

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM RATAS OOFORECTOMIZADAS
E INFARTADAS: AVALIAÇÕES DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA
CARDIOVASCULAR E DO ESTRESSE OXIDATIVO**

Aluno: Diego Mendrot Taboas Figueroa

Orientadora: Maria Cláudia Irigoyen

Porto Alegre, junho de 2010.

Diego Mendrot Taboas Figueroa

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM RATAS OOFORECTOMIZADAS E
INFARTADAS: AVALIAÇÕES DA MODULAÇÃO AUTONÔMICA
CARDIOVASCULAR E DO ESTRESSE OXIDATIVO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia – do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde de Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

**Área de Concentração:
Fisiologia**

**Orientadora:
Maria Cláudia Irigoyen**

Porto Alegre, junho de 2010.

“EU... meu maior inimigo!
Não há ninguém que me possa derrotar nesse mundo.
A não ser EU mesmo.”

Valter Pasqualini

Agradecimentos

*Agradeço em especial por estar inserido em uma partícula daquilo que chamamos de
Ciência.*

*Aos meus pais, Gregório Figueroa e Ariadne Mendrot Figueroa e ao meu irmão Gustavo pelo
amor, carinho e paciência.*

*À minha orientadora, Maria Cláudia Irigoyen por ter acreditado em mim, por todos os seus
ensinamentos e por ser um exemplo de dedicação e perseverança.*

*À minha co-orientadora, Kátia de Angelis, por ter acreditado em mim desde o início de minha
caminhada. Obrigado pela paciência e pelos ensinamentos desses 6 anos que estou trilhado
a seu lado.*

*À minha namorada Beth por estar ao meu lado nesses 2 anos e meio. Obrigado pelo carinho,
amor e companheirismo.*

*À professora Adriane Belló Klein por permitir que eu fizesse parte de seu laboratório e pelos
ensinamentos.*

Ao professor Alex Sander, pelos seus grandes ensinamentos e seu bom humor.

*À Tânia Regina Gatelli Fernandes, que tantas vezes atendeu meus telefonemas de fim-de-
semana quando precisei de ajuda. Obrigado pela paciência.*

*Aos meus amigos (as) e companheiros (as) de laboratório pela convivência e ajuda nesses 2
anos de trabalho. Em especial agradeço a Rafael Fernandes, Vinicius Vieiga e Francisca
Mózele por me estenderem a mão quando precisei e por estarem ao meu lado.*

*Aos meus colegas da turma de mestrado, pelos ótimos momentos que passamos nessa
caminhada.*

II

*Aos companheiros (as) e amigos (as) do Laboratório de Hipertensão Experimental – InCor,
pela convivência, ensinamentos e amizade.*

*Aos companheiros (as) e amigo (as)s do Laboratório de Movimento Humano, foram anos de
convivência.*

*Aos funcionários do Departamento de Fisiologia da UFRGS e aos colegas dos outros
laboratórios.*

Agradeço ao Valter Pasqualini pelo trabalho que realiza comigo.

A todas as pessoas que me ajudaram de uma forma ou de outra durante esse período.

Agradeço a CAPES pelo auxílio à minha pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XVII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Menopausa e risco cardiovascular	1
1.2. Infarto do miocárdio	4
1.3. Infarto do miocárdio e estresse oxidativo	7
1.4. Privação dos hormônios ovarianos e isquemia miocárdica: papel do estresse oxidativo	12
1.5. Treinamento Físico	14
1.6. Treinamento físico na privação dos hormônios ovarianos: Associação com a isquemia miocárdica e o papel do estresse oxidativo	18
2. Justificativa	20
3. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivo Geral	22
3.2. Objetivos Específicos	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1. Animais e grupos	23
4.2. Seqüencia Experimental	24
4.3. Procedimentos experimentais	24
4.3.1. Ooforectomia bilateral	24
4.3.2. Infarto do Miocárdio	25
4.3.3. Teste de Esforço Máximo	27
4.3.4. Treinamento físico	28
4.3.5. Avaliações Ecocardiográficas	28
4.3.6. Canulação	30
4.3.7. Avaliações hemodinâmicas sistêmicas	31

4.3.8. Avaliação da modulação autonômica	33
4.3.8.1. Análise da variabilidade do intervalo de pulso	33
4.3.8.2. Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica	33
4.3.8.3. Índice alfa	34
4.3.9. Determinação da hipertrofia cardíaca	35
4.3.10. Avaliação do tamanho do infarto do miocárdio	35
4.3.10.1. Tamanho do infarto (%).	36
4.3.11. Preparação dos tecidos	36
4.3.12. Dosagem de proteína	37
4.3.13. Medidas de Estresse Oxidativo	37
4.3.13.1. Medida de Lipoperoxidação (LPO): Quimiluminescência Iniciada por t-BOOH (QL)	37
4.3.13.2. Razão GSH/GSSG	38
4.3.14. Enzimas antioxidantes	39
4.3.14.1. Catalase	39
4.3.14.2. Superóxido dismutase	40
4.3.14.3. Glutathiona peroxidase	41
4.4. Análise estatística	42
5. RESULTADOS	43
5.1. Avaliação do peso corporal e hipertrofia cardíaca	43
5.2. Avaliação do tamanho do infarto do miocárdio	45
5.3. Capacidade Física	47
5.4. Avaliações Hemodinâmicas Sistêmica	49
5.5. Avaliações da modulação autonômica cardiovascular	51
5.5.1. Análise da variabilidade do intervalo de pulso no domínio do tempo	51
5.5.2. Análise da variabilidade do intervalo de pulso no domínio da frequência	53
5.5.3. Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência	55

5.5.4. Avaliação da sensibilidade barorreflexa espontânea	57
5.6. Medidas de estresse oxidativo	58
5.6.1. Medida de lipoperoxidação (LPO): Quimiluminescência iniciada por t-BOOH (QL)	58
5.6.2. Razão GSH/GSSG	59
5.7. Enzimas antioxidantes	61
6. DISCUSSÃO	64
6.1. Efeitos da privação dos hormônios ovarianos associada ou não ao infarto do miocárdio no peso corporal de ratas	65
6.2. Efeitos do treinamento físico no peso corporal de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio	67
6.3. Efeitos do infarto do miocárdio na morfometria cardíaca de ratas ooforectomizadas	68
6.4. Efeitos do treinamento físico na morfometria cardíaca de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio	72
6.5. Efeitos do infarto do miocárdio na capacidade física de ratas ooforectomizadas	73
6.6. Efeitos do treinamento físico na capacidade física de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio	75
6.7. Efeitos da privação dos hormônios ovarianos associada ou não ao infarto do miocárdio no perfil hemodinâmico e modulação autonômica de ratas	76
6.8. Efeitos do treinamento físico no perfil hemodinâmico e na modulação autonômica em ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio	83
6.9. Efeitos da privação dos hormônios ovarianos associada ou não ao infarto do miocárdio no perfil oxidativo de ratas	89
6.10. Efeitos do treinamento físico no perfil oxidativo de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio	93
7. SUMÁRIO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES	97
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01** - Etapas da realização da ooforectomia bilateral em fêmeas.....25
- Figura 02** - Ilustração e foto do infarto do miocárdio experimental em ratos.....26
- Figura 03** - Fotografia mostrando a oclusão da artéria coronária esquerda no miocárdio do rato.....27
- Figura 04** - Foto mostrando ratos submetidos a protocolo de treinamento físico em esteira ergométrica.....28
- Figura 05** - Esquema do local da canulação da artéria femoral e veia femoral.....31
- Figura 06** - Sistema de registro de pressão arterial e conexão entre a cânula e o transdutor eletromagnético.....32
- Figura 07** - Avaliações ecocardiográficas no início e fim do protocolo da Área infartada do ventrículo esquerdo (%) dos grupos ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). Inicial: 2 dias após IM; Final: 60 dias após IM.....46
- Figura 08** - Velocidade alcançada nos testes de esforço (TE1: inicial e TE3: final) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....48
- Figura 09** - Pressão arterial média (PAM) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....50

Figura 10 - Frequência cardíaca (FC) de repouso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....51

Figura 11 - Variância do intervalo de pulso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).
 OIS.....52

Figura 12 - Razão entre a banda de baixa frequência pela banda de alta frequência do intervalo de pulso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....55

Figura 13 - Variância da pressão arterial sistólica dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....57

Figura 14 - Índice alfa dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....58

Figura 15 - Quimiluminescência cardíaca dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....59

Figura 16 - Razão GSH/GSSG dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....61

Figura 17 - Concentração da catalase dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).
 OIS.....62

Figura 18 - Atividade da SOD nos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....63

Figura 19 - Atividade da GPx nos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 01- Peso corporal (gramas) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT) no início e ao final do protocolo e o delta entre os 2 momentos.....44

Tabela 02- Peso ventricular (VE+VD), peso do VE (mg), e índice de hipertrofia cardíaca (IDH) (mg/g) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....45

Tabela 03 - Velocidade máxima (km/h) alcançada nos testes de esforço máximos dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT) ao longo do protocolo.....48

Tabela 04 - Pressão arterial e frequência cardíaca em repouso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....50

Tabela 05 - Variabilidade do intervalo de pulso no domínio da frequência dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....54

Tabela 06 - Variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....56

Tabela 07 - Concentração da glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e razão GSH/GSSG no tecido cardíaco dos grupos ooforectomizado sedentário (OS),

ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....60

Tabela 08 - Atividade enzimática no tecido cardíaco dos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).....62

Quadro 01 - Seqüência experimental do projeto24

LISTA DE ABREVIATURAS

ACSM: American College Sports Medicine.

AHA: American Heart Association.

AKT: proteína cinase B

AVC: acidente vascular cerebral.

AT1: receptor 1 da angiotensina II

AF: Banda de Alta Frequência

BF: Banda de Baixa Frequência

CAT: catalase

DC: débito cardíaco.

DCV: doenças cardiovasculares.

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

DNPH: dinitro fenil hidrazina

- **dP/dt:** derivada de relaxamento do VE.

+ **dP/dt:** derivada de contração do VE.

DP IP: desvio padrão do intervalo de pulso

ECA: enzima conversora de angiotensina.

eNOS: oxido nítrico sintase endotelial

EPM: erro padrão da média.

EROs: espécies reativas do oxigênio

FC: frequência cardíaca.

FFT: Transformada Rápida de Fourier

GGT: gama glutaciona transpeptidase

GPx: glutaciona peroxidase

GR: glutaciona redutase

GSH: glutaciona reduzida

GSSG: glutaciona oxidada

HDL: lipoproteína de alta densidade.

Hz: Hertz

IC: insuficiência cardíaca.

IDH: índice de hipertrofia cardíaca.

IM: infarto do miocárdio.
ip: intra-peritonal.
LDL: lipoproteína de baixa densidade.
LPO: lipoperoxidação
MBF: banda de muito baixa frequência
MDA: malondialdeído
NCHS: National Center for Health Statistics.
NEM: N-etilmaleimida
NF-K κ b: fator de transcrição nuclear kappa
NO: óxido nítrico
OIS: grupo ooforectomizado infartado sedentário.
OIT: grupo ooforectomizado infartado treinado.
OS: grupo ooforectomizado sedentário.
OT: grupo ooforectomizado treinado.
OVX: ooforectomia
PA: pressão arterial.
PAD: pressão arterial diastólica.
PAM: pressão arterial média.
PAS: pressão arterial sistólica.
PDF: pressão diastólica final.
PMSF: fluoreto de fenil metil sulfonila
PSVE: pressão sistólica do VE.
QL: quimioluminescência
RVP: resistência vascular periférica.
SHR: ratos espontaneamente hipertensos
SNS: sistema nervoso simpático.
SOD: superóxido dismutase
SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona.
t-BOOH :hidroperóxido de tert-butil
TCA: Ácido Tricarboclícilico
TE: teste de esforço.
TF: treinamento físico
TGF-b: transforming growth factor beta

TrvR:enzima tiorredoxina redutase

Trx: proteína tiorredoxina

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VAR-IP: variância do intervalo de pulso

VE: ventrículo esquerdo.

VO₂: consumo máximo de oxigênio

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos do treinamento físico na modulação autonômica cardiovascular e no estresse oxidativo em ratas ooforectomizadas e infartadas. Foram utilizadas ratas Wistar (200 a 230g), divididas em 4 grupos: ooforectomizado sedentário (OS, n=8), ooforectomizado treinado (OT, n=8), ooforectomizado infartado sedentário (OIS, n=8) e ooforectomizado infartado treinado (OIT, n=8). A ooforectomia (OVX) (retirada bilateral dos ovários) foi realizada no 1º dia de protocolo e o infarto do miocárdio (IM) (ligadura do ramo descendente da coronária esquerda) no 5º dia de experimento. Uma semana após a OVX os grupos treinados foram submetidos a 8 semanas de treinamento físico (TF) em esteira ergométrica, com intensidade moderada e duração progressiva (1h/dia, 5dias/sem, 50-65% da velocidade máxima de corrida no teste de esforço). O tamanho do IM foi avaliado de forma indireta pelo ecocardiograma (ECO) (no início e no final) e pelos carimbos em papel milimetrado. Ao final do protocolo foi canulada a artéria femoral para registro de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) nos animais acordados, através de um sistema de aquisição de dados (CODAS, 2KHz). A modulação autonômica foi avaliada através da análise da variabilidade do intervalor de pulso (IP) da pressão arterial sistólica nos domínios do tempo e da frequência. O perfil oxidativo cardíaco foi avaliado verificando-se a lipoperoxidação (LPO), medido pela quimiluminescência (QL), pela razão glutathiona reduzida/glutathiona oxidada (GSH/GSSG) e pela medida das atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) e pela concentração da enzima catalase (CAT). Os grupos OT e OIT apresentaram menor ganho de peso corporal quando comparados OS e OIS, respectivamente, ao final do estudo. A razão peso

ventricular/peso corporal foi maior nos grupos OIS e OIT quando comparados com o grupo OS. A área do IM do ventrículo esquerdo (VE) avaliada pelo ECO foi semelhante entre os grupos infartados no início (OIS: $35,27 \pm 2,9$ vs. OIT: $31,33 \pm 3,5\%$) e no final do protocolo (OIS: $36,5 \pm 5$ vs. OIT: $35,5 \pm 5,5\%$), corroborando com os resultados obtidos com a medida do percentual da área do VE através dos carimbos em papel milimetrado. O TF aumentou a capacidade física dos grupos treinados quando comparados aos grupos sedentários ao final do protocolo. A pressão arterial média (PAM) foi reduzida no grupo OT ($112 \pm 1,5$ mmHg) em comparação ao grupo OS ($122 \pm 2,4$ mmHg) e foi normalizada no grupo OIT ($112 \pm 2,8$ mmHg) quando comparada ao grupo OIS ($101 \pm 2,4$ mmHg). Além disso, o grupo OT apresentou a bradicardia ($342 \pm 8,4$ bpm) de repouso quando comparado com o grupo OS ($370 \pm 5,4$ bpm). A variância do intervalo de pulso (VAR-IP) estava reduzida no grupo OIS ($38,87 \pm 2,66$ ms²) em comparação ao grupo OS ($61,87 \pm 3,99$ ms² no OS) evidenciando um prejuízo do IM; além disso, o TF aumentou a VAR-IP nos grupo treinados em relação aos respectivos sedentários (OT: $88,90 \pm 7,74$ vs. OS: $61,87 \pm 3,99$ e OIT: $58,16 \pm 9,95$ vs. OIS: $38,87 \pm 2,66$ ms²). A banda de baixa frequência normalizada (%BF nu) do IP estava diminuída nos grupos treinados em relação a seus respectivos grupos sedentários (OT: $6,65 \pm 1,38$ vs. OS: $9,76 \pm 1,13$ e OIT: $9,17 \pm 2,09$ vs OIS: $13,51 \pm 2,10\%$). Já banda de alta frequência normalizada (%AF nu) do IP estava aumentada nos grupos treinados em comparação aos grupos sedentários (OT: $32,58 \pm 2,72$ vs. OS: $20,88 \pm 2,9$ e OIT: $37,04 \pm 5,16$ vs. OIS: $22,72 \pm 2,91\%$). O balanço simpato-vagal estava reduzido no grupo OT ($0,30 \pm 0,03$) em comparação ao grupo OS ($0,47 \pm 0,04$) e interessantemente o TF reduziu esse índice no grupo OIT ($0,26 \pm 0,04$) em relação ao grupo OIS ($0,45 \pm 0,04$) e ao OS. A variabilidade da pressão arterial sistólica (VAR-PAS) estava reduzida nos grupos treinados em comparação aos seus respectivos grupos sedentários (OT: $18,19 \pm 1,78$ vs. OS: $26,79 \pm 3,2$

e OIT: $16,29 \pm 1,50$ vs. OIS: $24,54 \pm 3,41$ mmHg²). O índice alfa se mostrou aumentado após o TF nos grupos treinado (OT: $1,02 \pm 0,09$ e OIT: $0,96 \pm 0,10$ ms/mmHg) em comparação a seus respectivos grupos sedentários (OS: $0,68 \pm 0,08$ e OIS: $0,63 \pm 0,07$ ms/mmHg). O TF induziu melhora no perfil oxidativo evidenciado pela diminuição da QL nos grupos treinados (OT 7707 ± 543 e OIT: 6991 ± 1392 cps/ mg proteína) quando comparado aos sedentários (OS: 11771 ± 1479 e OIS: 11476 ± 1056 cps/ mg proteína). O TF induziu aumento na razão GSH/GSSG no grupo OT ($38,04 \pm 2,48$) quando comparado ao grupo OS ($27,62 \pm 2,13$), porém, não foi eficaz em induzir normalização na reduzida razão GSH/GSSG do grupo infartado treinado (OIT: $7,65 \pm 0,89$ vs. OIS: $8,00 \pm 0,67$). O IM reduziu a CAT no grupo OIS quando comparado ao grupo OS e o TF não modificou a concentração dessa enzima no grupo OT e não aumentou sua concentração no grupo OIT. A atividade da SOD estava aumentada somente no grupo OIT em comparação aos outros grupos. A atividade da enzima GPx, estava aumentada somente no grupo OT quando comparada ao grupo OS, não havendo diferença entre os grupos OS, OIS e OIT. Os resultados do presente estudo evidenciam que a o TF de baixa-moderada intensidade induz melhora hemodinâmica e na modulação autonômica de ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos associado ao aumento da defesa antioxidante enzimática e à melhora do estado redox. Entretanto, o achado mais importante presente estudo foi a significativa melhora hemodinâmica e autonômica em ratas OVX e IM pós TF, que foi acompanhada de redução LPO e aumento da defesa antioxidante em tecido cardíaco. Em conjunto, esses resultados reforçam o importante papel do TF como uma abordagem não farmacológica na prevenção e/ou tratamento da disfunção autonômica e redução do estresse oxidativo cardíaco de mulheres menopausadas após evento isquêmico.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to investigate effects of aerobic exercise training in autonomic cardiovascular modulation and oxidative stress in ovariectomized infarcted rats. Female Wistar rats (200-230g) were divided into 4 groups: sedentary ovariectomized (SO, n=8) trained ovariectomized (TO, n=8), sedentary ovariectomized infarcted (SOI, n=8) and trained ovariectomized infarcted (TOI, n=8). The ovariectomy (OVX) (bilateral ovary removal) was realized on the first day of protocol and Myocardial infarction (MI) (left coronary artery ligation) on the fifth day after OVX. The maximum exercise test was performed in all groups to evaluate physical capacity. TO and TOI groups were submitted an exercise training protocol on treadmill (1hour/day; 5 days/week; 8 weeks; 50-60% maximum exercise test velocity). The size of MI was evaluated indirectly by echocardiogram (ECO) (initial and final) and by millimeter paper stamps. At the end of the protocol the arterial pressure signals (AP) were recorded and processed using a data acquisition system (CODAS, 2 KHz). The autonomic modulation was analyzed by the heart rate variability and the systolic arterial pressure variability in time and frequency domains. The oxidative profile was verified in the heart tissue by the chemiluminescence (CL), the reduced glutathione/ glutathione disulfide ratio (GSH/GSSG), as well as by the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) activities and catalase (CAT) concentration. TO and TOI animals showed decreased body weigh gain when compared with OS and OIS animals. The ventricular weight/ body weight ratio was higher in infarcted rats in comparison to SO rats. Left ventricle (LV) infarction area evaluated by ECO was similar between MI groups in initial (SOI: 35.27 ± 2.9 vs. TOI: $31.33 \pm 3.5\%$) and final evaluations (SOI: 36.5 ± 5 vs. TOI: $35.5 \pm 5.5\%$), these results were supported

by the results obtained with millimeter paper stamps realized at the end of the protocol. Exercise training was able to increase physical capacity in trained groups compared with sedentary groups at the end of protocol. Mean AP was reduced in TO group (112 ± 1.5 mmHg) in comparison to SO group (122 ± 2.4 mmHg) and was normalized in TOI group (112 ± 2.8 mmHg) when compared with SOI group (101 ± 2.4 mmHg). The TO group presented resting bradycardia (345 ± 9 bpm) when compared to SO group (377 ± 6 bpm). Pulse interval variance (PI-VAR) was reduced in SOI group (38.87 ± 2.66 ms²) in comparison with SO group (61.87 ± 3.99 ms²), evidencing an impairment after MI. On the other hand, exercise training increased PI-VAR in trained groups when compared to respective sedentary groups (TO: 88.90 ± 7.74 vs. SO: 61.87 ± 3.99 and TOI: 58.16 ± 9.95 vs. SOI: 38.87 ± 2.66 ms²) Normalized low frequency band of pulse interval (%LF) was diminished in trained groups when compared with sedentary groups (TO: 6.65 ± 1.38 vs. SO: 9.76 ± 1.13 and TOI: 9.17 ± 2.09 vs. SOI: 13.51 ± 2.10 %). The normalized high frequency band of pulse interval (%HF) was increased in trained groups when compared to the sedentary groups (TO: 32.58 ± 2.72 vs. SO: 20.88 ± 2.90 % and TOI: 37.04 ± 5.16 vs. SOI: 22.72 ± 2.91 %). The sympathetic-vagal balance was reduced in TO group (0.30 ± 0.03) when compared to SO group (0.47 ± 0.04) and exercise training reduced this parameter in TOI group (0.26 ± 0.04) in relation to SOI group (0.45 ± 0.04) and to SO group. The systolic arterial pressure variability (SAP-VAR) was reduced in both trained groups compared to the respective sedentary groups (TOT 18.19 ± 1.78 vs. SO: 26.79 ± 3.2 and TOI: 16.29 ± 1.50 vs. SOI: 24.54 ± 3.41 mmHg²). Alfa index was increased after exercise training in trained groups (TO: 1.02 ± 0.09 and TOI: 0.96 ± 0.10 ms/mmHg) when compared with respective sedentary groups (SO: 0.68 ± 0.08 and SOI: 0.63 ± 0.07 ms/mmHg). Oxidative profile, was

improved by exercise training, evidenced by reduced CL in trained groups (TO 7707 \pm 543 and TOI: 6991 \pm 1392 cps/mg protein) when compared with sedentary groups (SO: 11771 \pm 1479 e SOI: 11476 \pm 1056 cps/mg protein). Trained non infarcted group showed an increase in GSH/GSSG ratio (38.04 \pm 2.48) in comparison with sedentary non infarcted group (27.62 \pm 2.13) and, exercise training was not effective to increase this ratio in infarcted trained rats (TOI: 7.65 \pm 0.89) when compared to sedentary infarcted ones (SOI: 8.00 \pm 0.67). The IM induced a reduction in CAT and exercise training enhanced SOD. In OT group there was an increase in SOD. The results of the present study demonstrated that low-moderate intensity exercise training induced improvement in hemodynamic profile and cardiovascular autonomic modulation in rats submitted to ovarian hormones deprivation associated with an increase in antioxidant defense and improvement in cardiac redox state. However, the more important finding was the significant hemodynamic and autonomic improvement in ovariectomized infarcted rats after exercise training, which was accompanied by reduced lipid peroxidation and increase in antioxidant enzymes. These results reinforce the role of exercise training as a non pharmacological approach in the prevention and/or treatment of post-menopause women after ischemic event.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Menopausa e risco cardiovascular

As doenças cardiovasculares (DCV) representam uma das mais importantes causas de morte nos países ocidentais. Aproximadamente um milhão de pessoas morrem de doenças cardiovasculares ou relacionadas somente nos Estados Unidos por ano. Um grande número dessas mortes anuais são consequência do infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico e doenças renais crônicas (Nahas, 2001; Bouchard, 2003). Por essas razões, é de extrema importância compreender os mecanismos envolvidos nestas alterações, incluindo o controle da circulação e da pressão arterial (PA) que garantem a perfusão adequada de órgãos e tecidos.

A PA pode ser definida como a força exercida pelo sangue contra as paredes arteriais, determinada pela combinação instantânea entre o débito cardíaco e a resistência vascular periférica e qualquer alteração em um ou outro desses componentes, ou mesmo em ambos, interfere nos níveis pressóricos (Michelini, 1999; Marieb & Branstrom, 1996; Irigoyen et al., 2003).

Em circunstâncias normais, a PA, é mantida em estreita faixa de variação, através da ação dos reflexos originados pelos barorreceptores e quimiorreceptores arteriais, além dos receptores cardiopulmonares e sua integração central (regulação da PA em curto prazo) (Mancia et al., 1994) permitindo a perfusão tecidual adequada, principalmente em territórios que têm pequena capacidade de alterar a resistência periférica como é o caso da circulação cerebral (Irigoyen et al., 2003).

Os barorreceptores arteriais, localizados principalmente na crosta da aorta e no seio carotídeo, constituem-se na forma mais importante de controle da PA em curto prazo, ou seja, momento a momento (Franchini & Krieger, 1995). Com a alteração das paredes dos vasos, por exemplo, devido a altos valores de PA, são gerados potenciais de ação que são conduzidos ao núcleo do trato solitário no sistema nervoso central, onde são produzidas respostas de aumento da atividade vagal e queda da frequência cardíaca (FC), bem como a diminuição da atividade simpática para o coração e os vasos, produzindo a bradicardia, diminuição da força de contratilidade cardíaca, redução da resistência vascular periférica (RVP) e aumento da capacitância venosa, num intervalo entre dois batimentos cardíacos aproximadamente (Michelini, 1999; Irigoyen et al., 2003).

Esse controle reflexo está associado a um controle tônico sobre a atividade simpática (inibição) e parassimpática (estimulação). Assim o comprometimento da função dos pressorreceptores poderia atuar como elemento permissivo ao estabelecimento de alterações primárias de outros mecanismos de controle da função cardiovascular, por não modular a atividade simpática e parassimpática adequadamente (Irigoyen et al., 1995). De fato, a disfunção barorreflexa tem sido documentada na hipertensão arterial e em outras DCV em estudos clínicos e experimentais (Irigoyen & Krieger, 1998; Zanchetti & Mancia, 1991).

A PA é mais elevada em homens do que em mulheres até a faixa etária de 60 anos (Burt et al., 1995). Após esta fase, a PA (particularmente a sistólica) aumenta nas mulheres e a hipertensão torna-se mais prevalente (Stamler et al., 1976) ou pelo menos igualmente prevalente em homens e mulheres. Os estudos da literatura vêm demonstrando que os hormônios ovarianos podem ser responsáveis pela PA mais baixa em mulheres pré-menopausa e também pelo aumento da PA em mulheres

menopausadas (Weiss, 1972; Staessen et al., 1997), resultados semelhantes foram também observados em animais (Recckelhoff et al, 2000).

A sensibilidade barorreflexa é uma excelente medida da função autonômica. Além disso, o prejuízo no controle reflexo da circulação comandado pelos barorreceptores tem sido reconhecido também como um importante preditor de risco relativo de mortalidade após o infarto do miocárdio (IM) (La Rovere et al., 1998). Neste aspecto, estudos em mulheres pré-menopausa apresentam resultados conflitantes em relação à influência do ciclo menstrual e da ação dos hormônios ovarianos na sensibilidade barorreflexa, demonstrando inalteração da sensibilidade barorreflexa nas diferentes fases do ciclo menstrual de mulheres (Cooke et al., 2002), aumento da sensibilidade deste reflexo em mulheres na fase luteína quando comparada à fase folicular (Minson et al., 2000) e maior resposta do barorreflexo (BRS) em mulheres na fase folicular quando comparada à fase luteína (Tanaka et al., 2003). Já em mulheres pós-menopausa foi evidenciado a redução da sensibilidade barorreflexa, associada à elevação da PA e ao aumento da incidência de DCV (Hunt et al., 2001).

Além disso, estudos vêm demonstrando que as mulheres menopausadas com mais de 55 anos apresentam risco aumentado para DCV, parte do qual tem sido atribuído a disfunções do endotélio vascular. Outros fatores de risco associados à disfunção endotelial são o tabagismo, a hipertensão arterial, a dislipidemia, a história familiar de doença coronária prematura, idade avançada e o diabetes mellitus (NCEP, 2001).

É importante destacar, que tem sido atribuído aos hormônios estrogênio a maior proteção cardiovascular que as mulheres apresentam até a menopausa em relação aos homens (Stampfer et al., 1991), em parte porque o início da equivalência nas taxas de

eventos cardiovasculares entre os sexos coincide com o advento da menopausa e conseqüentemente da privação estrogênica (Brenner, 1988; Mosca et al., 2007).

1.2. Infarto do miocárdio

O IM foi considerado uma das doenças mais preocupantes do século XX (Nahas, 2001; Bouchard, 2003). Apesar da evolução no tratamento do IM, ainda existem dúvidas com relação às diferentes abordagens terapêuticas. Estudos com humanos e animais de experimentação vêm buscando alternativas para o tratamento desta patologia que consigam abordar da forma mais abrangente possível às múltiplas disfunções desencadeadas após o IM, tentando evitar, desta forma, que cronicamente muitos pacientes evoluam para um quadro de insuficiência cardíaca (IC) (Bassand, 1995).

Uma redução importante de fluxo sanguíneo arterial para o miocárdio pode acarretar em uma oferta metabólica insuficiente para a demanda energética miocárdica, levando ao IM. Conseqüentemente após o IM, a função do ventrículo esquerdo (VE) é parcialmente deprimida, o débito cardíaco, o volume sistólico, a PA e a contratilidade do (VE) diminuem, e a pressão diastólica final (PDF) do VE aumenta (Pfeffer et al., 1979, De Felice et al., 1989).

Webb et al (1972) observaram desequilíbrio autonômico em pacientes com IM e puderam observar que a bradicardia e a hipotensão ocorriam com maior freqüência em pacientes com IM da parede ínfero-posterior do VE, nos quais a ação parassimpática era provavelmente mais atuante. Já nos pacientes com IM da parede anterior do VE, hipotensão e taquicardia eram mais ocorrentes, sugerindo que a ação do sistema nervoso

simpático era predominante nessa área. A participação dos aferentes cardiopulmonares parece ser um importante fator no curso temporal das diferentes alterações hemodinâmicas observadas em pacientes com distintas regiões miocárdicas afetadas pelo IM. De fato, alterações dos reflexos cardiopulmonares foram observadas na fase aguda do IM em animais (Grassi et al., 1992). Lacerda et al (2007) observaram que a diminuição da atividade simpática nervosa renal tônica e o prejuízo do BRS eram causados, em parte, pelo aumento da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar. Recentemente, nosso grupo demonstrou que a sensibilidade cardiopulmonar estava reduzida em ratas oito semanas após o IM (Flores et al., 2010).

Além disso, as alterações do sistema cardiovascular na fase aguda ou crônica do IM em humanos parecem também depender do controle reflexo da FC exercido pelos barorreceptores, que se encontra atenuado na fase aguda, retornando ao normal algumas semanas depois (Osculati et al., 1990); (Takeshita et al., 1980). Inúmeros trabalhos têm relatado alterações de controle da FC (Grassi et al., 1992) e da atividade simpática comandados pelos barorreceptores após o IM em humanos e animais (Mill et al., 1991).

A hiperatividade simpática é um achado comum em pacientes com IC (Roveda et al., 2003; Floras, 1993) e também em animais de experimentação pós IM (Módolo et al., 1995; Gill et al., 2006), e normalmente está associada a uma diminuída sensibilidade barorreflexa, sendo considerada um fator de mal prognóstico, de forma que quanto maior a atividade simpática pior o prognóstico e maior risco de morte na IC (Cohn et al., 1984; De Busk, 1989). Recentemente nosso grupo demonstrou que o efeito simpático cardíaco de ratas ooforectomizadas infartadas sedentárias estava 50% maior que em ratas ooforectomizadas não infartadas, sendo que esse prejuízo foi acompanhado de prejuízo na sensibilidade barorreflexa (Flores et al., 2010).

Com a publicação do estudo ATRAMI (La Rovere et al., 1998) a sensibilidade barorreflexa em pacientes infartados passou a ser reconhecida como uma importante medida de função autonômica e preditor de mortalidade. Este estudo demonstrou que a sensibilidade do barorreflexo pode prever a mortalidade de pacientes pós IM, independentemente da fração de ejeção do VE. Nesse estudo, pacientes infartados com o BRS preservado apresentaram menor risco de morte principalmente advindo de arritmias e fibrilações.

Entretanto, a grande maioria de estudos que avaliaram o prejuízo cardiovascular induzidos pelo IM foi realizada em indivíduos do sexo masculino, ficando a dúvida se as disfunções observadas ocorrem de forma semelhante no sexo feminino. Iwasaka et al (1994) demonstraram que as alterações da fração de ejeção e de índices de pressão sistólica do VE (PSVE) durante o exercício em mulheres pós-menopausa quando comparadas a homens de mesma idade, indicam um importante papel das diferenças sexuais no processo de remodelamento cardíaco pós IM. De fato, fatores de risco como tabagismo, hipertensão, diabetes mellitus, sobrepeso e hiperlipemia podem ter impactos diferentes em homens e mulheres. Essas diferenças de respostas ligadas ao sexo têm levado inúmeros pesquisadores a buscar novas informações não só em humanos, mas também nos modelos experimentais.

Devido a sua relevância clínica e uma relativa facilidade metodológica, a IC induzida pelo IM é um dos modelos mais utilizados nos trabalhos com animais de pequeno porte (Elser et al., 1995). Achados constantes nesse modelo de IM são a diminuição máxima pressão do VE e da velocidade de contração ($+dP/dt$), hipotensão e aumento da PDF (Fletcher et al., 1981). Em nosso grupo, De Angelis et al (2002) observaram que animais infartados (56 dias) apresentavam hipotensão em relação aos controles conforme previamente demonstrado na literatura por De Felice et al (1989).

Além disto, a contratilidade ventricular mostrou-se reduzida e a PDF elevada (~15 mmHg) nos animais infartados em relação aos controles.

Aparentemente o coração de ratos machos tem mais vulnerabilidade à injúria miocárdica em relação ao coração de ratas fêmeas (Wexler et al., 1979). No entanto, Song et al (2003), observaram que após a OVX, e durante um protocolo de isquemia-reperusão, o coração de fêmeas apresentou função deprimida e aumento da área de IM quando comparado ao coração de machos. Dessa forma, a privação estrogênica tem sido relacionada à redução na proteção cardíaca ao evento isquêmico.

Vale destacar que atualmente o estresse oxidativo tem sido proposto como um mecanismo sinalizador para a progressão de DCV, uma vez que a redução da reserva antioxidante pós IM que acompanha a disfunção ventricular (Hill & Singal, 1996), foi associada à hipertrofia cardíaca (Hill & Singal, 1997) e à re-estenoses após angioplastia (Azevedo et al., 2000).

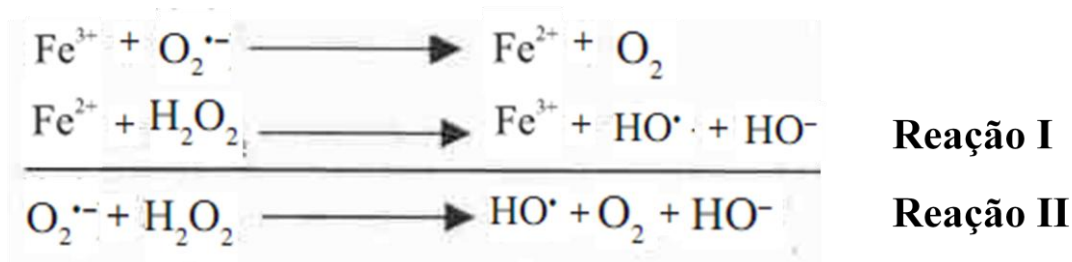
1.3. Infarto do miocárdio e estresse oxidativo

O estresse oxidativo é o termo designado para se referir à situação orgânica, na qual, existe um desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes, podendo ocorrer pelos aumentos de fatores pró-oxidantes, pela diminuição das defesas antioxidantes ou pela combinação de ambos, geralmente associado a doenças crônicas degenerativas. Os fatores pró-oxidantes são conhecidos como radicais livres, e por definição, são qualquer espécime química (átomo ou molécula) capaz de existir independentemente e que

contenha número ímpar (um ou mais) de elétrons na última camada eletrônica, de forma que este não emparelhamento de elétrons confere alta reatividade e vida curta à essas espécies químicas (Halliwell & Gutteridge, 1990; Halliwell, 1992).

Nos sistemas biológicos, não é correto chamar os fatores pró-oxidantes de radicais livres, pois alguns desses pró-oxidantes não contêm número ímpar (um ou mais) de elétrons na última camada eletrônica, como é o caso do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e como são gerados a partir do metabolismo do oxigênio, são conhecidos como Espécimes Reativos do Oxigênio (ERO), ao qual ao oxidar um composto se reduz ao aceitar elétrons. Geralmente 1 a 5% do O_2 total consumido no metabolismo leva à formação de ERO. Tais moléculas apresentam alta reatividade para outras biomoléculas, principalmente lipídios e proteínas das membranas celulares e, até mesmo, o DNA. Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, o O_2 sofre redução monovalente, ocorrendo de um elétron por vez, de tal forma que o oxigênio em estado fundamental ao aceitar 1 elétron se transforma em anion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), a adição de 2 elétrons leva à formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 - em sistemas biológicos) (o qual por definição não é um radical livre apesar ser pró-oxidante) e a redução completa, ao adicionar 4 elétrons, leva à formação de água (geralmente na mitocôndria). O H_2O_2 , por sua vez, apresenta fraca ligação entre os oxigênios (O-O), podendo decompor-se ao receber mais um elétron do ferro, na reação de Fenton (reação I) e/ou Haber-Weiss reação II), formando o radical hidroxila (OH^{\bullet}) (Green & Hill, 1984), o qual é considerado a ERO mais reativa em sistemas biológicos. Este hidroperóxido é capaz de iniciar a lipoperoxidação (LPO) ao reagir com qualquer espécime de lipídio suficientemente reativa, extraíndo um átomo de hidrogênio do grupamento metileno ($-CH_2-$) dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares e de organelas, inativar proteínas ao oxidar seus grupamentos sulfidrilas ($-SH$) a pontes dissulfeto ($-SS$)

ou ainda lesar o DNA das células ao modificar as bases purínicas e pirimídicas (Halliwell & Gutteridge, 1986).



Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das ERO (espécies reativas de oxigênio), porém, aparentemente é a membrana plasmática um dos mais atingidos em decorrência da (LPO), acarretando modificações nas estruturas e na permeabilidade das membranas plasmáticas, como nos sistemas de transporte, na manutenção dos íons e metabólitos, na transdução de sinal celular, entre outras (Hershko, 1989; Yoshikawa et al., 1989). Entretanto, todas as células possuem um sistema de defesa antioxidante para reduzir ou eliminar seus efeitos agressores (Halliwell, 1999). Esse sistema está dividido em enzimático, que inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx) e os sistemas não enzimáticos, formados por compostos sintetizados pelo organismo humano como, os hormônios sexuais, ácido úrico, melatonina, vitamina E e a glutathiona reduzida (GSH) ou ingeridos através da dieta normal ou via suplementação (vitamina C, vitamina E, beta caroteno e grupos fenóis de plantas) (Schneider et al., 2004). Ambas as estratégias, têm a finalidade de manter num estado intermediário e estacionário as concentrações de ERO.

Como já citado anteriormente, o organismo humano em situação de homeostase fisiológica possui um equilíbrio na razão de produção e eliminação de EROs, porém, as doenças crônicas degenerativas estão associadas ao aumento do estresse oxidativo. De

fato, os maiores fatores de riscos para a aterosclerose como a hiperlipidemia, diabetes, hipertensão e o cigarro estão relacionados com um prejuízo na biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) (Harrison, 1997; Creager, 1990). Neste aspecto, Gryglewski et al (1986) determinaram que o NO possa ser destruído pelo $O_2^{\bullet-}$ e protegido por *scavengers* de espécies reativas de oxigênio (ERO) como a SOD. Dessa forma, a redução na disponibilidade de NO pode resultar não só da diminuição da atividade das vias de produção de NO como também do aumento da inativação oxidativa do NO pelo $O_2^{\bullet-}$. Dessa forma, a disfunção da vasodilatação dependente do endotélio, associadas ao aumento do estresse oxidativo, particularmente com a maior produção do $O_2^{\bullet-}$, tem sido observada em pacientes com hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes, IC, além de indivíduos velhos (Berry et al., 2001, Cai & Harrison, 2000).

Entre os antioxidantes não enzimáticos, a glutathiona (γ -glutamyl-cisteinilglycine), que é um tripeptídeo linear (hidrossolúvel) presente em alta concentração na maioria das células eucariontes (5 a 10 mM na maioria das células de mamíferos) (Reed, 1990), é reconhecido como o tiol não protéico mais importante nos sistemas vivos, protegendo não enzimaticamente as células contra ERO como o $O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} gerados durante o metabolismo aeróbio e atuando como co-substrato (doador de elétrons) para a enzima GPx para a redução de peróxidos (Chance et al., 1979). A maior parte de sua fração é citosólica e ao redor de 10% do seu conteúdo celular encontra-se dentro das mitocôndrias. A glutathiona participa de um ciclo de oxi-redução, sendo encontrada na forma reduzida (GSH) e oxidada (GSSG). De fato, a capacidade antioxidante da GSH é devida ao grupo sulfidril (-SH) do aminoácido cisteína, o qual doa seu H^+ para neutralizar e/ou reduzir os radicais livres (reemparalhando o último elétron na camada de valência), sendo que o produto dessa oxidação é o dissulfeto (SS) GSSG. A doação de H^+ pela GSH para reduzir radicais livres formando GSSG promove o controle

intracelular do estado redox tiol (-SH)/dissulfeto (SS), prevenindo a oxidação de grupos -SH de proteínas que são essenciais para a estabilidade e função de processos metabólicos (Venditti & Di Meo, 2006).

Especificamente no coração, a glutathiona encontra-se predominantemente (>95%) na forma GSH (Reed, 1990). Alguns estudos sugerem que a depleção de 20 a 30% da concentração normal de GSH deixa a célula suscetível à ação de radicais livres (Reed, 1990). Dessa forma, a razão redox, razão entre a medida da concentração de GSH e GSSG (GSH/GSSG), tem sido usada como um índice de estado redox do organismo ou tecido avaliado, de forma que a redução desse índice indica redução do estado redox e estabelecimento de estresse oxidativo e vice versa (Kaul et al., 1993; Singh et al., 1995).

Khaper & Singal (2001) demonstraram que ratos machos com 16 semanas pós IM apresentaram redução de 38% na atividade da enzima GPx, redução de 40% na razão GSH/GSSG e aumento na LPO, sendo que tais alterações foram associadas à diminuição da PSVE e aumento da PDF do VE. Neste mesmo estudo, o tratamento de 12 semanas com o antagonista do receptor AT1 da Angiotensina II (ANG II), losartan, normalizou a atividade da GPx, a razão GSH/GSSG e a PSVE, apesar de não ter reduzido a PDF. Esses resultados sugerem que o SRAA tem um importante papel na modulação do estresse oxidativo. De fato, a ANG II estimula o aumento da produção de O_2^- em células endoteliais de aorta, através do aumento da expressão da enzima NADPH oxidase (Rajagopalan et al., 1996).

Além dos efeitos danosos das ERO, evidências experimentais têm sugerido que a elevação das ERO tem um papel importante na patogênese do reparo e remodelamento miocárdico após o IM. Essa é uma hipótese que vêm ganhando reconhecimento nos

últimos anos (Hill & Singal, 1996; Fukio et al., 2001; Quin et al., 2004). No coração, a enzima transmembrânica NADPH oxidase é a maior fonte de $O_2^{\bullet-}$ no miocárdio (Mohazzab et al., 1997) e, segundo Fukui et al (2001), após o IM, as subunidades GP22^{phox} e GP91^{phox} da NADPH oxidase estão com maior expressão, primariamente, nos neutrófilos e macrófagos infiltrados. Além disso, através da técnica de imunohistoquímica, este mesmo grupo demonstrou que as células inflamatórias do miocárdio infartado (infiltrado) têm intensa expressão de um marcador de estresse oxidativo, a 3-nitrotirosina, evidenciando que a produção de ERO no miocárdio infartado está aumentada. Não só o aumento da expressão da NADPH oxidase esta associado ao aumento da produção das ERO, mas também a diminuição da atividade de enzimas antioxidantes tem sido evidenciada como importante para que as ERO mantenham-se em alta concentração. De fato, Singal & Hill (1996) demonstraram que a atividade das enzimas SOD, CAT, GPx e vitamina E estavam progressivamente diminuídas após o IM.

Adicionalmente, algumas evidências têm mostrado o estresse oxidativo como um fator importante no remodelamento ventricular pós IM uma vez que o TGF- β (transforming growth factor – beta), uma citocina fibrinogênica que controla intensamente a diferenciação e proliferação dos miofibroblastos (que são responsáveis pela formação da cicatriz, ao sintetizar colágeno e promoverem contração da cicatriz pós IM), pode ter sua expressão aumentada pelo estresse oxidativo

1.4. Privação dos hormônios ovarianos e isquemia miocárdica: papel do estresse oxidativo

A grande maioria dos estudos que visaram evidenciar o papel do estresse oxidativo na disfunção ventricular pós IM foram realizados em amostras do sexo masculino, tanto em animais de experimentação quanto em humanos (Hill & Singal, 1996; Hill & Singal, 1997; Keith et al., 1998; Khapler & Singal, 2001). Dessa forma são necessários mais estudos com animais de experimentação do sexo feminino e mulheres para que seja mais bem entendido como o estresse oxidativo pode modular as alterações cardiovasculares na condição de menopausa ou ooforectomia em associação com o IM.

Barp et al (2002) demonstraram algumas diferenças de defesas antioxidantes e dano oxidativo relacionados à diferença de gênero. Esses autores mostraram que a PL foi 46% maior, a atividade da SOD foi 14% menor e a atividade da GPx foi 50% maior em ratos machos saudáveis que em relação à fêmeas saudáveis. Após 7 dias de OVX houve aumento de 20% da PL e diminuição de 29% da atividade da SOD do grupo de fêmeas castrado quando comparados ao grupo controle. Adicionalmente, não foi mais observado diferenças na PL e atividades enzimáticas entre os grupos castrados de fêmeas e machos, sugerindo que o gênero, ou os hormônios sexuais pode modular as diferenças entre dano oxidante e defesa antioxidante.

Hernández et al (2000) mostraram que ratas OVX tiveram aumento da PA, diminuição da condutância vascular total em associação com diminuída capacidade antioxidante total, diminuída razão nitritos/nitratos e aumento na LPO no plasma. Os autores desse trabalho sugerem que a deficiência estrogênica leva à diminuição da capacidade antioxidante, promovendo redução da biodisponibilidade do NO. Essa

última alteração, seria responsável pelo aumento da PA e diminuição da condutância vascular total, desenvolvendo um quadro de hipertensão.

De fato, todos os estrogênios têm uma capacidade antioxidante, devido a um grupo hidroxil fenólico na posição 3 e um grupo metil na posição 13. A presença desse grupo fenólico confere ao estrogênio a propriedade antioxidante ao aprisionar elétrons de radicais livres (Niki & Nakano, 1990). Ao se privar o organismo feminino dos hormônios sexuais, principalmente do estradiol, há a perda da ação antioxidante *per se* dos estrogênios, com conseqüente aumento da proliferação das células musculares lisas, diminuição da expressão NO sintase, inativação do NO pela ação das ERO conseqüentemente levando ao aumento dos riscos cardiovasculares (Hayashi et al., 1995; Hishikawa et al., 1995; Rosselli et al., 1995; Huang et al., 1997).

Em relação à perda do estado redox e dano oxidativo na isquemia miocárdica em fêmeas, Ramires e Ji (2001) mostraram que 40 minutos de isquemia seguido de reperfusão em fêmeas Spragues-Dawley saudáveis não alterou a atividade das enzimas SOD, CAT, GPX, GR e GGT, porém levou a uma redução de 30% na razão GSH/GSSG. Além disso, essas ratas apresentaram redução da PSVE e da $+dP/dt$ no final da reperfusão em comparação ao período pré-isquemia.

Em um estudo clínico, Vittinghoff et al (2003) demonstraram a importância de 11 fatores de risco para IM em mulheres pós-menopausa, entre eles, o diabetes, os níveis de PA e os níveis de HDL e LDL plasmáticos e a redução dos níveis de atividade física.

1.5. Treinamento Físico

Os benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos após o exercício físico agudo e crônico têm levado muitos investigadores a sugerir o treinamento físico como uma conduta não-farmacológica importante no tratamento de diferentes patologias como o diabetes mellitus, a hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca (Tipton et al., 1991; Wallberg et al., 1988; Negrão e Barreto, 1998; La Rovere et al., 2002)

O treinamento físico (TF) pode provocar alterações neurovegetativas e cardiovasculares importantes. Bradicardia de repouso foi verificada em ratos normotensos jovens (Negrão et al., 1992a), ou velhos (De Angelis et al., 1997) e em humanos (Frick, 1967; Katona et al., 1982). As razões da redução da FC ainda permanecem não esclarecidas totalmente. Estudos em jovens demonstram diminuição do tônus vagal, diminuição da atividade simpática e alteração nas células marca-passo (Negrão et al., 1992a), mas em ratos velhos estas alterações não foram evidenciadas, sendo sugeridos mecanismos como a diminuição do estresse oxidativo (De Angelis et al., 1997) e a hipertrofia cardíaca (Sigvardsson et al., 1977) como possíveis mecanismos responsáveis pela bradicardia.

Além disto, estudos realizados em humanos (Barney et al., 1988; Mc`Donald et al., 1993) e animais (Bedford & Tipton, 1987; Negrão et al., 1992b; De Angelis et al., 2004) tem detectado importantes modificações no arco reflexo barorreceptor após um período de TF, em normotensos. La Rovere et al (2002) demonstraram que o TF após o IM pode modificar favoravelmente a sobrevida em longo prazo de pacientes do sexo masculino e que este benefício está provavelmente relacionado à melhora da sensibilidade barorreflexa e conseqüentemente, do balanço autonômico após TF nestes indivíduos infartados. Pliquet et al (2003) mostraram que o TF de 3 semanas em esteira

reduziu a atividade nervosa simpática, avaliada através da medida da atividade simpática renal e das catecolaminas plasmáticas em coelhos com IC. Mais recentemente, Rondon et al (2006) mostraram que o TF, de intensidade leve, em animais com IC pós IM, aumentou o VO₂ pico, a atividade do nervo depressor aórtico (elevação da frequência de disparo aferente) juntamente com aumento da banda de alta frequência do intervalo de pulso (eferente vagal), melhora da sensibilidade barorreflexa da frequência cardíaca e da atividade nervosa renal e redução da atividade simpática renal.

Particularmente, a diminuição do estresse oxidativo e aumento das defesas antioxidante vêm ganhando espaço, através de evidências experimentais em sua maioria, como um mecanismo relacionado à melhora cardiovascular em vários modelos experimentais, após o TF.

Um trabalho de nosso laboratório demonstrou que 10 semanas de TF moderado em ratos SHR machos, reduziu a LPO e a norepinefrina cardíaca, sendo que estes estavam positivamente correlacionados ($r=0,89$) e a LPO estava inversamente correlacionado com a razão nitratos/nitritos ($r=-0,79$). Além disso, no grupo de ratos SHR treinados, a norepinefrina cardíaca estava inversamente correlacionada com a razão nitratos/nitritos, mostrando que o TF aeróbio pode diminuir o estresse oxidativo e aumentar a biodisponibilidade do NO (Bertagnolli et al., 2008).

O exercício não promove somente aumento do consumo de oxigênio. Há também aumento da geração de EROs (Ji, 1999). Já é bem conhecido que a geração de O₂⁻ está aumentada de maneira não enzimática durante a síntese de ATP, através da transferência de 1 elétron da coenzima Q para um molécula de oxigênio (Finkel et al., 2000). Além disso, é importante ressaltar que foi demonstrado que o *shear stress*

aumenta a geração de EROs, no vaso, através de um mecanismo endotélio-dependente (Laurindo et al., 1994), o qual está aumentado durante o exercício físico (Tinken et al., 2010). Esse aumento de geração de EROs pelo exercício estimula vias intracelulares e fatores transcricionais redox sensíveis responsáveis em induzir aumento de defesas antioxidantes e melhora do estado redox para diminuir o dano oxidativo causado pelas EROs.

Um desses fatores é o NF-Kb (fator nuclear kappa), o qual parece ser ativado por determinadas concentrações de GSSG. Baixas concentrações de GSSG não ativam o NF-Kb em células T, contudo altas concentrações de GSSG parecem inibir o sítio de ligação do NF-Kb no DNA. Assim, parece que é necessário uma concentração intermediária de GSSG para efetivamente ativar o NF-Kb aumentando a expressão de enzimas antioxidantes (Droge et al., 1994; Sen & Packer, 1996; Sen, 1998). Já foi demonstrado que a GSSG plasmática aumenta em 50% após 1 sessão de 40 minutos de exercício aeróbio com intensidade de 60% consumo máximo de oxigênio (Laaksonen et al., 1999) Em outras palavras, é necessário a produção de uma concentração intermediária e cíclica de EROs ou de substratos metabólicos oxidados para que vias intracelulares sensíveis ao estado redox sejam ativadas para que ocorra aumento das defesas antioxidantes.

Outra importante adaptação relacionada ao estresse oxidativo e o estado redox após o TF aeróbio é o aumento da expressão da enzima NO sintase endotelial (eNOS). Foi evidenciado que o H₂O₂ pode induzir o aumento a atividade da eNOS ao fosforilar a proteína Ca²⁺/calmodulina dependente de proteína quinase II/janus quinase (Drummond et al., 2000)

O aumento da expressão da eNOS é suportado pelo concomitante aumento da expressão de algumas isoformas da SOD durante o exercício, facilitando a geração de H₂O₂ (Fukai et al., 2000; Rush et al., 2003).

1.6. Treinamento físico na privação dos hormônios ovarianos: Associação com a isquemia miocárdica e o papel do estresse oxidativo.

Apesar dos benefícios do treinamento físico ter sido elucidado em vários trabalhos, a grande maioria dos estudos foi realizada em amostras do sexo masculino, principalmente em relação a trabalhos de experimentação animal. Em um estudo Wegge et al (2004) demonstraram que os exercícios aeróbios diários associados a uma dieta rica em fibras e com baixo conteúdo de lipídios melhoraram os perfis metabólicos e lipídicos, reduziram a inflamação e as moléculas de adesão em 20 mulheres menopausadas. Latour et al (2001) evidenciaram que o TF por 8 semanas em ratas OVX melhorou a resposta da insulina estimulada pelo teste de tolerância à glicose, sem alterar os níveis reduzidos de estradiol observados pós ooforectomia. Se o treinamento físico, não altera os níveis plasmáticos de estradiol os benefícios do condicionamento físico podem ser mediados por outros fatores induzidos por esta condição, tais como, melhora no perfil lipídico (Wegge et al., 2004), redução da resistência à insulina (De Angelis et al., 1999), redução do estresse oxidativo (De Angelis et al., 1997) e melhora do balanço

autônomo cardiovascular (De Angelis et al., 2000; 2004; Silva et al., 1997; Barney et al., 1998; Mc`Donald et al., 1993; Negrão et al., 1992b).

Assim como já foi mostrado em modelos de IM em ratos machos, talvez o aumento das defesas antioxidantes e diminuição do estresse oxidativo também possa ser um mecanismo relacionado com a melhora da função cardíaca em ratas OVX após isquemia.

Com relação a trabalhos que demonstraram os efeitos do TF sobre as adaptações de defesa antioxidante frente a insultos de isquemia, podemos destacar o elegante trabalho de Ramires & Ji (2001). Este estudo contribuiu para o entendimento das adaptações de enzimas antioxidantes cardíacas e estado redox cardíaco após TF aeróbio de moderada intensidade frente ao insulto de isquemia/reperfusão (I/R) em ratas intactas. Ratas treinadas por 10 semanas apresentaram atividade aumentada das enzimas cardíacas SOD, GPx, GR e GGT em relação às sedentárias tanto na situação basal quanto após o insulto de isquemia/reperfusão. Após a situação de isquemia/reperfusão somente a enzima GGT apresentou elevação de sua atividade quando se comparou o grupo treinado na situação sham com a situação I/R, provavelmente, buscando aumentar o transporte de GSH do sangue para o coração. Contudo a redução da razão GSH/GSSG e o conteúdo de malondialdeído (MDA) cardíaco após a I/R não foi diferente entre os grupos treinado e sedentário. Somente o treinamento físico associado com a suplementação de GSH que foi eficaz em reduzir o conteúdo de MDA, havendo menor queda da razão GSH/GSSG e significativa recuperação da PSVE após a I/R.

Um trabalho prévio de nosso laboratório, com treinamento físico em ratas OVX, mostrou que a melhora da sensibilidade barorreflexa esta inversamente correlacionada com a LPO, de forma que quanto menor a LPO melhor foi a BRS nas ratas OVX. Além

disso, a atividade da SOD estava aumentada no miocárdio, enquanto as enzimas CAT e GPx do grupo OVX sedentário e treinado foram semelhantes (Irigoyen et al., 2005). Brito (2008) demonstrou que após 8 semanas de TF aeróbio moderado em ratas OVX submetidas ao consumo crônico de frutose não apresentavam alteração na atividade cardíaca da GPx e da SOD, mas a CAT apresentou aumento de concentração com concomitante diminuição da LPO. Portanto, é provável que as adaptações de defesas antioxidantes de ratas OVX em resposta ao treinamento físico possam ser diferentes frente aos fatores de risco que estiverem associados.

2. Justificativa

Estudos têm evidenciado que mulheres após a menopausa apresentam aumento do risco cardiovascular, havendo maior incidência de infarto de miocárdio (IM) nessa população. Diferentes terapias tem sido testadas em mulheres na pós menopausa com o objetivo de minimizar efeitos deletérios da privação dos hormônios ovarianos sobre o controle cardiovascular. Dentre tais terapias, o TF vem sendo indicado como uma importante abordagem não-farmacológica para o tratamento e/ou prevenção de DCV. Evidências clínicas e experimentais demonstraram que após o TF de baixa-moderada intensidade há melhora do balanço autonômico cardiovascular e redução do estresse oxidativo. Contudo, a maioria dos estudos envolvendo TF após IM foi realizado em homens ou animais machos, deixando dúvidas a respeito dos efeitos e benefícios que o TF poderia induzir em mulheres menopausadas e infartadas. O estudo da associação da privação estrogênica com o IM pode contribuir para elucidar os mecanismos pelos quais as disfunções autonômicas, associadas ou não ao estresse oxidativo, levam provavelmente um pior prognóstico em mulheres menopausadas pós IM. Além disto, o conhecimento desta complexa interação, bem como os benefícios do TF, pode

contribuir na busca mais precisa de intervenções terapêuticas no manejo de mulheres menopausadas pós-infarto do miocárdio.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Verificar os efeitos do treinamento físico aeróbio em parâmetros hemodinâmicos na modulação autonômica cardiovascular e no estresse oxidativo em ratas ooforectomizadas e infartadas.

3.2. Objetivos específicos

Verificar os efeitos do treinamento físico aeróbio em ratas ooforectomizadas e infartadas nos seguintes parâmetros:

- Ganho de peso corporal e hipertrofia cardíaca;
- capacidade física;
- tamanho do infarto do miocárdio;
- pressão arterial e frequência cardíaca
- modulação autonômica cardiovascular no domínio do tempo e da frequência;
- sensibilidade barorreflexa espontânea
- estresse oxidativo e atividade das enzimas antioxidantes no tecido cardíaco.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais e grupos

O projeto da presente dissertação foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (protocolo: 2008035). Foram utilizados ratos Wistar fêmeas, pesando entre 200 e 230g com aproximadamente 60 dias de vida, provenientes do biotério central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos agrupados, em ambiente com temperatura controlada (22° - 24° C) e com luz controlada em ciclo de 12 horas (claro:escuro). Água e comida foram oferecidas de modo irrestrito, sendo que a dieta foi normoprotéica (12% de proteínas). Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais a seguir relacionados.

GRUPO I - Grupo Ooforectomizadas sedentárias (OS): Foram ooforectomizadas no dia 1 e acompanhados durante 9 semanas (n=08).

GRUPO II - Grupo Ooforectomizadas treinadas (OT): Foram ooforectomizadas no dia 1, acompanhadas durante 1 semana e treinadas durante 8 semanas (n=08).

GRUPO III - Grupo Ooforectomizadas infartadas sedentárias (OIS): Foram ooforectomizadas no dia 1, infartadas ente o no dia 5 e acompanhadas durante 9 semanas (n=08).

GRUPO IV - Grupo Ooforectomizadas infartadas treinadas (OIT): Foram ooforectomizadas no dia 1, infartadas no dia 5, acompanhadas até o final da 1ª semana e depois treinadas durante 8 semanas (n=08).

O número de animais avaliados em cada grupo foi obtido a partir do cálculo estatístico do tamanho da amostra.

4.2. Seqüência experimental

Os grupos experimentais seguirão a seqüência experimental descrita no quadro abaixo.

Quadro 01- Seqüência experimental do projeto.

	Dia 1	Dia 5	Dia 7	Dia 63	Após dia 63
Ooforectomia	X				
Infarto Agudo do Miocárdio		X			
Teste de Esforço Máximo			X	X	
Avaliações Ecocardiográficas			X	X	
Início do Programa de Treinamento			X		
Término do Programa de Treinamento					X
Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas					X
Avaliações Bioquímicas					X
Análise da Área de Infarto					X

4.3. Procedimentos experimentais

4.3.1. Ooforectomia bilateral

As ratas foram anestesiadas (i.p.) com cloridrato de Ketamina (80mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocados em decúbito dorsal para se realizar uma pequena incisão (1 cm) em paralelo com a linha

do corpo na pele e na musculatura no terço inferior na região abdominal. Os ovários foram localizados e foi realizada a ligadura dos ovidutos, incluindo os vasos sanguíneos. Os ovidutos foram seccionados e os ovários removidos, a musculatura e a pele foram suturadas como pode ser visto na figura 1. Uma dose de antibiótico foi administrada (Benzetacil, 40 000 U/Kg, i.m) (Latour et al., 2001).



Figura 1: Etapas da realização da ooforectomia bilateral em fêmeas.

4.3.2. Infarto do Miocárdio

Os animais foram pesados e anestesiados (i.p.) com cloridrato de Ketamina (80mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer). Foram colocados em decúbito dorsal e entubados (Gelko-14G). Um pequeno corte foi realizado na pele e os músculos peitorais foram afastados. Os animais foram submetidos à respiração artificial (Harvard Aparattusc, Boston, EUA) e foi realizada uma toracotomia esquerda no quarto espaço intercostal, sendo colocado um afastador entre as costelas para permitir a melhor visualização. O pericárdio foi seccionado e o átrio

esquerdo afastado para visualização da artéria coronária esquerda. Esta foi ligada (fio mononylon 6.0) provocando a isquemia miocárdica, como demonstrada na figura 2.

Após a ligadura da coronária a incisão torácica foi fechada (fio mononylon 5.0) e o pneumotorax foi retirado mediante a sucção do ar com uma agulha (5x7) conectada a uma seringa de 10 ml. Logo após, o animal foi retirado da ventilação artificial e estimulada a respiração. Os músculos afastados foram reposicionados pela pele suturada (fio mononylon 4.0). Os animais receberam 30000 UI de benzilpenicilina benzatina (Penretard, Cibran, Tanquá, RJ, Brasil, i.m.) e foram colocados em ambiente aquecido para recuperação (Pfeffer et al., 1979).

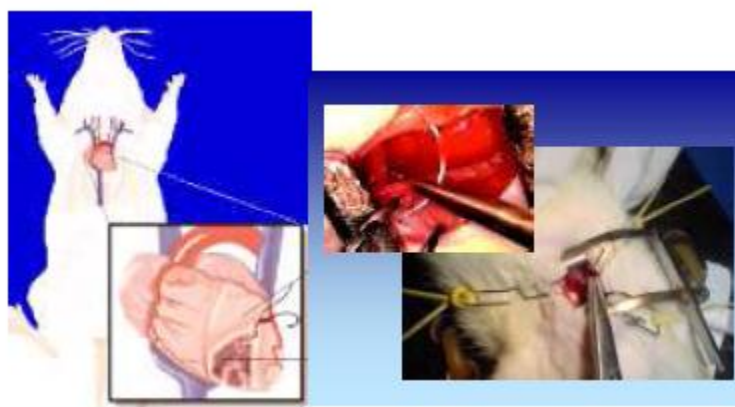


Figura 2. Ilustração e foto do infarto do miocárdio experimental em ratos.

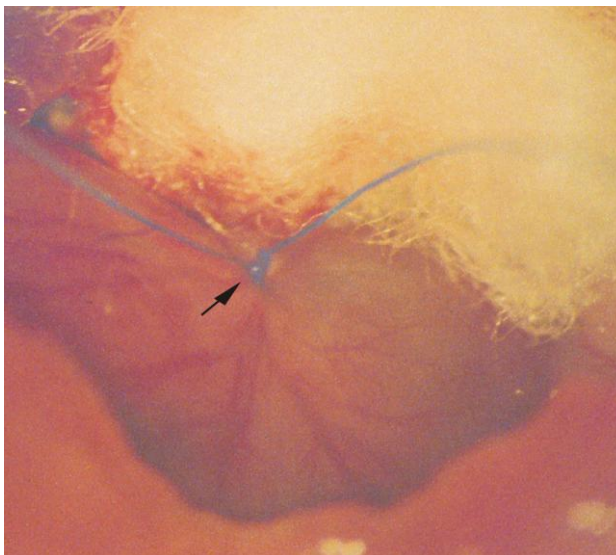


Figura 3- Fotografia mostrando a oclusão da artéria coronária esquerda no miocárdio do rato

4.3.3. Teste de Esforço Máximo

Todos os grupos estudados foram submetidos a um protocolo de teste de esforço máximo em esteira ergométrica no início, no meio e no final do programa de treinamento físico. Este teste serviu de base para prescrição do treinamento físico para os grupos treinados bem como pode evidenciar melhora na capacidade aeróbia após o período de treinamento físico. O teste consistiu em colocar o animal correndo na esteira a 0,3 km/h por 3 minutos, sendo esta carga incrementada em 0,3 km/h a cada 3 minutos até que o animal atingisse a exaustão. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o rato não era mais capaz de correr dentro da caixa metabólica mediante o incremento de velocidade da esteira.

O tempo de teste e a velocidade da última carga foram anotados e serviram para fazer a média de capacidade aeróbia de cada grupo.

4.3.4. Treinamento físico

Uma semana após a ooforectomia, os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira ergométrica (Figura 4) com velocidade e carga progressiva durante 8 semanas (50-65% da velocidade máxima de corrida) 1 vez por dia, 5 dias por semana, conforme ilustrado resumidamente no quadro abaixo (Irigoyen et al., 2005; Sousa et al, 2007).



Figura 4: Foto mostrando ratos submetidos a protocolo de treinamento físico em esteira ergométrica.

4.3.5. Avaliações Ecocardiográficas

As medidas ecocardiográficas foram realizadas no Laboratório de Hipertensão Experimental do InCor – HCFMUSP e seguiram as recomendações do Comitê de

Padronização do Modo M da Sociedade Americana de Ecocardiografia (Sahn et al., 1978). Os exames foram realizados por um único observador e em cada exame foi coletado um total de cinco medidas para cada variável, sendo calculados posteriormente, a média, o desvio padrão da média e o erro padrão da média dessas medidas. O exame ecocardiográfico foi realizado com os animais anestesiados (i.p.) com cloridrato de Ketamina (80mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer). Foi utilizado o equipamento SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA), com transdutor de 15 MHz. As imagens foram feitas a uma frequência de 13,0 MHz, para otimização da resolução e a penetração do animal. Para registro das imagens foi utilizado gel de transmissão para ultrason de viscosidade média/alta (General Imaging Gel, ATL. Reedsville, USA). As imagens foram armazenadas em fitas de videocassete (Sony SVO-9500 MD), em discos ópticos (Sony 128Mb) e em papel fotográfico geradas através de impressão colorida (Sony, Color Video Printer Mavigraph UP-5600 MDU).

A região de infarto foi delimitada de acordo com a cinética das paredes do miocárdio, avaliadas pelas seguintes janelas ecocardiográficas: longitudinal paraesternal direita, transversal (ao nível dos músculos papilares) e apical (2 e 4 câmaras). Regiões hipocinéticas (espessamento sistólico abaixo do normal), acinéticas (ausência de espessamento durante a sístole) e discinéticas (movimentação paradoxal durante a sístole) foram consideradas como infartadas. Desta forma, a área de infarto foi delimitada através da razão destas regiões com a área total das paredes miocárdicas do VE. Moises et al (2000) e Nozawa et al (2006), utilizando-se desta metodologia, demonstraram altíssima sensibilidade e especificidade para a delimitação da área de infarto do miocárdio em ratos, com 100% de confiabilidade quando comparada a

estudos anatomopatológicos. Todas as medidas seguiram as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia.

4.3.6. Canulação

Após o período de treinamento ou de acompanhamento dos animais, estes foram anestesiados (i.p.) com uma solução de cloridrato de ketamina (50mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis[®]) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer[®]). Logo após realizou-se a incisão na região inguinal e inserção dos cateteres de tygon P10 no interior da veia e artéria femoral para injeção de drogas e registro de PA, respectivamente (Figura 5). As cânulas foram fixadas com fio de algodão na artéria e na veia e suas extremidades mais calibrosas foram passadas subcutâneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical, sendo fixadas com fio de algodão na pele. Cada rato foi mantido em uma caixa (Plexiglas, 25x15x10cm) durante a realização das avaliações hemodinâmicas sistêmicas.

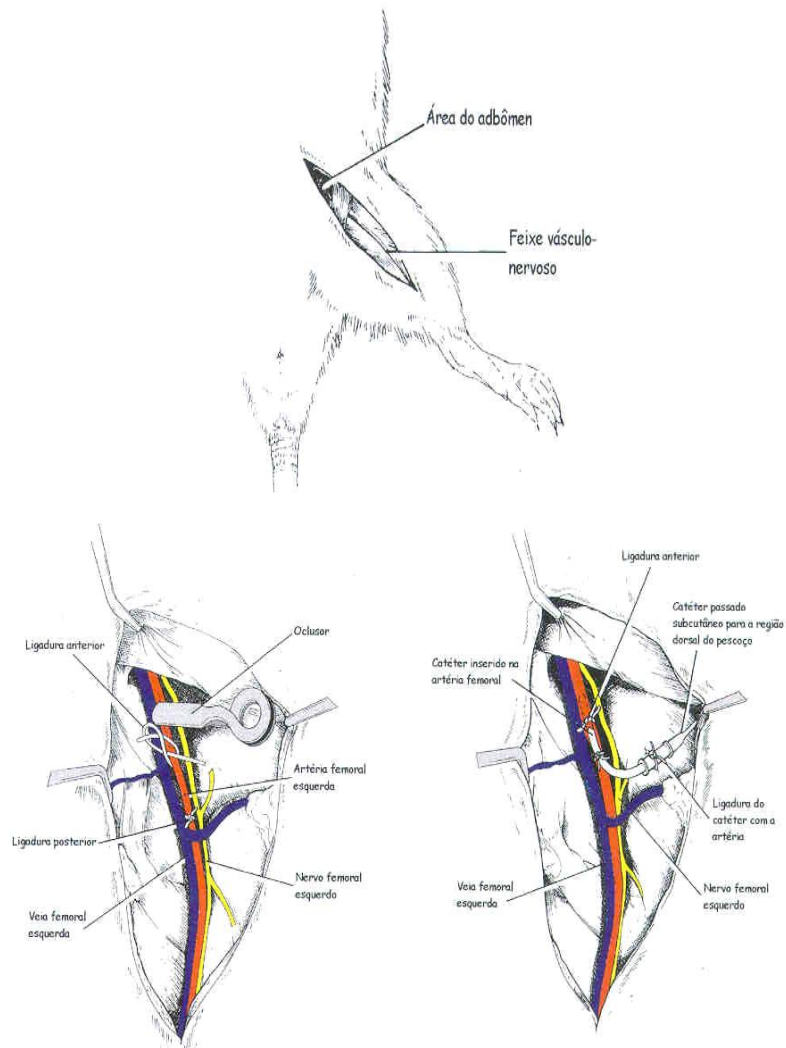


Figura 5: Esquema do local da canulação da artéria femoral e veia femoral

4.3.7. Avaliações hemodinâmicas sistêmicas

No dia seguinte, com o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa,

durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético (Kent instruments, EUA) que, por sua vez, foi conectado a um pré-amplificador (Stemtech BPMT-2, Quintron Instrument© Inc, EUA) (Figura 6). Sinais de PA foram gravados durante um período de 30 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento-a-batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal.

A análise foi feita utilizando-se programa comercial associado ao sistema de aquisição. Este programa permite a detecção de máximos e mínimos da curva de pressão batimento a batimento, fornecendo os valores de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) pela integral da área sob a curva no tempo. A frequência cardíaca (FC) foi determinada a partir do intervalo entre dois picos sistólicos. Os resultados foram apresentados em valores médios e desvios padrões dos períodos em que os dados foram analisados para PA e FC. As planilhas de dados obtidas foram analisadas em programa comercial para análise (Excel 5.0), onde se calculou a média e desvio padrão de PAM, PAS, PAD e FC para cada animal (Souza et al., 2007; Flores et al., 2010).



Figura 6: Sistema de registro de pressão arterial e conexão entre a cânula e o transdutor eletromagnético.

4.3.8. Avaliação da modulação autonômica

4.3.8.1. Análise da variabilidade do intervalo de pulso.

A variabilidade do intervalo de pulso foi obtida pela análise do tacograma a partir do registro da PAS, no qual a frequência dos batimentos foi determinada pelo intervalo entre dois picos sistólicos. Para essa análise foram utilizados registros estáveis, de no mínimo 5 minutos e com frequência de amostragem de 2.000 Hz. Foi calculada a variância total do intervalo de pulso (VAR-IP) e também três componentes foram obtidos na análise espectral: muito baixa frequência (MBF: banda de muito baixa frequência), baixa frequência (BF: 0,20-0,75 Hz) e alta frequência (AF: 0,75-3,0 Hz). O componente BF foi usado como um índice da atividade simpática. O componente AF foi usado como um índice da atividade parassimpática. As bandas de BF e AF também foram expressas em unidades normalizadas (nu) (Ishise et al., 1998).

4.3.8.2. Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

A partir do registro basal dos animais acordados, foi possível utilizar a ferramenta de análise tempo-frequência da variabilidade da PAS. Os parâmetros para análise no domínio do tempo consistiram em calcular os valores médios da PAS, sendo a sua variabilidade quantificada pela variância da PAS. A análise no domínio da frequência consistiu-se da decomposição do sistograma pela Transformada Rápida de

Fourier (FFT). Após esse remodelamento matemático, foram obtidas as potências absolutas da banda de baixa frequência (BF: 0,20-0,75 Hz) (Soares et al., 2005).

4.3.8.3. Índice alfa

Valores de batimento a batimento da PAS e intervalo RR foram usados para estimar a sensibilidade barorreflexa pelo método de análise espectral, utilizando o índice alfa da banda BF (0,20–0,75hz). A coerência entre a variabilidade dos sinais de intervalos RR e pressão arterial sistólica foi realizada pelo método de análise espectral cruzada. O índice alfa foi calculado somente quando a magnitude da coerência ao quadrado entre os sinais de RR e pressão arterial sistólica excederam 0,5 (amplitude 0 a 1) na banda BF depois do cálculo da coerência, o índice alfa foi extraído da raiz quadrada da razão entre a BF do RR pela BF da PAS (Quaglioto et al., 2008).

4.3.9. Determinação da hipertrofia cardíaca

Ao final do protocolo, os animais foram pesados e mortos por decapitação e os corações seccionados. Os átrios e o tecido vascular foram separados dos ventrículos os quais foram limpos e pesados. A parede livre do ventrículo direito foi separada do septum e pesada. O ventrículo esquerdo e o septum foram pesados e nos animais infartados a área infartada foi identificada e separada utilizando-se uma tesoura delicada. A área infartada e não infartada do ventrículo esquerdo foram pesadas. Para determinação da hipertrofia cardíaca calculou-se a razão entre peso ventricular (peso do VD + VE) (mg) e o peso corporal (g) do animal, sendo expresso em mg/g.

4.3.10. Avaliação do tamanho do infarto do miocárdio

Para determinação do tamanho do infarto a cicatriz da parede ventricular foi cuidadosamente separada do restante do ventrículo esquerdo. Ambos os cortes foram carimbados em sua face externa e posteriormente delimitados em um papel milimetrado. O papel milimetrado foi cortado e pesado, sendo o tamanho do infarto (%) determinado pela seguinte fórmula:

4.3.10.1. Tamanho do infarto (%) =

Peso do papel com a área infartada

Peso do papel com a área infartada + peso do papel com a área não-
infartada X 100

4.3.11. Preparação dos tecidos

Após a determinação dos pesos ventriculares, suas secções e área infartada por milimetragem, os corações foram coletados e congelados (-70°C) para análise de estresse oxidativo e das atividades de enzimas antioxidantes.

Para análise os tecidos foram homogeneizados durante 40 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax (Staufen, Alemanha), com cloreto de potássio (KCl) 1,15% (5 ml por grama de tecido) e fluoreto de fenil metil sulfonila (PMSF), na concentração de 100mmol/L em isopropanol e na quantidade de 10µL/mL de KCl adicionado. O PMSF é um inibidor de proteases, e foi utilizado para que não houvesse degradação das enzimas das quais a atividade foi medida. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 1000g, em centrífuga refrigerada entre 0 e 4°C (Sorval RC 5B-rotor SM24, Du Pont Instruments, EUA), e o sobrenadante foi retirado e congelado em freezer a -70°C para as dosagens posteriores (Llesuy et al., 1985).

4.3.12. Dosagem de proteínas

As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry et al (1951) que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/mL.

4.3.13. Medidas de Estresse Oxidativo

4.3.13.1. Medida de Lipoperoxidação (LPO): Quimiluminescência Iniciada por t-BOOH (QL).

O método consiste em adicionar um hidroperóxido orgânico de origem sintética (o hidroperóxido de tert-butil – t-BOOH) ao homogeneizado de tecido, avaliando-se a capacidade de resposta produzida pela amostra. A base para esse teste reside no fato de os hidroperóxidos serem espécies químicas bastante instáveis, reagindo com lipídios da amostra, por um mecanismo radicalar, e gerando produtos emissores de luz quantificável.

A quimiluminescência foi medida em um contador beta (LKB Rack Beta Liquid Scintillation Spectrometer-1215; LKB Produkter AB, Bromma, Sweden) com o circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio. As determinações foram realizadas em câmara escura, em frascos de vidro mantidos na penumbra para evitar a fosforescência ativada pela luz fluorescente. O meio de reação no qual foi realizado o ensaio consiste em 3,5 mL de uma solução tampão de fosfatos 20 mmol/L, contendo

KCl 140 mmol/L (pH 7,4), à qual foi adicionado 0,5 mL de homogeneizado. Após esse momento, foi realizada uma leitura inicial, considerada como a emissão basal de luz pelo homogeneizado. O t-BOOH foi usado na concentração de 400 mmol/L, dos quais foram adicionados 30 µL no meio de reação para obter-se uma concentração final de 3 mmol/L. Foi medida a emissão de luz e desta foi descontada a emissão basal do homogeneizado para fins de cálculo. Os resultados foram expressos em contagens por segundo (cps) por mg de proteína (Gonzales et al., 1991).

4.3.13.2. Razão GSH/GSSG

A razão entre a concentração da glutathiona reduzida e oxidada (GSH/GSSG) foi determinada através da avaliação da concentração da glutathiona total e da sua forma oxidada no tecido cardíaco como descrito por Akerboom & Sies (1981). Para determinar a concentração total de glutathiona, o tecido foi desproteínizado com ácido perclórico 2 mol/L, centrifugado por 10 minutos 1000g e o sobrenadante foi neutralizado com hidróxido de potássio 2 mol/L. O ensaio foi realizado adicionando à amostra uma solução de tampão fosfato 100 mmol/L (pH 7,2), NADPH 2 mmol/L, glutathiona redutase 0,2 U/mL e 5'5 ditiobis (ácido 2-nitrobenzólico) 70 µmol/L. Para determinar a glutathiona oxidada, adicionou-se ao sobrenadante 20 mmol/L de N-etilmaleimida (NEM) e, após, as amostras foram neutralizadas com hidróxido de potássio 2 mol/L. Após essa etapa, seguiu-se o mesmo procedimento de ensaio utilizado para a glutathiona total. A leitura foi feita com um comprimento de onda de 412 nm. Os

valores foram expressos em mmol/grama de tecido. A determinação da razão GSH/GSSG foi calculada pela divisão entre os valores obtidos de GSH pelos valores obtidos da GSSG. (Akerboom & Sies,1981).

4.3.14. Enzimas antioxidantes

4.3.14.1. Catalase

A taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio é diretamente proporcional à atividade da CAT, e obedece a uma cinética de pseudo primeira ordem com relação a este. Desta forma, o consumo de H_2O_2 pode ser utilizado como uma medida de atividade da enzima CAT.

O ensaio consistiu em medir a diminuição da absorbância a 240nm, comprimento de onda onde há a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio, utilizando-se cubetas de quartzo devido à alta energia do comprimento de onda no qual foram realizadas as medidas. Para a realização das medidas foi usada uma solução tampão constituída de fosfatos a 50 mmol/L em pH 7,4. Foram adicionados 955 μ L deste tampão e 10 μ L de amostra de tecido na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados 35 μ L de peróxido de hidrogênio (0,3 mol/L) e foi monitorada a diminuição da absorbância no comprimento de onda selecionado. Os resultados foram expressos em nmoles de H_2O_2 reduzido por minuto por mg de proteína (Aeibi, 1984).

4.3.14.2. Superóxido dismutase

As superóxido dismutases catalisam a reação de dois ânions superóxido, com a conseqüente formação de peróxido de hidrogênio, que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a CAT e a GPx. A velocidade da reação catalisada pela SOD é 10⁴ vezes maior que a velocidade de dismutação espontânea em pH fisiológico.

A técnica utilizada neste trabalho para determinação da SOD está baseada na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. O superóxido é gerado pela auto-oxidação do pirogalol quando em meio básico. A SOD presente na amostra em estudo compete pelo radical superóxido com o sistema de detecção. Uma vez que não se consegue determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado. No meio de reação, foi utilizados 20 µL de homogeneizado, 973 µL de tampão tris-fosfato a 50 mmol/L (pH 8,2), 8 µL de pirogalol a 24 mmol/L, 4 µL de CAT a 30 µmol/L. A variação na absorbância foi acompanhada a 420 nm durante 2 minutos. Esta curva obtida foi utilizada como branco. Foi também feito uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual foi obtida a

equação da reta para realização dos cálculos. Os resultados foram expressos em U SOD/mg de proteína.

4.3.14.3. Glutathione peroxidase

Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com GSH para formar GSSG e o produto da redução do hidroperóxido, a atividade da enzima pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx.

A atividade da GPx foi medida em um espectrofotômetro de marca Varian, modelo Cary. Foi monitorada a diminuição de absorbância do NADPH a 340 nm. Na cubeta do espectrofotômetro, foram adicionados 330 μ L de tampão, 50 μ L do homogeneizado (amostra), 500 μ L de NADPH, 10 μ L de azida sódica, 50 μ L de GSH e 10 μ L de GR (glutathione reductase). Foi registrada a absorbância por um período de aproximadamente 2 minutos, para obtenção da linha de base. Após esse momento, foram adicionados 50 μ L de t-BOOH, e a diminuição da absorbância devida ao consumo de NADPH foi monitorada por mais 3 minutos. Os resultados foram expressos em nmoles por minuto por mg de proteína (Flohé & Gunzler, 1984).

4.4. Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão. O Teste *t* de Student e o teste de análise de variância (ANOVA) *two way*, seguido do teste post-hoc de Student-Newman Keuls foram devidamente aplicados para análise dos dados. Valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação do peso corporal e hipertofia cardíaca.

O dia da ooforectomia foi considerado como início do protocolo, no qual foi realizada a pesagem inicial dos animais estudados. A tabela 1 mostra os resultados de peso corporal. Não houve diferença de peso corporal entre os grupos no início do protocolo.

Ao final do protocolo, todos os grupos estavam mais pesados ao se comparar com os pesos iniciais, entretanto, os grupos treinados apresentaram pesos corporais menores quando comparados à seus respectivos grupos sedentários. Através do delta da variação de peso pode-se visualizar que os grupos treinados tiveram um menor ganho de peso corporal, entre o início e o final do protocolo, em relação às seus pares sedentários.

Tabela1: Peso corporal (gramas) e delta do peso corporal (início – final) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT) no início e ao final do protocolo.

Grupos				
	OS	OT	OIS	OIT
Semanas				
Início	214 ± 2,2	220 ± 4,7	224 ± 6,9	215 ± 3
Final (9^o semana)	330 ± 4,6#	305 ± 6,1#*	350 ± 5#	311 ± 6#*‡
Δ (g)	116±5	90±4*	125±8	90±5*‡

Valores representam média ± erro padrão médio (EPM). Δ: Diferença entre os valores no início e final do protocolo. * p< 0,05 vs. OS; ‡ p< 0,05 vs. OIS; # p<0,05 vs. peso inicial no próprio grupo.

O peso ventricular (VE + VD) foi semelhante entre os grupos OS e OT. Os grupos OIS e OIT apresentaram aumento do peso ventricular quando comparados aos grupos OS e OT. A razão peso ventricular/peso corporal não apresentou diferenças entre os grupos OS e OT. Nos grupos OIS e OIT observaram-se aumento da razão peso ventricular/peso corporal em relação ao grupo OS. Em relação ao peso do VE os animais infartados apresentaram maior peso quando comparados aos grupos OS e OT. Na Tabela 2 são apresentados os resultados do peso ventricular, peso do VE e da razão peso ventricular/peso corporal.

Tabela 2- Peso ventricular (VE+VD), peso do VE (mg) e índice de hipertrofia cardíaca (IDH) (mg/g) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).

Grupos	OS	OT	OIS	OIT
Variáveis				
Peso ventricular (mg)	809±32	783±21	972±43*	970±42*†
Peso do VE (mg)	660 ± 21	640 ± 17	780 ± 36*	750 ± 32*†
IDH (mg/g)	2,3±0,1	2,6±0,1	3±0,0*	3±0,1*

Dados representam médias ± EPM. * p< 0,05 vs. OS; † p< 0,05 vs. OT

5.2. Avaliação do tamanho do infarto do miocárdio.

O percentual da área infartada do ventrículo esquerdo avaliado através do ecocardiograma não apresentou diferenças entre os grupos infartados na avaliação inicial ($35,27 \pm 2,9$ vs. $31,33 \pm 3,5\%$ no OIT) ou final ($36,5 \pm 5$ vs. $35,5 \pm 5,5\%$ no OIT). Na Figura 7 são apresentados os resultados de ambas as avaliações ecocardiográficas dos grupos infartados.

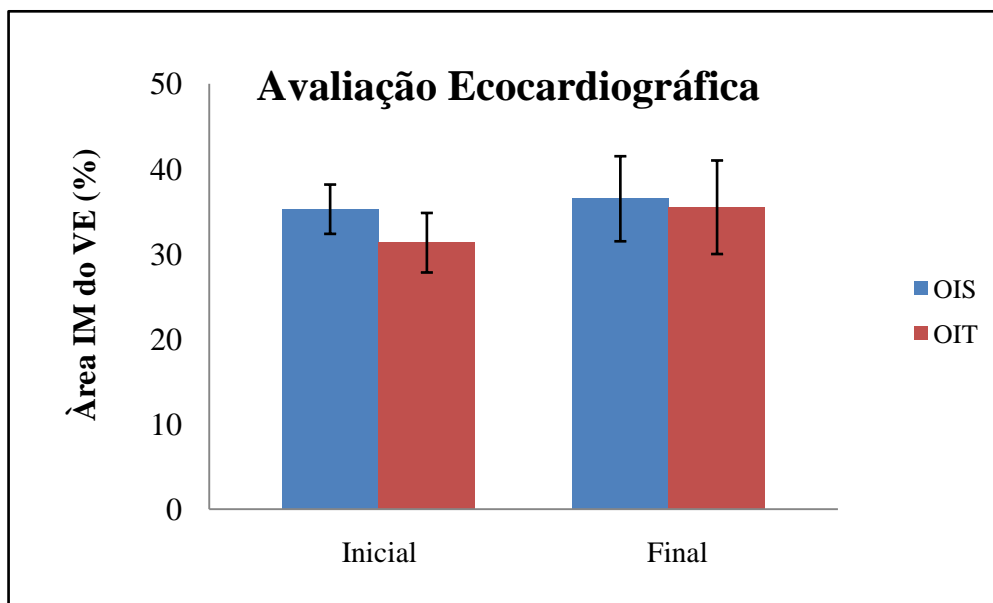


Figura 7: Área infartada do ventrículo esquerdo (%) no início e final do protocolo dos grupos ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). Inicial: 2 dias após IM; Final: 60 dias após IM.

Corroborando com os resultados ecocardiográficos a área infartada do VE não apresentou diferenças entre os grupos OIS e OIT ($44 \pm 2,9\%$ e $49 \pm 3,6\%$, respectivamente) no final do protocolo quando avaliados de forma direta através dos “carimbos” em papel milimetrado.

5.3. Capacidade Física

Em relação à capacidade física, foram realizados testes de esforço máximo no início (TE1), na quinta semana (TE2) e ao final (TE3) do protocolo. No TE1 todos os grupos apresentaram desempenhos semelhantes (Tabela 3). Todavia, no TE3 as ratas do grupo OT mostraram aumento de 32% na velocidade máxima alcançada em relação ao grupo OS. No grupo OT observou-se também diferenças significativas entre o TE1 e o TE3 (aumento de 29%). Já no grupo OIT os melhores resultados na capacidade física foram demonstrados no TE2, apresentando diferença em relação ao TE1 (melhora de 27%). No TE3 o grupo OIT apresentou aumento da capacidade física, somente quando comparado ao grupo OIS (27% mais rápido) (Figura 8 e Tabela 3).

Dessa forma, observou-se manutenção da capacidade física dos grupos OS e OIS, ao longo das oito semanas de acompanhamento, e um gradativo aumento no condicionamento do grupo OT no decorrer do protocolo (13% mais rápido no TE2 em relação ao TE1; 13% mais rápido no TE3 em relação ao TE2 e 29% mais rápido no TE3 em relação ao TE1), demonstrando a eficácia do TF aplicado. Vale ressaltar que o grupo OIT apresentou os melhores valores de capacidade física no TE2 ocorrendo uma pequena redução no TE3 (queda de 8% na velocidade do TE3 em relação ao TE2). Para uma melhor visualização na Figura 8 são apresentados os resultados dos testes iniciais e finais dos 4 grupos.

Tabela 3: Velocidade máxima (km/h) alcançada nos testes de esforço máximos dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT) ao longo do protocolo.

Grupos				
Variáveis	OS	OT	OIS	OIT
TE1	2,28 ± 0,08	2,1 ± 0,15	1,95 ± 0,09	1,94 ± 0,12
TE2	2,01 ± 0,09	2,38 ± 0,17	1,98 ± 0,09	2,47 ± 0,08 *‡#
TE3	2,05 ± 0,09	2,7 ± 0,13*#	1,8 ± 0,06	2,28 ± 0,07‡

Valores representam média ± EPM. TE1: teste de esforço inicial; TE2: teste de esforço na quinta semana de protocolo; TE3: teste de esforço ao final do treinamento físico. * p<0,05 vs. OS; ‡ p<0,05 vs. OIS; # p<0,05 vs. TE1 no próprio grupo.

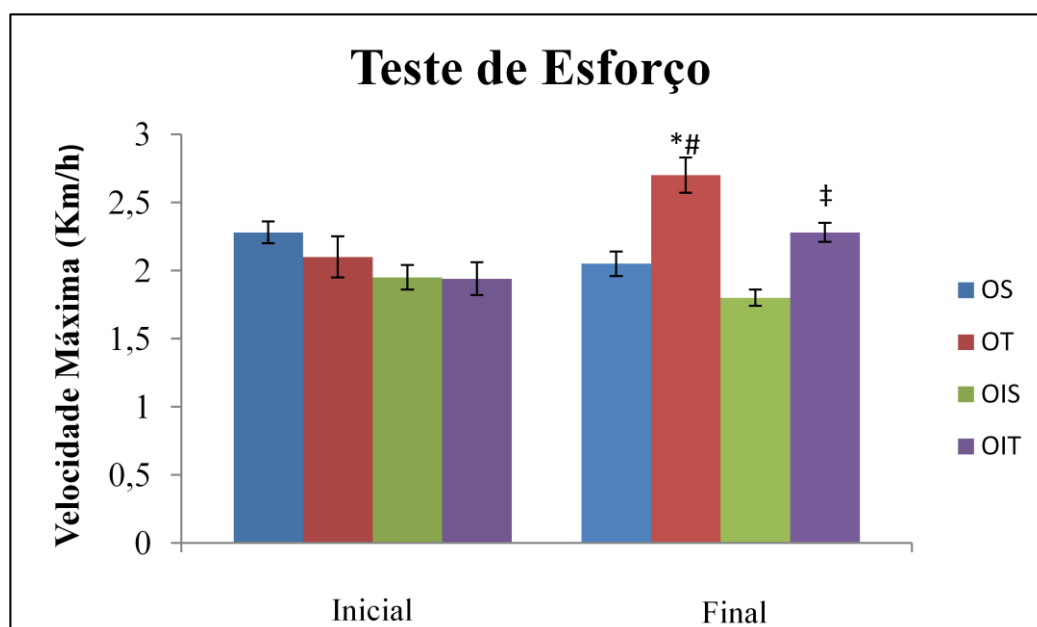


Figura 8: Velocidade máxima alcançada nos testes de esforço (TE1: inicial e TE3: final) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado

infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs. OS; ‡ $p < 0,05$ vs. OIS; # $p < 0,05$ vs. TE1 no próprio grupo.

5.4. Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas

As avaliações hemodinâmicas sistêmicas (PAD, PAS, PAM e FC) em repouso podem ser observadas na Tabela 4.

Com relação aos dados do grupo de ratas OS, evidenciou-se valor pressórico médio de 122 mmHg, sendo este um valor acima da faixa de normalidade. As ratas OT apresentaram valor pressórico médio de ~112 mmHg, este dentro dos padrões de normalidade. No grupo OIS os valores médios estão em torno de 102 mmHg, e o grupo OIT apresentou valores médios de ~112 mmHg. Desta forma, observa-se que o TF foi eficiente em atenuar o aumento da PAM no grupo OT, provavelmente decorrente da privação dos hormônios ovarianos. Já no grupo OIS houve uma redução da PA, provavelmente associada ao prejuízo hemodinâmico desencadeado pelo IM, a qual foi revertida após o TF no grupo OIT (Figura 9). Além disto, tanto a PAD quanto a PAS mostraram alterações semelhantes às da PAM (Tabela 4).

Tabela 4: Pressão arterial e frequência cardíaca em repouso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).

Grupos	PAD (mmHg)	PAS (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
OS	103 ± 2,3	140 ± 3,7	122 ± 2,4	370 ± 5,4
OT	93 ± 1,4*	131 ± 2,0*	112 ± 1,5*	342 ± 8,4*
OIS	86 ± 2,2*	122 ± 2,2*	101 ± 2,4*	355 ± 4,5
OIT	95 ± 2,9*‡	130 ± 2,6*‡	112 ± 2,8*‡	360 ± 5,2

Valores representam média ± EPM. PAS: pressão arterial sistólica, PAM: pressão arterial média; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca. * p< 0,05 vs. OS; ‡ p< 0,05 vs. OIS.

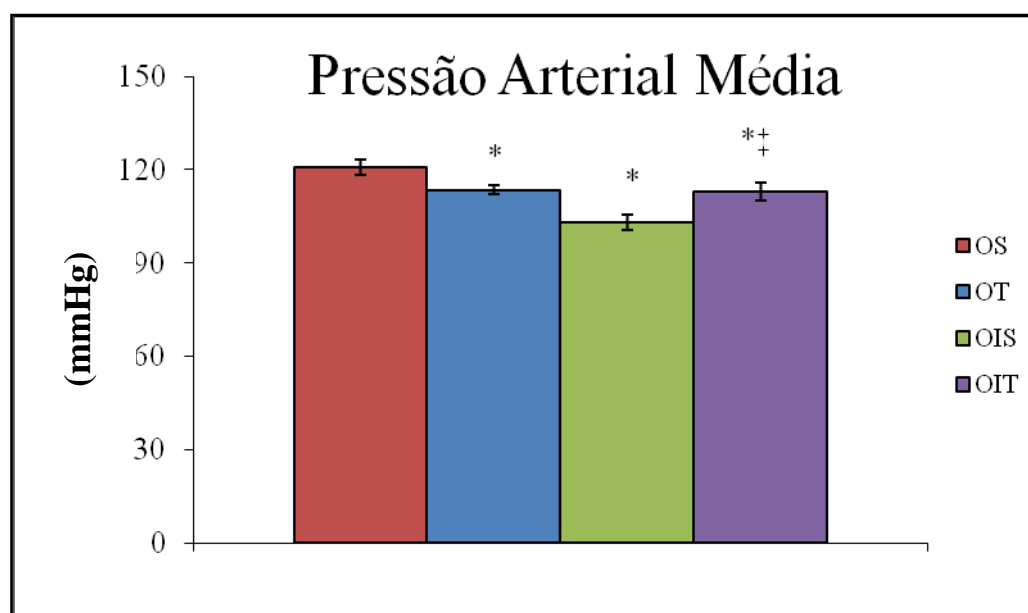


Figura 9: Pressão arterial média (PAM) dos grupos ooforectomizado sedentário (OS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * p< 0,05 vs. OS; ‡ p< 0,05 vs. OIS.

Outro marcador importante da eficácia do TF é a redução da frequência cardíaca (FC) de repouso. De fato, os animais OT apresentaram bradicardia de repouso quando comparados ao grupo OS (Tabela 4). Nos animais OIS e OIT a FC foram semelhante entre esses grupos. Na Figura 10 são apresentados esses resultados.

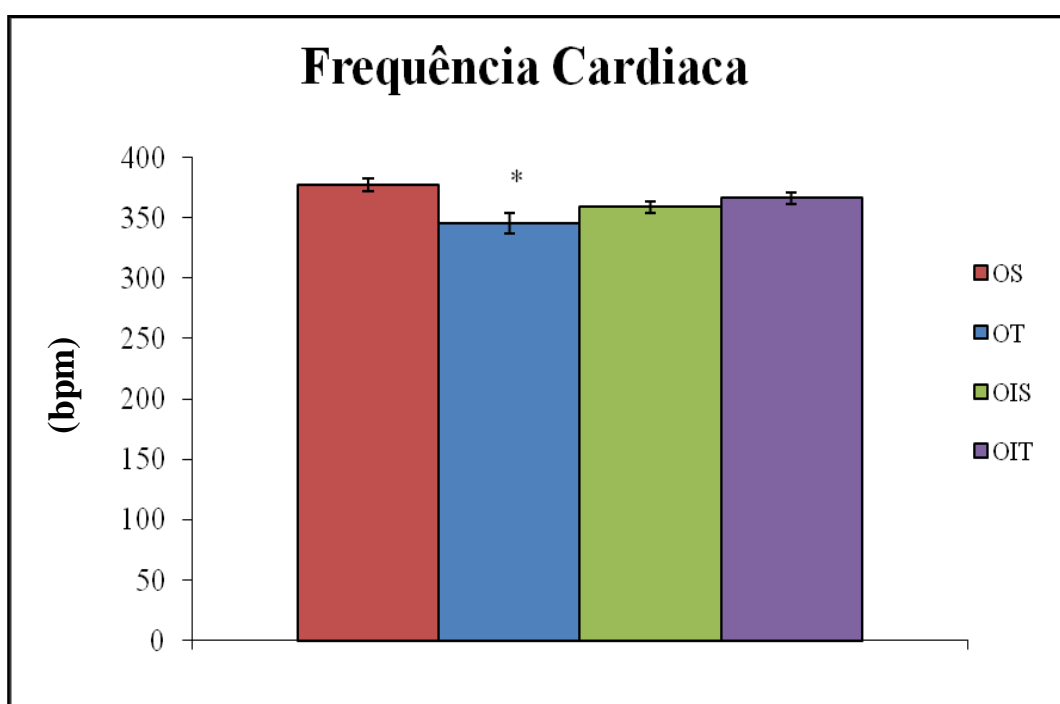


Figura 10: Frequência cardíaca (FC) de repouso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs. OS.

5.5. Avaliações da modulação autonômica cardiovascular.

5.5.1. Análise da variabilidade do intervalo de pulso no domínio do tempo.

A variância do intervalo de pulso (VAR-IP), que tem sido utilizada como um parâmetro de controle autonômico cardiovascular e preditor de mortalidade, estava reduzida pelo IM no grupo OIS em 40% em comparação ao grupo OS ($38,87 \pm 2,66 \text{ ms}^2$ vs. $61,87 \pm 3,99 \text{ ms}^2$ no OS). Em contrapartida, o TF aumentou a VAR-IP nas ratas dos grupos OT e OIT em 44% e 50% respectivamente, quando comparadas com as ratas dos grupos OS e OIS, (OT: $88,90 \pm 7,74 \text{ ms}^2$ vs. OS: $61,87 \pm 3,99 \text{ ms}^2$ e OIT: $58,16 \pm 9,95 \text{ ms}^2$ vs. OIS: $38,87 \pm 2,66 \text{ ms}^2$) (Figura 11).

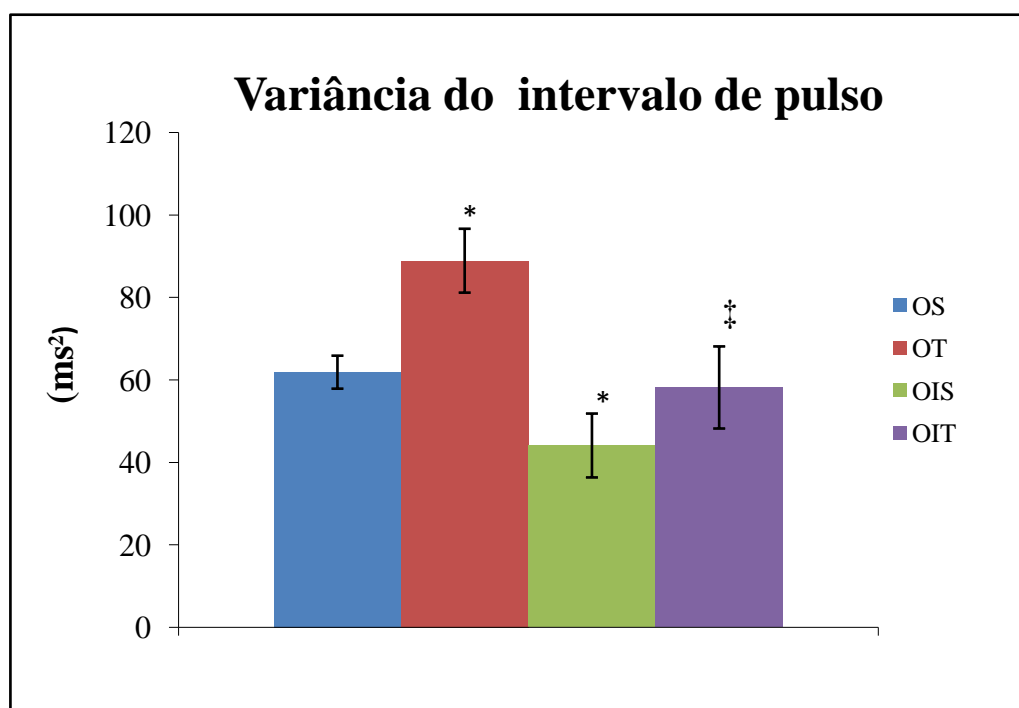


Figura 11: Variância do intervalo de pulso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). *p<0,05 vs. OS; †p<0,05 vs. OT, ‡p<0,05 vs. OIS

5.5.2. Análise da variabilidade do intervalo de pulso no domínio da frequência

As avaliações da VAR-IP no domínio da frequência são apresentadas na tabela 5. A banda MBF não foi diferente entre os grupos OS e OT, entretanto, estava reduzida no grupo OIS. O TF no grupo OIT aumentou essa variável, trazendo os valores para próximos aos observados nos grupos OS e OT. A banda de BF (modulação simpática) absoluta não foi diferente entre os grupos OS e OT, porém a banda de BF normalizada estava reduzida em 32% no grupo OT em comparação ao grupo OS. O TF reduziu em 47% e 32% a BF absoluta e normalizada, respectivamente no grupo OIT quando comparado ao OIS (Tabela 5).

A banda de AF (modulação parassimpática) foi reduzida pelo IM em 24% no grupo OIS em relação ao grupo OS, apesar de não ter sido uma diferença significativa (AF absoluta). O TF, por sua vez, aumentou em 56% a banda de AF normalizada quando comparados os grupos OS e OT e em Não houve modificações da banda AF nu no grupo OIS em relação ao grupo OS, entretanto o TF aumentou essa banda em 63% quando comparados os grupos OIS ao OIT. Não houve diferença na AF absoluta entre os grupos (Tabela 5).

A razão entre a banda de BF e AF é utilizada como um índice de balanço simpatovagal. O TF reduziu esse índice nos grupos treinado em relação à suas contrapartes sedentárias. (Figura 12).

Tabela 5: Variabilidade do intervalo de pulso no domínio da frequência dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).

Grupos				
Variáveis	OS	OT	OIS	OIT
MBF(ms²)	19,3±2,6	19,23±2,57	9,86±1,03*†	15,65±3,05
BF(ms²)	4,34±0,53	2,36±0,47	5,31±0,89†	2,8±0,73‡
AF(ms²)	9,95±1,17	12,44±2,96	7,56±0,73	10,19±1,06
%BF (nu)	9,76±1,13	6,65±1,38*	13,51±2,10	9,17±2,09‡
%AF (nu)	20,88±2,9	32,58±2,72*	22,72±2,91†	37,04±5,16‡
BF/AF	0,47±0,04	0,30±0,03*	0,45±0,04†	0,26±0,04*‡

Valores são apresentados como média ± EPM. MBF: Banda de muito baixa frequência, BF: Banda de baixa frequência, AF: Banda de alta frequência. %BF (nu): Banda de baixa frequência normalizada. %AF (nu): Banda de alta frequência normalizada. *p<0,05 vs. OS; †p< 0,05 vs. OT; ‡p< 0,05 vs OIS.

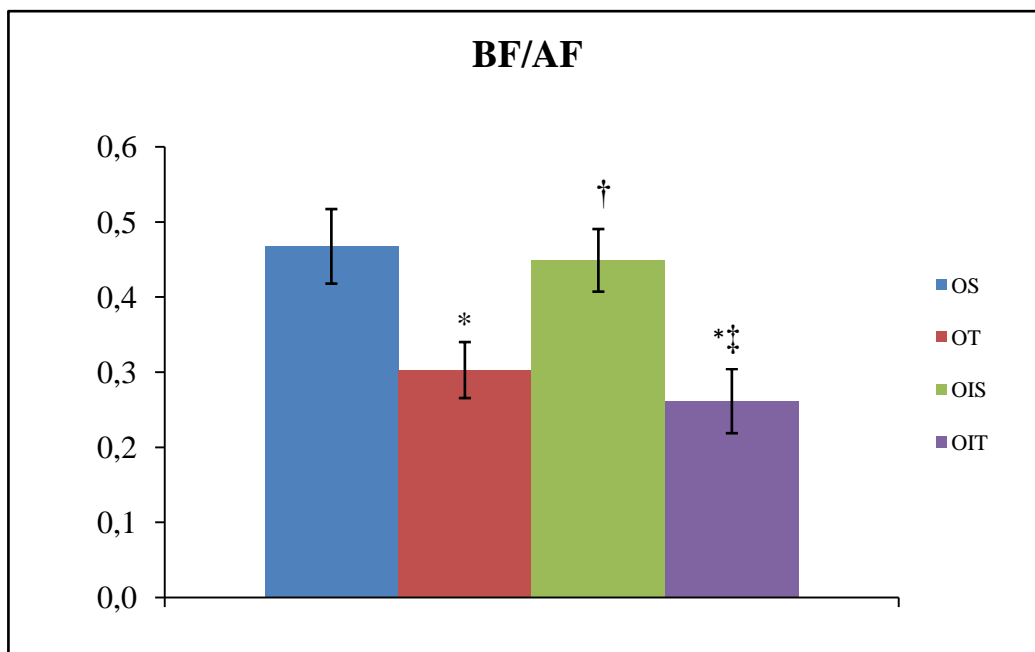


Figura 12: Razão entre a banda de baixa frequência e a banda de alta frequência do intervalo de pulso dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; † $p < 0,05$ vs OT, ‡ $p < 0,05$ vs OIS.

5.5.3. Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência.

Na tabela 6 podem-se observar os valores da variância total da pressão arterial sistólica (VAR-PAS) e a banda de baixa frequência da PAS (BF-PAS). A VAR-PAS foi reduzida pelo TF em 32% (OT) e 33% (OIT) dos grupos treinados quando comparados com seus respectivos controles sedentários (Figura 13). É importante salientar que o IM

não induziu prejuízo na VAR-PAS, ao comparar-se o grupo OIS com o OS. A banda BF-PAS não foi diferente entre os grupos estudados (Tabela 6).

Tabela 6: Variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).

Grupos	OS	OT	OIS	OIT
Variáveis				
VAR-PAS (mmHg²)	26,79±3,2	18,19±1,78*	24,54±3,41†	16,29±1,50*‡
BF-PAS (mmHg²)	7,06±0,71	4,63±0,56	5,94±1,42	5,06±0,79

Valores são apresentados como média ± EPM. VAR-PAS: Variância da pressão arterial sistólica, BF-PAS: Banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica.*p<0,05 vs OS; †p<0,05 vs OT; ‡ p<0,05 vs OIS.

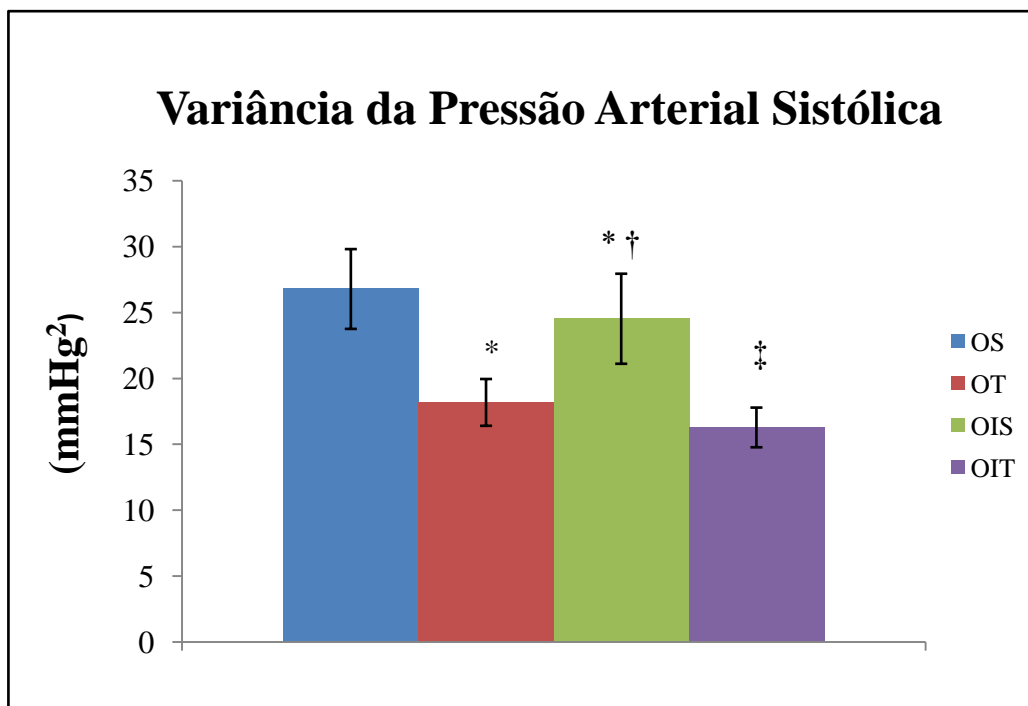


Figura 13: Variância da pressão arterial sistólica dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; † $p < 0,05$ vs OT, ‡ $p < 0,05$ vs OIS.

5.5.4. Avaliação da sensibilidade barorreflexa espontânea

O TF aumentou em 50% a sensibilidade barorreflexa espontânea no grupo OT quando comparada ao grupo OS ($1,02 \pm 0,09$ vs. $0,68 \pm 0,08$ ms/mmHg no grupo OS). O IM não induziu piora no índice alfa do grupo OIS quando comparado com o grupo OS ($0,63 \pm 0,07$ vs. $0,68 \pm 0,08$ ms/mmHg no grupo OS), contudo o TF no grupo OIT promoveu aumento nesse índice em 53% quando comparado ao grupo OIS ($0,96 \pm 0,10$ vs. $0,63 \pm 0,07$ ms/mmHg no OIS) (Figura 14).

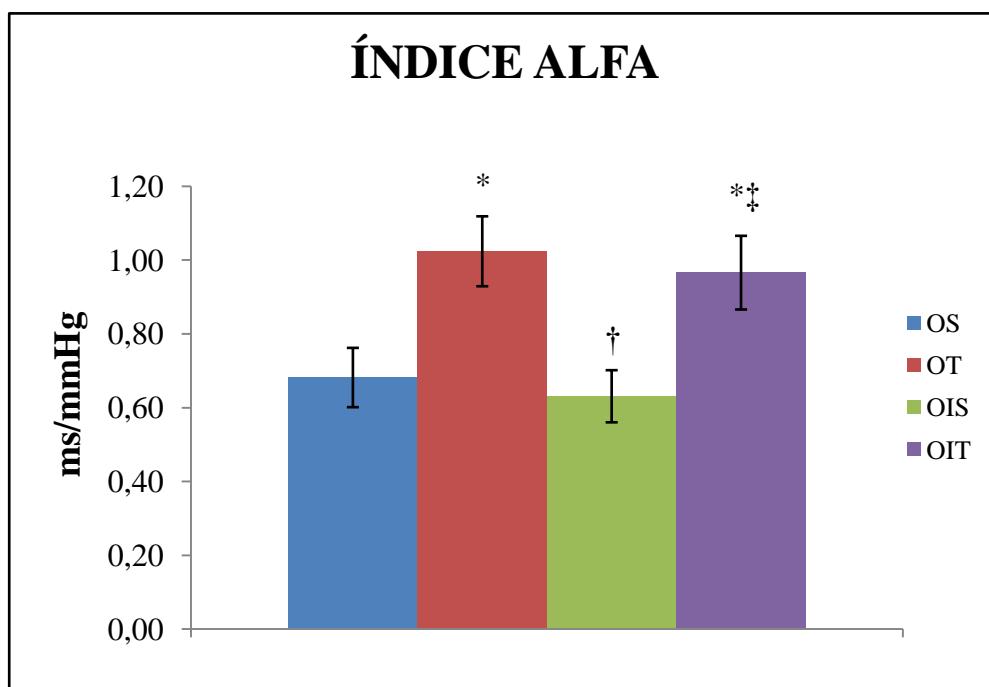


Figura 14: Índice alfa dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; † $p < 0,05$ vs OT, ‡ $p < 0,05$ vs OIS.

5.6. Medidas de estresse oxidativo

5.6.1. Medida de lipoperoxidação (LPO): Quimiluminescência iniciada por t-BOOH (QL).

A Figura 15 mostra os resultados de LPO. O TF foi eficaz em reduzir em 34% da LPO no grupo OT quando comparado ao se controle sedentário (7.707 ± 543 vs. 11.771 ± 1.479 cps/mg proteína no OS). O IM não promoveu aumento da LPO no grupo OIS quando comparado ao grupo OS (11.476 ± 1.058 vs. 11.771 ± 1.479 cps/mg proteína no OS), contudo o TF foi eficaz em reduzir a LPO em 39% no grupo OIT

quando comparado a seu controle (6.991 ± 1.392 vs. 11.476 ± 1.056 cps/mg proteína no OIS).

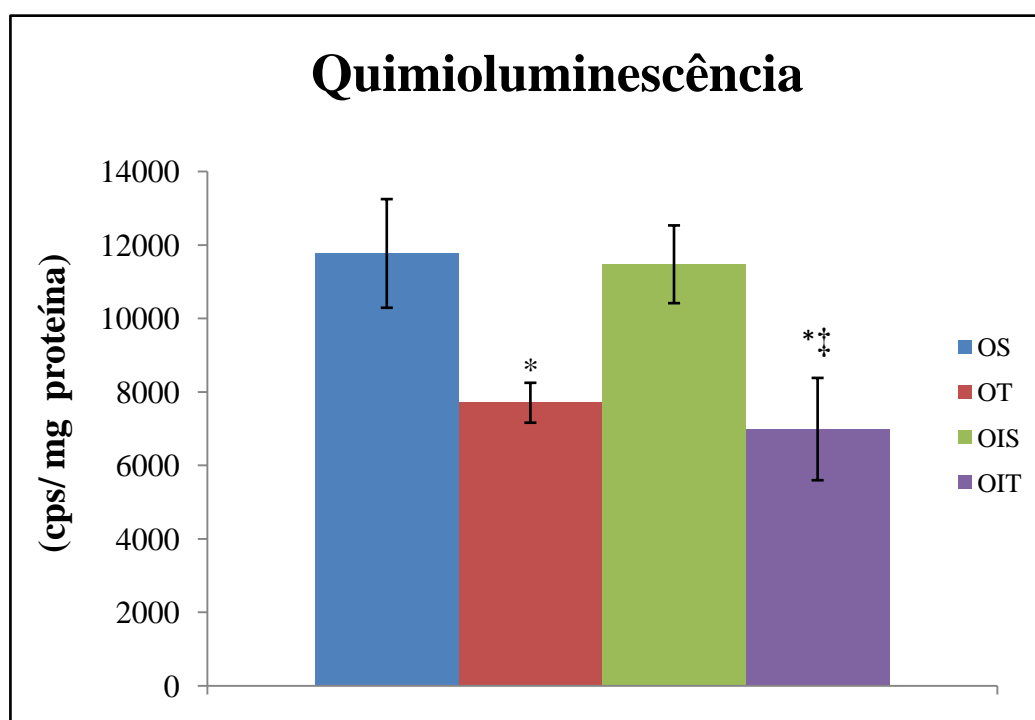


Figura 15: Quimioluminescência cardíaca dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; ‡ $p < 0,05$ vs OIS.

5.6.2. Razão GSH/GSSG

Na tabela 7 são apresentados os valores da concentração de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e a razão GSH/GSSG do tecido cardíaco.

Em relação à GSH, o TF promoveu aumento de 15% no grupo OT quando comparado ao grupo OS e não promoveu alterações na concentração de GSSG. O IM,

causou diminuição de 50% da GSH e aumento de 73% na GSSG quando se comparou o grupo OIS com o OS. O TF não foi eficaz em aumentar esse parâmetro quando comparados os grupos OIS e OIT.

O TF foi eficaz em aumentar em 29% a razão GSH/GSSG no grupo OT quando comparado ao grupo OS. O IM reduziu este índice em 71% quando comparado o grupo OIS com o OS e o treinamento físico pós IM não foi eficaz normalizar este parâmetro uma vez que não houve diferença entre os grupos OIT e OIS (Figura 16).

Tabela 7: Concentração da glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e razão GSH/GSSG no tecido cardíaco dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).

Variáveis	Grupos			
	OS	OT	OIS	OIT
GSH (mmol/g tec.)	0,14±0,005	0,16±0,01*	0,07±0,01*†	0,07±0,01*†
GSSG (mmol/g tec.)	0,005±0,0004	0,004±0,0004	0,009±0,001*†	0,009±0,001*†
GSH/GSSG	27,62±2,13	38,04±2,48*	8,00±0,67*†	7,65±0,89*†

Valores são apresentados como média ± EPM. *p<0,05 vs OS; † p<0,05 vs OT.

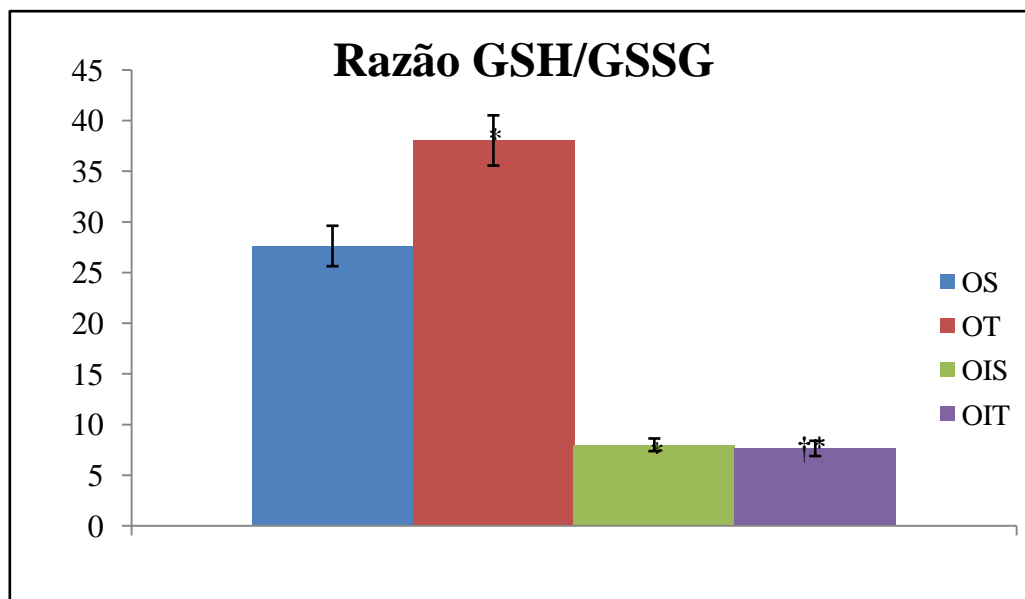


Figura 16: Razão GSH/GSSG dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; † $p < 0,05$ vs OT.

5.7. Enzimas antioxidantes

A tabela 8 apresenta os resultados das avaliações de enzimas antioxidantes no tecido cardíaco. Pode-se observar que a concentração da enzima CAT não foi diferente entre os grupos OS e OT. O IM reduziu 61% dessa enzima no grupo OIS ao quando comparado ao grupo OS e o TF não promoveu aumento na concentração de CAT no grupo OIT, permanecendo reduzida em 45% quando comparado ao grupo OS (Figura 17). A atividade da enzima SOD não foi diferente entre os grupos OS e OT. O IM não promoveu alterações na atividade desta enzima no grupo OIS, porém o TF promoveu aumento na atividade da SOD no grupo OIT quando comparado aos grupos OS (50%), OT (58%) e OIT (90%), respectivamente (Figura 18). Em relação a atividade da GPx, o TF promoveu aumento de 34% no grupo OT quando comparado ao grupo OS. O IM não produziu um dano na atividade dessa enzima no grupo OIS quando comparado ao OS e o Tfo no grupo OIT não aumentou a atividade dessa enzima (Figura 19).

Tabela 8: Concentração da catalase (CAT) e atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) no tecido cardíaco dos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT).

Variáveis	Grupos			
	OS	OT	OIS	OIT
CAT (nmoles/mg prot)	139±9	134±17	54±9*†	75±9*†
SOD (USOD/mg prot)	7,4±0,3	7,1±0,4	5,9±1,4	11,2±1,5*†‡
GPx (nmoles/mg ⁻¹ prot)	48±4,3	64±3,8*	50±3,0†	52±3,6†

Valores são apresentados como média ± EPM. CAT: Catalase, SOD: Superóxido dismutase, GPx: Glutathiona Peroxidase. *p<0,05 vs OS; †p< 0,05 vs OT; ‡p< 0,05 vs OIS.

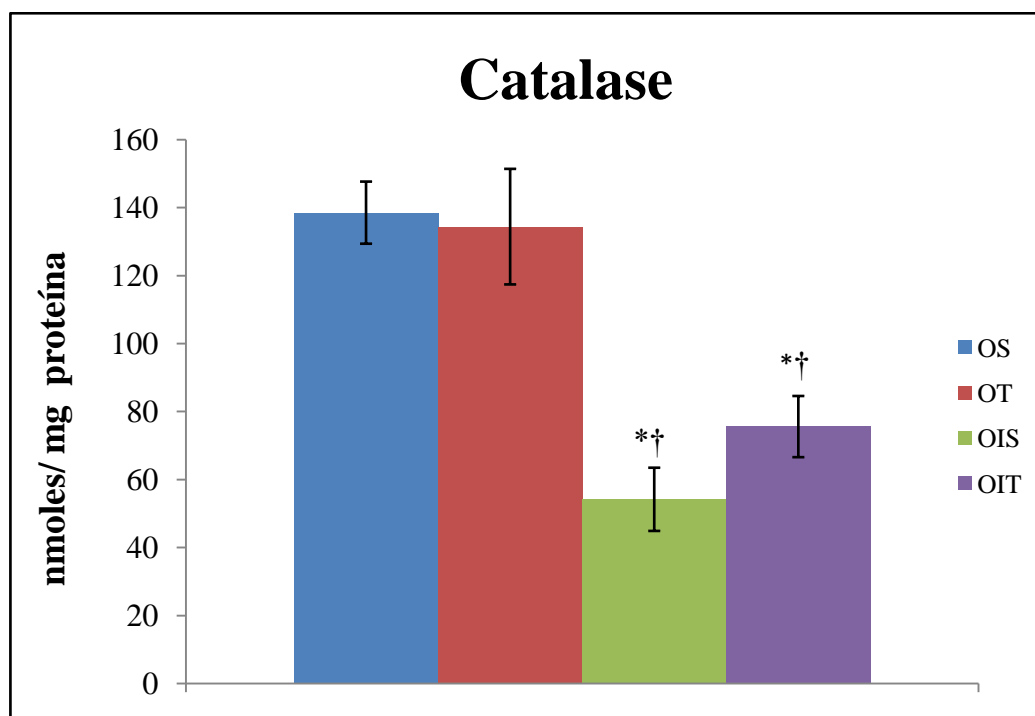


Figura 17: Concentração da catalase dos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). *p<0,05 vs OS; †p< 0,05 vs OT.

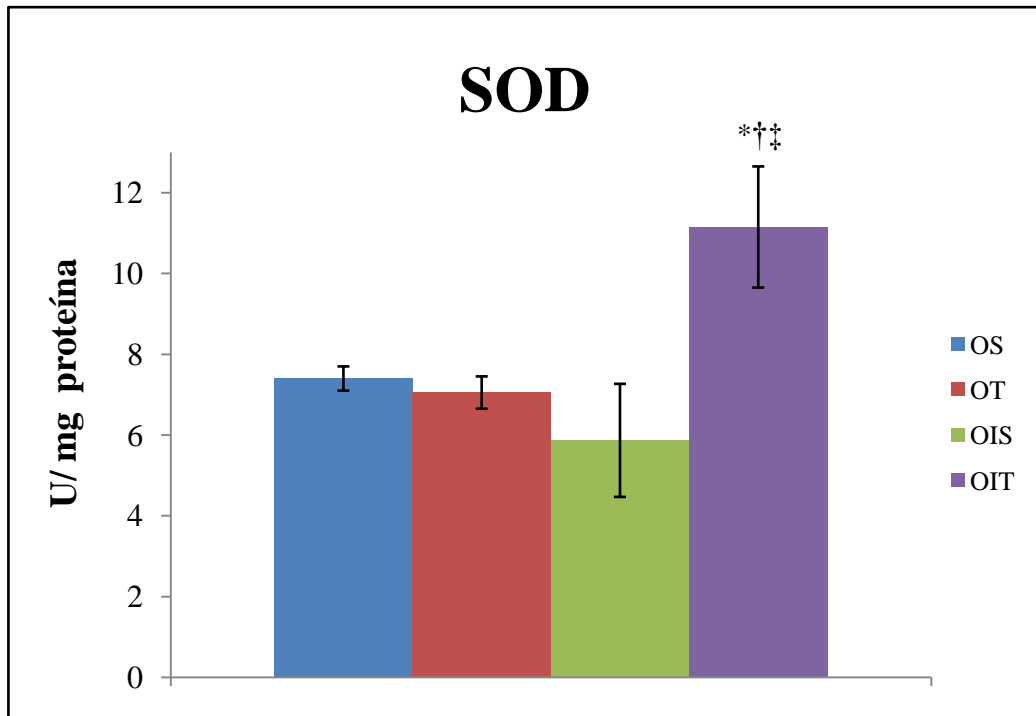


Figura 18 Atividade da SOD nos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; † $p < 0,05$ vs OT.

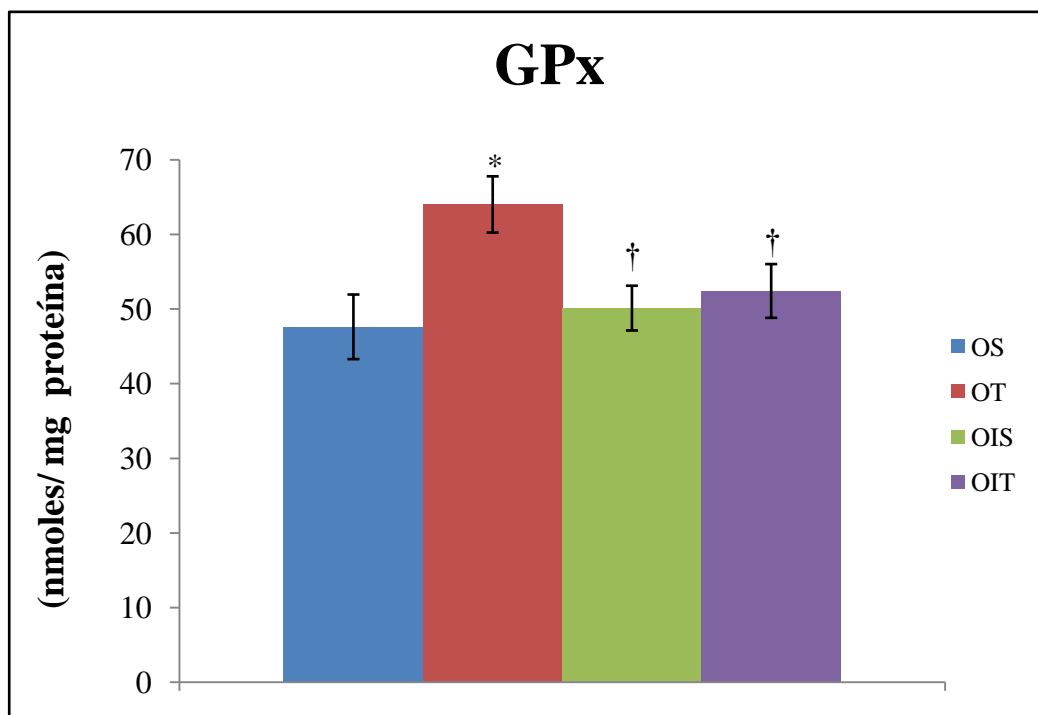


Figura 19 Atividade da GPx nos grupos ooforectomizado sedentário (OS), ooforectomizado treinado (OT), ooforectomizado infartado sedentário (OIS) e ooforectomizado infartado treinado (OIT). * $p < 0,05$ vs OS; † $p < 0,05$ vs OT.

6. DISCUSSÃO

Diferentes terapias têm sido testadas em mulheres na pós menopausa com o objetivo de minimizar os fatores de risco cardiovascular relacionados com a privação dos hormônios, e isso também é verdade para o manejo de mulheres pós eventos cardiovasculares. Neste aspecto, Hunt et al (2001) demonstraram que a reposição estrogênica em longo prazo em mulheres pós menopausa tinha um efeito positivo na regulação cardiovascular, evidenciado pelo aumento do ganho do BRS. Contudo, com a publicação de outros estudos clínicos, como o HERS (1998) e WHI (2002), a terapia de reposição hormonal começou a ser muito questionada, tendo em vista o aumento da incidência de acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, eventos trombóticos e carcinoma mamário, sendo que atualmente não deve ser indicada indiscriminadamente a todas as mulheres na pós menopausa.

O questionamento sobre o uso ou não da terapia de reposição hormonal na mulher menopausada levou a investigação de terapias alternativas que pudessem diminuir a incidência de DCV nessa população. Asikainen et al (2004) publicaram um revisão sistemática de estudos clínicos controlados evidenciando os benefícios do exercício físico regular no controle de peso corporal, constituição óssea, flexibilidade, VO_2 , PA e controle metabólico após a menopausa. Resultados de redução da PA em mulheres pré e pós menopausa na presença ou não de terapia de reposição hormonal foram descritas por Green et al (2002) após TF com intensidade de 60% do VO_2 de pico, apontando para a redução da RVP como mecanismo principal para a redução da PA. Além disso, Jurca et al (2004) demonstraram que somente 8 semanas de treinamento físico moderado induziram aumento na VAR-IP em mulheres pós menopausa sedentárias.

Nosso grupo demonstrou que 8 semanas de TF foi eficaz em melhorar a sensibilidade barorreflexa em ratas OVX (Irigoyen et al., 2005) e em ratas OVX diabéticas (Sousa et al., 2007) e, mais recentemente, mostramos que o TF pode aumentar a sensibilidade barorreflexa em ratas OVX infartadas (Flores et al., 2010).

Portanto, uma gama de conhecimento tem demonstrado os benefícios cardiovasculares advindos do TF aeróbio de baixa-moderada intensidade em mulheres na pós menopausa e também em modelos experimentais de menopausa associado a uma série de fatores de risco. Neste sentido, os resultados do presente estudo evidenciam atenuação das disfunções na modulação autonômica e no estresse oxidativo em ratas OVX submetidas ao IM após um programa de TF aeróbio dinâmico.

6.1. Efeitos da privação dos hormônios ovarianos associados ou não ao infarto do miocárdio no peso corporal de ratas.

No passado recente, não se sabia bem se o ganho de peso na mulher de meia idade estava relacionado com o envelhecimento *per se* ou se as mudanças hormonais decorrentes da menopausa eram responsáveis por tal ganho de peso. Wing et al (1991) estudaram prospectivamente (de 1984 a 1987) uma população de 485 mulheres de meia idade (42 a 50 anos no início do estudo) e verificaram que não houve diferença no ganho de peso entre mulheres que entraram na menopausa e as que ainda estavam na condição pré-menopausa (+2,07 kg vs. +1.35 kg, respectivamente), apesar de que o

ganho de peso estava associado ao aumento dos níveis de colesterol total e LDL e PA em todas as mulheres que apresentaram ganho de peso. De forma semelhante, o estudo SWAN, um estudo multicêntrico com aproximadamente 13.000 mulheres nos EUA, verificaram que o IMC em mulheres que entraram naturalmente na menopausa não era significativamente diferente de mulheres pré-menopausa (Matthews et al., 2001). Porém, uma publicação mais recente de tal estudo (Sowers et al., 2007) indicou que a mudança na circulação do hormônio folículo estimulante (FSH) estava positivamente correlacionados com a mudança da massa gorda durante 6 anos de acompanhamento em 543 mulheres caucasianas e africanas de meia idade. Além disso, os autores concluíram que o envelhecimento ovariano tem um importante papel na mudança de composição corporal na meia idade.

Em ratas fêmeas a retirada dos ovários, leva a restrição dos hormônios ovarianos semelhante à observada em mulheres após a menopausa, e induz aumento da ingestão de alimentos, do peso corporal e da resistência à insulina (Wattanapermpool & Reiser, 1999; Hernández et al., 2000; Latour et al., 2001; Irigoyen et al., 2005).

Um trabalho de nosso grupo mostrou que ratas com 9 semanas de OVX apresentaram aumento do peso corporal em relação às ratas saudáveis não OVX, apesar do consumo calórico diário não ser diferente e não haver resistência à insulina (Sanches, 2007), demonstrando que, talvez os hormônios ovarianos tenham um papel importante na manutenção do peso corporal e do metabolismo de lipídios (Rebuffe-Scrive et al., 1986; Price et al., 1998; Pedersen et al., 2004). No presente trabalho, apesar de não termos avaliado um grupo de fêmeas saudáveis, observamos média de peso corporal do grupo OS semelhante ao observado no trabalho de Sanches (2007) em fêmeas OVX sedentárias, sugerindo ganho de peso adicional decorrente da privação dos hormônios ovarianos nos animais desse nosso estudo.

6.2. Efeitos do treinamento físico no peso corporal de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio.

O TF pode ser uma abordagem favorável para redução e/ou controle do aumento de peso corporal, tanto em humanos (Bouchard, 2003; Shangold, 1990; Teixeira et al., 2003) quanto em animais de experimentação (De Angelis et al., 1997; Melo et al., 2003). Latour et al (2001) avaliaram o efeito do TF em ratas OVX e não verificaram redução do peso corporal. No presente trabalho o grupo OS apresentou maior ganho de peso ao longo do protocolo quando comparado ao grupo OT, evidenciando a eficiência do TF de intensidade leve-moderada como forma de controle do peso corporal. Tal resultado, confirma dados publicados de nosso grupo (Irigoyen et al., 2005; Sousa et al., 2007; Flues et al., 2010).

De forma semelhante ao observado no grupo OS, o grupo OIS apresentou maior ganho de peso corporal quando comparado aos grupos OT e OIT, demonstrando que o exercício físico é benéfico na modulação do ganho de peso corporal mesmo após o IM em ratas OVX.

Não sabemos o mecanismo pelo qual os grupos treinados apresentaram menor ganho de peso que os sedentários, pois não analisamos a ingestão calórica ao longo do estudo nem o gasto energético dos grupos. Outro trabalho de nosso grupo, demonstrou que ao final do protocolo de 8 semanas de TF as ratas OVX treinadas apresentaram menor ganho de peso corporal em relação as ratas OVX sedentárias mesmo não havendo diferença na quantidade de ração ingerida entre os dois grupos (Ponciano,

2006). Dessa forma, é possível que os grupos treinados tenham tido menor ganho de peso corporal por causa do maior gasto energético diário advindo das sessões de TF.

6.3. Efeitos do infarto do miocárdio na morfometria cardíaca de ratas ooforectomizadas

Devido a sua relevância clínica e uma relativa facilidade metodológica, a insuficiência cardíaca induzida pelo IM é um dos modelos mais utilizados nos trabalhos com animais de pequeno porte (Elsner & Rieger, 1995; Moisés et al., 2000). O IM experimental por ligadura coronariana foi utilizado no presente estudo, pois, está bem estabelecido na literatura que este procedimento provoca isquemia miocárdica e inicia um processo de disfunção e remodelamento do VE, além de induzir a formação de colaterais no coração (Pfeffer et al., 1991; Banai et al., 1994^{a,b}; Elsner & Riegger, 1995; Unger, 2001). Entretanto, as desvantagens de utilizar esse procedimento experimental incluem a necessidade da toracotomia, gerando uma mortalidade relativamente alta durante o procedimento cirúrgico e nas primeiras horas pós IM (~ 20% neste estudo), e a indução em muitos casos de uma IC moderada, que não ficou evidenciada neste trabalho (dados não mostrados) (Mostarda et al., 2010).

A caracterização do IM experimental ocorre de acordo com o tamanho da parede do VE que foi: inferiores a 20% do VE – pequenos; de 20-39% - moderados; maiores que 40% - grandes (Pfeffer et al., 1991).

A medida através da ecocardiografia possibilitou avaliações da área infartada no início e no final do protocolo. A imagem ultra-sonográfica das estruturas cardíacas e velocidade do fluxo sanguíneo pelo Ecodopplercardiograma, é amplamente reconhecida e utilizada pelos investigadores da área da saúde por proporcionar uma das mais acuradas medidas não invasivos para caracterização da massa ventricular e análise das funções sistólica e diastólica em humanos (Devereux, 1987; Devereux et al., 1986; Devereux e Reichek, 1977). Em animais de experimentação, o uso do ecocardiograma como metodologia não invasiva da análise das funções e estruturas cardíacas, também vem se tornando rotina graças ao avanço tecnológico e desenvolvimento de transdutores ultra-sonográficos com frequências maiores, que proporcionam uma resolução adequada a pequenas estruturas (Pawlush et al., 1993; Moisés et al., 2000). Essa prática vem sendo amplamente utilizada em estudos que requeiram análise anátomo-funcional do sistema cardiovascular no curso temporal de determinada patologia, exatamente por permitir a avaliação do animal até o final do experimento, nos diversos momentos oportunos do estudo.

Os resultados demonstram tamanhos de IM semelhantes no início e no final de nosso estudo (~ 35% da parede do VE). Através da medida direta do tamanho da área infartada do VE em papel milimetrado obtiveram-se valores semelhantes de tamanho de IM ao final do protocolo entre os grupos OIS e OIT (~44% da parede do VE). Segundo Moisés et al. (2000) a avaliação da área de infarto pelo ecocardiograma é uma medida 100% sensível, correlacionando-se com as avaliação anatomo-patológicas (Mostarda et al., 2010).

A ligadura da coronária em ratos causa uma perda em torno de 40% da massa de miócitos do ventrículo esquerdo (Anversa et al., 1985a; Pfeffer et al., 1991, Stefanon et al., 1994) sendo responsável pela hipotensão, redução da fração de ejeção e do DC (De

Angelis et al., 2001). (Anversa et al., 1985; Sun et al., 2002; Long & Brown, 2002). Os cardiomiócitos que sobrevivem à isquemia podem ativar a expressão de genes fetais promovendo a hipertrofia celular, como tentativa de preservar a função tecidual, sendo esta uma circunstância fisiológica que limita a capacidade de reparo do miocárdio isquêmico. Logo a massa ventricular remanescente se hipertrofia (Anversa et al. 1985b, Meggs et al., 1993). Os dados do presente estudo demonstraram maior massa cardíaca e ventricular nas ratas após o IM (grupos OIS e OIT em relação aos grupos OS e OT), avaliada diretamente através do peso do VE e da razão do peso ventricular/peso corporal.

Estudos como de Meggs et al (1993) demonstraram aumento da largura e comprimento (hipertrofia) dos miócitos remanescentes 1 semana após o infarto, porém, associado a esta hipertrofia havia comprometimento da mecânica dessa células. A hipertrofia dos cardiomiócitos para não ser o único fator que contribui para o aumento de peso do VE e da relação peso ventricular/peso corporal.

Na fase proliferativa do processo de reparo e remodelamento ventricular pós IM, ocorre diferenciação e proliferação dos fibroblastos para miofibroblastos. Estas células modificadas são determinantes na reorganização da matriz extracelular, ao sintetizar colágeno, proteoglicanos, fibronectina no local do infarto, levando à formação de um tecido fibroso e um dos fatores mais importantes para ocorrer essa diferenciação é o aumento da expressão de TGF (Desmouliere et al., 1996). Esse tecido fibroso origina uma cicatriz, a qual é visível através da histologia (Giraldez e Cardoso, 2005) e está associado com a depressão de função cardíaca.

Epifanio et al (2004) mostraram que ratos com 90 dias de infarto, por ligadura, apresentavam aumento do peso do VE e da razão peso VE/peso corporal associados à hipertrofia dos cardiomiócitos remanescentes (aumento da área celular - hematoxilina e

eosina) e à fibrose intersticial no local de IM (fração de colágeno - solução vermelha de picrossírius). Porém os grupos desse trabalho tratados por 3 meses com lisopril (inibidor da ECA) e losartan (antagonista do receptor AT1 da ANGII) apresentaram redução do peso do VE e da razão peso VE/peso corporal acompanhados de redução da fração de colágeno intersticial e da área dos cardiomiócitos em comparação com o grupo infartado não tratado, apesar desses parâmetros ainda estarem aumentados em relação ao grupo não infartado.

O peso do VE e da razão peso VE/peso corporal (ou peso do coração/peso corporal) são parâmetros muito utilizados na pesquisa experimental para identificar hipertrofia miocárdica e apesar da análise desses parâmetros *per se* não serem capazes de diferenciar se o aumento do peso ventricular ou da razão peso VE/peso corporal após o infarto são advindos da hipertrofia miocárdica, do acúmulo de tecido fibroso e fibroblastos ou das duas coisas em conjunto. Os modelos experimentais de IM com ratos, camundongos e os cachorros nos demonstram que a elevação desses parâmetros durante remodelamento ventricular após a isquemia miocárdica é consequência tanto da hipertrofia de cardiomiócitos quanto da formação de tecido fibrótico (Pfeffer et al., 1979; Patten et al., 1998; Senzaki et al., 2000; Epifanio et al., 2004; Zamo et al., 2010). Apesar de não podermos afirmar qual dos processos de remodelamento ventricular (hipertrofia celular ou deposição de colágeno) foi mais predominante no nosso modelo de menopausa e infarto, é provável que ambos aconteceram, contribuindo para o aumento do peso do VE e da razão peso ventricular/peso corporal do grupos infartados do presente trabalho

6.4. Efeitos do treinamento físico na morfometria cardíaca de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio.

Até alguns anos atrás, a utilização do treinamento físico era controversa em casos de IM, pois se acreditava que poderia ocasionar a expansão da área infartada (Kloner & Kloner, 1983; Hochman & Healy, 1986). Todavia, outros estudos demonstraram melhora periférica significativa em situações de grave disfunção cardíaca (Sullivan et al., 1988; Coats et al., 1992). Resultados importantes de Oreste et al. (1995) evidenciaram benefícios do TF em ratos infartados na hipertrofia cardíaca remanescente no VE, demonstrando melhora no remodelamento cardíaco através do processo de atenuação da dilatação ventricular e da expressão da β -miosina de cadeia pesada no miocárdio, sem melhora da PDF, da $+dP/dt$ e nem da $-dP/dt$ nos animais infartados.

Os resultados do presente estudo, em fêmeas ooforectomizadas não evidenciaram alterações significativas decorrentes do treinamento físico nos parâmetros de morfometria cardíaca tanto nos grupos infartados como não infartado, confirmando dados recentemente publicados por nosso grupo (Flores et al., 2010) e sugerindo que o gênero pode ser determinante nas adaptações da morfometria cardíaca pós IM em ratos. Trabalhos como o de Bertagnoli (2004) com SHR machos mostrou que o grupo SHR treinado apresentou menor índice de hipertrofia cardíaca em comparação ao grupo SHR sedentário, porém esse índice não foi normalizado aos valores dos ratos não hipertensos. Já Silva (2010) demonstrou que o TF não foi capaz de reduzir o índice de hipertrofia cardíaca com SHR machos com desnervação sino-aórtica.

6.5. Efeitos do infarto do miocárdio na capacidade física de ratas ooforectomizadas

O teste ergoespirométrico máximo ou o teste de consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) é considerado um “*gold standart*” na análise de capacidade funcional de atletas e indivíduos doentes, pois esse parâmetro expressa a saúde funcional dos sistemas cardiovascular, respiratório e musculoesquelético (Myers et al., 1998). Esse método tem sido utilizado na clínica, na em programas de atividade física e programas de reabilitação cardíaca (Bittner et al., 1993; Cahalin et al., 1996).

A quantificação da resposta cardiorrespiratória no exercício agudo e crônico, usando diferentes métodos (como feito em humanos) tem sido uma prática comum na investigação de modelos animais. Na prática experimental, a medida de VO_2 máx é uma ferramenta não invasiva de alto valor no estudo da capacidade funcional de animais. Por outro lado, a utilização desse método tem seu uso limitado tendo em vista o alto custo de um equipamento de análise de gases e sua característica de grande dispêndio de tempo. Dessa forma, o teste de esforço máximo (TE), no qual o animal corre até a exaustão (escalonado), numa esteira, tem sido utilizado em nosso grupo como método alternativo para a avaliação da capacidade física e, a velocidade máxima atingida no TE é utilizada para prescrever a intensidade do treinamento em condições patológicas ou não, em nossos trabalhos (De Angelis et al., 2000; Bertagnolli et al., 2006; Irigoyen et al., 2005).

Nosso grupo evidenciou primeiramente, que existia correlação entre VO_2 e velocidade do teste de esforço em ratas saudáveis na fase não ovulatória e em ratas com 9 semanas de ooforectomia (Figuroa et al., 2006). Recentemente, outro trabalho de

nosso grupo (Rodrigues et al., 2007) demonstrou, com maior profundidade, que a velocidade de corrida do TE tem correlação ($r=0,9$) com o consumo máximo de oxigênio em ratos controle e diabéticos machos. Dessa forma, através de uma equação de regressão linear, obtida no trabalho, podemos estimar o consumo de oxigênio para uma determinada carga de trabalho (velocidade de corrida) e, além disso, os valores de VO_2 preditos pela equação têm alta correlação ($r=0,81$) com os valores de VO_2 medido pela análise de gases. Dessa maneira, O TE pode ser utilizado como um indicador de capacidade cardiorrespiratória e pode ser usado na investigação dos efeitos do exercício agudo e crônico em ratos.

Além disto, em pacientes com disfunção ventricular a intolerância ao exercício é uma manifestação clínica bastante comum, além do mais, esta se correlaciona com o grau de disfunção cardíaca e à severidade da doença (Jikuhara et al., 1997; Negrão et al., 2001). Bigi et al (2001) demonstraram uma reduzida capacidade de esforço, $VO_{2\text{ máx}}$ e uma correlação positiva entre a queda do VO_2 m $VO_{2\text{ máx}}$ e o limiar anaeróbico em pacientes após evento isquêmico. Nossos resultados evidenciam discreta redução (12%) na velocidade máxima atingida no TE no grupo OVX infartado em relação ao grupo somente OVX, porém sem diferenças estatisticamente significantes.

6.6. Efeitos do treinamento físico na capacidade física de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio.

No presente trabalho, evidenciamos melhora na capacidade física nos grupos que foram submetidos ao protocolo de TF. Os grupos OT e OIT alcançaram maiores velocidades nos testes de esforço (TE2 e TE3) quando comparados ao início do estudo. Já os grupos OS e OIS apresentaram manutenção da velocidade alcançada ao longo do estudo em relação ao TE inicial. O grupo OT apresentou melhora significativa ao final do estudo quando comparado aos grupos OS e OIS. Já o grupo OIT apresentou melhora na capacidade de exercício em relação ao grupo OIS. Diferenças de desempenho físico podem ser detectadas pelo teste de esforço uma vez que, conforme comentado anteriormente, a velocidade máxima obtida no teste de esforço foi correlacionada com o $VO_{2\text{ máx}}$ em ratos machos saudáveis e diabéticos (Rodrigues et al., 2007). Vale salientar que a medida do $VO_{2\text{ máx}}$ tem sido amplamente utilizada na prática clínica no diagnóstico de doenças pulmonares e cardiopatias, principalmente a IC para a melhor orientação e classificação funcional dos sujeitos.

A melhora da capacidade física é um marcador da eficiência do TF. Essa adaptação já foi demonstrada em humanos saudáveis (Blair et al., 1989), hipertensos (Kokkinos et al., 1995) e também é um achado comum após o TF em ratas OVX (Irigoyen et al., 2005), rata OVX diabéticas (Sousa et al., 2007), ratas OVX hipertensa (Brito, 2008), camundongos OVX Knockout para o receptor de LDL (Hereen, 2008) e recentemente em ratas OVX infartadas (Flores et al., 2010). Resultados semelhantes foram obtidos em mulheres pré-menopausa (Green et al., 2002), menopausadas sem

(Green et al., 2002; Kirwan et al., 2003; Irving et al., 2003; Aiello et al., 2004) e com reposição hormonal (Green et al., 2002; Teixeira et al., 2003).

6.7. Efeitos da privação dos hormônios ovarianos associados ou não ao infarto do miocárdio no perfil hemodinâmico e modulação autonômica de ratas.

O aumento na incidência de DCV em mulheres coincide com o advento da menopausa e, conseqüentemente, com a privação dos hormônios ovarianos e parece estar intimamente ligado às mudanças na PA. Estudos demonstram que a PA de mulheres é mais baixa do que a de homens até a faixa etária dos 50-60 anos. Após essa fase, que coincide com o advento da menopausa, a PA (particularmente a sistólica) aumenta nas mulheres e a hipertensão torna-se mais prevalente (Stamler et al., 1976) ou, pelo menos, igualmente prevalente entre homens e mulheres, sugerindo que os hormônios ovarianos possam ser responsáveis pela PA mais baixa em mulheres pré-menopausa e a sua ausência pelo aumento da PA em mulheres menopausadas (Staessen et al., 1997).

De fato, alguns estudos têm associado à privação ovariana ao aumento da PA e de eventos cardiovasculares em mulheres (Staessen et al., 1989; Staessen et al., 1997; Weiss, 1972) e em ratos SHR e Dahl sal sensíveis (Recckelhoff et al., 2000; Crofton et al., 1993). O aumento da PA também tem sido observado após a inibição da produção hormonal pelos ovários em mulheres jovens por meio de intervenções medicamentosas

ou cirúrgicas, o que indica não ser o fator idade o único determinante para o aumento da incidência de DCV em mulheres menopausadas (Viridis et al., 2000). As diretrizes para a prevenção de doenças cardiovasculares em mulheres (Mosca et al., 2007) recomendam que é de extrema necessidade a otimização (~120/80 mmHg) da PA para a prevenção de doenças cardiovasculares, sendo está recomendação de classe 1 nível, classe B.

Existem várias evidências de que alterações no controle barorreflexo e no sistema nervoso simpático estejam envolvidas no desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial (Chapleau et al., 2001; Lanfranchi et al., 2002; Biaggioni, 2003; Schlaich, 2004; Smith, 2004). Dessa forma, a compreensão da influência dessas alterações autonômicas na geração e manutenção da hipertensão arterial e seu possível controle são de grande importância para o estabelecimento e tratamento da fisiopatologia dessa doença.

No presente estudo, as ratas OVX sedentárias apresentaram aumento da PA quando comparadas a ratos controles, considerando dados previamente publicados por nosso grupo (De Angelis et al., 1999; De Angelis et al., 2002) ou descritos na literatura por outros grupos (Hernandez et al., 2000). De fato, recentemente, um estudo de nosso grupo (Flues et al., 2010) confirmou que 9 semanas de OVX induzem aumento da PA, por volta de 15mmHg na PAM.

Por outro lado, Nickening et al (1998) não observaram aumento na PA em ratas ooforectomizadas, provavelmente devido ao fato das avaliações hemodinâmicas terem sido realizadas cinco semanas após a OVX contra as nove semanas no presente estudo. É interessante notar que os níveis pressóricos da PAM após a ooforectomia ficaram em torno de 125mmHg, o que seria classificado como hipertensão leve.

A PA é a resultante da combinação instantânea entre o DC e a RVP, e qualquer alteração em um ou outro desses componentes, ou mesmo em ambos, interfere nos níveis pressóricos (Michelini, 1999; Irigoyen et al., 2003). Os níveis de PA gerados pelo componente cardíaco e vascular são rigorosamente controlados por complexos mecanismos que modulam não só a manutenção como a variação momento a momento da PA, regulando o calibre dos vasos, a reatividade vascular, a distribuição de fluido dentro e fora dos vasos e o DC (Michelini, 1999; Irigoyen et al., 2003).

Existem várias evidências de que alterações no controle barorreflexo (BRS), no sistema nervoso simpático e sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) estejam envolvidas no desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial (Chapleu et al., 2001; Lanfranchi et al., 2002; Biaggioni, 2003; Schalaich, 2004; Smith, 2004). De fato, Flues et al (2010) mostraram que o aumento da PA em ratas OVX estava associado com prejuízo BRS, aumento de tônus simpático cardíaco e diminuição de tônus vagal cardíaco. Além disso, Hinojosa-Laborde et al (2004) mostraram que a partir de 8 semanas (4 meses de vida) de OVX, ratas Sprague-Dawley já apresentavam elevação de PA em comparação com ratas saudáveis, e esse resultado estava associado com aumento da densidade de receptores AT1 no córtex e medula adrenal, sugerindo aumento da atividade do SRAA.

No presente trabalho usamos a variabilidade do IP e PAS nos domínios do tempo e frequência para buscar um mecanismo que explicasse as alterações hemodinâmicas. Poucos são os trabalhos que buscaram avaliar a variabilidade da FC e PAS em ratas OVX infartadas. Nesse ponto, essa é uma inovação do conhecimento que trazemos, demonstrando as alterações da modulação autonômica em ratas OVX e OVX infartadas. Um limite de nosso estudo é o fato de não termos um grupo controle de fêmeas saudáveis em fases não ovulatória do ciclo estral para mostrar as diferenças de

modulação autonômica causadas pela OVX e OVX + IM. Apesar dessa limitação, um estudo prévio de nosso grupo (Sanches, 2007) não demonstrou alterações da modulação autonômica no domínio do tempo e da frequência do IP em ratas OVX quanto comparadas com ratas controle, entretanto, vale destacar que foi observado 105% de aumento do componente de BF da pressão arterial sistólica nas ratas OVX quando comparadas as ratas saudáveis deste estudo. Em contra partida, Flues et al (2010) mostraram que ratas OVX apresentaram redução de 44% no tônus vagal cardíaco e aumento de 100% no tônus simpático cardíaco em associação à um prejuízo do BRS em comparação com ratas intactas.

Estudos em mulheres pré-menopausa apresentam resultados conflitantes em relação à influência do ciclo menstrual e da ação dos hormônios ovarianos na sensibilidade barorreflexa, demonstrando inalteração da sensibilidade barorreflexa nas diferentes fases do ciclo menstrual de mulheres (Cooke et al., 2002), aumento da sensibilidade deste reflexo em mulheres na fase luteína quando comparada à fase folicular (Minson et al., 2000) e maior resposta do barorreflexo em mulheres na fase folicular quando comparada à fase luteína (Tanaka et al., 2003). Já em mulheres pós-menopausa foi evidenciada redução da sensibilidade barorreflexa, associada à elevação PA e ao aumento da incidência de DCV (Hunt et al., 2001).

Para demonstrar as alterações no BRS utilizamos o índice alfa. Esse índice é considerado como indicativo do barorreflexo espontâneo, pois, permitem identificar, continuamente, pequenas variações do IP frente às variações da PAS, sem a necessidade de se induzir respostas de FC através de alterações na PA com drogas vasoativas (Quaglioto et al., 2008). No trabalho de Sanches (2007) ratas OVX tinham menor sensibilidade barorreflexa para respostas taquicárdicas induzidas por drogas vasoativas quando comparadas às ratas controle. Flues et al (2010) também observaram prejuízo de

41% na sensibilidade barorreflexa para respostas taquicárdicas, em ratas OVX comparadas a ratas intactas. Apesar de não termos um grupo controle saudável para as devidas comparações, acreditamos que o grupo OS do presente trabalho apresentou disfunção do BRS, uma vez que o índice alfa desse grupo trabalho apresentou valores semelhantes aos do grupo OVX sedentários no estudo de Sanches (2007).

Apesar do prejuízo no controle autonômico tônico cardiovascular nesse modelo de menopausa, a literatura não tem demonstrado alterações importantes na FC de repouso (Flues et al., 2010; Hernandez et al., 2000) ou até mesmo na VAR-IP (Sanches., 2007). Vale ressaltar que o valor da VAR-IP do presente estudo é semelhante ao do estudo de Sanches (2007).

Com relação aos efeitos do IM em ratas OVX, em nosso estudo observou-se uma redução da PA nas ratas OIS quando comparados às ratas OS conforme previamente demonstrado na literatura por Mill et al (1991), Meyrelles et al (1994), De Felice et al (1989) e De Angelis et al (2001) em ratos machos e mais recentemente por Gill et al (2006) em cães. Até onde sabemos, pouco são os trabalhos que utilizaram o modelo de IM em fêmeas e muito menos são os trabalhos com fêmeas OVX. No trabalho de Flores (2006) também foi evidenciado redução da PA nas ratas infartadas. Um possível mecanismo que explique a hipotensão pós IM é a redução do DC e de fato, no trabalho supracitado, foi observado redução de 15, 50 e 31 % na pressão sistólica do VE, na $-dP/dt$ e na $+dP/dt$, respectivamente, no grupo de fêmeas ooforectomizadas e infartadas sedentárias em relação às fêmeas não infartadas, demonstrando que realmente ratas OVX infartadas sedentárias apresentam um déficit de contratilidade e de relaxamento miocárdico importante.

Os resultados de nosso trabalho demonstram FC semelhantes quando comparados os grupos OIS, OIT e OS. No entanto, outros autores observaram previamente, taquicardia nos animais com 1 e 10 dias após IM (Mill et al., 1991; Meyrelles et al., 1994; Lacerda et al., 2007). Nesses estudo, a taquicardia na fase aguda do IM foi atribuída a uma ativação dos barorreceptores arteriais em face da redução da PA (Guazzi et al., 1975; Lacerda et al., 2007). Em contrapartida, Lacerda et al (2007) demonstraram que a taquicardia é substituída pela bradicardia em 7 dias após o IM. Hipotensão e taquicardia algumas horas após o IAM foram observadas também em humanos com infarto de parede anterior do VE (Webb et al., 1972).

A hiperatividade simpática é um achado comum em pacientes com IC (Roveda et al., 2003; Floras, 1993) e também em animais de experimentação (Módolo et al., 1995; Gill et al., 2006), e normalmente, está associada à uma diminuída sensibilidade barorreflexa, sendo considerada um fator de mal prognóstico, de forma que quanto maior a atividade simpática pior o prognóstico e maior risco de morte na IC (Cohn et al., 1984 ; De Busk., 1989).

Apesar de não termos demonstrado aumento significatante da atividade simpática, através da modulação autonômica do IP no grupo OIS em relação ao grupo OS, de forma semelhante ao observado em humanos com IC (Roveda et al., 2005), é interessante ressaltar que, mesmo sem diferença estatística, a banda de BF normalizada do grupo OIS estava 38% maior em relação ao grupo OS. Recentemente nosso grupo demonstrou que o efeito simpático cardíaco de ratas ooforectomizadas infartadas sedentárias foi ~50% maior que em ratas ooforectomizadas não infartadas, sendo que esse prejuízo foi acompanhado por prejuízo na sensibilidade barorreflexa e por aumento da ativação dos receptores cardiopulmonares (Flores et al., 2010).

Trabalhos mostraram que o controle barorreflexo da frequência cardíaca (Billman et al., 1982; Kleiger et al., 1987; Schwartz et al., 1988) e a variabilidade do IP (Kleiger et al., 1987) podem estar prejudicados após o IM e, dessa forma, servem para identificar subgrupos de pacientes altamente susceptíveis a arritmias ventriculares malignas (La Rovere et al, 1988). Com a publicação do estudo ATRAMI (La Rovere et al., 1998) a sensibilidade barorreflexa, em pacientes infartados, passou a ser reconhecida como uma importante medida de função autonômica e preditor de mortalidade. Este estudo demonstrou que a sensibilidade do barorreflexo pode prever a mortalidade de pacientes pós IM, independentemente da fração de ejeção do VE. No presente estudo, o IM não aumentou o prejuízo no índice alfa nas OIS quando comparadas às ratas do grupo OS. Nossos resultados são confirmados pelo recente trabalho de Flores et al(2010), o qual também não encontrou aumento do prejuízo da sensibilidade barorreflexa em ratas OVX infartadas quando comparadas com ratas OVX não infartadas. É possível que a privação dos hormônios ovarianos já tenha induzido um dano na sensibilidade do barorreflexo a um nível que o IM não fosse capaz de aumentar tal dano.

La Rovere et al (1998) também demonstraram no estudo ATRAMI que VAR-IP é um parâmetro de controle autonômico cardiovascular e estratificação de risco de mortalidade, estando diminuído após o IM (risco de morte aumentada). Neste aspecto, vale salientar que o grupo OIS apresentou redução de 40% na VAR-IP em relação ao grupo OS.

O aumento da VAR-PAS já foi indicada como um fator de risco para AVC e mortalidade em pacientes velhos (Pringle et al., 2003). Recentemente foi demonstrado que esse parâmetro está relacionado com o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, independentemente de hipertensão, em ratos com desnervação sino-aórtica, por ativar

vias parácrinas e mecanossensíveis (Martinka et al., 2005). No presente estudo, o IM não aumentou a VAR-PAS no grupo OIS em comparação com o grupo OS. Corroborando com nosso resultado, Mostarda et al (2010) não demonstraram elevação da variabilidade da PAS (medida pelo desvio padrão da PAS) em ratos machos com 90 dias de IM. É importante ressaltar que no trabalho de Sanches (2007) não foi observado aumento da VAR-PAS em ratas OVX quando comparadas às ratas saudáveis.

6.8. Efeitos do treinamento físico no perfil hemodinâmico e na modulação autonômica em ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio.

Com relação aos efeitos do treinamento físico em ratas ooforectomizadas, um importante achado de nosso estudo foi essa abordagem ter sido capaz de prevenir a elevação da PA observada após nove semanas de privação dos hormônios ovarianos nas ratas não IM (Irigoyen et al., 2005; Flues te al., 2010). Resultados obtidos em ratos machos SHR evidenciaram a redução da PA após TF aeróbio de baixa-moderada intensidade (Gava et al., 1995). Além de redução da PA, Melo et al (2003) demonstraram alterações benéficas na microcirculação de ratos hipertensos submetidos a um protocolo de TF de moderada intensidade.

Este achado de redução da PA a níveis de normalização também foi documentado em humanos hipertensos treinados (Whelton et al., 2002; Kokkinos et al., 1995) e em

mulheres normotensas pós-menopausa, que participaram de um protocolo de treinamento físico durante 15 semanas (~65% do consumo máximo de oxigênio) (Asikainen et al., 2003). Resultados de redução da PA em mulheres pré e pós menopausa na presença ou não de terapia de reposição hormonal foram descritas por Green et al (2002) após TF com intensidade de 60% do VO_2 de pico, apontando para a redução da resistência periférica como mecanismo principal para a redução da PA. Todavia, vale destacar que nem todos os estudos demonstram diminuição da PA em mulheres menopausadas após TF (Asikainen et al., 2003).

A bradicardia de repouso tem sido utilizada como um marcador cardiovascular da eficácia do TF. Vários estudos têm demonstrado bradicardia de repouso em ratos machos normotensos jovens (Negrão et al., 1992a), ou velhos (De Angelis et al., 1997), em camundongos (De Angelis et al, 2004) e em humanos (Frick, 1967; Katona et al., 1982) treinados. Corroborando com estes estudos, no presente trabalho foi observado bradicardia de repouso nas ratas OVX após o período de treinamento. Este fato pode estar associado ao aumento da modulação parassimpática (ação vagal) sobre a FC pós-TF, o que já foi descrito na literatura neste e em outros modelos experimentais (Musch et al., 1989, De Angelis et al., 2004, Irigoyen et al., 2005). Atualmente, o aumento da VAR-IP é uma elegante ferramenta para demonstrar benefícios do treinamento físico no controle autonômico cardiovascular. Neste aspecto, observamos aumento de 44% na VAR-IP, associado à redução do balanço simpato-vagal cardíaco, no grupo OT demonstrando uma melhora do controle autonômico cardíaco nesse grupo.

Além disso, observamos que banda de BF normalizada do IP estava reduzida no grupo OT, sugerindo que a modulação simpática para o coração poderia estar diminuída, promovendo redução de DC e da RPT. A banda AF normalizada do IP, a qual representa em grande parte de sua totalidade a modulação parassimpática

(Akselrod et al., 1985), estava aumentada no grupo OT, sugerindo uma maior modulação parassimpática cardíaca. Este resultado corrobora o achado de Flores et al (2010), no qual o tônus vagal (bloqueio farmacológico) estava aumentado em ratas OVX treinadas. Em conjunto a melhora no balanço simpato-vagal no grupo OVX treinado sugere que tal mecanismo possa estar envolvido na bradicardia de repouso observado nesses animais no presente estudo.

Em um estudo prévio de nosso grupo demonstramos que a LPO estava correlacionada negativamente com a sensibilidade barorreflexa para as respostas bradicárdicas ($r=-0,7$) e para as respostas taquicárdicas ($r=-0,8$) em ratas OVX treinadas e sedentárias, sugerindo que quanto menor a LPO maior é a sensibilidade barorreflexa (Irigoyen et al., 2005).

No presente estudo, o TF aumentou em 50% o índice alfa no grupo OT. É possível que a melhora da sensibilidade barorreflexa nas ratas OVX após 8 semanas de TF possa estar relacionada com a melhora da complacência arterial associada à redução do estresse oxidativo, uma vez que alguns estudos abordam redução de estresse oxidativo como forma de alteração benéfica da sensibilidade barorreflexa, atuando no aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico, que em mulheres pós menopausa pode estar comprometido devido a privação dos hormônios ovarianos (Hernandez et al., 2000; Mullan et al., 2002; Irigoyen et al., 2005).

Com relação aos efeitos do TF no perfil hemodinâmico em ratas OVX + IM, observamos que a hipotensão de repouso induzida pelo IM foi prevenida pelo TF de 8 semanas nas ratas OVX, observando-se valores de PA no grupo OIT semelhantes aos do grupo OT. Esta melhora da PA no grupo OIT quando comparado ao grupo OIS pode estar associado à melhora da função cardíaca, da sensibilidade barorreflexa ou ainda,

segundo alguns autores, a melhora do fluxo coronariano e do $VO_{2\text{máx}}$ (tanto da diferença artério-venosa de oxigênio quanto do débito cardíaco) (Musch et al., 1989; Brown et al., 2003). Flores, (2006) evidenciou normalização da PA e junto a isso demonstraram que a fração de ejeção do VE estava positivamente correlacionada com o efeito vagal ($r=0,84$) e negativamente com o efeito simpático ($r=-0,7$), nos grupo de ratas OVX infartadas sedentárias e OVX infartadas treinadas, sugerindo que quanto melhor o controle autonômico cardíaco melhor será a função sistólica (fração de ejeção).

O TF reduziu a atividade simpática cardíaca, das ratas do grupo OIT em relação ao grupo OIS. Segundo Pliquet et al (2003) o TF de 3 semanas em esteira reduziu a atividade nervosa simpática, avaliada através da medida da atividade simpática renal e das catecolaminas plasmáticas em coelhos com IC e mais recentemente, num trabalho de nosso grupo (Rondon et al., 2006) o TF de intensidade leve, aumentou o VO_2 pico e reduziu a atividade simpática renal de ratos macho com IC 30 dias pós IM.

De acordo com Módolo et al. (1995) ratos infartados apresentam prejuízo no controle vagal da FC, sugerindo existir alterações da sinapse neuro-efetora vagal, tanto na fase aguda do IM (1 a 3 dias), quanto na fase crônica (30 dias após IM). Li e et al (2004) observaram melhora da atividade vagal após um tratamento com estimulações vagais em animais com IC, o que preveniu a falha da contratilidade e o remodelando cardíaco, resultando em aumento do tempo de sobrevida. Rondon e colaboradores (2006) mostraram que o TF em animais com IC pós IM, aumentou a atividade do nervo depressor aórtico (elevação da frequência de disparo aferente) juntamente com aumento da banda de alta frequência do intervalo de pulso (eferente vagal) e houve melhora da sensibilidade barorreflexa. Assim, no presente trabalho, o aumento da modulação parassimpática cardíaca, pelo aumento da banda de AF normalizada do IP sugere um papel benéfico no TF na regulação autonômica cardíaca pós IM, o que poderia ser

associado a uma maior sensibilidade barorreflexa. Recentemente confirmamos esta hipótese demonstrando que o aumento do efeito vagal e diminuição do efeito simpático cardíaco estavam associados a uma maior sensibilidade barorreflexa (Flores et al., 2010). De fato, o TF nas ratas do grupo OIT aumentou o índice alfa em 53% no presente estudo, aproximando ao valor do índice alfa do grupo OT. Essa resposta do índice alfa induzida pelo TF se refletiu na VAR-IP do grupo OIT, ressaltando que o valor desse parâmetro nesse grupo foi semelhante ao grupo OS, reduzindo o dano adicional provocado pelo IM.

Achados de um estudo com pacientes infartados evidenciaram melhora da sensibilidade barorreflexa para as respostas de bradicardia, além de redução da atividade simpática (microneurografia da atividade simpática muscular), aumento da atividade vagal e melhora dos níveis plasmáticos de noraepinefrina após quatro semanas de treinamento físico em cicloergômetro (Mimura et al., 2005).

Não podemos excluir a possibilidade de que a melhora desse reflexo nos grupos treinados (OT e OIT) esteja associado com outras alterações nos componentes centrais e eferentes do ramo barorreflexo. Neste aspecto, Pan e colaboradores (2007) verificaram que o TF preveniu a disfunção barorreflexa provocada pela administração central de ANGII em ratos previamente saudáveis. Entre os mecanismos envolvidos na melhora da sensibilidade barorreflexa em indivíduos infartados são sugeridos à ação central da ANG II, a qual é reduzida após programas de TF (Boscan et al., 2001), além da importante ativação central dos receptores muscarínicos verificada em ratos (Taira e Enero, 1989).

Outro aspecto importante que deve ser ressaltado é a diminuição da VAR-PAS nos grupos treinados. A VAR-PAS já foi apontada como um marcador de AVC em

pacientes velhos (Pringle et al., 2003) e é um fator associado com a hipertrofia cardíaca em ratos com desnervação sino-aórtica (SAD), a qual produz uma importante ablação do BRS. Alguns estudos têm demonstrado que esse modelo experimental (SAD) apresenta uma exacerbada VAR-PAS (Mostarda et al., 2010, Silva., 2010) e que o TF não foi eficaz em melhorar esse parâmetro em ratos SAD normotensos ou hipertensos (Silva., 2010). Em contrapartida, o TF no presente trabalho foi eficaz em reduzir a VAR-PAS em ambos os grupos treinados. Se pensarmos que uma importante ablação do BRS induz aumento exacerbado da VAR-PAS, a melhor da BRS induz a diminuição da VAR-PAS. Logo, a diminuição da VAR-PAS nos grupos treinados pode sugerir uma melhor BRS.

Os resultados apresentados de perfil hemodinâmico e modulação autonômica demonstraram que o TF por 8 semanas induziu melhora na sensibilidade do BRS espontâneo nas ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos infartadas ou não-infartadas. A melhora na sensibilidade barorreflexa, principalmente no grupo infartado treinado, observadas no presente estudo reforça o importante papel da prática de exercícios físicos regulares como forma de tratamento não-farmacológico nas disfunções cardiovasculares. Estes achados parecem corroborar com o importante estudo de La Rovere *et. al.*, (2002) que demonstrou em humanos que o treinamento físico após o IM pode modificar favoravelmente a sobrevida em longo prazo (10 anos) de pacientes do sexo masculino através da melhora da sensibilidade barorreflexa e do balanço autonômico após treinamento físico nestes indivíduos infartados.

6.9. Efeitos da privação dos hormônios ovarianos associada ou não ao infarto do miocárdio no perfil oxidativo de ratas.

O conceito de estresse oxidativo foi primeiramente representado por uma balança na qual haveria um desequilíbrio entre fatores oxidantes (ERO) e antioxidantes, com o predomínio dos fatores oxidantes causando dano oxidativo em diversas biomoléculas e prejudicando suas funções fisiológicas. Dessa forma, gerou-se um conceito que as ERO seriam nocivos às células, uma vez que diversas doenças crônicas degenerativas estão associadas a danos como a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos ao DNA. Atualmente, talvez a balança não seja a melhor forma de representar uma condição de estresse oxidativo ou saúde, uma vez que altas concentrações de ERO realmente produzem dano á biomoléculas estando associadas à diversas doenças crônicas degenerativas (Southorn et al., 1988b; Ames et al., 1993; Berry et al., 2001; Fukio et al., 2001). Contudo baixas concentrações também são prejudiciais porque comprometem o sistema de defesa contra microorganismos invasores como na condição de doença granulomatosa crônica, processos proliferativos importantes e sinalização intracelular (Berendes et al., 1957; Quie et al., 1967; Suzuky et al., 1997; Kunsch & Medford, 1999). Logo, uma determinada faixa concentrações de ERO e nitrogênio parecem ter um papel importante para a homeostase dos organismos, participando de respostas inflamatórias e reparo de tecidos, como no processo de reestenose após angioplastia (Azevedo et al., 2000), sinalização intracelular, por exemplo na ativação do fator NF-Kb pela concentração de GSSG (Droge et al., 1994; Suzuky et al., 1997) e na regulação autócrina/parácrina do tônus vascular pelo equilíbrio entre a

ação vasoconstritora do radical superóxido e vasodilatadora do NO (Halliwell, 1992; Moncada et al., 1991).

Alguns trabalhos experimentais têm mostrado que a privação dos hormônios sexuais leva a danos oxidativos, provavelmente relacionados á redução de defesas antioxidantes. De fato, um trabalho prévio de nosso grupo (Barp et al., 2002) demonstrou que ratas com somente 7 dias de OVX apresentaram aumento de 20% na LPO cardíaca evidenciada por QL e diminuição de 29% na atividade da SOD quando comparadas aos seus controles, não havendo diferença na atividade de GPx e CAT. De fato a diminuída LPO em ratas intactas quando comparadas a ratas OVX ou machos parece estar vinculada com as propriedades antioxidantes *per se* dos estrogênios e sua ação regulatória sobre enzimas antioxidante (Amal et al., 1996; Barbacanne et al., 1999).

A incidência de IM e complicações relacionadas à doença aterosclerótica em mulheres pré menopausa é menor que em homens e o início da equivalência nas taxas de eventos cardiovasculares entre os sexos coincide com o advento da menopausa e conseqüentemente da privação estrogênica (Brenner, 1988; Eaker et al., 1988). Um dos mecanismos que podem estar relacionados com cardioproteção dos estrogênios seria a preservação da função endotelial, através de ação antioxidante, a qual é perdida durante a transição para a menopausa ou após a OVX (Niki & Nakano, 1990; Barp et al., 2002; Gago-Domingues et al.,2005).

Diversas evidências na literatura têm mostrado a importância relativa do estresse oxidativo na perda da função cardíaca pós IM e transição para a IC em ratos (Hill & Singal, 1996, 1997) e humanos (Weitz et al., 1991; Diaz-Velez et al., 1996). Esses achados são reforçados por trabalhos que fizeram o uso de antioxidantes e mostraram

que o pré-tratamento com vitamina E limitou a necrose miocárdica em coelhos (Axford-Galey & Wilson, 1991) e cachorros (Mickle et al., 1989).

Apesar dos benefícios do tratamento com alguns antioxidantes, terem sido mostrados em modelos animais, 2 estudos clínicos controlados com grande número de pacientes não mostraram efeitos com tratamento de vitamina E em pacientes pós IM (GISSI study, 1999) ou pacientes com doenças vasculares e diabetes (HOPE Trial, 2005). Em contrapartida, o estudo CHAOS demonstrou que a utilização da vitamina E reduziu a incidência de IM não fatal em pacientes com doença coronária. Portanto, ainda não existe um consenso sobre a utilização de antioxidantes no tratamento de doença arteroesclerótica ou até mesmo no IM.

Previamente foi relatado o curso temporal das alterações do estado redox e defesa antioxidante, após o IM, em ratos machos (Hill & Singal, 1996). Nesse trabalho do grupo de Singal, os autores observaram que na oitava semana pós IM havia redução de 64% no índice GSH/GSSG e, apesar dos autores não terem observado diferença estatística nesse índice (somente com 16 semanas), a concentração da GSH estava reduzida em 24% (com diferença estatística). Além disso, nesse trabalho os autores concluíram que as mudanças na função cardíaca estavam acompanhadas de mudanças no dano oxidativo, reserva antioxidante e estado redox. No primeiro estágio pós IM o dano oxidativo a lipídios de membrana não era diferente do grupo controle e a função cardíaca não estava deprimida, sendo essa condição associada provavelmente à manutenção da atividade da defesa antioxidantes (SOD, CAT, GPx e vitamina E) e ao aumento do estado redox mostrado pelo aumento da razão GSH/GSSG. Nos últimos estágios (8 e 16 semanas pós IM) havia uma função cardíaca deprimida com estabelecida insuficiência congestiva e essa condição estava associada com redução de todas as enzimas antioxidante e vitamina E. Particularmente a SOD só estava

significativamente diminuída na décima sexta semana. Esse achado sobre a atividade da SOD corrobora com os achados de Zanchi et al (2008) no qual 30 dias após IM não houve diminuição da atividade da SOD em aortas, sugerindo que o aumento de produção de radical superóxido possa estar mais relacionado com o aumento da atividade da NADPH oxidase e não com o radical superóxido produzido pela mitocôndrias.

Em relação à alteração do estado redox e dano oxidativo na isquemia miocárdica em fêmeas, Ramires & Ji (2001) mostraram que 40 minutos de isquemia seguida de reperfusão em fêmeas Spragues- Dawley saudáveis não alterou a atividade das enzimas SOD, CAT, GPX, GR e GGT, porém levou a uma redução de 30% na razão GSH/GSSG. Além disso, essas ratas apresentaram redução da PSVE e da $+dP/dt$ no final da reperfusão em comparação ao período pré-isquemia. É necessário destacar que como modelo de I/R não produz uma oclusão definitiva da artéria coronária descendente esquerda, assim, talvez o IM não seja tão grande quando no modelo de ligadura da coronária esquerda descendente.

O presente trabalho parece ser um dos primeiros a avaliar o estresse oxidativo e a adaptação das enzimas antioxidantes em um modelo de menopausa associado ao IM. Em nosso trabalho, 8 semanas de IM promoveu redução de 71% do índice GSH/GSSG no grupo OIS em comparação com o grupo OS, um percentual semelhante ao mostrado por Hill & Singal (1996). Porém, além do grupo OIS ter tido redução de 28% na GSH, observamos aumento de 55% na GSSG, apresentando assim uma clara condição de estresse oxidativo nesse grupo. Além disto, observamos que as ratas OVX infartadas apresentaram redução significativa da concentração da enzima CAT no tecido cardíaco, sem alteração da atividade das enzimas SOD e GPx.

6.10. Efeitos do treinamento físico no perfil oxidativo de ratas ooforectomizadas submetidas ou não ao infarto do miocárdio.

O TF tem se mostrado uma alternativa como tratamento não farmacológico de doenças cardiovasculares (Tipton et al., 1991; Wallberg et al., 1988; Negrão e Barreto, 1998; La Rovere et al., 2002) e evidências têm mostrado que o mesmo é eficaz em diminuir o estresse oxidativo em diversas doenças cardiovasculares provavelmente relacionado com o aumento das defesas antioxidantes (Fukai et al., 2000; Ramires & Ji, 2001; Rush et al., 2003, Irigoyen et al., 2005; Bertagnolli et al 2006, 2008).

Sabe-se que a LPO está associada ao aumento da morbidade cardiovascular em indivíduos velhos (Patricio et al., 2002), com diabetes (Liguori et al., 2001), está associado à IC (Weitz et al., 1991; Diaz-Velez et al., 1996) e à mulheres no pós-menopausadas (Gago-Domingues et al., 2005). Vale ressaltar que a LPO se inicia com a reação do hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado da membrana celular com a ERO, promovendo, dessa forma, a perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo de organelas e formação de produtos citotóxicos culminando em muitos casos com a morte celular (Hershko, 1989). Portanto, pode-se sugerir que quando há diminuição da LPO há menos danos para a célula.

Alguns autores já demonstraram que o treinamento físico pode reduzir a LPO cardíaca em modelos de menopausa (Irigoyen et al., 2005; Brito, 2008; Hereen, 2008), mas nem todos apresentaram efeitos uniformes nas adaptações de enzimas antioxidantes cardíacas. Nesse ponto já foi demonstrado que o treinamento físico promoveu:

- Aumento da atividade da SOD sem alteração da CAT e GPx em ratas OVX (Irigoyen et al., 2005);
- Aumento da concentração da CAT, sem alteração da SOD e GPX em ratas OVX normotensa e hipertensas submetidas ao consumo crônico de frutose (Brito, 2008);
- Aumento da atividade da SOD sem alteração da concentração da CAT em camundongos OVX; e aumento da atividade da SOD com aumento da atividade da CAT em camundongos OVX Knockout do receptor LDL (Hereen, 2008).

Os resultados do presente trabalho mostram que o treinamento físico reduziu a LPO no grupo OT em comparação a seu controle. A enzima GPx apresentou aumento de atividade após o treinamento físico, juntamente com o aumento da razão GSH/GSSG, (principalmente pelo aumento do conteúdo de GSH). É provável que a redução da LPO nesse grupo tenha ocorrido tanto pelo aumento da ação da GPx na redução de peróxidos orgânicos quanto pela elevação do conteúdo de GSH, servindo como co-substrato da GPx e ação não enzimática contra peróxidos orgânicos e inorgânicos (Chance et al., 1979; Reed, 1990).

Confirmando em parte os resultados do presente estudo, previamente nosso grupo demonstrou que 8 semanas de treinamento físico aeróbio em ratas OVX foi capaz de diminuir a LPO cardíaca, porém as enzimas responsáveis pela detoxificação do peróxido de hidrogênio (CAT) e de hidroperóxidos orgânicos (GPX) (substâncias estas relacionadas com a iniciação H_2O_2 em HO^\bullet e propagação $-LOO^\bullet-$ da LPO) não apresentaram aumento de atividade após o treinamento físico, somente a enzima SOD aumentou sua atividade (Irigoyen et al., 2005).

Com relação aos efeitos do TF sobre as adaptações de defesa antioxidante e estado redox frente a insultos de isquemia, podemos destacar o elegante trabalho de Ramires & Ji (2001). Ratas treinadas por 10 semanas apresentaram atividade aumentada das enzimas cardíacas SOD, GPx, GR em relação às sedentárias tanto na situação basal quanto após o insulto de isquemia/reperfusão. Após a condição de isquemia/reperfusão a enzima GGT apresentou elevação de sua atividade quando se comparou o grupo treinado na situação basal com a situação I/R, provavelmente, buscando aumentar o transporte de GSH do sangue para o coração. Contudo a redução da razão GSH/GSSG e o aumento do conteúdo de malondialdeído (MDA) cardíaco após a I/R não foi diferente entre os grupos treinado e sedentário. Somente o treinamento físico associado com a suplementação de GSH foi eficaz de reduzir o conteúdo de MDA e a razão GSH/GSSG após a I/R, com significativa recuperação da PSVE após a reperfusão.

No presente estudo, o TF reduziu a LPO no grupo OIT em comparação à sua contraparte sedentária e enfatizamos que o valor de LPO do grupo OIT foi semelhante ao do grupo OT. Apesar da redução do dano a lipídios de membrana, interessantemente, após o treinamento físico a concentração da CAT e a atividade da GPx continuaram reduzidas em relação ao grupo OS. Somente a enzima SOD aumentou de atividade no grupo OIT, estando de acordo os trabalhos de Rush e colaboradores (2003) e Zachi e colaboradores (2008). Possivelmente esta adaptação está relacionada com a tentativa de diminuir a ação inativadora do ânion superóxido sobre o NO, aumentada após o IM (Laurindo et al., 1994; Moncada et al., 1991).

Contudo, não podemos justificar a redução da LPO no grupo OIT pelo aumento do estado redox, pois esse grupo não apresentou aumento da razão GSH/GSSG, na verdade a GSH foi semelhante a do grupo OIS. Uma hipótese para o não restabelecimento do estado redox após o TF no grupo OIT é uma possível redução da

atividade da enzima glutathione redutase impedindo que a GSSG seja reduzida novamente para GSH ou mesmo na enzima limitante do ciclo gama-glutamil, a gama-glutamylcysteamine synthase, contribuindo para o não restabelecimento do estado redox das ratas do grupo OIT.

Outro mecanismo que pode ter ocorrido nos ratos do grupo OIT é o aumento da concentração do antioxidante não-enzimático, a tioredoxina (Trx). Essa pequena proteína também é um tiol que contém grupo (-SH-), o qual doa seu H^+ para neutralizar e/ou reduzir radicais livres e é reduzida pelo tioredoxina redutase (TrxR) (Gautam et al., 2006). É necessário relatar que Jone (2006) enfatiza que os sistemas de defesa antioxidante podem ser ativados independentemente visando combater um distúrbio oxidativo. Esse autor relatou que a GSH e a Trx não estão em equilíbrio e podem ser controladas de forma independente. Dessa forma, o treinamento físico no grupo OIT talvez tenha ativado vias intracelulares de sinalização (como a Akt/GSK-3 β /Nrf-2) relacionadas com o aumento da expressão do sistema Trx/TrxR, promovendo melhora do estado redox e diminuição da LPO independente da razão GSH/GSSG (Piantadosi et al., 2008).

7. SUMÁRIO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Sumarizando os resultados pode-se afirmar que ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos apresentaram:

- área de IM semelhante após 8 semanas de treinamento ou sedentarismo;
- hipertrofia cardíaca pós IM, que não foi alterada pelo treinamento físico;
- menor ganho de peso corporal quando submetidas a treinamento físico em relação a sedentárias, independentemente da presença de IM;
- melhora da capacidade física após o treinamento físico independentemente de terem sido submetidas ao IM;
- Hipotensão, acompanhada de redução da VAR-IP e aumento do componente BF do IP, representativo da modulação simpática cardíaca, pós IM;
- normalização da PA pós treinamento físico independentemente de terem sido submetidas ao IM;
- bradicardia de repouso pós treinamento físico;
- VAR-IP aumentada, VAR-PAS e balanço simpato-vagal cardíaco reduzidos após 8 semanas de treinamento físico independentemente de terem sido submetidas ao IM;
- melhora da sensibilidade barorreflexa espontânea, avaliada pelo índice alfa após treinamento físico, independentemente de terem sido submetidas ao IM;
- prejuízo no perfil oxidativo pós IM, caracterizado por redução da razão GSH/GSSG e da concentração da CAT no tecido cardíaco;

- diminuição da LPO, avaliada pela QL, associada com o aumento da atividade da GPx e melhora do estado redox cardíaco, avaliado pela razão GSH/GSSG, quando submetidas a treinamento físico;
- diminuição da LPO, avaliada pela QL, associada ao aumento da atividade da SOD no tecido cardíaco quando submetidas a treinamento físico pós IM..

Os resultados do presente estudo evidenciam que a o treinamento físico de baixa-moderada intensidade induz melhora hemodinâmica e na modulação autonômica de ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos associado ao aumento da defesa antioxidante enzimática e à melhora do estado redox. Entretanto, o achado mais importante presente estudo foi a significativa melhora hemodinâmica e autonômica em ratas ooforectomizadas e infartadas pós treinamento físico, que foi acompanhada de redução da peroxidação lipídica e aumento da defesa antioxidante em tecido cardíaco.. Em conjunto, esses resultados reforçam o importante papel do treinamento físico com uma abordagem não farmacológica na prevenção e/ou tratamento de mulheres menopausadas após evento isquêmico.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACSM Position stand: Exercise and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*; Special Communications, 2004.

ADAMS, S., WILLIAMS, V. e VESSEY, M.P. Cardiovascular disease and hormone replacement treatment: a pilot case-control study. *BMJ*, 13:510-516, 1995.

AEBI, H. Catalase in vitro. *Meth. Enzymol.* 105, 121–126, 1984.

AFZAL, A., BRAWNER, C.A. e KETEYIAN, S.J. Exercise training in heart failure. *Prog Cardiovasc Di.*; 41(3):175-90, 1998.

AIELLO, E.J., YASUI, Y., TWOROGER, S.S., ULRICH, C.M., IRWIN, M.L., BOWEN, D., SCHWARTZ, R.S., KUMAI, C., POTTER, J.D. e McTIERNAN, A. Effect of yearlong, moderate-intensity exercise intervention on the occurrence and severity of menopause symptoms in postmenopausal women. *Menopause*, 11(4):382-388, 2004.

AKERBOOM, T.P.; SIES, H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymology*, v.77, p.373-382, 1981.

AKSELROD, S., D. GORDON, *et al.* Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am J Physiol*, 249:H867-75. 1985.

ALDERMAN, M.H. *Reconhecimento e tratamento dos pacientes com hipertensão arterial*. In: *Cardiologia na Clínica Geral*. Lee Goldman e Eugene Braunwald org. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara-Koogan, p. 283-296, 2000.

AMERICAN HEART ASSOCIATION: Heart and stroke facts. Dallas, Texas. *AHA*, 1998.

AMERICAN HEART ASSOCIATION: Heart disease and stroke statistics- 2005 update. Dallas, Texas. *AHA*, 2005.

AMES, B.N.; SHIGENAGA, M.K.; HAGEN, T.M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.90, p.7915-7922, 1993.

AMODEO, C. & HEIMANN, J.C. Endotélio e hipertensão arterial sistêmica: mecanismos de lesão/novo alvo terapêutico? *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, 1:121 -129, 2003.

ANVERSA, P., BEGHI, C., KIKKAWA, Y. & OLIVETTI, G. Myocardial response to infarction in the rat. Morphometric measurements of infarct size and myocyte cellular hypertrophy. *American Journal of Pathology*, 118:484-492, 1985a.

ANVERSA, P., LOUD, A.V., LEVICKY, V. e GUIDERI, G. Left ventricular failure induced by myocardial infarction: Myocyte hypertrophy. *American Journal of Physiology*, 248: H876-h882, 1985b.

ARAÚJO, M.T.M, CABRAL, A.M. e VASQUEZ, E.C. Exaggerated Bezold-Jarisch reflex in the hypertension induced by inhibition of nitric oxide synthesis. *Br J Med Res*; 28(9):1009-1112, 1995.

ARMSTRONG, L.E., BRUBAKERM, P.H., OTTO, R.M: ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. In: *American College of Sports Medicine 7th edition*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 66-99, 2005.

ARNAL, J.F., CLAMENS, S., PECHET, C, et al. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 93: 4108-4113, 1996.

ASIKAINEN, T.M., MIILUNPALO, S., KUKKONEN-HARJULA, K., NENONEN, A., PASANEN, M., RINNE, M., UUSI-RASI, K., OJA, P. e VUORI, I. Walking trials in postmenopausal woman: effect of low doses of exercise and exercise fractionization on coronary risk factors. *Scan J Med Sci Sport*; 13:284-292, 2003

ASIKAINEN, T.M., KUKKONEN-HARJULA, K. e MIILUNPALO, S. Exercise for health for early postmenopausal women: a systematic review of randomized controlled trials. *Sports Med*; 34:753-778, 2004.

AXFORD-GATLEY, R.A., WILSON, G.J. Reduction of experimental myocardial infarct size by oral administration of alpha tocopherol. *Cardiov-asc R*, 25:89-92,1991.

AZEVEDO, L.C.P., PEDRO, M.D.A., SOUZA, L.C, et al. Oxidative stress as a signaling mechanism of the vascular response to injury: the redox hypothesis of restenosis, *Cardiovasc Res*, 47: 436-445, 2000.

BASSAND, J.P. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction-solved and unsolved issues. *Eur Heart J*, 16(1): 58-63, 1995.

BARBACANNE, M.A., RAMI, J., MICHEL, J.B., SOUCHARD, J.P, et al. Estradiol increases increases rat aorta endothelium-derived relaxing factor (EDRF) activity without changes in endothelial NO synthase gene expression: possible role of decreased endothelium-derived superoxide anion production. *Cardiovascular Research*, 41: 672-681, 1999.

BARNEY, J.A., EBERT, T.J., GROBAN, L., FARREL, P.A., HUGHES, C.V. & SMITH, J.J. Carotid baroreflex responsiveness in high-fit and sedentary young men. *Journal of Applied Physiology*, 65:2190-2194, 1988.

BARP, J., ARAÚJO, A.S.R., FERNANDES, T.R.G., RIGATTO, K.V., LLESUY, S, Belló-Klein, A; SINGAL, P. Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones. *Braz J Med Biol Res* 35(9) 2002.

BEDFORD, T.G. & TIPTON, C.M. Exercise training and the arterial baroreflex. *JAP*, 63: 1926-1932, 1987.

BERENDES, H., BRIDGES, R.A., GOOD, R.A. A fatal granulomatosis of childhood: the clinical study of a new syndrome. *Minn Méd*, 40: 309–312.1957.

BERRY, C., BROSNAN, M.J., FENNEL, J., HAMILTON, C.A., DOMINICZAK, A.F. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, v.10, p.247-255, 2001.

BERTAGNOLLI, M. Efeitos do treinamento físico no controle reflexo da pressão arterial e estresse oxidativo de ratos espontaneamente hipertensos. *Dissertação de mestrado* (2004).

BERTAGNOLLI, M., CAMPOS, C., SCHENKEL, P.C., DE OLIVEIRA, V.L., DE ANGELIS K.L.D., BELLÓ-KLEIN, A., RIGATTO, K., IRIGOYEN, M.C. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. *Journal of Hypertension*, v.24, p.2437-2443, 2006.

BERTAGNOLLI, M., SCHENKEL, P.C., CAMPOS, C., ; MOSTARDA, C. T., CASARINI DE ., BELLÓ-KLEIN A ; IRIGOYEN, M. C. ; RIGATTO K. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Hypertension*, v. 21, p. 1188, 2008.

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v.61, p. 882-888, 1963.

BIAGGIONI, I. Sympathetic control of the circulation in hypertension: Lessons from autonomic disorders. *Curr Opin Nephrol Hypertens.*; 12: 175-80, 2003.

BILLMAN, G.E; P.J; SCHWARTZ; *et al.* Baroreceptor reflex control of heart rate: a predictor of sudden cardiac death. *Circulation*. v.66: p.874-80. 1982.

BITTNER, V; WEINER, D.H; YUSUF, S; ROGERS, W.J; MCINTYRE, K.M; BANGDIWALA, S.I; KRONENBERG, M.W; KOSTIS, J.B; KOHN, R.M; GUILLOTTE, M; GREEMBERG, B; WOODS, P.A, BOURASSA, M.G. Prediction of

mortality and morbidity with a 6-minute walk test in patients with left ventricular dysfunction. SOLVD investigators. *JAMA*, 270:1702-1707, 1993.

BLAIR, S.H., KOHL III, H.W., PAFFENBARGER Jr, R.S., CLARK, D.G., COOPER, K.H. e GIBBONS, L.W. Physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy men and women. *JAMA*; 262:2395-2401, 1989.

BOSCAN, P., ALLEN, A.M. e PATON, F.R. Baroreflex inhibition of cardiac sympathetic outflow is attenuated by angiotensin II in the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience*; 103:153– 160, 2001.

BOVERIS, A. & CHANCE, B. The Mitochondrial generation of hydrogen peroxide. *Biochemical Journal*, v.134, p.707-716, 1973.

BOUCHARD, C. *Atividade física e obesidade*. Barueri- Sp: Manole, 2003.

BRENNER, P.F. The menopausal Syndrome. *Obstet Gynecol*, 72 (5 suppl): 6-11, 1988.

BROWN, D.A., JEW, K.N., SPARAGNA, G.C., MUSCH, T.I. e MOORE, R.L. Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart. *J appl Physiol*; 95:2510-2518, 2003.

BURT, V.I., WHELTON, P., ROCELLA, E.J., et al. Prevalence of hypertension in the US adult population: results of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Hypertension* 25:305-313, 1995.

CAI, H; DAVIS, M.E; DRUMMOND, G.R; HARRISON, D.G. Induction of endothelial NO synthase by hydrogen peroxide via a Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II/janus kinase 2-dependent pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.21:1571– 6.2001.

CAHALIN LP, MATHIER MA, SEMIGRAN MJ, WILLIAM G, DISALVO TG: The six-minute walk test predictors peak oxygen uptake and survival in patients with advanced heart failure. *Chest*, 110:325-332, 1996.

CARVALHO, M.H.C; AUGUSTO, O; et al. Vascular free radical release: ex vivo and in vivo evidence for a flow-dependent endothelial mechanism. *Circ Res.*74:700–9.1994.

CHANCE, B; SIES, H & BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian tissues. *Physiol. Rev.*,59: 527-605, 1979

CHAPLEAU, M.W; LI, Z; MEYRELES, S.S; MA, X; SBOUD, F.M. Mechanisms determining sensitivity of baroreceptor afferentes in healthy and disease. *Ann N Y Acad Sci.* 940: 1-19.2001.

COHN, J.N; LEVINE, T.B; OLIVARI, M.T; GARBERG, V; LURA, D; FRANCIS, G.S; SIMON A.B AND RECTOR T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 311: 819–823. 1984.

COLLINS, P, BEALE, C.M & ROSANO, G.M.C. Oestrogen as a calcium channel blocker. *European Heart Journal*, 17 (Suppl D): 27-31, 1996.

COOKE, W.H., LUDWING, D.A., HOGG, P.S., ECKBERGS, D.L. e CONVERTINO, V.A. Does the menstrual cycle influence the sensitivity of vagally mediated baroreflexes? *Clinical. Science*, 102:639–644. 2002

CONSOLIM-COLOMBO, F.M., FILHO, J.A., LOPES, H.F., SOBRINHO, C.R., OTTO, M.E., RICCIO, G.M., MADY, C. e KRIEGER, E.M. Decreased cardiopulmonary baroreflex sensitivity in Chagas' heart disease. *Hypertension. Dec*; 36(6):1035-9, 2000.

DE ANGELIS, K.L.D., OLIVEIRA, A.R., WERNER, A., BOCK, P., BELLÓ-KLEIN, A. e IRIGOYEN, M.C. Exercise training in aging: hemodynamis, metabolic, and oxidative stress evaluations. *Hypertension*, 30(3) II: 767-771, 1997.

DE ANGELIS, K.L.D, GADONSKI, G., FANG, J., DALL'AGO, P., ALBUQUERQUE, V.L., PEIXOTO, L.R.A., FERNANDES, T.G. e IRIGOYEN, M.C. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. *Hypertension*, 34 (2):768-772, 1999.

DE ANGELIS, K.L.D., OLIVEIRA, AR., DALL'AGO, P., PEIXOTO, L.R.A, GADONSKI, G., FERNANDES, T.G. e IRIGOYEN, M.C. Effects of exercise training in autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*, 33: 635-641, 2000.

DE ANGELIS, KL.D., SCHAAN, B.D., MAEDA, C.Y., DALL'AGO, P., WICHI, R.B. e IRIGOYEN, M.C. Cardiovascular Control in Experimental Diabetes. *Braz J Med Biol Res* 35(9):1091-1100, 2002.

DE ANGELIS, KL.D., WICHI, R.B., JESUS, W.W., MOREIRA, E.D., MORRIS, M., KRIEGER, E.M. e IRIGOYEN, M.C. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *J Appl Physiol*. Jan 16, 2004.

DE BUSK, R.F. Evaluations of patients after recent acute myocardial infarction. *Ann Intern Med*, 110:485, 1989.

DE FELICE, A., FRERING, R. e HORAN, P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *Am J Physiol*, 26: H289-H296, 1989.

DELGADO, J.L; LANDERAS, J; CARBONELL, L.F; et al. Effect of N-Acetylcysteine on vascular endothelium function in aorta from oophorectomized rats. *Gen Pharmacol* 32: 23-27.1998.

DESMOULIERE A, GABBIANI G. The role of the myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. In: Richard, AF, eds. The molecular and cellular biology of wound repair. *New York, NY: Plenum Press*; p.391-423, 1996.

DIAZ-VELEZ, C.R; GARCIA-CASTINEIRAS, S; MENDOZA-RAMOS, E; HERNAN-INFARCDEZ- LOPEZ E. Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. *Am Heart J*.131:146–152. 1996.

DROGE, W; SCHULZE-OSTHOFF, K; MIHM, S; GALTER, D; SCHENK, H; ECK, H.P; ROTH, S; GMUNDER, H. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *Faseb J*. 8: 1131–1138, 1994

DRUMMOND, G.R; CAI, H; DAVIS, M.E; RAMASAMY, S; HARRISON, D.G. Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by hydrogen peroxide. *Circ Res*. 86:347– 54, 2000.

EAKER, E.D; PACKARD, B; WENGER, N.K; CLARKSON, T.B; TYROLER, H.A. Coronary artery disease in women. *Am J Cardiol*, 61: 641-644, 1988.

ELSER D, RIEGGER GAJ. Characteristics and clinical relevance of animal models of heart failure. *Cur Opin Cardiol*, 10: 253-259, 1995.

EPIFANIO, B.H., ZORNOFF, L.A.M., MATSUBARA, B.B., et al. Myocardial Remodeling After Experimental Acute Myocardial Infarction in Rats. Effect of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blockade. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 84(1), 2005.

FIGUEROA, D; RODRIGUES, B.; FLORES, L. J. F.; BORIM, C; IRIGOYEN, M.C; DE ANGELIS, K. Correlação entre velocidade do teste de esforço máximo e consumo de oxigênio em ratas fêmeas saudáveis e submetidas à privação dos hormônios ovarianos. In: Simpósio internacional de ciências do esporte, 2006, São Paulo. *Anais do XXIX simpósio interacional de ciências do esporte*, 2006. p. 1-343

FINKEL, T; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 408:239–47.2000.

FLETCHER, P., PFEFFER, J., PFEFFER, M. e BRAUNWALD, E. left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction: Effects of systolic function. *Circ. Res.* 49:618-626, 1981.

FLOHÉ, L.; GUNZLER, W.A. Assay of Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymology*, v.105, p.114-121, 1984.

FLORES, L.J.F. Efeitos do treinamento físico em ratas ooforectomizadas e infartadas: Avaliações do controle autonômico da circulação. *Dissertação de mestrado*, 2006.

FLORES, J.L.; FIGUEROA, D.; SANCHES, I.C.; JORGE, L.; IRIGOYEN, M.C.; RODRIGUES, B.; DE ANGELIS, K. Effects of exercise training on autonomic dysfunction management in an experimental model of menopause and myocardial infarction. *Menopause*, in press.

FLUES K, PAULINI J, BRITO S, SANCHES IC, CONSOLIM-COLOMBO F, IRIGOYEN MC, DE ANGELIS K. Exercise training associated with estrogen therapy induced cardiovascular benefits after ovarian hormones deprivation *Maturitas*, 65(3):267-71, 2010.

FRANCHINI, K.G. & KRIEGER, E.M. Neurogenic hypertension in the rat. *Handboock of Hypertension*. Genetic and Experimental Models of Hypertension (II). D. Gantem (Ed.). Elsevier Publisher Co., Amsterdam. 1995.

FRICK, M.H. The mechanisms of bradycardia evoked by physical training. *Cardiologia*. 51: 46-54, 1967.

FUKAI, T; SIEGFRIED, M.R; USHIO-FUKAI, M; CHENG, Y; KOJDA, G; HARRISON, D.G. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *J Clin Invest.*105:1631-9.2000.

FUKIO T, YOSHIYAMA M, HANATANI A, ET AL. Expression of gp22-phox and gp91-phox, essential components of NADPH oxidase, increases after myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun*; v.28, p.1200-06, 2001

GAUTAM, M; NIKOLAI, G; SAMARJIT, D; et al. Ischemic Preconditioning Triggers Nuclear Translocation of Thioredoxin and Its Interaction with Ref-1 Potentiating a Survival Signal Through the PI-3-Kinase-Akt Pathway. *Antioxidants & Redox Signaling*. 8:11-12. 2006.

GAVA, N.S., VERÁS-SILVA, A.S., NEGRÃO, C.E. e KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*; 26: 1129-1133, 1995.

GONZALEZ FLECHA, B.; LLESUY, S.; BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. *Free Radical Biology & Medicine*., v.10, p.1093-100, 1991.

GONZALES, J.U; THISTLETHWAITE, J.R; THOMPSON, B.C; SCHEUERMANN, B.W. Exercise-induced shear stress is associated with changes in plasma von Willebrand factor in older humans. *Eur J Appl Physiol*.106(5):779-84.2009.

GRANGER, D.L.; ANSTEY, N.M.; MILLER, W.C.; WEINBERG, J.B. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods in Enzymology*, v.301, p.49-61, 1999.

GREEN M. AND HILL H. Em: *Methods in Enzymol*. 1984; 105: 3-9

GREEN, J.S., STANFORTH, P.R., GAGNON, J., LEON, A.S., RAO, D.C., SKINNER, J.S., BOUCHARD, C., RANKINEN, T. e WILMORE, J.H. Menopause, estrogen, and training effects on exercise hemodynamics: the HERITAGE study. *Med Sci Sports Exerc*; 34(2):74-82, 2002.

GRUPPO ITALIANO PER LO STUDIO DELLA SOPRAVVIVENZA NELL'INFARTO MIOCARDICO, Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *The Lancet*. **354**: 447-55.1999.

GRYGLEWSKI, R.J.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature*, v.320, p.454-456, 1986.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986; 246: 501-14.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990; 186: 1-85

HALLIWELL B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992; 59: 1.609-23.)

HARRISON, D.G. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *Journal of Clinical Investigation*, v.100, p.2153–2157, 1997.

HARTHMANN, A.D.; DE ANGELIS, K.; COSTA, L.P.; SENADOR, D.; SCHAAN, B.D.; KRIEGER, E.M.; IRIGOYEN, M.C. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. *Autonomic Neuroscience*, 2007.

HAYASHI, T; YAMADA, K; ESAKI, T; KUZUYA, M; SATKE, S; ISHIKAWA, T; HIDAKA, H; AND IGUCHI, A. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem Biophys Res Commun* 214: 847–855, 1995.

HEREEN, M.V. Efeitos do treinamento físico em parâmetros hemodinâmicos e no estresse oxidativo em camundongos fêmeas LDL Knockout submetidas à privação dos hormônios ovarianos. *Dissertação de mestrado* (2008).

HERNADEZ, I., DELGADO, J.L., DÍAZ, J., QUESADA, T., TERUEL, M.J.G., LLANOS, M.C. e CARBONELL, L.F. 17 β -Estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. *Am J Physiol*; 279:R1599-R1605, 2000.

HERRINGTON, D.M; REBOUSSIN, D.M; KLEIN, K.P; SHARP, P.C; SHUMAKER, S.A; SNYDER, T.E; GEISINGER, K.R. The Estrogen Replacement and Atherosclerosis (ERA) Study: Study design and baseline characteristics of the cohort. *Controlled Clinical Trials*. 21 (3): 257-285. 2000.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. *Seminars in Hematology*, v.26, p.277-285, 1989.

HILL MF, SINGAL PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol*; v. 148, p.291-300, 1996

HILL, M.F; SINGAL, P.K. Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation*. 96(7):2414-20. 1997.

HINOJOSA-LABORDE C, CRAIG T, ZHENG W, JI H, HAYWOOD JR, SANDBERG K. Ovariectomy augments hypertension in aging female Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension*. ,44(4):405-9,2004.

HISHIKAWA K, NAKAKI T, MARUMO T, SUZUKI H, KATO R, AND SARUTA T. Up-regulation of nitric oxide synthase by estradiol in human aortic endothelial cells. *FEBS Lett* 360: 291–293, 1995.

HOCHMAN, J.S. e HEALY, B. Effect of exercise on acute myocardial infarction in rats. *J. Am. Coll. Cardiol*; 7:126-132, 1986.

HUANG A, SUN D, KOLLER A, AND KALEY G. Gender difference in myogenic tone of rat arterioles is due to estrogen-induced, enhanced release of NO. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 272: H1804–H1809, 1997.

HULLEY, S; GRADY, D; BUSH, T; FURBERG, C et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *Jama*. 280(7):605-13,.1998.

HUNT, B.E; TAYLOR, J.A; HAMNER, J.W; GAGNON, M; LIPSITZ, L.A. Estrogen replacement therapy improves baroreflex regulation of vascular sympathetic outflow in postmenopausal women. *Circulation*. 103: 2909–2914.2001.

IRIGOYEN, M.C., MOREIRA, E.D., IDA, F., PIRES, M., CESTARI, I.A. e KRIEGER, E.M. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension*, 26 (6:2): 1111- 1116, 1995.

IRIGOYEN, M.C. & KRIEGER, E.M. Baroreflex control of sympathetic activity in experimental hypertension. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 31:1213-1220, 1998.

IRIGOYEN, M.C., LACCHINI, S., DE ANGELIS, K. e MICHELINI, L.C. Fisiopatologia da Hipertensão: o que avançamos? *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*; 1: 20-45, 2003.

IRIGOYEN, M.C., PAULINI, J. ; FLORES, L.J.F., *et al.* Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. *Hypertension*. v.46, p.1-6, 2005.

ISHISE, H; HIDEITSUGU, A; SHINJI, I.; SHUJI, J et al. Time course of sympathovagal imbalance and left ventricular dysfunction in conscious dogs with heart failure. *J. appl. physiol.* 84(4):1234–1241, 1998.

IWASAKA, T. NAKAMURA, S., SUGIURA, T., TARUMI, N., YUASA, F., MORITA, Y., WAKAYAMA, Y. e INADA, M. Difference between women and men in left ventricular pump function during predischarge exercise test after acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* Jan 1;73(1): 11-5, 1994.

JOAQUIM, L.F.; FARAH, V.M.; BERNATOVA, I.; FAZAN, R.; GRUBBS, R.; MORRIS, M. Enhanced heart rate variability and Baroreflex index after stress and cholinesterase inhibition in mice. *American Journal Physiology Heart Circulatory*, v.287, p.251-257, 2004.

JI, L.L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Soc Exp Biol Med.* 222(3):283-92.1999.

JONES; D.P. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*, 8(9-10):1865-79, 2006.

JURCA, R; CHURCH, T.S; MORSS, G.M; et al. Eight weeks of moderate-intensity exercise training increases heart-rate variability in sedentary postmenopausal women. *Am Heart J*, 147: e21, 2004.

KAUL, N; SIVESKI-ILISKOVIC, N; HILL, M; SLEZAK, J; SINGAL, P.K. Free radicals and the heart. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 30:55–67.1993.

KATONA, P.G., Mc LEAN, M., DIGHTON, D.H. e GUZ, A. Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. *Journal of Applied Physiology*, 52: 1652-1657, 1982.

KEITH, M; GERANMAYEGAN, A; SOLE, M.J., et al. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 31: 1352-6, 1998

KLEIGER, R.E; J.P; MILLER, *et al.* Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 59(4):256-62. 1987.

KLONER, R.A. e KLONER, J.A. The effect of early exercise on myocardial infarct scar formation. *Am Heart J*; 106:1009-1013, 1983.

KHAPER, N., SINGAL, P.K. Effects of afterload reducing drugs on the pathogenesis of antioxidant changes and congestive heart failure in rats. *J Am Coll Cardiol*: 29:856–861, 1997.

KHAPER, N., SINGAL, P.K. Modulation of oxidative stress by a selective inhibition of angiotensin II type 1 receptors in MI rats. *J Am Coll Cardiol*. Apr; 37(5):1461-6. 2001

KOKKINOS, P.F., NARAYAN, P., COLLERAN, J.A., PITTARAS, A., NOTARGIACOMO, A., REDA, D. e PAPADEMETRIOU, V. Effects of regular exercise on blood pressure and left ventricular hypertrophy in African-American men with severe hypertension. *N Engl J Med*; 333(22):1462-7, 1995.

KUNSCH C., MEDFORD R.M. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res.* 85:753–766.1999.

LAAKSONEN, D.E., ATALAY, M., NISKANEN, L., UUSITUPA, M., HÄNNINEN, O., SEN, C.K. Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep*, 4(1-2):53-9, 1999.

LA ROVERE, M.T., PINNA, G.D., HOHNLOSER, S.H., MARCUS, F.I., MORTARA, A., NOHARA, R., BIGGER, J.T.J.R., CAMM, A.J. e SCHWARTZ, P.J. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. *Lancet.* 351:478-84, 1998.

LA ROVERE, M. T., J. T. BIGGER JR., *et al.* Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet*, 351(9101):478-84. 1998.

LA ROVERE, M.T., BERSANO, C. GNEMMI, M., SPECCHIA, G. e SCHWARTZ, P. J. Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction. *Circulation*; 106: 945-949, 2002.

LACERDA JE, CONSOLIM-COLOMBO FM, MOREIRA ED, IDA F, SILVA GJ, IRIGOYEN MC, *et al.* Influence of cardiopulmonary reflex on the sympathetic activity during myocardial infarction. *Auton Neurosci*; 30: 128-135, 2007.

LANFRANCHI PA, SOMERS VK. Arterial barorreflex function and cardiovascular variability: Interactions and Implications. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 283: R815-26.2002.

LATOUR, M.G., SHINODA, M. e LAVOIE, J.M. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. *Journal Applied Physiology*: 90(1): 235-41, 2001.

LAURINDO, F.R; DE A, P.M; BARBEIRO, H.V. Vascular free radical release. *Ex vivo* and *in vivo* evidence for a flow-dependent endothelial mechanism. *Circ Res.*74(4):700-9.1994.

LEE KS, BUCK M, HOUGLUM K, ET AL. Activation of hepatic stellate cells by TGF alpha and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myb expression. *J Clin Invest.* V. 96, p. 2461-68 1995

LI, M., ZHENG, C., SATO, T., KAWADA, T., SUGIMACHI, M. SUNAGAWA, K. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. *Circulation*; 109:120-124, 2004

LIGUORI A, ABETE P, HAYDEN JM, CACCIATORE F, RENGO F, AMBROSIO G, BONADUCE D, CONDORELLI M, REAVEN PD, NAPOLI C. Effect of glycaemic control and age on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in diabetes mellitus type 1. *Eur Heart J* 22:2045– 2047, 2001.

LINDBERG UB, CRONA N, SILFVERSTOLPE G, BJORNTORP P, REBUFFE-SCRIVE M. Regional adipose tissue metabolism in postmenopausal women after treatment with exogenous sex steroids. *Horm Metab Res.* 22:345–351, 1990.

LLESUY, S.F.; MILEI, J.; MOLINA, H.; BOVERIS, A.; MILEI, S. Comparison of Lipid Peroxidation and Myocardial Damage Induced by Adriamycin and 4'-epiadrimicin in Mice. *Tumori*, v.71, p.241-249, 1985.

LONG, C.S. & BROWN, R.D. THE CARDIAC FIBROBLAST, Another therapeutic target for mending the broken heart? *J Mol Cell Cardiol.* 34(10): 1273-8, 2002.

LOVEJOY JC, CHAMPAGNE CM, DE JONGE L, XIE H, SMITH SR. Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition. *Int J Obes (Lond)*, (6):949-58, 2008

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, p.265-275, 1951.

LU L, QUIN MT, SUN Y. Oxidative stress in the infarcted heart: role of de novo angiotensin II production. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 325, p.943-51, 2004.

MADSEN, E.B., HOUGAARD, P. e GILPIN, E. Dynamic evaluation of prognosis from time-dependent variables in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 51: 1579, 1983.

MANCIA, G., GIANNATTASIO, C., PARATI, G., FAILLA, M. e STELLA, M.L. Hemodynamics and pressure variability in isolated systolic hypertension. *Cardiology*; 39 (12 Suppl 1):247-50, 1994.

MANUELA GAGO-DOMINGUEZ,¹ J. ESTEBAN CASTELAO,¹ MALCOLM C. PIKE,¹ ALEX SEVANIAN,² AND ROBERT W. HAILE¹. Role of Lipid Peroxidation in the Epidemiology and Prevention of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 14(12). 2005.

MARIEB, E.N; and BRANSTROM, M.J. *Interactive physiology: Cardiovascular System*. A.D.A.M. Software, Inc. Benjamin & Cummings publishing, 1996

MARTINKA, P., FIELITZ, J., PATZAK, A, et al. Mechanisms of blood pressure variability-induced cardiac hypertrophy and dysfunction in mice with impaired baroreflex. *J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 288: R767-R776, 2005.

MATTHEWS, K.A., ABRAMS, B., CRAWFORD, S., MILES, T., NEER, R., POWELL, LH., et al. Body mass index in midlife women: relative influence of menopause, hormone use, and ethnicity. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 25:863–873, 2001.

MCDONALD, P.M., SANFILIPO, A.J. e SAVARD, G.K. Baroreflex function and cardiac structure with moderate endurance training in normotensive men. *Journal of Applied Physiology*, 4: 2469-2477, 1993.

MELO, R.M., MARTINHO Jr., MICHELINI, L.C. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR wide effects on circulatory profile of exercise and nonexercised muscles. *Hypertension*; 42[part 2]:851-857, 2003.

MENEGUINI, R. A toxicidade do oxigênio. *Ciência Hoje*; 5:28, 1987.

MICHELINI, L. *Regulação neuro-humoral da pressão arterial*. In: Ayres, M.M., Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; p. 473-488, 1999.

MICKLE, D.A.G; LI, R.K; WEISEL, R.D. Myocardial salvage with trolox and ascorbic acid for an acute evolving infarction. *Ann Thorac Surg*. 47:533–537.1989

MIMURA, J., YUASA, F., YUYAMA, R., KAWAMURA, A., IWASAKI, M., SUGIURA, T. e IWASAKA, T. The effect of residential exercise training on baroreflex control of heart rate and sympathetic nerve activity in patients with acute myocardial infarction. *Chest*;127(4):1108-1115, 2005.

MINSON, C.T., HALLIWILL, J.R., YOUNG, T.M. e JOYNER, M.J. Influence of the menstrual cycle on sympathetic activity, baroreflex sensitivity, and vascular transduction in young women. *Circulation*; 101:862-868, 2000.

MITCHINSON, M.J; STEPHENS; N.G; PARSONS, A., BLIGH; E; SCHOFIELD, P.M., BROWN, M.J. Mortality in the CHAOS trial. *The Lancet*. 353: 381-2.1999.

MYERS J, GULLESTAD L, VAGELOS R, DO D, BELLIN D, ROSS H, FOWLER MB: Clinical hemodynamic and cardiopulmonary exercise test determinants of survival in patients referred for evaluation of heart failure. *Ann Intern Med*, 129:286-293, 1998.

MOSCA, L., APPEL, L.J., BENJAMIN, E.J., BERRA, K., CHANDRA-STROBOS, N., FABUNMI, R.P., GRADY, D., HAAN, C.K., HAYES, S.N., JUDELSON, D.R., KEENAN, N.L., MCBRIDE, P., OPARIL, S., OUYANG, P., OZ, M.C., MENDELSON, M.E., PASTERNAK, R.C., PINN, V.W., ROBERTSON, R.M., SCHENCK-GUSTAFSSON, K., SILA, C.A., SMITH, S.C. JR, SOPKO, G., TAYLOR, A.L., WALSH, B.W., WENGER, N.K., WILLIAMS, C.L. e AHA. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 24(3):e29-50, 2004.

MOSCA, L; BANKA, C; BENJAMIN, E.J, et al. Evidence-Based Guidelines for Cardiovascular Disease Prevention in Women: 2007 Update. *Journal of the American College of Cardiology*. 49(11) .2007.

MÓDOLO, R.P., BERNARDES, C.F., VASQUEZ, E.C. e MILL, J.G. Avaliação da via eferente vagal em ratos nas fases aguda e crônica do infarto do miocárdio. *Arq Bras Cardiol*; 65(1):17-22, 1995.

MOHAZZAB-H KM, KAMINSKI PM, WOLIN MS. Lactate and PO₂ modulate superoxide anion production in bovine cardiac myocytes: potential role of NADPH oxidase. *Circulation*, v.15, p. 614-20, 1997.

MOISES V, FERREIRA RL, NOZAWA E, KANASHIRO RM, CAMPOS FILHO O, ANDRADE JL, CARVALHO ACC, TUCCI PJ. Structural and functional characteristics of rat hearts with and without myocardial infarct. Initial experience with doppler echocardiography. *Arq. Bras. Cardiol*. 2000; 75(2): 131-136.

MONCADA, S; PALMER, R.M.J; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 43:109-142. 1991

MOSTARDA, C., RODRIGUES, B., VANE, M., MOREIRA, E.D., ROSA, K.T., SILVA-MORAES, I.C., LACCHINI, S., CASARINI, D.E., DE ANGELIS, K., IRIGOYEN, M.C. Autonomic impairment after myocardial infarction: Role in cardiac remodelling and mortality. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 37, 447–452, 2010

MULLAN, B.A., YOUNG, I.S., FEE, H. e MCCANCE, D.R. Ascorbic acid reduces blood pressure and arterial stiffness in type 2 diabetes. *Hypertension*; 40: 804–809, 2002.

MUSCH, T.I., MOORE, R.L., SMALDONE, P.G., RIEDY, M. e ZELIS, R. Cardiac adaptations to endurance training in rats with a chronic myocardial infarction. *J Appl Physiol*; 66(2):712-719, 1989.

NAHAS, M.V. *Atividade física, saúde e qualidade de vida: conceitos e sugestões para um estilo de vida ativo*. Londrina: Midiograf, 2001.

NCEP- Executive summary of the third report of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) *JAMA*, 285: 2486-2497, 2001.

NEGRÃO, C.E. e BARRETO, A.C.P. Efeito do treinamento físico na insuficiência cardíaca: Implicações autonômicas, hemodinâmicas e metabólicas. *Rev. Soc. Cardiol. De São Paulo*, v.8 n.2 Mar/Abril, 1998.

NEGRÃO, C.E., MOREIRA, E.D., BRUM, P.C., DENADAI, M.L.D.R. e KRIEGER, E.M. Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercise-trained rats. *Braz. J. of Med. and Biol. Res.*, 25: 1045-1052, 1992b.

NEGRÃO, C.E., MOREIRA, E.D., SANTOS, M.C.L.M., FARAH, V.M.A. e KRIEGER, E.M. Vagal function impairment after exercise training. *Journal of Applied Physiology*. 72(5): 1749-1753, 1992a.

NIKI, E & NAKANO, M. Estrogens as antioxidants. *Methods in Enzymology*, 186:330-3. 1990

ORESTEIN, T.L., PARKER, T.G., BUTANY, J.W., GOODMAN, J.M., DAWOOD, F., WEN, W.H., WEE, L., MARTINO, T., McLAUGHLIN, P.R. e LIU, P.P. Favorable left ventricular remodeling following large myocardial infarction by exercise training. *J Clin Invest*; 96:858-866, 1995.

OSCULATI, G; G, GRASSI; *et al.* Early alterations of the baroreceptor control of heart rate in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 81(3):939- 48. 1990.

PAGANI M, LOMBARDI F, GUZZETTI S, RIMOLDI O, FURLAN R, PIZZINELLI P, SANDRONE G, MALFATTO G, DELL'ORTO S, PICCALUGA E, ET AL. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res*. 1986 Aug; 59(2): 178-93.

PAGANI M, MONTANO N, PORTA A, MALLIANI A, ABOUD FM, BIRKETT C, SOMERS VK. Relationship between spectral components of cardiovascular variabilities

and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans. *Circulation*. 1997 Mar 18; 95(6): 1441-8.

PAN YX, GAO L, WANG WZ, ZHENG H, LIU D, PATEL KP, ZUCKER IH, WANG W. Exercise training prevents arterial baroreflex dysfunction in rats treated with central angiotensin II. *Hypertension*, 49(3):519-27, 2007.

PATTEN, RICHARD D., MARK J. ARONOVITZ, LUZ DERAS-MEJIA, NATESA G. PANDIAN, GEORGE G. HANAK, JOHN J. SMITH, MICHAEL E. MENDELSON, AND PAWLUSH, D.G., MOORE, R.L., MUSCH, T.I. e DAVIDSON, W.R. Jr. Echocardiographic evaluation of size, function, and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. *J Appl Physiol*; 74(5):2598-2605, 1993.

MARVIN A. KONSTAM. Ventricular remodeling in a mouse model of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 274:1812-1820, 1998.

PEDERSEN SB, KRISTENSEN K, HERMANN PA, KATZENELLENBOGEN JA, RICHELSEN B. Estrogen controls lipolysis by up-regulating α 2A-adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor α . Implications for the female fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab*. 89:1869–1878, 2004.

PFEFFER, J.M., PFEFFER, M.A., FLETCHER, J. e BRAUNWALD, E. Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol*, 260: H1406-H1414, 1991.

PFEFFER, M., PFEFFER, J., FISHBEIN, M., FLETCHER, P., SPANDARO, J., KONER, R. e BRAUNWALD, E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ. Res*. 44:503-512, 1979.

PIANTADOSI, C.A., CARRAWAY, M.S., BABIKER, A, et al. Heme oxygenase-1 regulates cardiac mitochondrial biogenesis via Nrf2-mediated transcriptional control of nuclear respiratory factor-1. *Circ Res*, 103(11):1232-40, 2008.

PLIQUETT, R.U., CORNISH, K.G., PATEL, K.P., SCHULTZ, H.D., PEULER, J.D. e ZUCKER, I.H. Amelioration of depressed cardiopulmonary reflex control of sympathetic nerve activity by short-term exercise training in male rabbits with heart failure. *J Appl Physiol*; 95:1883-1888, 2003.

PONCIANO, K.R. Efeitos cardiovasculares e metabólicos do treinamento físico em ratas submetidas à sobrecarga de frutose e à privação dos hormônios ovarianos. *Dissertação de mestrado*, 2006).

PRATICO, D., CLARKM, C.M., LUIN, F., LEE, V.Y., TROJANOWSKI, J.Q. Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment: a possible predictor of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 9:972–976, 2002.

PRICE TM, O'BRIEN SN, WELTER BH, GEORGE R, ANANDJIWALA J, KILGORE M. Estrogen regulation of adipose tissue lipoprotein lipase—possible mechanism of body fat distribution. *Am J Obstet Gynecol*. 178:101–107, 1998.

PRINGLE, E., PHILLIPS, C., THIJS, L., DAVIDSON, C, et al. Systolic blood pressure variability as a risk factor for stroke and cardiovascular mortality in the elderly hypertensive population. *J Hypertens* 21: 2251–2257, 2003.

QUAGLIOTTO, E; SCHENKEL, P.C; CAMPOS, C, et al. Histamine in the posterodorsal medial amygdala modulates cardiovascular reflex response in awake rats. *Neuroscience*, 2: 1-11, 2008.

QUIE PG, WHITE JG, HOLMES B, GOOD RA. In vitro bactericidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes: diminished activity in chronic granulomatous disease of childhood. *J Clin Invest*. 46: 668–679, 1967.

RAJAGOPALAN, S; KURZ, S; MUNZEL, T; et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NAD(P)H oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest*, 97:1916–1923,1996.

RAMIRES, P.R AND JI, L.L. Glutathione supplementation and training increases myocardial resistance to ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281: H679-H688. 2001.

REBUFFE-SCRIVE, M., ELDH, J., HAFSTROM, L.O., BJORNTORP. P. Metabolism of mammary, abdominal, and femoral adipocytes in women before and after menopause. *Metabolism*; 35:792–797, 1986.

RECKELHOFF, J.F., ZHANG, H. e SRIVASTAVA, K. Gender differences in the development of hypertension in SHR: role of the renin angiotensin system. *Hypertension* 35: 480-483, 2000.

REED, D.J: Glutathione: toxicological implications. *Ann Ver Pharmacol Toxicol.* 30:603–631. 1990.

REZNICK, A.Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol*, v.233, p.357-363, 1994.

RONDON, E., BRASILEIRO-SANTOS, M.S., MOREIRA, E.D., RONDON, M.U., MATTOS, K.C., COELHO, M.A, et al. Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol: Heart Circ Physiol.* 291: H2801-H2806.2006.

RODRIGUES, B., IRIGOYEN MC, DE ANGELIS K. Correlation between speed and oxygen consumption (VO₂) in rats submitted to maximum exercise test. *Fiep Bulletin.* 2006; 76: 231-233

RODRIGUES B, FIGUEROA DM, MOSTARDA C, HEEREN MV, IRIGOYEN MC, DE ANGELIS K .Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumptiondetermination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* 2007; 6:38.

ROSSELLI, M., IMTHURN, B., KELLER, P.J., JACKSON, E.K., AND DUBEY, R.K. Circulating nitric oxide (nitrite/nitrate) levels in postmenopausal women substituted

with 17 beta-estradiol and norethisterone acetate. A two-year follow-up study. *Hypertension* 25: 848–853, 1995.

ROSSOW, J.E., ANDERSON, G.L.; PRENTICE, R.L., LACROIX, A.Z et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Jama*, 288,(3):321-33,2002.

ROVEDA, F., MIDDLEKAUFF, H.R., RONDON, M.U., REIS, S.F., SOUZA, M., NASTARI, L., BARRETTO, A.C., KRIEGER, E.M. e NEGRAO, C.E. The effects of exercise training on sympathetic neural activation in advanced heart failure: a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol*; 42(5):854-60, 2003.

ROVEDA, F., ROLIM, N. e REIS, S.F. *Exercício Físico e Insuficiência Cardíaca*. In: Negrão, C.E. e Barretto, A.C.P. *Cardiologia do Exercício*. Barueri-Sp. Manole: p.179-189, 2005.

RUSH, J.W., TURK, J.R., LAUGHLIN, M.H. Exercise training regulates SOD-1 and oxidative stress in porcine aortic endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, ;284:H1378– 87,2003.

SAHN, D.J., DE MARIA, A., KISSLO, J. e WEYMAN, A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation*, Dec, 58(6): 1072-83, 1978.

SAI YT, PARKER TG, LIU P, ET AL. Improved post-myocardial infarction survival with probucol in rats: effects on left ventricular function, morphology, cardiac oxidative stress and cytoline expression. *J AM Coll Cardiol*. v 39, p. 148-56, 2002

SANCHES, I.C. Perfil metabólico e cardiovascular de ratas hipertensas submetidas a um modelo experimental de menopausa e síndrome metabólica: papel do treinamento físico *Dissertação de mestrado*, 2007

SCHWARTZ, P.J., A., ZAZA, *et al.* Baroreflex sensitivity and its evolution during the first year after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 12(3): 629-36, 1988.

SCHAWRTZ, P.J. & PRIORO, S.G. Sympatetic nervous system and cardiac arrhythmias. In: Zipes D.P, Jalife J,eds. *Cardiac eletrophysiology: from cell to beside*. Philadelphia: W.B. Saunders C.O.: 330-43, 1990.

SCHLAICH, M,P,, LAMBERT, E, KAYE, D.M,, KROZOWSKI. Z,, CAMPBELL, D.J, LAMBERT. Hypertension; role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and angiotensina neuromodulation. *Hypertension*. 43: 169-75.2004.

SEN, C.K., PACKER, L: Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *Faseb J*, 10: 709–720, 1996.

SEN, C.K. Redox signaling and the emerging therapeutic potential of thiol antioxidants. *Biochem Pharmacol*, 55: 1747–1758, 1998.

SENZAKI, H., PAOLOCCI, N., GLUZBAND,YA., LINDSEY, ML., *et al.* β -Blockade Prevents Sustained Metalloproteinase Activation and Diastolic Stiffening Induced by Angiotensin II Combined With Evolving Cardiac Dysfunction. *Circ. Res*, 86;807-815, 2000.

SHAWAERY, G.; VITA, J.Á.; KEANEY, J.F. Antioxidant protection of LDL by physiological concentrations of 17 β estradiol. *Circulation*, v.95, p.1378-1385, 1997.

SHWAERY, G., VITA, J.Á. e KEANEY, J.F. Antioxidant protection of LDL by physiological concentrations of 17 β estradiol. *Circulation*, 95: 1378-1385, 1997.

SIGVARDSSON, K., SVANFELDT, E. e KILBOM, A. Role of the adrenergic nervous system in development of training-induced bradycardia. *Acta Physiologica Scandinavia*, 101: 481-488, 1977.

SILVA, G.J.J.; BRUM, P.C., NEGRÃO, C.E. e KRIEGER, E.M. Acute and chronic effect of exercise or baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 30: 714-719, 1997.

SILVA, I.C de M. Efeitos do treinamento físico aeróbio nas adaptações hemodinâmicas, autonômicas e morfofuncionais cardíacas da hipertensão espontânea: influência do barorreflexo. *Tese de doutorado* (2010).

SINGH. N., DHALLA, A.K., SENEVIRATNE. C., SINGAL, P.K. Oxidative stress and heart failure. *Mol Cell Biochem*, 147:77–81.1995.

SMITH, P.A., GRAHAN, L.N., MACKINTOSH, A.F., STOKER, J.B, MARY, D.A.S.G. Relationship between central sympathetic activity and stages of human hypertension. *AM J Hypertens*. 17: 217-22.2004

SOARES, P.P., USHIMIZA, M.R., KRIEGER, E.M. e IRIGOYEN, M.C. A semi-automatic computerized method to measure baroreflex-mediated heart rate responses that reduces interobserver variability. *Braz J Med Biol Res*; 38(6): 949-957, 2005.

SOBOTKA, P.A., BROTTMAN, M.D., WEITZ, Z, et al. Elevated breath pentane in heart failure reduced by free radical scavenger. *Free Radic Biol Med*. 14:643–647.1993

SONG, X., LI, G. e VALEN, G. Effects of sex, gonadectomy and oestrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia-reperfusion injury in mice. *Acta PhysiolScand* ;177: 459-466, 2003.

SOUSA, S. B. C; FLUES, K. ; PAULINI, J. ; MOSTARDA, CRISTIANO ; RODRIGUES, B; DE SOUSA L; IRIGOYEN, MARIA CLAUDIA ; ANGELIS, KÁTIA DE. Role of Exercise Training in Cardiovascular Autonomic Dysfunction and Mortality in Diabetic Ovariectomized Rats. *Hypertension (Dallas)*, v. 50, p. 1-6, 2007

SOUTHORN, P.A, POWIS G. Free radicals in medicine II. Involvement in human disease.

Mayo Clin Proc; 63:390-408, 1988b.

SOWERS M, ZHENG H, TOMEY K, KARVONEN-GUTIERREZ C, JANNAUSCH M, LI X, et al. Changes in body composition in women over six years at midlife: ovarian and chronological aging. *J Clin Endocrinol Metab*; 92:895–901, 2007.

STAESSEN, J.Á., GINNOCHIO, G., THIJS, L. e FAGARD, R. Conventional and ambulatory blood pressure and menopause ina prospective population study. *J Hum Hypertens* 11: 507-514, 1997.

STAMLER, J., STAMLER, R., RIEDLINGER, W.F., ALGERA, G. e ROBERTS, R.H. Hypertension screening of 1 million Americans. Community Hypertension Evaluation Clinic (CHEC) Program, 1973-1975. *J Am Med Assoc* 235: 2299-2306, 1976.

STAMPFER, M.J., COLDITZ, G.A. e WILLWT, W.C. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease: Ten year follow-up from the nurses Health Study. *N Engl J Med*, 325: 756-762, 1991.

STEFANON, I., MARTINS, M.A., VASSALO, D.V.e MILL, J.G. Analysis of right and left ventricular performance of the rat heart with chronic myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res*; 27: 2667-2679, 1994.

SULLIVAN, M.J., HIGGINBOTHAM, M.B. e COBB, F.R. Exercise Training in patients with severe left ventricular dysfunction: hemodynamic and metabolic effects. *Circulation*; 78:506-515, 1988.

SUN,Y., KIANI, M.F., et al. Infarct scar as a living tissue. *Bas Res Cardiol*, 97(5):343-347, 2002

SUSUKI, Y.J., FORMAN, H.J., SEVANIAN, A. Oxidants as stimulators of signal transduction. *Free Radic Biol Med*, 22:269–285, 1997

TAIRA, C.A. e ENERO, M.A. Central muscarinic involvement in cardiovascular control in sinoaortic-denervated rats. *Eur J Pharmacol*; 159:265–272, 1989.

TANAKA, M., SATO, M., UMEHARA, S. e NISHIKAWA, T. Influence of menstrual cycle on baroreflex control of heart rate: comparison with male volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 285(5):R1091-7, 2003.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation.*; 95: 1043-1065, 1996

TEI, C., NISHIMURA, R.A., SEWARD, J.B., TAJIK, A.J. Noninvasive doppler-derived myocardial performance index: correlation with simultaneous measurements of cardiac characterization measurements. *J Am Soc Echocardiogr*; 10, 169-78, 1997.

TEIXEIRA, P.J., GOING, S.B., HOUTKOOPEL, L.B., METCALFE, L.L., BLEW, R.M., FLINT-WAGNER, H.G., CUSSLER, E.C., SARDINHA, L.B. e LOHMAN, T.G. Resistance training in postmenopausal women with and without hormone therapy. *Med Sci Sports Exerc*; 35(4):555-562, 2003.

THE HOPE AND HOPE-TOO TRIAL INVESTIGATORS, Effects of Long-term Vitamin E Supplementation on Cardiovascular Events and Cancer – A Randomized Controlled Trial. *Journal of the American Medical Association*, 293:1338-1347, 2005.

TINKEN, T.M., THIJSSSEN, D.H., HOPKINS, N., DAWSON, E.A., CABLE, N.T., GREEN, D.J. Shear stress mediates endothelial adaptations to exercise training in humans. *Hypertension*, 55(2):312-8, 2010

TIPTON, C.M. Exercise training and hypertension, an update. *Exercise and Sport Science Review*, 4:447-505, 1991.

VENDITTI, P; DI MEO. S. Thyroid hormone-induced oxidative stress. *Cell Mol Life Sci*, 63(4): 414-34, 2006.

VITTINGHOFF, E., SHLIPAK, M.G., VAROSY, P.D., FURBERG, C.D., IRELAND, C.C., KHAN, S.S., BLUMENTHAL, R., BARRET-CONNOR, E. E HULLEY, S. Risk factors and secondary prevention in women with heart disease: the heart and estrogen/progestin replacement study. *Annals of Internal Medicine*; 138: 81-89, 2003.

WALLBERG, H., RINCON, J. e ZIERATH, J.R. Exercise in the management of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Sports Medicine*, 25(1): 25-35, 1988.

WATTANAPERMPHOL, J. and REISER, P.J. Differential effects of ovariectomy on calcium activation of cardiac and soleus myofilaments. *Am J Physiol*; 277(46):H467-H473, 1999.

WEBB, S.W., ADAGEY, A.A., PANTRIDGE, J.F. Autonomic disturbance at onset of acute myocardial infarction. *Br Med J*; 3: 89-92, 1972.

WEGGE, J.K., ROBERTS, C.K., NGO, T.H. e BARNARD, R.J. Effect os diet and exercise intervention on inflammatory and adhesion molecules in postmenopausal women on hormone replacement therapy and at risk for coronary artery disease. *Metabolism*, Mar; 53(3): 377-81, 2004.

WEISS, N.S. Relationship of menopause to serum cholesterol and arterial pressure. The United States Health Examination Survey of Adults. *Am J Epidemiol* 96: 237-241, 1972.

WEXLER, B.C. & GREENBERG, B.P. Effect of gonadectomy on isoproterenol-induced myocardial infarction. *Angiology*, 30, 377-394, 1979.

WHELTON, S.P., CHIN, A., XIN, X., e JIANG, H.E. Effect of aerobic exercise on blood pressure. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Inter Med*; 136:493-503, 2002.

WHITE, H.D., NORRIS, R.M. e BROWN, M.A. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation*, 76: 44, 1987.

WICHI R, MALFITANO C, ROSA K, DE SOUZA SB, SALEMI V, MOSTARDA C, DE ANGELIS K, IRIGOYEN MC: Noninvasive and invasive evaluation of cardiac dysfunction in experimental diabetes in rodents. *Cardiovasc Diabetol*, 26:6-14, 2007.

WING RR, MATTHEWS KA, KULLER LH, MEILAHN EN, PLANTINGA PL. Weight gain at the time of menopause. *Arch Intern Med*, 151: 97–102, 1991.

YOSHIKAWA T, UEDA S, NAITO Y ET AL. Role of oxygen-derived free radicals in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion in rats. *Free Radic Res Commun*, 7: 285-91,1989.

VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; PINTO, S.; LOMBARDO, M.; PETRAGLIA, F.; GANNAZZANI, A.; BURALLI, S.; TADDEI, S.; SALVETTI, A. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction associated with acute estrogen deprivation in normotensive women. *Circulation*, 101: p.2258-2263, 2000.

ZAMO, F.S., LACCHINI, S; MOSTARDA, C., et al. Hemodynamic, morphometric and autonomic patterns in hypertensive rats - renin-angiotensin system modulation. *Clinics*, 65(1), 2010.

ZANCHETTI, A. & MANCIA, G. Cardiovascular reflexes and hypertension. *Hypertension* 18:III13-III21, 1991.

ZANCHI, N.E; BECHARA, L.R.G; TANAKA, L.Y; DEBBAS, V; BARTHOLOMEU, T AND RAMIRES, P.R.Moderate exercise training decreases aortic superoxide production in myocardial infarcted rats. *European Journal of Applied Physiology*, 1045-1052, 2008