

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física

Marcelo Velloso Heeren

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E NO
ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS LDL KNOCKOUT SUBMETIDAS
À PRIVAÇÃO DOS HORMÔNIOS OVARIANOS**

SÃO PAULO

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física

Marcelo Velloso Heeren

**EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO EM PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E NO
ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS LDL KNOCKOUT SUBMETIDAS
À PRIVAÇÃO DOS HORMÔNIOS OVARIANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Educação Física da Universidade São Judas Tadeu como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Área de Concentração: Bases Biodinâmicas da Atividade Física.

Orientadora: Profa. Dra. Kátia De Angelis.

SÃO PAULO

2008

Heeren, Marcelo Velloso

Efeitos do treinamento físico sobre os parâmetros hemodinâmicos e no estresse oxidativo em camundongos fêmeas LDL no Knockout submetidas à privação dos hormônios ovarianos / Marcelo Velloso Heeren. - São Paulo, 2008.

86 f. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2008.

Orientador: Kátia De Angelis

1. Menopausa. 2. Treinamento físico. 3. Doença cardiovascular.
4. Estresse oxidativo. I. Título

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora Kátia de Angelis por ter acreditado no meu potencial para ingressar no curso e também pelos valorosos ensinamentos obtidos nesses últimos 2 anos. Não poderia deixar de agradecer também às muitas horas de dedicação para a minha formação como estudante, como pessoa e como futuro professor.

Agradeço aos meus pais que sempre me deram a oportunidade de estudar, nunca poupando esforços, mesmo quando frente a grandes dificuldades. O meu eterno agradecimento a vocês dois por sempre estarem ao meu lado.

Não posso deixar de lembrar da minha namorada Rafaela, que sempre me apoiou durante todo o período do curso. Muito obrigado por agüentar a minha ida à faculdade em muitos sábados, domingos e também feriados. A sua compreensão foi incentivadora para o meu desempenho e trabalho durante esse período.

Aos colegas de laboratório, que convivemos mais tempo que com as nossas próprias famílias, um agradecimento especial àqueles que me receberam no início do curso e me ensinaram tudo aquilo o que eu não tinha a menor idéia como deveria ser feito. Aos veteranos Lucinar Flores, Demilto Pureza, Íris Sanches e Kátia Ponciano, aos intermediários Nathália Bernardes, Janaina Britto, Michelle Sartori, Márcio Tubaldini, Juliana Francica e Diego Figueroa e aos novatos Henrique Machert, Danielle da Silva e Roberto Jefferson.

Agradeço aos outros integrantes do Laboratório do Movimento Humano (Jackeline, João Marcelo, Raul, Daniel e Carol), que compartilham os mesmos desafios, pela convivência do dia-a-dia e também pelos momentos descontraídos em festas e congressos.

Agradeço à professora Maria Cláudia Irigoyen pelo suporte técnico e científico para a realização deste trabalho, e também aos colegas do Laboratório de Hipertensão Experimental do Incor em especial ao Cristiano, Leandro, Janaína, Karin e Georgia que tiveram participação efetiva no desenvolvimento do protocolo e análise dos dados.

Agradeço a todos os professores do programa de Mestrado da USJT pela contribuição na minha formação e também a todos os professores que participaram da minha história educacional desde o colégio até a faculdade.

Não poderia deixar de agradecer a todos os amigos do 7º. andar, principalmente à Leide e a Rosana que nos acompanharam e nos ensinaram os procedimentos durante todos esses anos. Deixo meu muito obrigado a todos os momentos de socorro e ajuda no tratamento dos animais, quando por algum motivo não poderia realizá-lo.

Para finalizar, agradeço à Universidade São Judas Tadeu pelo apoio técnico e financeiro tanto para a realização do meu trabalho quanto por permitir a realização dos outros projetos do Laboratório.

A todos vocês muito obrigado!!!!!!!!!!!!!!

"A verdadeira maneira de se enganar é julgar-se mais sabido que outros."

(François de La Rochefoucauld)

"Para adquirir conhecimento, é preciso estudar; mas para adquirir sabedoria, é preciso observar."

(Marilyn vos Savant)

“Só existem duas coisas infinitas no mundo. Uma delas é o universo e a outra é a cretinice humana. Entretanto não estou totalmente convencido que o universo é infinito.”

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO

1.1 Menopausa e risco cardiovascular.....	01
1.2 Estresse oxidativo e doença cardiovascular.....	04
1.3 Benefícios do treinamento físico.....	07
1.4 O uso de animais geneticamente modificados.....	10
1.5 Justificativa do estudo.....	11

2. OBJETIVOS.....13

3. MATERIAIS E MÉTODOS.....14

3.1 Animais e grupos.....	14
3.2 Seqüência experimental.....	15
3.2.1 Ooforectomia.....	15
3.2.2 Teste de esforço máximo.....	16
3.2.3 Treinamento físico.....	16
3.2.4 Canulação.....	17
3.2.5 Registro da pressão arterial.....	18
3.2.6 Avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores.....	18
3.3 Avaliação da modulação autonômica	
3.3.1 Análise da variabilidade do intervalo de pulso.....	19

3.3.2	Análise da variabilidade da pressão arterial sistólica.....	20
3.4	Análises bioquímicas	
3.4.1	Determinação das concentrações sanguíneas de colesterol total e triglicerídeos.....	20
3.5	Preparação dos tecidos.....	20
3.6	Dosagem de proteínas.....	21
3.7	Medidas de estresse oxidativo	
3.7.1	Quimiluminescência (QL).....	21
3.7.2	Glutaciona Total.....	22
3.7.3	Glutaciona Reduzida.....	22
3.7.4	Glutaciona Oxidada.....	23
3.8	Medidas de enzimas antioxidantes	
3.8.1	Catalase (CAT).....	23
3.8.2	Superóxido dismutase (SOD).....	24
3.9	Análise de nitritos/nitratos.....	25
3.11	Análise estatística.....	26
4.	RESULTADOS.....	27
4.1	Peso corporal.....	27
4.2	Concentração sanguínea de triglicerídeos e colesterol total sanguíneo.....	28
4.3	Capacidade física.....	29
4.4	Pressão arterial e frequência cardíaca.....	30
4.5	Sensibilidade dos pressorreceptores.....	33
4.6	Modulação autonômica cardiovascular.....	35
4.7	Perfil oxidativo	40
5.	DISCUSSÃO.....	45

6. CONCLUSÃO.....67

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....68

ANEXOS

1. Artigo aceito para publicação na revista Motriz

2. Artigo submetido à revista Maturitas

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Seqüência experimental.....	15
Figura 2	Treinamento físico em camundongos em esteira ergométrica adaptada.....	16
Figura 3	Fotos ilustrativas da canulação da artéria carótida e veia jugular no camundongo.....	17
Figura 4	Registro das repostas reflexas induzidas pela injeção de fenilefrina e nitroprussiato de sódio em camundongo.....	19
Figura 5	Peso corporal nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	26
Figura 6	Valores de colesterol total (CT) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT) ao final do protocolo.....	28
Figura 7	Velocidade máxima atingida teste de esforço inicial e final dos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) (LOT).....	29
Figura 8	Pressão arterial média (PAM) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	30
Figura 9	Frequência cardíaca (FC) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	31

Figura 10	Correlação positiva obtida através de regressão linear entre a pressão arterial média (PAM) e o colesterol total ao final do protocolo (CT) nos animais dos grupos LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	32
Figura 11	Sensibilidade barorreflexa (SBR) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	33
Figura 12	Correlação positiva obtida através de regressão linear entre o colesterol total ao final do protocolo (CT) e a resposta bradicárdica (RB) nos animais dos grupos LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	34
Figura 13	Variância total do IP nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	35
Figura 14	Banda de baixa frequência do IP (BF) normalizada nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	36
Figura 15	Banda de alta frequência do IP (AF) normalizada nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	36
Figura 16	Correlação positiva obtida através de regressão linear entre o colesterol total ao final do protocolo (CT) e a variância total do IP nos animais dos grupos LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	38

Figura 17	Correlação positiva obtida através de regressão linear entre o colesterol total ao final do protocolo (CT) e a banda de alta frequência do IP (AF) normalizada nos animais dos grupos LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	38
Figura 18	Quimiluminescência (QL) no tecido cardíaco dos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	40
Figura 19	Concentração da enzima superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	40
Figura 20	Razão glutaciona reduzida e glutaciona oxidada (GSH/GSSG) nos grupos LDL Knockout sedentário (LOS) e treinado (LOT).....	41
Figura 21	Correlação positiva obtida através da regressão linear entre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e a concentração de nitrito no tecido cardíaco.....	43
Figura 22	Correlação positiva obtida através da regressão linear entre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e a razão entre as concentrações de nitrito e nitrato no tecido cardíaco.....	43

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Concentrações sanguíneas de triglicérides e colesterol total nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS), e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT) no início e final do protocolo.....27
- Tabela 2** Pressão arterial diastólica (PAD), sistólica (PAS) e média (PAM) e frequência cardíaca nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....30
- Tabela 3** Variabilidade do intervalo de pulso nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....35
- Tabela 4** Variabilidade da pressão arterial sistólica nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....37
- Tabela 5** Quimiluminescência (QL), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....39
- Tabela 6** Nitrito, nitrato e razão nitrito/nitrato total do coração nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).....42

RESUMO

As doenças cardiovasculares representam as maiores causas de morbi-mortalidade em indivíduos de ambos os sexos. As mulheres após a menopausa frequentemente apresentam alterações no perfil lipídico, que tem sido associado ao aumento do risco cardiovascular verificado nesse período. Por outro lado, o treinamento físico tem sido reconhecido como um tratamento não farmacológico para doenças metabólicas e cardiovasculares. O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos do treinamento físico sobre o controle autonômico cardiovascular e perfil oxidativo e nitrosativo de camundongos fêmeas controle (C57) e LDL Knockout submetidas à privação dos hormônios ovarianos. Foram utilizados camundongos fêmeas controle (C57) e Knockout para o receptor do colesterol LDL ooforectomizadas (retirada bilateral dos ovários) divididas em 4 grupos: controle ooforectomizado sedentário (COS, n=14), controle ooforectomizado treinado (COT, n=14), LDL Knockout sedentário (LOS, n=19) e LDL Knockout treinado (LOT, n=19). Uma semana após a retirada dos ovários os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento físico aeróbio em esteira ergométrica, com intensidade moderada e duração progressiva (1h/dia; 5 dias/sem; 50-65% da velocidade máxima de corrida no teste de esforço) durante 4 semanas. As medidas dos parâmetros metabólicos de triglicerídeos e o colesterol total sanguíneo foram realizados após jejum de 4 horas no início e ao final do protocolo. O registro e o processamento dos sinais biológicos de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) foram realizados nos animais acordados, através de um sistema de aquisição de dados (CODAS, 4KHz). A sensibilidade barorreflexa foi avaliada através das respostas taquicárdicas e bradicárdicas reflexas à diminuições ou aumentos da PA induzidos pela injeção de doses crescentes de nitroprussiato de sódio e fenilefrina, respectivamente. A modulação autonômica foi avaliada através da análise da variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica nos domínios do tempo e da frequência (método da Transformada Rápida de Fourier, FFT). O perfil

oxidativo foi verificado avaliando-se a lipoperoxidação, medido pela quimiluminescência (QL), e pelas medidas das atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco. O perfil nitrosativo foi avaliado através da análise da concentração de nitrito e nitrato no tecido cardíaco. O peso corporal foi semelhante entre os 4 grupos estudados no início e ao final do protocolo. Os triglicérides sanguíneos foram semelhantes entre os grupos no início do protocolo, e ao final estavam aumentado nos grupos LDL Knockout em relação aos grupos controles e também em relação aos seus valores iniciais. A ooforectomia induziu aumento da concentração de colesterol total apenas nos grupos LDL Knockout e o treinamento físico reduziu o colesterol no grupo LOT ($191 \pm 22,3$ mg/dL) em relação ao grupo LOS ($250 \pm 9,2$ mg/dL). O protocolo de treinamento físico aplicado neste estudo foi eficaz, pois induziu aumento da capacidade física determinada pela maior velocidade atingida no teste de esforço pelos grupos treinados, e também se observou bradicardia de repouso nos grupos treinados (COT: 501 ± 18 ; LOT: 535 ± 14 bpm) quando comparados aos grupos sedentários (COS: 569 ± 16 ; LOS: 600 ± 14 bpm). Adicionalmente, os grupos treinados apresentaram valores reduzidos de PA média (COT: $106 \pm 2,5$; LOT: $101 \pm 2,7$ mmHg) em relação aos grupos sedentários (COS: 127 ± 4 ; LOS: $125 \pm 2,8$ mmHg). A sensibilidade barorreflexa se mostrou reduzida para a resposta taquicárdica nos grupos LDL Knockout em relação aos grupos controles. O treinamento físico induziu melhora na sensibilidade barorreflexa por aumentar a resposta bradicárdica nos grupos treinados (COT: $-6,8 \pm 1,4$ e LOT: $-4,24 \pm 0,62$ bpm/mmHg) em relação aos grupos sedentários (COS: $-1,63 \pm 0,04$; LOS: $-1,49 \pm 0,15$ bpm/mmHg), além de aumentar a resposta taquicárdica no grupo COT ($3,97 \pm 0,76$ bpm/mmHg) em relação aos demais grupos (COS: $2,77 \pm 0,28$; LOS: $1,51 \pm 0,17$; LOT: $1,74 \pm 0,22$ bpm/mmHg). A variância do intervalo de pulso foi maior nos grupos COT (90 ± 25 ms²) e LOT ($34 \pm 7,93$ ms²) em relação aos grupos sedentários (COS: 28 ± 14 ; LOS: $5 \pm 1,45$ ms²). A banda de baixa frequência normalizada do intervalo de pulso (IP) estava reduzida no grupo LOS ($7 \pm 1,1$ %) quando comparado aos outros grupos estudados (COS: $32 \pm 10,7$; LOS: $34,6 \pm 4,25$; LOT: $31,3 \pm 3,2$ %). Já a banda de

alta frequência normalizada do IP estava maior no grupo LOT ($52,6 \pm 6,6 \%$) em relação aos grupos LOS ($25,6 \pm 5 \%$) e COS ($29,9 \pm 4 \%$) e se mostrou reduzida no grupo LOS em relação ao grupo COT ($42,7 \pm 4,2 \%$). Não houve diferença entre os grupos na variabilidade da pressão arterial sistólica. Foram obtidas correlações positivas entre o colesterol total e a pressão arterial média ($r= 0,85$) e a resposta bradicárdica ($r= 0,9$). Adicionalmente, obtivemos correlações negativas entre o colesterol total e a variância do IP ($r= -0,7$) e a banda de alta frequência ($r= -0,75$). O treinamento físico induziu melhora no perfil oxidativo evidenciado pela diminuição da QL nos grupos treinados (COT: 2198 ± 344 ; LOT: 2250 ± 524 cps/mg proteína) quando comparados aos sedentários (COS: 3411 ± 963 ; LOS: 3644 ± 531 cps/mg proteína) e por aumentar a atividade da enzima SOD (COT: $2,1 \pm 0,1$; LOT: $2,14 \pm 0,11$ U/mg proteína) em relação ao grupo COS ($1,34 \pm 0,2$ U/mg proteína). O perfil nitrosativo demonstrou aumento da concentração de nitritos apenas no grupo LOT em relação aos demais grupos avaliados. Foram obtidas correlações positivas entre a atividade da enzima SOD e a concentração de nitrito ($r=0,6$) e a razão nitrito/nitrato ($r=0,6$). Concluindo, o treinamento físico induziu melhora no controle autonômico da circulação de camundongos LDL Knockout submetidas à privação dos hormônios ovarianos associado à redução do colesterol sanguíneo e também do estresse oxidativo. Dessa forma, nossos dados sugerem que o treinamento físico é uma importante abordagem não farmacológica na prevenção e/ou reabilitação de mulheres menopausadas com dislipidemia.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases have shown as an important cause of morbi-mortality in individuals of both sexes. Post menopausal women frequently present alterations in the lipidic profile that can be associated to the increases in cardiovascular risk at this phase. On the other hand, exercise training has been recognized as a non pharmacological treatment for metabolic and cardiovascular diseases. The aim of the present study was to investigate the effects of exercise training on cardiovascular autonomic control and oxidative and nitrosative profile in ovariectomized control and LDL-Knockout mice. Ovariectomized (bilateral ovaries removal) control (C57) and LDL cholesterol receptor Knockout female mice were divided into 4 groups: sedentary ovariectomized control group (SOC, n=14), trained ovariectomized control group (TOC, n=14) sedentary ovariectomized LDL Knockout group (SOL, n=19) and trained ovariectomized LDL Knockout group (TOL, n=19). One week after the ovariectomy, the trained groups were submitted to an exercise training protocol on a treadmill for 4 weeks (1h/day; 5 days/week; 50-65% of maximum speed of running). Plasmatic triglycerides and cholesterol were measured after 4 hours of fast in the beginning and at the end of the protocol. The arterial pressure (AP) and heart rate (HR) were recorded and processed in conscious mice using a data acquisition system (CODAS, 4KHz). Baroreflex sensitivity was evaluated by tachycardic (TR) and bradycardic (BR) responses to AP changes induced by sodium nitroprusside and phenylephrine, respectively. The autonomic modulation was analyzed by the heart rate variability and the systolic arterial pressure variability in time and frequency domains (Fast Fourier Transformed (FFT) method). Oxidative profile was measured in cardiac tissue by chemiluminescence (CL) and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities. The nitrosative profile was evaluated by nitrite and nitrate concentrations in cardiac tissue. No differences were observed in body weigh in the beginning and at the end of the protocol between groups. The plasmatic triglycerides were similar between groups in the beginning of

the study, and were increased in LDL Knockout groups as related to control groups and also as compared to initial values. Ovariectomy induced increase in the total cholesterol in both LDL groups, however the exercise training reduced this parameter in lot group (191 ± 22.3 mg/dL) in relation to SOL group (250 ± 9.2 mg/dL) at the end of the protocol. The trained groups demonstrated higher physical capacity determined by increased maximum velocity of running in the maximal test (TOC: 2.64 ± 0.04 ; TOL: 2.73 ± 0.14 Km/h) after training as compared to sedentary groups. The heart rate was reduced in trained groups (TOC: 501 ± 18 ; TOL: 535 ± 14 bpm) in relation to sedentary groups (SOC: 569 ± 16 ; SOL: 600 ± 14 bpm). Furthermore, reduced mean arterial pressure was observed in trained groups (TOC: 106 ± 2.5 ; TOL: 101 ± 2.7 mmHg) in relation to sedentary groups (SOC: 127 ± 4 and SOL: 125 ± 2.8 mmHg). The baroreflex sensitivity to tachycardic response was impaired in LDL Knockout group as compared to control groups. Exercise training induced an improvement in bradycardic reflex response in TOC (6.8 ± 1.4 bpm/mmHg) and TOL animals (4.24 ± 0.62 bpm/mmHg) in relation to SOC (1.63 ± 0.04 bpm/mmHg) and SOL animals (1.49 ± 0.15 bpm/mmHg). The tachycardic response were also higher in TOC group (3.97 ± 0.76 bpm/mmHg) when compared to other groups (SOC: 2.77 ± 0.28 ; SOL: 1.51 ± 0.17 ; TOL: 1.74 ± 0.22 bpm/mmHg). The R-R variance was increased in trained groups (TOC: 90 ± 25 ; TOL: 34 ± 8 ms²) in relation to sedentary groups (SOC: 28 ± 14 ; SOL: 6.6 ± 1.5 ms²). The high frequency band (HF) of pulse interval (IP) was higher in TOL (53 ± 7 ms²) as compared to SOL and SOC groups (26 ± 6 and 30 ± 7 ms²). The systolic arterial pressure variability was similar between studied groups. Significant positive correlations were obtained between total cholesterol and mean arterial pressure ($r= 0.85$) and bradycardic response ($r= 0.9$). Additionally a negative correlations were obtained between total cholesterol and variance of IP ($r= -0.7$) and HF band of IP ($r= -0.75$). CL was reduced in trained groups (TOC: 2198 ± 344 ; TOL: 2250 ± 524 cps/mg protein) in relation to sedentary groups (SOC: 3411 ± 963 ; SOL: 3644 ± 531 cps/mg protein). SOD activity was increased in trained groups (TOC: 2.1 ± 0.1 ; TOL: 2.14 ± 0.11 U/mg

protein) as compared to SOC group (1.34 ± 0.2 U/mg protein). The nitrosativo profile showed increase in nitrite concentration only in LOT group in relation to the other studied groups. Significant positive correlations were obtained between SOD activity and nitrite concentration ($r= 0.61$) and the relation nitrite/nitrate ($r= 0.59$) in cardiac tissue. In conclusion, trained LDL-knockout ovariectomized mice showed an exercise training-induced improvement in cardiovascular autonomic control associated with cholesterol and oxidative stress reductions, suggesting an important role of this non-pharmacological treatment in the rehabilitation of post-menopause women with dislipidemia.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Menopausa e risco cardiovascular

As doenças cardiovasculares representam uma das mais importantes causas de morte nos países ocidentais. Aproximadamente um milhão de pessoas morrem de doenças cardiovasculares somente nos Estados Unidos. Um grande número dessas mortes anuais são devido a infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença renal crônica (Bouchard, 2003; Nahas, 2001).

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). Assim, atribui-se aos hormônios estrogênicos a proteção cardiovascular que as mulheres apresentam até a menopausa (Stampfer et al., 1991).

A pressão arterial (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. Estudos da literatura demonstram que os hormônios ovarianos podem ser responsáveis pela PA mais baixa em mulheres pré-menopausa pelo aumento da PA em mulheres menopausadas (Staessen et al., 1997), resultados semelhantes foram observados em animais (Reckelhoff et al., 2000). Por essas razões, é de extrema importância compreender os mecanismos envolvidos na regulação da pressão arterial.

A manutenção da função cardíaca normal é obtida através de vários mecanismos, entre eles, regulação neural cardíaca pela integração da atividade nervosa do sistema nervoso autônomo: simpático e parassimpático. Além disso, o controle da homeostase cardiovascular é dependente da atuação dos reflexos originados nos pressoreceptores arteriais, cardiopulmonares e sua integração central (Mancia et al., 1994). Estes reflexos contribuem de forma importante para que em circunstâncias normais, a pressão arterial seja mantida em estreita faixa de variação permitindo a

perfusão tecidual adequada, principalmente em territórios que têm pequena capacidade de alterar a resistência periférica como é o caso da circulação cerebral.

A análise espectral (AE) dos sinais de PA e de frequência cardíaca (FC) tem alcançado considerável interesse por ser um método não invasivo que estima atividade neural e não neural para oscilações a curto e longo prazo dessas variáveis. Os algoritmos mais utilizados para o desenvolvimento da potência espectral são a transformada rápida de Fourier e a análise autorregressiva. Com esse tipo de análise podemos obter os espectros com suas respectivas potências a partir de bandas de frequência pré-determinadas, caracterizadas por modulação dos ramos simpáticos (oscilações de baixa frequência, BF) e parassimpático (oscilações de alta frequência, AF) do sistema nervoso autônomo. Além da análise espectral da FC e da PA separadamente, o espectro cruzado destas variáveis pode indicar um acoplamento entre elas em determinadas frequências que usualmente é encontrada na BF (associado ao simpático e ao barorreflexo) e na AF (respiração), representada pela análise de coerência entre a PA e FC. Hoje, a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido aceita como um método funcional de avaliação da modulação autonômica cardiovascular, além de ser cada vez mais aceito como um fator de prognóstico de mortalidade, especialmente pós-infarto do miocárdio e de insuficiência cardíaca congestiva (Task Force, 1996).

Além da AE, a avaliação dos pressorreceptores é uma excelente medida da modulação autonômica cardiovascular. Os pressorreceptores arteriais são mecanorreceptores sensíveis às deformações da parede vascular. Estes mecanorreceptores estão localizados principalmente na crosta da aorta e no seio carotídeo, e devido ao seu alto ganho constituem-se na forma mais importante de controle da pressão arterial em curto prazo, ou seja, momento a momento (Irigoyen et al., 2005; De Angelis et al., 2004b). Além do controle reflexo da atividade autonômica, os pressorreceptores também exercem 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; Irigoyen et al., 2005). Embora os receptores arteriais sejam capazes de se adaptar aguda e cronicamente a altos níveis de PA (Krieger 1989), a disfunção barorreflexa tem sido documentada na hipertensão arterial e em outras doenças cardiovasculares em estudos clínicos e experimentais (Zanchetti & Mancia 1991). Há dados na literatura sugerindo que a atenuação do baroreflexo pode ser causa e/ou consequência da hipertensão (Zanchetti & Mancia 1991).

Nas doenças cardiovasculares de uma maneira geral, as alterações da atividade simpática são bem mais conhecidas e estudadas que as do parassimpático, constituindo as mais fortes evidências da disfunção autonômica (De Angelis et al., 2004). Entretanto, existe um consenso de que a função vagal preservada é benéfica na manutenção da variabilidade da pressão arterial, com consequente proteção de lesão de órgão alvo (Su & Miao, 2001).

Além disso, estudos vêm demonstrando que mulheres menopausadas com mais de 55 anos apresentam aumentado risco para doenças cardiovasculares decorrentes de disfunções do endotélio vascular. Outros fatores de risco associados a disfunção endotelial são o tabagismo, a hipertensão arterial, a dislipidemia, a história familiar de doença coronária prematura e o diabetes melito (NCEP, 2001). Estudos experimentais vêm colaborando para o melhor entendimento dos processos envolvidos no aumento do risco cardiovascular após a menopausa (Hanke et al., 1994). Estes trabalhos sugerem que um dos vários mecanismos de cardioproteção dos estrogênios seria a preservação da função endotelial, através, por exemplo, da inibição da proliferação das células musculares lisas, das ações antioxidantes e da melhora na reatividade vascular, os quais induziriam um melhor equilíbrio na função vasodilatadora/vasoconstritora com consequente diminuição dos riscos cardiovasculares.

As células endoteliais revestem toda a árvore vascular do corpo, representando a principal barreira entre os elementos do sangue e a parede arterial. É considerado um tecido metabolicamente muito ativo sendo capaz de produzir várias substâncias vasoativas, entre elas o óxido nítrico (NO). O NO tem sua ação muito rápida, e em poucos segundos sofre oxidação gerando nitrito ou nitrato. Entretanto, alguns estudos mostram que o nitrito pode ser fonte para produção de NO em algumas situações patológicas como na hipertensão. Yu et al. (1994) demonstraram que a concentração da enzima óxido nítrico sintase estava aumentada após 15 minutos de hipoxia com um aumento da fração de nitrito/nitrato. Zweier et al. (1999) sugerem que o NO pode ser formado nos tecidos a partir do nitrito sob condições onde há maior acidez tecidual, caso da isquemia cardíaca. Além disto, a maior geração de EROs pode causar uma diminuição do NO biodisponível, o que induz prejuízo na função endotelial, levando (entre outras) a uma redução na vasodilatação dependente do endotélio (Panza et al., 1990).

De fato, dentre os diversos fatores que podem contribuir no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, atualmente tem-se conferido aos radicais livres uma importante participação na fisiopatologia dessas patologias. Nesse sentido, tendo em vista que no climatério pode ocorrer maior produção de EROs com concomitantemente diminuição da capacidade antioxidante, estudos devem ser conduzidos para avaliar os efeitos deletérios do estresse oxidativo sobre o sistema cardiovascular nesta fase de vida das mulheres.

1.2 Estresse oxidativo e doença cardiovascular

Radicais livres são átomos ou moléculas que possuem um elétron desemparelhado na sua órbita externa (Del Maestro, 1980), gerando um átomo ou molécula muito instável. Os elétrons não-pareados têm vida média curta e conferem alta reatividade aos radicais livres (Olszewer et al., 1980). A formação dos radicais livres ocorre por reações de óxido-redução, que cedem (reação de oxidação) ou

recebem (reação de redução) elétrons. Essas reações ocorrem continuamente, o que amplifica seu efeito destrutivo sendo que o processo só se encerra quando dois radicais livres se encontram, neutralizam-se e atingem a estabilidade.

O oxigênio é um elemento essencial para a sobrevivência dos seres aeróbios e o metabolismo aeróbio, tem sido evidenciado como um importante meio de formação de radicais livres. Cerca de 98% do oxigênio disponível para o metabolismo é reduzido totalmente com a formação de água. Porém, durante esse processo, são formados compostos intermediários como radicais superóxido (O_2^-), hidroperoxila (HO_2), hidroxila (OH) e compostos como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), os quais podem ser neutralizados com a entrada de elétrons (Schneider e Oliveira, 2004).

Alguns compostos como o H_2O_2 e o HO_2 , derivados do metabolismo do oxigênio, não apresentam elétron desemparelhado na última camada eletrônica, portanto, não são considerados radicais livres. Por isso muitos autores preferem utilizar o termo ERMO para as “espécies reativas derivadas do metabolismo de oxigênio” (Halliwell, 1992), ou ERO para as espécies reativas de oxigênio. Assim, as EROs são produzidas naturalmente pela redução incompleta do oxigênio, gerando espécies que apresentam alta reatividade para outras biomoléculas, principalmente lipídios e proteínas das membranas celulares e, até mesmo, o DNA. Devido à sua interdependência com o metabolismo do oxigênio, as EROs são continuamente formadas em pequenas quantidades pelos processos normais do organismo. 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 glutathione peroxidase (GPx) e o sistema não enzimático, formado por compostos sintetizados pelo organismo humano (hormônios sexuais, ácido úrico, melatonina e etc...) ingeridos através da dieta normal ou via suplementação (vitamina C, vitamina E, beta caroteno e grupos fenóis de plantas) (Schneider et al., 2004).

O organismo humano em situação não patológica possui um equilíbrio na razão de produção e eliminação de radicais livres. Ao contrário, quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas pro-oxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes, o organismo encontra-se sob um estado comumente chamado de estresse oxidativo (Sies, 1986). O termo estresse oxidativo é utilizado em circunstâncias nas quais o “desafio” por radicais livres resulta em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos (Schneider et al., 2004). Neste contexto o perfeito equilíbrio entre as enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx) é importante para a manutenção da integridade celular.

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das ERO, porém a membrana plasmática é uma das estruturas mais atingidas ocorrendo a peroxidação lipídica (oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados), que acarreta modificações nas estruturas e na permeabilidade das membranas celulares (Hershko, 1989). É importante enfatizar que as injúrias provocadas em consequência dessa reatividade estão relacionadas com uma série de doenças, incluindo doenças degenerativas tais como a aterosclerose, as cardiopatias e o diabetes (Ames et. al., 1993).

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 NO (Harrison, 1997; Creager, 1990). Gryglewski et al. (1986) demonstraram que o NO pode ser destruído pelo radical superóxido e protegido por scavengers de 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 radical superóxido. A disfunção da vasodilatação dependente do endotélio, associadas ao aumento do estresse oxidativo, particularmente com a maior produção do radical superóxido, tem sido observada em pacientes com hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes, fumantes, além de velhos (Berry et al. 2001, Cai & Harrison 2000).

Além disto é importante ressaltar que o alto nível de LDL colesterol tem sido considerado um determinante de biomarcadores de estresse oxidativo (Al-Benna et al., 2006), que está correlacionada ao aumento da morbi-mortalidade dos indivíduos (Manninen et al., 1992), sendo demonstrada uma correlação negativa entre a função endotelial e o estresse oxidativo e a concentração da LDL colesterol. Nesse sentido, sugere-se que a elevação da pressão arterial pode estar relacionada a um quadro de disfunção endotelial decorrente do aumento do estresse oxidativo. Adicionalmente, a sensibilidade dos pressorreceptores, que está diminuída em diversas doenças cardiovasculares (Chapleau et al., 2001), parece ser prejudicada em uma situação de estresse oxidativo (Irigoyen et al., 2005; Rabelo et al., 2001).

1.3 Benefícios do 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 (Negrão & Barreto, 1998; La Rovere et al., 2002)

O treinamento físico pode provocar alterações neurovegetativas e cardiovasculares importantes. Bradicardia de repouso foi verificada em ratos e camundongos normotensos jovens (Negrão et al., 1992, De Angelis et al., 2004), ou ratos velhos (De Angelis et al., 1997) e em humanos (Katona et al., 1982). As razões da redução da FC ainda permanecem não esclarecidas totalmente, embora se saiba que elas estão relacionadas a alterações na modulação autonômica e/ou atividade marcapasso. Além desses achados, estudos em ratos diabéticos e hipertensos têm demonstrado melhoras cardiovasculares importantes decorrentes do treinamento físico (Silva et al., 1997; De Angelis et al., 2000; De Angelis et al., 1999). Trabalhos realizados em humanos (McDonald et al., 1993) e animais (Negrão et al., 1992;

De Angelis et al., 2004) tem detectado importantes modificações no arco reflexo pressorreceptor após um período de treinamento físico, em normotensos. Em ratos SHR e ratos diabéticos, verificou-se a melhora da sensibilidade reflexa para a bradicardia e taquicardia após o treinamento físico (Silva et al., 1997; De Angelis et al., 2002). Recentemente, nosso grupo demonstrou que o treinamento físico diminui a PA e a FC de repouso, além de aumentar a sensibilidade barorreflexa em ratas ooforectomizadas. Clinicamente, La Rovere et al. (2002) demonstraram que o treinamento físico após o infarto do miocárdio 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 treinamento físico nestes indivíduos infartados.

Quanto ao estresse oxidativo, vale ressaltar que as EROs estão aumentadas nos exercícios de alta intensidade e extenuantes. Por outro lado sabe-se que a atividade física, através do treinamento, é capaz de disparar adaptações em resposta a uma maior produção destes radicais livres. Neste sentido, estudos recentes estabelecem o papel da atividade física na prevenção e controle de várias doenças como diabetes, hipertensão, dislipidemia e aterosclerose entre outras (Albright, 2000).

Segundo Vinã et al. (2000) o grau de estresse oxidativo e de dano muscular não depende da intensidade absoluta de exercício, mas do grau de exaustão da pessoa que realiza o exercício. Nesse sentido, alguns mecanismos de adaptação ao exercício são propostos na literatura como forma de diminuir os danos causados pelos radicais livres. Gutteridge et al. (1985) verificaram um aumento na concentração de ferro e cobre no suor de atletas após o exercício, especulando-se que a excreção de tais metais diminuiria a extensão dos danos oxidativos mediados por eles. Além disso, com esses resultados, Alessio (1993) verificou um aumento da lipoperoxidação em ratos, situação induzida por cargas de exercício. Entretanto, esse estresse era mais bem tolerado por ratos treinados, sugerindo uma adaptação dos sistemas antioxidantes. De fato, outros estudos demonstraram adaptações enzimáticas frente ao estresse oxidativo iniciado pelo treinamento. Ji (1992) demonstrou que uma carga de trabalho

exaustivo produzia um aumento da lipoperoxidação e também um incremento das enzimas antioxidantes GPx, CAT e SOD. Margaritis (1997) relacionou positivamente o aumento do VO_2 máx. com uma maior atividade e conseqüente maior proteção antioxidante. Venditti e Di Meo (1997) comprovaram essa teoria ao submeterem ratos adultos ao treinamento regular durante um ano e verificaram o aumento das defesas antioxidantes proporcional ao aumento da capacidade de resistência aeróbia, limitando o dano tecidual causado pelos radicais livres.

Da mesma forma que os estudos envolvendo indivíduos do sexo masculino ou amostras mistas, verificamos recentemente em nosso laboratório uma redução da peroxidação lipídica, acompanhada de melhora da atividade de enzimas antioxidantes, no músculo cardíaco e no músculo gastrocnêmio em ratos fêmeas submetidos à ooforectomia e ao treinamento físico (Irigoyen et al., 2005). É interessante notar que em alguns trabalhos do nosso grupo, a redução do estresse oxidativo têm sido correlacionada com melhora em parâmetros cardiovasculares em trabalhos com ratos machos velhos ou com insuficiência cardíaca e em ratos fêmeas submetidos à privação dos hormônios ovarianos (De Angelis et al., 1997; Rabelo et al., 2001; Irigoyen et al., 2005).

Dessa forma, nota-se que o treinamento físico é capaz de induzir adaptações importantes nos mecanismos de controle cardiovascular com evidências que esses benefícios podem estar associado à redução do estresse oxidativo. Vale ressaltar ainda que os mecanismos responsáveis por estas adaptações particularmente no sexo feminino não foram esclarecidos, já que a maioria dos estudos foi realizada em amostras do sexo masculina ou mista. Nesse sentido, a utilização de modelos experimentais vem contribuindo para o entendimento dos mecanismos que induzem melhora cardiovascular após o treinamento físico, sendo, portanto, relevante o uso de modelos animais que tenham disfunções semelhantes, como hipertensão e dislipidemia, às apresentadas por mulheres no climatério.

1.4 O uso de animais geneticamente modificados para o estudo de alterações cardiovasculares

Os avanços das técnicas de biologia molecular permitiram o desenvolvimento de animais geneticamente modificados. Camundongos têm sido frequentemente utilizados como modelo animal para alterações genéticas. Assim, o estudo dos sistemas biológicos desta espécie tem sido alvo de muitos estudos recentes, principalmente, para a compreensão dos genes que controlam hormônios ou receptores envolvidos nos mecanismos de ajustes do sistema cardiovascular (Just et al., 2000, Janssen et al., 2000). As pesquisas utilizando camundongos, começaram com o desenvolvimento do camundongo aterogênico tradicional, que pode ser knockout do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr) ou knockout da apolipoproteína E (apoE). Tais experimentos forneceram grandes progressos na pesquisa em hiperlipidemias e incentivaram a criação de vários modelos modificados de camundongos aterogênicos que gerem lesões com características mais próximas das lesões ateroscleróticas humanas através da indução da hipercolesterolemia (Ohashi et al., 2004). Neste trabalho foram utilizados camundongos knockout LDLr devido ao fato deste modelo ser mais próximo da hiperlipidemia humana que o modelo apoE (Ohashi et al., 2004).

Em camundongos LDLr knockout, apresentam aumento no colesterol total (>700 mg/dl), quando submetido a dieta aterogênica com 1,25% de colesterol (Ishibashi et al., 1994) e observa-se maior nível de LDL colesterol no plasma sanguíneo em condições basais e especialmente sob dieta rica em colesterol, pois o receptor do LDL, que se localiza na membrana celular e faz o transporte de LDL para o interior da célula, foi inibido a partir de uma inativação gênica feita no cromossomo 19 responsável pela atividade desse receptor (Pynn et al., 2004; Janssen et al., 2000). Todavia, devido à carência de LDLr, observa-se nível de colesterol aumentado no grupo knockout mesmo quando submetido à dieta padrão. De fato, resultados preliminares de nosso laboratório demonstram níveis de colesterol em torno de 200-300 mg/dl em camundongos LDLr knockout em comparação a camundongos controles que apresentam valores abaixo de 130 mg/dL. Os valores de colesterol obtidos em vigência de dieta

padrão aproximam-se dos observados em humanos com hipercolesterolemia. Dessa forma, no presente estudo optamos pela utilização de dieta padrão, a qual não tem sido associada a níveis extremamente elevados de LDL plasmáticos.

A grande maioria dos estudos experimentais (ratos ou camundongos), ou mesmo em humanos, avaliaram machos, o que pode gerar problemas na transposição dos resultados para o sexo feminino. Marsh et al. (1999) demonstraram que camundongos fêmeas LDLr Knockout submetidas à retirada dos ovários apresentaram mais lesões ateroscleróticas em comparação a fêmeas LDLr knockout normais ou submetidas à privação estrogênica e suplementadas com estradiol, sugerindo que a menopausa (privação dos hormônios ovarianos) possa representar um fator de risco para aterosclerose. Neste aspecto, as disfunções cardiovasculares poderiam ser atenuadas através de abordagens terapêuticas como o treinamento físico, modificando o desenvolvimento das complicações relacionadas à hipercolesterolemia e à privação dos hormônios ovarianos.

A padronização das respostas cardiovasculares e autonômicas de camundongos machos normais ao treinamento físico recentemente publicado por nosso grupo (De Angelis et al., 2004) associado ao domínio das técnicas propostas no presente projeto permitirá a investigação dos mecanismos fisiológicos envolvidos nos benefícios do treinamento físico em um modelo animal de aterosclerose e menopausa.

1.5 Justificativa do estudo

Estudos têm evidenciado um grande aumento na incidência de doenças cardiovasculares em mulheres principalmente após o evento da menopausa, o que acarreta um enorme custo econômico e social. Diversas terapias têm sido propostas para minimizar os efeitos deletérios da privação dos hormônios ovarianos sobre o controle metabólico e cardiovascular no sexo feminino. Entre elas,

podemos citar o treinamento físico que é indicado como importante abordagem não-farmacológica para o tratamento e/ou prevenção das doenças cardiovasculares. Entretanto, grande parte dos estudos que visavam avaliar os mecanismos envolvidos nas disfunções cardiovasculares foi realizado com amostras do sexo masculino ou mistas. Nesse sentido, devido às diferenças metabólicas, físicas e hormonais existentes entre homens e mulheres, o estudo das adaptações induzidas pelo treinamento físico em um modelo experimental de menopausa e dislipidemia tem grande relevância para o entendimento dos mecanismos envolvidos nos possíveis benefícios induzidos por esta abordagem nesta fase de vida da mulher, podendo inclusive auxiliar a intervenção dos profissionais da saúde nesta população.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo desse estudo foi verificar os efeitos do treinamento físico em parâmetros metabólicos, hemodinâmicos e no estresse oxidativo de camundongos fêmeas selvagens e Knockout para o receptor do LDL colesterol submetidas à privação dos hormônios ovarianos.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste projeto foram verificar os efeitos do treinamento físico em camundongos fêmeas ooforectomizadas controle e LDL Knockout nos seguintes parâmetros:

- peso corporal;
- níveis plasmáticos de colesterol total e triglicerídeos;
- pressão arterial e frequência cardíaca;
- sensibilidade dos pressorreceptores;
- modulação autonômica cardíaca;
- níveis cardíacos de nitritos e nitratos;
- estresse oxidativo e enzimas antioxidantes.

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais e grupos

Foram utilizados camundongos fêmeas controle (C57BL/6J), e Knockout para o receptor do LDL colesterol (LDL Knockout) com peso inicial variando entre 20 e 25 gramas e idade entre 8-9 meses, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os camundongos foram mantidos em gaiolas, em local com temperatura ambiente controlada entre 22 - 24°C e com ciclo claro/escuro de 12/12 horas no Biotério da USJT. Os camundongos selvagens e o LDL Knockout ooforectomizado foram alimentados com água e ração padrão “ad libitum”. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos.

- controle ooforectomizado sedentário (COS);
- controle ooforectomizado treinado (COT);
- LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS);
- LDL Knockout ooforectomizado treinado (LOT).

Vale destacar que 8 animais foram utilizados em cada grupo para as avaliações hemodinâmicas e autonômicas. As análises de quimiluminescência, enzimas antioxidantes, nitritos e nitratos foram realizadas em outros 6 animais de cada grupo. Adicionalmente 5 animais dos grupos LOS e LOT foram utilizados para as medidas da razão GSH/GSSG.

3.2 Seqüência experimental

O protocolo seguiu a seqüência experimental apresentada na figura 1. Os procedimentos serão descritos a seguir. É importante ressaltarmos que os animais utilizados para a avaliação do estresse oxidativo foram sacrificados 2 dias após o término do protocolo de treinamento físico.

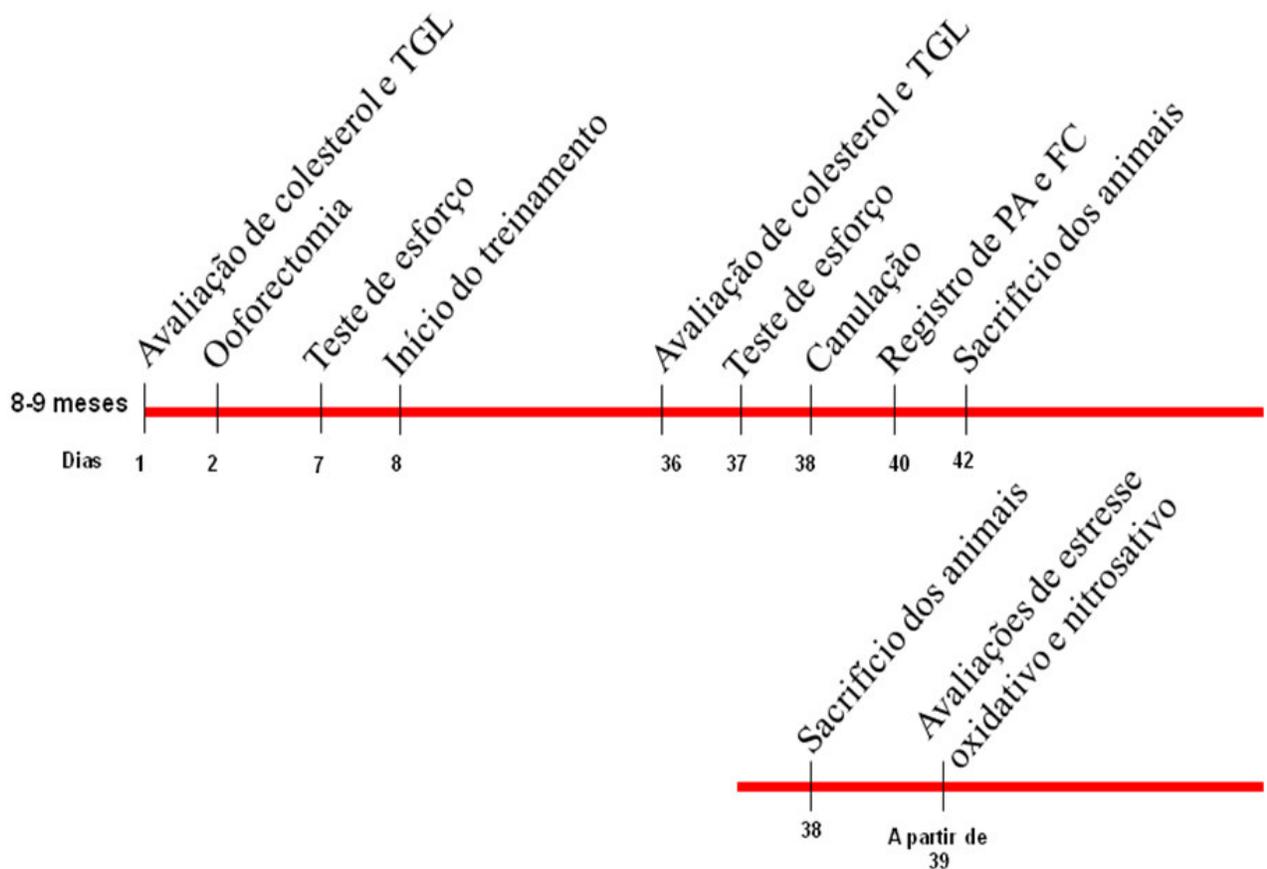


Figura 1. Seqüência experimental. TGL: triglicérides; PA: pressão arterial; FC: frequência cardíaca.

3.2.1 Ooforectomia

Os animais foram anestesiados com uma mistura de cetamina e xilazina (120:20 mg/Kg im) e colocados em decúbito dorsal para que se realize uma pequena incisão 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 (Marsh et al., 1999, Irigoyen et al., 2005).

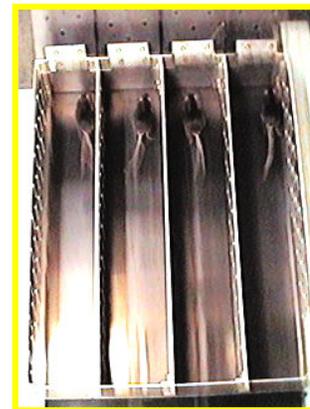
3.2.2 Teste de esforço máximo

Todos os grupos estudados foram submetidos a um protocolo de teste de esforço máximo em esteira ergométrica no início e no final do programa de treinamento físico. Este teste teve o intuito de avaliar a capacidade física dos animais e conseqüentemente serviu de base para prescrição do treinamento físico para os grupos treinados bem como pode evidenciar a 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 atinja a exaustão. A exaustão foi determinada pela permanência do animal no final da raia de corrida mesmo se estimulado pelo avaliador. O tempo de teste e a velocidade da última carga realizada por completo foram anotados e serviram para fazer a média de capacidade aeróbia de cada grupo (De Angelis et al., 2004). Foi utilizada a velocidade da última carga completa do teste de esforço máximo para se estabelecer a média do grupo e também a velocidade do treinamento físico.

3.2.3 Treinamento físico

Cinco dias após a cirurgia de ooforectomia os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira ergométrica com velocidade e carga progressiva (1 hora dia/ 5 dias por semana/50-60% da velocidade máxima de esforço) durante 4 semanas conforme previamente descrito (De Angelis et al., 2004).

Figura 2- Treinamento físico em camundongos em esteira ergométrica adaptada.



3.2.4 Canulação arterial e venosa

Após o período de treinamento ou acompanhamento, os animais foram anestesiados com uma mistura de cetamina e xilazina (120:20 mg/Kg im) e mantidos em mesa cirúrgica aquecida (37° C) para colocação de cânulas na artéria carótida para registro da pressão arterial e da frequência cardíaca e, na veia jugular, para a injeção de drogas. Os camundongos anestesiados foram colocados em decúbito dorsal e utilizando-se de procedimentos assépticos e lupa cirúrgica (surgical microscope – DFV – M90), foi realizada uma incisão mediana na região cervical e separação da musculatura pré-traqueal para localização da veia jugular e a artéria carótida. Foram implantadas cânulas de Tygon (0,05 mm de diâmetro interno), com 3,0 cm de comprimento, soldadas a um segmento de Cloreto de Polivinila (0,05 mm de diâmetro interno), com 4,0 cm de comprimento e preenchidas com solução fisiológica heparinizada (20 UI/ml). A extremidade de cloreto de polivinila foi introduzida e fixada no vaso e a extremidade de Tygon foi exteriorizada no dorso do animal na região cervical e fixada com fio de polipropileno (6-0) na pele. As cânulas foram implantadas 48 horas antes do experimento.

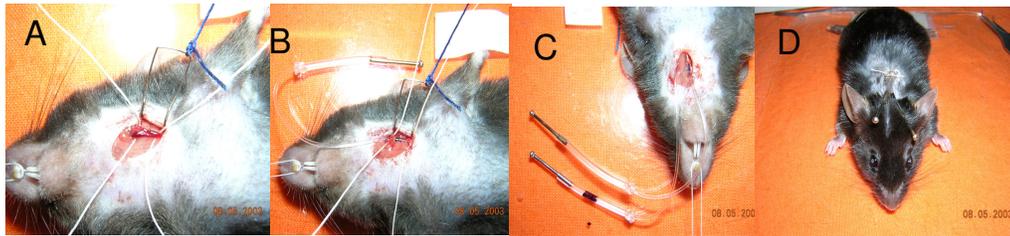


Figura 3- Fotos ilustrativas da canulação da artéria carótida e veia jugular no camundongo.

3.2.5 Registro da pressão arterial

A PA e a FC em repouso foram registradas com o animal acordado e com livre movimentação por 30 minutos, pelo menos 48 horas depois dos procedimentos cirúrgicos descritos acima. A cânula arterial foi conectada a um tubo de polietileno (PE-100) e este a um transdutor eletromagnético (Kent Instruments, USA) que, por sua vez, foi conectado a um amplificador (General Purpose Amplifier, Stemtech, Inc., USA). O sinal analógico do pulso de pressão arterial foi convertido para digital através de uma placa de conversão analógico-digital de 10 bits (CODAS, Dataq Instruments, USA) e em seguida, foi registrado batimento-a-batimento com uma frequência de amostragem de 4000 Hz por canal através do programa AT/CODAS (DataQ Instruments, Inc., Ohio, USA) (De Angelis et al., 2004).

3.2.6 Avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores

Após o registro de repouso, drogas vasoativas foram injetadas na cânula da veia jugular com uma seringa de Hamilton (100 μ l) para avaliação do barorreflexo. A sensibilidade dos barorreceptores foi testada através da infusão de doses crescentes (volume máximo de 25 μ l) de fenilefrina (80 a 250 ng/kg) e de nitroprussiato de sódio (100 a 250 ng/kg). Fenilefrina e nitroprussiato foram infundidas randomicamente entre os animais, iniciando-se a sessão com um ou outro fármaco (De Angelis et al.,

2004).

Para avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi reduzido dos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi reduzida dos valores de FC do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM (De Angelis et al, 2004).

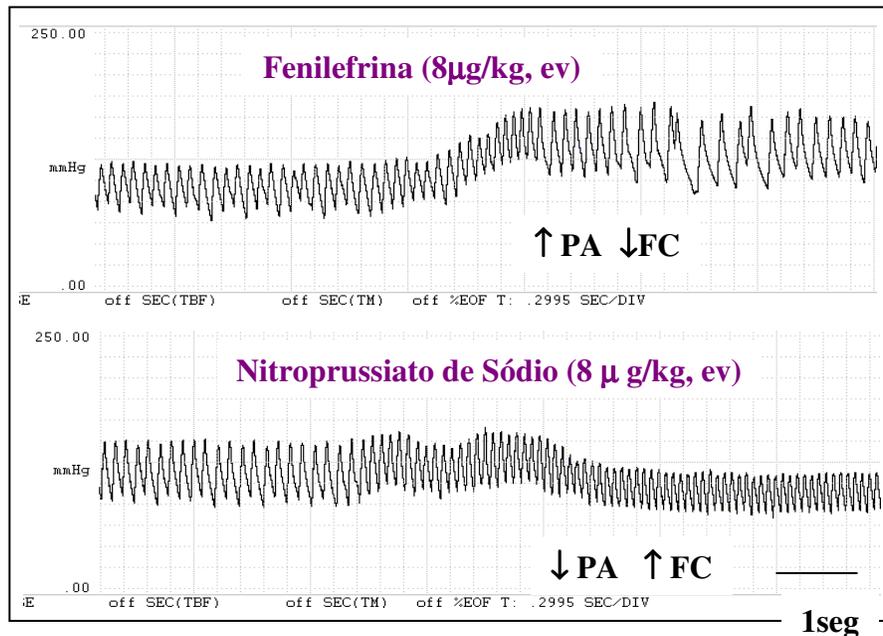


Figura 4- Registro da respostas reflexas induzidas pela injeção de fenilefrina e nitroprussiato de sódio em camundongo.

3.3 Avaliação da modulação autonômica

3.3.1 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, onde 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 4.000 Hz. Também dois componentes foram obtidos na análise espectral: baixa frequência (BF, 0,20-0,75 Hz) e alta frequência (AF, 0,75-3,0 Hz). Os dados foram expressos em unidades normalizadas (n.u.). O componente BF é usado como um índice da atividade simpática. O componente AF é usado como um índice da atividade parassimpática. A relação BF/AF indica o balanço simpato-vagal (Ishise, Asanoi et al. 1998).

3.3.2 Análise da 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 pressão arterial sistólica. No domínio do tempo a variabilidade da PAS foi quantificada pela média do desvio padrão.

A análise no domínio da frequência consistiu da decomposição do sistograma pela Transformada Rápida de Fourier (FFT). Após esse remodelamento matemático, foram obtidas as potências absolutas na banda de baixa frequência (BF, 0,20-0,75 Hz).

3.4 Análises bioquímicas

3.4.1 Determinação das concentrações sanguíneas de colesterol total e triglicerídeos.

As concentrações sanguíneas de colesterol total e triglicerídeos foram determinados no início e no final do protocolo após 4 horas de jejum através de uma gota de sangue obtida de um pequeno corte na cauda do animal com o uso do aparelho ACCUTREND da Roche.

3.5 Preparação dos tecidos

Após as avaliações hemodinâmicas, os animais foram pesados e sacrificados através de decaptação. O coração foi coletado e congelado (-70°C) para análise de estresse oxidativo e das atividades de enzimas antioxidantes.

Para análise os tecidos foram homogeneizados durante 30 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax (Staufen, Alemanha), com 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 será utilizado para que não haja degradação das enzimas das quais a atividade foi medida. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm, 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).

3.6 Dosagem de proteínas

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

3.7 Medidas de estresse oxidativo

3.7.1 Quimiluminescência (QL) iniciada por hidroperóxido de tert-butil (TBOOH)

A determinação da quimiluminescência iniciada por hidroperóxido de tert-butil (QL) em homogeneizados de tecido cardíaco tem sido utilizada para detectar a ocorrência de estresse oxidativo em várias situações patológicas experimentais, tais como cardiotoxicidade induzida por adriamicina

(Llesuy et al., 1990), camundongos portadores de tumores (Boveris et al., 1985), tratamento crônico com etanol (Boveris et al., 1983), perfusão do coração com H_2O_2 (Belló-Klein et al., 1994).

O método consiste em adicionar um hidroperóxido orgânico de origem sintética (hidroperóxido de tert-butil) ao homogeneizado de tecido em estudo. Avalia-se a capacidade de resposta, mediante a determinação da QL produzida, em grande parte, pelas carbonilas excitadas e oxigênio singlet da amostra, que foram formadas na reação radicalar.

3.7.2 Glutathiona Total

A glutathiona total mede a reação de óxido redução entre GSH e GSSG. O meio de reação no qual será realizado o ensaio consiste em uma solução de tampão fosfato 300 mM ($Na_2HPO_4 \cdot 1H_2O$), e uma solução de DTNB (ácido ditionitrobenzóico). No momento do ensaio, agrega-se 1 mL de tampão fosfato, 100 μ L de DTNB, zera-se o espectro e após acrescenta-se 250 μ L amostra (Beutler et al. 1963).

3.7.3 Glutathiona Reduzida

A medida da GSH é feita através de sua reação com o DTNB, formando um composto corado TNB que pode ser medido espectrofotometricamente a 414 nm. Serão utilizados os seguintes reagentes: ácido Perclórico 2M com EDTA 2 mM; hidróxido de Potássio 2M com MOPS 0,3M; DTNB 6 mM em tampão fosfato 100 mM com EDTA 1mM pH 7,5 e Tampão Fosfato 100 mM pH 7,5. Na seqüência será acrescentado 300 μ L de ácido perclórico à 300 μ L de amostra, e centrifugado este volume a 5000 g por 5 minutos. Após será retirado o sobrenadante, este será neutralizado com KOH até um pH entre 7,0 e 8,0. Novamente será levado à centrífuga (5000 g por 5 minutos). Com o sobrenadante, será determinada a GSH, utilizando igual volume de sobrenadante e de DTNB. O resultado será dado em nmol por mg de proteína (Akerboom et al., 1981).

3.7.4 Glutathiona Oxidada

Se adiciona a amostra ácido perclórico, os quais serão colocados em ependorf e centrifugados, posteriormente é neutralizado com CO_3HK . Desta extraio uma alíquota de 60mL + 60 mL DNTB + 60 mL GSSH e 60 mL NDPH. A leitura é realizada em espectrofotometro 414 nm.

Uma vez neutralizada com CO_3HK é adicionado 5 ml de 2 vinil piridina e deixa-se repousar por uma hora a temperatura ambiente. Logo se repete o processo anterior. A diferença entre a primeira e a segunda leitura é a GSSG (Tietze, 1969).

3.8 Medida da atividade das enzimas antioxidantes no tecido cardíaco

3.8.1 Catalase (CAT)

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 consiste 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 9 μL deste tampão e 10 μL de amostra de tecido na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados 35 μL 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 pmoles por mg de proteína (Boveris & Chance, 1973).

3.8.2 Superóxido dismutase (SOD)

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 glutathione peroxidase. 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, foram 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 feita 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 (Marklund, 1995).

3.9 Análise de nitritos/nitratos no tecido cardíaco

Os níveis de nitritos/nitratos no tecido cardíaco foram medidos pela reação das amostras com o reagente de Griess. Alíquotas de 40µL de homogeneizado de tecido foram incubadas (em duplicata) com cofatores enzimáticos e nitrato redutase por uma hora para conversão de nitrato em nitrito em temperatura ambiente. O total de nitrito tecidual foi então analisado pela reação das amostras com 50 µl de reagente de Griess. O total de nitrito tecidual foi estimado a partir de uma curva padrão de absorvância em 540 nm (Granger et al., 1999).

3.11 Análise estatística

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). O teste “*t*” de Student foi aplicado para comparação de dois grupos (LOS e LOT) e a ANOVA “two way” seguido do Post-hoc Student Newman Keuls foi adequadamente aplicado para comparação dos 4 grupos. A correlação entre as variáveis foi testada por regressão linear. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

4. RESULTADOS

4.1 Peso corporal

O peso corporal foi semelhante entre os grupos controle ooforectomizado sedentário (COS: $22 \pm 1,2$ e $22 \pm 0,8$ gramas), controle ooforectomizado treinado (COT: $21 \pm 0,33$ e $21 \pm 0,67$ gramas), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS: $24 \pm 0,75$ e $24 \pm 0,5$ gramas) e LDL Knockout ooforectomizado treinado (LOT: $22,2 \pm 1,3$ e $23 \pm 0,4$ gramas) no início e ao final do protocolo (Figura 5).

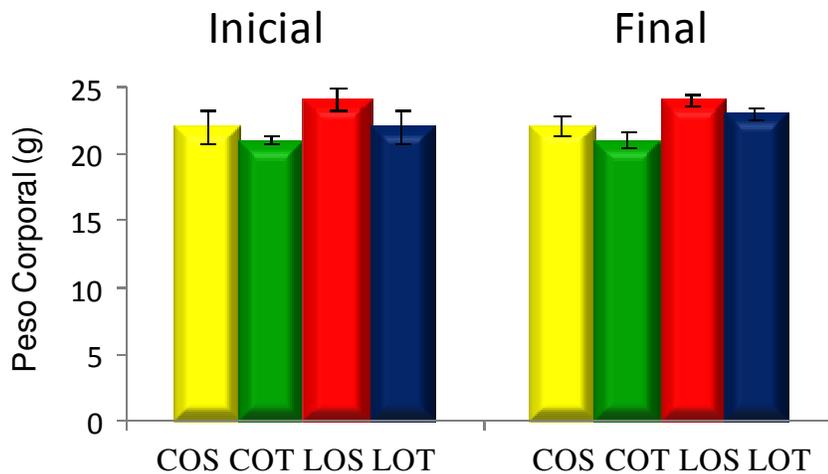


Figura 5. Peso corporal nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

4.2 Concentrações sanguíneas de triglicérides e colesterol total

A tabela abaixo mostra os valores sanguíneos de triglicérides e colesterol total nos grupos estudados no início e ao final do protocolo. Pode-se observar que no início do protocolo os parâmetros metabólicos foram similares entre os grupos. Entretanto, ao final do protocolo os níveis sanguíneos de triglicérides foram maiores nos grupos LDL-Knockout quando comparados aos grupos controles e aos seus respectivos valores iniciais (Tabela 1).

Tabela 1. Concentrações sanguíneas de triglicérides e colesterol total nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT) no início e final do protocolo.

Grupos	Triglicérides mg/dL		Colesterol mg/dL	
	Inicial	Final	Inicial	Final
COS	163 ± 6,8	170 ± 21,5	ND	ND
COT	158 ± 17	171 ± 12	ND	ND
LOS	172 ± 0,7	229 ± 21,2†‡	187 ± 5,5	250 ± 9,2‡
LOT	163 ± 4,19	234 ± 46,8†‡	202 ± 39,7	191 ± 22,3*

Valores representam média ± EPM no início e no final do protocolo. *p< 0,05 vs. LOS, ‡ p< 0,05 vs. valor inicial, † p< 0,05 vs. COS. ND: não detectável.

Ao final do protocolo o colesterol total foi menor no grupo LOT quando comparado ao grupo LOS. Além disso, o grupo LOS apresentou aumento dos valores de colesterol ao longo do protocolo (inicial vs. final, Tabela 1), o que não foi observado no grupo LOT. Os grupos COS e COT apresentaram valores de colesterol não detectáveis pelo aparelho de medição (Tabela 1 e Figura 6).

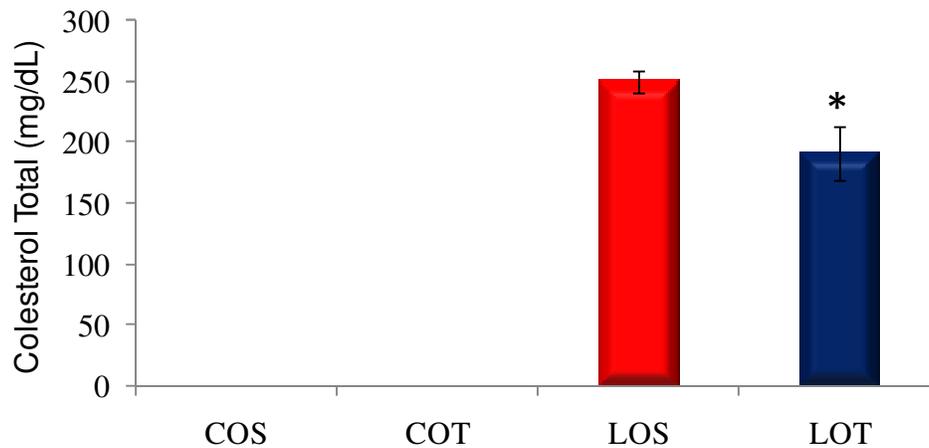


Figura 6. Valores de colesterol total (CT) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT) ao final do protocolo. ND (não detectável). * $p < 0,05$ vs. grupo LOS.

4.3 Capacidade física

O gráfico abaixo mostra as velocidades máximas alcançadas no teste de esforço nos grupos estudados. No início do protocolo a velocidade máxima no teste de esforço foi semelhante entre os grupos (COS: $1,77 \pm 0,05$; COT: $1,8 \pm 0,2$; LOS: $1,95 \pm 0,1$; LOT: $1,91 \pm 0,15$ Km/h). Entretanto, ao final do protocolo os grupos que realizaram o treinamento físico em esteira apresentaram melhora na capacidade física, confirmada por uma maior velocidade máxima atingida no teste de esforço em relação aos grupos sedentários e aos valores iniciais (COS: $1,83 \pm 0,06$; COT: $2,64 \pm 0,04$; LOS: $1,92 \pm 0,02$; LOT: $2,73 \pm 0,14$ Km/h) (Figura 7).

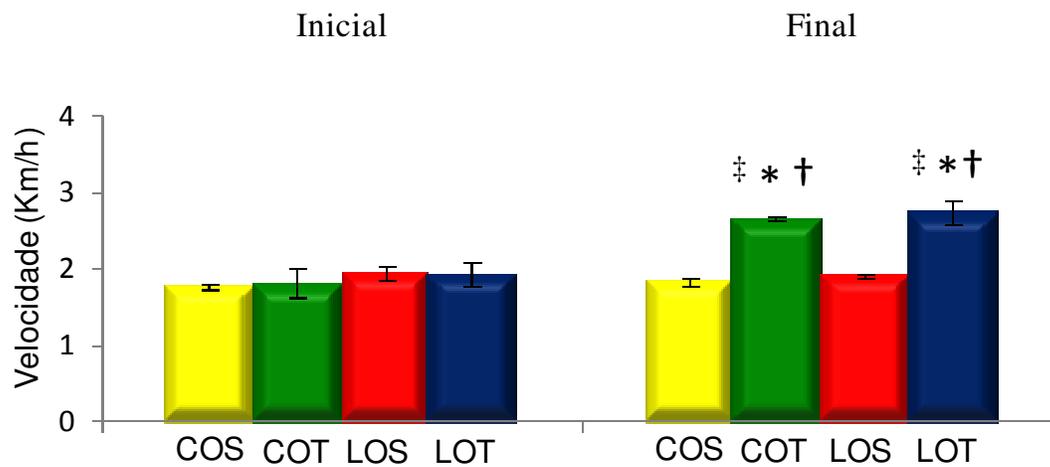


Figura 7. Velocidade máxima atingida teste de esforço inicial e final dos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. LOS, † $p < 0,05$ vs. COS, ‡ $p < 0,05$ vs. valor inicial.

4.4 Pressão arterial e frequência cardíaca

A medida direta dos sinais de pressão arterial demonstrou valores reduzidos de pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial média (PAM) nos grupos treinados (COT e LOT) quando comparado aos grupos sedentários (COS e LOS) (Tabela 2 e Figura 8).

Tabela 2. Pressão arterial diastólica (PAD), sistólica (PAS) e média (PAM) e frequência cardíaca nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

	COS	COT	LOS	LOT
PAD (mmHg)	114 ± 2,8	89 ± 3,4*†	106 ± 2,7	88 ± 2,5*†
PAS (mmHg)	140 ± 6	115 ± 2,1*†	143 ± 3	113 ± 3,3*†
PAM (mmHg)	127 ± 4	106 ± 2,5*†	125 ± 2,8	101 ± 2,7*†
FC (bpm)	569 ± 16	501 ± 18†	600 ± 14¥	535 ± 14*

Valores representam média ± EPM ao final do protocolo. *p< 0,05 vs. grupo LOS, † p< 0,05 vs. grupo COS; ¥ p< 0,05 vs. COT.

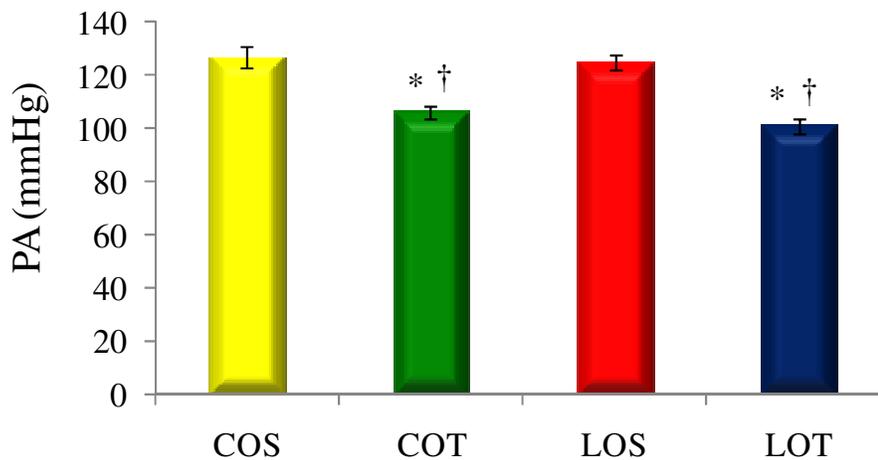


Figura 8. Pressão arterial média (PAM) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). *p< 0,05 vs. grupo LOS, † p< 0,05 vs. grupo COS; ¥ p< 0,05 vs. COT.

Também se pode observar que o treinamento físico induziu bradicardia de repouso nos grupos treinados quando comparado aos seus respectivos grupos sedentário. Adicionalmente, o grupo LOS demonstrou um aumento da frequência cardíaca quando comparado ao grupo COT (Tabela 2 e Figura 9).

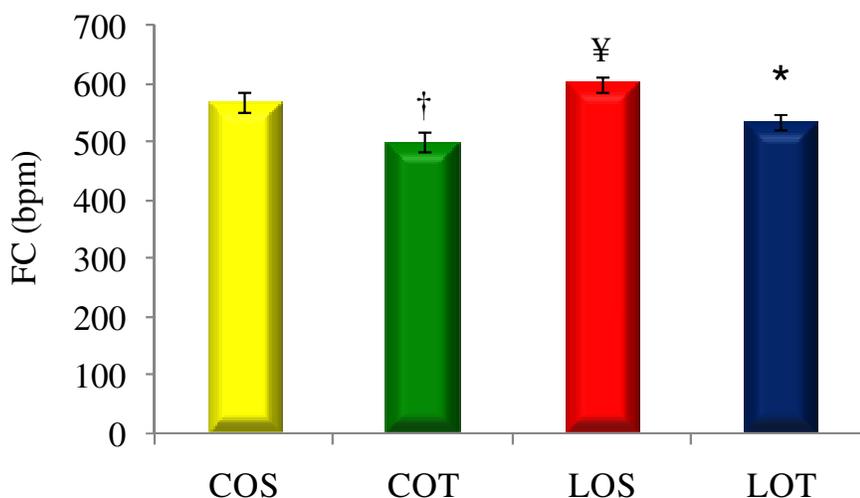


Figura 9. Frequência cardíaca (FC) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. grupo LOS, † $p < 0,05$ vs. grupo COS; ¥ $p < 0,05$ vs. COT.

Foi obtida correlação positiva entre a pressão arterial média e o colesterol total ao final do protocolo ($r = 0,85$, $p < 0,05$) nos animais dos grupos LOS e LOT (Figura 10). Dessa forma, os animais que apresentaram altos níveis de colesterol total, também apresentaram a pressão arterial média elevada.

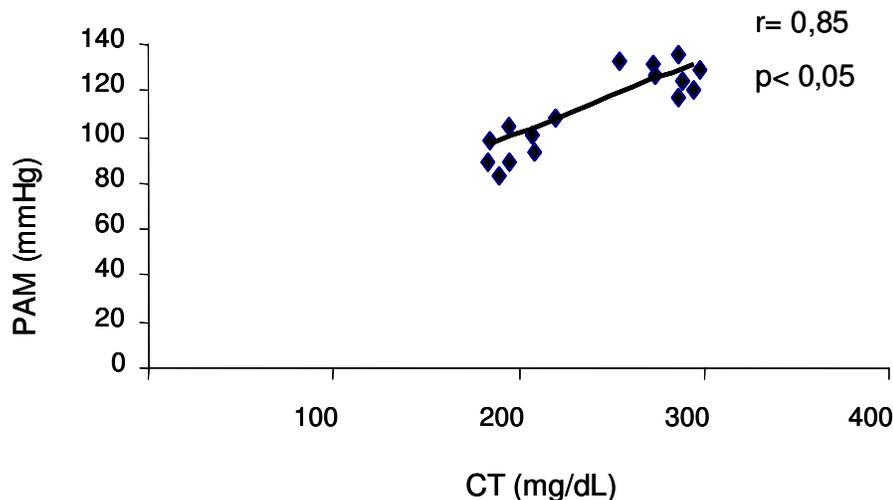


Figura 10. Correlação positiva obtida através de regressão linear entre a pressão arterial média (PAM) e o colesterol total (CT) ao final do protocolo nos animais do grupo LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

4.5 Sensibilidade dos pressorreceptores

A figura abaixo ilustra os valores das respostas taquicárdicas e bradicárdicas induzidas, respectivamente, por diminuições e aumentos da pressão arterial. Houve uma redução dos valores de resposta taquicárdica no grupo LOS ($1,51 \pm 0,17$ bpm/mmHg) em relação ao grupo COS ($2,77 \pm 0,28$ bpm/mmHg) e COT ($3,97 \pm 0,76$ bpm/mmHg) e o treinamento físico não atenuou este prejuízo na sensibilidade dos pressorreceptores para as respostas taquicárdicas no grupo LOT ($1,74 \pm 0,22$ bpm/mmHg). Já para a resposta bradicárdica, o treinamento físico aumentou a sensibilidade barorreflexa no grupo LOT ($-4,2 \pm 0,62$ bpm/mmHg) em relação aos grupos sedentários (LOS: $-1,49 \pm 0,15$; COS: $-1,63 \pm 0,04$ bpm/mmHg) e induziu um aumento adicional desta resposta reflexa no grupo controle treinado (COT: $-6,8 \pm 1,4$ bpm/mmHg) em relação aos demais grupos estudados (Figura 11).

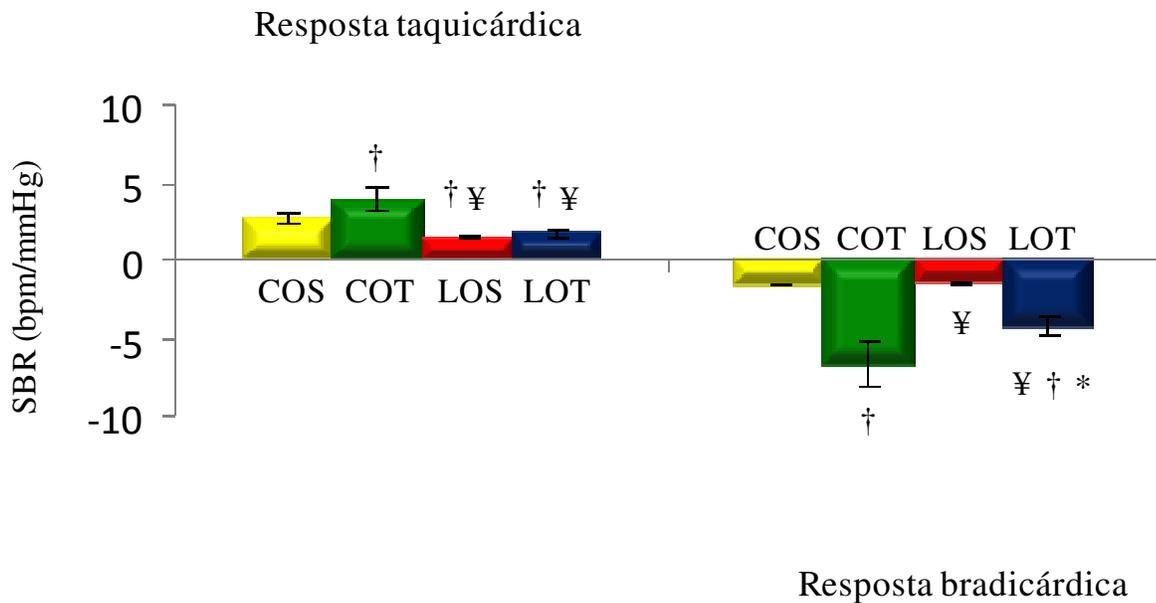


Figura 11. Sensibilidade barorreflexa (SBR) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. LOS. † $p < 0,05$ vs. COS; ¥ $p < 0,05$ vs. COT.

Foi obtida correlação positiva entre o colesterol total ao final do protocolo e a resposta bradicárdica ($r = 0,9$, $p < 0,05$) nos animais dos grupos LOS e LOT (Figura 12). Nesse sentido, os animais que apresentaram altos níveis de colesterol total apresentaram uma diminuição da sensibilidade barorreflexa para a resposta bradicárdica.

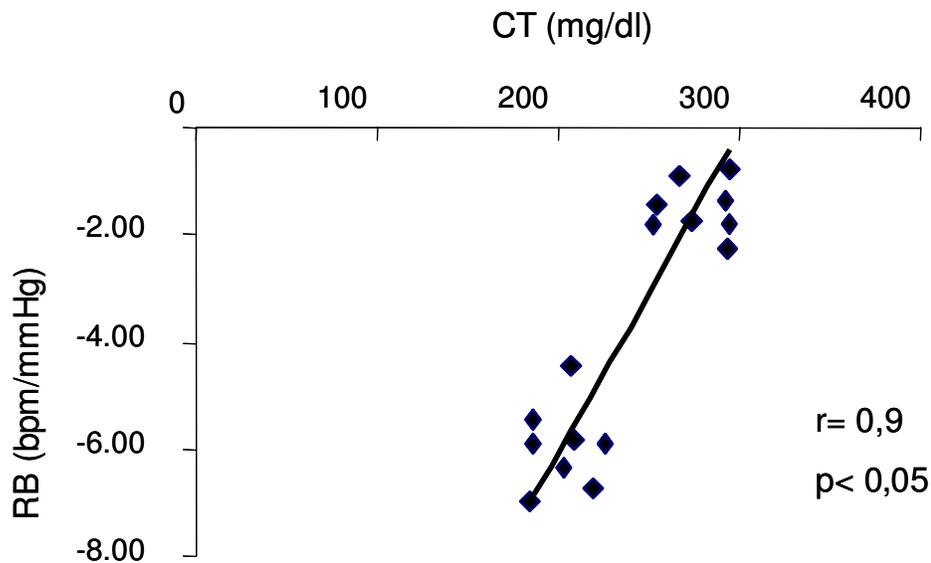


Figura 12. Correlação positiva obtida através de regressão linear entre o colesterol total ao final do protocolo (CT) e a resposta bradicárdica (RB) nos animais do grupo LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

4.6 Modulação autonômica cardiovascular

A tabela abaixo apresenta os valores da variância total, da banda de baixa frequência (BF) e da banda de alta frequência (AF) do intervalo de pulso (IP) bem como a variância total e a banda de baixa frequência (BF) da pressão arterial sistólica (PAS), obtidos através da análise espectral pelo método da Transformada Rápida de Fourier (FFT). Podemos verificar que a variância do IP (Tabela 3 e Figura 13) foi maior no grupo COT quando comparado aos outros grupos estudados. Além disso, a variância do IP foi maior no grupo LOT em relação ao grupo LOS. A banda de BF (normalizada) do IP estava reduzida no grupo LDL sedentário (LOS) em relação aos demais grupos avaliados. Já a banda de AF (normalizada) do IP foi maior no grupo COT quando comparado ao grupo LOS, e o treinamento físico também induziu aumento no grupo LOT nesta variável em relação aos grupos sedentários (Tabela 3 e Figura 15).

Tabela 3. Variabilidade do intervalo de pulso nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

		COS	COT	LOS	LOT
Var IP	(ms²)	28 ± 14	90 ± 25†	6,5 ± 1,45¥	34 ± 7,93¥*
BF	Total (ms²)	14,6 ± 8,1	39,9 ± 14,6	0,39 ± 0,08	8,6 ± 2,2*
	n.u.	32 ± 10,7	34,6 ± 4,25	7 ± 1,1 ¥†	31,3 ± 3,2*
AF	Total (ms²)	8,55 ± 4,1	22,9 ± 7	1,4 ± 0,35	13,2 ± 2,5*
	n.u.	29,9 ± 4	42,7 ± 4,2	25,6 ± 5¥	52,6 ± 6,6*†

Valores representam média ± EPM ao final do protocolo. *p< 0,05 vs. LOS, † p< 0,05 vs. COS; ¥ p< 0,05 vs. COT. Var IP: Variância total do intervalo de pulso; BF: banda de baixa frequência; AF: banda de alta frequência; n.u.: normalizada.

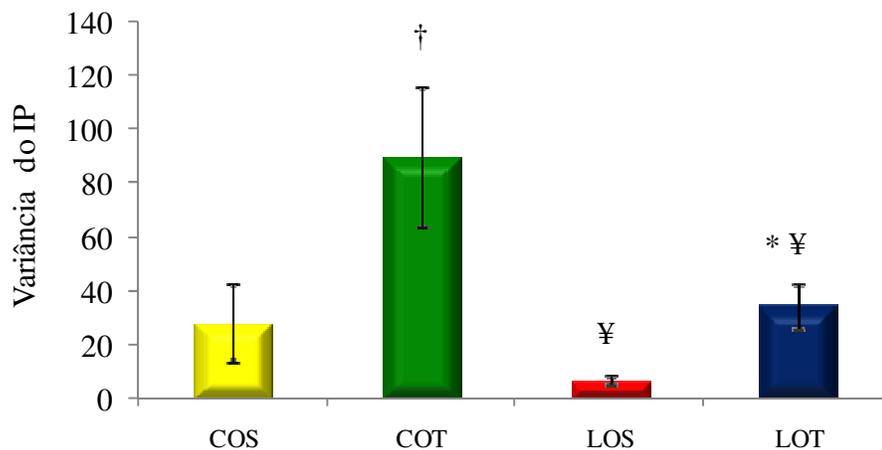


Figura 13. Variância total do intervalo de pulso (IP) nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * p< 0,05 vs. LOS; † p< 0,05 vs. COS; ¥ p< 0,05 vs. COT.

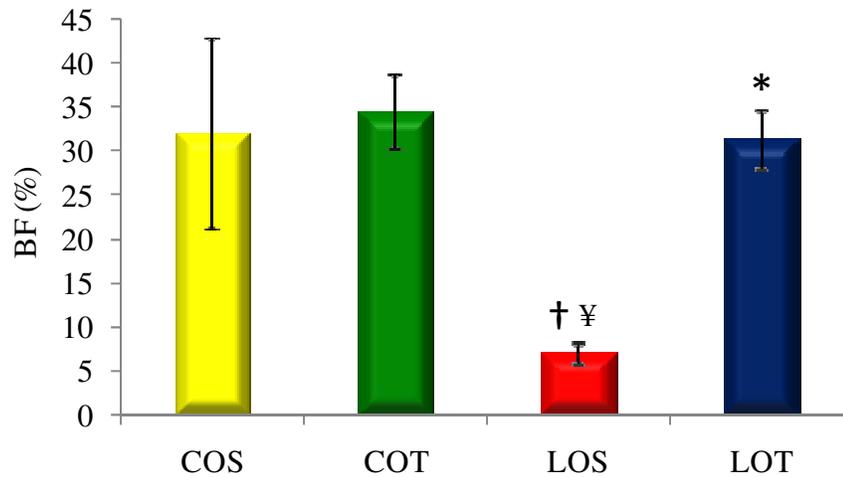


Figura 14. Banda de baixa frequência (BF) do intervalo de pulso (IP) normalizada nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. LOS; † $p < 0,05$ vs. COS; ¥ $p < 0,05$ vs. COT.

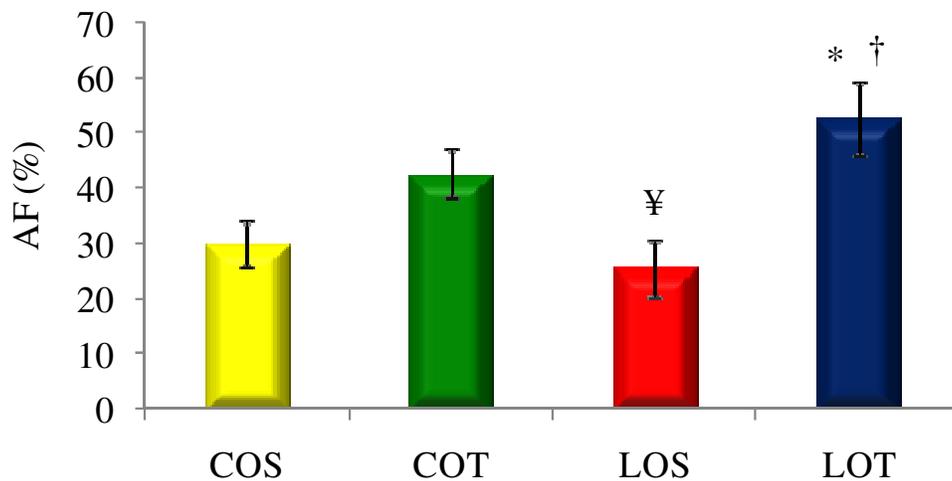


Figura 15. Banda de alta frequência (AF) do intervalo de pulso (IP) normalizada nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. LOS; † $p < 0,05$ vs. COS; ¥ $p < 0,05$ vs. COT.

Não houve diferença entre os grupos na variabilidade da pressão arterial sistólica, avaliado pela variância da pressão arterial sistólica (PAS) e pela banda de baixa frequência da PAS (Tabela 4).

Tabela 4. Variabilidade da pressão arterial sistólica nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

	COS	COT	LOS	LOT
Var PAS (mmHg²)	21,9 ± 7,6	39,9 ± 2,6	32 ± 11,13	29 ± 3,2
BF (mmHg²)	8,17 ± 4,4	5,2 ± 0,5	5 ± 1,65	6,5 ± 1,26

Valores representam média ± EPM ao final do protocolo. Var PAS: Variância total da pressão arterial sistólica; BF: Banda de baixa frequência.

Foram obtidas correlações positivas entre o colesterol total ao final do protocolo e a variância total do IP ($r= 0,7$, $p< 0,05$, Figura 16) e a banda de alta frequência do IP normalizada ($r= 0,75$, $p< 0,05$, Figura 17). Dessa forma, os animais que apresentaram valores mais elevados de colesterol total, apresentaram reduzida variância do IP e menor banda de alta frequência.

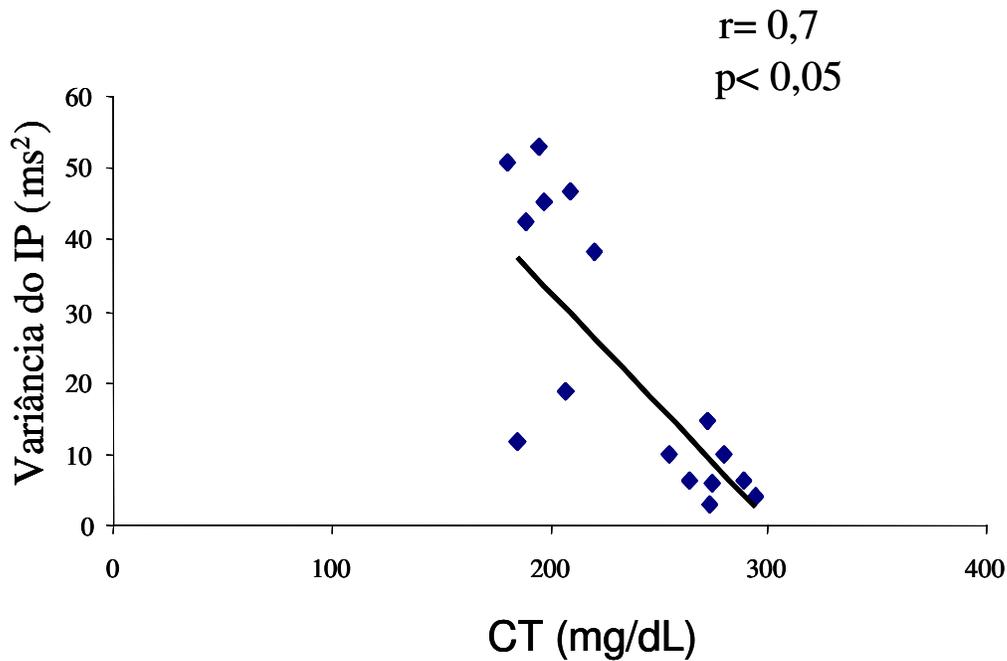


Figura 16. Correlação positiva obtida através de regressão linear entre o colesterol total ao final do protocolo (CT) e a variância total do intervalo de pulso (IP) nos animais dos grupos LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

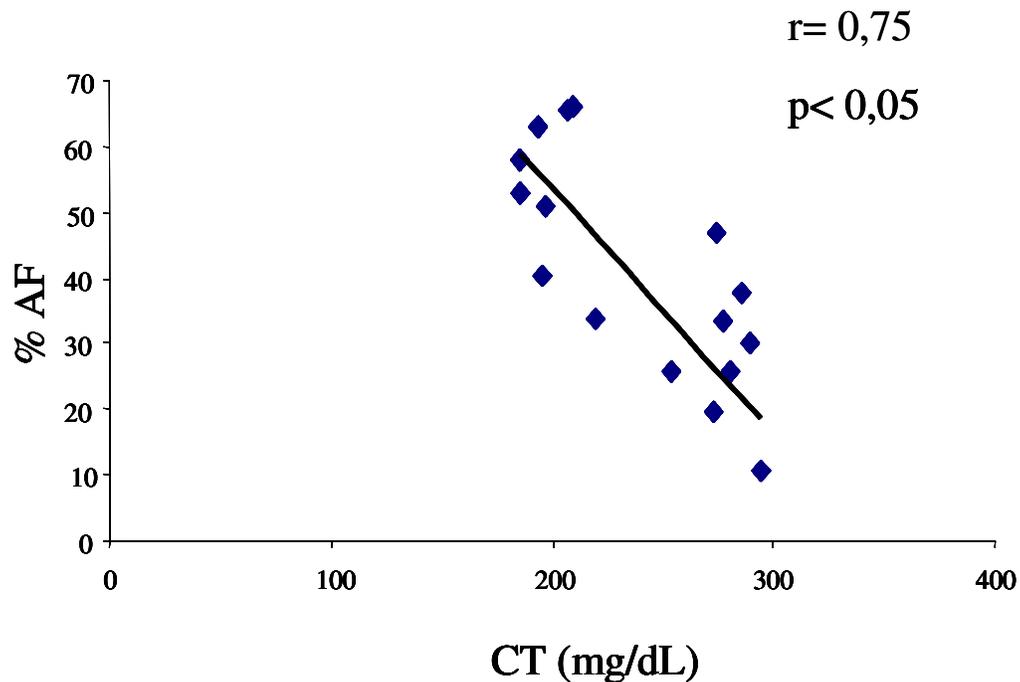


Figura 17. Correlação positiva obtida através de regressão linear entre o colesterol total ao final do protocolo (CT) e a banda de alta frequência (AF) do intervalo de pulso (IP) normalizada nos animais dos grupos LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

4.7 Perfil oxidativo

A tabela abaixo mostra os valores de quimiluminescência (QL), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco nos grupos estudados. Podemos verificar que os grupos treinados (COT e LOT) apresentaram menores valores de quimiluminescência no tecido cardíaco quando comparados aos grupos sedentários (Tabela 5 e Figura 18). Já a atividade da enzima SOD no tecido cardíaco foi aumentada nos grupos treinados (COT e LOT) em relação ao grupo controle sedentário (COS) (Tabela 5 e Figura 19). A atividade da enzima catalase foi maior nos grupos LDL Knockout (LOS e LOT) quando comparado ao grupo controle sedentário (COS) (Tabela 5).

Tabela 5. Quimiluminescência (QL) e atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

	COS	COT	LOS	LOT
QL (cps/mgprot)	3411 ± 963	2198 ± 344 †	3644 ± 531 ¥	2250 ± 524 *†
CAT (pmol/mgprot)	19,4 ± 1,8	23,2 ± 1,3	28,6 ± 1,5 †	27,4 ± 2,5 †
SOD (U/mg/prot)	1,34 ± 0,2	2,1 ± 0,1 †	1,77 ± 0,3	2,14 ± 0,11 †

Valores representam média ± EPM ao final do protocolo. * p < 0,05 vs. LOS; † p < 0,05 vs. COS; ¥ p < 0,05 vs. COT.

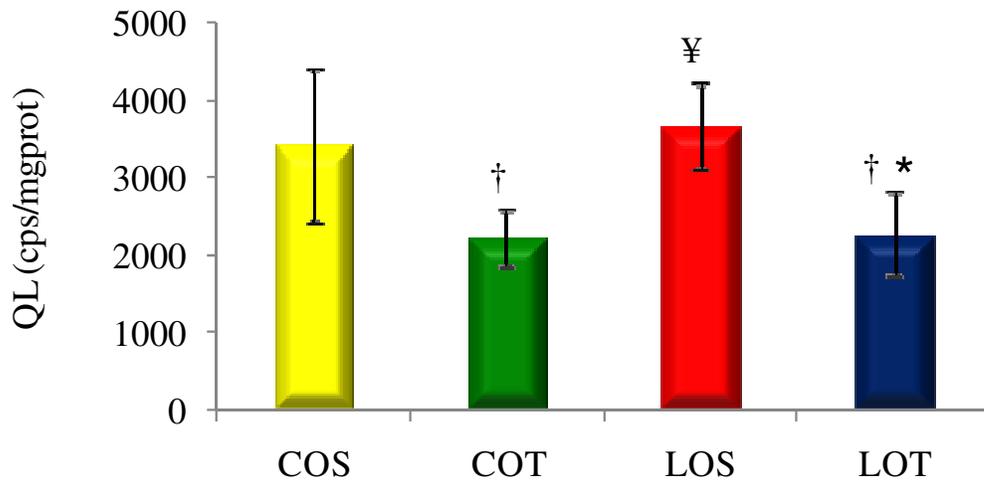


Figura 18. Quimiluminescência (QL) no tecido cardíaco dos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. LOS; † $p < 0,05$ vs. COS; ‡ $p < 0,05$ vs. COT.

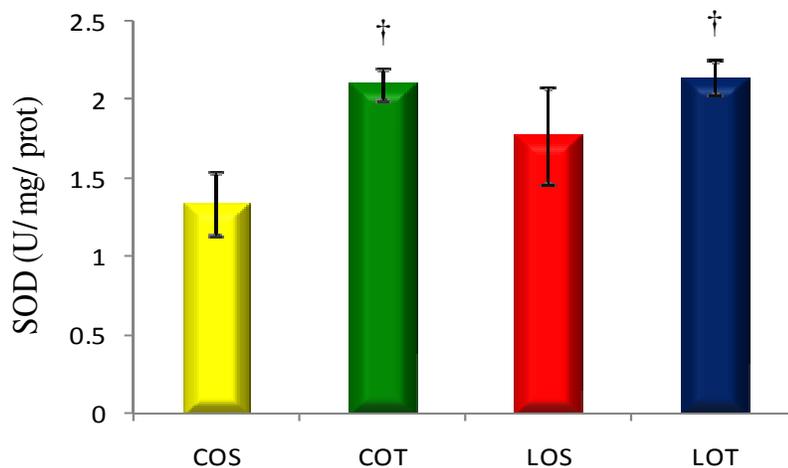


Figura 19. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no tecido cardíaco nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT). * $p < 0,05$ vs. LOS; † $p < 0,05$ vs. COS; ‡ $p < 0,05$ vs. COT.

A relação glutathiona reduzida/glutathiona oxidada (GSH/GSSG) não foi diferente entre os grupos LDL Knockout treinado ($9,31 \pm 1,8$) e sedentário ($11,5 \pm 1,17$). É importante ressaltarmos que, em função da necessidade do tecido total cardíaco do camundongo optamos por realizar esta análise somente nos animais dos grupos LDL Knockout (Figura 20).

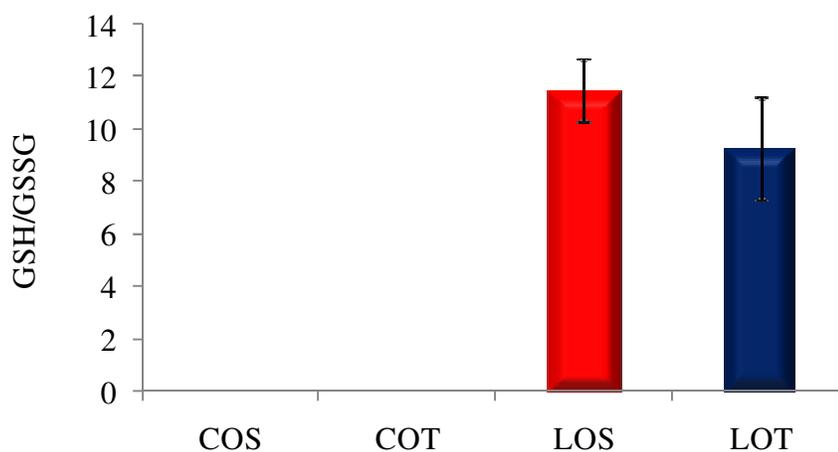


Figura 20. Razão glutathiona reduzida e glutathiona oxidada (GSH/GSSG) nos grupos LDL Knockout sedentário (LOS) e treinado (LOT).

A tabela abaixo apresenta os valores de nitrito, nitrato e a razão nitrito/nitrato no tecido cardíaco nos grupos estudados. Podemos verificar que o grupo LDL Knockout treinado (LOT) apresentou maiores valores de nitrito quando comparados aos demais grupos (COS, COT e LOS). Entretanto, não houve diferença nos valores da concentração de nitrato e da razão nitrito/nitrato entre os grupos estudados.

Tabela 6. Nitrito, nitrato e razão nitrito/nitrato total no tecido cardíaco nos grupos controle ooforectomizado sedentário (COS) e treinado (COT), LDL Knockout ooforectomizado sedentário (LOS) e treinado (LOT).

	COS	COT	LOS	LOT
Nitrito (mM)	0,025 ± 0,007	0,024 ± 0,004	0,032 ± 0,005	0,039 ± 0,003 †‡*
Nitrato (mM)	0,104 ± 0,046	0,117 ± 0,031	0,09 ± 0,027	0,115 ± 0,022
Razão				
nitrito/nitrato	0,22 ± 0,08	0,22 ± 0,1	0,32 ± 0,11	0,34 ± 0,04

Valores representam média ± EPM ao final do protocolo. * p< 0,05 vs. LOS; † p< 0,05 vs. COS; ‡ p< 0,05 vs. COT.

Foram obtidas correlações positivas entre a atividade da enzima superóxido dismutase e a concentração de nitritos ($r=0,6$, $p< 0,01$, Figura 21) e a razão nitrito/nitrato ($r=0,6$, $p< 0,01$, Figura 22) no tecido cardíaco. Sendo assim, os animais que apresentaram maior atividade da enzima SOD também apresentaram maior concentração de nitritos e maior razão nitrito/nitrato.

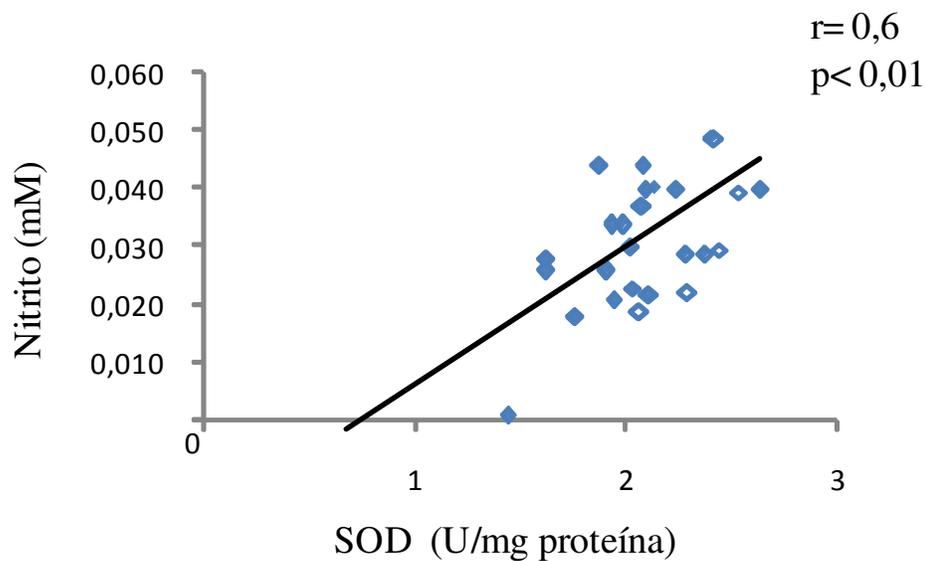


Figura 21. Correlação positiva obtida através da regressão linear entre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e a concentração de nitrito no tecido cardíaco.

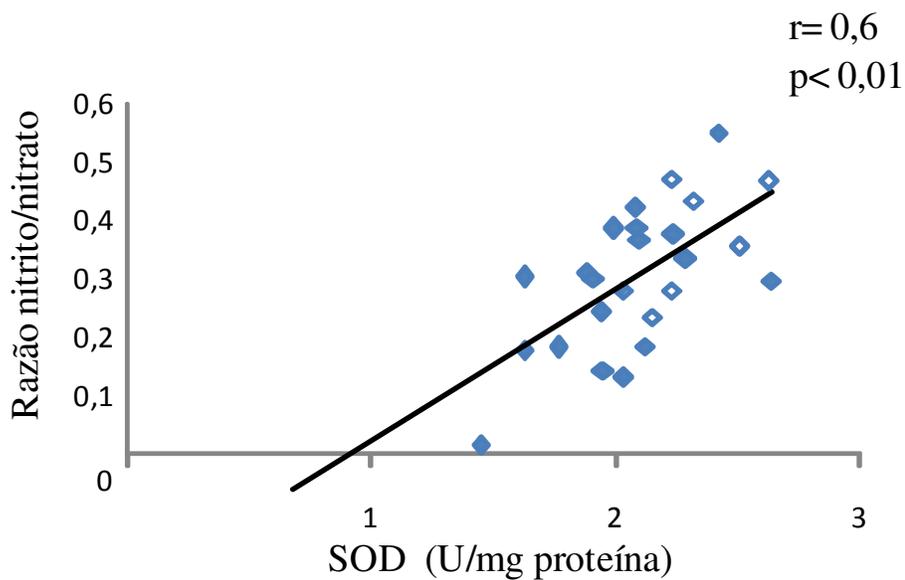


Figura 22. Correlação positiva obtida através da regressão linear entre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e a razão entre as concentrações de nitrito e nitrato no tecido cardíaco.

5. DISCUSSÃO

Estudos populacionais demonstraram há algum tempo importante relação entre os níveis sanguíneos de colesterol e o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular (Verschuren e Kromhout, 1995). Entre esses, um estudo com delineamento longitudinal realizado durante 30 anos na população da cidade de Framingham (EUA) avaliou a influência de alguns fatores de risco sobre a incidência e a mortalidade em decorrência de doenças cardiovasculares. Esse trabalho demonstrou associação entre disfunções cardiovasculares e valores elevados de colesterol plasmático, evidenciando que indivíduos que possuíam concentrações elevadas de colesterol sanguíneo no início do estudo apresentavam maior incidência e também mortalidade por doenças cardiovascular ao longo do período de seguimento (Anderson et al., 1987).

Adicionalmente, estudos clínicos demonstraram que terapias de redução do colesterol foram eficazes em reduzir o risco cardiovascular. O estudo HPSCG verificou uma redução de 24% nos eventos vasculares e nas operações de revascularização e 27% nos infartos não fatais e morte por doenças coronárias, em 20536 indivíduos entre 40-80 anos de idade com alto risco cardiovascular após o tratamento com drogas para reduzir o colesterol (HPSCG, 2002). Outro importante estudo populacional também demonstrou uma redução no número de infartos do miocárdio não fatais e nas mortes por doenças cardiovasculares em 5804 sujeitos entre 70-82 anos de idade com alto risco cardiovascular após terapia de redução de colesterol (Shepherd et al., 2002).

Esses resultados em conjunto demonstram a importância dos níveis de colesterol sanguíneo no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Neste aspecto, vale lembrar que a hipercolesterolemia é mais prevalente no sexo feminino após o evento da menopausa. O uso de animais knockout do receptor de LDL colesterol tem se mostrado importante tanto para estudos que visam o melhor entendimento do metabolismo dos lipídios quanto para os estudos que procuram entender a relação existente entre as

alterações lipídêmicas e o controle cardiovascular. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência de um modelo de tratamento não farmacológico, o treinamento físico, sobre o controle cardiovascular e o perfil oxidativo e nitrosativo em um modelo experimental de dislipidemia e menopausa. Nossos resultados demonstram que o treinamento físico foi eficaz em atenuar disfunções de variáveis relacionadas à homeostase e controle cardiovascular, além de reduzir o estresse oxidativo. Associado a isso, a diminuição do colesterol sanguíneo induzido pelo treinamento físico se mostrou um fator importante para a melhora da função cardiovascular nos animais dislipidêmicos e submetidos à privação dos hormônios ovarianos.

Para facilitar a compreensão e visando o melhor entendimento da discussão dos resultados esta seção será dividida em 3 blocos: inicialmente serão discutidos os dados metabólicos; em seguida os dados hemodinâmicos e autonômicos; e ao final os dados de estresse oxidativo e nitrosativo.

Avaliações metabólicas

O aumento no ganho de peso corporal e conseqüentemente o sobrepeso e a obesidade são achados comuns em mulheres após a menopausa (Asikainen et al., 2004). No presente estudo, todos os grupos estudados eram ooforectomizados, portanto, não foi possível avaliar o efeito da privação estrogênica no ganho de peso dos camundongos estudados. Resultados anteriores em rata submetida à ooforectomia demonstra mais ganho de peso corporal (REF), todavia tal achado não foi observado por Marsh (1999) estudando camundongos normais e LDL Knockout após a privação dos hormônios ovarianos. Além disto, no presente trabalho o treinamento físico não alterou o peso corporal dos grupos treinados ao final do protocolo. Vários estudos na literatura demonstraram que o treinamento físico reduz o peso corporal em mulheres menopausadas (Asikainen et al., 2004) e ratos velhos (De Angelis et al., 1997). Deste modo, é possível que o modelo utilizado em nosso estudo tenha adaptações diferentes ao

treinamento físico com relação ao peso corporal já que um estudo realizado por nosso grupo em camundongos machos não evidenciou menor peso após treinamento físico de 4 semanas (De Angelis et al., 2004).

Apesar de não terem sido observadas alterações no peso corporal, foram observadas alterações no perfil lipídico plasmático neste estudo. A alteração no perfil lipídico é um fato freqüentemente observado em mulheres após a menopausa (REF). Os níveis de colesterol total e da fração de LDL colesterol, assim como dos triglicérides plasmáticos, aumentam após a menopausa provavelmente em razão da redução da atividade do receptor de LDL localizados nas paredes dos vasos sanguíneos em resposta ao declínio gradual do estrógeno sanguíneo nos anos que precedem a menopausa (Kuller et al., 1994). Estudos anteriores demonstram que animais LDL Knockout apresentam elevada concentração de colesterol e triglicérides sanguíneos quando submetidos a uma dieta normal ou hiper-lipídica (Janssen et al., 2000). Assim, é relevante enfatizarmos que as alterações verificadas no perfil lipídico dos animais LDL Knockout para o LDL colesterol justificam a utilização dos mesmos para como um modelo experimental de dislipidemia.

Dados anteriores do nosso laboratório ainda não publicados demonstram que camundongos LDL-Knockout, sob dieta normal, apresentam valores de colesterol similares a humanos com hipercolesterolemia. De fato, nossos resultados no presente projeto mostram valores de colesterol total em torno de 250 mg/dL no grupo LDL Knockout sedentário ao final do protocolo. Esses valores de colesterol estão próximos dos valores reconhecidos como prejudiciais para saúde humana, e podem induzir danos nas paredes do leito arterial do animal com características semelhantes às verificadas nas artérias de humanos (Ohashi et al., 2003). Apesar disso, não existia estudos utilizando este modelo para o entendimento das disfunções no controle autonômico cardiovascular bem como abordando os efeitos do treinamento físico como fator de intervenção sobre o colesterol sanguíneo.

No presente estudo não foram observadas alterações nos triglicerídeos e no colesterol total em função da privação dos hormônios ovarianos nos grupos controles ao longo do protocolo. Todavia, verificou-se que a retirada dos hormônios ovarianos promoveu um aumento adicional na concentração de triglicerídeos e de colesterol total sanguíneas no grupo LOS em relação aos grupos controles e os seus valores iniciais. Entretanto, o grupo ooforectomizado LDL Knockout que realizou o treinamento físico (LOT) apresentou uma redução nos valores de colesterol sanguíneo ao final do protocolo quando comparado ao grupo LOS. Tais resultados reforçam os estudos que demonstram que a privação dos hormônios ovarianos induz alteração do perfil lipídico em indivíduos geneticamente pré dispostos e corrobora dados de outros estudos que utilizaram o treinamento físico como medida terapêutica para indivíduos com hipercolesterolemia. Nesse sentido, os efeitos do treinamento físico na redução da fração de LDL colesterol observado em mulheres na pós menopausa (Beard et al., 1996), também parece ser evidente nesse modelo experimental. Conforme comentado anteriormente, já está bem evidenciado na literatura que a alta concentração de colesterol sanguíneo pode estar associada, a um aumento da morbidade e também da mortalidade (Manninen et al., 1992), e, neste sentido, nossos resultados reforçam as evidências clínicas da importância do treinamento físico como uma abordagem não-farmacológica no tratamento da dislipidemia.

Adicionalmente, sabe-se que mesmo de forma isolada, a alta concentração de triglicerídeos sanguíneos está associada a um maior risco cardiovascular, além de poder induzir resistência à insulina, disfunção esta presente no desenvolvimento do diabetes tipo II. Neste aspecto, observou-se redução os valores de triglicerídeos sanguíneos em mulheres na pós- menopausa por um período de 24 horas após uma única sessão de exercício físico aeróbico (Weise et al., 2005). Contrariando nossas expectativas, no presente estudo os valores de triglicerídeos sanguíneos aumentaram em ambos os grupos Knockout para o receptor de LDL colesterol após a privação dos hormônios ovarianos.

Nesse sentido, pelo fato do treinamento físico diminuir os valores de colesterol e não exercer aparente influência sobre a concentração sanguínea de triglicerídeos é possível se supor que este modelo experimental apresente uma alteração no metabolismo das substâncias intermediárias (VLDL, IDL, Quilomícrons) da via de síntese do colesterol que possa explicar tais achados (Kypreos et al., 2003). O receptor do colesterol LDL é considerado, não a única, mas a mais importante via de metabolização das lipoproteínas que apresentam a Apo E na sua constituição (principalmente VLDL e quilimícrons) em camundongos (Kim et al., 1996). Assim, em concentrações fisiológicas a Apo E é importante para o catabolismo das lipoproteínas remanescentes via receptor do LDL (Zhang et al., 1992). Todavia, em condição de hiper expressão do receptor do LDL, que induz diminuição dos níveis de colesterol associado a baixas taxas de Apo E e triglicerídeos, observou-se uma redução do processo de aterosclerose (Kawashiri et al., 2001). Além disto, animais knockout para o receptor de LDL colesterol apresentaram uma elevada concentração de Apo E e conseqüentemente uma elevação dos triglicérides plasmáticos, conforme já foi demonstrado em humanos e em modelos experimentais (Kypreos et al., 2003).

Adicionalmente, já há algum tempo estudos demonstraram que a administração de estrógeno exógeno foi eficiente para reduzir a molécula de VLDL e os triglicérides plasmático em mulheres menopausadas (Asikainen et al., 2004) e em modelos experimentais de menopausa induzida (Bourassa et al., 1996). Alguns mecanismos são propostos para justificar esse fato, entre eles podemos citar que os estrogênios poderiam induzir uma maior taxa de eliminação do VLDL sanguíneo (Weintein et al., 1978; Walsh et al., 1994); aumento da atividade da lipase lipoproteica (Liu et al., 1994) e aumento da expressão do receptor do LDL colesterol (Ma et al., 1986; Walsh et al., 1991). Apesar da privação estrogênica induzir alteração no metabolismo dos triglicerídeos conforme evidenciado nos trabalhos citados acima, estudos anteriores mostraram que o treinamento físico atuou positivamente na redução dos triglicerídeos sanguíneos em mulheres menopausadas (Weise et al., 2005). Assim, nesse esse

modelo experimental de alteração genética, com ablação da função dos receptores do LDL colesterol, ao qual se somou o efeito da menopausa é razoável se supor que haja uma resistência maior à utilização dos triglicérides sanguíneos para obtenção de energia. Nossos resultados sugerem que a elevação dos triglicérides plasmáticos, situação já verificada anteriormente nesse modelo experimental (Zhang et al., 1992), é exacerbada pela privação dos hormônios ovarianos e parece não ser influenciada pelo treinamento físico. Entretanto, a redução do colesterol plasmático no grupo LDL que realizou o treinamento físico é um achado importante, que nos leva a sugerir, a partir dos estudos da literatura que correlacionaram aumento do colesterol com risco cardiovascular, uma redução das disfunções cardiovasculares com esta abordagem neste modelo experimental.

Capacidade física

O treinamento físico tem se mostrado como um importante meio de aumento da capacidade física tanto aeróbia quanto anaeróbia. O VO_2 , um dos parâmetros que indicam a melhora do condicionamento físico (Skinner & Mclellan, 1980), apresenta elevação após um período de treinamento físico. Este fato pode ser verificado à medida que comparamos indivíduos sedentários e atletas, no qual as pessoas treinadas apresentam maior VO_2 máx. e também maior resistência durante uma atividade física mais vigorosa. Para a avaliação da capacidade física em modelos experimentais tem-se utilizado com muita frequência o teste de esforço máximo (TEM) em esteira. Como já demonstrado anteriormente por estudos do nosso grupo (Rodrigues et al. 2007), a velocidade máxima atingida no TEM apresenta importante correlação positiva ($r= 0,83$) com o VO_2 máx. em ratos. Desta forma, quanto maior a velocidade atingida no TEM maior será o VO_2 de cada animal e conseqüentemente maior será a capacidade física.

Nossos dados demonstram que a capacidade física no início do protocolo foi semelhante entre os grupos estudados, evidenciada por similares velocidades máximas atingida no TE. Entretanto, ao final

do protocolo de treinamento físico os grupos que realizaram o exercício apresentaram um aumento na capacidade física, evidenciada por uma maior velocidade atingida no TEM, quando comparado aos grupos sedentários. Estudos anteriores do nosso laboratório já tinham demonstrado efetividade desse tipo de treinamento físico em camundongos machos (De Angelis et al., 2004). Nesse sentido podemos afirmar que nosso protocolo de treinamento físico também foi eficaz em aumentar a capacidade física nesse modelo de dislipidemia e menopausa. Apesar disso, parece não haver influencia do colesterol sanguíneo sobre a capacidade física desses animais já que os animais LDL Knockout treinado e/ou sedentário demonstraram semelhante capacidade física em relação aos seus pares treinados e sedentários.

Avaliações hemodinâmicas e autonômicas

A hipertensão arterial é uma doença que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, sendo responsável pelo grande número de mortes devidas ao infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença renal crônica. No Brasil, de acordo com dados estatísticos, as doenças cardiovasculares constituem importante causa de mortalidade no país, sendo que a hipertensão arterial atinge cerca de 15 a 20% da população urbana adulta (com mais de 18 anos), chegando a 65% nos indivíduos mais idosos (VI JNC, 1997). A hipertensão, como a maioria das doenças crônicas cuja incidência aumenta com a idade, envolve tanto componentes etiológicos ambientais como hereditários, sendo, portanto, classificada como uma doença poligênica e multifatorial, estando relacionada a mudanças morfológicas e funcionais no sistema cardiovascular e no controle autonômico em humanos e animais (Irigoyen et al, 2003).

A pressão arterial correlaciona-se intensamente com o risco cardiovascular. Essa correlação foi demonstrada em diversos estudos epidemiológicos, e a redução do risco de doenças cardiovascular com

seu controle foi documentada em inúmeros estudos clínicos em prevenção primária (Macmahon et al., 1990). Foi demonstrado que a hipertensão é um fator preditor independente para a ocorrência da doença arteriosclerótica (Moraes & Sousa, 1996) evidenciando-se que cada incremento de 10 mmHg na mediana da pressão arterial sistólica da população correspondia à duplicação do risco de óbito por evento coronário (Keys, 1980).

Outros estudos também observaram uma relação direta entre elevação dos níveis da pressão arterial sistólica e diastólica e a incidência subsequente de mortalidade por DAC durante um seguimento de 11,6 anos em indivíduos inicialmente sem doença arteriosclerótica (Stamler et al., 1993). Nesse contexto, uma metanálise de nove estudos observacionais prospectivos (418.343 indivíduos) apontou que o aumento nos níveis de pressão arterial diastólica de 73 mmHg até 105mmHg corresponde a uma elevação em até 5 vezes no risco de morte por doença arteriosclerótica (Stamler et al., 1993).

Os efeitos decorrentes do climatério na pressão arterial são difíceis de serem avaliados, já que sofrem influências de diversos fatores, tais como envelhecimento, índice de massa corpórea, classe social e tabagismo (Manhem et al., 1994). Entretanto, sabe-se que a hipertensão contribui para cerca de 35% de todos os eventos cardiovasculares e cerca de 45% dos casos de infarto não diagnosticado em mulheres, elevando o risco de doença arteriosclerótica em quatro vezes quando comparadas a mulheres normotensas (Welty, 2004).

No presente estudo, observamos um aumento da pressão arterial média em ambos os grupos sedentários. Estudos anteriores do nosso laboratório demonstraram que a menopausa isoladamente induziu a elevação dos níveis de pressão arterial média em ratas menopausadas (Irigoyen et al., 2005; Negrão et al., 1992). Vale ressaltarmos que é verificado um aumento nos níveis de PA nas mulheres após a menopausa, tornando-se a hipertensão arterial mais prevalente nas mulheres quando comparadas aos homens (Brenner, 1988). Além disso, estudos populacionais têm associado de forma independente,

altas concentrações de colesterol sanguíneo com o desenvolvimento de aterosclerose e hipertensão (Verschuren & Kromhout, 1995). Adicionalmente, o aumento da pressão arterial e do colesterol total foi associado com a elevação do risco de desenvolver doenças cardiovasculares durante a vida em mulheres acima de 50 anos 60. Desta maneira, poderia se sugerir que a associação da privação dos hormônios ovarianos à dislipidemia poderia induzir uma elevação maior da PA nos animais LDL Knockout quando comparados aos camundongos somente ooforectomizados. Entretanto, nossos dados demonstraram que a associação de desses dois fatores de risco não ocasionaram um acréscimo no valor da PA no grupo LDL sedentário. Apesar disso, obtivemos uma correlação significativa ($r= 0,9$) entre a concentração de colesterol sanguíneo e os valores de PAM nos animais LDL Knockout, demonstrando que a redução do colesterol é responsável pelo menos em parte pela redução da pressão arterial média nos animais do grupo LOT.

Considerando a importância dos valores de PA como determinante de eventos em mulheres menopausadas e que em nosso estudo verificamos aumento de PA após a privação dos hormônios ovarianos, bem como redução desta variável após o treinamento físico, vale lembrar que a manutenção da função cardíaca normal é obtida através de vários mecanismos, entre eles, regulação neural cardíaca pela integração da atividade nervosa do sistema nervoso autônomo: simpático e parassimpático. O sistema nervoso autônomo apresenta uma função importante sobre o controle da pressão arterial e da frequência cardíaca, sendo que sua disfunção está relacionada ao desenvolvimento da hipertensão (Sevre et al., 2001; Irigoyen et al., 2003). Uma das formas que vem sendo muito utilizada para avaliar o controle autonômico cardiovascular é o estudo da variabilidade da FC. Até 20 anos atrás, variações do ritmo cardíaco (ou da PA) eram completamente ignoradas pelos fisiologistas e cardiologistas. A variabilidade natural de parâmetros cardiovasculares como PA e FC reflete a interação de diversos fatores que, em sua maioria, envolvem uma influência do sistema nervoso autônomo (SNA) sobre o aparelho cardiovascular (Joaquim et al, 2005). Hoje se sabe que irregularidades da FC e da PA

significam algum tipo de anormalidade, e que a diminuição da variabilidade da FC é um mau prognóstico (Ribeiro & Moraes, 2005). De fato, estudos experimentais e clínicos vêm demonstrando que a disautonomia (disfunções no sistema nervoso autônomo) está presente em uma série de patologias, tais como a hipertensão arterial, a insuficiência cardíaca, o diabetes e outras alterações metabólicas (De Angelis et al., 2004b). Entre as metodologias para avaliar a modulação autonômica destacam-se a infusão de drogas bloqueadoras de cada uma das alças do sistema nervoso autônomo (SNA) e uma ferramenta matemática, a análise espectral.

É interessante notarmos que a fisiopatologia da hipertensão está relacionada à disfunção autonômica com aumento da modulação simpática para o coração e para os vasos sanguíneos (Wiss, 1993). A associação de dois fatores de risco no presente estudo induziu a uma diminuição da modulação simpática para o coração no grupo LDL sedentário, sem alterar a modulação simpática vascular (LF da PAS). Este achado poderia ser interpretado em um primeiro momento como redução da atividade simpática cardíaca, já que a banda de baixa frequência representa a modulação simpática (Maliani, et al., 2004; TASK FORCE). Entretanto, estudos têm demonstrado que em modelos patológicos a diminuição exacerbada da banda de baixa frequência do IP, como observado em nosso estudo, está relacionada a um aumento grande da atividade simpática, com conseqüente diminuição da modulação simpática para o coração (Maliani et al., 2004).

Adicionalmente, vale lembrar que a redução da atividade vagal também se apresenta como fator secundário ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Eckberg et al., 1971). Existe um consenso de que a função vagal preservada é benéfica na manutenção da variabilidade da pressão arterial, com conseqüente proteção de lesão de órgão-alvo (Su & Miao, 2001). Neste estudo, a deficiência do receptor par o LDL colesterol não alterou a modulação vagal cardíaca avaliada pela banda de alta frequência do IP.

Apesar de não existir diferenças na PA e na FC entre os grupos sedentários em repouso, o grupo associação (LOS) demonstrou uma diminuição da variância do intervalo de pulso, associado à exacerbada redução da modulação simpática para o coração em relação ao grupo COS. La Rovere et al., (1998) demonstraram que a redução da variabilidade da frequência cardíaca foi associada, em pacientes pós infarto do miocárdio, com mais mortalidade. Nesse sentido, a associação da privação dos hormônios ovarianos ao elevado nível de colesterol sanguíneo (LOS) no presente estudo induziu prejuízo adicional no controle neural autônomo em relação ao grupo apenas menopausado (COS).

Além da modulação tônica do sistema nervoso autônomo sobre o sistema cardiovascular, o controle da homeostase desse sistema é dependente da atuação dos reflexos originados nos pressorreceptores arteriais, cardiopulmonares e sua integração central (Mancia et al., 1994). Estes reflexos contribuem de forma importante para que em circunstâncias normais, a pressão arterial seja mantida em estreita faixa de variação permitindo a perfusão tecidual adequada, principalmente em territórios que têm pequena capacidade de alterar a resistência periférica como é o caso da circulação cerebral. Os pressorreceptores, além de exercer um controle tônico sobre a atividade simpática (inibição) e parassimpática (estimulação) ele também atua de forma reflexa sobre a modulação autônoma. 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; Irigoyen et al., 2005).

Os achados do presente estudo demonstram que o grupo LDL sedentário (LOS) apresentou um prejuízo na sensibilidade dos pressorreceptores para a resposta taquicárdica em relação ao grupo controle sedentário (COS). De fato, estudos anteriores demonstraram que a redução na banda de baixa do IP frequência em modelos patológicos está relacionada a uma diminuição da sensibilidade barorreflexa (Ponikowski et al., 1997). Entretanto, para a resposta bradicárdica não houve diferença

entre ambos os grupos sedentários. Em uma análise mais criteriosa, tendo em vista que a resposta taquicárdica é determinada em grande parte pela estimulação simpática para o coração, a redução da sensibilidade dos pressorreceptores provavelmente está associada a alteração na modulação simpática cardíaca observada no grupo LDL sedentário.

É importante enfatizar que, verificou-se que a diminuição isolada da variabilidade da FC expressa aumento de três a cinco vezes no risco relativo de mortalidade por evento cardíaco, e quando esta disfunção está associada à diminuição significativa na sensibilidade dos pressorreceptores, o risco relativo sobe para sete vezes (Almeida & Araújo, 2003). Apesar de ambos os grupos sedentários terem uma atividade vagal reduzida em relação aos grupos treinados, somente o grupo LDL sedentário apresentou uma diminuição da variância do IP, associada a uma piora na sensibilidade barorreflexa e também a uma alteração na modulação simpática cardíaca, sugerindo que a associação de dois fatores de risco (menopausa e hipercolesterolemia) nesse modelo de estudo, situação freqüentemente observada em mulheres na pós-menopausa, contribui sobremaneira para o aumento do risco cardiovascular.

A redução do nível de pressão arterial média e a melhora da sensibilidade dos pressorreceptores são considerados alvos importantes na diminuição do risco de morbi-mortalidade em pacientes com patologias cardiovasculares. Neste sentido, estudos têm apontado que o treinamento físico regular é capaz de reduzir a PA e modificar o controle autonômico tanto em experimentos com modelos animais (De Sousa et al., 2007; De Angelis et al., 2004; Irigoyen et al., 2005) quanto em humanos (La Rovere et al., 2002). Por este motivo, devido aos 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 (Negrão & Barreto, 1998; La Rovere et al., 2002). Estudos verificaram alterações na atividade simpática ou parassimpática tanto para o

coração quanto para os vasos em resposta ao treinamento físico em camundongos (De Angelis et al., 2004; Danson et al., 2003). No presente estudo utilizamos a análise espectral como ferramenta para analisarmos a modulação autonômica no modelo de estudo escolhido.

Corroborando estudos prévios na literatura, nossos dados demonstram que o treinamento físico foi eficaz em normalizar os valores de PA no grupo COT e LOT em relação aos grupos sedentários. Apesar de o exercício físico provocar importantes alterações hemodinâmicas no paciente hipertenso, os mecanismos responsáveis pela queda pressórica após o treinamento físico ainda não estão totalmente esclarecidos. Um dos mecanismos discutidos para explicar a queda pressórica está relacionado à atenuação da exacerbada atividade nervosa simpática (Hagberg et al., 1999). De fato, no presente estudo o grupo LDL que realizou o treinamento físico teve a modulação simpática cardíaca normalizada, o que provavelmente está associada a uma diminuição da atividade simpática para o coração em relação ao grupo LDL sedentário. Além disso, o aumento da sensibilidade barorreflexa também parece estar associado a uma diminuição da atividade nervosa simpática (Brum et al., 2000). Como já demonstrado em outros estudos do nosso laboratório (Irigoyen et al. 2005; Sousa et al. 2007) em ratos ooforectomizados obesos e diabéticos, os resultados do presente trabalho evidenciam que o treinamento físico melhorou a sensibilidade barorreflexa dos grupos treinados. De fato, mulheres menopausadas fisicamente ativas quando comparadas a mulheres menopausadas menos ativas têm maior sensibilidade dos pressorreceptores arteriais e variabilidade da frequência cardíaca (Davy et al., 1996).

Sabe-se que a via aferente do barorreflexo arterial, além de alterações na eferência deste reflexo, é importante no desencadeamento dos ajustes neurovasculares sobre a pressão arterial. Nesse sentido, uma das possíveis causas da disfunção barorreflexa seria a deficiência na condução das informações levadas ao núcleo do trato solitário (Andersen e Yang, 1989). Adicionalmente, um elegante estudo (Brum et al., 2000) evidenciou que a melhora na sensibilidade barorreflexa da FC em machos SHR

treinados estava relacionada ao aumento significativo na sensibilidade do nervo depressor aórtico, ou seja, na melhora da aferência desse mecanismo.

Alguns fatores podem alterar a aferência do barorreflexo, entre eles podemos citar as alterações na complacência arterial. Segundo o conceito mecânico-elástico aplicado sobre os barorreceptores, quanto maior a complacência vascular sob a mesma pressão de pulso, maior será a ativação dos pressorreceptores (Kirchheim, 1976) e, portanto melhora o controle barorreflexo arterial. Relacionado a este paradigma, o treinamento físico tem se mostrado eficaz em aumentar a complacência vascular tanto em ratos (Kingwell et al., 1997) como em humanos saudáveis (Cameron e Dart, 1994) e, mais especificamente, em ratos geneticamente hipertensos (Ulrika et al., 2004). Assim, é possível sugerir que após o treinamento físico, a complacência arterial estaria melhorada nos leitos vasculares, incluindo as artérias aorta e carotídeas, aprimorando a transdução mecânica dos pressorreceptores e, conseqüentemente, o controle barorreflexo arterial.

Por outro lado, o aumento da modulação vagal para o coração no grupo LOT representa outro fator importante para a melhora da sensibilidade dos pressorreceptores, provavelmente, colaborando para a redução dos níveis pressóricos em repouso. Dessa forma, pode-se dizer que o treinamento físico induziu aumento da modulação vagal e redução da exacerbada atividade simpática cardíaca nos camundongos LDL-Knockout ooforectomizadas, corroborando dados de tônus simpático e vagal através do bloqueio farmacológico em camundongos machos treinados (De Angelis et al., 2004).

Além disto, vale ressaltar que um dos efeitos mais marcantes do exercício físico realizado cronicamente sobre o sistema cardiovascular é a redução da frequência cardíaca de repouso quando comparado aos valores pré-exercício, fato esse chamado de bradicardia de repouso. Essa adaptação cardiovascular tem sido apontada como um marcador de eficácia do treinamento físico em indivíduos praticantes de exercícios (Smith et al., 1989). A bradicardia já foi verificada tanto em homens quanto em modelo de experimentação animal, e tem sido atribuída ao aumento do tônus vagal para o coração

(Kenney, 1985; Sousa et al., 2007), à diminuição do tônus simpático para o coração (Gava et al., 1995) e também à diminuição da frequência cardíaca intrínseca de marcapasso (Negrão et al., 1992). Um estudo anterior do nosso laboratório demonstrou bradicardia de repouso em camundongos machos após o mesmo protocolo de treinamento físico (De Angelis et al., 2004). No presente estudo, nossos achados bradicardia nos grupos treinados (COT e LOT) quando comparados aos grupos sedentários (COS e LOS), provavelmente associado ao aumento da modulação vagal, e a melhora na modulação simpática no grupo LOT, após o período de treinamento físico. Esta melhora da modulação cardíaca pós treinamento pode também estar associada ao aumento da variância do intervalo de pulso nos grupos treinados, já que o aumento da VFC está relacionada uma resposta neural de aumento da atividade do sistema nervoso parassimpático (TASK FORCE, 1996). É relevante citar que mulheres sedentárias no climatério, quando submetidas a um período de treinamento físico, apresentam melhora do controle autonômico cardiovascular, observado pelo aumento da variabilidade da frequência cardíaca, (Jurca et al., 2004).

Portanto, vale destacar que obtivemos correlações positivas entre a concentração de colesterol sanguíneo ao final do protocolo e: a variabilidade intervalo de pulso; e a banda de alta frequência do intervalo de pulso, demonstrando que os animais dos grupos LOS e LOT que reduziram o colesterol plasmático após o treinamento físico melhoraram a função autonômica. Em conjunto, esses dados sugerem que o colesterol tem uma influência importante sobre o controle cardiovascular neste modelo experimental de menopausa e dislipidemia.

Avaliações do perfil oxidativo

Atualmente, é consenso que os radicais livres desempenham papel importante no desenvolvimento de diversos processos patológicos e também nas alterações verificadas durante o envelhecimento. Entretanto, o conceito no qual os radicais livres são elementos puramente danosos aos tecidos e sistemas dos organismos se apresenta de forma errônea. Os radicais livres de oxigênio, chamados também de espécies reativas de oxigênio (EROs), são produzidos naturalmente em nosso organismo através dos processos metabólicos oxidativos e, muitas vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico, na desintoxicação de drogas, na sinalização celular e nos processos que desencadeiam o relaxamento dos vasos sanguíneos em resposta a atividade do óxido nítrico (NO). Além disso, a interação do NO, um radical livre com o radical superóxido pode representar um processo fisiológico de regulação do tônus dos músculos lisos vasculares (Halliwell, 1992). Nesse sentido, tem se sugerido que as células endoteliais produzem o radical superóxido e o NO como agentes antagonistas, criando dessa forma, um controle fino do tônus vascular (Halliwell, 1992).

A produção de radicais livres e de outras substâncias altamente reativas em decorrência do metabolismo do oxigênio (EROs) é contrabalançado por muitos mecanismos de defesa antioxidante que tem o objetivo de limitar os níveis destas substâncias além de evitar os danos celulares (Sies, 1993). Particularmente abordando o sistema antioxidante enzimático, podemos citar a participação das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx), que atuam de forma conjunta para impedir a reação das Eros, superóxido e peróxido de hidrogênio, com compostos orgânicos. Vale ressaltar ainda, que o perfeito equilíbrio entre as enzimas antioxidantes e a produção de EROs é importante para a manutenção da integridade celular.

O aumento do consumo de oxigênio, assim como a ativação das vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resulta na formação de EROs (Rowlands et al., 2000) sendo este efeito

relacionado à intensidade do exercício físico (Lovlim et al., 1987). Por outro lado, sabe-se que o exercício físico quando realizado de forma crônica é capaz de induzir adaptações em resposta a uma maior produção de EROs. De fato, diversos estudos experimentais ou em humanos têm demonstrado um aumento da atividade das enzimas antioxidantes após um período de treinamento físico. Adicionalmente, o aumento na concentração de ferro e cobre no suor de atletas após o exercício físico também é apontado como um mecanismo protetor contra o dano oxidativo mediado por tais metais (Gutteridge et al., 1985).

O desequilíbrio entre a produção de moléculas oxidantes e a capacidade de inativação dos mecanismos antioxidantes, que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres, tem sido chamado de estresse oxidativo (Sies, 1993). Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças degenerativas tais como as cardiopatias, a aterosclerose e os problemas pulmonares (Ames et al., 1993; Stahl e Sies, 1997).

Esse importante papel no desenvolvimento de patologias das Eros é relacionado ao fato de que todos os componentes celulares serem suscetíveis à ação dessas substâncias. Entretanto, a membrana plasmática é uma das estruturas mais atingidas pelas EROs, fato esse reconhecido como peroxidação lipídica, que acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares (Mello Filho et al., 1983). Sabe-se que a lipoperoxidação está associada ao aumento da morbidade cardiovascular em indivíduos velhos (Patricio et al., 2002) e com diabetes (Liguori et al., 2001). Neste aspecto, vale lembrar que nossos resultados demonstram que ambos os grupos treinados apresentaram uma redução na lipoperoxidação lipídica, demonstrado pela diminuída QL no tecido cardíaco, em comparação a ambos os grupos sedentários. É importante salientarmos que a lipoperoxidação 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).

Com relação ao colesterol plasmático, estudos evidenciam que as altas concentrações de colesterol sanguíneo pode induzir prejuízo no perfil oxidativo, possibilitando a oxidação do LDL e assim, favorecendo o desenvolvimento da aterosclerose (Napoli et al., 2006). Nesse sentido, como essa suscetibilidade de oxidação do LDL, induzida pela maior concentração de colesterol está associada à peroxidação lipídica (Bruna et al., 1989), podemos sugerir que a redução do colesterol sanguíneo observada após o treinamento físico no grupo LOT pode ter um papel importante na manutenção e/ou melhora da integridade celular e conseqüentemente da função cardiovascular neste modelo experimental de dislipidemia e menopausa.

Outro importante agente antioxidante presente na maioria das células é a glutathiona reduzida (GSH). A GSH pode ser considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula, protegendo-a contra a lesão resultante da exposição a agentes como o íon ferro, a radiação e à luz ultravioleta. Quando é exposta ao agente oxidante, ocorre sua oxidação e forma-se a glutathiona oxidada (GSSG). A recuperação da GSH é feita através da enzima glutathiona redutase, etapa essencial para manter íntegro o sistema de proteção celular (Gilbert e Mc Lean, 1990). Em situações em que o sistema de óxido-redução está íntegro, haverá recuperação da GSH. Entretanto, sob condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor, haverá desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de GSSG, o que caracteriza o estresse oxidativo (Halliwell, 1993). Dessa forma, a magnitude do estresse oxidativo pode ser monitorada pela razão GSH/GSSG. De forma semelhante ao observado com as outras enzimas antioxidantes, estudos demonstram que o treinamento físico também produz efeitos sobre a enzima glutathiona reduzida. Entretanto, os dados ainda são muito controversos, tendo o aumento e/ou a diminuição da GSH nos diferentes tipos de tecidos musculares sido encontrados em diversos estudos. No presente estudo os animais dos grupos LDL Knockout apresentaram valores semelhantes na razão GSH/GSSG, porém em função da necessidade de todo o tecido cardíaco para esta análise não realizamos esta razão nos grupos controle,

portanto, não podemos avaliar se esta razão estava alterada nos animais LDL Knockout ooforectomizados em relação aos animais controles ooforectomizados. Vale destacar ainda que o treinamento não alterou significativamente esta razão no tecido cardíaco dos animais do grupo LOT.

A diminuição da lipoperoxidação tem sido vinculada à melhora da atividade de enzimas antioxidantes, com conseqüente melhora do perfil oxidativo (Schneider e Oliveira, 2004). Corroborando essa afirmação, estudo prévio do nosso laboratório também verificou relação entre as medidas de quimiluminescência e a concentração da enzima SOD. Nesse trabalho, realizado com um modelo experimental de menopausa, o grupo treinado apresentou redução na peroxidação lipídica cardíaca, associada a aumento na concentração da enzima SOD no tecido cardíaco (Irigoyen et al., 2005). Em outro estudo, o treinamento físico também diminuiu a peroxidação lipídica e esta melhora foi associada ao aumento da atividade da catalase e a manutenção da concentração da enzima SOD em músculo esquelético (Alessio e Goldfarb, 1988).

A enzima superóxido dismutase é o principal mecanismo de inativação do radical superóxido durante o exercício e/ou após o exercício físico. Estudos já demonstraram de forma consistente que a atividade da SOD está aumentada após uma sessão de exercício físico (Ji et al., 1990; Quintanilha et al., 1983) bem como após um período de treinamento físico (Higushi et al., 1985; Sen et al., 1992). Essa resposta aumentada verificada na atividade da SOD é considerada uma adaptação do sistema para a aumentada produção de superóxido induzido pelo exercício físico (Ji, 1993). De fato, no presente estudo verificamos redução da SOD no grupo COS em relação aos grupos COT e LOT, sugerindo uma adaptação desta enzima quando estimulada pelo treinamento físico.

Adicionalmente, entretanto, de forma um pouco menos consistente, estudos demonstram um aumento na atividade da enzima catalase em resposta a uma sessão aguda de exercício (Ji et al., 1992) e também ao treinamento físico (Quintanilha et al., 1984; Oh-Tshi et al., 1997). No presente estudo observamos que o grupo LOT apresentou um aumento na atividade da enzima catalase em relação a

ambos os grupos controles. Esse fato vem de encontro a alguns estudos da literatura no qual o exercício físico demonstrou-se benéfico no aumento da atividade da CAT (Irigoyen et al., 2005). Entretanto, o grupo LOS também apresentou a atividade da CAT aumentada em relação aos grupos controles.

Uma das funções cardioprotetoras do estrogênio se baseia na sua habilidade em reduzir a oxidação das moléculas de LDL colesterol (Tiidus, 1995). Nesse sentido, devido ao fato de todos os animais do presente trabalho terem sido submetidos à ooforectomia, e a conseqüente perda da proteção dos hormônios sexuais femininos, associado ao elevado colesterol sanguíneo verificado nos grupos LDL Knockout, é razoável sugerir que a geração de Eros em alguns tecidos do grupo LOS estivesse aumentada em relação aos outros grupos. De fato, um estudo anterior evidenciou que mitocôndrias de vários tecidos de camundongos LDL Knockout produziam mais EROs quando comparados a animais controles (Oliveira et al., 2005). Dessa forma, levando-se em consideração que a maior geração de Eros é freqüentemente acompanhada da adaptação do sistema de defesa antioxidante enzimática (Anderson, 1996), podemos sugerir que o grupo LDL sedentário respondeu de forma adaptativa ao aumento da produção Eros, aumentando a atividade da CAT no tecido cardíaco.

Atualmente sabe-se que as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) desempenham papel significativo no desenvolvimento da aterosclerose (Steinberg et al., 1989) e que essas partículas, quando na presença de EROs, oxidam-se rapidamente se tornando mais aterogênicas (Parthasarathy et al., 1999). Nesse processo de desenvolvimento da aterosclerose verifica-se uma alteração no funcionamento da célula endotelial (disfunção endotelial) e conseqüente menor síntese de óxido nítrico (NO) (Kugiyama et al., 1990).

Existem evidências de que o relaxamento vascular dependente do endotélio esteja alterado na presença de quadros patológicos (Ross, 1993). Resultados experimentais demonstraram que a hipercolesterolemia diminuiu a resposta vascular coronariana (Niebauer et al., 1999). De fato, trabalhos na literatura vem evidenciando que a maior geração de ERO e a alteração do perfil lipídico sanguíneo

(Gianattasio et al., 2005), pode causar um prejuízo na função endotelial levando a uma consequente diminuição do NO biodisponível, o que induz, (entre outras) a uma redução na vasodilatação dependente do endotélio (Panza et al., 1990). Um mecanismo que tem sido proposto para a menor biodisponibilidade de NO em situação de hipercolesterolemia é o aumento da produção do ânion superóxido, resultando na formação de peroxinitrito, um oxidante capaz de aumentar a peroxidação lipídica (Beckman et al., 1990). Além disso, também atribui-se ao sedentarismo o aumento da produção de EROs, que pode levar à disfunção endotelial e acelerar o desenvolvimento da aterosclerose em camundongos hipercolesterolêmicos (Napoli et al., 2004). Por outro lado, sabe-se que a normalização dos níveis de lipoproteínas de baixa densidade melhora a resposta vasodilatadora endotélio dependente (Anderson et al., 1995), e que o treinamento físico é uma importante abordagem para diminuir o colesterol sanguíneo e para aumentar a resistência à oxidação de moléculas de LDL (Napoli et al., 2004), além de elevar a expressão da enzima NO sintase (Al-Benna et al., 2006).

Além disto, diversos estudos têm demonstrado que o exercício físico aumenta a síntese de óxido nítrico, pelo aumento da força que o sangue exerce na parede dos vasos (shear stress) em resposta à elevação do débito cardíaco e o consequente aumento da pressão de perfusão (Fisher et al., 2002). Somam-se evidências que o treinamento físico melhora a função endotelial tanto em estudos com humanos quanto em modelos experimentais. De fato, indivíduos jovens saudáveis submetidos a um programa de exercício físico de 8 semanas demonstraram um aumento na concentração plasmática de nitrito e nitrato, sugerindo um aumento na produção de NO endotelial (Maeda et al., 2001). Adicionalmente, o treinamento físico foi capaz de aumentar a expressão do mRNA da proteína eNOS, o que sugere um aumento da atividade desta enzima e também na biodisponibilidade de NO (Laughlin et al., 2001).

Corroborando com outros estudos, o grupo LDL Knockout que realizou o protocolo de treinamento físico (LOT) apresentou um aumento na concentração de nitrito no tecido cardíaco em

relação aos grupos controles. Sabe-se que a concentração de nitrito correlaciona-se diretamente com a produção de óxido nítrico (Lauer et al., 2002). Dessa forma, pode-se sugerir que esses animais tiveram um aumento na biodisponibilidade de NO que poderia estar relacionada à redução da PA e a melhora da sensibilidade dos pressorreceptores observada neste grupo. Além disto, vale destacar que obtivemos correlação significativa entre a atividade da SOD e a concentração de nitrito, bem como com a razão nitrito/nitrato, demonstrando que animais com maior atividade da SOD no tecido cardíaco apresentaram aumento de nitritos (e da razão nitrito/nitrato), o que tem sido correlacionado com a produção de NO. Assim, esse achados sugerem que a redução da QL associado ao aumento da atividade da enzima SOD possa ter favorecido a biodisponibilidade de NO, o que pode estar relacionado com os benefícios cardiovasculares e autonômicos observados após o treinamento físico nos animais treinados.

6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo evidenciam que a dislipidemia induz prejuízo adicional no perfil metabólico e no controle autonômico cardiovascular em camundongos fêmeas submetidas à privação dos hormônios ovarianos. Todavia, o achado mais importante deste trabalho foi que o treinamento físico aeróbio induziu melhora hemodinâmica e no controle autonômico cardiovascular, associado à melhora do perfil oxidativo e nitrosativo. Portanto, nossos achados em camundongos submetidos à privação dos hormônios ovarianos em presença ou não de dislipidemia, reforçam o importante papel do treinamento físico como uma efetiva abordagem não farmacológica na prevenção e/ou tratamento de mulheres menopausadas com dislipidemia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-BENNA S, HAMILTON C, D. MCCLURE J, N. ROGERS P, ET AL. Low-Density lipoprotein cholesterol determines oxidative stress and endothelial dysfunction in saphenous veins from patients with coronary artery disease. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** 2006; 26; 218-223.

ALBRIGHT A, FRANZ M, HORNSBY FD et al. American College of Sports Medicine position stand: Exercise and type 2 diabetes. **Med. Sci. Sports Exerc.**32: 1345-60, 2000.

ALESSIO H M, GOLDFARB A H. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *J Appl Physiol* 64: 1333-1336, 1988.

ALESSIO HM. Exercise –induced oxidative stress. **Med Sci Sports Exerc.**25: 218-24, 1993.

AMES BN, SHIGENAGA MK, and HAGEN TM. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. **PNAS**; 90: 7915-1993.

ANDERSEN MC, YANG M. Arterial baroreceptor resetting: contributions of chronic and acute process. **Clin Ep Pharmacol Physiol.** 15: 19-30, 1989.

ANDERSON D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutat Res**, 350(1): 103-8, 1996.

ANDERSON K M, CASTELLI W P, LEVY D. Cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham study. **JAMA**, 257: 2176 – 2180, 1987.

ANDERSON T J, MEREDITH I T, FREI A, SELWYN A P, GANZ P. The Effect of Cholesterol-Lowering and Antioxidant Therapy on Endothelium-Dependent Coronary Vasomotion. **N. Engl. J. Med.**, 332: 488 – 493, 1995.

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

BEARD C M; BARNARD R J; ROBBINS D C; ORDOVAS J M; SCHAEFER E J. Effects of Diet and Exercise on Qualitative and Quantitative Measures of LDL and Its Susceptibility to Oxidation. **ATVB**, 16:201-207, 1996.

BECKMAN JS, BECKMAN TW, CHEN J, MARSHALL PA, FREEMAN BA. Apparent Hydroxyl Radical Production by Peroxynitrite: Implications for Endothelial Injury from Nitric Oxide and Superoxide. **PNAS**, 87: 1620 – 1624, 1990.

BELLÓ-KLEIN, A.; OLIVEIRA, A.R.; BRUNETTO, A.F; IRIGOYEN, M.C.; LLESUY, S. & BELLÓ, A.A. **Med. Sci. Res.** 22: 411-413, (1994).

BERRY C M J, BROSNAN J, FENNELL C A, HAMILTON, A F DOMINICZAK. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.** 10:247-255, 2001.

BEUTLER E, DURAN O, KELLY BM. Improved method for determination of blood glutathione. **J. Lab Clin. Med.** 61, 802-888, 1963.

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

BOURASSA PK, MILOS P M, GAYNOR B J, BRESLOW J L, AIELLO R J. Estrogen reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E- deficient mice. **PNAS**, 93: 10022 – 10027, 1996.

BOVERIS A & CHANCE B. The Mitochondrial generation of hydrogen peroxide. **Biochem. J.** 134:707-716, 1973.

BOVERIS, A.; FRAGA, C.G.; VARSAVSKY, A. & KOCH, O. **Arch. Biochem. Biophys.** 227: 534-541, (1983).

BOVERIS, A.; LLESUY, S. & FRAGA, C.G. **Free Rad. Biol. & Med.** 1: 131-138, (1985).

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

BRUM C P, SILVA G J J, MOREIRA E , IDA F, NEGRÃO C E, KRIEGER E M. Exercise Training Increases Baroreceptor Gain Sensitivity in Normal and Hypertensive Rats. **Hypertension**, 36: 1018 – 1022, 2000.

BRUNA E, PETIT E, BELJEAN-LEYMARIE M, HUYNH S, NOUVELOT A. Specific susceptibility of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid to peroxidation in aqueous solution. **Lipids**, 24: 970–5, 1989.

BURT VI, WHELTON P, ROCELLA EJ 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, AND D G HARRISON. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circ. Res.** 87:840-844, 2000.

CAMERON JD, DART AM. Exercise training Increases total systemic arterial compliance in humans. **Am J Physiol.**; 266:H693-H701, 1994.

CHAPLEAU MW, LI Z, MEYRELLES SS, MA X, AND ABBOUD FM. Mechanisms determining sensitivity of baroreceptor afferents in health and disease. **Ann NY Acad Sci.** 2001; 940: 1–19.

CREAGER MA, COOKE JP, MENDELSON ME et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. **J Clin Invest.**;86:228–234,1990.

DANSON EJF AND PATERSON DJ. Enhanced neuronal nitric oxide synthase expression is central to cardiac vagal phenotype in exercise-trained mice. **J Physiol** 546: 225–232, 2003.

DAVY, K.P.; MINICLIER, N.L.; TAYLOR, J.A.; STEVENSON, E.T.; SEALS, D.R. Elevated heart rate variability in physically active postmenopausal women: a cardioprotective effect? **Am. J. Physiol.**, v. 271, n. 40, p. H455–H460, 1996.

DE ANGELIS K, OLIVEIRA AR, DALL'AGO P, PEIXOTO LRA, GADONSKI G, FERNANDES T.G., 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 K, SANTOS M S B, IRIGOYEN M. Sistema Nervoso Autônomo e Doença Cardiovascular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**. v.3, p. 01-07, 2004.

DE ANGELIS K, SANTOS MSB, IRIGOYEN MC. Sistema nervoso autônomo e doença cardiovascular. **Revista de da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v.3, 2004.

DE ANGELIS K, WICHI RB, JESUS WRA, MOREIRA ED, MORRIS M, KRIEGER EM, IRIGOYEN MC. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **Journal of Applied Physiology**, v.96, p.2174-2178, 2004.

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

DE ANGELIS KLD, GADONSKI G, FANG J, DALL'AGO P, ALBUQUERQUE VL, PEIXOTO LRA, FERNANDES TG, IRIGOYEN MC. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME hypertensive rats. **Hypertension**, 34: 768-772, 1999.

DE ANGELIS KLD, OLIVEIRA AR, WERNER A, BOCK P, BELLÓ-KLEIN A, IRIGOYEN, MC. Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, 30(3) II: 767-771, 1997.

DEL MAESTRO RF. An approach to free radicals in medicine and biology. **Acta Physiol Scand.** 492:153-68, 1980.

ECKBERG D L, KUUSELA T A. J Human vagal baroreflex sensitivity fluctuates widely and rhythmically at very low frequencies. **Physiol**, 567: 1011 – 1019, 2005.

FISHER AB, AL-MEHDI AB, MANEVICH Y. Shear stress and endothelial cell activation. **Crit Care Med**, 30(5 Suppl): S192-7, 2002.

GAVA N S, VÉRAS-SILVA A S, NEGRÃO C E, KRIEGER E M. Low-Intensity Exercise Training Attenuates Cardiac β -Adrenergic Tone During Exercise in Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**, 26: 1129 – 1133, 1995.

GIANNATTASIO C, ZOPPO A, GENTILE G, FAILLA M, CAPRA A, MAGGI FM, CATAPANO A, MANCIA G. Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** v. 25, p. 406-410, 2005.

GILBERT HF. Molecular and cellular aspects of thiol-disulfide exchange. **Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol**, 63: 69-172, 1990.

GRANGER DL, ANSTEY NM, MILLER WC, WEINBERG JB. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. **Methods in Enzymology**, 301:58-61, 1999.

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

GUTTERIDGE JM, ROWLEY DA, HALLIWELL B, COOPER DF, HEELEY DM. Copper and iron complexes catalytic for oxygen radical reactions in sweat from human athletes. **Clin Chim Acta**, 145(3): 267-73, 1985.

HAGBERG JM, PARK JJ, BROWN MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. **Sports Med**, 30(3): 193-206, 2000.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. Free radicals in biology and medicine. 3a. ed. New York: Oxford, 1999.

HALLIWELL B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **J Neurochem**. 59:1609-23, 1992.

HALLIWELL B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. **Haemostasis**, 23 Suppl 1: 118-26, 1993.

HANKE H, HANKE S, DAUBLE C, FINKING G, SEEGER H, MUCK AO, LIPPERT TH, SCHMAHI FW, HAASIS R. Effects of estrogen and progesterone on smooth muscle cell proliferation in experimental atherosclerosis (abstract, 1569). **Circulation** 90: 1I-291, 1994.

HARRISON DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. **J Clin Invest**.;100:2153–2157, 1997.

HEART PROTECTION STUDY COLLABORATIVE GROUP (HPSCG). MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. **Lancet**. 360 (9326):7–22, 2002.

Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **Circulation**, 93: 1043-65, 1996.

HERSHKO C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin Hematol**; 26(4): 277-85, 1989.

HIGUCHI M, CARTIER LJ, CHEN M, HOLLOSZY JO. Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptive response to exercise. **J Gerontol**, 40(3): 281-6, 1985.

IRIGOYEN MC, DE ANGELES K, FIORINO P, KRIEGER EM. Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial: reflexos circulatórios. **Revs. Bras. Hipert**, v12, n4, p-229-234, 2005.

IRIGOYEN MC, LACCHINI S, De ANGELIS K, MICHELINI LC. Fisiopatologia da hipertensão: O que avançamos? **Revista de da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**. 1: 20-45, 2003.

IRIGOYEN MC, MOREIRA ED, IDA F., PIRES M, CESTARI IA, KRIEGER EM. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. **Hypertension**, 26 (6:2): 1111- 1116, 1995.

IRIGOYEN MC, PAULINI J, FLORES LJJF et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**. 46 (part 2): 1-6, 2005.

ISHIBASHI, S.; HERZ, J.; MAEDA, N.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. The two-receptor model of lipoprotein clearance: Tests of the hypothesis in "knockout" mice lacking the low density lipoprotein receptor, apolipoprotein E, or both proteins. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. Vol. 91, pp.

ISHISE, HISANARI, HIDETSUGU ASANOI, SHINJI ISHIZAKA, SHUJI JOHO, TOMOKI KAMEYAMA, KATSUMI UMENO, AND HIROSHI INOUE. Time course of sympathovagal imbalance and left ventricular dysfunction in conscious dogs with heart failure. **J. appl. physiol**. 84(4): 1234–1241, 1998.

JANSSEN BJ, LEENDERS PJ, SMITS JF. Short-term and long-term blood pressure and heart rate variability in the mouse. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 278(1):R215-25, 2000.

JI L L, DILLON D, WU E. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver **Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol**, 258: 918, 1990.

JI L L, FU R, MITCHELL E W. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. **J Appl Physiol**, 73: 1854 – 1859, 1992.

Ji L L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. **Med Sci Sports Exerc**, 25(2): 225-31, 1993.

Ji LL, Fu R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydrogen peroxide. **J Appl Physiol**. 72: 549-54, 1992.

JOAQUIM LF, FARAH VM, BERNATOVA I, FAZAN R, GRUBBS R, MORRIS M. Enhanced heart rate variability and Baroreflex index after stress and cholinesterase inhibition in mice. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 287: H251 - H257, 2004.

JURCA, R.; CHURCH, T.S.; MORSS, G.M.; JORDAN, A.N.; EARNEST, C.P. Eight weeks of moderate-intensity exercise training increases heart rate variability in sedentary postmenopausal women. **Am. Heart. J.**, v. 147, n. 5, p. e21, 2004

JUST A, FAULHABER J, EHMKE H. Autonomic cardiovascular control in conscious mice. **Am J Physiol**, 279: R2214-R2221, 2000.

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

KAWASHIRI M, ZHANG Y, USHER D, REILLY M, PURÉ E, RADER J. Effects of coexpression of the LDL receptor and apoE on cholesterol metabolism and atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. **J. Lipid Res.**, 42: 943, 2001.

KENNEY WL. Parasympathetic control of resting heart rate: relationship to aerobic power. **Med Sci Sports Exerc**, 17(4): 451-5, 1985.

KEYS A. The seven countries study: a multivariate analysis of death and coronary heart disease. Cambridge, MA. **Harvard University Press**, 1980.

KIM, D. H., H. IJIMA, K. GOTO, J. SAKAI, H. ISHII, H. J. KIM, H. SUZUKI, H. KONDO, S. SAEKI, YAMAMOTO T. Human apolipoprotein E receptor 2. A novel lipoprotein receptor of the low density lipoprotein receptor family predominantly expressed in brain. **J. Biol. Chem.** 271: 8373–8380, 1996.

KINGWELL BA, ARNOLD PJ, JENNINGS GL, DART AM. Spontaneous running increases aortic compliance in Wistar-Kyoto rats. **Cardiovasc Res.**; 35: 132-37, 1997.

KIRCCHEIM HR. Systemic arterial baroreceptor reflex. **Physiol Rev.** 56: 100-76, 1976.

KUGIYAMA K, KERNS SA, MORRISETT JD, ROBERTS R, HENRY PD. Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. **Nature**, 344(6262): 160-2, 1990.

KULLER LH, MEILAHN EN, CAULEY JA, GUTAI JP, MATTHEWS KA. Epidemiologic studies of menopause: changes in risk factors and disease. **Exp Gerontol.** 29:495–509, 1994.

KYPREOS, K. E., X. LI, K. W. VAN DIJK, L. M. HAVEKES, AND V. I. ZANNIS. Molecular mechanisms of type III hyperlipoproteinemia: the contribution of the carboxy-terminal domain of apoE can account for the dyslipidemia that is associated with the E2/E2 phenotype. **Biochemistry.** 42: 9841–9853, 2003.

LA ROVERE MT, 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.

LAUER THOMAS, KLEINBONGARD PETRA, KELM MALTE. Indexes of NO Bioavailability in Human Blood **News Physiol Sci**, 17: 251 – 255, 2002.

LAUGHLIN M H, POLLOCK J S, AMANN J F, HOLLIS M L, WOODMAN C R, PRICE E M. Training induces nonuniform increases in eNOS content along the coronary arterial tree **J Appl Physiol**, 90: 501 – 510, 2001.

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.

LIU MS, JIRIK FR, LEBOEUF RC, HENDERSON H, CASTELLANI LW, LUSIS AJ, MA Y, FORSYTHE IJ, ZHANG H, KIRK E. Alteration of lipid profiles in plasma of transgenic mice expressing human lipoprotein lipase **J. Biol. Chem.**, 269: 11417 – 11424, 1994.

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

LLESUY, S.; MILEI, J.; GONZALEZ-FLECHA, B.S. & BOVERIS, A. **Free Rad. Biol. & Med.** 8: 259-264, (1990).

LOVLIN R, COTTLE W, PYKE I, KAVANAGH M, BELCASTRO AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, 56(3): 313-6, 1987.

LOWRY OH, ROSEBROUGH AL, FARR AL, RANDALL R. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193:265-275, 1951.

MA P T S, GIL G, SUDHOF T C, BILHEIMER D W, GOLDSTEIN J L, BROWN M S. MEVINOLIN. An Inhibitor of Cholesterol Synthesis, Induces mRNA for Low Density Lipoprotein Receptor in Livers of Hamsters and Rabbits. **PNAS**, 83: 8370 – 8374, 1986.

MACMAHON S, PETO R, CUTLER J et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease: part 1. prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. **Lancet**; 335: 765-74, 1990.

MAEDA S, MIYAUCHI T, KAKIYAMA T, SUGAWARA J, IEMITSU M, IRUKAYAMA-TOMOBE Y, MURAKAMI H, KUMAGAI Y, KUNO S, MATSUDA M. Effects of exercise training

of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide. healthy young humans. **Life Sci**, 69(9): 1005-16, 2001.

MAGARITIS I, TESSIER F, M-J RICHARD, MARCONNET P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. **Int J Sports Med**. 18: 186-90, 1997.

MALLIANI A, MONTANO N. Emerging excitatory role of cardiovascular sympathetic afferents in pathophysiological conditions. *Hypertension*; 39: 63–68, 2002.

MANCIA G, FRATTOLA A, GROPELLI A, OMBONI S, PARATI G, ULIAN L, VILLANI A. Blood pressure reduction and end-organ damage in hypertension. **J Hypertens Suppl.**, 12(8):S35-41,1994.

MANHEM K. Cardiovascular risk in postmenopausal women: what is know and what is unknow. In: Safar M, Stimpel M, Zanchettia. *Hypertension in postmenopausal women*. p. 3-13, 1994.

MANNINEN V, TENKANEN L, KOSKINEN P, et al. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart study: implications for treatment. **Circulation**; 85:37–45, 1992.

MARKLUND, S. In: *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. Boca Raton. CRC Press. Pp. 243-247, 1995.

MARSH MM, WALKER VR, CURTISS LK, BANKA CL. Protection against atherosclerosis by estrogen is independent of plasma cholesterol levels in LDL receptor- deficient mice. **J Lipid Res**, 40(5):893-900, 1999.

MCDONALD PM, SANFILIPO AJ, SAVARD GK. Baroreflex function and cardiac structure with moderate endurance training in normotensive men. **Journal of Applied Physiology**, 4: 2469-2477, 1993.

MELLO FILHO AC, HOFFMANN ME, MENEGHINI R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem J**, 218(1): 273-5, 1984.

MORAES SA, SOUSA JMP. Diabetes mellitus e doença isquêmica do coração. Comparação por sexo. **Arq. Brás. Cardiol**; 66: 59-63, 1996.

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

NAPOLI C, WILLIAMS-IGNARRO S, NIGRIS F, LERMAN L, FRANCESCO P, ET AL. Physical training and metabolic supplementation reduce spontaneous atherosclerotic plaque rupture and prolong survival in hypercholesterolemic mice. **PNAS**. 103;10479-10484, 2006.

NAPOLI C, WILLIAMS-IGNARRO S, NIGRIS F, LERMAN L, ROSSI L, ET AL. Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. **PNAS**. 101;8797-8802, 2004.

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 CE e BARRETO ACP. 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 CE, MOREIRA ED, BRUM PC, DENADAI MLDR, KRIEGER EM. Effect Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercise-trained rats. **Braz J Med Biol Res**, 25: 1045-1052, 1992.

NEGRÃO CE, MOREIRA ED, BRUM PC, DENADAI MLDR, KRIEGER EM. Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercise-trained rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 25: 1045-1052, 1992b.

NIEBAUER J, MAXWELL A J, LIN P S, TSAO P S, KOSEK J, BERNSTEIN D, COOKE J P. Impaired aerobic capacity in hypercholesterolemic mice: partial reversal by exercise training **Am J Physiol Heart Circ Physiol**; 276: H1346 - H1354, 1999.

OHASHI R, MU H, YAO Q, CHEN C. Cellular and molecular mechanisms of atherosclerosis with mouse models. **Trends Cardiovasc Med**. 14(5):187-90. Review. PMID: 15261890, 2004.

OH-ISHI S, KIZAKI T, NAGASAWA J, IZAWA T, KOMABAYASHI T, NAGATA N, SUZUKI K, TANIGUCHI N, OHNO H. Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 24(5): 326-32, 1997.

OLIVEIRA, H. C. F.; COSSO, R. C.; ALBERICI, L. C.; MACIEL, E.N.; SALERNO, A.G.; DORIGHELLO, G. G.; VELHO, J. A.; FARIA, E. C.; VERCESI, A. E. Oxidative stress in atherosclerosis-prone mouse is due to low antioxidant capacity of mitochondria. **FASEB J**. 19:278–280; 2005.

OLSZEWER E, FLAM S, ELLOVICH S. Radicais livres em cardiologia: isquemia e reperfusão. São Paulo: **Tecnopress**. P.11-37, 1997.

PANZA J A, A A QUYYUMI, J E BRUSH JR, AND S. E. EPSTEIN. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **N. Engl. J. Med**. 323:22-27, 1990.

PARTHASARATHY S, SANTANAM N, AUGE N. Oxidized low-density lipoprotein, a two-faced Janus in coronary artery disease? **Biochem Pharmacol**, 56(3): 279-84, 1998.

PONIKOWSKI PT, CHUA PT, PIEPOLI M ET AL. Augmented peripheral chemosensitivity as a potential input to baroreflex impairment and autonomic imbalance in chronic heart failure. **Circulation**; 96: 2586–2594, 1997.

PRATICO D, CLARK CM, LUIN F, LEE VY, TROJANOWSKI JQ: Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment: a possible predictor of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 59:972–976, 2002.

PYNN M, SCHÄFER K, KONSTANTIDINES S, HALLE M. Exercise Training Reduces Neointimal Growth and Stabilizes Vascular Lesions Developing After Injury in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Circulation*, v.109, p.386-392, 2004.

QUINTANILHA AT, PACKER L. Vitamin E, physical exercise and tissue oxidative damage. *Ciba Found Symp*, 101: 56-69, 1983.

QUINTANILHA AT. Effects of physical exercise and/or vitamin E on tissue oxidative metabolism. *Biochem Soc Trans*,12(3): 403-4, 1984.

RABELO E, DE ANGELIS K, BOCK P, FERNANDES T, CERVO F, BELLOKLEIN A, CLAUSSEL N, IRIGOYEN MC. Baroreflex sensitivity and oxidative stress in adriamycin-induced heart failure. *Hypertension*, EUA, v.38, n.2, p. 576-580, 2001.

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

RODRIGUES B; FIGUEROA D M T; MOSTARDA C; HEEREN M V; IRIGOYEN, M C; DE ANGELIS, K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology (Online)*, v. 6, p. 38, 2007.

ROSS.R The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362(6423): 801-9, 1993.

SCHENEIDER CD, BAP J, RIBEIRO JL. Oxidative stress after three different intensities of running. *Méd Sci Sports Exerc*. 35: S367, 2004.

SCHNEIDER C. D, OLIVEIRA A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**. vol.10 n. 4, 2004.

SEN C K, MARIN E, KRETZSCHMAR M, HANNINEN O. Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization *J Appl Physiol*, 73: 1265 – 1272, 1992.

SEVRE K, LEFRANDT J D, NORDBY G, OS I, MULDER M, GANS R O B, ROSTRUP M, SMIT A J. Autonomic Function in Hypertensive and Normotensive Subjects : The Importance of Gender. **Hypertension**, 37: 1351 – 1356 2001.

SHEPHERD J, BLAUW GJ, MURPHY MB, ET AL. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomized controlled trial. **Lancet**. 360:1623–1630, 2002.

SIES H. Biochemistry of oxidative stress. **Angew Chem Int Ed Engl**.25: 1058-71, 1986.

SIES H. **Strategies of antioxidant defense**. **Eur J Biochem**, 215(2): 213-9, 1993.

SILVA GJJ, BRUM PC, NEGRÃO CE e KRIEGER E.M. Acute and chronic effect of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, 30: 714-719, 1997.

SKINNER JS, MCLELLAN TH. The transition from aerobic to anaerobic metabolism. **Res Q Exerc Sport**, 51(1): 234-48, 1980.

SMITH ML, HUDSON DL, GRAITZER HM, RAVEN PB. Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. **Med Sci Sports Exerc**, 21(1): 40-4 1989.

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

STAHL W, SIES. H Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. **Diabetes**, 46 Suppl 2: S14-8, 1997.

STAMLER J, STAMLER R, NEATON JD. Blood pressure, systolic and diastolic and cardiovascular risks: U.S. population data. *Arch. Intern. Med*; 153:598-615, 1993.

STAMLER J, VACCARO O, NEATON JD ET AL. Diabetes, other risk factors and 12 year cardiovascular mortality for men screened in the multiple risk factor intervention trial. *Diabetes Care*; 16: 434-44, 1993.

STAMLER J, STAMLER R, RIEDLINGER WF, ALGERA G, ROBERTS RH. Community Hypertension Evaluation Clinic (CHEC) Program, 1973-1975. **J Am Med Assoc**, 235: 2299-2306, 1976.

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

STEINBERG D, PARTHASARATHY S, CAREW TE, KHOO JC, WITZTUM JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity **N. Engl. J. Med**, 320: 915 – 924, 1989.

SU D.F., MIAO C – Y. Blood pressure variability and organ damage. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 28, 709 – 715, 2001.

TIIDUS, P.M. Can estrogens diminish exercise induced muscle damage? **Can.J.Appl.Physiol.** 20(1): 26-38, 1995.

ULRIKA H, ANDERSSON I, NAYLOR AS, GRÖNROS J, JONSDOTTIR IH, BERGSTRÖN GAN L. Voluntary physical exercise-induced vascular effects is spontaneously hypertensive rats. **Clin Sci.:** 107: 571-81, 2004.

VENDITTI P, DI MEO S. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. **Int J Sports Exerc.** 18: 497-502, 1997.

VERSCHUREN W M M, KROMHOUT D. Total cholesterol concentration and mortality at a relatively young age: Do men and women differ? **BMJ**, 311:779-783, 1995.

VERSCHUREN W M, JACOBS D R, BLOEMBERG B P, KROMHOUT D, MENOTTI A, ARAVANIS C, BLACKBURN H, BUZINA R, DONTAS A S, FIDANZA F. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. **JAMA**, 274: 131 – 136, 1995.

VIÑA J, GOMES-CABRERA MC, LIORET A. Free radical in exhaustive exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. **IUBMB Life.** 50:271-7, 2000.

WALSH BW, SCHIFF I, ROSNER B, GREENBERG L, RAVNIKAR V, SACKS FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins **N. Engl. J. Med.**, 325: 1196 – 1204, 1991.

WEINSTEIN I, TURNER FC, SOLER-ARGILAGA C, HEIMBERG M. Effects of ethynyl estradiol on serum lipoprotein lipids in male and female rats. **Biochim Biophys Acta**, 530(3): 394-401, 1978.

WEISE S D, GRANDJEAN P W, ROHACK J, WOMACK J W, CROUSE S F. Acute changes in blood lipids and enzymes in postmenopausal women after exercise. **J Appl Physiol**, 99: 609 – 615, 2005.

WELTY, F.K. Preventing clinically evident coronary heart disease in the postmenopausal woman. *Menopause*, v. 11, n. 4, p. 484–494, 2004.

WYSS JM. The role of the sympathetic nervous system in hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, 2(2): 265-73, 1993.

YU L, GENGARO PE, NIEDERBERGER M, BURKE TJ, AND SCHRIER RW. Nitric oxide: a mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. **Proc Natl Acad Sci USA** 91: 1691–1695, 1994.

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

ZHANG, S. H., R. L. REDDICK, J. A. PIEDRAHITA, AND N. MAEDA.. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science*. 258: 468–471, 1992.

ZWEIER JL, SAMOUILOV A, AND KUPPUSAMY P. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems. **Biochim Biophys Acta** 1411: 250–262, 1999.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)