et al.*, 2001; Fontes *et al.*, 2012). É importante ressaltar que este remodelamento estrutural também causa o remodelamento elétrico e tem sido associado ao aumento do risco de desenvolvimento de arritmias ventriculares (Dupont *et al.*, 2001; Fontes *et al.*, 2012; Xue *et al.*, 2019). Assim, estas alterações causam a redução da velocidade de condução cardíaca e aumentam a dispersão da repolarização, se tornando substrato para arritmias.

Como mencionado anteriormente, as pós-despolarizações precoces e as tardias estão associadas aos prejuízos na repolarização devido às alterações elétricas cardíacas (Antzelevitch, 2007; Chang, P.-C. *et al.*, 2015; Qu *et al.*, 2013). As pós-despolarizações são importantes mecanismos de arritmias associadas a alterações na repolarização do potencial de ação cardíaco (El-Sherif, Turitto e Boutjdir, 2019). Elas ocorrem quando a sua amplitude é suficiente para conduzir o potencial de membrana ao seu limiar, resultando de um potencial de ação gerado espontaneamente, que é denominado como atividade desencadeada.

### 2.3.3. Contribuição genética

Notavelmente, as mutações genéticas, sejam elas herdadas ou adquiridas, têm recebido grande atenção nas investigações das doenças arritmogênicas nos últimos anos. De fato, o aumento do conhecimento destas mutações propicia um melhor entendimento das arritmias em pacientes sem mutações genéticas, bem como tem grande potencial de desenvolvimento de terapias para estes pacientes. A taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (CPVT), que é uma doença cardíaca hereditária grave, causa arritmogênese através da liberação anormal de cálcio pelo retículo sarcoplasmático devido a mutações no RyR2 (CPVT-1) ou CASQ2 (CPVT-2) (Kurtzswald-Josefson *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2009).

As arritmias ventriculares também têm sido observadas na cardiomiopatia hipertrófica. A cardiomiopatia hipertrófica é um distúrbio cardíaco com causa hereditária e é originada por mutações no gene da cadeia pesada da miosina  $\beta$  (MYH7), e mutações deste gene estão associadas às arritmias ventriculares letais (Montag *et al.*, 2018; Zhang, S. *et al.*, 2018). Além disso, mutações e defeitos genéticos nos genes CACNA1C, CACNB2 e CACNA2D1 (genes codificadores do canais para cálcio do tipo L) podem resultar no desenvolvimento de síndromes arritmogênicas como a síndrome de Brugada (Antzelevitch *et al.*, 2007; Bai *et al.*, 2017; Zhang, Q. *et al.*, 2018). Tendo como principais manifestações o encurtamento da duração do intervalo QT (Burashnikov *et al.*, 2010; Templin *et al.*, 2011; Zhang, Q. *et al.*, 2018), a repolarização cardíaca precoce (Burashnikov *et al.*, 2010; Liu, X. *et al.*, 2017) e a fibrilação ventricular idiopática (Blancard *et al.*, 2018; Burashnikov *et al.*, 2010). Isto se dá devido aos efeitos dessas mutações nos canais para cálcio do tipo L que resultam em perda ou redução da função destes canais (Blancard *et al.*, 2018; Burashnikov *et al.*, 2010; Templin *et al.*, 2011; Zhang, Q. *et al.*, 2018).

Outra doença genética com manifestações arrítmicas é a LQTS. Esta síndrome pode ser tanto hereditária como adquirida, a forma hereditária tem sido associada a mutações de genes que traduzem proteínas envolvidas na regulação de canais iônicos. Estudos apontam que um alto percentual de casos de LQTS são devido a mutações nos genes KCNQ1, que codifica o canal para potássio que conduz  $I_{Ks}$  ( $K_{v7.1}$ , LQTS-1); KCNH2, que codifica o canal para potássio que permeia  $I_{Kr}$  ( $K_{v11.1}$ , LQTS-2); e SCN5A, que codifica o canal para sódio que conduz  $I_{Na}$  ( $Na_{v1.5}$ , LQTS-3) (Chang, Y.-S. *et al.*, 2015; Ernesto *et al.*, 2011; Nagasawa *et al.*, 2018).

#### 2.3.4. Inflamação

Atualmente, os mecanismos relacionados à arritmogênese decorrentes da inflamação do miocárdio ainda não foram totalmente elucidados. Porém, é consenso que as principais doenças cardiovasculares que estão relacionadas ao surgimento das arritmias ventriculares têm como ponto em comum o perfil inflamatório apresentado pelos pacientes portadores destas doenças (Kociol *et al.*, 2020). Em alguns casos a inflamação no coração evolui para um quadro de miocardite e, ao se prolongar, pode resultar em cardiomiopatia inflamatória, correndo o risco de surgimento de arritmias, principalmente as ventriculares (Lewek *et al.*, 2014; Peretto *et al.*, 2020).

A concentração aumentada de marcadores inflamatórios é frequentemente observada em pacientes com arritmias ventriculares. Dentre estas, as citocinas inflamatórias como a interleucina-1 (IL-1), IL-2, IL-6, fator de crescimento tumoral-beta (TGF- $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) tem demonstrado aumentos mais consistentes, sendo também utilizadas no diagnóstico como marcadores inflamatórios (Duncan *et al.*, 2010). A inflamação no coração causa a desregulação da maquinaria de  $Ca^{2+}$  (Duncan *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2014), alterações no sistema de condução (Tverskaya *et al.*, 2018), interferência no potencial de membrana (Kawada *et al.*, 2006), alternância de onda T (Almeida *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2014), aumento do estresse oxidativo (Sommese *et al.*, 2016) e fibrose (Xiao *et al.*, 2018), podendo levar a disfunção ventricular (Fernández-Sada *et al.*, 2017). O aumento da inflamação também causa o prolongamento do intervalo QT, estando intimamente relacionado com a LQTS (Aromolaran *et al.*, 2018; Lazzerini *et al.*, 2017). Acredita-se que este prolongamento se dá devido à capacidade das citocinas interferirem em alguns canais iônicos que são vitais para o bom funcionamento da repolarização cardíaca, em especial os canais para potássio (Fernández-Velasco *et al.*, 2007; Grandy e Fiset, 2009; Kawada *et al.*, 2006; Petkova-Kirova *et al.*, 2006). Além disso, é provável que estes mediadores inflamatórios atuem desempenhando a função de disparar um gatilho inflamatório em pessoas com uma predisposição genética ou doenças cardíacas pré-existentes concomitante à inflamação crônica e autoimunidade, mas essa hipótese exige novos estudos para comprovar.

#### 2.3.5. Estresse oxidativo

O estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a geração e neutralização de espécies reativas de oxigênio, tem sido considerado como um possível alvo para o tratamento

das arritmias ventriculares. Os principais fatores de risco que estão associados ao surgimento das arritmias, como a hipertensão, idade e cirurgias cardíacas, são condições associadas ao estresse oxidativo (Chao *et al.*, 2017; Corrado, Link e Calkins, 2017; Peretto *et al.*, 2014). Além do aumento de marcadores inflamatórios circulantes, os marcadores séricos de estresse oxidativo também estão elevados em pacientes com arritmias ventriculares (Ishiguchi *et al.*, 2017). Tem sido demonstrado que as arritmias ventriculares estão associadas a reduções na defesa antioxidante (Macedo *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2018), bem como ao aumento da produção de ROS (Macedo *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2018), apoiando uma mudança para o estado de estresse oxidativo no miocárdio.

Embora as espécies reativas de oxigênio pareçam ser capazes de causar arritmias de forma direta, existem algumas possíveis alterações que explicam o substrato arritmogênico criado por estas espécies oxidantes. Já é conhecido que o estresse oxidativo afeta a contração dos miócitos ventriculares e a condução elétrica, através da desregulação da atividade de RyR2 e SERCA2a (Bovo, Lipsius e Zima, 2012), bem como através da oxidação de canais iônicos e junções comunicantes (Foteinou, Greenstein e Winslow, 2015; Heinzl *et al.*, 2005; Sovari *et al.*, 2013). Além disso, outra forma para as espécies reativas de oxigênio gerarem substrato arritmogênico é através da apoptose dos miócitos (Britto *et al.*, 2018; Durço *et al.*, 2019) e a fibrose cardíaca (Morita *et al.*, 2009). Esses mecanismos podem envolver ainda o efeito das espécies reativas de oxigênio nos genes, regulação transcricional, tráfego de proteínas e modificações pós-traducionais, como já foi comprovado no gene SCN5A (Gao *et al.*, 2011; Liu, Liu e Dudley, 2010; Shang *et al.*, 2008).

### **2.3.6. Remodelamento do tecido cardíaco**

Como já mencionado anteriormente, alguns mecanismos moleculares conhecidos por contribuírem para o desenvolvimento das arritmias cardíacas incluem as alterações nos canais iônicos que levam a desregulações eletrofisiológicas e remodelação estrutural do ventrículo esquerdo (Akar *et al.*, 2004, 2007). O remodelamento da estrutura cardíaca ocorrido de forma persistente pode servir como um substrato para a arritmogênese nos ventrículos (Wijesurendra *et al.*, 2016). Isto se dá pela morte progressiva dos cardiomiócitos que são substituídos por tecido fibrótico não contrátil (Frangogiannis, 2019; Sovari *et al.*, 2013). O tecido fibrótico prejudica a capacidade de condução elétrica através do miocárdio, reduzindo as propriedades eletrofisiológicas no ventrículo, assim como produz descontinuidades na condução elétrica, blocos unidirecionais do impulso elétrico e reentrada (Majumder *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 1998).

De forma similar, o tecido do miocárdio de pacientes com insuficiência, que passa por profunda alteração estrutural fibrótica, sofre também remodelamento eletrofisiológico em termos de expressão dos canais iônicos, principalmente dos canais para potássio, e desregula a homeostase do cálcio. Conseqüentemente, estas alterações resultam em alternância da duração e forma do potencial de ação, além de anormalidades de repolarização, que afetam fortemente a instabilidade miocárdica (Kanaporis e Blatter, 2015; Majumder *et al.*, 2016).

A fibrose cardíaca está relacionada à inflamação do miocárdio e ao estresse oxidativo causado pela infiltração de células inflamatórias (Mollenhauer *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2015), sugerindo assim interações fisiopatológicas entre diferentes substratos. Acredita-se que a morte celular leve a uma resposta inflamatória iniciada através do aumento na liberação das citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , causando a ativação de fibroblastos cardíacos e ocasionando na formação de cicatrizes no miocárdio (Chang *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2018). Estas alterações no tecido cardíaco propiciam o surgimento de eventos arrítmicos originados nos ventrículos. É interessante notar a constante interação entre os diferentes substratos que facilita a geração de arritmias cardíacas. No entanto, ainda não é possível estabelecer com exatidão a dependência entre eles durante este processo.

## 2.4. VISÃO GERAL DAS ARRITMIAS INDUZIDAS PELO EXERCÍCIO

### 2.4.1. Incidência e prevalência das arritmias cardíacas em atletas

O exercício físico tem sido utilizado há muitas décadas como uma importante ferramenta para identificação de predisposição à arritmia (Naish, 1913), seja em indivíduos saudáveis ou com histórico de doenças cardiovasculares (McHenry *et al.*, 1972; Rochmis e Blackburn, 1971; Schwartz e Sola Pool, de, 1950). Surgindo, assim, os primeiros relatos sugerindo que o exercício físico poderia ser um gatilho para a geração de arritmias cardíacas (DeMaria *et al.*, 1974; Elek, 1958). Posteriormente, na década de 70, surgiram as primeiras publicações médicas associando mortes súbitas durante o exercício físico e as arritmias geradas por este esforço (Goldschlager, Cake e Cohn, 1973; Gooch e McConnell, 1970; James, Froggatt e Marshall, 1967; Opie, 1975; Shephard, 1973, 1974). Estes estudos investigaram a associação de altos níveis de treinamento físico, por parte de atletas, e a ocorrência de infarto do miocárdio, arritmias cardíacas e morte súbita, seja ela durante o exercício, ou nos minutos após cessado o exercício.

Entretanto, foi na década de 80 que surgiram os primeiros estudos investigando a prevalência de arritmias em atletas saudáveis (Northcote, MacFarlane e Ballantyne, 1983; Pantano e Oriel, 1982; Pilcher *et al.*, 1983; Talan *et al.*, 1982; Viitasalo, Kala e Eisalo, 1982). Estes estudos revelaram elevada incidência de eventos arrítmicos nos atletas investigados. Apesar das diferenças nos resultados encontrados nestes estudos devido, principalmente, a diferentes formas de seleção da amostra, protocolos e metodologias empregadas, estes estudos são de grande importância pois tinham utilizado o monitoramento através do ECG Holter, permitindo obter informações mais precisas.

Mais recentemente pesquisadores tem voltado a sua atenção novamente ao estudo deste tema, mas desta vez através da realização de estudos populacionais investigando a prevalência de arritmias em atletas profissionais. Baldesberger *et al.* (2008) estudaram ex-ciclistas profissionais e golfistas sênior (grupo controle) que tinham sido pareados por idade (média de 62 anos), índice de massa corporal, hipertensão e as horas atuais de treinamento físico. Os ex-atletas haviam encerrado suas carreiras há 38 anos, em média. Os pesquisadores revelaram que os ex-atletas tiveram maior incidência de flutter ou fibrilação atrial, com agravamento nos ex-ciclistas que haviam treinado por mais tempo. Bem como a duração do QRS e o intervalo QTc foram maiores. Eles demonstraram ainda que o desenvolvimento de disfunções do nó sinusal foi mais comum nos ex-ciclistas do que nos controles.

Andersen *et al.* (2013) examinaram a associação do número de corridas concluídas e o tempo de finalização com o risco de arritmias entre esquiadores suecos de longa distância (90 km), contando com uma amostra final de 47.477 homens e 5.278 mulheres sem nenhuma doença cardiovascular. Eles identificaram que há maior incidência de arritmias associadas com o aumento do número de corridas e o menor tempo de realização das provas.

Myrstad *et al.* (2014) avaliaram a relação dose-resposta entre anos acumulados de prática de exercícios aeróbicos de longa duração e risco de arritmias atriais em homens noruegueses com idade  $\geq 53$  anos saudáveis sem relato de distúrbios do ritmo cardíaco e homens que haviam relatado distúrbios do ritmo cardíaco, e que haviam participado anteriormente de uma corrida de esqui de 54 quilômetros. Eles demonstraram a relação dose-resposta entre anos acumulados de exercícios aeróbicos regulares e risco de fibrilação atrial em homens com idade  $\geq 53$  anos e também mostraram um risco correspondentemente aumentado para flutter atrial.

Já Aagaard *et al.* (2019) compararam a prevalência de fibrilação atrial em ex-atletas da *National Football League* (NFL) com controles selecionados de um outro estudo populacional local, pareando os grupos por idade. E revelaram maior prevalência de fibrilação atrial em ex-atletas da NFL em comparação com os controles, apesar da idade e composição étnica

semelhantes e menor prevalência de fatores de risco cardiovascular no grupo da NFL. É importante ressaltar que os ex-atletas de elite da NFL tiveram um treinamento composto prioritariamente por exercícios com características anaeróbicas ou de força, que distinguem bastante dos estudos citados anteriormente.

Contudo, apesar da aparente consistência das evidências apresentadas pelos estudos aqui descritos com atletas e ex-atletas homens, o mesmo não pode ser extrapolado para os estudos que tiveram como amostra atletas e ex-atletas de ambos os sexos. Zorzi, Mastella, *et al.* (2018) estudaram uma coorte de atletas de meia idade (31 a 50 anos de idade) de ambos os sexos saudáveis envolvidos em atividades esportivas aeróbicas de longa duração (corrida de longa distância, ciclismo ou triatlo), bem como seus controles sedentários, que foram correspondentes aos atletas por sexo e faixa etária. Eles compararam a prevalência, a carga e a morfologia das arritmias ventriculares registradas através do monitoramento ambulatorial de 24 horas do ECG e avaliaram se havia relação com a quantidade e a duração do treinamento. Foi demonstrado que a prevalência e morfologia das arritmias ventriculares nos atletas de meia idade aparentemente saudáveis foram semelhantes às dos indivíduos sedentários, e que não houve dependência da intensidade e duração do treinamento (Zorzi, Mastella, *et al.*, 2018). Eles também identificaram que houve correlação significativa entre a idade e as arritmias ventriculares em ambos os grupos, o que sugere que as arritmias ventriculares em atletas de meia idade possam se tornarem mais frequentemente como um resultado do processo de envelhecimento no sistema cardiovascular. De forma similar, o mesmo grupo de pesquisadores estudaram atletas jovens (15 a 35 anos de idade) e também identificaram que os atletas apresentaram arritmias ventriculares semelhante aos indivíduos sedentários (Zorzi, De Lazzari, *et al.*, 2018). Entretanto, a ressonância magnética nuclear cardíaca com contraste revelou um realce da marcação com gadolínio no miocárdio não isquêmico, sugerindo fibrose miocárdica em um subconjunto de atletas aparentemente saudáveis que apresentaram arritmias ventriculares do tipo bloqueio do ramo direito e arritmias ventriculares induzidas por exercício.

É possível observar que há discrepâncias entre os resultados dos diferentes estudos, dentre estes, o sexo aparenta ser o principal, tendo em vista que a maioria dos estudos que observaram aumento na incidência de arritmias tiveram como amostra atletas homens, reduzindo a incidência quando a coorte era formada por ambos os sexos. Não obstante, Svedberg *et al.* (2019) investigaram a associação do alto nível de treinamento aeróbico de longa duração e o risco de fibrilação atrial em uma coorte de 208.654 esquiadores *cross-country* treinados para provas de longa duração e 527.448 pessoas da população em geral, pareadas por idade e sexo, além de terem investigado a diferença entre sexos nessa associação. Eles

identificaram que as mulheres tiveram menor associação à incidência de fibrilação atrial a longo prazo, independentemente do número de corridas e do desempenho. Enquanto os homens apresentaram maior risco de fibrilação atrial. Além disso, foi observado maior incidência de fibrilação atrial em participantes com mais corridas concluídas e melhores desempenhos.

Ao examinar prospectivamente uma amostra da população de não atletas que são fisicamente ativos, Aizer *et al.* (2009) verificaram que o risco de fibrilação atrial aumentou com o aumento da frequência de exercícios vigorosos em homens com idade  $\leq 50$  anos, enquanto nenhuma associação foi encontrada em indivíduos com idade  $> 50$  anos. O risco foi aumentado principalmente naqueles que se exercitavam 5 a 7 vezes por semana. Esses homens tiveram um risco 20% maior de desenvolver fibrilação atrial comparado com aqueles que não se exercitaram. O exercício vigoroso foi também diretamente associado a vários fatores de risco para fibrilação atrial. Enquanto Jin *et al.* (2019), que estudaram a associação do nível de atividade física e a fibrilação atrial com o efeito de diferentes níveis de atividade física na incidência de fibrilação atrial em 501.690 indivíduos saudáveis (50% mulheres), encontraram uma redução na incidência de fibrilação atrial após atividade física de intensidade moderada. Já a atividade física de maior intensidade não teve efeito benéfico. Eles descreveram ainda que a relação dose-resposta entre o nível de atividade física e o risco de fibrilação atrial pareceu seguir um padrão em forma de U (ou J), em que pessoas com baixos níveis de atividade física e pessoas com altos níveis apresentam maior risco de fibrilação atrial e níveis de atividade física baixo a moderado apresentam menor risco de fibrilação atrial. Recomendando a prática de exercício de intensidade baixa a moderada para que seja possível alcançar benefícios à saúde cardiovascular.

Diante de tamanha variação observada nos estudos de coorte com base populacional, Opondo *et al.* (2018) realizaram um estudo experimental no qual eles expuseram 61 adultos saudáveis e sedentários (29 homens e 32 mulheres) de meia-idade (45 a 64 anos de idade) a um programa de treinamento aeróbico intervalado ou yoga (grupo controle ativo) com duração de 10 meses. Embora eles tenham conseguido promover mudanças na estrutura do átrio e ventrículo esquerdo, bem como na função contrátil do coração após 10 meses de treinamento, não houve mudanças evidentes na eletrofisiologia cardíaca. Os autores sugeriram ainda que uma duração mais longa de treinamento ou dose maior de exercício poderia ser necessária para induzir alterações elétricas atriais a ponto de causar o aumento do risco de fibrilação atrial.

#### 2.4.2. Patofisiologia das arritmias cardíacas induzidas pelo exercício físico

Como apresentado na seção anterior, há evidências convincentes na literatura apontando para a relação entre o treinamento físico e as arritmias cardíacas. Curiosamente, também há evidências suportando a hipótese de que o treinamento também pode gerar substratos no tecido cardíaco. De fato, os eventos arrítmicos, tais como a taquicardia e a fibrilação ventricular, são pouco frequentes em pessoas sem cardiomiopatia conhecida. Contudo, as alterações fisiológicas provocadas pela prática de exercício físico de forma exacerbada, bem como as adaptações crônicas induzidas pelo treinamento físico podem facilitar o surgimento de arritmias ventriculares. O surgimento destes eventos parece depender de hábitos nutricionais, doenças pré-existentes e não diagnosticadas, e predisposição genética, tendo implicação adicional com anormalidades na estrutura, função e condução elétrica dos ventrículos destes indivíduos. No entanto, a dose de exercício físico (intensidade e volume) utilizada nos programas de treinamento ainda parece ser o principal motivo relacionado a essas questões, tendo papel crítico para esta aumentada propensão às arritmias (Benito *et al.*, 2011; Guasch *et al.*, 2013; Lie *et al.*, 2018; Opondo *et al.*, 2018; Saberniak *et al.*, 2014).

Para melhor entender este possível aumento do risco de desenvolvimento de arritmias é necessário entender de forma mais aprofundada as alterações que o exercício/treinamento físico pode causar. Como é amplamente conhecido, o acoplamento excitação-contração é fundamental para o bom funcionamento do músculo cardíaco. Dentre os principais mecanismos intracelulares envolvidos neste processo, o ciclo de  $Ca^{2+}$  é um dos mais importantes. Tem sido demonstrado que o treinamento é capaz de reduzir as arritmias ventriculares através da restauração do funcionamento do ciclo de  $Ca^{2+}$  em animais infartados (Qin *et al.*, 2019). Curiosamente, o tratamento com bloqueadores dos canais para  $Ca^{2+}$  associado com betabloqueadores tem se mostrado eficiente para reduzir as arritmias induzidas pelo exercício em pacientes com CPVT (Rosso *et al.*, 2007).

A CPVT é uma das principais doenças genéticas que apresentam manifestações de arritmias decorrentes do exercício físico. Ela tem como causa mutações heterozigotas no gene RYR2, responsável por codificar a proteína do Ryr2 cardíaco (Laitinen *et al.*, 2001; Postma *et al.*, 2005; Priori *et al.*, 2001); e mutações homozigotas no gene CASQ2, que codifica a calsequestrina cardíaca (Khoury *et al.*, 2013; Knollmann *et al.*, 2006; Postma *et al.*, 2002); e TRDN, que codifica a triadina (Chopra *et al.*, 2009; Roux-Buisson *et al.*, 2012). As proteínas codificadas por esses genes formam um complexo macromolecular responsável pela liberação de  $Ca^{2+}$  do retículo sarcoplasmático (Bers, 2002; Eisner *et al.*, 2017). Assim, estas mutações

desestabilizam o complexo do canal de rianodina e resultam em liberação espontânea de  $\text{Ca}^{2+}$ , levando a pós-despolarização tardias, atividade desencadeada e taquicardia ventricular. Além disso, mortes súbitas relacionadas ao esforço físico têm sido atribuídas a anormalidades nos genes responsáveis pela expressão dos canais iônicos KCNQ1, KCNJ2 e SCN5A (Kimura *et al.*, 2012; Skinner *et al.*, 2019; Tristani-Firouzi *et al.*, 2002).

Outro substrato que pode ser postulado para ser gerado pelo treinamento é o remodelamento do tecido cardíaco. O exercício físico, principalmente o de alta intensidade, implica num estresse excessivo ao músculo cardíaco. Esta estimulação cardíaca excessiva gera um alongamento mecânico das fibras acima do normal. Como consequência, os níveis plasmáticos de TGF- $\beta$ 1 se encontram elevados em atletas com longo histórico de treinamento comparado a atletas jovens. Além disso, os atletas mais experientes apresentam maior fibrose do tecido cardíaco (Czarkowska-Paczek, Bartłomiejczyk e Przybylski, 2006; Heinemeier, Langberg e Kjaer, 2003). Estas alterações levam à rigidez do coração através do aumento de alterações na matriz extracelular, da diferenciação de miofibroblastos e da liberação de colágeno (Herum *et al.*, 2017). Além disso, o sistema  $\beta$ -adrenérgico, o qual é ativado durante o exercício físico, pode controlar as alterações nas proteínas da matriz extracelular. A noradrenalina pode aumentar a expressão da metaloproteinase-2 (MMP-2) e diminuir a expressão dos inibidores teciduais das metaloproteinases 1 e 2 (TIMP-1/2) durante o remodelamento cardíaco (Banfi *et al.*, 2005; Benito *et al.*, 2011; Briest *et al.*, 2003).

O estresse oxidativo também está ligado ao remodelamento cardíaco fibrótico, regulando a função dos fibroblastos e a composição da matriz extracelular. O TGF- $\beta$  induz o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio mitocondrial, além de reduzir a atividade das enzimas antioxidantes (Abe *et al.*, 2013; Jain *et al.*, 2013), assim como ocorre em doenças cardíacas com desenvolvimento de fibrose (Liu, W. *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2020). O treinamento físico de alta intensidade ou realizado de forma excessiva também está associado ao aumento do estresse oxidativo (Araújo *et al.*, 2019; Bailey *et al.*, 2007; Pal *et al.*, 2018), o que pode também levar ao desenvolvimento de fibrose e gerar um substrato para o desenvolvimento de arritmias. Estes efeitos pouco conhecidos do treinamento fazem com que ele represente um possível gatilho para arritmias, bem como para morte súbita.

Como descrito acima, diversos fatores contribuem para a gênese das arritmias ventriculares, atuando como gatilhos e substratos desta doença. A fisiopatologia das arritmias ventriculares é complexa e esta complexidade é ainda maior ao levar em consideração a interação entre os diferentes gatilhos e substratos. No contexto do exercício físico estas

interações ganham uma complexidade ainda maior, visto que as evidências apontam para uma reprogramação molecular diferenciada de acordo com as mudanças nas variáveis do treinamento. Com a presente tese tentaremos adicionar mais algumas peças a este intrincado quebra-cabeça.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do treinamento de força sobre as arritmias cardíacas em ratos.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se o treinamento de força induz arritmias de maneira dependente de intensidade e de frequência semanal de treinamento;
- Verificar o efeito de diversos protocolos de treinamento de força sobre a função elétrica e contrátil cardíaca;
- Determinar as alterações estruturais cardíacas induzidas pelos protocolos de treinamento de força;
- Investigar o balanço redox cardíaco causado pelo treinamento de força.

## 4. MÉTODOS

### 4.1. ANIMAIS

Os procedimentos de experimentação animal foram previamente submetidos e aprovados pelo comitê de ética para o uso de animais em pesquisa da Universidade Federal de Sergipe (#07/2018). Durante a execução dos experimentos, foram obedecidas as normas de manipulação dos animais propostas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA/MCT), bem como foi seguida a recomendação da declaração de Helsinque e o Guia de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório da Comissão Diretiva Europeia 86/609/EEC.

Durante todo o período experimental foram utilizados 96 ratos Wistar, com dois meses de idade e pesando 260-300 g. Os animais foram provenientes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e foram alojados no biotério de manutenção do Laboratório de Biologia Cardiovascular e Estresse Oxidativo (LaBCEO, Departamento de Fisiologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFS). Os animais foram mantidos em grupos de no máximo cinco animais por caixa (22.560 cm<sup>3</sup> - 47 x 32 x 15 cm), sob temperatura controlada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e com ciclo claro/escuro de 12 horas. Os animais tiveram acesso *ad libitum* à água filtrada e à dieta padrão para roedores de laboratório (Labina, Purina®, Grupo Evialis, BRA) durante todo o período experimental.

### 4.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Inicialmente, cada animal recebeu um código de identificação e, em seguida, foi realizado um sorteio eletrônico (randomizer.org) para determinar em qual dos oito grupos experimentais os animais seriam alocados, sendo estes:

- ✓ Frequência de três treinos por semana
  - Controle;
  - Treinado a baixa intensidade (40% de 1RM);
  - Treinado a moderada intensidade (60% de 1RM);
  - Treinado a alta intensidade (80% de 1RM).

- ✓ Frequência de cinco treinos por semana
  - Controle;
  - Treinado a baixa intensidade (40% de 1RM);
  - Treinado a moderada intensidade (60% de 1RM);
  - Treinado a alta intensidade (80% de 1RM).

Os códigos recebidos por cada animal foram mantidos por uma pessoa que não estava envolvida diretamente nos procedimentos experimentais até a análise final, visando manter o cegamento durante os experimentos e, desta forma, reduzir o risco de viés.

#### 4.3. PROTOCOLO DE TREINAMENTO DE FORÇA

Os animais passaram por um protocolo de treinamento de força com duração de sete semanas, sendo a primeira semana utilizada para habituação dos animais à manipulação dos experimentadores e para familiarização dos animais ao aparelho de treinamento, visando reduzir o possível estresse causado aos animais. E as seis semanas subsequentes foram utilizadas para a realização do treinamento. O treinamento foi realizado usando-se do modelo experimental primeiramente descrito por Tamaki, Uchiyama e Nakano (1992) e que vem sendo largamente utilizado pelo nosso grupo de pesquisa (Araujo *et al.*, 2013; Fontes *et al.*, 2014; Mota *et al.*, 2015; Macedo *et al.*, 2016; Miguel-dos-Santos *et al.*, 2019; Santana *et al.*, 2018).

O período de familiarização foi realizado por cinco dias consecutivos, mantendo os animais fixados ao aparelho de treinamento durante 10 minutos diários, com o auxílio da jaqueta e sem a estimulação elétrica, a fim de reduzir o estresse causado ao animal pelo contato com o equipamento e pelo manuseio. Após o período de familiarização, a força máxima dos animais foi avaliada por meio do teste de uma repetição máxima (1RM), que consiste em determinar o peso máximo levantado por cada rato. Os testes foram realizados seguindo as diretrizes do *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2014) para humanos com três tentativas por teste. Inicialmente os animais foram submetidos a um período de aquecimento, realizando o movimento do exercício sem carga por 10 vezes, após o estímulo elétrico. Em seguida, foi utilizada uma carga baixa (50% da massa corporal) realizando novamente 10 movimentos. O primeiro teste de 1RM foi realizado com três vezes a massa corporal do animal, ajustando a carga para a próxima tentativa, dependendo do desempenho do animal na tentativa anterior, o qual foi determinado por avaliadores experientes. Os animais tiveram três minutos

de recuperação entre cada tentativa. O teste de força máxima foi também realizado a cada duas semanas para o ajuste da carga utilizada ao longo do período de treinamento. Para possibilitar a realização dos testes e do treinamento, os ratos foram acoplados ao aparelho de treinamento através de uma jaqueta de couro, afixada a um suporte de alumínio. Este suporte foi mantido pelo braço de madeira móvel, o mesmo em que a sobrecarga foi colocada, estando os animais na posição sentada com as patas traseiras flexionadas e apoiadas na base do aparelho. Os animais, então realizavam o movimento de extensão dos joelhos, levantando a carga que estava fixada ao aparelho.

Dois dias após o teste de 1RM, os animais iniciaram o período de treinamento com três (em dias alternados, sendo às segundas, quartas e sextas) ou cinco sessões por semana (segunda a sexta), sendo realizadas três séries com 18 repetições a 40% de 1RM (baixa intensidade), 12 repetições a 60% de 1RM (moderada intensidade), quatro séries de sete repetições a 80% de 1RM (alta intensidade) e o grupo controle com três séries de 12 repetições. Os grupos controles receberam apenas estímulo elétrico, sem adição de sobrecarga. O número de séries e repetições foi organizado para atingir a mesma carga de trabalho em diferentes intensidades. O número de repetições utilizadas em cada intensidade estava dentro da faixa de repetições recomendadas pelo *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2014) para a prescrição de treinamento de força. Todos os grupos tiveram intervalo de 90 segundos entre as séries.

Durante as sessões de exercício os animais receberam estimulação elétrica (10-15 v, 0,3 s de duração, em intervalos de 3 s) através de eletrodos que foram colocados na cauda dos animais. Este estímulo elétrico é de baixa intensidade e já foi comprovado que não causa o aumento de marcadores humorais de estresse (Barauna *et al.*, 2005), permitindo seu uso a longo prazo.

Um segundo conjunto de ratos foi utilizado para compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento das arritmias ventriculares. Os animais foram treinados com quatro séries de sete repetições para o grupo de alta intensidade e controle (sem carga), seguindo toda a metodologia descrita anteriormente.

Todo o período de treinamento e a eletroestimulação foram realizados no início do ciclo ativo/escuro (18 a 20 h) dos animais, visto que é durante o ciclo escuro que os animais apresentam melhor tolerância ao exercício (Beck *et al.*, 2014).

#### 4.4. ELETROCARDIOGRAMA

Setenta e duas horas após a última sessão de treino, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de quetamina (90 mg/Kg; Cetamin, Syntec, BRA) e xilazina (10 mg/Kg; Xilazin, Syntec), posicionados em decúbito dorsal em uma mesa cirúrgica e foram introduzidas agulhas hipodérmicas conectadas aos eletrodos do eletrocardiograma (ECG), os quais foram posicionados em disposição do eletrodo DII. O sinal eletrocardiográfico foi continuamente monitorado na tela de um cardioscópio (RX10, Emai, BRA) e também enviado a um amplificador CA diferencial (Bio Amp, ADInstruments, AUS), acoplado a um pré-amplificador (PowerLab 8/35, ADInstruments), para monitoramento em tempo real em microcomputador e armazenamento dos registros, para posteriormente ser feito o processamento *offline* dos registros. Para as análises dos registros eletrocardiográficos foram utilizados dez batimentos estáveis consecutivos durante os cinco minutos finais do período basal e durante todo o período do teste de susceptibilidade às arritmias.

A frequência cardíaca foi analisada nos ratos sob efeito da anestesia e com respiração espontânea. O intervalo QT foi medido do início do complexo QRS ao ponto de retorno isoeletrico da onda T, também definido como segmento TP. O intervalo QTc foi obtido corrigindo-se o intervalo QT pela frequência cardíaca através da fórmula de Bazett ( $QTc = QT/\sqrt{RR}$ ) (Bazett, 1920). As ondas eletrocardiográficas também foram utilizadas para medir a amplitude e a duração do complexo QRS, bem como o intervalo da onda PR e RR.

#### 4.5. DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO

Para a análise da força de contração ventricular e investigação da vulnerabilidade às arritmias induzidas por estímulo elétrico, 15 minutos após a injeção de heparina (200 UI, ip; Roche, BRA), os animais foram eutanasiados por decapitação. Imediatamente após este procedimento foi feita a toracotomia, o coração foi cuidadosamente removido e colocado em solução gelada de Krebs-Henseleit (em mmol/L: 120 NaCl, 5,4 KCl, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,25 CaCl<sub>2</sub>, 2 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 27 NaHCO<sub>3</sub>, 11 glicose), que tinha sido previamente filtrada através de uma membrana de acetato de celulose (0,45 µm). Uma cânula de 3 mm de diâmetro foi introduzida na aorta, a qual foi amarrada para permitir que os corações fossem perfundidos num sistema de perfusão retrógrada do tipo Langendorff (Bell, Mocanu e Yellon, 2011). A perfusão foi realizada continuamente durante 50 minutos através de fluxo constante (10 mL/min). O fluido de perfusão foi mantido a 37°C (F3, Haake, DEU) e com oxigenação constante (5% de CO<sub>2</sub> e

95% de O<sub>2</sub>), permitindo a manutenção do pH a 7,4. Durante o período experimental os corações foram mantidos imersos na mesma solução descrita anteriormente, aquecida através de uma câmara com circulação de água mantido a 37°C.

Um balonete de látex preenchido com água destilada foi introduzido no ventrículo esquerdo através de uma incisão no apêndice atrial para que fosse registrada a força do ventrículo exercida nas paredes do balão. Este dispositivo foi acoplado a um transdutor de pressão (FE221, Bridge Amp, ADInstruments, USA) e a um amplificador (PowerLab 4/35, ADInstruments). O sistema foi previamente calibrado utilizando uma coluna de mercúrio. A pressão do ventrículo esquerdo foi registrada e processada digitalmente para então ser possível analisar as pressões sistólica, diastólica e desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE), a frequência cardíaca e as derivadas positiva e negativa de pressão sobre o tempo (+dP/dt e -dP/dt, respectivamente).

Concomitantemente aos registros de pressão foram monitorados e arquivados os potenciais elétricos do coração, que foram captados por meio de três eletrodos de prata cloretada, preenchidos com solução salina (AgCl/NaCl, 1 mol/L) imersos na solução que banhava o coração. Os sinais eletrocardiográficos foram monitorados e pré-amplificados por um cardioscópio (RX10, Emai) e posteriormente amplificados e digitalizados (PowerLab 4/35, ADInstrument). Os sinais foram armazenados em microcomputador para processamento *offline* por meio de programa específico (LabChart 8.0 ADInstruments).

#### 4.6. SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRÍTMIAS CARDÍACAS

Para a realização do teste de susceptibilidade às arritmias cardíacas *in vivo*, imediatamente após o período basal, que teve duração de 10 minutos, e com os animais ainda sob efeito de anestesia (quetamina, 90 mg/Kg; xilazina, 10 mg/Kg), foi injetada, intraperitonealmente, uma dose de cafeína (120 mg/Kg) e epinefrina (1 mg/Kg), simultaneamente, nos animais de todos os grupos experimentais. O monitoramento através do ECG foi realizado por adicionais 15 minutos após a administração dos fármacos, para a quantificação e estratificação das arritmias. A susceptibilidade às arritmias foi determinada por meio de um sistema de escore modificado de incidência e severidade (Curtis e Walker, 1988; Erickson *et al.*, 2013), o qual foi aplicado a cada animal: 0, se não houve eventos arrítmicos durante o teste; 1, nos casos de uma contração ventricular prematura; 2, se bigeminismo e/ou salvos estavam presentes; 3, para taquicardia ventricular; 4, em caso de fibrilação ventricular; 5, no caso de taquicardia ventricular sustentada por período maior que 15 segundos; e 6, para

fibrilação ventricular sustentada por mais de 15 segundos. Para uma melhor análise no momento da classificação das arritmias, o tempo total do experimento foi dividido em cinco intervalos de três minutos.

#### 4.7. ANÁLISE MORFOLÓGICA

A avaliação do índice cardíaco, para verificar a ocorrência de adaptação morfológica e potencial hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício, foi realizada pela medida da massa do coração em miligramas e normalizada pela massa corporal dos animais, mensurada imediatamente antes da eutanásia, em gramas. Para tal, após removidos, os corações foram lavados em PBS e secados com gaze de algodão antes da mensuração da massa do tecido (Francis *et al.*, 2001).

#### 4.8. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Para a realização das análises histológicas foi preparado um diferente conjunto de animais dos grupos controle e treinados em alta intensidade e frequência. No momento da eutanásia, com os animais sob anestesia (quetamina, 90 mg/Kg; xilazina, 10 mg/Kg; ip), foi feita a toracotomia e realizada a perfusão intracardíaca com solução de KCl a 10% para o relaxamento das fibras cardíacas, permitindo, assim, a remoção do coração em diástole. Posteriormente os corações foram fixados em solução de formalina tamponada (10%) e incluídos em parafina. Após a montagem dos blocos, as amostras foram submetidas a microtomia em seções de 5  $\mu$ m (Leica, Bensheim, DEU). Em seguida, as seções dos corações foram coradas com *picrosirius red*, para avaliar a presença e extensão da fibrose. A captura das imagens foi realizada em microscópio de luz (BX60, Olympus, JPN). A extensão da fibrose foi medida em cada um dos dez campos escolhidos aleatoriamente por animal em áreas perivasculares e intersticiais. Todo o colágeno em torno de uma artéria coronária intramiocárdica foi considerado colágeno perivascular. Foram analisadas 10 regiões focais de fibrose em cada seção e a média da área fibrótica foi relatada.

#### 4.9. MEDIDA DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Outros grupos de animais foram treinados seguindo a mesma metodologia para que o tecido cardíaco pudesse ser utilizado para a investigação molecular. Após a eutanásia, os

corações foram excisados, lavados em PBS gelado e uma parte do coração foi incorporado a uma solução de criopreservação que permite a obtenção das seções do coração em temperatura ideal (Tissue-Tek, O.C.T. compound; Sakura, USA). Posteriormente estes tecidos foram armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , por um período máximo de duas semanas, até a preparação das lâminas. Os blocos de tecido congelado foram cortados transversalmente em seções de  $10\ \mu\text{m}$  de espessura e transferidos para uma lâmina histológica. As seções do coração foram hidratadas com Krebs-Henseleit aquecido ( $37^{\circ}\text{C}$ ) por 10 minutos, para então ser adicionada sobre as seções a sonda fluorescente dihidroetídio (DHE,  $10\ \mu\text{mol/L}$ ; Invitrogen, USA), que é permeável às células, e incubadas na câmara umidificada a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos, estando sempre protegida da luz. Após o período de incubação com a sonda, as lâminas foram cuidadosamente lavadas por três vezes (cinco minutos por lavagem) com Krebs-Henseleit aquecido e, em seguida, imediatamente fotografada sob um microscópio de fluorescência (Ci-E, Nikon, ITA), com um tempo de exposição fixo para todas as lâminas. Foram analisadas 15-20 imagens por lâmina em áreas aleatórias e cada imagem teve seu background subtraído. A intensidade fluorescente de DHE foi medida usando o software ImageJ  $1,38\times$  (NIH, USA), tendo sido a média do grupo treinado normalizada pelo grupo controle.

#### 4.10. MEDIDA DOS DANOS OXIDATIVOS

Além disso, foram quantificados os danos oxidativos aos lipídios e proteínas. Para tal, amostras dos ventrículos foram pesadas e homogeneizadas em tampão fosfato de potássio ( $50\ \text{mmol/L}$ , pH 7,4), suplementado com hidroxitolueno butilado (BHT,  $12,6\ \text{mmol/L}$ ; Synth, BRA), seguindo a proporção de 1:10 (m/v). As amostras foram então centrifugadas a  $12.000\ \text{g}$  por 30 minutos em temperatura ambiente (Neofuge 15R, Heal Force, CHN) e o sobrenadante coletado para a quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Em seguida, os sobrenadantes foram misturados a uma solução de ácidos (1:2, v/v), contendo ácido tiobarbitúrico (TBA 0,37%; Merck Millipore, DEU), ácido tricloroacético (15%; Dinâmica, BRA) e ácido clorídrico ( $0,25\ \text{mol/L}$ ; VETEC, BRA), e incubados por 45 minutos a  $90^{\circ}\text{C}$ . Depois a mistura sobrenadante/solução de ácidos foi centrifugada por cinco minutos a  $16.000\ \text{g}$  e o sobrenadante coletado. O sobrenadante foi então misturado (1:1:0,01) a n-butanol (Synth, BRA) e solução saturada de NaCl ( $6\ \text{mol}$ ; Neon, BRA), agitado em vórtex por 30 segundos e novamente centrifugado por dois minutos a  $16.000\ \text{g}$ . O sobrenadante foi então transferido para uma placa de 96 poços para medida da absorbância das amostras em espectrofotômetro de placa (ELx800 Absorbance Microplate Reader, Biotek, USA) a  $535\ \text{nm}$ , corrigindo pelos valores de

absorbância a 572 nm para remover a absorbância inespecífica. A quantidade de malondialdeído produzida foi expressa em nanomol por gramas de tecido e interpretada como marcador de peroxidação lipídica formado pela reação com o ácido tiobarbitúrico (Bose, Sutherland e Pinsky, 1989).

Outra parte dos ventrículos foi pesada e homogeneizada em PBS (pH 7,4), seguindo a proporção de 1:10 (m/v), e centrifugados a 12.000 g por 30 minutos a 4°C (Neofuge 15R, Heal Force, CHN). Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um outro tubo e armazenado a -80°C até a realização dos ensaios de hidroperóxidos totais, superóxido dismutase e catalase.

Para a quantificação de hidroperóxidos totais, outro marcador de dano oxidativo aos lipídios, foi adicionado às amostras o reagente de FOX [em mmol/L: 0,25 alaranjado de xilenol, 0,25  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 4,4 hidroxitolueno butilado (BHT)] enriquecido com metanol e ácido sulfúrico, e a mistura foi mantida protegida da luz em temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 12.000 g por cinco minutos em temperatura ambiente, o sobrenadante foi transferido para placas de 96 poços e foi feita a leitura da absorbância a 560 nm em espectrofotômetro de placa (ELx800 Absorbance Microplate Reader, Biotek, USA) (Nourooz-Zadeh, Tajaddini-Sarmadi e Wolff, 1994).

#### 4.11. ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES

O sobrenadante das amostras que foram homogeneizadas em PBS também foi utilizado para a quantificação da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase. Para a medida da atividade da SOD foi realizado um ensaio baseado na auto-oxidação do pirogalol intermediada pela geração do ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) e sua dismutação pela enzima SOD presente nas amostras. Foram pipetados em placas de 96 poços o sobrenadante das amostras, seguido da adição de PBS, brometo de tiazolil azul de tetrazolio (1,25 mmol/L; Sigma-Aldrich, USA) e pirogalol (100  $\mu\text{mol/L}$ ; Sigma-Aldrich). A placa foi então agitada por cinco minutos e, imediatamente após, foi adicionado DMSO (Synth, BRA). A leitura da absorbância da reação foi realizada em espectrofotômetro de placa a 570 nm.

Enquanto a atividade da catalase foi mensurada através da capacidade da enzima presente nas amostras inibir o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Assim, foram adicionados, em cubeta de quartzo, tampão de fosfato de potássio (50 mmol/L; pH 7,0), seguido da amostra e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (300 mmol/L; Merck Millipore, DEU). A decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  pela catalase foi monitorada em um espectrofotômetro (Hitachi, JPN), através da mudança na absorbância a 240

nm ( $\Delta E$ ) durante um minuto, com medidas a cada 15 segundos, com a temperatura da reação mantida a 25°C e protegida da luz (NELSON & KIESOW, 1972).

Para a medida da atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx), outra porção do tecido cardíaco foi pesado e homogeneizado em tampão fosfato de sódio (50 mmol/L; Neon, BRA) contendo cloreto de potássio (KCl; 140 mmol/L, pH 7,4; Neon), seguindo a proporção de 1:10 (m/v), e centrifugados a 12.000 g durante 30 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C. Para o ensaio enzimático, foi preparada imediatamente antes do experimento a solução de reação do ensaio da GPx em banho de gelo, contendo tampão fosfato (100 mmol/L, pH 7,0; Neon), fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH; 8,4  $\mu$ mol/L; Sigma-Aldrich), glutathiona redutase (10 U/mg de proteína; Sigma-Aldrich), azida sódica (1,125 mol/L; Sigma-Aldrich), glutathiona reduzida (0,15 mmol/L; Sigma-Aldrich) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2,2 mmol/L; Merck Millipore). As amostras foram misturadas com a solução de reação do ensaio da GPx em placa de 96 poços e a oxidação do NADPH foi monitorada através da diminuição da absorbância a 340 nm por seis minutos a 25°C em espectrofotômetro de placas (Paglia e Valentine, 1967).

#### 4.12. DOSAGEM DE PROTEÍNAS

Para realizar a normalização dos resultados da atividade das enzimas antioxidantes, a concentração de proteínas presentes nas amostras foi determinada pelo método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951). Para tanto, foram adicionados NaOH (0,5 mmol/L) às amostras em placa de 96 poços, sendo estas mantidas sob agitação durante 15 minutos. Posteriormente foi adicionada solução contendo Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3%, KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O 4%, e CuSO<sub>4</sub> 2%, seguida da adição do reagente de Folin (Sigma-Aldrich), tendo sido evitada exposição à luz. Em seguida, a placa foi incubada por 30 minutos sob agitação e depois realizada leitura a 630 nm em espectrofotômetro de placa. Por fim, foi construída uma curva padrão de albumina bovina (Sigma-Aldrich) para aferição da concentração de proteínas nas amostras testes.

#### 4.13. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

Para a avaliação das alterações moleculares induzidas pelo treinamento de força, foram realizados experimentos de reação em cadeia da polimerase (PCR) no laboratório geral do Departamento de Circulação e Imagem, do Hospital St. Olavs, da Universidade Norueguesa de Ciência e Tecnologia (NTNU). Um pedaço do ventrículo esquerdo foi cortado, colocado em

tubo contendo quatro esferas de cerâmica de 2,8 mm, e Qiazol (Qiagen, NOR) foi adicionado para homogeneização. Para a extração do RNA, o tecido foi homogeneizado através de agitação vigorosa (Precellys 24, Bertin Technologies, FRA), em três séries de 15 segundos cada e intervalos de cinco minutos em temperatura ambiente. O RNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro (A260 nm, Nanodrop 2000, Thermo Scientific) e a pureza medida através das razões A260/A280 nm e A260/A230 nm. O cDNA foi sintetizado por transcrição reversa utilizando-se o kit *High capacity RNA-to-cDNA* (Applied Biosystems, USA). Após a transcrição reversa as amostras foram diluídas para a concentração final de 5 ng/ $\mu$ L com água livre de nuclease. O cDNA foi quantificado através de PCR quantitativa (qRT-PCR) no sistema CFX96 (BioRad, USA), usando o kit *PowerUP SYBR green PCR master mix* (Applied Biosystems, ENG), seguindo as condições de ciclos recomendadas pelo fabricante. Cada reação de qRT-PCR empregou uma etapa inicial de ativação de dois minutos a 50°C e dois minutos a 95°C, seguida de 40 ciclos de termociclagem com as etapas de 15 segundos a 95°C, 15 segundos a 55°C e 60 segundos a 72°C. A análise de qRT-PCR foi realizada em triplicatas oriundas de mistura de igual volume de cDNA. A expressão dos genes foi calculada pelo método  $\Delta\Delta C_t$  e os dados foram normalizados usando a média dos genes codificantes Gapdh (gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase) e Actb ( $\beta$ -actina) como controle endógeno, amplificado em cada experimento de qRT-PCR. A expressão dos genes foi apresentada como expressão relativa em comparação ao grupo controle, ao qual foi atribuído o valor de 1 (BOOKOUT et al., 2006). Os oligonucleotídeos específicos para *Rattus norvegicus* foram projetados usando a ferramenta *Primer Blast* (Nih) e estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1.** Sequência dos oligonucleotídeos utilizados.

Gene	Forward 5' oligo	Reverse 5' oligo
Myh6	GGCCAAGAGCCGTGACATT	TTGTGGGATAGCAACAGCGAG
Myh7	CAACCTGTCCAAGTTCCGCA	GGCATCCTTAGGGTTGGGTAG
Acta1	AGGACCTGTACGCCAACAAAC	ACATCTGCTGGAAGGTGGAC
Nppa	CGGCACTTAGCTCCCTCTCT	GTTGCAGCCTAGTCCGCTCT
Nppb	GACGGGCTGAGGTTGTTTAA	ACTGTGGCAAGTTTGTGCTG
Ryr2	GACATGAAGTGTGACGACATGCT	CACGGACGCCACATACA
Pln	TACCTTACTCGCTCGGCTATCAG	GACCTTCACGACGATGTCCAG
Slc8a1	GGAGACCCAGAAGGAAATCAG	TGACCCGAGACAAGCAATC
Casq2	CCAGACGACTTTCCTCTGCT	TCCAGACACTGTTCAGCATCG
Atp2a2	AATCTGGTGACGGATGGTCTG	TTCGAAGTCTGGGTTGTCCCTC
Trdn	TTTTCAGCAAGCTCCATCGC	TGTTTCCTCCACAGCATCGT
Asph	AGGGAAGAACGGCTTGCTG	CTCCGTGCTTTGCCTCTTT
Calm1	GCGAAGAAGAAATCCGTGAG	GTTCTGCCGCACTGATGTAG
Camk2d	AAGGGTGCCATCTTGACAAC	CTGGTTACCACGTTGGCTTT
Cacna1c	AGCAACTTCCCTCAGACGTTTG	CACAGTGCTGACCGTGCTG
Kcnj2	TGCCCCGATTGCTGTTTTTC	GGCTGTCTTCGTCTATTT
Kcnd3	CCCTCACCATGGCCATCATC	AATGACCAGGACGCCGCT
Kcne1	GGGTTTCTTCGGCTTCTTCAC	GACAGTGGCTTCAGTTCAGGA
Kcne2	CTACGTCATCCTGTACCTCATGG	CCTATACTTCTGCTGCCAATCC
Sod1	GGTGAACCAGTTGTGGTGTGTCAGG	ATGAGGTCTGCAGTGGTACAG
Sod2	GCAAGGAACCACAGGCCCTTA	TGGCTAACATTCTCCCAGTTGA
Cat	CTTCATCAGGGATGCCATGT	CGGTCGCTGAACAAGAAAGT
Gpx1	CCGGGACTACACCGAAATGA	TGCCATTCTCCTGATGTCCG
Nox4	GTCTGCTTGTGGTGTGCTGTC	ATCCTAGGCCCAACATCTGG
Cyba	TGGCCTGATCCTCATCACAG	TCCAGCAGACAGATGAGCAC
Cybb	GCCGGAAACCTCCTATGAC	AAGGATGAGTGACCACCTTGG
Ncf1	GACACCTTCATTCCGCACATC	GAACATGTACACATAGTGTGGC
Ncf2	ACACCATCCTGGACAACCTG	GCTGGACGGTACTTCTCCAT
Actb	CCTTCTTGGGTATGGAATCCTGT	GAGGTCTTTACGGATGTCAACG
Gapdh	GCTGATGCCCCCATGTTTG	ACCAGTGGATGCAGGGATG

#### 4.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.). Inicialmente foi feita a análise de normalidade dos dados através do teste de Shapiro-Wilk. Para as análises em que foram comparados os grupos controle e treinado de alta intensidade e frequência foi utilizado o teste t *Student* não pareado quando os dados apresentaram distribuição normal. Enquanto para os dados em que a distribuição não foi normal, o teste de Mann-Whitney foi utilizado.

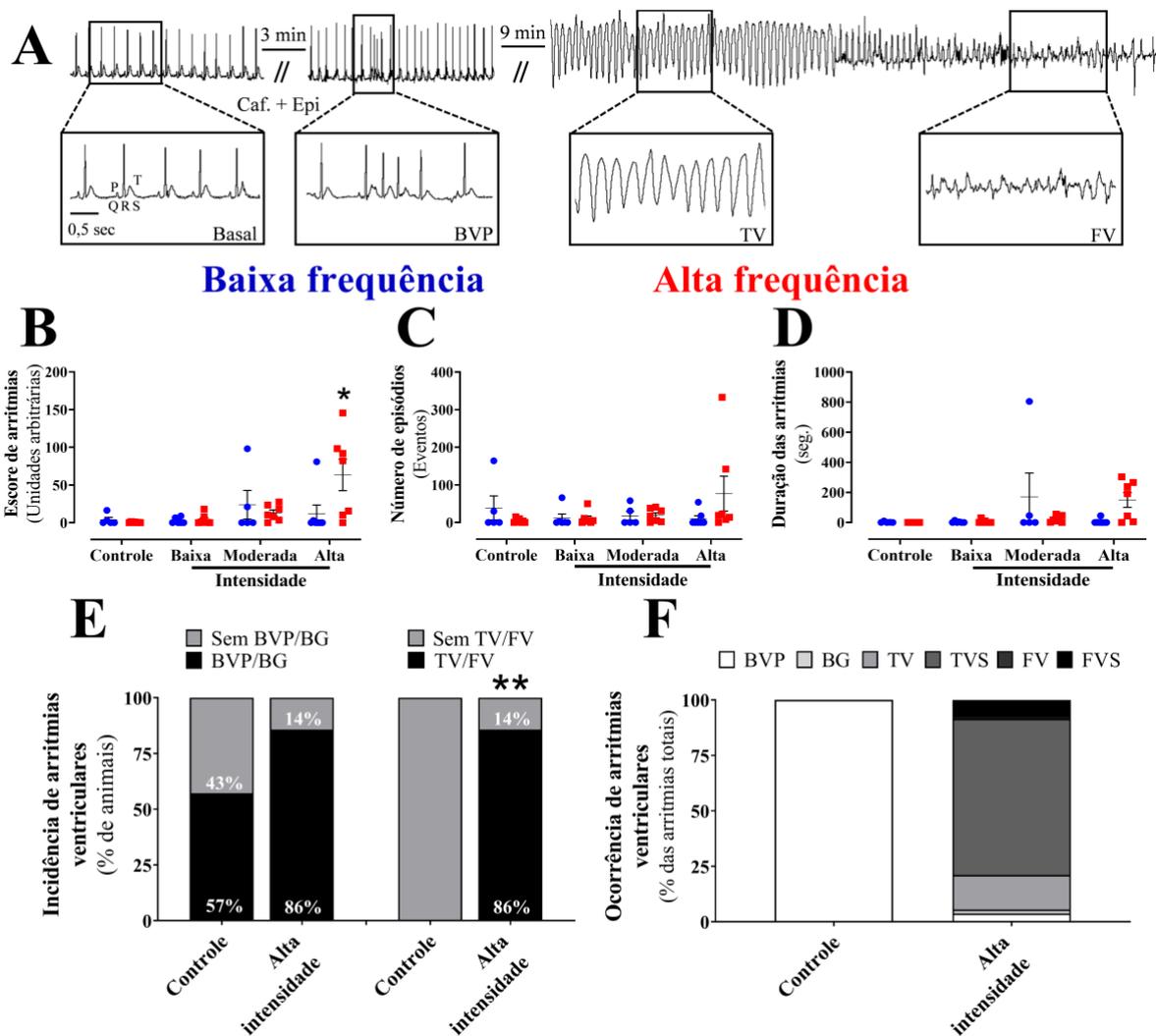
De forma similar, a análise de variância (ANOVA de “uma via” ou “duas vias”) seguido do pós-teste de Bonferroni (quando houve distribuição normal) ou o teste de Kruskal-Wallis foram utilizados quando necessário para avaliar a significância das diferenças entre as médias dos grupos de diferentes intensidades e frequências de treinamento. O teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) sem correção de Yates foi utilizado para a comparação da incidência das arritmias entre os grupos. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ . Em todos estes procedimentos foi utilizado o GraphPad Prism versão 8.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. TREINAMENTO DE FORÇA INTENSO AUMENTA A SUSCEPTIBILIDADE ÀS ARRITMIAS VENTRICULARES

O treinamento aeróbico em intensidades excessivas, seja ele de natação ou de esteira, tem sido sugerido como a causa do desenvolvimento das arritmias atriais e ventriculares em animais saudáveis (camundongos e ratos) (Aschar-Sobbi *et al.*, 2015; Benito *et al.*, 2011; Guasch *et al.*, 2013; Lakin *et al.*, 2019). Desta forma, nós testamos, através de um modelo *in vivo*, se o treinamento de força também pode causar esse tipo de efeito indesejado, bem como testamos se este efeito é dependente da intensidade e do volume de treino semanal. O treinamento de força quando realizado com alta frequência (5x/semana) e alta intensidade (80% de 1RM) causou o aumento da susceptibilidade ao desenvolvimento de arritmias (escore de arritmia) em modelo de estresse farmacológico induzido por epinefrina e cafeína (Figura 1A-B). Entretanto, nenhuma diferença foi encontrada ao analisar a quantidade de arritmias surgidas, bem como a duração destas (Figura 1C-D).

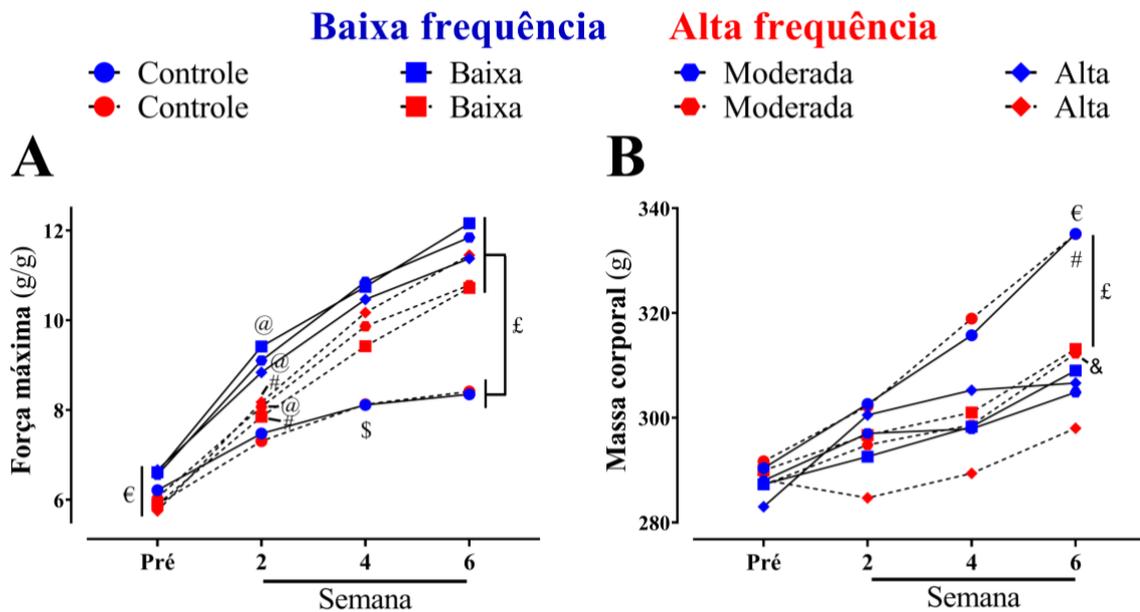
Visando obter uma compreensão mais aprofundada das arritmias ocorridas, classificamos a incidência de arritmias de acordo com o surgimento de batimentos ventriculares prematuros (BVP) e bigeminismo (BG), que são arritmias mais brandas, bem como as taquicardias ventriculares (TV) e fibrilações ventriculares (FV), que são mais severas e potencialmente fatais. Curiosamente, encontramos maior incidência das arritmias ventriculares que possuem risco de morte, as TV e FV (Figura 1E-F). Enquanto não foi encontrada diferença na incidência de BVP e BG entre os grupos controle e treinado com alta intensidade e alta frequência (Figura 1E-F).



**Figura 1.** Treinamento de força em alta intensidade e alta frequência aumenta a susceptibilidade às arritmias in vivo. **A.** Traçado representativo das arritmias ocorridas. **B.** Estratificação do escore de arritmias; n=6-7 por grupo; ANOVA de “duas vias” seguido do pós-teste de Bonferroni. **C.** Quantidade de arritmias ventriculares ocorridas durante o período experimental; n=6-7 por grupo; ANOVA de “duas vias” seguido do pós-teste de Bonferroni. **D.** Duração das arritmias ventriculares ocorridas durante o período experimental; n=6-7 por grupo; ANOVA de “duas vias” seguido do pós-teste de Bonferroni. **E.** Estratificação das arritmias ventriculares ocorridas durante o período experimental de acordo com o número de animais; n=7 por grupo; teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) sem correção de Yates. **F.** Estratificação das arritmias ventriculares ocorridas durante o período experimental de acordo com o tipo de arritmia; n=7 por grupo. BVP: batimento ventricular prematuro, BG: bigeminismo, TV: taquicardia ventricular, TVS: taquicardia ventricular sustentada, FV: fibrilação ventricular, FVS: fibrilação ventricular sustentada. \*  $p < 0,05$  comparado a todos os grupos, exceto ao grupo treinado a moderada intensidade e baixa frequência; \*\*  $p < 0,01$ .

Apesar do aumento da susceptibilidade às arritmias ventriculares observado, constatamos que o treinamento de força promoveu o aumento da força máxima dos animais (Figura 2A), além de o treinamento ter contribuído para o controle da massa corporal dos

animais (Figura 2B). Demonstrando, assim, que o treinamento foi eficaz e promoveu as alterações comumente esperadas com o engajamento em um programa de treinamento físico.

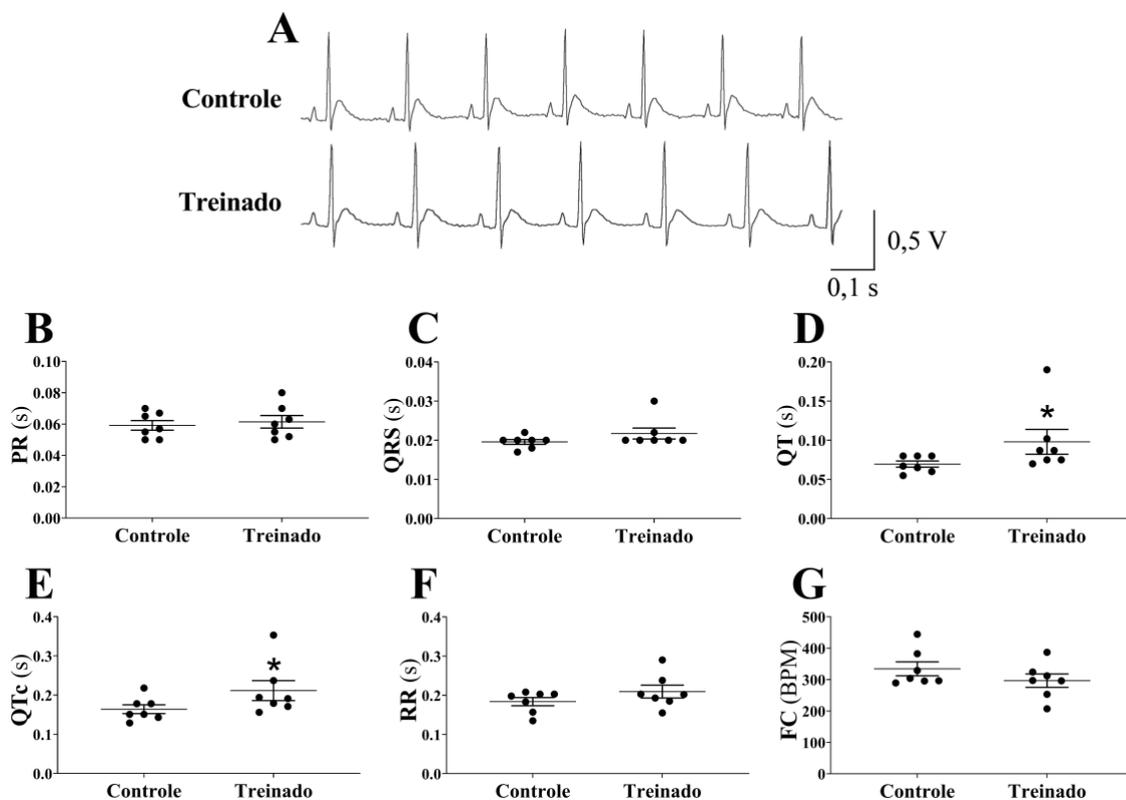


**Figura 2.** Monitoramento do desempenho e da antropometria dos animais durante o período experimental. **A.** Força máxima dos animais normalizada pela massa corporal ao longo do período de treinamento; n=6-13 por grupo; ANOVA de “duas vias” seguido do pós-teste de Bonferroni; € p<0,05 comparado ao seus respectivos grupos nos diferentes momentos, @ p<0,05 comparado à quarta e à sexta semana do mesmo grupo, # p<0,05 comparado à sexta semana do mesmo grupo, \$ p<0,05 diferença entre o grupo controle de baixa frequência e os grupos de baixa e moderada intensidade e baixa frequência, e ao grupo de moderada intensidade e alta frequência na quarta semana, £ p<0,05 diferença entre os grupos controles e todos os grupos treinados na sexta semana. **B.** Evolução da massa corporal dos animais; n=6-13 por grupo; ANOVA de “duas vias” seguido do pós-teste de Bonferroni; € p<0,05 diferença entre todos os momentos avaliados do controle de baixa frequência, # p<0,05 comparado ao próprio momento pré do controle de alta frequência, & p<0,05 comparado ao próprio momento pré e à segunda semana do grupo treinado com intensidade moderada de alta frequência, £ p<0,05 diferença entre o grupo controle de baixa frequência e o grupo treinado com baixa intensidade e alta frequência.

## 5.2. ALTERAÇÕES DA FUNÇÃO ELÉTRICA CARDÍACA INDUZIDA PELO TREINAMENTO DE FORÇA DE ALTA INTENSIDADE

Após constatarmos que o treinamento de força de alta intensidade e frequência provocou o aumento da susceptibilidade às arritmias, decidimos investigar de forma mais profunda os efeitos do treinamento de força com alta intensidade e com maior frequência semanal. Desta forma, analisamos os registros eletrocardiográficos destes animais na tentativa de identificar

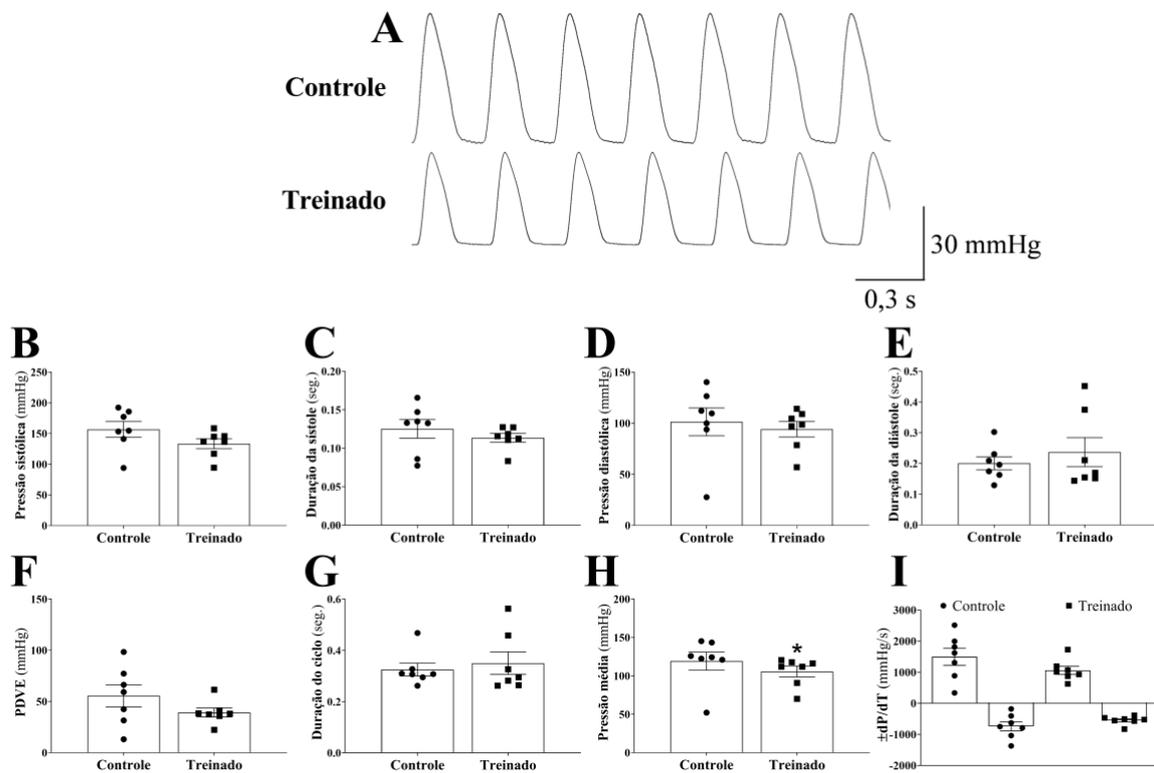
algum distúrbio ou adaptação maléfica causada pelo treinamento nestas configurações que justificassem o aumento da susceptibilidade às arritmias nos animais treinados. Verificamos que o treinamento causou o prolongamento do intervalo QT (Figura 3D). Também fizemos a análise do intervalo QT através da normalização pela equação de Bazett (QTc) (Bazett, 1920), a qual corrige o intervalo QT pela raiz quadrada do intervalo RR, tornando mais precisa a identificação de risco de arritmia ventricular (Roguin, 2011). Também encontramos aumento do QTc nos animais treinados (Figura 3E). Ao mesmo tempo não foi encontrada diferença na análise dos outros intervalos e segmentos do ECG (Figura 3A-C, F-G).



**Figura 3.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência provoca o prolongamento do intervalo QT de ratos. **A.** Traçado representativo do eletrocardiograma in vivo dos grupos experimentais. **B.** Duração do segmento PR; n=7 por grupo. **C.** Duração do complexo QRS; n=7 por grupo. **D.** Duração do intervalo QT; n=7 por grupo. **E.** Duração do intervalo QT corrigido pela equação de Bazett; n=7 por grupo. **F.** Duração do intervalo RR; n=7 por grupo. **G.** Média da frequência cardíaca durante o período experimental; n=7 por grupo. Teste t *Student* não pareado. s: segundos, FC: frequência cardíaca, BPM: batimentos por minuto. \*p<0,05.

Complementamos nossas análises das alterações na função cardíaca induzida pelo treinamento de força de alta intensidade e alta frequência através da análise da performance contrátil do ventrículo esquerdo. Não foram observadas alterações na pressão sistólica e

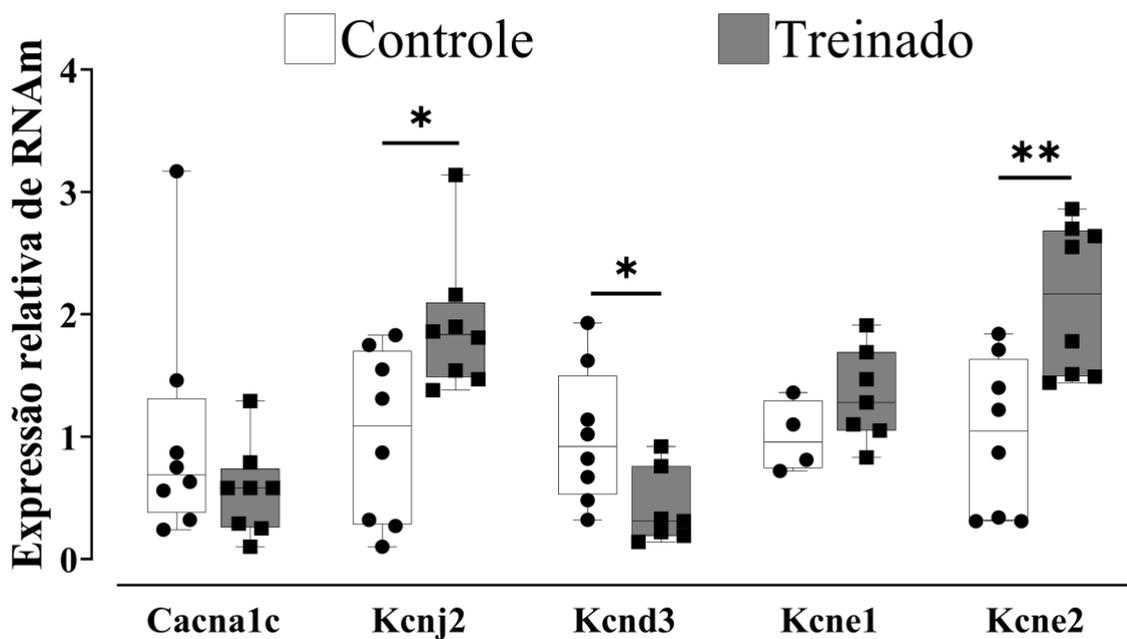
diastólica, na duração da sístole e diástole, na duração do ciclo cardíaco e na pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo, bem como nas derivadas positiva e negativa (Figura 4A-G, I). Embora a pressão média tenha sido menor nos animais treinados (Figura 4H) quando comparados aos controles. Isto pode ter ocorrido por diversos fatores, tais como a quantidade de treinamento por semana e o prolongado período realizando o treinamento em intensidade alta ou as seis semanas de treinamentos não terem sido suficientes para alterar este fenótipo.



**Figura 4.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência não altera a função cardíaca em coração isolado de ratos. **A.** Traçado representativo da pressão ventricular ex vivo dos grupos experimentais. **B.** Pressão sistólica ventricular; n=7 por grupo. **C.** Duração da contração ventricular; n=7 por grupo. **D.** Pressão diastólica ventricular; n=7 por grupo. **E.** Duração do relaxamento ventricular; n=7 por grupo. **F.** Pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (PDVE); n=7 por grupo. **G.** Duração do ciclo cardíaco; n=7 por grupo. **H.** Pressão ventricular média; n=7 por grupo. **I.** Compilação das derivadas positiva e negativa da pressão ventricular ( $\pm dP/dt$ ); n=7 por grupo. Teste t *Student* não pareado. \* $p < 0,05$ .

Levando em consideração que alterações em canais iônicos de células cardíacas podem afetar suas condutâncias de maneira a aumentar a duração do potencial de ação, e, conseqüentemente, o intervalo QT, avaliamos a expressão dos principais canais iônicos envolvidos no prolongamento do intervalo QT. Corroborando os resultados encontrados ao analisar o intervalo QT e QTc, identificamos aumento na expressão dos genes *Kcnj2* e *Kcne2* (Figura 5), que codificam o canal para potássio  $I_{K1}$  ( $K_{ir2.1}$ ) e a subunidade acessória do canal

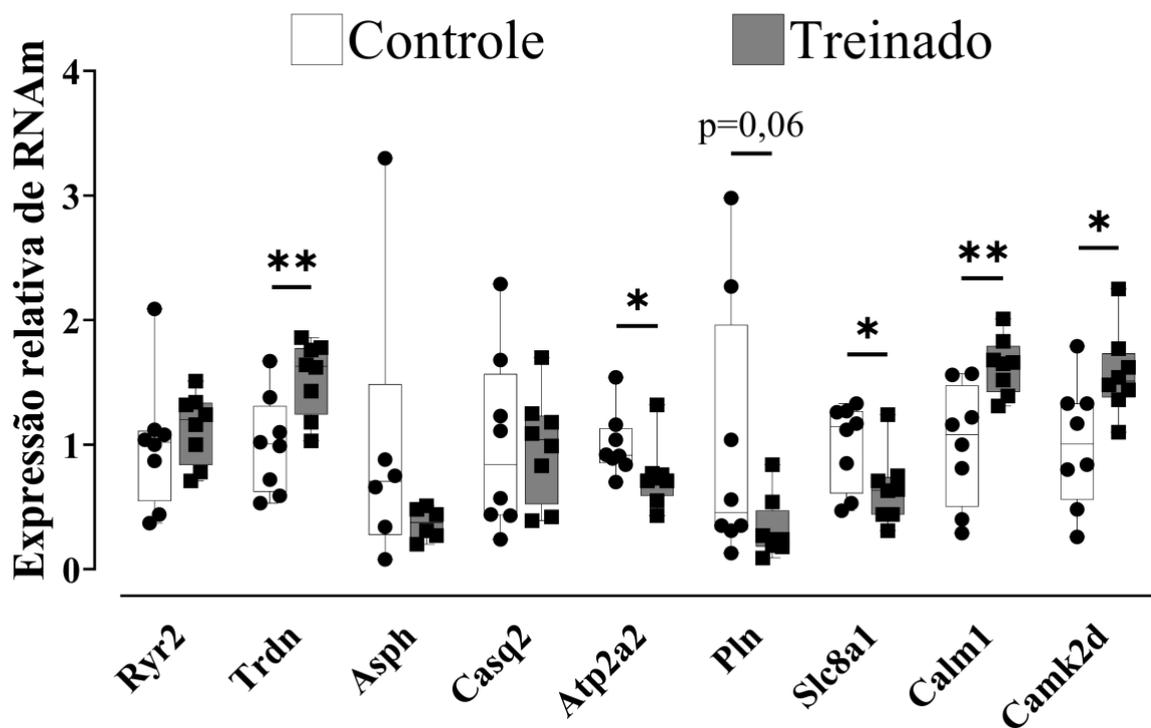
para potássio sensível à voltagem (MiRP1), respectivamente. Todavia, não encontramos alteração na expressão de *Cacna1c* [Canal de cálcio do tipo L sensível à voltagem ( $Ca_{v1.2}$ )] e de *Kcne1* (Figura 5), que codifica a subunidade  $\beta$  do canal retificador retardado lento essencial do potássio ( $I_{Ks}$ ) (minK). Complementarmente, encontramos redução na expressão de RNAm do gene *Kcnd3* ( $K_{v4.3}$ ) nos animais treinados (Figura 5), apontando a possível explicação para o prolongamento do intervalo QT observado através do ECG.



**Figura 5.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência desregula a expressão de genes dos reguladores do canal para potássio nos ventrículos de ratos; n=8 por grupo. Teste t *Student* não pareado. \* p<0,05; \*\* p<0,01.

Apesar de não termos encontrado alterações na função cardíaca dos animais treinados com as técnicas utilizadas, partimos para a investigação de eventos prévios aos danos cardíacos, uma vez que sua ocorrência depende de alterações moleculares anteriores. Assim, quantificamos a expressão de genes relacionados com o controle da função cardíaca através da regulação de transientes de cálcio, os quais também possuem importante papel no desenvolvimento de arritmias. Embora não tenha ocorrido alterações na expressão gênica do receptor rianodina (*Ryr2*) (Figura 6), observamos aumento na expressão do gene que codifica a proteína de ancoragem triadina (*Trdn*), sem alteração da junctina (*Asph*) no coração dos animais treinados (Figura 6). Estas proteínas são responsáveis pela ligação entre o receptor rianodina e a calsequestrina (*Casq2*), formando um complexo proteico na membrana do retículo sarcoplasmático para regular a liberação do cálcio do retículo (Györke *et al.*, 2004; Zhang *et*

al., 1997). Também não houve alteração na expressão da calsequestrina (Figura 6). Ao avaliar os genes das proteínas responsáveis pela recaptação do cálcio citosólico, vimos que o treinamento causou a redução na expressão gênica da ATPase transportadora de cálcio do retículo sarcoplasmático (Atp2a2, a SERCA2a) e uma tendência para reduzir a expressão de fosfolambam ( $p=0,06$ ; Pln), bem como reduziu a expressão do trocador de sódio e cálcio (Slc8a1; Figura 6). Já a expressão gênica de calmodulina (Calm1) e da proteína quinase dependente do cálcio/calmodulina do tipo II delta (Camk2d) foram aumentadas (Figura 6).



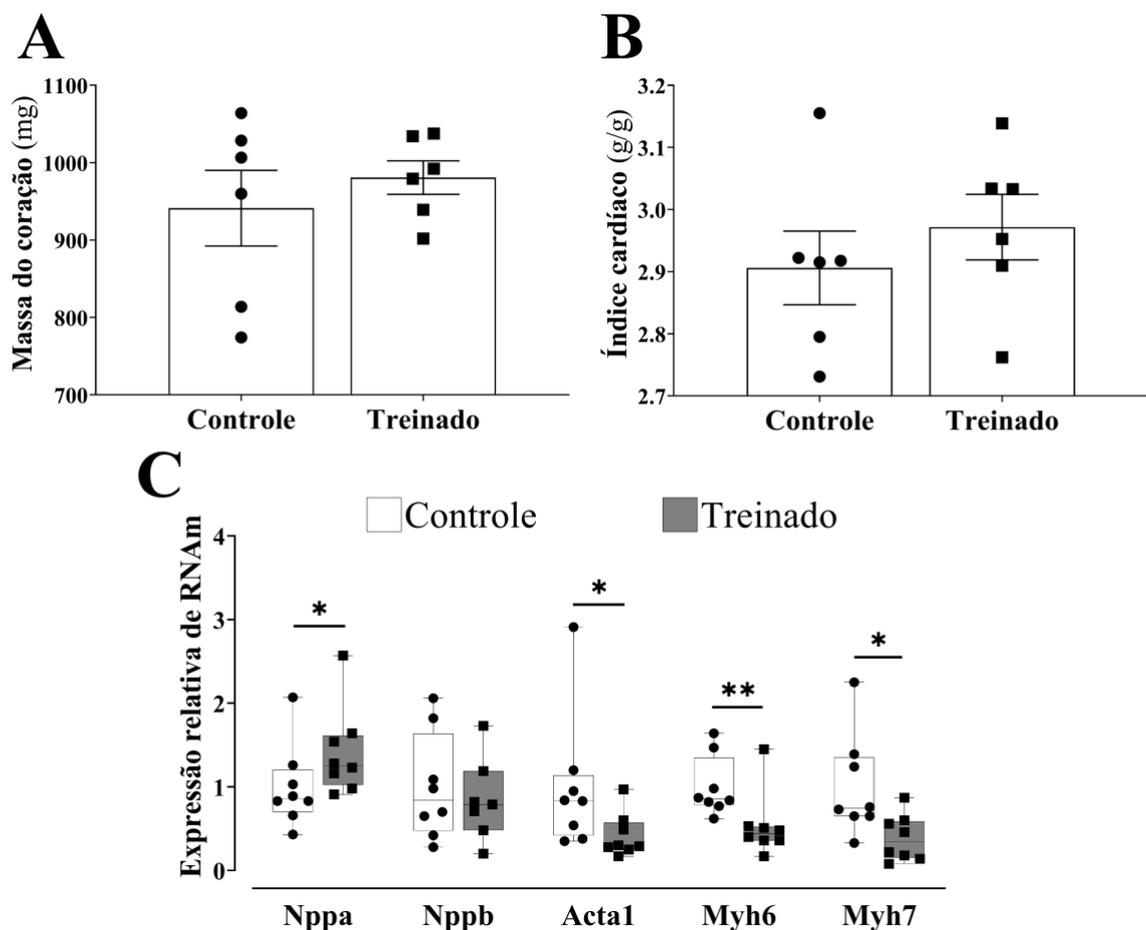
**Figura 6.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência desregula a expressão de genes dos reguladores do ciclo de cálcio nos ventrículos de ratos;  $n=8$  por grupo. Teste *t Student* não pareado. \*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ .

### 5.3. TREINAMENTO DE FORÇA DE CURTO PRAZO NÃO INDUZ REMODELAMENTO CARDÍACO

Levando em consideração que adaptações estruturais no músculo cardíaco estão relacionadas ao aumento na vulnerabilidade às arritmias, complementamos nossas análises das adaptações cardíacas ao treinamento avaliando as alterações estruturais e moleculares ocorridas em decorrência do treinamento de força de alta intensidade e alta frequência. Não encontramos alterações na análise da medida da massa do coração (Figura 7A) e do índice cardíaco

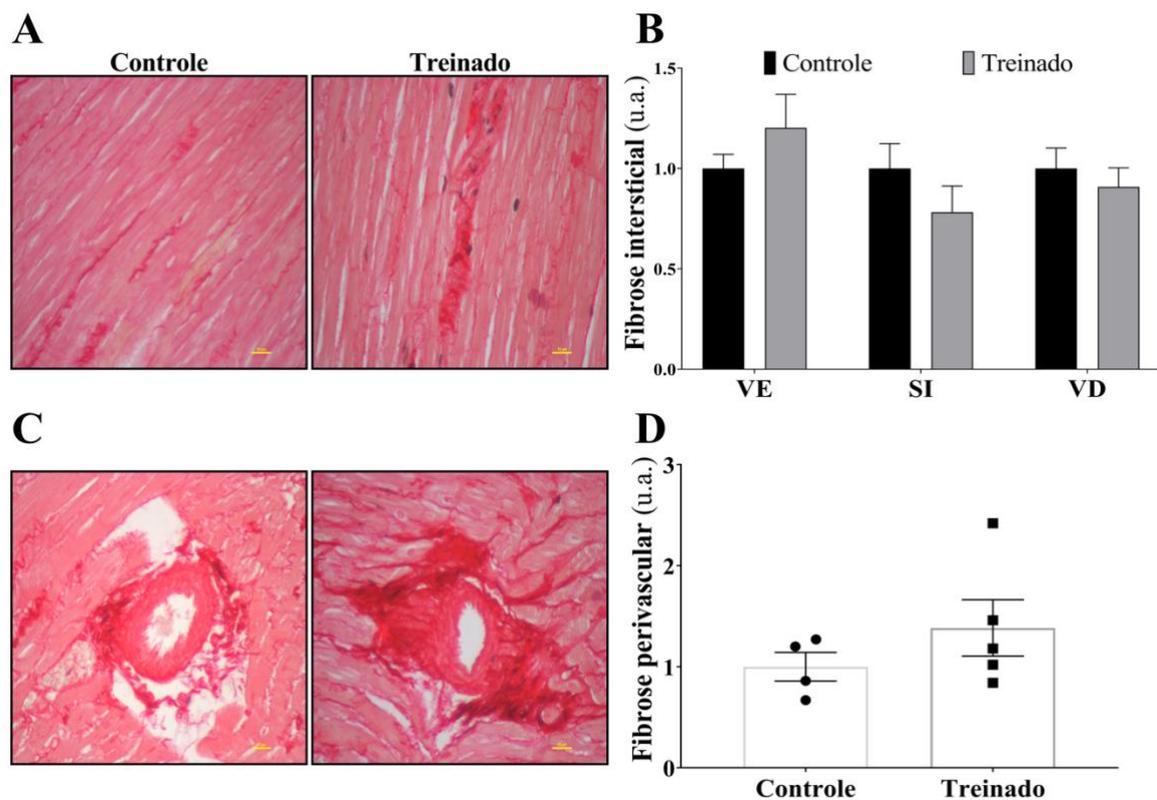
normalizado pela massa corporal (Figura 7B), que são marcadores tardios do processo de hipertrofia cardíaca.

Entretanto, tendo em vista que o treinamento físico induz hipertrofia cardíaca fisiológica (Barauna *et al.*, 2005, 2008; Dantas *et al.*, 2016; Fernandes, Soci e Oliveira, 2011; Fulghum e Hill, 2018; Melo *et al.*, 2018), decidimos avaliar a expressão dos genes envolvidos na chamada reprogramação fetal da célula cardíaca, para determinar se o treinamento de força ativou estes sinalizadores. Pudemos observar que o treinamento de força aumentou a expressão do gene *Nppa* (precursor do peptídeo natriurético atrial), além de reduzir a expressão de *Acta1* (actina alfa 1 do músculo esquelético), *Myh6* (cadeia pesada da miosina cardíaca alfa) e *Myh7* (cadeia pesada da miosina beta), sem alterar a expressão do gene *Nppb* (precursor do peptídeo natriurético cerebral) (Figura 7C).



**Figura 7.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência não causa hipertrofia cardíaca em ratos, mas altera a expressão de genes relacionados ao seu controle. **A.** Massa absoluta do coração; n=6 por grupo. **B.** Índice cardíaco normalizado pela massa corporal dos animais; n=6 por grupo. **C.** Expressão dos genes relacionados à hipertrofia cardíaca; n=8 por grupo. Teste t *Student* não pareado. \* p<0,05; \*\* p<0,01.

Finalmente, investigamos se o treinamento de força causa o prolongamento do intervalo QT devido a alterações estruturais no tecido cardíaco. Encontramos um aumento de 20% na fibrose ocorrida no ventrículo esquerdo e 38% de fibrose perivascular dos animais treinados, porém sem apresentar diferença estatística (Figura 8). Entretanto, observamos uma pequena redução da fibrose no septo interventricular e no ventrículo direito, mas também sem apresentar diferença estatística.

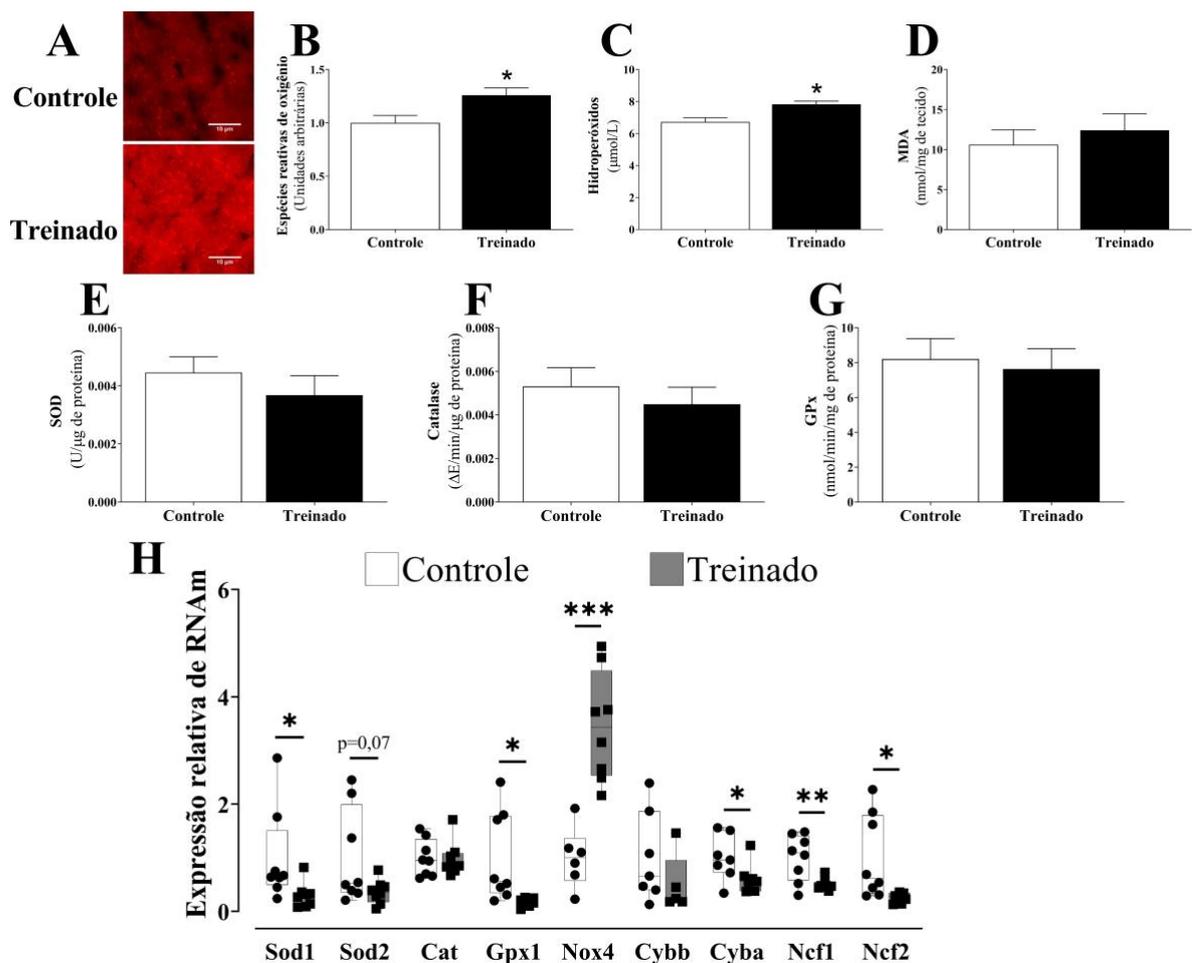


**Figura 8.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência não aumenta a fibrose intersticial e perivascular em ventrículos de ratos. **A.** Imagem representativa de cortes histológicos de áreas intersticiais dos ventrículos corados com *Picrosirius Red* (barra de escala: 10  $\mu$ m). **B.** Análise quantitativa da fibrose intersticial nos ventrículos; n=4 por grupo. **C.** Imagem representativa de cortes histológicos de área perivascular dos ventrículos corados com *Picrosirius Red* (barra de escala: 10  $\mu$ m). **D.** Análise quantitativa da fibrose perivascular nos ventrículos; n=4 por grupo. Teste t *Student* não pareado. u.a.: unidades arbitrárias, VE: ventrículo esquerdo, SI: septo interventricular, VD: ventrículo direito.

#### 5.4. O ESTRESSE OXIDATIVO É UM FATOR CHAVE PARA O DESENVOLVIMENTO DAS ARRITMIAS INDUZIDAS POR TREINAMENTO DE FORÇA DE ALTA INTENSIDADE E ALTA FREQUÊNCIA

O estresse oxidativo é um importante substrato para o surgimento de arritmias e o treinamento de força pode contribuir para o desbalanço do estado redox. Desta forma, analisamos a produção das espécies reativas de oxigênio e o estado das enzimas antioxidantes. Observamos que os animais treinados tiveram aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (Figura 9A-B), o que resultou no aumento de hidroperóxidos (Figura 9C), que é um marcador de danos oxidativos aos lipídios. No entanto, não houve alteração na quantidade de malondialdeído (Figura 9D), outro importante marcador de danos oxidativos aos lipídios. Este resultado pode ser explicado através do que foi obtido ao mensurar a atividade das principais enzimas antioxidantes. Verificamos que as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (Figura 9E-G) não tiveram suas atividades aumentadas para proteger as células contra o aumento das espécies reativas de oxigênio. Isto pode ter ocorrido devido ao prolongado período de estresse causado pelo treinamento de força de alta intensidade e da alta frequência semanal causarem uma produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio. Associado ao fato da atividade das enzimas antioxidantes não ser suficiente para reduzir tais espécies reativas e, conseqüentemente, gerar os danos oxidativos encontrados. Além disso, é importante destacar que é possível que tais enzimas estejam com expressão celular diminuída.

Para confirmar a hipótese descrita anteriormente, avaliamos a expressão dos genes das enzimas antioxidantes (Figura 9H). Pudemos constatar que a expressão dos genes da superóxido dismutase citoplasmática (Sod1) e da glutathione peroxidase (Gpx1) estava reduzida, enquanto a expressão gênica da isoforma mitocondrial da superóxido dismutase apresentou uma tendência para estar reduzida ( $p=0,07$ ). Nenhuma alteração foi vista na expressão da catalase.



**Figura 9.** Treinamento de força de alta intensidade e alta frequência aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio nos ventrículos. **A.** Imagem representativa de cortes histológicos dos ventrículos marcados com dihidroetídio (barra de escala: 10 µm). **B.** Análise quantitativa das espécies reativas de oxigênio nos ventrículos; n=5 por grupo. **C.** Dano oxidativo aos lipídios mensurados através da quantificação dos hidroperóxidos no tecido ventricular; n=5 por grupo. **D.** Dano oxidativo aos lipídios mensurados através da quantificação do malondialdeído no tecido ventricular; n=5 por grupo. **E.** Atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase nos ventrículos; n=5 por grupo. **F.** Atividade da enzima antioxidante catalase nos ventrículos; n=5 por grupo. **G.** Atividade da enzima antioxidante glutatona peroxidase nos ventrículos; n=5 por grupo. **H.** Expressão dos genes das enzimas antioxidantes e das NADPH oxidases. Teste *t Student* não pareado. MDA: malondialdeído, SOD: superóxido dismutase, GPx: glutatona peroxidase, VD: ventrículo direito. \* p<0,05; \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001.

Finalizamos nossas análises buscando entender sobre o aumento de espécies reativas de oxigênio no coração dos animais treinados através da avaliação da expressão gênica das enzimas NADPH oxidases, bem como de suas subunidades (Figura 9H). Apesar de encontrarmos uma redução na expressão gênica de Ncf1 (p47<sub>phox</sub>) e Ncf2 (p67<sub>phox</sub>), verificamos um aumento na expressão de Nox4, a qual já tínhamos demonstrado que possui papel

fundamental na produção de espécies reativas de oxigênio no coração e é responsável pelo aumento da susceptibilidade às arritmias (Macedo *et al.*, 2020).

## 6. DISCUSSÃO

Na presente tese, nós avaliamos os efeitos do treinamento de força sobre a susceptibilidade às arritmias cardíacas. Aqui nós demonstramos, pela primeira vez, que o treinamento de força quando realizado com alta intensidade e alta frequência semanal de treino aumenta a susceptibilidade às arritmias ventriculares em ratos. Este aumento na susceptibilidade às arritmias foi acompanhado pelo aumento no tempo de repolarização ventricular e pelo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio no coração.

Estes resultados estão de acordo com estudos prévio que mostraram que o treinamento aeróbio também causou o aumento da susceptibilidade às arritmias atriais e ventriculares (Aschar-Sobbi et al., 2015; Benito et al., 2011; Guasch et al., 2013; Lakin et al., 2019). No entanto, nós observamos aumento na susceptibilidade às arritmias ventriculares apenas quando o treinamento de força foi realizado com alta intensidade e alta frequência semanal, mostrando uma dependência da intensidade e da quantidade de treinos realizados por semana (volume). Além destas variáveis do treinamento, estudos com o treinamento aeróbico reportaram aumento na susceptibilidade às arritmias cardíacas apenas quando o treinamento foi realizado com alta intensidade e longa duração (Benito et al., 2011; Guasch et al., 2013) ou alta intensidade e alto volume diário (Aschar-Sobbi et al., 2015; Lakin et al., 2019). Além disso, nossos resultados nos ajudam a melhor entender os achados dos estudos populacionais de associação com atletas que sugeriam que há esta relação entre a intensidade, volume e o longo período exposto ao treinamento, e as arritmias cardíacas (Aagaard *et al.*, 2019; Andersen *et al.*, 2013; Baldesberger *et al.*, 2008; Nielsen, Wachtell e Abdulla, 2013). Assim, foi possível confirmar no nosso estudo que tanto a intensidade como o volume são fatores cruciais para o aumento da susceptibilidade às arritmias vistas no nosso estudo.

Apesar do treinamento de força ter causado o aumento da susceptibilidade às arritmias ventriculares no nosso estudo, a avaliação da força máxima dos animais ao longo do período experimental revelou que houve o aumento da força máxima dos animais, confirmando as adaptações esperadas pelo treinamento de força. Este aumento da força máxima dos animais já é bem estabelecido na literatura e diversos estudos têm mostrado este efeito promovido pelo treinamento de força, independentemente da intensidade utilizada no treinamento (Araujo *et al.*, 2013; Barauna *et al.*, 2005, 2007, 2008; Macedo *et al.*, 2020; Miguel-dos-Santos *et al.*, 2019; Tamaki, Uchiyama e Nakano, 1992). Também observamos um controle da massa corporal dos animais treinados, que é outra característica marcante do treinamento físico, mas

nem sempre vista em decorrência do treinamento de força, pois este além de reduzir a gordura corporal, também aumenta a massa magra.

Nós também identificamos que o treinamento de força promoveu adaptações eletrocardiográficas através do prolongamento do intervalo QT e do QTc. A redução no controle vagal cardíaco causado pelo exercício de força tem sido sugerida como a causa deste prolongamento (Heffernan *et al.*, 2008). Desta forma, o prolongamento do intervalo QT visto nos animais treinados do presente estudo pode estar refletindo o aumento do tônus parassimpático ou diminuição do tônus simpático nos ventrículos destes animais. Bem como a hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento também tem sido apontada como a causa do prolongamento do intervalo QT e QTc (Javidanpour *et al.*, 2018).

O prolongamento do intervalo QT está associado ao aumento do risco de arritmia ventricular e morte súbita (Haverkamp *et al.*, 2001; Obeyesekere, Antzelevitch e Krahn, 2015). E, curiosamente, uma sessão de exercício causa um prolongamento ainda maior do intervalo QT em pacientes com a LQTS (Charisopoulou *et al.*, 2019). A LQTS está relacionada com o aumento da incidência de infarto e morte súbita, e estes casos de morte estão associados com as arritmias cardíacas que causam risco de morte (Schwartz, Crotti e Insolia, 2012), podendo o risco de eventos cardíacos ser acentuado durante a prática de exercício físico (Chambers *et al.*, 2017). Apesar desta síndrome ser prioritariamente uma condição clínica de origem genética (LQTS congênita), também há a possibilidade do desenvolvimento desta, que é denominada como LQTS adquirida (Itoh *et al.*, 2016). A LQTS adquirida ocorre principalmente devido ao uso de drogas (Arunachalam *et al.*, 2018; Makita *et al.*, 2002; Rao e Kowey, 2014), distúrbios eletrolíticos (El-Sherif e Turitto, 2011) e o exercício físico (Ryan *et al.*, 2012). Desta forma, o prolongamento do intervalo QT mostrado na presente tese poderia se estender, a longo prazo, para o desenvolvimento da LQTS adquirida.

O prolongamento do intervalo QT também pode estar relacionado a alterações nos canais iônicos. O gene *Kcnj2* é um importante determinante molecular da  $I_{K1}$  cardíaca, pois é traduzido para expressar a proteína  $K_{IR2.1}$ , a qual possui fundamental importância na regulação da excitabilidade cardíaca (Anumonwo e Lopatin, 2010; Boer *et al.*, 2010; Dhamoon e Jalife, 2005). Desta forma, alterações na expressão deste gene implicará em distúrbios nos canais para potássio retificadores de entrada, que pode levar a arritmias ventriculares e atriais, podendo inclusive serem letais (Priori *et al.*, 2005; Vega *et al.*, 2009; Xia *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2007). Além disso, o gene *Kcne2*, que origina a subunidade  $\beta$  reguladora dos canais para potássio, possui papel fundamental em diferentes canais  $K_v$ , assim, distúrbios na expressão do gene *Kcne2* pode causar disfunção na repolarização dos cardiomiócitos (McCrossan e Abbott, 2004).

Mutações no gene *Kcne2* também estão associadas à LQTS, seja ela congênita ou adquirida (Abbott *et al.*, 1999; Sesti *et al.*, 2000). O ganho da função de *Kcnj2* (Musa *et al.*, 2013) e *Kcne2* (Yang *et al.*, 2004) tem sido associado a fibrilação atrial e ventricular.

Ambos os genes apresentaram elevada expressão nos ventrículos dos animais treinados. Apesar de não termos avaliado a expressão de seus produtos proteicos, o que poderia nos dar maior segurança quanto ao aumento ou redução na função do canal, este resultado apontaria para uma melhora do controle da repolarização cardíaca. Isto poderia ser detectável através do ECG de superfície através do intervalo QT, porém não constatamos esta melhora. Salem *et al.* (2013) não observaram mudança na expressão do gene *Kcnj2*, mas encontraram aumento de aproximadamente 50% do gene *Kcne2* em animais treinados em esteira, porém não detectaram diferença estatística significativa.

Como o aumento na expressão dos genes *Kcnj2* e *Kcne2* causam o encurtamento do intervalo QT e a redução da transcrição destes genes desencadeia o prolongamento, decidimos quantificar a expressão do gene *Kcnd3*. Este gene codifica a subunidade  $\alpha$  formadora do poro do canal para potássio  $K_{v4.3}$  e age na fase inicial da repolarização (fase 1), através da corrente transiente de saída (Teumer *et al.*, 2019). Estudos que investigaram o aumento da função do gene *Kcnd3* têm demonstrado que ele promove a redução no tempo de repolarização (Giudicessi *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2017) e consequente encurtamento no intervalo QT (El-Battrawy *et al.*, 2018). Enquanto que a perda da função provoca o aumento no tempo de repolarização e prolongamento do intervalo QT (Raudenská *et al.*, 2008).

Diante dos resultados que obtivemos, em que os genes *Kcnj2* e *Kcne2* foram aumentados e *Kcnd3* diminuído, acreditamos que *Kcnd3* foi o maior contribuidor para o prolongamento do intervalo QT. Além disso, é possível que o aumento na susceptibilidade às arritmias ventriculares, vista aqui, resultem ainda de interações adicionais que até o momento não foram totalmente compreendidas entre os polipeptídeos formadores das subunidades dos canais para potássio (Giudicessi e Ackerman, 2012; Mazhari *et al.*, 2001), visto que cada proteína na membrana celular funciona como parte de uma rede estendida de moléculas em interação (Eisenberg *et al.*, 2000; Giudicessi e Ackerman, 2012).

Muitos avanços têm sido feitos no entendimento da estrutura e funções das proteínas auxiliares da maquinaria de cálcio. Diante disto, atualmente é conhecido o quanto é imprescindível o equilíbrio entre os componentes do complexo junctina, triadina, calsequestrina e o receptor de rianodina para o acoplamento entre eles e o funcionamento da liberação de cálcio (Chopra *et al.*, 2009; Terentyev *et al.*, 2005), visto que estes componentes possuem importante papel de estabilização do complexo proteico heterotrimérico (Chopra *et al.*, 2009; Knollmann

*et al.*, 2006; Rizzi *et al.*, 2008; Yuan *et al.*, 2007). Curiosamente, no nosso estudo não foi visto aumento ou redução dos outros genes concomitantemente ao aumento da expressão de triadina.

Contudo, esse aumento de triadina pode causar uma desregulação na liberação de cálcio induzida por cálcio no retículo sarcoplasmático, com consequentes oscilações no transiente e pós-despolarizações tardias (Terentyev *et al.*, 2005, 2006). É conhecido que distúrbios tanto de triadina como de junctina estão associados ao desenvolvimento de CPVT (Kirchhof *et al.*, 2007). Além disso, estas alterações podem contribuir para a exibição de distúrbios arritmogênicos (Terentyev *et al.*, 2007). Mais estudos são necessários investigando o efeito do treinamento físico sobre a expressão destes importantes genes, visto que a maior parte dos estudos disponíveis na literatura focaram apenas nas mutações da calsequestrina (Hwang *et al.*, 2011; Khoury *et al.*, 2013; Kurtzwalld-Josefson *et al.*, 2014; Laitinen, Swan e Kontula, 2003; Terentyev *et al.*, 2006; Watanabe *et al.*, 2009, 2013), ou da triadina (Rooryck *et al.*, 2015; Roux-Buisson *et al.*, 2012), nas arritmias induzidas pelo exercício em pacientes com CPVT.

Ademais, resultados conflitantes podem ser vistos na literatura quando há aumento na expressão gênica de triadina sobre a função dos componentes celulares responsáveis pela remoção do cálcio. Terentyev *et al.* (2005) mostraram que o aumento na expressão de triadina não resultou em alterações na SERCA2, fosfolambam e NCX. Han *et al.* (2011) identificaram que o aumento da expressão da calsequestrina também causou aumento de triadina, porém sem alterar a expressão de SERCA2a e fosfolambam, assim como foi visto por Zhang *et al.* (2001). Já a deleção da triadina não causou a alteração da SERCA2a e fosfolambam no estudo de Chopra *et al.* (2009), enquanto Boncompagni *et al.* (2012) mostraram aumento da expressão de SERCA2a.

Deste modo, esses dados da literatura apontam para uma possível regulação independente dentre estes genes, justificando, assim, o aumento na susceptibilidade às arritmias ventriculares e a contratilidade cardíaca não aumentar com o treinamento (Kirchhefer *et al.*, 2002). É difícil de interpretar as implicações destes resultados devido às várias alterações adaptativas causadas pelo treinamento físico, bem como pela alteração na expressão desses genes. Principalmente pelo fato de que, além de não termos visto melhora na função cardíaca, vimos redução na expressão da SERCA2a e do NCX, contrastando com o que é característico do treinamento físico (Dantas *et al.*, 2016; Melo *et al.*, 2015; Wisløff *et al.*, 2002). No entanto, esta redução nos componentes da maquinaria de cálcio pode ser uma das possíveis causas para o aumento na susceptibilidade às arritmias ventriculares, como demonstrado por Kukielka, Holycross e Billman (2011), que verificaram uma redução na expressão do NCX em animais que tem maior susceptibilidade às arritmias induzidas pelo treinamento aeróbico.

O aumento da susceptibilidade às arritmias ventriculares causada pelo treinamento de força intenso e com alta frequência semanal também pode ser justificada pelas alterações estruturais no tecido cardíaco. Entretanto, o treinamento de força parece estar na fase inicial do processo de remodelamento do tecido cardíaco, visto que a fibrose cardíaca ainda não está evidente. No entanto, é um fator alarmante, pois a fibrose do coração prejudica a função contrátil cardíaca, dificultando também a condução elétrica pelo tecido cardíaco, levando à contração ineficiente do miocárdio e desencadeia o aumento das arritmias cardíacas (Prabhu e Frangogiannis, 2016; Segura, Frazier e Buja, 2014). Independentemente de o treinamento de força de alta intensidade e alta frequência, neste período, não ter induzido uma fibrose evidente, já é possível observar o aumento da susceptibilidade às arritmias. Tanto estudos com animais que avaliaram a fibrose cardíaca induzida pelo exercício após 16 semanas de treinamento físico (Benito *et al.*, 2011; Guasch *et al.*, 2013) ou por seis semanas com alto volume de treino diário (Aschar-Sobbi *et al.*, 2015; Lakin *et al.*, 2019), como estudos com atletas tem constatado o aumento da fibrose do miocárdio (Breuckmann *et al.*, 2009; Cuspidi *et al.*, 2019; Schoor, van de *et al.*, 2016; Wilson *et al.*, 2011). Somado a isso, também tem sido observado na literatura o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca em diversos modelos de treinamento de força com prolongado período de treinamento (Ahmadiasl *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2014; Barretti *et al.*, 2017; Guzzoni *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2015), não sendo ainda possível determinar a sua relação com a intensidade usada.

Embora não tenhamos identificado hipertrofia cardíaca nos animais treinados com alta intensidade e alta frequência, o aumento da expressão de Triadina indica que o desenvolvimento da hipertrofia pode estar em estágio inicial a nível molecular, sem manifestação morfológica aparente macroscopicamente, podendo progredir caso o treinamento tivesse sido prolongado, assim como já foi relatado num modelo de hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol (Jaehnig *et al.*, 2006; Kirchhefer *et al.*, 2001). Entretanto, a interpretação desses dados em termos dos papéis fisiológicos do gene da triadina não são claros devido às alterações adaptativas e patológicas, como a hipertrofia e a insuficiência cardíaca, que acompanharam a superexpressão crônica da triadina (Kirchhefer *et al.*, 2001).

Para determinar as causas das alterações descritas anteriormente, decidimos investigar se o treinamento causa efeitos adversos no sistema de proteção antioxidante, tendo em vista que o exercício promove aumento da geração de espécies reativas de oxigênio agudamente em cada sessão (Alves *et al.*, 2020; Araújo *et al.*, 2019; Di Meo, Napolitano e Venditti, 2019; He *et al.*, 2016; Rietjens *et al.*, 2007; Simioni *et al.*, 2018). Também levando em consideração que este aumento é contraposto pelo aumento da atividade das enzimas antioxidantes, na tentativa de

impedir que ocorra danos às células (Alves *et al.*, 2020; Di Meo, Napolitano e Venditti, 2019; Simioni *et al.*, 2018). Além disso, as espécies reativas de oxigênio estão entre as principais causas do prolongamento do intervalo QT, além de ser um gatilho para o desenvolvimento de arritmias (Macedo *et al.*, 2020; Santos-Miranda *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2017), aumentando, assim, nosso interesse em investigar a geração de espécies reativas, o estado de atividade das enzimas antioxidantes e os danos oxidativos no coração destes animais.

O treinamento de força de alta intensidade e alta frequência aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio e os danos oxidativos, sem alterar a atividade das enzimas antioxidantes. A NADPH oxidase 4 (NOX4) foi a principal fonte geradora das espécies reativas de oxigênio no coração dos animais treinados do presente estudo.

Os estudos que demonstraram um aumento na vulnerabilidade às arritmias causada pelo exercício indicam que a fibrose ventricular é o mecanismo principal responsável pelo aumento das arritmias ventriculares (Benito *et al.*, 2011). Enquanto as mudanças autonômicas, a hipertrofia e fibrose atrial são cruciais para o aumento das arritmias atriais (Aschar-Sobbi *et al.*, 2015; Guasch *et al.*, 2013; Lakin *et al.*, 2019). A inflamação aumentada, através da elevação de TNF- $\alpha$  solúvel, tem sido descrita como a responsável pelo aumento da fibrose e por causar o remodelamento atrial (Aschar-Sobbi *et al.*, 2015; Lakin *et al.*, 2019). Além disso, o TNF- $\alpha$  também pode apresentar implicações eletrofisiológicas reduzindo a  $I_{to}$ , desencadeando o prolongamento do potencial de ação (Grandy e Fiset, 2009), embora existam resultados contrastantes na literatura, mostrando nenhum efeito (Aschar-Sobbi *et al.*, 2015; Fernández-Velasco *et al.*, 2007; Lakin *et al.*, 2019). O TNF- $\alpha$  pode ainda ter sido também o responsável pelo aumento da expressão gênica de Nox4 (Lin *et al.*, 2015; Moe *et al.*, 2011), entretanto estudos adicionais são necessários para comprovar esta hipótese.

No coração, as NADPH oxidases, a cadeia transportadora de elétrons, o desacoplamento das óxido nítrico sintases e a mieloperoxidase são as principais fontes de espécies reativas de oxigênio (Santana *et al.*, 2018; Schillinger e Patel, 2012; Sovari e Dudley, 2012). Tem sido demonstrado que as ROS podem causar alterações em canais iônicos, como a modificação das propriedades cinéticas, bioquímicas e farmacológicas dos canais (Brown *et al.*, 2010; Goldhaber *et al.*, 1989; Kourie, 1998). Estas alterações interferem nas correntes de  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{+}$  e  $K^{+}$ , implicando no aumento da duração do potencial de ação cardíaco e na geração de EAD (Cerbai *et al.*, 1991; Liu, Liu e Dudley, 2010; Ma, Luo e Zhang, 2005; Thomas *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2004; Weiss, Lamp e Shine, 1989). Os canais para  $K^{+}$  têm importância fundamental na repolarização do potencial de ação. Distúrbios, como a falta de homogeneidade na repolarização, podem causar EADs, o que facilita o surgimento de arritmias. As ROS

modificam os diversos tipos de canais para  $K^+$  de forma diferenciada, mas afetam todos os canais para  $K^+$  dependentes de voltagem, tanto aumentando a atividade de alguns canais  $K_v$ , como diminuindo a atividade de outros canais  $K_v$ . Estas modificações causam o prolongamento do potencial de ação, bem como o período refratário efetivo, e como consequência aumenta a propensão às EADs (Matsuda *et al.*, 1982; Pallandi, Perry e Campbell, 1987; Tarr *et al.*, 1994).

Estudos *in vitro* em cardiomiócitos ventriculares de animais demonstraram que as ROS diminuem a densidade da corrente transitória de efluxo de  $K^+$  ( $I_{Kto}$ ) (Korge, Ping e Weiss, 2008; Li *et al.*, 2008). Esta redução na densidade de  $I_{Kto}$  ocorre devido à redução da expressão de RNAm e das proteínas das subunidades  $\alpha$  dos canais  $K_{v4.2}$ ,  $K_{v4.3}$  e da proteína acessória KChIP2 causada pelas ROS (Li *et al.*, 2008). Em decorrência destas alterações, ocorre o prolongamento do potencial de ação, do intervalo QT, redução do período refratário e o surgimento de arritmias (Bianchi *et al.*, 2000). A regulação das  $I_{Kto}$  através das ROS se dá de forma dependente da PKC (Chiarugi, 2005), visto que a PKC aumenta o tempo de inativação e diminui o tempo de recuperação da inativação de  $I_{Kto}$  (Nakamura *et al.*, 1997). Podendo estas terem sido as alterações moleculares e eletrofisiológicas que ocorreram no nosso estudo.

Apesar do exercício físico aumentar estas adaptações malélicas a curto e longo prazo (Aschar-Sobbi *et al.*, 2015; Benito *et al.*, 2011; Guasch *et al.*, 2013; Lakin *et al.*, 2019), estes efeitos são reversíveis, alcançando a mesma susceptibilidade a eventos arrítmicos que sedentários após um período de interrupção total do treinamento, o destreinamento (Benito *et al.*, 2011; Guasch *et al.*, 2013).

Apesar do rígido controle empregado na execução deste estudo, devido a limitações financeiras e estruturais, não foi possível realizarmos o treinamento por período prolongado, bem como não pudemos investigar o desenvolvimento de arritmias espontâneas. Através do presente estudo, podemos levantar perspectivas de estudos futuros que investiguem o papel da inflamação, além das espécies reativas de oxigênio, sobre os canais iônicos que levaram ao aumento da susceptibilidade às arritmias ventriculares causadas pelo treinamento de força de alta intensidade e alta frequência de treino semanal.

## 7. CONCLUSÃO

Os achados da presente tese demonstram, pela primeira vez na literatura, que o treinamento de força aumenta a susceptibilidade às arritmias ventriculares em ratos saudáveis. Além disso, este efeito é dependente da intensidade e do volume de treino semanal. O treinamento realizado com alta intensidade e alta frequência semanal aumenta a incidência das formas mais severas das arritmias, e este aumento está associado a alterações na condução elétrica cardíaca e ao aumento de espécies reativas de oxigênio. Assim, analisando o conjunto de resultados obtidos na presente tese, podemos apontar que o aumento da NOX4, que possivelmente causa o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, juntamente com o aumento de triadina, a redução do gene *Kcnd3* e o prolongamento do intervalo QT, são os potenciais substratos para a geração de arritmogênese causada pelo treinamento de força.

## REFERÊNCIAS

- AAGAARD, P. *et al.* Arrhythmias and Adaptations of the cardiac conduction system in former National Football League players. **Journal of the American Heart Association**, v. 8, n. 15, p. e010401, 6 ago. 2019.
- ABBOTT, G. W.; *et al.* MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. **Cell**, v. 97, n. 2, p. 175–187, 16 abr. 1999.
- ABE, Y.; SAKAIRI, T.; BEESON, C.; KOPP, J. B. TGF- $\beta$ 1 stimulates mitochondrial oxidative phosphorylation and generation of reactive oxygen species in cultured mouse podocytes, mediated in part by the mTOR pathway. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, v. 305, n. 10, p. F1477-1490, 15 nov. 2013.
- American College of Sports Medicine (ACSM). **ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription**. Ninth edition ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2014.
- AHMADIASL, N.; NAJAFIPOUR, H.; SOUFI, F. G.; JAFARI, A. Effect of short- and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 68, n. 1, p. 121–128, mar. 2012.
- AIZER, A.; GAZIANO, J. M.; COOK, N. R.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; ALBERT, C. M. Relation of vigorous exercise to risk of atrial fibrillation. **The American Journal of Cardiology**, v. 103, n. 11, p. 1572–1577, 1 jun. 2009.
- AKAR, F. G.; *et al.* Dynamic changes in conduction velocity and gap junction properties during development of pacing-induced heart failure. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 2, p. H1223-1230, ago. 2007.
- AKAR, F. G.; SPRAGG, D. D.; TUNIN, R. S.; KASS, D. A.; TOMASELLI, G. F. Mechanisms underlying conduction slowing and arrhythmogenesis in nonischemic dilated cardiomyopathy. **Circulation Research**, v. 95, n. 7, p. 717–725, 1 out. 2004.
- ALMEIDA, B. C. S.; CARMO, A. A. L.; BARBOSA, M. P. T.; SILVA, J. L. P.; RIBEIRO, A. L. P. Association between microvolt T-wave alternans and malignant ventricular arrhythmias in Chagas disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 5, p. 412–417, maio 2018.
- ALVES, J. O.; *et al.* Strenuous acute exercise induces slow and fast twitch-dependent NADPH oxidase expression in rat skeletal muscle. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, 8 jan. 2020.
- ALVES, J. P.; NUNES, R. B.; STEFANI, G. P.; DAL LAGO, P. Resistance training improves hemodynamic function, collagen deposition and inflammatory profiles: experimental model of heart failure. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e110317, 2014.
- ANDERSEN, K.; *et al.* Risk of arrhythmias in 52 755 long-distance cross-country skiers: a cohort study. **European Heart Journal**, v. 34, n. 47, p. 3624–3631, 14 dez. 2013.
- ANTONIOU, C.-K.; *et al.* QT prolongation and malignant arrhythmia: how serious a problem? **European Cardiology Review**, v. 12, n. 2, p. 112–120, dez. 2017.
- ANTZELEVITCH, C. *et al.* Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. **Circulation**, v. 115, n. 4, p. 442–449, 30 jan. 2007.
- \_\_\_\_\_. Role of spatial dispersion of repolarization in inherited and acquired sudden cardiac death syndromes. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 4, p. H2024-2038, out. 2007.
- ANTZELEVITCH, C.; BURASHNIKOV, A. Overview of basic mechanisms of cardiac arrhythmia. **Cardiac Electrophysiology Clinics**, v. 3, n. 1, p. 23–45, 1 mar. 2011.
- ANTZELEVITCH, C.; NESTERENKO, V.; SHRYOCK, J. C.; RAJAMANI, S.; SONG, Y.; BELARDINELLI, L. The role of late INa in development of cardiac arrhythmias. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 221, p. 137–168, 2014.

- ANUMONWO, J. M. B.; LOPATIN, A. N. Cardiac strong inward rectifier potassium channels. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, n. 1, p. 45–54, jan. 2010.
- ARAUJO, A. J. S.; *et al.* Resistance training controls arterial blood pressure in rats with L-NAME- induced hypertension. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, n. 4, p. 339–346, abr. 2013.
- ARAÚJO, S. S. *et al.* Does Croton Argyrophyllus extract has an effect on muscle damage and lipid peroxidation in rats submitted to high intensity strength exercise? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 21, 31 2019.
- AROMOLARAN, A. S.; *et al.* Interleukin-6 inhibition of hERG underlies risk for acquired long QT in cardiac and systemic inflammation. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0208321, 2018.
- ARUNACHALAM, K.; LAKSHMANAN, S.; MAAN, A.; KUMAR, N.; DOMINIC, P. Impact of drug induced long QT syndrome: a systematic review. **Journal of Clinical Medicine Research**, v. 10, n. 5, p. 384–390, maio 2018.
- ASCHAR-SOBBI, R. *et al.* Increased atrial arrhythmia susceptibility induced by intense endurance exercise in mice requires TNF $\alpha$ . **Nature Communications**, v. 6, p. 6018, 19 jan. 2015.
- ÁVILA, P. *et al.* The impact of exercise on ventricular arrhythmias in adults with tetralogy of Fallot. **International Journal of Cardiology**, v. 219, p. 218–224, 15 set. 2016.
- AZAM, M. A.; *et al.* Effects of late sodium current blockade on ventricular refrillation in a rabbit model. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 10, n. 3, mar. 2017.
- BAI, J.; *et al.* Computational cardiac modeling reveals mechanisms of ventricular arrhythmogenesis in long QT syndrome type 8: CACNA1C R858H mutation linked to ventricular fibrillation. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 771, 2017.
- BAILEY, D. M.; *et al.* Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. **Free Radical Research**, v. 41, n. 2, p. 182–190, fev. 2007.
- BALDESBERGER, S. *et al.* Sinus node disease and arrhythmias in the long-term follow-up of former professional cyclists. **European Heart Journal**, v. 29, n. 1, p. 71–78, 1 jan. 2008.
- BANFI, C.; *et al.* Neurohormonal activation is associated with increased levels of plasma matrix metalloproteinase-2 in human heart failure. **European Heart Journal**, v. 26, n. 5, p. 481–488, mar. 2005.
- BARAUNA, V. G.; *et al.* Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 32, n. 4, p. 249–254, abr. 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 Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 295, n. 2, p. R381–387, ago. 2008.
- BARAUNA, V. G.; ROSA, K. T.; IRIGOYEN, M. C.; OLIVEIRA, E. M. DE. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. **Clinical Medicine & Research**, v. 5, n. 2, p. 114–120, jun. 2007.
- BARRETTI, D. L. M.; MELO, S. F. S.; OLIVEIRA, E. M.; BARAUNA, V. G. Resistance training attenuates salt overload-induced cardiac remodeling and diastolic dysfunction in normotensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 9, p. e6146, 7 ago. 2017.
- BATISTE, S. M.; *et al.* Unnatural verticilide enantiomer inhibits type 2 ryanodine receptor-mediated calcium leak and is antiarrhythmic. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 11, p. 4810–4815, 12 2019.
- BAZETT, H. An analysis of the time-relations of the electrocardiograms. v. 7, p. 353–370, 1920.

- BECK, W. R.; RIBEIRO, L. F. P.; SCARIOT, P. P. M.; REIS, I. G. M.; GOBATTO, C. A. Time of day effects on aerobic capacity, muscle glycogen content and performance assessment in swimming rats. **Science & Sports**, v. 29, n. 6, p. 319–323, 1 dez. 2014.
- BELARDINELLI, L.; SHRYOCK, J. C.; FRASER, H. Inhibition of the late sodium current as a potential cardioprotective principle: effects of the late sodium current inhibitor ranolazine. **Heart**, v. 92 Suppl 4, p. iv6–iv14, jul. 2006.
- BELL, R. M.; MOCANU, M. M.; YELLON, D. M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 50, n. 6, p. 940–950, jun. 2011.
- BENITO, B.; *et al.* Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. **Circulation**, v. 123, n. 1, p. 13–22, 4 jan. 2011.
- BENITO, B.; JOSEPHSON, M. E. Ventricular tachycardia in coronary artery disease. **Revista Española de Cardiología**, v. 65, n. 10, p. 939–955, out. 2012.
- BERS, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, v. 415, n. 6868, p. 198–205, 10 jan. 2002.
- BIANCHI, L.; *et al.* Mechanisms of I(Ks) suppression in LQT1 mutants. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 279, n. 6, p. H3003-3011, dez. 2000.
- BLANCARD, M. *et al.* An African loss-of-function CACNA1C variant p.T1787M associated with a risk of ventricular fibrillation. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 14619, 02 2018.
- BOER, T. P.; HOUTMAN, M. J. C.; COMPIER, M.; HEYDEN, M. A. G. VAN DER. The mammalian K(IR)2.x inward rectifier ion channel family: expression pattern and pathophysiology. **Acta Physiologica**, v. 199, n. 3, p. 243–256, 1 jul. 2010.
- BÖGEHOLZ, N.; *et al.* Suppression of early and late afterdepolarizations by heterozygous knockout of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger in a murine model. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 8, n. 5, p. 1210–1218, out. 2015.
- BONCOMPAGNI, S.; *et al.* Triadin/Junctin double null mouse reveals a differential role for Triadin and Junctin in anchoring CASQ to the jSR and regulating Ca(2+) homeostasis. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e39962, 2012.
- BOSE, R.; SUTHERLAND, G. R.; PINSKY, C. Biological and methodological implications of prostaglandin involvement in mouse brain lipid peroxidation measurements. **Neurochemical Research**, v. 14, n. 3, p. 217–220, mar. 1989.
- BOVO, E.; LIPSIOUS, S. L.; ZIMA, A. V. Reactive oxygen species contribute to the development of arrhythmogenic Ca<sup>2+</sup> waves during  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation in rabbit cardiomyocytes. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 14, p. 3291–3304, 15 jul. 2012.
- BOYDEN, P. A.; HIROSE, M.; DUN, W. Cardiac Purkinje cells. **Heart Rhythm**, v. 7, n. 1, p. 127–135, jan. 2010.
- BRADLEY, S. M. *et al.* Defibrillation time intervals and outcomes of cardiac arrest in hospital: retrospective cohort study from get with the guidelines-resuscitation registry. **British Medical Journal**, v. 353, p. i1653, 6 abr. 2016.
- BRADLEY, S. M.; ZHOU, Y.; RAMACHANDRAN, S. K.; ENGOREN, M.; DONNINO, M.; GIROTRA, S. Retrospective cohort study of hospital variation in airway management during in-hospital cardiac arrest and the association with patient survival: insights from get with the guidelines-resuscitation. **Critical Care**, v. 23, n. 1, p. 158, 06 2019.
- BREUCKMANN, F. *et al.* Myocardial late gadolinium enhancement: prevalence, pattern, and prognostic relevance in marathon runners. **Radiology**, v. 251, n. 1, p. 50–57, abr. 2009.
- BRIEST, W.; HÖLZL, A.; RASSLER, B.; DETEN, A.; BABA, H. A.; ZIMMER, H.-G. Significance of matrix metalloproteinases in norepinephrine-induced remodelling of rat hearts. **Cardiovascular Research**, v. 57, n. 2, p. 379–387, fev. 2003.

- BRITTO, R. M. *et al.* Myrtenol protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through antioxidant and anti-apoptotic dependent mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 557–566, jan. 2018.
- BROWN, D. A.; *et al.* Cardiac arrhythmias induced by glutathione oxidation can be inhibited by preventing mitochondrial depolarization. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, n. 4, p. 673–679, abr. 2010.
- BRUNNER, S.; *et al.* Alcohol consumption, sinus tachycardia, and cardiac arrhythmias at the Munich Oktoberfest: results from the Munich Beer Related Electrocardiogram Workup Study (MunichBREW). **European Heart Journal**, v. 38, n. 27, p. 2100–2106, 14 jul. 2017.
- BRYANT, S. M.; KONG, C. H. T.; WATSON, J.; CANNELL, M. B.; JAMES, A. F.; ORCHARD, C. H. Altered distribution of ICa impairs Ca release at the t-tubules of ventricular myocytes from failing hearts. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 86, p. 23–31, set. 2015.
- BUCKLEY, U.; SHIVKUMAR, K. Stress-induced cardiac arrhythmias: the heart-brain interaction. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 26, n. 1, p. 78–80, jan. 2016.
- BURASHNIKOV, E. *et al.* Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death. **Heart Rhythm**, v. 7, n. 12, p. 1872–1882, dez. 2010.
- CAMPUZANO, O.; BELTRÁN-ALVAREZ, P.; IGLESIAS, A.; SCORNIK, F.; PÉREZ, G.; BRUGADA, R. Genetics and cardiac channelopathies. **Genetics in Medicine**, v. 12, n. 5, p. 260–267, maio 2010.
- CARVALHO, T. DE *et al.* Diretriz Brasileira de Reabilitação Cardiovascular – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 114, n. 5, p. 943–987, 22 maio 2020.
- CERBAI, E.; AMBROSIO, G.; PORCIATTI, F.; CHIARIELLO, M.; GIOTTI, A.; MUGELLI, A. Cellular electrophysiological basis for oxygen radical-induced arrhythmias. A patch-clamp study in guinea pig ventricular myocytes. **Circulation**, v. 84, n. 4, p. 1773–1782, out. 1991.
- CHADDA, K. R.; JEEVARATNAM, K.; LEI, M.; HUANG, C. L.-H. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes. **Pflugers Archiv: European Journal of Physiology**, v. 469, n. 5–6, p. 629–641, 2017.
- CHAMBERS, K. D.; *et al.* Cardiac events during competitive, recreational, and daily activities in children and adolescents with long QT syndrome. **Journal of the American Heart Association**, v. 6, n. 9, 21 set. 2017.
- CHANG, P.-C.; *et al.* Role of sarcoplasmic reticulum calcium in development of secondary calcium rise and early afterdepolarizations in long QT syndrome rabbit model. **PloS One**, v. 10, n. 4, p. e0123868, 2015.
- CHANG, S.-L. *et al.* Interleukin-17 enhances cardiac ventricular remodeling via activating MAPK pathway in ischemic heart failure. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 122, p. 69–79, 2018.
- CHANG, Y.-S.; YANG, Y.-W.; LIN, Y.-N.; LIN, K.-H.; CHANG, K.-C.; CHANG, J.-G. Mutation analysis of KCNQ1, KCNH2 and SCN5A genes in Taiwanese long QT syndrome patients. **International Heart Journal**, v. 56, n. 4, p. 450–453, 2015.
- CHAO, T.-F.; *et al.* Risk and prediction of sudden cardiac death and ventricular arrhythmias for patients with atrial fibrillation: a nationwide cohort study. **Scientific Reports**, v. 7, p. 46445, 19 2017.
- CHARISOPOULOU, D.; KOULAOUZIDIS, G.; RYDBERG, A.; MICHAEL, H. Y. Exercise worsening of electromechanical disturbances: A predictor of arrhythmia in long QT syndrome. **Clinical Cardiology**, v. 42, n. 2, p. 235–240, fev. 2019.
- CHEN, L. S.; ZHOU, S.; FISHBEIN, M. C.; CHEN, P.-S. New perspectives on the role of autonomic nervous system in the genesis of arrhythmias. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 18, n. 1, p. 123–127, jan. 2007.

- CHIAMVIMONVAT, N. *et al.* Potassium currents in the heart: functional roles in repolarization, arrhythmia and therapeutics. **The Journal of Physiology**, v. 595, n. 7, p. 2229–2252, 01 2017.
- CHIARUGI, P. PTPs versus PTKs: the redox side of the coin. **Free Radical Research**, v. 39, n. 4, p. 353–364, abr. 2005.
- CHO, J. H.; *et al.* Delayed repolarization underlies ventricular arrhythmias in rats with heart failure and preserved ejection fraction. **Circulation**, v. 136, n. 21, p. 2037–2050, 21 nov. 2017.
- CHOPRA, N. *et al.* Ablation of triadin causes loss of cardiac Ca<sup>2+</sup> release units, impaired excitation-contraction coupling, and cardiac arrhythmias. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 18, p. 7636–7641, 5 maio 2009.
- CHUGH, S. S. *et al.* Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 study. **Circulation**, v. 129, n. 8, p. 837–847, 25 fev. 2014.
- CHUNG, M. K.; *et al.* Atrial fibrillation: JACC council perspectives. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 14, p. 1689–1713, abr. 2020.
- COBB, L. A.; FAHRENBRUCH, C. E.; OLSUFKA, M.; COPASS, M. K. Changing incidence of out-of-hospital ventricular fibrillation, 1980-2000. **JAMA**, v. 288, n. 23, p. 3008–3013, 18 dez. 2002.
- COLBERG, S. R.; *et al.* Physical activity/exercise and diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 39, n. 11, p. 2065–2079, 2016.
- CONEN, D. *et al.* Premature atrial contractions in the general population: frequency and risk factors. **Circulation**, v. 126, n. 19, p. 2302–2308, 6 nov. 2012.
- COPPINI, R.; FERRANTINI, C.; MUGELLI, A.; POGGESI, C.; CERBAI, E. Altered Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> homeostasis in human hypertrophic cardiomyopathy: implications for arrhythmogenesis. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1391, 2018.
- CORRADO, D.; LINK, M. S.; CALKINS, H. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 1, p. 61–72, 5 jan. 2017.
- COSÍO, F. G. Atrial flutter, typical and atypical: a review. **Arrhythmia & Electrophysiology Review**, v. 6, n. 2, p. 55, 2017.
- CURTIS, M. J.; WALKER, M. J. Quantification of arrhythmias using scoring systems: an examination of seven scores in an in vivo model of regional myocardial ischaemia. **Cardiovascular Research**, v. 22, n. 9, p. 656–665, set. 1988.
- CUSPIDI, C.; TADIC, M.; SALA, C.; GHERBESI, E.; GRASSI, G.; MANCIA, G. Left atrial function in elite athletes: a meta-analysis of two-dimensional speckle tracking echocardiographic studies. **Clinical Cardiology**, v. 42, n. 5, p. 579–587, maio 2019.
- CZARKOWSKA-PACZEK, B.; BARTLOMIEJCZYK, I.; PRZYBYLSKI, J. The serum levels of growth factors: PDGF, TGF-beta and VEGF are increased after strenuous physical exercise. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 57, n. 2, p. 189–197, jun. 2006.
- DANTAS, P. S.; *et al.* Unraveling the role of high-intensity resistance training on left ventricle proteome: Is there a shift towards maladaptation? **Life Sciences**, v. 152, p. 156–164, 2016.
- D’ASCENZI, F. *et al.* The controversial relationship between exercise and atrial fibrillation: clinical studies and pathophysiological mechanisms. **Journal of Cardiovascular Medicine**, v. 16, n. 12, p. 802–810, dez. 2015.
- DEMARIA, A. N.; VERA, Z.; AMSTERDAM, E. A.; MASON, D. T.; MASSUMI, R. A. Disturbances of cardiac rhythm and conduction induced by exercise: diagnostic, prognostic and therapeutic implications. **The American Journal of Cardiology**, v. 33, n. 6, p. 732–736, 20 maio 1974.
- DHAMOON, A. S.; JALIFE, J. The inward rectifier current (IK1) controls cardiac excitability and is involved in arrhythmogenesis. **Heart Rhythm**, v. 2, n. 3, p. 316–324, mar. 2005.

- DI MEO, S.; NAPOLITANO, G.; VENDITTI, P. Mediators of physical activity protection against ROS-linked skeletal muscle damage. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 12, 20 jun. 2019.
- DUNCAN, D. J.; YANG, Z.; HOPKINS, P. M.; STEELE, D. S.; HARRISON, S. M. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  increase Ca<sup>2+</sup> leak from the sarcoplasmic reticulum and susceptibility to arrhythmia in rat ventricular myocytes. **Cell Calcium**, v. 47, n. 4, p. 378–386, abr. 2010.
- DUPONT, E.; *et al.* Altered connexin expression in human congestive heart failure. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 33, n. 2, p. 359–371, fev. 2001.
- DURÇO, A. O. *et al.* d-limonene ameliorates myocardial infarction injury by reducing reactive oxygen species and cell apoptosis in a murine model. **Journal of Natural Products**, v. 82, n. 11, p. 3010–3019, 22 2019.
- EISENBERG, D.; MARCOTTE, E. M.; XENARIOS, I.; YEATES, T. O. Protein function in the post-genomic era. **Nature**, v. 405, n. 6788, p. 823–826, 15 jun. 2000.
- EISNER, D. A.; CALDWELL, J. L.; KISTAMÁS, K.; TRAFFORD, A. W. Calcium and excitation-contraction coupling in the heart. **Circulation Research**, v. 121, n. 2, p. 181–195, 7 jul. 2017.
- EL-BATRAWY, I. *et al.* Modeling short QT syndrome using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. **Journal of the American Heart Association**, v. 7, n. 7, 24 2018.
- ELEK, S. R. Angina Pectoris and Premature Systoles Induced by Exercise: The author would be pleased to receive comment and controversy from readers in relation to explanations offered. **Diseases of the Chest**, v. 34, n. 4, p. 444–445, 1 out. 1958.
- EL-SHERIF, N.; TURITTO, G. Electrolyte disorders and arrhythmogenesis. **Cardiology Journal**, v. 18, n. 3, p. 233–245, 2011.
- EL-SHERIF, N.; TURITTO, G.; BOUTJDIR, M. Acquired long QT syndrome and electrophysiology of Torsade de Pointes. **Arrhythmia & Electrophysiology Review**, v. 8, n. 2, p. 122–130, 2019.
- ERICKSON, J. R.; *et al.* Diabetic hyperglycaemia activates CaMKII and arrhythmias by O-linked glycosylation. **Nature**, v. 502, n. 7471, p. 372–376, 17 out. 2013.
- ERNESTO, C.; *et al.* Investigation of ion channel gene variants in patients with long QT syndrome. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 96, n. 3, p. 172–178, mar. 2011.
- FAN, Z.; LV, N.; LUO, X.; TAN, W. Isosteviol prevents the prolongation of action potential in hypertrophied cardiomyocytes by regulating transient outward potassium and L-type calcium channels. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1859, n. 10, p. 1872–1879, out. 2017.
- FEDERICO, M.; VALVERDE, C. A.; MATTIAZZI, A.; PALOMEQUE, J. Unbalance between sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> uptake and release: a first step toward Ca<sup>2+</sup> triggered arrhythmias and cardiac damage. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 1630, 2019.
- FERNANDES, T.; SOCI, U. P. R.; OLIVEIRA, E. M. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 9, p. 836–847, set. 2011.
- FERNÁNDEZ-SADA, E. *et al.* Proinflammatory cytokines are soluble mediators linked with ventricular arrhythmias and contractile dysfunction in a rat model of metabolic syndrome. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 7682569, 2017.
- FERNÁNDEZ-VELASCO, M.; RUIZ-HURTADO, G.; HURTADO, O.; MORO, M. A.; DELGADO, C. TNF- $\alpha$  downregulates transient outward potassium current in rat ventricular myocytes through iNOS overexpression and oxidant species generation. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 1, p. H238-245, jul. 2007.
- FODSTAD, H.; *et al.* Loss-of-function mutations of the K(+) channel gene KCNJ2 constitute a rare cause of long QT syndrome. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 37, n. 2, p. 593–602, ago. 2004.

- FOLKERINGA, R. J.; HARTGERS, J.; TIELEMAN, R. G.; GORGELS, A. P.; DASSEN, W. R. M.; CRIJNS, H. J. G. M. Atrial extrasystoles after exercise predict atrial fibrillation in patients with left ventricular hypertrophy. **Heart**, v. 92, n. 4, p. 545–546, abr. 2006.
- FONTES, M. S. C.; VEEN, T. A. B. VAN; BAKKER, J. M. T. DE; RIJEN, H. V. M. VAN. Functional consequences of abnormal Cx43 expression in the heart. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1818, n. 8, p. 2020–2029, ago. 2012.
- FONTES, M. T.; SILVA, T. L. B. T.; MOTA, M. M.; BARRETO, A. S.; ROSSONI, L. V.; SANTOS, M. R. V. Resistance exercise acutely enhances mesenteric artery insulin-induced relaxation in healthy rats. **Life Sciences**, v. 94, n. 1, p. 24–29, 14 jan. 2014.
- FOTEINO, P. T.; GREENSTEIN, J. L.; WINSLOW, R. L. Mechanistic investigation of the arrhythmogenic role of oxidized CaMKII in the heart. **Biophysical Journal**, v. 109, n. 4, p. 838–849, 18 ago. 2015.
- FRANCIS, J.; WEISS, R. M.; WEI, S. G.; JOHNSON, A. K.; FELDER, R. B. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 281, n. 5, p. R1734-1745, nov. 2001.
- FRANGOIANNIS, N. G. Cardiac fibrosis: cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 65, p. 70–99, 2019.
- FRANK-HANSEN, R.; LARSEN, L. A.; ANDERSEN, P.; JESPERGAARD, C.; CHRISTIANSEN, M. Mutations in the genes KCND2 and KCND3 encoding the ion channels Kv4.2 and Kv4.3, conducting the cardiac fast transient outward current (I<sub>to,f</sub>), are not a frequent cause of long QT syndrome. **Clinica Chimica Acta**, v. 351, n. 1–2, p. 95–100, jan. 2005.
- FRANKLIN, B. A.; *et al.* Exercise-related acute cardiovascular events and potential deleterious adaptations following long-term exercise training: placing the risks into perspective-an update: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 141, n. 13, p. e705–e736, 31 mar. 2020.
- FUKUDA, K.; KANAZAWA, H.; AIZAWA, Y.; ARDELL, J. L.; SHIVKUMAR, K. Cardiac innervation and sudden cardiac death. **Circulation Research**, v. 116, n. 12, p. 2005–2019, 5 jun. 2015.
- FULGHUM, K.; HILL, B. G. Metabolic mechanisms of exercise-induced cardiac remodeling. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 5, 2018.
- GAO, G. *et al.* Role of RBM25/LUC7L3 in abnormal cardiac sodium channel splicing regulation in human heart failure. **Circulation**, v. 124, n. 10, p. 1124–1131, 6 set. 2011.
- GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1204–1222, 17 out. 2020.
- GHURAN, A. V.; CAMM, A. J. Ischaemic heart disease presenting as arrhythmias. **British Medical Bulletin**, v. 59, n. 1, p. 193–210, 1 out. 2001.
- GIUDICCESSI, J. R.; ACKERMAN, M. J. Potassium-channel mutations and cardiac arrhythmias: diagnosis and therapy. **Nature Reviews. Cardiology**, v. 9, n. 6, p. 319–332, 31 jan. 2012.
- GIUDICCESSI, J. R.; *et al.* Transient outward current (I<sub>to</sub>) gain-of-function mutations in the KCND3-encoded Kv4.3 potassium channel and Brugada syndrome. **Heart Rhythm**, v. 8, n. 7, p. 1024–1032, jul. 2011.
- GOLDHABER, J. I.; JI, S.; LAMP, S. T.; WEISS, J. N. Effects of exogenous free radicals on electromechanical function and metabolism in isolated rabbit and guinea pig ventricle. Implications for ischemia and reperfusion injury. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 6, p. 1800–1809, jun. 1989.

- GOLDSCHLAGER, N.; CAKE, D.; COHN, K. Exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with coronary artery disease: their relation to angiographic findings. **The American Journal of Cardiology**, v. 31, n. 4, p. 434–440, 1 abr. 1973.
- GOOCH, A. S.; MCCONNELL, D. Analysis of transient arrhythmias and conduction disturbances occurring during submaximal treadmill exercise testing. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 13, n. 3, p. 293–307, 1 nov. 1970.
- GORSKI, P. A.; CEHOLSKI, D. K.; HAJJAR, R. J. Altered myocardial calcium cycling and energetics in heart failure: a rational approach for disease treatment. **Cell Metabolism**, v. 21, n. 2, p. 183–194, 3 fev. 2015.
- GRANDY, S. A.; FISET, C. Ventricular K<sup>+</sup> currents are reduced in mice with elevated levels of serum TNF $\alpha$ . **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 47, n. 2, p. 238–246, ago. 2009.
- GRUBB, S.; CALLOE, K.; THOMSEN, M. B. Impact of KChIP2 on cardiac electrophysiology and the progression of heart failure. **Frontiers in Physiology**, v. 3, p. 118, 2012.
- GUASCH, E. *et al.* Atrial fibrillation promotion by endurance exercise: demonstration and mechanistic exploration in an animal model. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 1, p. 68–77, 2 jul. 2013.
- GUTSTEIN, D. E.; *et al.* Heterogeneous expression of Gap junction channels in the heart leads to conduction defects and ventricular dysfunction. **Circulation**, v. 104, n. 10, p. 1194–1199, 4 set. 2001.
- GUZZONI, V. *et al.* Reduced collagen accumulation and augmented MMP-2 activity in left ventricle of old rats submitted to high-intensity resistance training. **Journal of Applied Physiology**, v. 123, n. 3, p. 655–663, 1 set. 2017.
- GYÖRKE, I.; HESTER, N.; JONES, L. R.; GYÖRKE, S. The role of calsequestrin, triadin, and junctin in conferring cardiac ryanodine receptor responsiveness to luminal calcium. **Biophysical Journal**, v. 86, n. 4, p. 2121–2128, abr. 2004.
- HAN, P.; *et al.* Catecholaminergic-induced arrhythmias in failing cardiomyocytes associated with human HRCS96A variant overexpression. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 4, p. H1588-1595, out. 2011.
- HAVERKAMP, W.; *et al.* Clinical aspects of ventricular arrhythmias associated with QT prolongation. **European Heart Journal Supplements**, v. 3, n. suppl\_K, p. K81–K88, 1 set. 2001.
- HAYES, S. C.; NEWTON, R. U.; SPENCE, R. R.; GALVÃO, D. A. The exercise and sports science Australia position statement: exercise medicine in cancer management. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 22, n. 11, p. 1175–1199, nov. 2019.
- HE, F.; LI, J.; LIU, Z.; CHUANG, C.-C.; YANG, W.; ZUO, L. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 486, 2016.
- HEFFERNAN, K. S.; SOSNOFF, J. J.; JAE, S. Y.; GATES, G. J.; FERNHALL, B. Acute resistance exercise reduces heart rate complexity and increases QTc interval. **International Journal of Sports Medicine**, v. 29, n. 4, p. 289–293, abr. 2008.
- HEGYI, B.; *et al.* Altered repolarization reserve in failing rabbit ventricular myocytes: calcium and  $\beta$ -adrenergic effects on delayed- and inward-rectifier potassium currents. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 11, n. 2, p. e005852, 2018.
- HEINEMEIER, K.; LANGBERG, H.; KJAER, M. Exercise-induced changes in circulating levels of transforming growth factor-beta-1 in humans: methodological considerations. **European Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 1–2, p. 171–177, set. 2003.
- HEINZEL, F. R.; *et al.* Impairment of diazoxide-induced formation of reactive oxygen species and loss of cardioprotection in connexin 43 deficient mice. **Circulation Research**, v. 97, n. 6, p. 583–586, 16 set. 2005.

- HERUM, K. M.; CHOPPE, J.; KUMAR, A.; ENGLER, A. J.; MCCULLOCH, A. D. Mechanical regulation of cardiac fibroblast profibrotic phenotypes. **Molecular Biology of the Cell**, v. 28, n. 14, p. 1871–1882, 7 jul. 2017.
- HOMMA, N.; AMRAN, M. S.; NAGASAWA, Y.; HASHIMOTO, K. Topics on the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger: involvement of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange system in cardiac triggered activity. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 102, n. 1, p. 17–21, set. 2006.
- HORVATH, B.; BERS, D. M. The late sodium current in heart failure: pathophysiology and clinical relevance. **ESC heart failure**, v. 1, n. 1, p. 26–40, set. 2014.
- HUANG, Y.; *et al.* A novel KCND3 mutation associated with early-onset lone atrial fibrillation. **Oncotarget**, v. 8, n. 70, p. 115503–115512, 14 dez. 2017.
- HWANG, H. S.; *et al.* Inhibition of cardiac Ca<sup>2+</sup> release channels (RyR2) determines efficacy of class I antiarrhythmic drugs in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 4, n. 2, p. 128–135, abr. 2011.
- ISHIGUCHI, H. *et al.* Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a myocardial oxidative stress marker is associated with ventricular tachycardia in patients with active cardiac sarcoidosis. **Circulation. Cardiovascular Imaging**, v. 10, n. 12, dez. 2017.
- ITOH, H. *et al.* The genetics underlying acquired long QT syndrome: impact for genetic screening. **European Heart Journal**, v. 37, n. 18, p. 1456–1464, 7 maio 2016.
- JAEHNIG, E. J.; HEIDT, A. B.; GREENE, S. B.; CORNELISSEN, I.; BLACK, B. L. Increased susceptibility to isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and impaired weight gain in mice lacking the histidine-rich calcium-binding protein. **Molecular and Cellular Biology**, v. 26, n. 24, p. 9315–9326, dez. 2006.
- JAIN, M.; *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species regulate transforming growth factor- $\beta$  signaling. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 2, p. 770–777, 11 jan. 2013.
- JAMES, T. N.; FROGGATT, P.; MARSHALL, T. K. Sudden death in young athletes. **Annals of Internal Medicine**, v. 67, n. 5, p. 1013–1021, nov. 1967.
- JAVIDANPOUR, S.; DIANAT, M.; ALIAKBARI, F. R.; SARKAKI, A. The effects of olive leaf extract and 28 days forced treadmill exercise on electrocardiographic parameters in rats. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 23, 28 dez. 2018.
- JIN, M.-N.; *et al.* Physical activity and risk of atrial fibrillation: a nationwide cohort study in general population. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 13270, 13 set. 2019.
- KAMEL, H.; OKIN, P. M.; ELKIND, M. S. V.; IADECOLA, C. Atrial fibrillation and mechanisms of stroke: time for a new model. **Stroke**, v. 47, n. 3, p. 895–900, mar. 2016.
- KANAPORIS, G.; BLATTER, L. A. The mechanisms of calcium cycling and action potential dynamics in cardiac alternans. **Circulation Research**, v. 116, n. 5, p. 846–856, 27 fev. 2015.
- KATRITSIS, D. G.; CAMM, A. J. Atrioventricular nodal reentrant tachycardia. **Circulation**, v. 122, n. 8, p. 831–840, 24 ago. 2010.
- KAWADA, H.; *et al.* Tumor necrosis factor-alpha downregulates the voltage gated outward K<sup>+</sup> current in cultured neonatal rat cardiomyocytes: a possible cause of electrical remodeling in diseased hearts. **Circulation Journal**, v. 70, n. 5, p. 605–609, maio 2006.
- KHOURY, A.; *et al.* Flecainide therapy suppresses exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with CASQ2-associated catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Heart Rhythm**, v. 10, n. 11, p. 1671–1675, nov. 2013.
- KHURSHID, S.; *et al.* Frequency of cardiac rhythm abnormalities in a half million adults. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 11, n. 7, p. e006273, 2018.
- KIM, L. A.; FURST, J.; BUTLER, M. H.; XU, S.; GRIGORIEFF, N.; GOLDSTEIN, S. A. N. Ito channels are octomeric complexes with four subunits of each Kv4.2 and K<sup>+</sup> channel-interacting protein 2. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 7, p. 5549–5554, 13 fev. 2004.

- KIMURA, H. *et al.* Phenotype variability in patients carrying KCNJ2 mutations. **Circulation. Cardiovascular Genetics**, v. 5, n. 3, p. 344–353, jun. 2012.
- KIRCHHEFER, U.; BABA, H. A.; KOBAYASHI, Y. M.; JONES, L. R.; SCHMITZ, W.; NEUMANN, J. Altered function in atrium of transgenic mice overexpressing triadin 1. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 283, n. 4, p. H1334–1343, out. 2002.
- KIRCHHEFER, U.; *et al.* Cardiac hypertrophy and impaired relaxation in transgenic mice overexpressing triadin 1. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 6, p. 4142–4149, 9 fev. 2001.
- KIRCHHOF, P. *et al.* Stress and high heart rate provoke ventricular tachycardia in mice expressing triadin. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 42, n. 5, p. 962–971, maio 2007.
- KNOLLMANN, B. C. *et al.* Casq2 deletion causes sarcoplasmic reticulum volume increase, premature Ca<sup>2+</sup> release, and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 9, p. 2510–2520, set. 2006.
- KOCIOL, R. D.; *et al.* Recognition and initial management of fulminant myocarditis: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 141, n. 6, p. e69–e92, 11 fev. 2020.
- KOHAJDA, Z. *et al.* The effect of a novel highly selective inhibitor of the sodium/calcium exchanger (NCX) on cardiac arrhythmias in in vitro and in vivo experiments. **PloS One**, v. 11, n. 11, p. e0166041, 2016.
- KORGE, P.; PING, P.; WEISS, J. N. Reactive oxygen species production in energized cardiac mitochondria during hypoxia/reoxygenation: modulation by nitric oxide. **Circulation Research**, v. 103, n. 8, p. 873–880, 10 out. 2008.
- KOURIE, J. I. Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. **The American Journal of Physiology**, v. 275, n. 1, p. C1–24, 1998.
- KUKIELKA, M.; HOLYCROSS, B. J.; BILLMAN, G. E. Endurance exercise training reduces cardiac sodium/calcium exchanger expression in animals susceptible to ventricular fibrillation. **Frontiers in Physiology**, v. 2, p. 3, 2011.
- KURTZWALD-JOSEFSON, E.; *et al.* Alpha blockade potentiates CPVT therapy in calsequestrin-mutant mice. **Heart Rhythm**, v. 11, n. 8, p. 1471–1479, ago. 2014.
- KURTZWALD-JOSEFSON, E.; *et al.* Exercise training improves cardiac function and attenuates arrhythmia in CPVT mice. **Journal of Applied Physiology**, v. 113, n. 11, p. 1677–1683, 1 dez. 2012.
- KURYSHEV, Y. A.; *et al.* Decreased sodium and increased transient outward potassium currents in iron-loaded cardiac myocytes. Implications for the arrhythmogenesis of human siderotic heart disease. **Circulation**, v. 100, n. 6, p. 675–683, 10 ago. 1999.
- LA GERCHE, A.; BROSNAN, M. J. Cardiovascular Effects of Performance-Enhancing Drugs. **Circulation**, v. 135, n. 1, p. 89–99, 3 jan. 2017.
- LAITINEN, P. J. *et al.* Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) gene in familial polymorphic ventricular tachycardia. **Circulation**, v. 103, n. 4, p. 485–490, 30 jan. 2001.
- LAITINEN, P. J.; SWAN, H.; KONTULA, K. Molecular genetics of exercise-induced polymorphic ventricular tachycardia: identification of three novel cardiac ryanodine receptor mutations and two common calsequestrin 2 amino-acid polymorphisms. **European journal of human genetics**, v. 11, n. 11, p. 888–891, nov. 2003.
- LAKIN, R.; *et al.* Inhibition of soluble TNF $\alpha$  prevents adverse atrial remodeling and atrial arrhythmia susceptibility induced in mice by endurance exercise. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 129, p. 165–173, 2019.
- LAZZERINI, P. E. *et al.* Systemic inflammation as a novel QT-prolonging risk factor in patients with torsades de pointes. **Heart**, v. 103, n. 22, p. 1821–1829, 2017.

- LEWEK, J.; KACZMAREK, K.; CYGANKIEWICZ, I.; WRANICZ, J. K.; PTASZYNSKI, P. Inflammation and arrhythmias: potential mechanisms and clinical implications. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 12, n. 9, p. 1077–1085, set. 2014.
- LI, X.; TANG, K.; XIE, B.; LI, S.; ROZANSKI, G. J. Regulation of Kv4 channel expression in failing rat heart by the thioredoxin system. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 295, n. 1, p. H416–424, jul. 2008.
- LIE, Ø. H.; *et al.* Harmful effects of exercise intensity and exercise duration in patients with arrhythmogenic cardiomyopathy. **JACC: Clinical Electrophysiology**, v. 4, n. 6, p. 744–753, jun. 2018.
- LIN, C.-C.; *et al.* NADPH oxidase/ROS-dependent VCAM-1 induction on TNF- $\alpha$ -challenged human cardiac fibroblasts enhances monocyte adhesion. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, p. 310, 2015.
- LIU, M.; LIU, H.; DUDLEY, S. C. Reactive oxygen species originating from mitochondria regulate the cardiac sodium channel. **Circulation Research**, v. 107, n. 8, p. 967–974, 15 out. 2010.
- LIU, N.; RIZZI, N.; BOVERI, L.; PRIORI, S. G. Ryanodine receptor and calsequestrin in arrhythmogenesis: what we have learnt from genetic diseases and transgenic mice. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 46, n. 2, p. 149–159, fev. 2009.
- LIU, W.; *et al.* MG53, a novel regulator of KChIP2 and Ito,f, plays a critical role in electrophysiological remodeling in cardiac hypertrophy. **Circulation**, v. 139, n. 18, p. 2142–2156, 30 2019.
- LIU, W.; *et al.* BNIP3L promotes cardiac fibrosis in cardiac fibroblasts through [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>-TGF- $\beta$ -Smad2/3 pathway. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, dez. 2017.
- LIU, X. *et al.* A mutation in the CACNA1C gene leads to early repolarization syndrome with incomplete penetrance: a Chinese family study. **PloS One**, v. 12, n. 5, p. e0177532, 2017.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 11 jan. 1951.
- LYON, A. R. *et al.* SERCA2a gene transfer decreases sarcoplasmic reticulum calcium leak and reduces ventricular arrhythmias in a model of chronic heart failure. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 4, n. 3, p. 362–372, jun. 2011.
- MA, J.-H.; LUO, A.-T.; ZHANG, P.-H. Effect of hydrogen peroxide on persistent sodium current in guinea pig ventricular myocytes. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 26, n. 7, p. 828–834, jul. 2005.
- MACEDO, F. N. *et al.* Increased Nitric Oxide Bioavailability and Decreased Sympathetic Modulation Are Involved in Vascular Adjustments Induced by Low-Intensity Resistance Training. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 265, 2016.
- MACEDO, F. N. *et al.* NOX-dependent reactive oxygen species production underlies arrhythmias susceptibility in dexamethasone-treated rats. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 152, p. 1–7, 5 mar. 2020.
- MAIER, L. S. A novel mechanism for the treatment of angina, arrhythmias, and diastolic dysfunction: inhibition of late I(Na) using ranolazine. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 54, n. 4, p. 279–286, out. 2009.
- MAJUMDER, R.; ENGELS, M. C.; VRIES, A. A. F.; PANFILOV, A. V.; PIJNAPPELS, D. A. Islands of spatially discordant APD alternans underlie arrhythmogenesis by promoting electrotonic dyssynchrony in models of fibrotic rat ventricular myocardium. **Scientific Reports**, v. 6, p. 24334, 13 abr. 2016.
- MAKITA, N.; *et al.* Drug-induced long-QT syndrome associated with a subclinical SCN5A mutation. **Circulation**, v. 106, n. 10, p. 1269–1274, 3 set. 2002.

- MALMO, V.; *et al.* Aerobic interval training reduces the burden of atrial fibrillation in the short term: a randomized trial. **Circulation**, v. 133, n. 5, p. 466–473, 2 fev. 2016.
- MATSUDA, H.; NOMA, A.; KURACHI, Y.; IRISAWA, H. Transient depolarization and spontaneous voltage fluctuations in isolated single cells from guinea pig ventricles. Calcium-mediated membrane potential fluctuations. **Circulation Research**, v. 51, n. 2, p. 142–151, ago. 1982.
- MATTIOLI, A. V.; PENNELLA, S.; FARINETTI, A.; MANENTI, A. Energy drinks and atrial fibrillation in young adults. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 3, p. 1073–1074, 2018.
- MAZHARI, R.; GREENSTEIN, J. L.; WINSLOW, R. L.; MARBÁN, E.; NUSS, H. B. Molecular interactions between two long-QT syndrome gene products, HERG and KCNE2, rationalized by in vitro and in silico analysis. **Circulation Research**, v. 89, n. 1, p. 33–38, 6 jul. 2001.
- MCCROSSAN, Z. A.; ABBOTT, G. W. The MinK-related peptides. **Neuropharmacology**, v. 47, n. 6, p. 787–821, nov. 2004.
- MCHENRY, P. L.; FISCH, C.; JORDAN, J. W.; CORYA, B. R. Cardiac arrhythmias observed during maximal treadmill exercise testing in clinically normal men. **The American Journal of Cardiology**, v. 29, n. 3, p. 331–336, mar. 1972.
- MELO, S. F. S.; *et al.* Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 4, p. 6855–6867, 26 mar. 2015.
- MELO, S. F. S.; SILVA JÚNIOR, N. D.; BARAUNA, V. G.; OLIVEIRA, E. M. Cardiovascular adaptations induced by resistance training in animal models. **International Journal of Medical Sciences**, v. 15, n. 4, p. 403–410, 12 fev. 2018.
- MIGUEL-DOS-SANTOS, R.; *et al.* Treinamento de força atenua as hipertrofias renal e cardíaca decorrentes da hipertensão renovascular. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**, v. 12, n. 1, p. 15–19, 2019.
- MINER, S. E. S.; PAHAL, D.; NICHOLS, L.; DARWOOD, A.; NIELD, L. E.; WULFFHART, Z. Sleep disruption is associated with increased ventricular ectopy and cardiac arrest in hospitalized adults. **Sleep**, v. 39, n. 4, p. 927–935, 1 abr. 2016.
- MODELL, S. M.; LEHMANN, M. H. The long QT syndrome family of cardiac ion channelopathies: a HuGE review. **Genetics in Medicine**, v. 8, n. 3, p. 143–155, mar. 2006.
- MOE, K. T.; *et al.* Nox2 and Nox4 mediate tumour necrosis factor- $\alpha$ -induced ventricular remodelling in mice. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 15, n. 12, p. 2601–2613, dez. 2011.
- MOLLENHAUER, M. *et al.* Myeloperoxidase mediates postischemic arrhythmogenic ventricular remodeling. **Circulation Research**, v. 121, n. 1, p. 56–70, 23 jun. 2017.
- MONTAG, J.; *et al.* Successful knock-in of hypertrophic cardiomyopathy-mutation R723G into the MYH7 gene mimics HCM pathology in pigs. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 4786, 19 2018.
- MONTE, F.; *et al.* Abrogation of ventricular arrhythmias in a model of ischemia and reperfusion by targeting myocardial calcium cycling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 15, p. 5622–5627, 13 abr. 2004.
- MONTPETIT, M. L. *et al.* Regulated and aberrant glycosylation modulate cardiac electrical signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 38, p. 16517–16522, 22 set. 2009.
- MORITA, N. *et al.* Increased susceptibility of aged hearts to ventricular fibrillation during oxidative stress. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 297, n. 5, p. H1594–1605, nov. 2009.
- MOTA, M. M.; *et al.* Endothelium adjustments to acute resistance exercise are intensity-dependent in healthy animals. **Life Sciences**, v. 142, p. 86–91, 1 dez. 2015.

- MUSA, H.; *et al.* Arrhythmogenesis in a novel murine model with KCNJ2 mutation of familial atrial fibrillation. **Heart Rhythm**, v. 10, n. 11, p. 1749, 1 nov. 2013.
- MUSTROPH, J. *et al.* SR Ca<sup>2+</sup>-leak and disordered excitation-contraction coupling as the basis for arrhythmogenic and negative inotropic effects of acute ethanol exposure. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 116, p. 81–90, 2018.
- MYRSTAD, M.; *et al.* Effect of years of endurance exercise on risk of atrial fibrillation and atrial flutter. **The American Journal of Cardiology**, v. 114, n. 8, p. 1229–1233, 15 out. 2014.
- NAGASAWA, S.; *et al.* Relationship between KCNQ1 (LQT1) and KCNH2 (LQT2) gene mutations and sudden death during illegal drug use. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 8443, 31 2018.
- NAISH, A. E. Premature ventricular beats in heart-block. **QJM: An International Journal of Medicine**, v. os6, n. 2, p. 196–208, 1 jan. 1913.
- NAKAMURA, T. Y.; COETZEE, W. A.; VEGA-SAENZ DE MIERA, E.; ARTMAN, M.; RUDY, B. Modulation of Kv4 channels, key components of rat ventricular transient outward K<sup>+</sup> current, by PKC. **The American Journal of Physiology**, v. 273, n. 4, p. H1775-1786, 1997.
- NASSAL, D. M.; *et al.* KCHIP2 is a core transcriptional regulator of cardiac excitability. **eLife**, v. 6, 06 2017.
- NIELSEN, J. R.; WACHTELL, K.; ABDULLA, J. The relationship between physical activity and risk of atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Atrial Fibrillation**, v. 5, n. 5, p. 789, mar. 2013.
- NORTHCOTE, R. J.; MACFARLANE, P.; BALLANTYNE, D. Ambulatory electrocardiography in squash players. **British Heart Journal**, v. 50, n. 4, p. 372–377, out. 1983.
- NOUROOZ-ZADEH, J.; TAJADDINI-SARMADI, J.; WOLFF, S. P. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. **Analytical Biochemistry**, v. 220, n. 2, p. 403–409, 1 ago. 1994.
- OBEYESEKERE, M. N.; ANTZELEVITCH, C.; KRAHN, A. D. Management of ventricular arrhythmias in suspected channelopathies. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 8, n. 1, p. 221–231, fev. 2015.
- OPIE, L. H. Sudden death and sport. **The Lancet**, v. 305, n. 7901, p. 263–266, 1 fev. 1975.
- OPONDO, M. A. *et al.* Does high-intensity endurance training increase the risk of atrial fibrillation? A longitudinal study of left atrial structure and function. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 11, n. 5, p. e005598, 2018.
- OSADCHII, O. E. Role of abnormal repolarization in the mechanism of cardiac arrhythmia. **Acta Physiologica**, v. 220 Suppl 712, p. 1–71, jul. 2017.
- PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 70, n. 1, p. 158–169, jul. 1967.
- PAL, S.; CHAKI, B.; CHATTOPADHYAY, S.; BANDYOPADHYAY, A. High-intensity exercise induced oxidative stress and skeletal muscle damage in postpubertal boys and girls: a comparative study. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 32, n. 4, p. 1045–1052, abr. 2018.
- PALLANDI, R. T.; PERRY, M. A.; CAMPBELL, T. J. Proarrhythmic effects of an oxygen-derived free radical generating system on action potentials recorded from guinea pig ventricular myocardium: a possible cause of reperfusion-induced arrhythmias. **Circulation Research**, v. 61, n. 1, p. 50–54, jul. 1987.
- PANTANO, J. A.; ORIEL, R. J. Prevalence and nature of cardiac arrhythmias in apparently normal well-trained runners. **American Heart Journal**, v. 104, n. 4 Pt 1, p. 762–768, out. 1982.
- PARK, H.; *et al.* Increased phosphorylation of Ca(2+) handling proteins as a proarrhythmic mechanism in myocarditis. **Circulation Journal**, v. 78, n. 9, p. 2292–2301, 2014.

- PERETTO, G. *et al.* Ventricular arrhythmias in myocarditis: characterization and relationships with myocardial inflammation. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 9, p. 1046–1057, 10 mar. 2020.
- PERETTO, G.; DURANTE, A.; LIMITE, L. R.; CIANFLONE, D. Postoperative arrhythmias after cardiac surgery: incidence, risk factors, and therapeutic management. **Cardiology Research and Practice**, v. 2014, p. 615987, 2014.
- PETKOVA-KIROVA, P. S.; GURSOY, E.; MEHDI, H.; MCTIERNAN, C. F.; LONDON, B.; SALAMA, G. Electrical remodeling of cardiac myocytes from mice with heart failure due to the overexpression of tumor necrosis factor- $\alpha$ . **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 290, n. 5, p. H2098-2107, maio 2006.
- PILCHER, G. F.; COOK, A. J.; JOHNSTON, B. L.; FLETCHER, G. F. Twenty-four-hour continuous electrocardiography during exercise and free activity in 80 apparently healthy runners. **The American Journal of Cardiology**, v. 52, n. 7, p. 859–861, 1 out. 1983.
- POSTMA, A. V.; *et al.* Absence of Calsequestrin 2 causes severe forms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Circulation Research**, v. 91, n. 8, 18 out. 2002.
- POSTMA, A. V.; *et al.* Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: RYR2 mutations, bradycardia, and follow up of the patients. **Journal of Medical Genetics**, v. 42, n. 11, p. 863–870, nov. 2005.
- PRABHU, S. D.; FRANGOIANNIS, N. G. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis. **Circulation Research**, v. 119, n. 1, p. 91–112, 24 2016.
- PRIORI, S. G. *et al.* A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene. **Circulation Research**, v. 96, n. 7, p. 800–807, 15 abr. 2005.
- \_\_\_\_\_. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: the task force for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). **European Heart Journal**, v. 36, n. 41, p. 2793–2867, 1 nov. 2015.
- PRIORI, S. G.; *et al.* Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Circulation**, v. 103, n. 2, p. 196–200, 16 jan. 2001.
- PRUNIER, F.; *et al.* Prevention of ventricular arrhythmias with sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase pump overexpression in a porcine model of ischemia reperfusion. **Circulation**, v. 118, n. 6, p. 614–624, 5 ago. 2008.
- QIN, R. *et al.* Exercise training reduces ventricular arrhythmias through restoring calcium handling and sympathetic tone in myocardial infarction mice. **Physiological Reports**, v. 7, n. 4, p. e13972, fev. 2019.
- QU, Z.; *et al.* Early afterdepolarizations in cardiac myocytes: beyond reduced repolarization reserve. **Cardiovascular Research**, v. 99, n. 1, p. 6–15, 1 jul. 2013.
- RAO, P.; KOWEY, P. R. Drug-induced long-QT syndrome and torsade de pointes: an underrated problem? **Europace**, v. 16, n. 1, p. 4–5, jan. 2014.
- RAUDENSKÁ, M.; *et al.* Mutation analysis of candidate genes SCN1B, KCND3 and ANK2 in patients with clinical diagnosis of long QT syndrome. **Physiological Research**, v. 57, n. 6, p. 857–862, 2008.
- RIETJENS, S. J.; BEELEN, M.; KOOPMAN, R.; VAN LOON, L. J. C.; BAST, A.; HAENEN, G. R. M. M. A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 12, p. 2145–2151, dez. 2007.
- RIZZI, N. *et al.* Unexpected structural and functional consequences of the R33Q homozygous mutation in cardiac calsequestrin: a complex arrhythmogenic cascade in a knock in mouse model. **Circulation Research**, v. 103, n. 3, p. 298–306, 1 ago. 2008.

- ROCHMIS, P.; BLACKBURN, H. Exercise tests: a survey of procedures, safety, and litigation experience in approximately 170,000 tests. **JAMA**, v. 217, n. 8, p. 1061–1066, 23 ago. 1971.
- ROGUIN, A. Henry Cuthbert Bazett (1885-1950)-the man behind the QT interval correction formula. **Pacing and clinical electrophysiology: PACE**, v. 34, n. 3, p. 384–388, mar. 2011.
- ROORYCK, C.; *et al.* New family with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia linked to the triadin gene. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v. 26, n. 10, p. 1146–1150, out. 2015.
- ROSE, J.; *et al.* Molecular correlates of altered expression of potassium currents in failing rabbit myocardium. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 5, p. H2077-2087, maio 2005.
- ROSEN, M. R.; COHEN, I. S. Cardiac memory ... new insights into molecular mechanisms. **The Journal of Physiology**, v. 570, n. Pt 2, p. 209–218, 15 jan. 2006.
- ROSSO, R.; *et al.* Calcium channel blockers and beta-blockers versus beta-blockers alone for preventing exercise-induced arrhythmias in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Heart Rhythm**, v. 4, n. 9, p. 1149–1154, set. 2007.
- ROUX-BUISSON, N. *et al.* Absence of triadin, a protein of the calcium release complex, is responsible for cardiac arrhythmia with sudden death in human. **Human Molecular Genetics**, v. 21, n. 12, p. 2759–2767, 15 jun. 2012.
- RYAN, J. J.; KALSCHUR, M.; DELLEFAVE, L.; MCNALLY, E.; ARCHER, S. L. A KCNE1 missense variant (V47I) causing exercise-induced long QT syndrome (Romano Ward). **International Journal of Cardiology**, v. 156, n. 2, p. e33-35, 19 abr. 2012.
- SABERNIAK, J.; *et al.* Vigorous physical activity impairs myocardial function in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and in mutation positive family members. **European Journal of Heart Failure**, v. 16, n. 12, p. 1337–1344, dez. 2014.
- SAID, A.; KEENEY, S.; MATKA, M.; HAFEEZ, A.; GEORGE, J.; HALALAU, A. Concomitant use of direct oral anticoagulants and aspirin versus direct oral anticoagulants alone in atrial fibrillation and flutter: a retrospective cohort. **BMC cardiovascular disorders**, v. 20, n. 1, p. 263, 1 jun. 2020.
- SALEM, K. A.; *et al.* Effects of exercise training on excitation-contraction coupling and related mRNA expression in hearts of Goto-Kakizaki type 2 diabetic rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 380, n. 1–2, p. 83–96, ago. 2013.
- SAMIE, F. H.; JALIFE, J. Mechanisms underlying ventricular tachycardia and its transition to ventricular fibrillation in the structurally normal heart. **Cardiovascular Research**, v. 50, n. 2, p. 242–250, maio 2001.
- SANTANA, M. N. S. *et al.* Resistance exercise mediates remote ischemic preconditioning by limiting cardiac eNOS uncoupling. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 125, p. 61–72, 2018.
- SANTOS-MIRANDA, A.; *et al.* Reactive oxygen species and nitric oxide imbalances lead to in vivo and in vitro arrhythmogenic phenotype in acute phase of experimental Chagas disease. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 3, p. e1008379, 11 mar. 2020.
- SAOUDI, N. A classification of atrial flutter and regular atrial tachycardia according to electrophysiological mechanisms and anatomical bases. A statement from a joint expert group from the working group of arrhythmias of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **European Heart Journal**, v. 22, n. 14, p. 1162–1182, 15 jul. 2001.
- SAVIO-GALIMBERTI, E.; ARGENZIANO, M.; ANTZELEVITCH, C. Cardiac arrhythmias related to sodium channel dysfunction. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 246, p. 331–354, 2018.
- SCHILLINGER, K. J.; PATEL, V. V. Atrial fibrillation in the elderly: the potential contribution of reactive oxygen species. **Journal of Geriatric Cardiology**, v. 9, n. 4, p. 379–388, dez. 2012.

- SCHOOR, F. R.; *et al.* Myocardial fibrosis in athletes. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 91, n. 11, p. 1617–1631, nov. 2016.
- SCHRAM, G.; POURRIER, M.; MELNYK, P.; NATTEL, S. Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function. **Circulation Research**, v. 90, n. 9, p. 939–950, 17 maio 2002.
- SCHWARTZ, P. J.; CROTTI, L.; INSOLIA, R. Long-QT syndrome: from genetics to management. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 5, n. 4, p. 868–877, 1 ago. 2012.
- SCHWARTZ, S. P.; SOLA POOL, N. DE. Transient ventricular fibrillation: III. The effects of bodily rest, atropine sulfate, and exercise on patients with transient ventricular fibrillation during established auriculoventricular dissociation. A study of the influence of the extrinsic nerves on the idioventricular pacemaker of the heart. **American Heart Journal**, v. 39, n. 3, p. 361–386, 1 mar. 1950.
- SEGURA, A. M.; FRAZIER, O. H.; BUJA, L. M. Fibrosis and heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 19, n. 2, p. 173–185, mar. 2014.
- SESTI, F.; *et al.* A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 19, p. 10613–10618, 12 set. 2000.
- SHANG, L. L.; *et al.* NF-kappaB-dependent transcriptional regulation of the cardiac scn5a sodium channel by angiotensin II. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, v. 294, n. 1, p. C372–379, jan. 2008.
- SHEN, M. J.; ZIPES, D. P. Role of the autonomic nervous system in modulating cardiac arrhythmias. **Circulation Research**, v. 114, n. 6, p. 1004–1021, 14 mar. 2014.
- SHENTHAR, J. Unusual incessant ventricular tachycardia: what is the underlying cause and the possible mechanism? **Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 8, n. 6, p. 1507–1511, dez. 2015.
- SHEPARD, R. J. Exercise prescription and the risk of sudden death. **Canadian Family Physician Medecin De Famille Canadien**, v. 19, n. 8, p. 57–61, ago. 1973.
- \_\_\_\_\_. Sudden death—a significant hazard of exercise? **British Journal of Sports Medicine**, v. 8, n. 2–3, p. 101–110, 1 ago. 1974.
- SHINAGAWA, K.; SHI, Y.-F.; TARDIF, J.-C.; LEUNG, T.-K.; NATTEL, S. Dynamic nature of atrial fibrillation substrate during development and reversal of heart failure in dogs. **Circulation**, v. 105, n. 22, p. 2672–2678, 4 jun. 2002.
- SHRYOCK, J. C.; SONG, Y.; RAJAMANI, S.; ANTZELEVITCH, C.; BELARDINELLI, L. The arrhythmogenic consequences of increasing late INa in the cardiomyocyte. **Cardiovascular Research**, v. 99, n. 4, p. 600–611, 1 set. 2013.
- SIMIONI, C.; *et al.* Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Oncotarget**, v. 9, n. 24, p. 17181–17198, 30 mar. 2018.
- SIRICHAND, S. *et al.* Incidence of idiopathic ventricular arrhythmias: a population-based study. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 10, n. 2, fev. 2017.
- SKINNER, J. R.; WINBO, A.; ABRAMS, D.; VOHRA, J.; WILDE, A. A. Channelopathies that lead to sudden cardiac death: clinical and genetic aspects. **Heart, Lung & Circulation**, v. 28, n. 1, p. 22–30, jan. 2019.
- SOMMESE, L.; *et al.* Ryanodine receptor phosphorylation by CaMKII promotes spontaneous Ca(2+) release events in a rodent model of early stage diabetes: The arrhythmogenic substrate. **International Journal of Cardiology**, v. 202, p. 394–406, 1 jan. 2016.
- SOVARI, A. A. *et al.* Mitochondria oxidative stress, connexin43 remodeling, and sudden arrhythmic death. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 6, n. 3, p. 623–631, jun. 2013.

- SOVARI, A. A.; DUDLEY, S. C. Reactive oxygen species-targeted therapeutic interventions for atrial fibrillation. **Frontiers in Physiology**, v. 3, p. 311, 2012.
- SPRAGG, D. D.; AKAR, F. G.; HELM, R. H.; TUNIN, R. S.; TOMASELLI, G. F.; KASS, D. A. Abnormal conduction and repolarization in late-activated myocardium of dyssynchronously contracting hearts. **Cardiovascular Research**, v. 67, n. 1, p. 77–86, 1 jul. 2005.
- STOCKER, P. J.; BENNETT, E. S. Differential sialylation modulates voltage-gated Na<sup>+</sup> channel gating throughout the developing myocardium. **The Journal of General Physiology**, v. 127, n. 3, p. 253–265, mar. 2006.
- SVEDBERG, N.; SUNDSTRÖM, J.; JAMES, S.; HÅLLMARKER, U.; HAMBRAEUS, K.; ANDERSEN, K. Long-term incidence of atrial fibrillation and stroke among cross-country skiers. **Circulation**, v. 140, n. 11, p. 910–920, 10 set. 2019.
- TALAN, D. A.; BAUERNFEIND, R. A.; ASHLEY, W. W.; KANAKIS, C.; ROSEN, K. M. Twenty-four hour continuous ECG recordings in long-distance runners. **Chest**, v. 82, n. 1, p. 19–24, 1 jul. 1982.
- 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**, v. 24, n. 8, p. 881–886, ago. 1992.
- TARR, M.; ARRIAGA, E.; GOERTZ, K. K.; VALENZENO, D. P. Properties of cardiac I(Leak) induced by photosensitizer-generated reactive oxygen. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 16, n. 4, p. 477–484, abr. 1994.
- TEMPLIN, C. *et al.* Identification of a novel loss-of-function calcium channel gene mutation in short QT syndrome (SQTS6). **European Heart Journal**, v. 32, n. 9, p. 1077–1088, maio 2011.
- TERENTYEV, D. *et al.* Abnormal interactions of calsequestrin with the ryanodine receptor calcium release channel complex linked to exercise-induced sudden cardiac death. **Circulation Research**, v. 98, n. 9, p. 1151–1158, 12 maio 2006.
- TERENTYEV, D. *et al.* Triadin overexpression stimulates excitation-contraction coupling and increases predisposition to cellular arrhythmia in cardiac myocytes. **Circulation Research**, v. 96, n. 6, p. 651–658, 1 abr. 2005.
- TERENTYEV, D.; *et al.* Protein protein interactions between triadin and calsequestrin are involved in modulation of sarcoplasmic reticulum calcium release in cardiac myocytes. **The Journal of Physiology**, v. 583, n. Pt 1, p. 71–80, 15 ago. 2007.
- TEUMER, A. *et al.* KCND3 potassium channel gene variant confers susceptibility to electrocardiographic early repolarization pattern. **Journal of Clinical Investigation insight**, v. 4, n. 23, 5 dez. 2019.
- THOMAS, G. P.; SIMS, S. M.; COOK, M. A.; KARMAZYN, M. Hydrogen peroxide-induced stimulation of L-type calcium current in guinea pig ventricular myocytes and its inhibition by adenosine A1 receptor activation. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 286, n. 3, p. 1208–1214, set. 1998.
- TRISTANI-FIROUZI, M. *et al.* Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7 (Andersen syndrome). **Journal of Clinical Investigation**, v. 110, n. 3, p. 381–388, ago. 2002.
- TSENG, W.-C.; WU, M.-H.; CHEN, H.-C.; KAO, F.-Y.; HUANG, S.-K. Ventricular fibrillation in a general population - a national database study. **Circulation Journal**, v. 80, n. 11, p. 2310–2316, 25 out. 2016.
- TSENG, Z. H. *et al.* Prospective countywide surveillance and autopsy characterization of sudden cardiac death: POST SCD study. **Circulation**, v. 137, n. 25, p. 2689–2700, 19 jun. 2018.
- TVERSKAYA, M. S.; GANKOVSKAYA, L. V.; SUKHOPAROVA, V. V.; VIRGANSKII, A. O. Effect of natural cytokine complex on the structure and metabolism of the cardiac

- conduction system in the myocardium under normally and increased hemodynamic load. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 164, n. 6, p. 716–720, abr. 2018.
- UEHARA, A.; *et al.* Extensive Ca<sup>2+</sup> leak through K4750Q cardiac ryanodine receptors caused by cytosolic and luminal Ca<sup>2+</sup> hypersensitivity. **The Journal of General Physiology**, v. 149, n. 2, p. 199–218, fev. 2017.
- UFRET-VINCENTY, C. A.; BARO, D. J.; LEDERER, W. J.; ROCKMAN, H. A.; QUINONES, L. E.; SANTANA, L. F. Role of sodium channel deglycosylation in the genesis of cardiac arrhythmias in heart failure. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 30, p. 28197–28203, 27 jul. 2001.
- VALDIVIA, C. R.; *et al.* Increased late sodium current in myocytes from a canine heart failure model and from failing human heart. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 38, n. 3, p. 475–483, mar. 2005.
- VASEGHI, M.; *et al.* Cardiac sympathetic denervation in patients with refractory ventricular arrhythmias or electrical storm: intermediate and long-term follow-up. **Heart Rhythm**, v. 11, n. 3, p. 360–366, mar. 2014.
- VEGA, A. L.; TESTER, D. J.; ACKERMAN, M. J.; MAKIELSKI, J. C. Protein kinase A-dependent biophysical phenotype for V227F-KCNJ2 mutation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Circulation. Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 2, n. 5, p. 540–547, out. 2009.
- VIITASALO, M. T.; KALA, R.; EISALO, A. Ambulatory electrocardiographic recording in endurance athletes. **Heart**, v. 47, n. 3, p. 213–220, 1 mar. 1982.
- WANG, J.; WANG, H.; ZHANG, Y.; GAO, H.; NATTEL, S.; WANG, Z. Impairment of HERG K(+) channel function by tumor necrosis factor- $\alpha$ : role of reactive oxygen species as a mediator. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 14, p. 13289–13292, 2 abr. 2004.
- WANG, L.; *et al.* Stimulation of epicardial sympathetic nerves at different sites induces cardiac electrical instability to various degrees. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 994, 17 2018.
- WANG, M. *et al.* Increased inflammation promotes ventricular arrhythmia through aggravating left stellate ganglion remodeling in a canine ischemia model. **International Journal of Cardiology**, v. 248, p. 286–293, 1 dez. 2017.
- WANG, Z.; *et al.* Increased local sympathetic nerve activity during pathogenesis of ventricular arrhythmias originating from the right ventricular outflow tract. **Medical Science Monitor**, v. 23, p. 1090–1098, 1 mar. 2017.
- WANG, Z.; NOLAN, B.; KUTSCHKE, W.; HILL, J. A. Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger remodeling in pressure overload cardiac hypertrophy. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 21, p. 17706–17711, 25 maio 2001.
- WATANABE, H. *et al.* Effects of flecainide on exercise-induced ventricular arrhythmias and recurrences in genotype-negative patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Heart Rhythm**, v. 10, n. 4, p. 542–547, abr. 2013.
- WATANABE, H.; *et al.* Flecainide prevents catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in mice and humans. **Nature Medicine**, v. 15, n. 4, p. 380–383, abr. 2009.
- WEISS, J. N.; LAMP, S. T.; SHINE, K. I. Cellular K<sup>+</sup> loss and anion efflux during myocardial ischemia and metabolic inhibition. **The American Journal of Physiology**, v. 256, n. 4 Pt 2, p. H1165–1175, abr. 1989.
- WHELTON, P. K. *et al.* 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on clinical practice guidelines. **Hypertension**, v. 71, n. 6, p. 1269–1324, 2018.

- WIJESURENDRA, R. S. *et al.* Lone Atrial fibrillation is associated with impaired left ventricular energetics that persists despite successful catheter ablation. **Circulation**, v. 134, n. 15, p. 1068–1081, 11 out. 2016.
- WILLIAMS, B. *et al.* 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. **European Heart Journal**, v. 39, n. 33, p. 3021–3104, 1 set. 2018.
- WILSON, M. *et al.* Diverse patterns of myocardial fibrosis in lifelong, veteran endurance athletes. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, n. 6, p. 1622–1626, jun. 2011.
- WISLØFF, U.; LOENNECHEN, J. P.; CURRIE, S.; SMITH, G. L.; ELLINGSEN, Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca<sup>2+</sup> sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. **Cardiovascular Research**, v. 54, n. 1, p. 162–174, abr. 2002.
- WU, H.; *et al.* Resveratrol ameliorates myocardial fibrosis by inhibiting ROS/ERK/TGF- $\beta$ /periostin pathway in STZ-induced diabetic mice. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 16, n. 1, dez. 2016.
- WU, T. J. *et al.* Characteristics of wave fronts during ventricular fibrillation in human hearts with dilated cardiomyopathy: role of increased fibrosis in the generation of reentry. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 32, n. 1, p. 187–196, jul. 1998.
- XIA, M. *et al.* A Kir2.1 gain-of-function mutation underlies familial atrial fibrillation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 332, n. 4, p. 1012–1019, 15 jul. 2005.
- XIAO, H. *et al.* IL-18 cleavage triggers cardiac inflammation and fibrosis upon  $\beta$ -adrenergic insult. **European Heart Journal**, v. 39, n. 1, p. 60–69, 01 2018.
- XU, L.; *et al.* Analysis of Na<sup>(+)</sup>/Ca<sup>(2+)</sup> exchanger (NCX) function and current in murine cardiac myocytes during heart failure. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 4, p. 3847–3852, abr. 2012.
- XU, S.; *et al.* Excessive inflammation impairs heart regeneration in zebrafish breakdance mutant after cryoinjury. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 89, p. 117–126, jun. 2019.
- XUE, J.; *et al.* Connexin 43 dephosphorylation contributes to arrhythmias and cardiomyocyte apoptosis in ischemia/reperfusion hearts. **Basic Research in Cardiology**, v. 114, n. 5, p. 40, 28 2019.
- YANG, B. *et al.* The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. **Nature Medicine**, v. 13, n. 4, p. 486–491, abr. 2007.
- YANG, L.; *et al.* MicroRNA-21 prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction after myocardial infarction through targeting KBTBD7. **Cell Death & Disease**, v. 9, n. 7, p. 769, 10 2018.
- YANG, Y. *et al.* Identification of a KCNE2 gain-of-function mutation in patients with familial atrial fibrillation. **American Journal of Human Genetics**, v. 75, n. 5, p. 899–905, nov. 2004.
- YANG, Z.; *et al.* Epac2-Rap1 Signaling Regulates Reactive Oxygen Species Production and Susceptibility to Cardiac Arrhythmias. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 27, n. 3, p. 117–132, 20 jul. 2017.
- YU, L. *et al.* Renal sympathetic stimulation and ablation affect ventricular arrhythmia by modulating autonomic activity in a cesium-induced long QT canine model. **Heart Rhythm**, v. 14, n. 6, p. 912–919, 2017.
- YUAN, Q. *et al.* Sarcoplasmic reticulum calcium overloading in junctin deficiency enhances cardiac contractility but increases ventricular automaticity. **Circulation**, v. 115, n. 3, p. 300–309, 23 jan. 2007.
- ZHANG, L.; FRANZINI-ARMSTRONG, C.; RAMESH, V.; JONES, L. R. Structural alterations in cardiac calcium release units resulting from overexpression of junctin. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 33, n. 2, p. 233–247, fev. 2001.

- ZHANG, L.; KELLEY, J.; SCHMEISSER, G.; KOBAYASHI, Y. M.; JONES, L. R. Complex formation between junctin, triadin, calsequestrin, and the ryanodine receptor. Proteins of the cardiac junctional sarcoplasmic reticulum membrane. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 37, p. 23389–23397, 12 set. 1997.
- ZHANG, Q.; CHEN, J.; QIN, Y.; WANG, J.; ZHOU, L. Mutations in voltage-gated L-type calcium channel: implications in cardiac arrhythmia. **Channels**, v. 12, n. 1, p. 201–218, 2018.
- ZHANG, S.; WILSON, J.; MADANI, M.; FELD, G.; GREENBERG, B. Atrial Arrhythmias and Extensive Left Atrial Fibrosis as the Initial Presentation of MYH7 Gene Mutation. **JACC. Clinical electrophysiology**, v. 4, n. 11, p. 1488–1490, 2018.
- ZHAO, Q. D.; *et al.* NADPH oxidase 4 induces cardiac fibrosis and hypertrophy through activating Akt/mTOR and NFκB signaling pathways. **Circulation**, v. 131, n. 7, p. 643–655, 17 fev. 2015.
- ZHAO, Z.; *et al.* Antioxidant defense and protection against cardiac arrhythmias: lessons from a mammalian hibernator (the woodchuck). **FASEB journal**, v. 32, n. 8, p. 4229–4240, 2018.
- ZHU, W.; WU, R.-D.; LV, Y.-G.; LIU, Y.-M.; HUANG, H.; XU, J.-Q. BRD4 blockage alleviates pathological cardiac hypertrophy through the suppression of fibrosis and inflammation via reducing ROS generation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 121, p. 109368, jan. 2020.
- ZICHA, S.; MALTSEV, V. A.; NATTEL, S.; SABBAAH, H. N.; UNDROVINAS, A. I. Post-transcriptional alterations in the expression of cardiac Na<sup>+</sup> channel subunits in chronic heart failure. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 37, n. 1, p. 91–100, jul. 2004.
- ZORZI, A.; DE LAZZARI, M.; *et al.* Ventricular Arrhythmias in Young Competitive Athletes: Prevalence, Determinants, and Underlying Substrate. **Journal of the American Heart Association**, v. 7, n. 12, 19 jun. 2018.
- ZORZI, A.; MASTELLA, G.; *et al.* Burden of ventricular arrhythmias at 12-lead 24-hour ambulatory ECG monitoring in middle-aged endurance athletes versus sedentary controls. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 25, n. 18, p. 2003–2011, 1 dez. 2018.
- ZUCHINALI, P.; RIBEIRO, P. A. B.; PIMENTEL, M.; ROSA, P. R. DA; ZIMERMAN, L. I.; ROHDE, L. E. Effect of caffeine on ventricular arrhythmia: a systematic review and meta-analysis of experimental and clinical studies. **Europace**, v. 18, n. 2, p. 257–266, fev. 2016.

## ANEXO



**UNIVERSIDADE DE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**COORDENAÇÃO DE PESQUISA**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)**

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "**Alterações cardiovasculares promovidas por diferentes intensidades do treinamento de força**", registrada com o nº **07/2018**, sob a responsabilidade da **Prof. Dr.ª Sandra Lauton Santos** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de **05/03/2018**.

Finalidade	( ) Ensino (X ) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início:01/04/2018, Término: 31/07/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato Heterogênico Wistar
Nº de animais	112
Peso/Idade	240-280g / 2 meses
Sexo	M
Origem	Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da UFS.

*Josemar SENA BATISTA*

Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA  
 Coordenador do CEPA/UFS