

Efectos del ejercicio intenso sobre la hipertrofia miocárdica y la función ventricular en un modelo de ratón transgénico con hiperactividad simpática

Effects of Endurance Training on Myocardial Hypertrophy and Ventricular Function in a Transgenic Mouse Model with Sympathetic Hyperactivity

LUCIANA WILENSKY, NADIA L. MARTÍNEZ NAYA, JAZMÍN KELLY, PABLO CASSAGLIA, MARÍA E. ARUANO, BRUNO BUCHHOLZ^{MTSAC}, ISAAC L. MORGUNOVSKY MICHELL, CELINA MORALES^{MTSAC}, GERMÁN E. GONZÁLEZ

RESUMEN

Introducción: En estudios previos mostramos que el ejercicio intenso (EI) reduce la reserva inotrópica, cronotrópica y lusitrópica en ratones normales.

Objetivo: Evaluar el efecto del ejercicio intenso sobre la reserva inotrópica y cronotrópica en un modelo de ratones transgénicos con sobreexpresión cardíaca de la proteína G α , que induce un estado de hiperactividad simpática.

Material y métodos: El ejercicio consistió en dos sesiones diarias de 90 minutos de natación, 6 días/semana durante 4 semanas. Se utilizaron cuatro grupos experimentales: 1: sedentario no transgénico (noTG Sed); 2: sedentario TG (TG Sed); 3: noTG + EI y 4: TG + EI.

Resultados: El ejercicio estimuló el desarrollo de hipertrofia miocárdica [índice peso del ventrículo izquierdo (g)/longitud de la tibia (mm)] desde $5,3 \pm 0,3$ y $5,5 \pm 0,2$ en noTG Sed y TG Sed a $6,8 \pm 0,1$ y $6,8 \pm 0,3$ en noTG + EI y TG + EI, respectivamente ($p < 0,05$ noTG Sed vs. noTG + EI y TG Sed vs. TG + EI). La administración de isoproterenol (56 ng/kg) incrementó la $+dP/dt_{\text{máx}}$ $63\% \pm 10\%$ en noTG Sed ($p < 0,05$ vs. basal); $34\% \pm 2\%$ en TG Sed ($p < 0,05$ vs. basal y $p < 0,05$ vs. noTG Sed); $36\% \pm 7\%$ en noTG + EI ($p < 0,05$ vs. basal) y $36\% \pm 7\%$ en TG + EI ($p < 0,05$ vs. basal). La frecuencia cardíaca aumentó de 301 ± 15 a 528 ± 37 latidos/min en noTG Sed ($p < 0,05$ vs. basal), de 519 ± 57 a 603 ± 41 latidos/min en TG Sed, de 300 ± 16 a 375 ± 20 en noTG + EI ($p < 0,05$ vs. basal) y de 484 ± 18 a 515 ± 21 en TG + EI. El colágeno intersticial fue similar entre los grupos.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el ejercicio intenso disminuye la reserva inotrópica y cronotrópica sin generar cambios estructurales vinculados a la hipertrofia patológica. La presencia de hiperactividad simpática no modifica esta respuesta.

Palabras clave: Tolerancia al ejercicio - Condicionamiento físico animal - Sistema nervioso simpático - Isoproterenol

ABSTRACT

Background: Previous studies have shown that endurance training (ET) reduces inotropic, chronotropic and lusitropic reserve in normal mice.

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of endurance training on the inotropic and chronotropic reserve of transgenic mice with sympathetic hyperactivity induced by overexpression of the cardiac G α protein.

Methods: Endurance training consisted in two daily 90-min sessions, 6 days/week, during 4 weeks. Four experimental groups were formed: 1) non-transgenic sedentary (nonTG Sed); 2) transgenic sedentary (TG Sed); 3) nonTG+ET and 4) TG+ET.

Results: Endurance training induced myocardial hypertrophy [left ventricular weight (g)/tibial length (mm)] from 5.3 ± 0.3 and 5.5 ± 0.2 in nonTG Sed and TG Sed to 6.8 ± 0.1 and 6.8 ± 0.3 in nonTG+ET and TG+ET, respectively ($p < 0.05$ nonTG Sed vs. nonTG+ET and TG Sed vs. TG+ET). Isoproterenol administration (56 ng/kg) increased $+dP/dt_{\text{máx}}$ by $63 \pm 10\%$ in nonTG Sed ($p < 0.05$ vs. baseline), $34 \pm 2\%$ in TG Sed ($p < 0.05$ vs. baseline and $p < 0.05$ vs. nonTG Sed), $36 \pm 7\%$ in non TG+ET ($p < 0.05$ vs. baseline) and $36 \pm 7\%$ in TG+ET ($p < 0.05$ vs. baseline). Heart rate (beats/min) increased from 301 ± 15 to 528 ± 37 in nonTG Sed ($p < 0.05$ vs. baseline), from 519 ± 57 to 603 ± 41 in TG Sed, from 300 ± 16 to 375 ± 20 in nonTG+ET ($p < 0.05$ vs. baseline) and from 484 ± 18 to 515 ± 21 in TG+ET. Interstitial collagen was similar among groups.

Conclusions: These results suggest that endurance training decreases inotropic and chronotropic reserve without generating structural changes associated to pathological hypertrophy. The presence of sympathetic hyperactivity does not modify this response.

Key words: Exercise Tolerance - Physical Conditioning, Animal - Sympathetic Nervous System - Isoproterenol

REV ARGENT CARDIOL 2015;83:511-515. <http://dx.doi.org/107775/rac.es.v83.i6.7093>

Recibido: 24/08/2015 - Aceptado: 30/09/2015

Dirección para separatas: Dr. Germán E. González - Departamento de Patología - Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires - Pte. Uriburu 950, 2.º Piso - CABA, Argentina - e-mail: gegonzal@fmed.uba.ar

Abreviaturas

+dP/dt_{máx}	Máxima derivada de la presión con respecto al tiempo	LT	Longitud de la tibia
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero	noTG	No transgénico
EI	Ejercicio intenso	PC	Peso corporal
FC	Frecuencia cardíaca	Sed	Sedentario
ISO	Isoproterenol	TG	Transgénico
lat/min	Latidos por minuto	VD	Ventrículo derecho
		VI	Ventrículo izquierdo

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios mostraron que la realización de actividad física regular previene el desarrollo de patologías cardíacas y que el ejercicio crónico atenúa los principales factores de riesgo cardiovascular. (1) Dependiendo del tipo, el ejercicio puede asociarse con una dilatación cardíaca leve, la cual podría representar una adaptación favorable mediante la cual el corazón compensa el incremento de la demanda funcional y le permite preservar o incluso aumentar la función ventricular. (2, 3) Estudios previos mostraron que el ejercicio de baja intensidad puede retrasar el desarrollo de insuficiencia cardíaca y mejorar la supervivencia en ratas espontáneamente hipertensas, sugiriendo que el ejercicio moderado a leve tiene efectos beneficiosos. (4) Sin embargo, protocolos experimentales de ejercicio intenso (EI) y crónico realizados en ratas mostraron que los animales desarrollaron una hipertrofia cardíaca con características patológicas, aumentando los marcadores profibróticos, la fibrosis del ventrículo derecho (VD), la susceptibilidad a arritmias y la disfunción ventricular. (5) En este sentido, a pesar de que el ejercicio es recomendado como una medida terapéutica eficaz para diferentes patologías cardiovasculares, la comprensión de la relación intensidad/respuesta sigue siendo escasamente entendida y los mecanismos no se han investigado completamente. (6) En estudios previos mostramos que la realización de EI reduce la reserva inotrópica, cronotrópica y lusitrópica en ratones normales. (7) Dado que el aumento de la actividad simpática forma parte de la fisiología del ejercicio, en el presente trabajo nos propusimos estudiar si la disminución de la reserva inotrópica y cronotrópica producida por el EI en ratones normales se encontraba presente en un modelo transgénico (TG) de hiperactividad simpática sometido a un protocolo de EI.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratones machos de 3 meses de edad (31 ± 1 g), correspondientes a la cepa FVB no transgénicos (noTG) y TG portadores de una sobreexpresión cardíaca específica de la proteína G α . Esto se logró a partir de la inserción de la secuencia correspondiente a continuación del gen promotor de la cadena pesada de α -miosina de expresión diferencial en los cardiomiocitos, utilizándose las líneas que mostraron un incremento del ARNm de 38 veces y de 2,8 veces el contenido de la proteína G α , lo que proporciona una modificación genética que se hace evidente fenotípicamente por una

hiperactividad simpática característica del modelo, descrito por un aumento significativo de la frecuencia cardíaca (FC) y la contractilidad. (8, 9)

Protocolo experimental

Se realizó un protocolo de ejercicio intenso de dos sesiones diarias de 90 minutos cada una, 6 días a la semana, durante 4 semanas. Para ello, los ratones fueron colocados en una pileta de $40 \times 70 \times 30$ cm con agua mantenida a una temperatura constante de entre 30 y 32 °C con un estabilizador de temperatura. (10) Al comienzo del protocolo se realizó un período de adaptación de una semana, durante la cual los animales comenzaron nadando 20 minutos y se extendió el tiempo diariamente hasta llegar a "completar el protocolo". (11-13) Los animales de todos los grupos se mantuvieron en ciclos de 12 horas de luz/oscuridad a una temperatura de 20-22 °C, con disponibilidad de alimento y agua *ad libitum*.

Grupos experimentales

Se conformaron cuatro grupos experimentales: 1) grupo control sedentario noTG (n = 14): corresponde a ratones que no realizaron ejercicio y se mantuvieron en sus respectivas jaulas hasta el momento de la eutanasia; 2) grupo control sedentario TG (n = 5): corresponde a ratones que no realizaron ejercicio y se mantuvieron en sus respectivas jaulas hasta el momento de la eutanasia; 3) grupo noTG + EI (n = 14): corresponde a ratones que realizaron el protocolo de EI descrito y 4) grupo TG + EI (n = 16): corresponde a ratones TG que realizaron el protocolo de EI descrito.

Una vez culminado el tiempo del protocolo se realizó para todos los grupos experimentales el estudio de la función ventricular basal, la reserva inotrópica y cronotrópica *in vivo* seguido de la eutanasia y posterior necropsia.

Estudios de función ventricular *in vivo*

Finalizado el tiempo de protocolo, los grupos experimentales noTG (n = 8), TG (n = 3), noTG + EI (n = 9) y TG + EI (n = 8) fueron pesados y anestesiados con ketamina (100 mg/kg) y xilazina (2,5 mg/kg). Se realizó la disección de la arteria carótida derecha y se procedió a colocar un catéter heparinizado que fue avanzado hasta el ventrículo izquierdo (VI). A su vez, se diseccionó la vena yugular izquierda en la que se introdujo otro catéter para administrar un bolo intravenoso de isoproterenol (ISO, 56 ng/kg). Luego se dejó estabilizar (10 minutos) y se registraron los valores basales de presión ventricular izquierda, su primera derivada ($+dP/dt_{máx}$, mm Hg/seg) y de la FC (lat/min). (14) Para cada uno de los grupos se registraron las mismas variables luego de la administración de ISO en una computadora con plaqueta conversora analógica-digital (National Instruments) y un *software* que permite la adquisición y el análisis de datos. (15)

Evaluación de la hipertrofia cardíaca

Una vez finalizado el estudio de función ventricular, se realizó la eutanasia de los animales y la correspondiente autopsia.

Se extrajo el bloque cardiopulmonar completo y se diseccionó y pesó el VI, el VD y ambas aurículas. El VI se fijó en formol *buffer* para su posterior inclusión en parafina y tinción para la cuantificación del colágeno. También se registraron los pesos corporales, antes y después del protocolo de ejercicio, y los valores de la longitud de la tibia (LT) para el cálculo de los cocientes de hipertrofia [VI/peso corporal (PC) y VI/LT]. (16) Se consideraron y compararon ambos índices, ya que el PC evidenció gran variabilidad con el entrenamiento; sin embargo, la LT es un índice de crecimiento que no varía con el ejercicio.

Cuantificación del colágeno intersticial

Se realizó la cuantificación de colágeno intersticial en los grupos experimentales noTG (n = 5), TG (n = 3), noTG + EI (n = 7) y TG + EI (n = 7) por colorimetría en cortes histológicos teñidos con la técnica de *picrosirius red*, utilizando un analizador de imágenes digital Image-Pro Plus 6.0. Los resultados se expresaron como porcentaje de colágeno por campo, en el total del VI. No se consideró el colágeno perivascular en cada uno de los grupos. (17)

Análisis estadístico

Los datos se expresan como la media \pm error estándar de la media. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa Sigma STAT32 y se realizó la prueba de ANOVA entre los grupos experimentales, seguida de la prueba de Bonferroni. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con los Principios de Cuidado de los Animales de Laboratorio de los National Institutes of Health (Publicación de los NIH N° 85-3, Revisión de 1985).

RESULTADOS

Todos los animales que comenzaron el protocolo de ejercicio lo finalizaron sin que se registraran óbitos.

El EI incrementó significativamente el índice de hipertrofia miocárdica en forma similar en ambos grupos de animales (noTG + EI y TG + EI) (Tabla 1).

En el estudio de función ventricular *in vivo* confirmamos que la FC (Figura 1) y la contractilidad miocárdica ($+dP/dt_{\max}$; Figura 2) en condiciones basales se encontraron significativamente incrementadas en los animales TG [sedentario (Sed) y ejercicio], en respuesta a la hiperactividad simpática del modelo experimental.

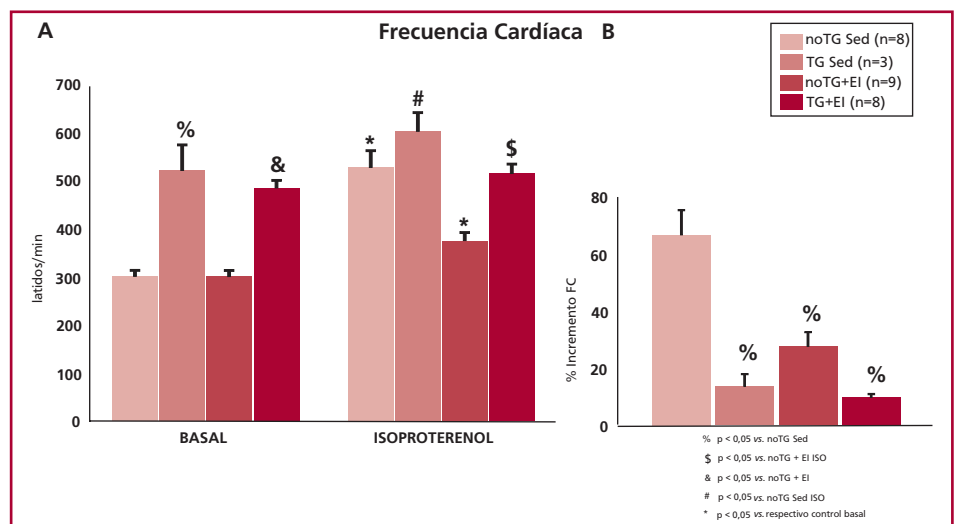
La FC de los ratones noTG (noTG Sed: 301 ± 15 vs. noTG + EI: 300 ± 16 lat/min), como la de los TG, ambos sometidos a ejercicio, no se modificó respecto de sus correspondientes valores basales (TG Sed: 519 ± 57 vs. TG + EI: 484 ± 18 lat/min) (Figura 1 A). La

Tabla 1. Resultados de autopsia

Grupos	PC (g)		LT (mm)	VI (mg)	VI/PC (mg/g)	VI/LT (mg/mm)	Pulmón (mg)
	Antes	Después					
noTG Sed (n = 14)	–	31,1 \pm 1	18,3 \pm 0,1	97,5 \pm 4,2	3,12 \pm 0,21	5,3 \pm 0,2	183 \pm 7
TG Sed (n = 5)	–	30,8 \pm 1	17,9 \pm 0,3	97,8 \pm 5	3,2 \pm 0,03	5,5 \pm 0,3	192 \pm 19
noTG + EI (n = 14)	31,5 \pm 1	30,5 \pm 1	18,2 \pm 0,1	124,9 \pm 4*	4,1 \pm 0,1*	6,8 \pm 0,1*	210 \pm 11
TG + EI (n = 16)	32,4 \pm 1	32,6 \pm 1	18,3 \pm 0,1	124,2 \pm 4 [§]	3,8 \pm 0,1 [§]	6,9 \pm 0,2 [§]	210 \pm 9

noTG: No transgénico. TG: Transgénico. Sed: sedentario. EI: Ejercicio intenso. PC: Peso corporal antes y después del ejercicio. LT: Longitud de la tibia. VI: Peso del ventrículo izquierdo. VI/PC: Cociente peso del ventrículo izquierdo/peso corporal. VI/LT: Cociente peso del ventrículo izquierdo/longitud de la tibia. Pulmón: Peso del pulmón húmedo. * $p < 0,05$ vs. noTG; & $p < 0,05$ vs. TG.

Fig. 1. Respuesta cronotrópica frente a la administración de isoproterenol (ISO) (56 ng/kg) en los grupos experimentales para la función ventricular *in vivo*, donde se observan tanto los valores basales como la respuesta al ISO. **A.** Valores basales de la frecuencia cardíaca (FC), primeras 4 barras, y la respuesta al ISO, segundas 4 barras. **B.** Porcentaje de incremento para cada uno de los grupos experimentales. % $p < 0,05$ vs. noTG; & $p < 0,05$ vs. noTG + EI; * $p < 0,05$ vs. respectivo basal; # $p < 0,05$ vs. noTG + ISO. FC: Frecuencia cardíaca. noTG: No transgénico. TG: Transgénico. Sed: Sedentario. EI: Ejercicio intenso.



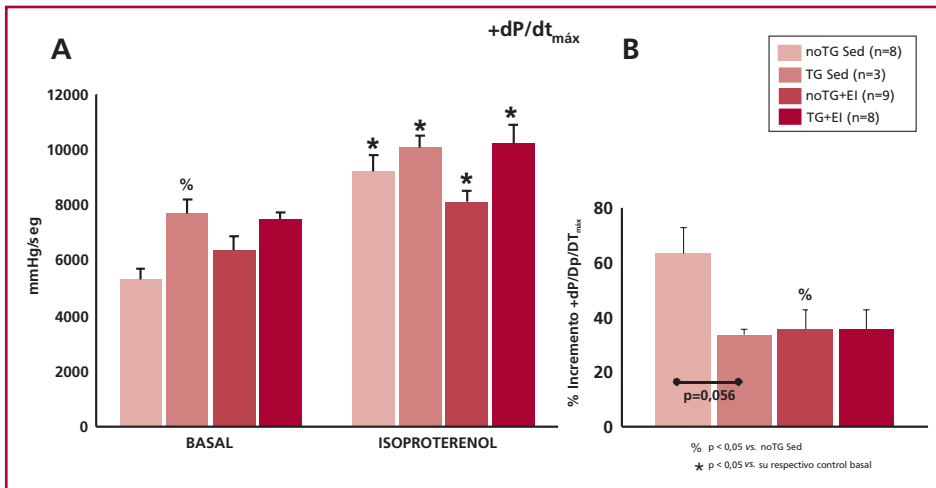


Fig. 2. Valores basales y respuesta inotrópica frente a la administración de isoproterenol (56 ng/kg) en los grupos experimentales en la función ventricular *in vivo*. **A.** Valores basales de la +dP/dt_{máx} primeras 4 barras, y la respuesta al ISO, segundas 4 barras. **B.** Porcentaje de incremento para cada uno de los grupos experimentales. % p < 0,05 vs. noTG; * p < 0,05 vs. su respectivo basal. noTG: No transgénico. TG: Transgénico. Sed: Sedentario. EI: Ejercicio intenso. +dP/dt_{máx}: Máxima derivada de la presión con respecto al tiempo.

administración de ISO solo aumentó la FC en los grupos noTG (noTG Sed: desde 301 ± 15 a 528 ± 37 lat/min y noTG + EI: desde 300 ± 16 a 375 ± 20 lat/min; p < 0,05), sin observarse cambios significativos en los grupos TG (TG Sed: desde 519 ± 57 a 603 ± 41 lat/min y TG + EI: 484 ± 18 a 515 ± 21 lat/min). El porcentaje de incremento de la FC (Figura 1 B) reveló una respuesta significativamente menor en los grupos TG Sed, noTG + EI y TG + EI en comparación con el grupo noTG Sed (TG Sed: 13,7% ± 4,5%; noTG + EI: 27,7% ± 5,3%; TG + EI: 9,9% ± 1,3%; p < 0,05).

El ejercicio no modificó el estado contráctil basal, evaluado a través de la +dP/dt_{máx}, ni en los noTG (noTG Sed: 5.315 ± 382 mm Hg/seg, noTG + EI: 6.350 ± 531 mm Hg/seg), ni en los TG (TG Sed: 7.681 ± 513 mm Hg/seg, TG + EI: 7.495 ± 219 mm Hg/seg) (Figura 2). La administración de ISO aumentó significativamente la contractilidad miocárdica en todos los grupos experimentales (noTG Sed: desde 5.314 ± 382 mm Hg/seg a 9.218 ± 605 mm Hg/seg; TG: desde 7.681 ± 513 mm Hg/seg a 10.084 ± 421 mm Hg/seg; noTG + EI: desde 6.350 ± 531 mm Hg/seg a 8.128 ± 374 mm Hg/seg y TG + EI: desde 7.495 ± 219 mm Hg/seg a 10.226 ± 679 mm Hg/seg; p < 0,05 para todos los casos), aunque el porcentaje de aumento fue diferente entre los grupos y mostró una disminución significativa en la respuesta al ISO en los grupos TG Sed (34% ± 2%), noTG + EI (36% ± 7%) y TG + EI (36% ± 7%) respecto de noTG Sed (63% ± 10%; p < 0,05 vs. todos los grupos) (Figura 2 B).

El colágeno intersticial fue similar en todos los grupos experimentales (noTG Sed: 2,25% ± 0,30%, TG Sed: 2,50% ± 0,4%, noTG + EI: 2,46% ± 0,30% y TG + EI: 2,65% ± 0,54%) (Figura 3).

DISCUSIÓN

En el presente estudio mostramos que ratones normales que realizaron EI, como también aquellos que sobreexpresan específicamente a nivel cardíaco la pro-

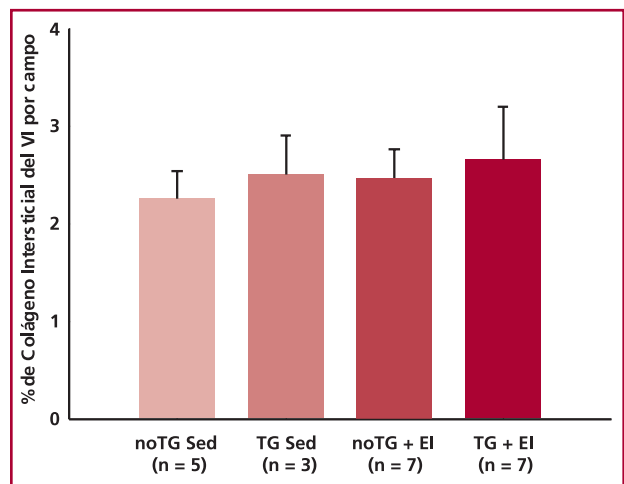


Fig. 3. Evaluación del colágeno intersticial en cortes histológicos teñidos con *picrosirius red* en todos los grupos experimentales. No hubo diferencias significativas en todos los grupos estudiados. VI: Ventrículo izquierdo. noTG: No transgénico. TG: Transgénico. Sed: Sedentario. EI: Ejercicio intenso.

teína Gsα, tienen un deterioro significativo de la reserva inotrópica y cronotrópica sin cambios en el colágeno intersticial. Asimismo, nuestros resultados demuestran que la disminución de la reserva inotrópica observada en animales normales fue similar a la hallada en ambos grupos TG, sugiriendo que el efecto del EI no potenció la disminución de la reserva contráctil en animales TG. Coincidentemente con estudios previos, (4, 5, 7, 10) en nuestro trabajo no observamos muertes por extenuación en los grupos que realizaron EI. Probablemente esto se deba a que los animales comenzaron el protocolo con una semana de acondicionamiento en la que se adaptaron al medio y mejoraron su capacidad aeróbica.

En estudios previos mostramos que el EI produce una disminución de la reserva inotrópica, cronotrópica y lusitrópica en ratones. (7) El presente trabajo extiende estos hallazgos al estudiar la alteración de

la reserva inotrópica y cronotrópica inducida por el EI en un modelo TG con hiperactividad simpática cardíaca-específica. De esta manera, en el presente estudio observamos que la sobreexpresión cardíaca de la proteína G α aumenta la FC, como también la contractilidad en condiciones basales. Sin embargo, estos animales desarrollan hipertrofia miocárdica secundaria al EI en forma similar a los animales noTG. Observamos además una disminución en la reserva inotrópica y cronotrópica en los animales noTG + EI, sin generar la cardioprotección esperada. Por otro lado, los ratones TG + EI mostraron una conservación de los parámetros funcionales comparados con su control sedentario (TG Sed), ya que estos partieron de valores mayores que el grupo noTG Sed, sin modificación de los valores en respuesta al estímulo betaadrenérgico.

En el estudio de función ventricular *in vivo*, los cambios en la FC podrían modificar la contractilidad, y dado que el modelo TG presenta un aumento significativo de la FC, estos datos deberían confirmarse evaluando la función ventricular y la reserva inotrópica en un modelo *in vitro* que permita un control estricto de variables, como por ejemplo la FC, el volumen ventricular y el flujo coronario constantes. (18, 19)

En nuestras condiciones experimentales, los corazones de los animales que realizaron ejercicio (noTG y TG) desarrollaron hipertrofia miocárdica sin fibrosis, lo cual sugiere que, al menos desde el punto de vista estructural, el ejercicio produjo hipertrofia de tipo adaptativa. (6) Sin embargo, si bien es conocida la activación del sistema nervioso simpático durante el ejercicio, (20) no se conoce aún la respuesta del miocardio a distintas intensidades de actividad física en presencia de hiperactividad simpática. Nuestros datos sugieren que si bien el modelo TG tiene aumento de la contractilidad y la FC, esto no provoca un mayor efecto perjudicial, que sí se observa en los animales noTG, que muestran una reserva inotrópica y cronotrópica disminuida que predomina sobre el efecto beneficioso del ejercicio.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que el EI en forma comparable al estímulo betaadrenérgico disminuye en forma no aditiva la reserva contráctil sin generar cambios estructurales vinculados a hipertrofia maladaptativa.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

(Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web/ Material suplementario).

BIBLIOGRAFÍA

1. Powers SK, Lennon SL, Quindry J, Mehta JL. Exercise and cardio-protection. *Curr Opin Cardiol* 2002;17:495-502. <http://doi.org/dzczv>

2. Prior DL, La Gerche A. The athlete's heart. *Heart* 2012;98:947-55. <http://doi.org/737>

3. Rawlins J, Bhan A, Sharma S. Left ventricular hypertrophy in athletes. *Eur J Echocardiogr* 2009;10:350-6. <http://doi.org/dnx9ph>

4. Garcarena CD, Pinilla OA, Nolly MB, Laguens RP, Escudero EM, Cingolani HE, Ennis IL. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 2009;53:708-14. <http://doi.org/cwqvjk>

5. Benito B, Gay-Jordi G, Serrano-Mollar A, Guasch E, Shi Y, Tardif JC, et al. Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. *Circulation* 2011;123:13-22. <http://doi.org/dhgwsv>

6. La Gerche A. Can intense endurance exercise cause myocardial damage and fibrosis? *Curr Sports Med Rep* 2013;12:63-9. <http://doi.org/738>

7. Wilensky L, González GE, D'Annunzio V, Matorra F, Pérez V, Gullace FA y cols. Efectos del ejercicio intenso sobre la función ventricular basal y la respuesta inotrópica, cronotrópica y lusitrópica en ratones. *Rev Argent Cardiol* 2013;81:115-21. <http://doi.org/739>

8. Gaudin C, Ishikawa Y, Wight DC, Mahdavi V, Nadal-Ginard B, Wagner TE, et al. Overexpression of Gs alpha protein in the hearts of transgenic mice. *J Clin Invest* 1995;95:1676-83. <http://doi.org/dnfv8x>

9. Muntz KH, Ishikawa Y, Wagner T, Homcy CJ, Vatner SF, Vatner DE. Localisation of cardiac Gs alpha in transgenic mice overexpressing Gs alpha. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:1649-53. <http://doi.org/frcq2f>

10. Evangelista FS, Brum PC, Krieger JE. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Biol Res* 2003;36:1751-9. <http://doi.org/bvww42v>

11. Ikeda H, Shiojima I, Ozasa Y, Yoshida M, Holzenberger M, Kahn CR, et al. Interaction of myocardial insulin receptor and IGF receptor signaling in exercise-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2009;47:664-75. <http://doi.org/d59mcj>

12. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Sakai S, Kobayashi T, Fujii N, et al. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;281:R2029-36.

13. Kaplan ML, Cheslow Y, Vikstrom K, Malhotra A, Geenen DL, Nakouzi A, et al. Cardiac adaptations to chronic exercise in mice. *Am J Physiol* 1994;267:H1167-73.

14. González GE, Rabald S, Briest W, Gelpi RJ, Seropian I, Zimmer HG, et al. Ribose treatment reduced the infarct size and improved heart function after myocardial infarction in rats. *Cell Physiol Biochem* 2009;24:211-8. <http://doi.org/dmjgjf>

15. Marchini T, Magnani N, D'Annunzio V, Tasat D, Gelpi RJ, Álvarez S, et al. Impaired cardiac mitochondrial function and contractile reserve following an acute exposure to environmental particulate matter. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:2545-52. <http://doi.org/74b>

16. Kim J, Wende AR, Sena S, Theobald HA, Soto J, Sloan C, et al. Insulin-like growth factor I receptor signaling is required for exercise-induced cardiac hypertrophy. *Mol Endocrin* 2008;22:2531-43. <http://doi.org/d8w7mb>

17. Schwarz A, Godes M, Thone-Reineke C, Theuring F, Bauer C, Neumayer HH, et al. Tissue-dependent expression of matrix proteins in human endothelin-1 transgenic mice. *Clin Sci (Lond)* 2002;103(Suppl 48):39S-43S. <http://doi.org/74c>

18. González GE, Mangas F, Chauvin AD, Monroy S, Donato M, Morales C, et al. Diastolic behavior during post ischemic hypercontraction phase in rabbit stunned myocardium. *Medicina* 2003;63:403-9.

19. González GE, Rodríguez M, Donato M, Palleiro J, D'Annunzio V, Morales C, et al. Effects of low-calcium reperfusion and adenosine on diastolic behavior during the transitory systolic overshoot of the stunned myocardium in the rabbit. *Can J Physiol Pharmacol* 2006;84:265-72. <http://doi.org/cx7rs3>

20. Ng J, Sundaram S, Kadish AH, Goldberger JJ. Autonomic effects on the spectral analysis of heart rate variability after exercise. *Am J Physiol Heart Circ* 2009;297:H1421-8. <http://doi.org/dvbkqs>