CASSIO MARCOS VILICEV

Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e a suplementação de L-Arginina

São Paulo

2013

CASSIO MARCOS VILICEV

Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e a suplementação de L-Arginina

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:
Cirúrgia

Área de concentração:
Anatomia dos Animais Domésticos e Silvetres

Orientador:
Prof. Dr. Renato Paulo Chopard

De acordo:

Orientador

São Paulo

2013

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

VERSÃO CORRIGIDA

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2814
FMVZ

Vilicev, Cassio Marcos
Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e a suplementação de L-Arginina / Cassio Marcos Vilicev. – 2013.
86 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2013.

Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Renato Paulo Chopard.

1. Composição corporal. 2. Exercícios físicos. 3. Suplementação de L-Arginina. 4. Hipertensão arterial. 5. Osteoporose. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e à suplementação de L-Arginina", protocolado sob o nº 2181/2011, utilizando 40 (quarenta) ratos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Renato Paulo Chopard, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 04/5/2011.

We certify that the Research "Study of body composition of spontaneously hypertensive rats (SHR) submitted to ovariectomy associated with physical training and supplementation of L-Arginine", protocol number 2181/2011, utilizing 40 (forty) rats, under the responsibility Prof. Dr. Renato Paulo Chopard, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 05/04/2011.

São Paulo, 12 de maio de 2011.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: (55 11) 3032-2224 / 3091-7757
fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
http://www.fmvz.usp.br

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: VILICEV, Cassio Marcos

Título: Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e a suplementação de L-Arginina.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências

Data: _____/ _____/ _____

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus filhos MATHEUS E HELOISA,

que sirva de lição a sua sabedoria e a sua criatividade.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, na pessoa de sua Coordenadora Professora Dra. Maria Angélica Miglino.

Ao Professor Dr. Renato Paulo Chopard, orientador, mestre e espelho. Em virtude de sua confiança depositada, passando os conhecimentos no ensino da anatomia humana e na pesquisa científica. Agradeço sua dadivosa amizade, por sua boa vontade, pela sua paciência inigualável, pelo seu incentivo e aconselhamentos, pelas oportunidades a partir do aceite, como aluno especial no acesso ao mestrado até a realização do presente trabalho, e em todos os instantes de delicioso convívio.

À Professora Dra. Cecília Helena de Azevedo Gouveia Ferreira, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, que me orientou na dissertação de mestrado, além das oportunidades prestadas em diversas esferas de minha vida. Eu posso proferir que a minha formação, até mesmo pessoal, não teria sido a mesma sem a sua pessoa.

À Professora Dra. Paula de Carvalho Papa, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, por seu carinho e paciência, pela sua sabedoria e empenho disponibilizados nas aulas, por apoiar e acreditar no trabalho, fatos que muito me honraram. A você a minha eterna gratidão.

Ao Professor Dr. Edson Aparecido Liberti e ao Professor Dr. Richard Halti Cabral, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, que largamente pelas suas experiências, pelos seus conhecimentos e pela lição de vida contribuíram para a minha formação.

Ao Professor Dr. Jackson Bittencourt, à Professora Dra. Maria Inês Nogueira e à Professora Dra. Maria Luíza Morais Barreto de Chaves, ao Professor Dr. Anselmo Sigari Moriscot do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, que com generosidade ofereceram acesso ao seu laboratório.

Aos Membros Efetivos da banca de exame de qualificação, ao Professor Dr. José Roberto Kfoury Júnior, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e à Professora Dra. Maria Tereza Jordão, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo pelas preciosas análises críticas e as pertinentes recomendações na avaliação deste trabalho.

Aos meus amigos, companheiros para tudo nessa vida, de tantas dificuldades e de lutas, mas das quais jamais me esquecerei de e que somente apresento boas lembranças. Ao Amigo James Tadeu Batalha de Góes, que molda uma amizade preciosa e duradoura presente de alguma maneira nos instantes de alegrias, de tristezas e de dores compartilhadas. Ao Amigo Professor Mestre Tiago José Ferreira, que sempre demonstrou apoio nos momentos mais árduos. Ao Amigo Professor Dr. Ivaldo Esteves Júnior e ao casal Professor Doutor Cristiano Schiavinato Baldan e a Professora Mestre Alessandra Maria Schiavinato Baldan, não só pelo fato de convivermos por nove anos, mas, principalmente pela importância de terem cruzado o meu caminho.

A todos os Professores da Universidade Paulista e da Faculdade Santa Rita de Cássia, especialmente, ao Professor Thiago Sailic Farcic, ao Professor Igor Bordello Masson, ao Professor Helder Cravo Costa, ao Professor Hermínio Mendes Barreto Júnior e ao Professor Lao Windson Tsé, que colaboraram com os seus ensinamentos, as suas observações e suas amizades, me ajudaram ativa ou passivamente neste trabalho.

A todos os Alunos da Universidade Paulista e da Faculdade Santa Rita de Cássia, especialmente, aos Alunos Eduardo Murata, Maria Cícero de Brito, Maria Navega Abreu e Thiago Andrade, que, auxiliaram de maneira eficaz no desenvolvimento deste trabalho, além das oportunidades de ensinar e de aprender.

Aos Colegas do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, em especial, José Renato Romero, Renata Juliana da Silva, Cyro E. de Carvalho Ottoni, Vanderlei A. da Rocha, Bruno J. Silva de Melo e Juliana Shimara Pires Ferrão, muito obrigado por tudo.

Aos Funcionários do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Maicon Barbosa da Silva, Mary de Oliveira, Marta Maria da Silva Righetti, Joelcimar Martins da Silva e Kelly Patrícia Nery Borges pela prontidão, capacidade e magnífico auxílio na realização deste estudo.

Aos animais, cuja eutanásia foi necessária e de suprema importância para a consolidação deste trabalho, e sem vocês nada poderia ter ocorrido, muitíssimo obrigado.

A todos os familiares que me incentivaram e apoiaram: em primeiro lugar, aos meus queridos amados e adoráveis pais, João Vilicev e Maristela Ferrari Vilicev, que me ensinaram o significado do amor e da ternura, além do belo exemplo de pessoas honestas e trabalhadoras que são. À minha esposa e companheira Gisele Aparecida Pedroso Vilicev, que soube me amar e compreender nos momentos de minha ausência, enquanto eu perseguia meu ideal. Aos meus filhos, Matheus Pedroso Vilicev e Heloisa Pedroso Vilicev, que são parte vital da teia da minha vida, reforçando-a com laços de afeto e carinho. Aos meus queridos padrinhos, Delson Ferrari e Cecília Rodrigues Ferrari, cuja preciosa dedicação contribuiu para união na nossa família. Aos meus primos, Delson Ferrari Júnior e Valéria Ferrari, que formam os laços fortes dessa teia. Ao meu sogro Antônio Pedroso e a minha sogra Wanda Conçani, pelas minhas falhas e para que eu pudesse trabalhar mais intensamente nesta etapa final. À minha família, enfim, eu poderia escrever infinitas páginas sobre vocês e pela vida que Deus nos concedeu.

A Deus por ter-me dado forças e saúde, nunca me deixando cair nessa difícil escalada, e sempre com orientação em meus caminhos com fidelidade e ternura. A todos, meus agradecimentos, do fundo do meu coração.

“A gratidão é em si mesma o paraíso”.

William Blake

RESUMO

VILICEV, C. M. **Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e a suplementação de L-Arginina.** [Study of body composition in spontaneously hypertensive rats (SHR) subjected to ovariectomy associated with physical training and supplementation of L-Arginine]. 2013. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Investigamos os efeitos dos exercícios físicos (EF) aeróbios e/ou suplementação de L-Arginina (L-ARG) sobre as possíveis alterações da composição corporal (CC) de ratas hipertensas (SHR) ovariectomizadas. As ratas (com aproximadamente 13 semanas de idade) foram submetidas a remoção cirúrgica dos ovários para podermos estudar o efeito da depleção de hormônios ovarianos, que ocorre na menopausa. Após 30 dias de ovariectomia, as ratas realizaram um protocolo de EF em esteira ergométrica de moderada intensidade ou mantidos sedentários por oito semanas e suplementadas com L-ARG. Enquanto o ganho de massa corporal (MC) relativa não foi afetada pelos EF ou L-ARG, o consumo alimentar (CA) aumentou significativamente nos grupos EXER (hipertenso treinado) e EXER-ARG (hipertenso treinado associado com suplementação de L-ARG), quando comparado ao grupo CONT (hipertenso sedentário - controle) Como esperado, os EF e a L-ARG, foram eficientes em elevar a capacidade física dos grupos EXER e EXER-ARG, com aumento extremamente significativo ($p<0.001$) da distância máxima alcançada na 8ª semana de EF, porém não causou alterações na massa úmida dos músculos estriados esqueléticos (MEE). Em associação, verificamos um aumento da massa úmida do coração nos grupos EXER e EXER-ARG, porém no grupo EXER-ARG observou-se uma discreta queda na PA (pressão arterial) final, ainda que não significante. Paralelamente, os dados mostraram que a L-ARG e/ou os EF não foram efetivos para a diminuição da reabsorção do osso ou a formação óssea crescente.

Palavras-chave: Composição corporal. Exercícios físicos. Suplementação de L-Arginina. Hipertensão arterial. Osteoporose.

ABSTRACT

VILICEV, C. M. **Study of body composition in spontaneously hypertensive rats (SHR) subjected to ovariectomy associated with physical training and supplementation of L-Arginine.** [Estudo da composição corporal de ratas espontaneamente hipertensas (SHR) submetidas à ovariectomia associado ao treinamento físico e a suplementação de L-Arginina]. 2013. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

We investigated the effects of physical exercise (PE) aerobic and/or supplementation of L-arginine (L-ARG) on the possible changes in body composition (CC) of hypertensive rats (SHR) ovariectomized. The rats (approximately 13 weeks old) underwent surgical removal of the ovaries in order to study the effect of depletion of ovarian hormones at menopause occurring. After 30 days of ovariectomy, the rats underwent a protocol of PE treadmill of moderate intensity or kept sedentary for eight weeks and supplemented with L-ARG. While the gain in body mass (BM) was not affected by the relative PE or L-ARG, food consumption (CA) increased significantly in groups EXER (hypertensive trained) and EXER-ARG (hypertensive trained associated with supplementation of L-ARG) when compared to the CONT group (untrained - control) As expected, PE and L-ARG, were effective in increasing the physical capacity of groups EXER and EXER-ARG, with highly significant increase ($p < 0.001$) the maximum distance reached the 8th week of PE, but caused no change in wet mass of striated skeletal muscle (ESM). In combination, we see an increase in wet weight of the heart in groups EXER and EXER-ARG, but in the group EXER-ARG showed a slight drop in BP (blood pressure) end, though not significant. Simultaneously, the data show that L-Arg and/or PE were not effective to decrease bone resorption or increasing bone formation.

Keywords: Body composition. Physical exercises. Supplementation of L-Arginine. Hypertension. Osteoporosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Procedimento de ovariectomia. Ovários exteriorizados e ligados 33

Figura 2 - Procedimento de ovariectomia. Ovários totalmente removidos e fechamento da incisão 34

Figura 3 - SHR utilizadas durante o trabalho. Os animais foram mantidos em gaiolas de acordo com as orientações estabelecidas pela legislação em vigor 35

Figura 4 - PA caudal medida pelo método indireto (pletismografia de cauda) 37

Figura 5 - Animais exercitados na esteira ergométrica de acordo com o protocolo descrito nesta seção 38

Figura 6 - Foto do osso no equipamento para a realização do teste de flexão de três pontos 42

Figura 7 - Efeitos dos EF e da suplementação de L-ARG no CA.....43

Figura 8 - Desenvolvimento de MC 44

Figura 9 - Avaliação da PA.....45

Figura 10 - Eficiência dos EF 46

Figura 11 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de EXER-ARG. Coloração: HE. Barra: 20 µm.....79

Figura 12 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de EXER. Coloração: HE. Barra: 20 µm.....80

Figura 13 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de SED-ARG. Coloração: HE. Barra: 20 µm 81

Figura 14 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de CONT. Coloração: HE. Barra: 20 µm 82

Figura 15 - Parâmetros biomecânicos dos animais. Carga máxima 49

Figura 16 - Parâmetros biomecânicos dos animais. Energia em quebra 49

Figura 17 - Parâmetros biomecânicos dos animais. Módulo Young.....50

Figura 18 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de CONT. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm.....83

Figura 19 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de EXER-ARG. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm 84

Figura 20 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de SED-ARG. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm.....85

Figura 21 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de EXER. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm 86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo do protocolo de treinamento 39

Tabela 2 - Efeito da L-ARG e dos EF na massa da musculatura esquelética e cardíaca 47

Tabela 3 - Efeito da L-ARG e dos EF no tecido ósseo.....51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Trifosfato de Adenosina
ATP-CP	Creatina Fosfato
AVDs	Atividades de Vida Diária
CA	Consumo Alimentar
CC	Composição Corporal
CMO	Composição Mineral Óssea
CONT	Hipertenso Sedentário - Controle
DAC	Doença Arterial Coronária
DC	Débito Cardíaco
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DCV	Doenças Cardiovasculares
EDHF	Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio
EDL	Músculo Extensor Longo dos Dedos
EFTP	Ensaio de Flexão de Três Pontos
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EF	Exercícios Físicos
eNOS	Enzima NO-sintase
EXER	Hipertenso Treinado
EXER-ARG	Hipertenso Treinado Associado com Suplementação de L-ARG
FC	Frequência Cardíaca
FM	Fibras Musculares
FR	Fatores de Risco
HA	Hipertensão Arterial
HE	Hematoxilina-Eosina
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
i.p.	injeção intraperitoneal
IP3	Inositol Trifosfato
IRC	Insuficiência Renal Crônica
L-ARG	L-Arginina
LBCAF	Laboratório de Biologia Celular e Anatomia Funcional
MC	Massa Corporal

MEE	Músculo Estriado Esquelético
MG	Massa Gorda
MGL	Massa Corporal Livre de Gordura
MM	Massa Magra
NO	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pressão Arterial
PGI_2	Prostaciclina
SHR	Ratos Espontaneamente Hipertensos
SED-ARG	Hipertenso Sedentário Associado com Suplementação de L-ARG
VEFG	Fator de Crescimento Vascular Endotelial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19
1.1 Doenças crônicas não transmissíveis 19
1.2 Hipertensão arterial e a menopausa 20
1.3 Osteoporose e a menopausa 22
1.4 Composição corporal 23
1.5 Ratos espontaneamente hipertensos 25
1.6 Óxido nítrico (NO) 26
1.7 L-arginina 27
1.8 Hipertensão arterial, menopausa e o exercício físico 28

2 OBJETIVOS 30

3 JUSTIFICATIVA 31

4 MATERIAL E MÉTODOS 32
4.1 Animais 32
4.2 Ovariectomia 32
4.3 Delineamento experimental 34
4.4 Medidas de consumo alimentar 35
4.5 Determinação da massa corporal 36
4.6 Medida da pressão de cauda 36
4.7 Descrição dos exercícios físicos 37
4.8 Exercícios físicos e a suplementação de L-Arginina 40
4.9 Sacrifício dos animais e coleta de amostras 40
4.10 Preparação dos tecidos, métodos de coloração e microscopia de luz 41
4.11 Teste biomecânico da tíbia 42

5 RESULTADOS 43
5.1 Parâmetros avaliados durante os EF e/ou a suplementação de L-ARG 43
5.1.1 Efeitos no consumo alimentar 43
5.1.2 Desenvolvimento de massa corporal 44
5.1.3 Avaliação da pressão arterial 45
5.1.4 Eficiência dos exercícios físicos 45
5.2 Parâmetros avaliados após o sacrifício 47
5.2.1 Efeitos na massa muscular esquelética e cardíaca 47
5.2.2 Microscopia de luz dos músculos estriados esqueléticos 48
5.2.3 Teste biomecânico da tíbia 48
5.2.4 Microscopia de luz do tecido ósseo 50

6 DISCUSSÃO 52
6.1 Consumo alimentar 53
6.2 Massa corporal 54
6.3 Pressão arterial 56
6.4 Eficiência dos exercícios físicos 57
6.5 Músculos estriados esqueléticos e músculo estriado cardíaco 59
6.6 Tecido ósseo 60

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 64

REFERÊNCIAS 65

Apêndice A 79

Apêndice B 80

Apêndice C 81

Apêndice D 82

Apêndice E 83

Apêndice F 84

Apêndice G 85

Apêndice H 86

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças crônicas não transmissíveis

Mais de 60% das mortes mundiais têm como causa às doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), conforme avaliações da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2005). No Brasil, as DCNT constituem-se a principal causa de morte em adultos, com ênfase para as doenças cardiovasculares (DCV), diabetes, neoplasias e doenças respiratórias crônicas, responsáveis pela maior parte dos custos com assistência ambulatorial e hospitalar (BRASIL, 2008). O avanço da complicação dessas doenças é decorrência direta de urbanização apressada, avanço progressivo da perspectiva de vida, modificações no estilo alimentar, altas incidências do tabagismo e do sedentarismo, entre outros fatores (MALTA et al., 2006).

Nas últimas duas décadas, evidências confirmaram que um estilo de vida saudável combinado à prática regular de exercícios físicos (EF) colabora para a prevenção e o controle de DCNT, como por exemplo, as DCV, a hipertensão arterial (HA), a obesidade, o diabetes, a ansiedade, a depressão e a osteoporose. Os EF acarretam formidáveis benfeitorias à saúde, mas grande parte da população é fisicamente inativa. Mais de 2 milhões de mortes são cominadas à inatividade física a cada ano no mundo inteiro (ROCHA, 2010).

Avaliações da OMS para o ano de 2001 balizavam que 58,5% das mortes por todas as causas foram consequências de DCNT em todo o mundo. Esses cálculos sugeriram esse grupo de doenças como responsável por valores da ordem de 45,9% para o indicador *"Disability-Adjusted Life Years"* (DALY) na população mundial. Alterações nos modelos de morbidade e mortalidade são propósitos de estudos epidemiológicos sobre a relação entre as DCNT e os fatores associados, entre os quais se sobressai os EF (SUZUKI; MORAES; FREITAS, 2011).

1.2 Hipertensão arterial e a menopausa

É percebido, a nível mundial, o envelhecimento da população (DUARTE, 2005) em razão da redução da mortalidade geral, à diminuição das taxas de fertilidade e elevação das taxas de sobrevida (RODRIGUES; RAUTH, 2002). O aumento da perspectiva de vida no sexo feminino é mais expressivo em relação ao masculino, em virtude de fatores biológicos e da menor exposição aos fatores de risco (FR) de mortalidade (VERAS, 1996) o que resulta em um maior contingente de mulheres entre os idosos (RECKELHOFF; FORTEPIANI, 2004).

A incidência da HA na população mundial é alta (DÓREA; LOTUFO, 2004) sendo importante recordar que a prevalência da HA se eleva com a idade, podendo atingir 80% da população acima de 80 anos (FUCHS et al., 2001). Verifica-se que as mulheres, até a menopausa, têm menor prevalência de HA e das comorbidades, em relação aos homens. Contudo, após a menopausa, as mulheres passam a apresentar prevalência de HA semelhantes à dos homens (COYLEWRIGHT; RECKELHOFF; OUYANG, 2008). E, por conseguinte, a incidência de DCV em mulheres após a menopausa, torna-se similar a do homem (LUBIANCA; VALLE; FUCHS, 2008).

A HA é um dos principais FR de morbidade e mortalidade nas DCV (MYERS et al., 2002). Os custos médicos e socioeconômicos da HA são altos, especialmente de suas complicações, como a doença cerebrovascular, a doença arterial coronária (DAC), a insuficiência cardíaca congestiva (ICC), a insuficiência renal crônica (IRC), a doença vascular de extremidades e a doença de retina (SBC, 2006). A HA possui etiologia multifatorial, envolvendo FR genéticos, FR ambientais e FR psicológicos (ZAGO; ZANESCO, 2002). Os principais fatores ambientais modificáveis da HA são os hábitos alimentares inadequados – em especial, a ingestão excessiva de sal e o baixo consumo de vegetais, o consumo exagerado de álcool – a obesidade e o sedentarismo (WILDMAN et al., 2005).

O risco de indivíduos sedentários apresentarem HA é 30% maior do que aquele encontrado pelos indivíduos ativos (FAGARD, 2005). Na população urbana, no Brasil, avalia-se que a prevalência do sedentarismo seja de até 56% nas

mulheres e 37% nos homens (FUCHS; MOREIRA; RIBEIRO, 1993). É visto que a pressão arterial (PA) aumenta linearmente com a idade (FRANKLIN et al., 2005) e, nesse caso, também há a associação de FR, pois o idoso comumente traz a obesidade agregada a um estilo de vida mais sedentário com o transcorrer dos anos (SPRITZER, 1996). Outros estudos indicam que indivíduos com nível de PA satisfatório, que apresentam obesidade com o decorrer dos anos, têm maior incidência de HA (DE SIMONE et al., 2006). Já Neter et al. (2003) fazem a associação com a perda de massa corporal (MC) causando a redução da PA.

Há propensão de desenvolvimento dos níveis de obesidade em todos os territórios do país, sobretudo entre as mulheres e nas classes socioeconômicas mais baixas (LESSA et al., 2004). Existe uma abundância de fatores que colaboram para a HA, na menopausa, além da evidente carência de estrógenos, como, por exemplo, o aumento do estresse oxidativo, a disfunção endotelial, a elevação da atividade do sistema renina-angiotensina, a elevação nos níveis plasmáticos de testosterona e o aumento do ganho de MC (PHILLIPS; JING; HEYMSFIELD, 2008).

É sabido que o endotélio vascular tem receptores para os estrógenos, e o estrógeno eleva a liberação pelo endotélio de fatores relaxantes, como o NO (óxido nítrico) bem como aumenta a sua biodisponibilidade para as células musculares lisas (TOSTES et al., 2003). Experimentos utilizando ratas fêmeas geneticamente hipertensas apontaram que a ovariectomia acentua a HA e que a reposição de estrógenos causa o retorno a valores de PA análogos aos valores dos animais-controle não ovariectomizados (DANTAS et al., 1999). Entretanto, a reposição hormonal em mulheres posteriormente à menopausa indicou ser de baixa eficiência tanto na redução dos valores de PA quanto na prevenção de DCV, corroborando que os mecanismos contidos nas mulheres são diferentes dos modelos experimentais (ESHRE, 2006).

O tratamento ideal da HA não deve se resumir à terapia farmacológica, a fim de diminuir a PA. A terapia alternativa não farmacológica compreende uma alteração de estilo de vida, como o aumento de EF e, com a diminuição dos valores de PA (GONÇALVES et al., 2007).

A prática regular de EF é preconizada para todos os hipertensos, até mesmo para aqueles sob tratamento medicamentoso. Na população em geral, os exercícios

aeróbios regulares reduzem a PA, sendo o efeito hipotensor tanto maior quanto mais elevada for a PA inicial (CORNELISSEN; FAGARD, 2005). Outros aspectos positivos são o auxilio no controle do sobrepeso, da resistência à insulina e da dislipidemia, reduzindo assim o risco de DCV em geral (PESCATELLO et al., 2004).

1.3 Osteoporose e a menopausa

A prática de EF é uma das preponderantes estratégias para a prevenção de DCNT, como por exemplo, a osteoporose, a diabetes, a HA e a obesidade (SALVADOR et al., 2009). No entanto, níveis abaixo dos apreciados, retrocedem-se mais graves, quando agregados a condutas de alto risco como o tabagismo, as dietas hipercalóricas e, principalmente, o sedentarismo (ARAÚJO; OLIVEIRA, 2008).

Nota-se que algumas modificações em nível antropométrico relacionadas ao envelhecimento colaboram de maneira aguçada no aumento da obesidade e no padrão de distribuição da gordura corporal. Tais modificações estabelecem-se no acréscimo da MC e da MG (massa gorda), diminuição da massa magra (MM) e da massa óssea (CMO), redução da massa corporal livre de gordura (MGL) e da estatura (FERREIRA, 2003).

O sistema esquelético recebe grande influência das modificações hormonais atribuídas pela menopausa, resultando em um processo de reabsorção óssea maior que o processo de formação, e consequentemente, acarreta a redução fisiológica da CMO. Quando esse processo torna-se mais agudo, pode derivar surgimento de osteoporose (NAVEGA; OISHI, 2007), marcada por manifestar redução da CMO e a deteriorização na microarquitetura do tecido ósseo (BERBEL; DE CARVALHO, DE SOUZA, 2009). A partir de quarenta anos de idade, tanto na mulher quanto no homem, o processo de reabsorção óssea começa a prevalecer sobre o processo de formação óssea, o que leva à perda de massa óssea. Mulheres no período da menopausa têm desbalanço no metabolismo ósseo (PARDINI, 2007). É merecedor de nota que a queda na produção de estrogênio é um dos principais fatores determinantes desse desbalanço (SILVA et al., 2007). Além disso, as taxas de

fratura de fêmur proximal são um considerável indicador da prevalência da osteoporose em mulheres (SEGURA et al., 2007).

A prática regular de EF favorece o aumento da força muscular e do fluxo sanguíneo, melhora a flexibilidade, auxilia na redução do percentual de MG, no aprimoramento dos aspectos neurais, na redução dos fatores de quedas e na diminuição do risco de osteoporose. Em virtude das benfeitorias determinadas pelo EF, a OMS e o Ministério da Saúde do Brasil preconizam que a população efetue EF de intensidade moderada por aproximadamente 150 minutos/semana para a prevenção de algumas DCNT e a conservação da capacidade funcional (PAULO; SANDRI, 2012).

1.4 Composição corporal

A MC, ou composição corporal (CC) pode ser dividida em três compartimentos: o CMO, a MG e a MM. A MG é determinada pelo tecido adiposo e a MM pelo conteúdo corporal de proteínas, água, glicogênio e minerais não ósseos. De acordo com esse modelo de três compartimentos, a MC é igual à soma de CMO, MG e MM. Assim, pode-se considerar a massa corporal livre de gordura (MGL = massa corporal livre de gordura) como igual à soma de CMO e MM (VILICEV, 2005).

Mudanças na CC acontecem com frequência entre as mulheres após a menopausa, sendo a idade avançada e a obesidade, muitas vezes, características relacionadas entre si (KELEMEN et al., 2010). Essas alterações na CC apresentam consequências marcantes para a saúde do idoso (RIVLIN, 2007). O efeito mais relevante incide na redução de CMO, que acarreta prejuízos na postura corporal e no maior risco de fraturas (HEANEY, 2001). Dessa maneira, a mobilidade é prejudicada, causando limitação de movimentos nas atividades de vida diária (AVDs) e possibilidade de aumento no gasto energético (RIVLIN, 2007).

Morfologicamente, os músculos estriados esqueléticos (MEE) são compostos pelas fibras musculares (FM) envolvidas, uma a uma, por tecido conjuntivo fibroso, o endomísio. Em sequência, elas são reunidas em feixes de até 150 fibras

constituindo um fascículo, o qual está envolvido pelo perimísio. Diversos fascículos unidos são circundados pelo epimísio, compondo todo o MEE. Histologicamente, as fibras musculares são formadas pela membrana celular ou sarcolema. Abaixo do sarcolema há a membrana basal. Entre as duas membranas encontram-se as células-satélites. Estímulos como os EF intensificam as células-satélites, que se diferenciam e participam na formação de novas FM maduras (HAWKE; GARRY, 2001). No interior das FM existe o sarcoplasma, onde se localizam as organelas sarcoplasmáticas, como por exemplo, o retículo sarcoplasmático e os sarcossomas (BUCCI et al., 2005).

Em adição, as FM podem adaptar-se modificando a composição dos tipos de FM, bem como seu diâmetro (DEGASPARI, 2003). Brooke e Kaiser (1970) descreveram três tipos principais de FM, denominadas de FM dos tipos I, IIA e IIB. Petter et al. (1972) instituíram a classificação das FM fundamentando-se em seu aspecto fisiológico e na atividade metabólica em: fibras de contração lenta do tipo I, com metabolismo oxidativo; fibras de contração rápida, do tipo IIA, com metabolismo oxidativo e glicolítico; e fibras de contração rápida, do tipo IIB, com metabolismo glicolítico.

A composição do tipo de FM pode sofrer influência por vários fatores, como por exemplo, a predisposição genética, o sexo e a idade (ENGLISH et al., 1999). Numerosos estudos evidenciam que os MEE de humanos sofrem modificações pertinentes com a idade e o tipo de FM (ANDERSEN, 2003). Com o envelhecimento, advém a elevação das FM do tipo I e ao mesmo tempo a redução das FM do tipo II nos MEE dos membros inferiores e do tronco (MONEMI et al., 1999).

A redução de MM (sarcopenia) e a diminuição de CMO têm importantes implicações para a saúde (POEHLMAN et al., 1995). A sarcopenia está agregada à osteoporose, acarretando complicações com o avanço da idade (DESCHENES; MARESH; KRAEMER, 1994). Os mecanismos responsáveis pela sarcopenia, no idoso, não estão totalmente elucidados; entretanto, existe a diminuição das áreas das FM bem como no número de FM (COELHO; BURINI, 2009).

É sabido que o tecido muscular tem uma taxa metabólica muito maior do que o tecido adiposo (POEHLMAN et al., 1995). Como consequência, se há diminuição progressiva do tecido muscular e elevação no tecido adiposo, as necessidades

calóricas para manutenção de MC irão reduzir progressivamente com o envelhecimento. Os efeitos indesejáveis do excesso de MC vão ocorrer caso o indivíduo mais velho conserve o mesmo nível de ingestão de calorias consumidas, semelhante ao nível em uma idade mais jovem, e ainda, não mantiver ou aumentar o nível de gasto energético (RIVLIN, 2007). Assim, a redução da taxa metabólica com o envelhecimento está amplamente atribuível a essas mudanças na CC (ROUBENOFF, 1999), ou seja, MM e CMO diminuída, com um aumento absoluto e relativo da MG (WEISSEL, 2006).

A prática regular de EF acarreta uma série de adaptações fisiológicas no organismo, de maneira gradual, que variam conforme as características da atividade física proposta (MAGALHÃES et al., 2008). Assim, os EF de longa duração e moderada intensidade geram, entre outras adaptações positivas, o aumento das reservas energéticas. Os sistemas energéticos ATP-CP (creatina fosfato), oxidativo e glicolítico agem concomitantemente, havendo predomínio de um ou outro dependendo da natureza, duração e intensidade dos EF (BUCCI et al., 2005).

Como a menopausa advém frequentemente em idade em que já é possível identificar efeitos deletérios do sedentarismo, as indicações da prática de EF devem ter a recomendação de estimular o desenvolvimento da CC e da aptidão física (SANTARÉM, 2011). Portanto, os EF, em particular, incidem no resultado de melhorias nos parâmetros funcionais ou físicos, como por exemplo, na CC (ELAVSKY; MCAULEY, 2009).

1.5 Ratos espontaneamente hipertensos

Segundo Okamoto e Aoki (1963), muitos pesquisadores, entre 1939 e 1961, utilizavam animais com HA induzido por vários métodos; no entanto, trabalhos experimentais em animais espontaneamente hipertensos eram insólitos. O benefício da utilização desse último tipo de HA é o fato de ser considerada semelhante à hipertensão essencial do homem. A hipertensão essencial simboliza a maioria dos casos de HA, até 95% dos casos, e caracteriza-se por não ter etiologia clara (WILMORE; COSTILL, 2001).

Okamoto e Aoki (1963) descreveram o desenvolvimento de uma linhagem de ratos espontaneamente hipertensos. Cruzou um rato macho (P1) de uma linhagem Wistar com hipertensão espontânea (150 a 175 mmHg) com uma fêmea Wistar (P2) cuja PA era pouco acima da média (130 a 140 mmHg), conseguindo assim 36 ratos (F1). De F1 foram escolhidos casais com pressão acima de 150 mmHg, que foram cruzados novamente, a fim de obter F2. Casais de ratos hipertensos de F2 foram novamente cruzados para produzir F3. O procedimento foi reproduzido até a sexta geração, até obter 100% de hipertensão espontânea nos ratos. O critério de hipertensão, em ratos, foi de valores da pressão sistólica acima de 150 mmHg, conforme já considerado por outros autores importantes, como Alexander; Tibbs; Drury (1957) Phelan e Smirk (1960) e Grollman e Grollman (1962). Os autores chamaram essa linhagem de rato por meio da denominação SHR (ratos espontaneamente hipertensos).

Todos os SHR têm HA a partir de 15 semanas de idade, e a PA vai aumentar com a idade. A PA do macho é em média de 10.6 mmHg, superior à PA da fêmea, e a HA desenvolve-se em idades menores nos machos (OKAMOTO; AOKI, 1963).

1.6 Óxido nítrico (NO)

As células endoteliais são capazes de sintetizar várias substâncias vasoativas, que podem ser fatores relaxantes ou fatores contráteis. Os fatores relaxantes são a prostaciclina (PGI_2), o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e o NO (VANHOUTTE, 2003). Os fatores contráteis derivados do endotélio são a endotelina e o tromboxano (YANAGISAWA et al., 1988). Várias doenças, como as dislipidemias, a aterosclerose e a HA, têm disfunção endotelial, caracterizando-se por menor produção e/ou biodisponibilidade de NO (KINGWELL, 2000).

O NO é um potente vasodilatador, e assim tem desempenho muito importante no controle da PA. Além disso, apresenta inúmeras funções, como a inibição da agregação plaquetária, evitando a formação de trombos e, logo, prevenindo os processos de tromboses e doenças aterotrombóticas (VANHOUTTE, 2003). A

síntese do NO resulta da oxidação de um dos dois nitrogênios guanidino de L-Arginina (L-ARG) que é convertida em L-Citrulina. Essa reação é catalisada pela enzima NO-sintase (eNOS). É preciso que aconteça a ativação da eNOS para que ocorra a reação (LEHNINGER, 2002). A síntese de NO pelas células endoteliais advém de estímulos que podem ser químicos ou físicos. Os estímulos químicos são gerados da influência mútua de agonistas endógeno-exógenos, com receptores específicos presentes nas células endoteliais, como, por exemplo, a acetilcolina, o ATP (trifosfato de adenosina) e a bradicinina. Essa influência mútua origina a formação de inositol trifosfato (IP3) que por sua vez leva à liberação de íons Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, com elevação dos níveis de Ca^{2+} intracelular, que compõem o complexo cálcio-calmodulina, ativando a eNOS (MONCADA, 1997). O estímulo físico é produzido pela força que o sangue desempenha sobre a parede das artérias, denominada força de cisalhamento, ou *shear stress.* As células endoteliais têm mecanorreceptores que desencadeiam uma série de reações químicas, que abrangem a participação dos íons Ca^{2+}, até a vasodilatação propriamente dita, porém o mecanismo não é totalmente esclarecido (BOO; JO, 2003). A produção de NO pelas células endoteliais induzida pelo *shear stress* acontece independente da presença de Ca^{2+} (ZANESO; ZAROS, 2009). Os autores divergem sobre a participação do Ca^{2+}.

Em resumo, o NO endotelial é o alvo para a prevenção de DCV, pelo papel decisivo que cumpre na proteção do vaso sanguíneo. Esta ação está agregada a vários mecanismos, tais como a manutenção do tônus vascular (em virtude de uma constante liberação de quantidades insignificantes de NO graças ao *shear-stress*); a regulação da pressão sanguínea; a prevenção da agregação plaquetária; a inibição da adesão de monócitos e neutrófilos ao endotélio vascular; a atividade antiproliferativa da camada muscular do vaso; e o efeito antioxidativo (DUSSE; VIERA; CARVALHO, 2003).

1.7 L-arginina

A biossíntese do NO é uma das funções mais importantes do metabolismo de L-ARG (MONCADA; PALMER; HIGGS, 1991). A administração oral de arginina tem

sido relacionada com o aprimoramento do desempenho físico por possível redução da fadiga muscular – acompanhada à vasodilatação promovida pelo NO, resultando no aumento da perfusão muscular – e pela diminuição do consumo de glicose pelos MEE (MCCONELL et al., 2006). Como a administração prolongada de arginina aumenta a produção de NO, sua suplementação tem sido relacionada à melhora da função contráctil do MEE (SCHRAGE; JOYNER; DINENNO, 2004). A suplementação de L-ARG também pode estar relacionada a um segundo efeito causador do aumento de força de MM e à síntese proteica (FLAKOLL et al., 2004).

Hambrecht et al. (2000) executaram um atraente estudo a respeito da correção da disfunção endotelial presente em pacientes com ICC, utilizando a suplementação oral com L-ARG e o exercício físico regular. Concluíram que a suplementação de L-ARG aumenta a disponibilidade do substrato endotelial, enquanto os EF aumentam a expressão e atividade da eNOS e, portanto, a associação de ambas as intervenções determina consequências aditivas em relação à vasodilatação endotélio-dependente.

1.8 Hipertensão arterial, menopausa e o exercício físico

Como já referido, os EF para os pacientes hipertensos são uma terapia não farmacológica, que, no entanto, podem reduzir ou mesmo eliminar a necessidade do tratamento medicamentoso, evitando dessa maneira os efeitos contrários das drogas e reduzindo o custo do tratamento para o paciente e para as instituições de saúde.

Os EF aeróbios apresentam efeito hipotensor maior em indivíduos hipertensos do que nos indivíduos normotensos (WHELTON et al., 2002) e são capazes de diminuir a PA em 75% dos pacientes hipertensos (HAGBERG; PARK; BROWN, 2000). Estudos demonstraram o efeito hipotensor dos EF em pacientes hipertensos, já após a primeira sessão da atividade física aeróbia (RONDON et al., 2002) e a sustentação dessa redução dos níveis pressóricos durante o programa de treinamento físico (WHELTON et al., 2002).

Estudos em SHR e em humanos (GRASSI et al., 1994) demonstraram que variações na intensidade do exercício têm diferentes efeitos na PA. Véras-Silva et al. (1997) observaram que, após 12 semanas de treinamento com SHR e exercício de intensidade leve (55% do consumo máximo de O_2) a PA diminuiu significantemente; porém com intensidade alta (85% do consumo máximo de O_2) não houve a diminuição da PA. Já Lesniak e Dubbert (2001) sugeriram que, no homem, a intensidade de exercício menor que 70% do consumo máximo de O_2 é a mais eficaz para a diminuição da PA e que a duração da sessão de EF aeróbios preconizados varia entre 30 e 60 minutos. Em concordância com Lesniak e Dubbert (2001), os autores Pescatello et al. (2004) fizeram um programa de condicionamento físico para hipertensos, com exercícios de baixa a moderada intensidade (40 a 70% do consumo máximo de O_2) realizados três vezes por semana (no mínimo), durante pelo menos 30 minutos por sessão.

Os mecanismos que provocam a queda pressórica pós-treinamento físico estão relacionados a fatores hemodinâmicos, humorais e neurais. Dentre os fatores hemodinâmicos, observa-se, tanto em SHR quanto em humanos, que os EF promovem a redução da PA pela diminuição no débito cardíaco (DC) que está combinado ao decréscimo da frequência cardíaca (FC). A queda na resistência vascular sistêmica é outro mecanismo que esclarece a redução de PA. Existe muita controvérsia em relação aos fatores humorais envolvidos, porém há concordância sobre a redução nos níveis da renina plasmática, bem como sobre o aumento na produção de NO, o que implica a diminuição da PA (NEGRÃO et al., 2001). Os EF incitam o *shear stress,* que é um influente estímulo para a liberação de fatores vasorrelaxantes produzidos pelo endotélio vascular íntegro, como o NO e o EDHF, acarretando assim a redução dos valores de PA (KURU et al., 2002).

Além disso, é sabido que o EF beneficiam a remodelação óssea. A carga mecânica desempenhada sobre os ossos, seja de EF ou simplesmente nas AVDs, favorece o aumento da CMO e ela se conserva em um bom nível, harmonizando à estrutura, suportes para determinadas cargas funcionais. A falta de EF cumpre uma influência negativa para o esqueleto humano. Todavia, apenas o EF não consegue sustentar em bom estado a CMO. Os efeitos benéficos do EF podem ser danificados por um mau estado nutricional e hormonal (SEGURA et al., 2007).

2 OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivos:

1. Investigar as repercussões histológicas e biomecânicas induzidos pelos EF e a suplementação de L-ARG em ratas adultas ovariectomizadas.
2. Analisar as alterações no CA e na MC em ratas adultas ovariectomizadas submetidas a suplementação de L-ARG e EF aeróbios.
3. Estudar os efeitos dos EF em esteira ergométrica, com um protocolo de EF aeróbios durante oito semanas e a suplementação de L-ARG.
4. Mostrar a importância dos EF e a suplementação de L-ARG na manutenção da PA em mulheres pós-menopausa e hipertensas.
5. Estudar as modificações dos MEE e na musculatura cardíaca induzidos pelos EF aeróbios e a suplementação de L-ARG.

3 JUSTIFICATIVA

De acordo com Dusse; Vieira; Carvalho (2003), em benefício de sua importância, o campo de pesquisas do NO está aberto e o uso de ativadores e inibidores da síntese de NO estabelece um desafio para a compreensão e o tratamento de diversas doenças, entre elas a HA. Hoje em dia, tendo em vista o controle da HA, há a evidência da modificação de estilo de vida dos hipertensos, representada principalmente pelos EF regulares, com a finalidade de diminuir ou mesmo substituir o tratamento farmacológico tradicional.

Além disso, é sabido que somente a MC não fornece informações suficientes para a correta determinação dos diversos tipos de tecidos corporais. Segundo Guedes (2003), a análise da CC possui fundamental importância para a prescrição de EF e o aconselhamento nutricional.

Justifica-se, então, a suplementação de L-ARG e a associação da atividade física, que por sua vez promovem uma diminuição da PA e a interferência na CC. Vale ressaltar que o SHR é um modelo biológico de grande valia para avaliar a hipertensão essencial humana. Já os animais ovariectomizados são um modelo de menopausa para as mulheres, sendo que nessa fase da vida elas apresentam aumento significativo na PA.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Esta pesquisa foi submetida à apreciação e aprovação pela Comissão de Ética no uso de animais, sob o Protocolo número 2181/2011 da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, aprovado em reunião de 04/05/2011, atendendo a legislação nacional atual sobre Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei Federal 11.794, de 9 de outubro de 2008).

Foram utilizadas ratas espontaneamente hipertensas (SHR, n = 24; inicialmente com MC entre 180 e 200 g) com 13 a 17 semanas de idade. As ratas SHR foram utilizadas por melhor representar um modelo adequado de HA primária que se desenvolve, paulatinamente, entre 4 e 12 semanas de vida pós-natal (SLEIGHT; FREIS, 1982).

Após o desmame, os animais, provenientes do Biotério Central do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB – USP), foram mantidos em salas com ventilação, temperatura (23 °C) e luminosidade (ciclos alternados de claro/escuro de 12 horas) controladas e receberam água e ração comercial (NUVILAB® CR1 – Nutrivital Nutrientes Ltda) *ad libitum*. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas, contendo três animais em cada uma. Todos os experimentos foram realizados em pelo menos 24 horas, mas não mais do que 48 horas, após a última sessão de EF, a fim de evitar tanto o efeito agudo do exercício como a perda dos efeitos dos EF.

4.2 Ovariectomia

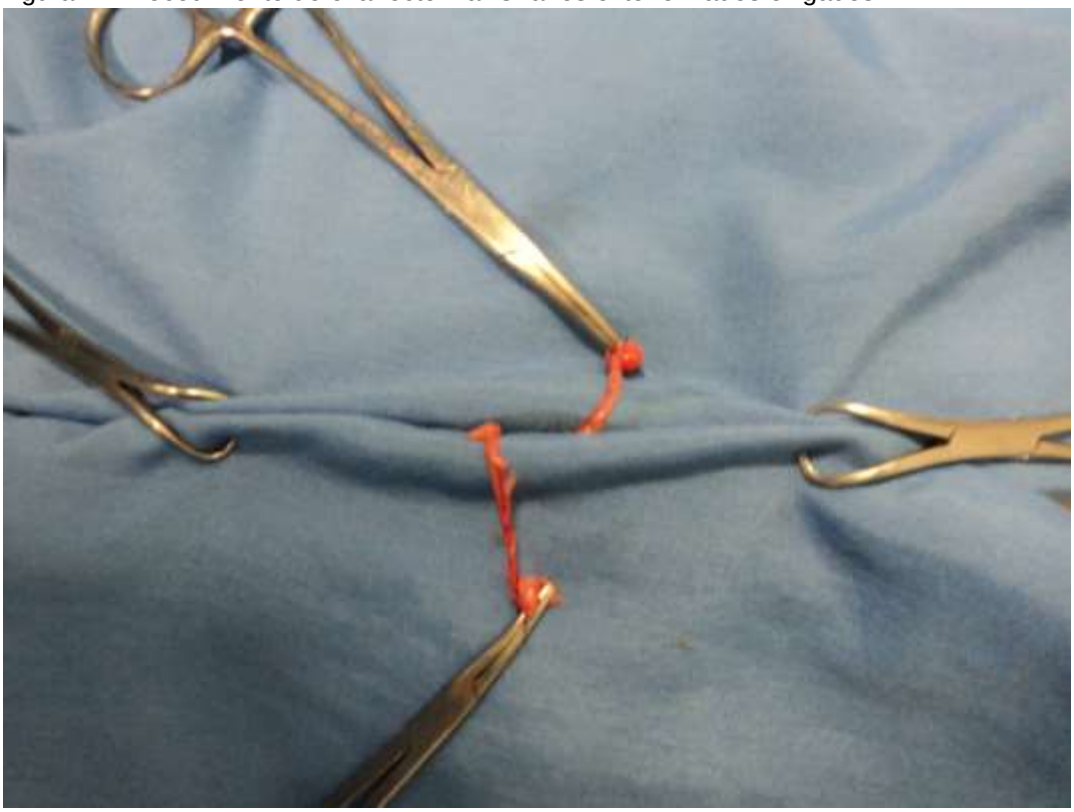
Para podermos estudar o efeito da depleção de hormônios ovarianos, que ocorre na menopausa, independentemente do fator idade, foi realizada a remoção cirúrgica dos ovários de fêmeas SHR adultas jovens (com aproximadamente 13 semanas de idade).

Os animais foram submetidos à anestesia por injeção intraperitoneal (i.p.) de cloridrato de cetamina na dosagem de 40 mg/Kg, associado ao relaxante muscular e analgésico cloridrato de xylazina na dosagem de 10 mg/Kg (DAMY et al., 2010). Os animais foram colocados em decúbito dorsal para que se realizasse uma pequena incisão abdominal (1 cm) na linha mediana do corpo, efetuado na pele, e na musculatura no terço inferior na região abdominal. Os ovários foram localizados pela exposição da gordura periovariana, exteriorizados, ligados e totalmente removidos (KOO, 2002) conforme pode ser observado na figura 1.

Após o procedimento, a incisão foi totalmente fechada; o tecido muscular e, posteriormente, a pele, foram suturados, utilizando fios de algodão 2.0, conforme pode ser observado na figura 2. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos à profilaxia antibiótica e foi administrado i.p., em dose única, cefazolina de 20 mg para cada 100 g de MC (DAMY et al., 2010).

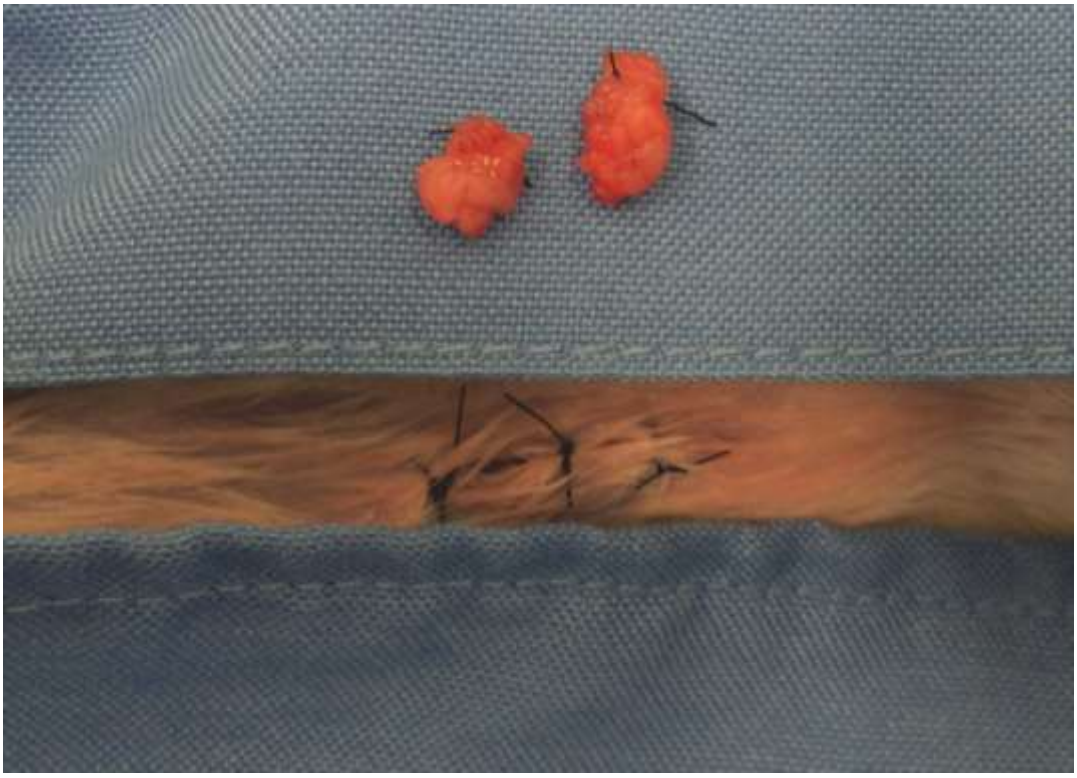
Segundo Koo (2002), após 30 dias de ovariectomia, as concentrações séricas dos hormônios ovarianos reduzem significativamente e o animal está totalmente recuperado da intervenção cirúrgica.

Figura 1 - Procedimento de ovariectomia. Ovários exteriorizados e ligados



Fonte: (VILICEV, 2013)

Figura 2 - Procedimento de ovariectomia. Ovários totalmente removidos e fechamento da incisão



Fonte: (VILICEV, 2013)

4.3 Delineamento experimental

Após a cirurgia de ovariectomia, os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n = 06/grupo) de acordo com o tratamento recebido:

a. Grupo I: Hipertenso Sedentário Controle (CONT) numerado de 01 a 06. Esses animais foram submetidos aos procedimentos relativos à rotina diária do biotério de experimentação durante o período experimental (oito semanas). Além disso, durante esse período, foram diariamente transportados à sala de treinamento, e suas gaiolas posicionadas ao lado da esteira ergométrica no modo operante com objetivo de serem submetidos ao mesmo estresse sonoro que o grupo treinado.
b. Grupo II: Hipertenso Treinado (EXER) numerado de 07 a 12. Esses animais foram submetidos a EF aeróbios, uma hora por dia, cinco vezes por semana, por oito semanas consecutivas em esteira ergométrica (Imbramed TK-01).

c. Grupo III: Hipertenso Sedentário Associado com Suplementação de L-ARG (SED-ARG) numerado de 13 a 18. Esses animais tiveram os mesmos procedimentos realizados com os animais do grupo I (CONT). Além disso, os animais receberam suplementação de L-ARG desde o início do protocolo de EF.
d. Grupo IV: Hipertenso Treinado Associado com Suplementação de L-ARG (EXER-ARG) numerado de 19 a 24. Esses animais foram submetidos a EF aeróbios, uma hora por dia, cinco vezes por semana, por oito semanas consecutivas em esteira ergométrica (Imbramed TK-01). Os animais receberam suplementação de L-ARG desde o início do protocolo de EF.

4.4 Medidas de consumo alimentar

Os animais foram colocados em gaiolas individuais para o controle de consumo alimentar (CA) conforme observado na figura 3.

Figura 3 - SHR utilizadas durante o trabalho. Os animais foram mantidos em gaiolas de acordo com as orientações estabelecidas pela legislação em vigor

Fonte: (VILICEV, 2013)

Eles permaneceram nas gaiolas por 24 horas, onde a quantidade de ração oferecida para cada animal foi entre 60 e 70 g, com água *ad libitum.* A ração foi pesada antes de ser oferecida aos animais (peso inicial) e após 24 horas (peso final). O CA de cada animal foi calculado por meio da diferença entre o peso inicial e o peso final (CA = peso inicial – peso final). Os animais foram submetidos às seguintes medidas de CA: medida basal (CA I), antes do início do treinamento e medida final (CA II), na última semana de treinamento.

4.5 Determinação da massa corporal

O controle da MC foi realizado semanalmente, desde o início do protocolo de EF em todos os grupos e para tanto foi utilizada uma balança de prato (0 a 5 Kg, Filizola) devidamente calibrada.

4.6 Medida da pressão de cauda

Os animais foram submetidos a condicionamento durante cinco dias, quando foram colocados em cilindro de acrílico para contenção, com aberturas ajustadas a cauda e focinho, para evitar possíveis interferências na medida da PA caudal, causadas pelo estresse decorrente da técnica, conforme observado na figura 4.

A PA caudal foi medida sempre pelo método indireto (pletismografia de cauda) em animais acordados, utilizando-se esfigmomanômetro eletrônico programável (*PE – 300, Narco Bio-Systems*) colocado na porção proximal da cauda do animal e transdutor pneumático conectado a sistema de aquisição de dados (*Codas Data Acquisition System*). O animal foi observado para assegurar que os artefatos de movimento não fossem incluídos e que a média aritmética de três medidas consecutivas estáveis fosse considerada como a PA caudal do animal.

As medidas de PA caudal foram feitas nos animais antes de iniciar o protocolo de EF para acompanhar o comportamento da PA nos seguintes casos: com o

sedentarismo; com os EF; com o sedentarismo e a suplementação de L-ARG; com os EF e a suplementação de L-ARG. Durante o protocolo de treinamento as medidas de PA foram realizadas pelo menos 24 horas após as sessões de EF para evitar hipotensão pós-exercício (KULICS; COLLINS; DICARLO, 1999).

Figura 4 - PA caudal medida pelo método indireto (pletismografia de cauda)

Fonte: (VILICEV, 2013)

4.7 Descrição dos exercícios físicos

Os roedores são os principais modelos animais de estudo relacionados com os EF. Esses modelos geralmente visam a estimular respostas a um treinamento com predominância do metabolismo aeróbio, pois esse tipo de exercício está associado a benefícios à saúde em geral (AGUIAR JUNIOR; PINHO, 2007). A corrida obriga o animal a correr em uma velocidade constante, de acordo com as configurações dos EF do experimento em relação ao tempo, a duração e a velocidade (ARIDA et al., 2004).

Após a cirurgia de ovariectomia, os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de EF em esteira ergométrica adaptada para roedores (Master-Inbramed). A esteira ergométrica é constituída de oito raias de acrílico transparente, pintadas em preto, criando um ambiente para o qual os animais são aliciados durante as sessões de EF, conforme observado na figura 5. Essa adaptação facilita os EF com os animais, sem a necessidade do uso de choques elétricos (KOO, 2002). Vale ressaltar que todo o protocolo experimental foi realizado no período ativo dos animais, ou seja, o período noturno, pela inversão do ciclo claro/escuro.

Figura 5 - Animais exercitados na esteira ergométrica de acordo com o protocolo descrito nesta seção

Fonte: (VILICEV, 2013)

Anteriormente ao início dos EF, foi realizado um teste de esforço. Esse teste serviu de base para prescrição dos EF para os grupos treinados e para divisão dos grupos. O teste consistiu em corrida dos animais em esteira ergométrica a 0.3 Km/h por 3 minutos, sendo essa carga incrementada em 0.3 km/h a cada 3 minutos até que o animal alcançasse a exaustão (BROOKS; WHITE, 1978).

O tempo de teste e a velocidade da última carga foram anotados e serviram de base para prescrição dos EF para os grupos treinados, bem como para evidenciar melhora na capacidade de exercício após o período de EF, conforme observado na tabela 1. Esse protocolo de teste de esforço apresenta correlação significativa com a medida do consumo direto de oxigênio em ratos machos, conforme evidenciado por Rodrigues et al. (2006), o que nos confere validade e fidedignidade para prescrição e controle dos EF. Antes da realização do teste de esforço inicial, os animais foram familiarizados em esteira ergométrica (10 minutos a 0.3 Km/h) durante cinco dias.

Tabela 1 - Resumo do protocolo de treinamento

SEMANA	**DURAÇÃO (min)**	**VELOCIDADE (Km/h)**
TESTE DE ESFORÇO INICIAL		
1ª	15 – 25	0.3 – 1.0
2ª	25 – 45	0.3 – 1.2
3ª	45 – 60	0.3 – 1.3
4ª	60	0.3 – 1.3
TESTE DE ESFORÇO INTERMEDIÁRIO		
5ª	60	0.3 – 1.3
6ª	60	0.3 – 1.3
7ª	60	0.3 – 1.3
8ª	60	0.3 – 1.3
TESTE DE ESFORÇO FINAL		

Fonte: (VILICEV, 2013)

4.8 Exercícios físicos e a suplementação de L-Arginina

A suplementação oral de L-ARG associada a um protocolo de EF apresentam efeitos positivos adicionais se comparados com a de L-ARG ou EF isolados. Em estudos realizados com humanos e animais, esses efeitos positivos adicionais se mostraram em relação: ao aumento do efeito vasodilatador endotelial (HAMBRECHT et al., 2000); ao aumento da angiogênese do coração pela expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEFG) (SUZUKI, 2005); à melhora do quadro hipertensivo e a CC (LUCOTTI et al., 2006); a maior capacidade de realização de atividade aeróbia e à produção de NO (MAXWELL et al., 2001); ao aumento de força e de MM (FLAKOLL et al., 2004).

Uma vez que um animal ingere entre 8 – 11 ml de água por 100 g de MC por dia (PASS; FREETH, 1993), o consumo de L-ARG estimado, considerando o peso médio de 200 g de MC e solução a 2% (1 ml = 20 mg de L-ARG), foi de aproximadamente 16 – 22 ml de água contendo de 320 – 440 mg (1600 – 2200 mg/Kg/dia) de L-ARG (DE MOURA et al., 2006).

4.9 Sacrifício dos animais e coleta de amostras

Ao final do período experimental (24 horas após a última sessão de EF) os animais foram submetidos à eutanásia por i.p. de anestésico cloridrato de cetamina, na dosagem de 75 mg/Kg (DAMY et al., 2010).

As tíbias direitas foram coletadas, dissecadas e armazenadas em solução salina 0,9% e, em seguida, congelados. Realizou-se a coleta do coração, do músculo sóleo, do músculo gastrocnêmio (tibial e fibular) e do músculo extensor longo dos dedos (EDL) do lado esquerdo de cada animal. O coração e os músculos removidos foram pesados (peso úmido). Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica de precisão (*Denver Instrument M-220D*). Os fêmures esquerdos foram coletados, dissecados, armazenados em álcool 70%.

4.10 Preparação dos tecidos, métodos de coloração e microscopia de luz

De cada grupo foram utilizados seis animais para procedimentos de microscopia óptica convencional. Após a dissecção e pesagem dos MEE, os ventres musculares do músculo sóleo foram congelados em isopentano e nitrogênio líquido a -196 ºC. Essa metodologia incidiu primeiramente no posicionamento das estruturas musculares em superfície de cortiça e em seguida, à inclusão dos ventres musculares em cola biológica (*KILLIK – EasyPath*) com envolvimento em talco neutro (*Tragacanth - Sigma*®) para se evitar possíveis artefatos de congelamento. As estruturas musculares assim arranjadas foram armazenadas em freezer a -80 ºC (*Thermo Forma: ULT Freezer*) até o momento do processamento desse material. Posteriormente, as estruturas musculares foram fixadas em criostato (LEICA CM 1850) com a câmara mantida a -25 ºC por 30 minutos (para adequação do tecido muscular) e submetido a cortes seriados de 10 µm de espessura, que foram fixados em lâmina de vidro e corados com Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação morfológica dos núcleos e das FM.

Os fêmures esquerdos dos animais foram coletados, seccionados, entre a cabeça do fêmur e o trocanter maior, permitindo assim observar a região do colo do fêmur. Os fragmentos foram colocados em EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), sendo então descalcificados e processados rotineiramente para análise histológica. O material foi incluído em parafina e obtidos quatro cortes de 6 µm de espessura para cada amostra no sentido transversal do osso. Os cortes foram corados com tricomo de Masson. Foram analisadas as características histológicas gerais do osso, das trabéculas ósseas e dos osteócitos quanto à perda óssea.

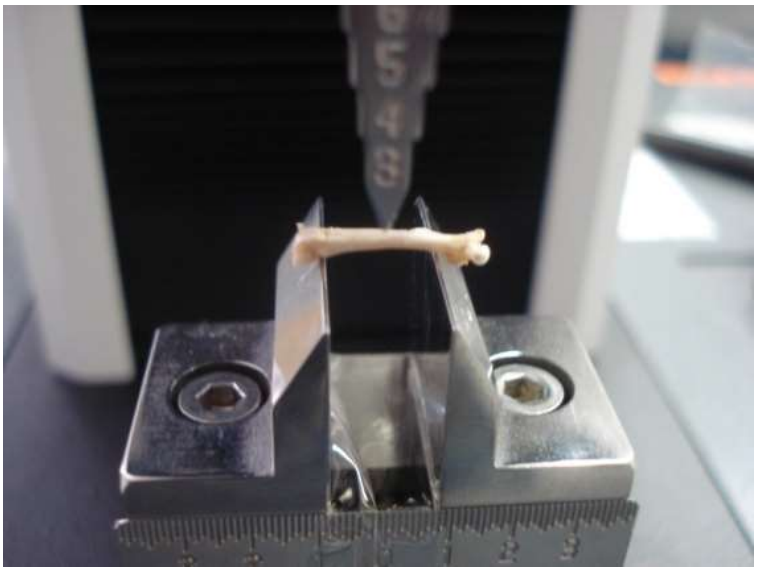
As lâminas coradas foram analisadas em microscópio *NIKON Eclipse E600/NIS-Elements AR* (FAPESP Proc. 07/50015-3), fotografadas e digitalizadas para documentação, análise quantitativa e qualitativa realizada no Laboratório de Biologia Celular e Anatomia Funcional (LBCAF), do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

4.11 Teste biomecânico da tíbia

As tíbias direitas foram dissecadas e mantidas em salina a 20 ºC até o momento das análises. Parâmetros biomecânicos das tíbias foram obtidos pelo Ensaio de Flexão de Três Pontos (EFTP), realizado em um sistema para teste de materiais Instron, modelo 3344 (Instron Corporation, MA, USA). Durante o ensaio, as extremidades das tíbias eram apoiadas em dois roletes, posicionadas sobre um suporte, sendo a distância entre os apoios variados, de acordo com o tamanho dos ossos. Uma força foi aplicada perpendicularmente ao eixo longitudinal do osso no ponto médio entre os dois apoios, no sentido lateromedial na tíbia, por uma haste cilíndrica a uma velocidade constante de 5 cm/min até o momento de ruptura do osso – conforme observado na figura 6.

A força aplicada e o deslocamento da haste cilíndrica foram monitorados e registrados mediante de um software próprio do equipamento (Bluehill lite, versão 2.25). Foram avaliados os seguintes parâmetros biomecânicos: carga máxima (em N), que corresponde à maior força aplicada durante o ensaio, referindo-se à força máxima à qual o osso é capaz de resistir; energia em quebra (J), que corresponde à energia produzida pelo trabalho exercido sobre o osso durante a sua ruptura; Módulo Young (N/mm^2), que corresponde à rigidez óssea.

Figura 6 - Foto do osso no equipamento para a realização do teste de flexão de três pontos



Fonte: (MELO, 2012)

5 RESULTADOS

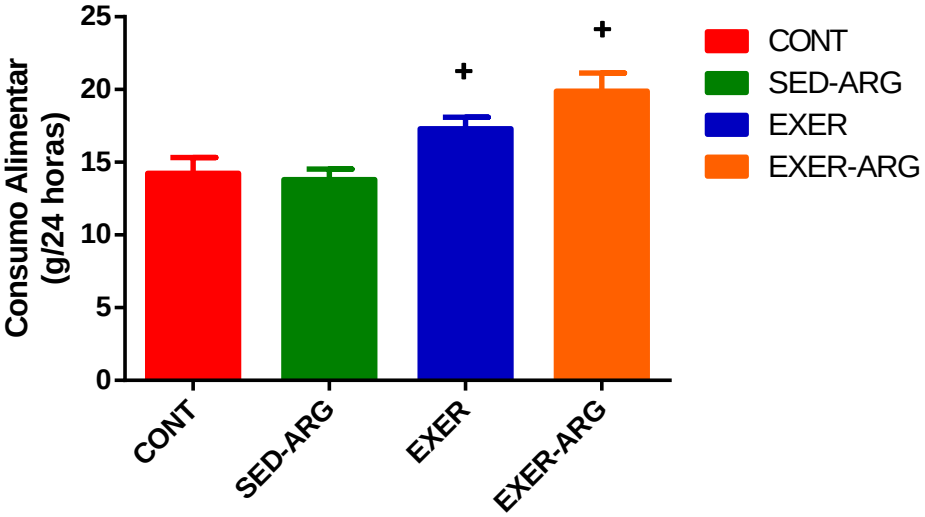
5.1 Parâmetros avaliados durante os EF e/ou a suplementação de L-ARG

Os parâmetros avaliados foram realizados desde o início do protocolo experimental até a última semana do protocolo experimental, nos quatro grupos experimentais.

5.1.1 Efeitos no consumo alimentar

A figura 7 mostra que os EF e a associação da suplementação de L-ARG com os EF promoveram aumento significativo ($p<0.01$) do CA, ao passo que a suplementação de L-ARG isolada não teve efeitos em relação aos animais controle. O CA dos animais EXER foi de 17.31 ± 0,7798 e dos animais EXER-ARG foi de 19,89 ± 1,249; enquanto que dos animais CONT foi de 14.24 ± 1.078 no final do protocolo experimental.

Figura 7 - Efeitos dos EF e da suplementação de L-ARG no CA



Legenda: Ratas ovariectomizadas realizaram protocolo experimental por oito semanas e o CA foi medido no início e no final do protocolo experimental. Cada ponto representa a média e o ± EPM (n = 6 por grupo) da quantidade de ração, expressa em gramas (g), consumida durante 24 horas. $^{+}$ $p<0.01$, CONT vs. EXER e CONT vs. EXERC-ARG por *Student-Newman Keuls test*

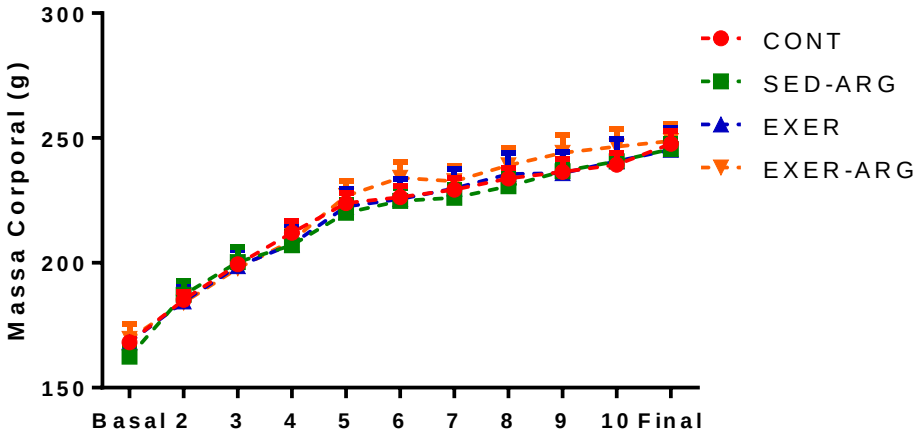
Fonte: (VILICEV, 2013)

5.1.2 Desenvolvimento de massa corporal

O acompanhamento da MC foi efetivado desde o início do protocolo experimental (medida 1 - basal) até a última semana do protocolo experimental (medida 11 - final), nos quatro grupos experimentais. A medida 2 refere-se à MC dos animais dez dias pós-cirurgia de ovariectomia. Os animais dos grupos CONT, SED-ARG, EXER e EXER-ARG apresentaram MC de 185.23 ± 2.952; 187.15 ± 5.389; 184.60 ± 6.324 e 184.09 ± 6.414, respectivamente.

No decorrer das oito semanas de experimento, os animais dos grupos CONT, SED-ARG, EXER e EXER-ARG apresentaram MC final de 247.69 ± 12.63; 245.54 ± 4.025; 245.33 ± 8.659 e 248.76 ± 17.11, respectivamente conforme pode ser observado na figura 8. Tal fato mostra ganho de MC, porém sem aumentos significativos entre os grupos até a medida final.

Figura 8 - Desenvolvimento de MC



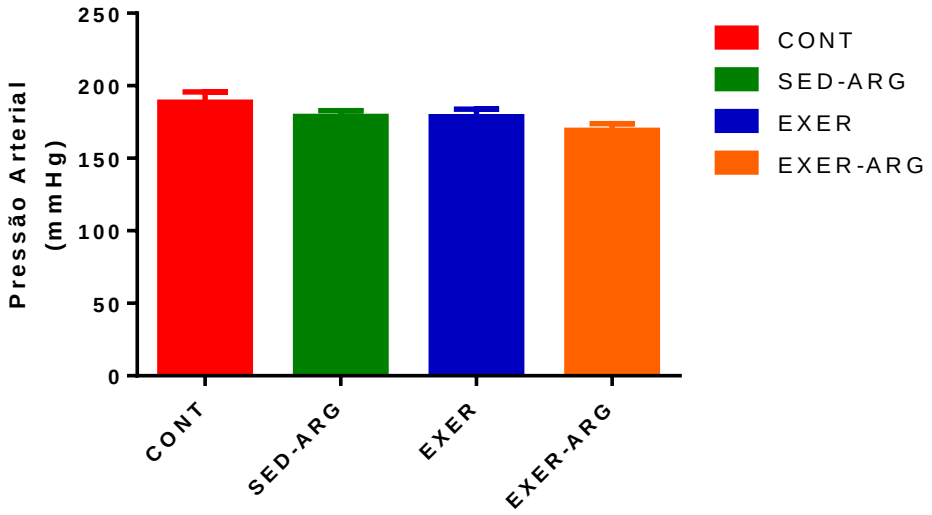
Legenda: Ratas ovariectomizadas realizaram protocolo experimental por oito semanas e a MC foi medida a cada semana. Cada ponto representa a média ± EPM (n = 6 por grupo) da MC (g), por *Student-Newman Keuls test*

Fonte: (VILICEV, 2013)

5.1.3 Avaliação da pressão arterial

Em relação aos parâmetros hemodinâmicos, a PA média foi avaliada no início e no final do protocolo experimental. A PA média praticamente não alterou em função dos EF e/ou a suplementação de L-ARG. Os animais suplementados com L-ARG e exercitados apresentaram PA final de 178.88 ± 3.854 e 178.65 ± 5.287, enquanto que os animais CONT e EXER-ARG apresentaram PA final de 188.73 ± 6.908 e 169.25 ± 4.666 conforme pode ser observado na figura 9. No grupo EXER-ARG observa-se uma discreta queda na PA final, ainda que não significante.

Figura 9 - Avaliação da PA



Legenda: Ratas ovariectomizadas realizaram protocolo experimental por oito semanas e a PA foi medida foi medida no início e no final do protocolo experimental. Cada ponto representa a média e o ± EPM (n = 6 por grupo) da PA (mmHg), por *Student-Newman Keuls test*

Fonte: (VILICEV, 2013)

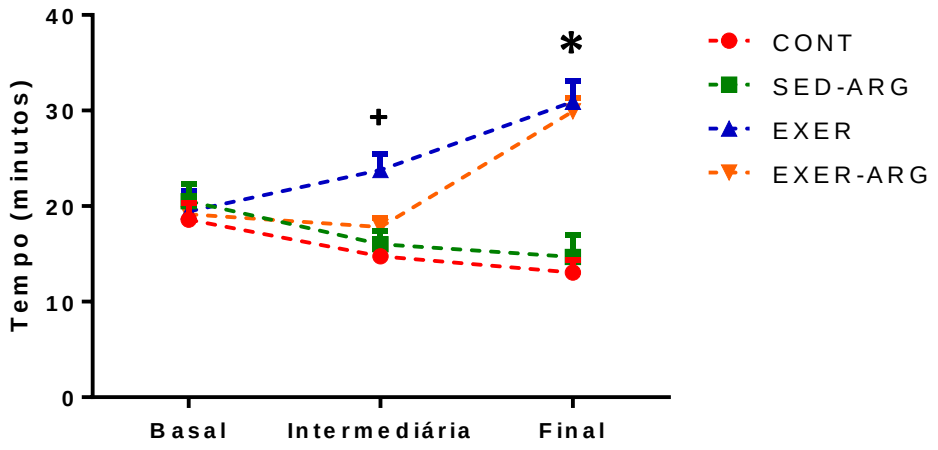
5.1.4 Eficiência dos exercícios físicos

A eficiência dos EF foi analisada por meio do teste de esforço físico máximo em esteira ergométrica, simbolizada como velocidade máxima alcançada durante o

teste. Conforme pode ser observado na figura 10, a medida basal não apresentou diferenças estatísticas significativas.

Os EF de moderada intensidade foram eficientes em elevar a capacidade física do grupo EXER, com aumento significativo ($p<0.01$) da distância máxima alcançada na 4ª semana de EF, quando comparada com aos grupos CONT, SED-ARG e EXER-ARG. Contudo, os EF de moderada intensidade foram eficientes em elevar a capacidade física dos grupos EXER e EXER-ARG, com aumento extremamente significativo ($p<0.001$) da distância máxima alcançada na 8ª semana de EF, quando comparada com os grupos CONT e SED-ARG. Os animais dos grupos EXER e EXER-ARG apresentaram distância máxima alcançada de 30.93 ± 2.111 e 29.91 ± 1.400, respectivamente, enquanto que os grupos CONT e SED-ARG apresentaram distância máxima alcançada de 13.04 ± 1.331 e 14.69 ± 2.298, respectivamente.

Figura 10 - Eficiência dos EF



Legenda: Ratas ovariectomizadas realizaram protocolo experimental por oito semanas e a distância máxima (m) atingida durante o teste de esforço físico máximo efetuado no início, na 4ª semana e na 8ª semana foram avaliados durante o protocolo experimental. Cada ponto representa a média e o ± EPM (n = 6 por grupo) da distância máxima percorrida em (m).$^{+}$ $p<0.01$, EXER vs. CONT, SED-ARG e EXER-ARG; e * $p<0.001$, EXER e EXER-ARG vs. CONT e SED-ARG por *Student-Newman Keuls test*

Fonte: (VILICEV, 2013)

5.2 Parâmetros avaliados após o sacrifício

Os parâmetros avaliados foram realizados após a eutanásia, nos quatro grupos experimentais.

5.2.1 Efeitos na massa muscular esquelética e cardíaca

A tabela 2 mostra que os EF e/ou a suplementação de L-ARG não causou uma redução significativa na massa úmida dos músculos estriados esqueléticos. Como era de se esperar, o tratamento com L-ARG e os EF causou hipertrofia cardíaca, caracterizada pelo aumento da massa úmida do coração.

Tabela 2 - Efeito da L-ARG e dos EF na Massa da Musculatura Esquelética e Cardíaca

MÚSCULO	CONT	SED-ARG	EXER	EXER-ARG
Sóleo				
Massa úmida	0.1963±0.004	0.2082±0,002	0.2271±0.327	0.2283±0.023
Gastrocnêmio				
Massa úmida	0.9707±0.024	1.0170±0.037	1.0023±0.032	1.0021±0.029
EDL				
Massa úmida	0.1050±0.004	0.1047±0.004	0.1018±0.004	0.1026±0.004
Coração				
Massa úmida	1.0763±0.008	1.145±0.028	1.2087±0.020[ab]	1.2135±0.016[ab]

Legenda: Valores são expressos com média ± EPM (n = 6 por grupo)

A significância entre os grupos foi determinada por ANOVA seguida pelo *Student-Newman Keuls test*

[a] $p<0.01$ vs. SED-ARG

[b] $p<0.001$ vs. CONT

Fonte: (VILICEV, 2013)

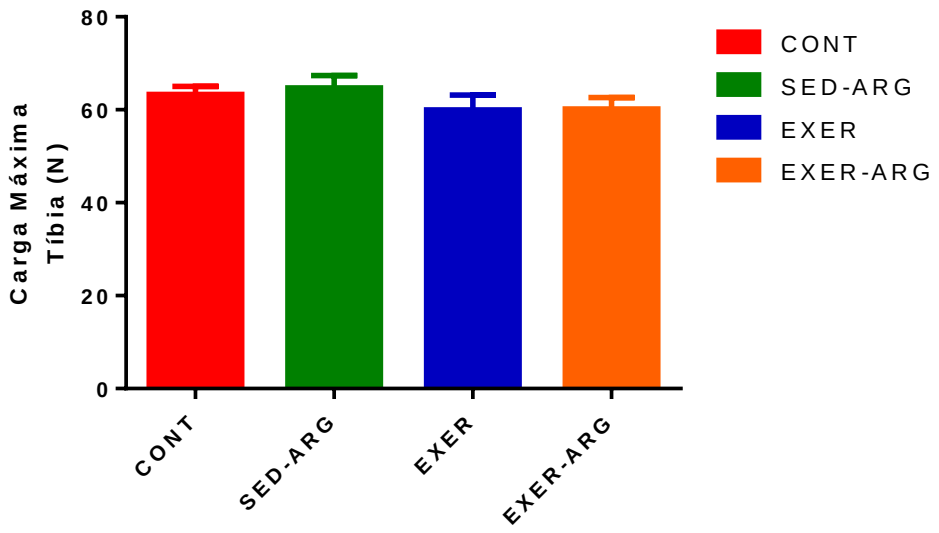
5.2.2 Microscopia de luz dos músculos estriados esqueléticos

A estrutura do músculo sóleo dos animais de todos os grupos foi avaliada por meio de técnicas rotineiras de histologia (HE). As alterações morfológicas observadas nas lâminas coradas com HE, no músculo sóleo das ratas exercitadas e suplementadas com L-ARG são a fibrose intersticial, com algum tempo de evolução e o aparecimento de células de menor diâmetro, provavelmente células em formação, com citoplasma hipercorado, evidenciando atividade mitocondrial intensa. A observação do músculo sóleo das ratas CONT apontou FM de forma poligonal e tamanho mais regular, isto é, com escassa modificação de volume, sem fibrose intersticial e células em mosaico, justapostas, que estabelece o padrão normal das FM, conforme pode ser observado nas figuras 11, 12, 13 e 14 (Apêndices A, B, C e D), respectivamente.

5.2.3 Teste biomecânico da tíbia

Através do teste biomecânico de flexão de três pontos das tíbias direitas, observamos que os tratamentos com os EF e/ou a suplementação de L-ARG não alteraram, significativamente, os parâmetros biomecânicos analisados, conforme apresentado nas figuras 15, 16 e 17.

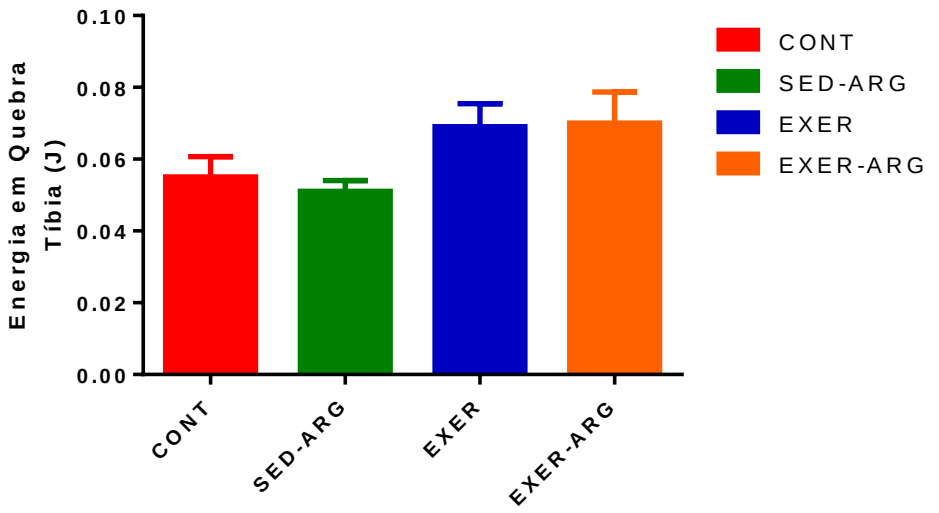
Figura 15 - Parâmetros biomecânicos ósseos dos animais. Carga máxima



Legenda: Tíbias direitas analisadas utilizando-se o teste de flexão de três pontos. Carga máxima na tíbia direita (N). Todos os valores são expressos como média ± EPM (n = 6 por grupo)

Fonte: (VILICEV, 2013)

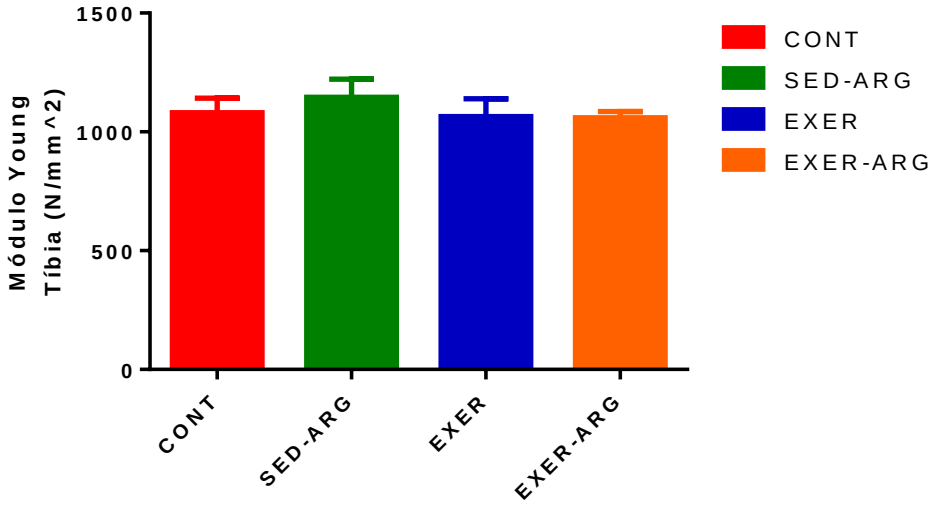
Figura 16 - Parâmetros biomecânicos ósseos dos animais. Energia em quebra



Legenda: Tíbias direitas analisadas utilizando-se o teste de flexão de três pontos. Energia em quebra na tíbia direita (J). Todos os valores são expressos como média ± EPM (n = 6 por grupo)

Fonte: (VILICEV, 2013)

Figura 17 - Parâmetros biomecânicos ósseos dos animais. Módulo Young



Legenda: Tíbias direitas analisadas utilizando-se o teste de flexão de três pontos. Módulo Young de tíbia (N/mm^2). Todos os valores são expressos como média ± EPM (n = 6 por grupo)
Fonte: (VILICEV, 2013)

Os animais dos grupos CONT, SED-ARG, EXER e EXER-ARG apresentaram carga máxima da tíbia direita (N) de 63.300 ± 1.73900; 64.670 ± 2.962; 59.990 ± 3.156 e 60.190 ± 2.446, respectivamente. Em relação à energia em quebra da tíbia direita (J), os valores apresentados dos grupos CONT, SED-ARG, EXER e EXER-ARG foram de 0.055 ± 0.00568; 0.051 ± 0.003; 0.069 ± 0.006 e 0.070 ± 0.008, respectivamente. Já os resultados encontrados no Módulo Young de tíbia (N/mm^2) dos grupos CONT, SED-ARG, EXER e EXER-ARG foram de 1080.37 ± 61.56; 1145.29 ± 76.57; 1063.96 ± 75.46 e 1059.58 ± 26.32, respectivamente.

5.2.4 Microscopia de luz do tecido ósseo

Como esperado, tanto o osso cortical como o osso trabecular foram reduzidos no grupo CONT comparados com os demais grupos após o período experimental, conforme mostra a tabela 3. No grupo CONT nota-se poucos osteócitos e a redução no osso trabecular, conforme observado na figura 18 (Apêndice E). Evidenciou-se

claramente que no grupo EXER-ARG ocorreu um aumento no número de osteócitos e no osso trabecular, conforme observado na figura 19 (Apêndice F). Os efeitos observados no grupo SED-ARG são semelhantes ao grupo EXER-ARG, porém a L-ARG isoladamente agiu melhor que o próprio exercício, conforme observado na figura 20 (Apêndice G). No grupo EXER verifica-se o aumento no número de osteócitos, células hipertróficas e sem divisão celular, conforme observado na figura 21 (Apêndice H). A quantidade de osso trabecular é menor em relação ao grupo EXER-ARG.

Tabela 3 - Efeito da L-ARG e dos EF no Tecido Ósseo

OSSO	**CONT**	**SED-ARG**	**EXER**	**EXER-ARG**
Cortical	307930,6±3655,0	343310,6±9795,5	336471,1±14267,0	338053,48±13786,5
Trabecular	229529,9±7840,0	256599,4±6798,1[a]	248926,6±3318,1[a]	254370,8±6407,2[a]

Legenda: Valores são expressos com média ± EPM (n = 6 por grupo)

A significância entre os grupos foi determinada por ANOVA seguida pelo *Student-Newman Keuls test*

[a] $p<0.05$ vs. CONT

Fonte: (VILICEV, 2013)

6 DISCUSSÃO

A HA caracteriza-se por condições demasiadamente altas de PA e pode consistir em uma elevação da Pressão Arterial Sistólica de 140 mmHg ou acima desses valores, e uma Pressão Arterial Diastólica de 90 mmHg ou acima desses valores. Teixeira; Donatti; Canonici (2009) relataram que a Sociedade Brasileira de Hipertensão propõe que uma elevação da PA com a idade não significa um procedimento biológico normal. Portanto, a prevenção nessa elevação consiste na forma mais competente de lidar com a HA, poupando os estorvos nos seus perigosos efeitos, os altos custos médicos, socioeconômicos do tratamento e de suas dificuldades.

A carência de estrógenos, as modificações do perfil lipídico, o aumento de MC e o sedentarismo são considerados os principais fatores para a maior prevalência de HA em mulheres na menopausa. Na tentativa de diminuir a incidência da HA nessa população, diversas abordagens têm sido aplicadas, mas a maior parte dos trabalhos aponta que, nesse instante, a modificação de estilo de vida parece ser a melhor estratégia para o controle da HA e de seus FR nessa fase de vida da mulher, entre elas a prática regular de EF.

As benfeitorias fisiológicas que a prática regular de EF acarreta são distintas, entre elas estão a redução na incidência de DCNT, como por exemplo, a osteoporose, a diabetes, a depressão, a HA, a DAC e a obesidade. Segundo Maciel (2010), evidências científicas mostraram com nitidez que a participação em programas de EF é uma maneira isolada para diminuir e/ou prevenir um conjunto de perdas funcionais.

Os principais benefícios de uma conduta ativa em mulheres na menopausa podem ser considerados, na esfera biológica, na esfera psicológica e na esfera social. Ressalta-se, entre esses benefícios, a elevação e a conservação da capacidade aeróbia e da MM, a diminuição do percentual de mortalidade total, a redução de triglicerídeos, as mudanças da CC em função da redução da MG e do risco de sarcopenia, a melhoria da auto-estima e da autoconfiança, a redução da ansiedade e do estresse, a melhoria do estado de humor e da qualidade de vida.

O presente estudo investigou o papel dos EF e da suplementação de L- ARG em mediar os efeitos na CC de ratas SHR ovariectomizadas, ou seja, no seu conteúdo corporal. Os efeitos dos EF e da suplementação de L-ARG no CA, na MC, na PA, na eficiência dos EF, na CMO e no componente da MM foram comparados com aqueles dos animais CONT.

6.1 Consumo alimentar

É notável ressaltar que a elevação da preponderância de sobrepeso e de obesidade tem se apontada progressiva, especialmente no sexo feminino. Conforme Lin et al. (2001), essa elevação é ainda maior na perimenopausa, alcançando, aproximadamente, 60% das mulheres, possivelmente em virtude das mudanças metabólicas próprias a esse período. A perimenopausa consiste no processo que encerra a fase reprodutiva feminina, sendo lento e, para a maioria das mulheres estressante.

Segundo Berthoud (2002) há a influência mútua de diversos hormônios, nutrientes (em meio a eles estão as proteínas e os neuropeptídeos), além de neurotransmissores, agindo direta ou indiretamente em territórios cerebrais, afetando de tal maneira o CA, assim como o gasto energético. A carência de estrógenos pode estar conectada à redução de receptores de leptina no hipotálamo, o que levaria a redução da saciedade (KIMURA et al., 2002), ao maior CA e consequente ganho de MC (IGNACIO et al., 2009). Por outro lado, existe também a probabilidade de redução do gasto energético no sexo feminino com a carência de estrógenos, evento que promoveria o ganho de MC (RICHARD, 1987).

As pesquisas a seguir evidenciam que o NO age nos mecanismos relacionados ao CA. Hui e Chan (1995) notaram que os inibidores de eNOS diminuíam o CA e a MC tanto em ratos como nos camundongos, normais e obesos. Já Stricker-Krongrad; Beck; Burlet (1996) usando a L-Name, só apresentaram esses resultados referentes a ratos Zucker obesos, mas não em ratos normais.

É bem estabelecido que, em ratos, a remoção dos hormônios ovarianos pela ovariectomia leva a hiperfagia (KOO, 2002). Nesse estudo verificou-se um aumento significativo ($p<0.01$) do CA nos grupos EXER-ARG e EXER em relação ao grupo CONT. A L-ARG e os EF podem ter originado um aumento de NO aditivo e, consequentemente, notou-se o acréscimo do CA.

6.2 Massa corporal

O excesso de MG e o sedentarismo apresentam grande prevalência entre os FR para as DCV (MARTINS et al., 2010). A prática de EF e a alimentação balanceada auxiliam a diminuir um dos FR mais frequentes que atualmente, a maioria da sociedade confronta, a obesidade, deparada especialmente em mulheres pós-menopausa, ocorrendo de maneira branda e não almejada.

Mulheres na pós-menopausa têm disposição a ganhar MC. Durante essa fase da vida, existe redução nos níveis de EF, induzindo à diminuição do gasto energético, o que ocasiona aumento de MG. Todavia, não se conhece precisamente como a menopausa coopera para a redução do nível de EF (IGNACIO et al., 2009). Portanto, a redução de EF pode ser um considerável fator para o aumento de MC após a menopausa.

O controle de MC está necessariamente unido à regulação do balanço energético, que depende de dois elementos principais: a energia consumida e a energia gasta. Quando a energia consumida é idêntica à que se gasta, a MC persiste estável. Contudo, o gasto energético diminuído, somado a nenhuma alteração ou a elevação da ingestão alimentar, determina um balanço energético positivo, fato que beneficia o aumento da MG. A prevenção e/ou o tratamento da obesidade demanda a diminuição do CA e/ou a elevação do gasto energético.

Desde a década de 1980, considera-se que, em ratas, a ovariectomia precipita o ganho de MC, mais designadamente de tecido adiposo ou de proteínas (RICHARD et al.,1987). Esses animais, além da elevação de MC, manifestaram também maior CA. No estudo de Richard; Rochon; Deshaies (1987) para observar

as prováveis interações entre os EF e o estrógeno no balanço energético de ratas ovariectomizadas, foi verificado que a ovariectomia eleva o CA e a MC por elevação do conteúdo de proteína na carcaça. Para esses autores, é presumível que o aumento de MC se deva à elevação do CA, já que a termogênese no tecido adiposo marrom nas ratas, tratadas ou não com estrógenos, não se modificou após os EF.

Latour; Shinoda; Lavoie (2001) mostraram que os EF em esteira rolante durante oito semanas não diminuiu o ganho de MC ou o CA de ratas ovariectomizadas e intactas tratadas ou não com estrógenos, mas isso não denota que a CC não tenha sido modificada com os EF. Já no estudo de Melton et al. (2000), os EF de natação em ratas ovariectomizadas, durante oito semanas, evitou o ganho de MC após a ovariectomia, apesar da elevação do CA.

As indicações gerais como a MC, podem fornecer algumas explicações acerca do acompanhamento do protocolo experimental, e eventuais complicações, como por exemplo, o *overtraining*. O desajuste da atividade física, seja pela intensidade, duração e/ou frequência, poderia resultar em comprometimentos em diversos níveis orgânicos, como por exemplo, na MC dos animais. No entanto, a similaridade dos valores MC do grupo EXER, do grupo SED-ARG, do grupo EXER-ARG em relação ao grupo CONT recomenda que os EF não afetaram o desenvolvimento dos animais estudados.

Por outro lado, a elevação da MM (ganho de MM) e da MG leva a um aumento da MC. A perda da função ovariana ou a ovariectomia (mimetizada com as ratas deste estudo) causa, em virtude da menopausa, uma diminuição na concentração de estrógenos, os quais são revertidos pela reposição hormonal (MAYES; WATSON, 2004). A perda sistêmica de estrógenos está agregada ao aumento da MG e, por conseguinte, da incidência de DCV tanto em humanos (TCHERNOF et al., 2004) quanto em camundongo.

Além disso, a ovariectomia gera uma diminuição de MM, do CMO e um aumento da gordura abdominal (PEIXOTO et al., 2006). Contudo, o presente estudo nota-se que não houve nenhuma alteração significativa de MC em todos os grupos de ratas ovariectomizadas.

Analisando as curvas referentes à MC, o grupo CONT proporcionou aumento de MC compatível com a de um animal jovem em crescimento normal. Entretanto, as curvas referentes às massas corporais das ratas dos demais grupos estudados mostram um maior ganho de MC em relação ao tempo. Esse fato não foi observado por Sanches (2007).

6.3 Pressão arterial

Os estrógenos que têm receptores no endotélio vascular aumentam a liberação do NO, bem como, eleva a sua biodisponibilidade para as células musculares lisas (TOSTES et al., 2003). Experimentos usando ratas SHR mencionaram que a ovariectomia exacerbava a HA, e que a reposição de estrógenos determinava o retorno a valores de PA idênticos aos valores dos animais controle não ovariectomizados (DANTAS et al., 1999).

É vasta a literatura sobre o efeito hipotensor da atividade física, sobretudo em indivíduos hipertensos, decorrentes de fatores hemodinâmicos, humorais e neurais (NEGRÃO et al., 2001). Os EF causam diminuição da PA pela redução do DC, decréscimo da FC, além da queda da resistência vascular sistêmica. Há contestação em relação aos fatores humorais envolvidos, porém existe concordância sobre a redução nos níveis da renina plasmática, bem como o aumento na produção de NO (NEGRÃO et al., 2001).

Hambrecht et al. (2000) efetuaram um estudo sobre a correção da disfunção endotelial presente em pacientes com ICC, e concluiu que a suplementação de L-ARG eleva a disponibilidade do substrato endotelial, enquanto os EF aumentam a expressão e atividade da eNOS, e a associação de ambas as interposições gera os efeitos adicionais em relação à vasodilatação endotélio-dependente.

Nesse experimento, os grupos de ratas ovariectomizadas treinadas ou com suplementação de L-ARG não mostraram queda pressórica em relação ao grupo CONT. Uma explicação para não obter os resultados esperados relaciona-se à técnica indireta da mensuração da PA pela pletismografia de cauda com o

esfigmomanômetro. O temperamento agitado do SHR dificulta a realização da aferição da pressão, de acordo com o ideal preconizado, ou seja, com o relaxamento do animal. O método por canulação poderia demonstrar valores mais fidedignos na avaliação da PA.

6.4 Eficiência dos exercícios físicos

A suplementação oral de L-ARG tem sido relacionada com o aperfeiçoamento do desempenho físico por provável diminuição da fadiga muscular, acompanhada pela vasodilatação gerada pelo NO, resultando na elevação da perfusão muscular e pela redução do consumo de glicose pelos MEE (MCCONEL et al., 2006). Como a administração prolongada de L-ARG eleva a produção de NO, sua suplementação tem sido relacionada à melhora da função contráctil do MEE (SCHRAGE; JOYNER; DINENNO, 2004). A suplementação de L-ARG também pode estar vínculada a um segundo efeito determinante da elevação de força e da MM, além da síntese proteica (FLAKOLL et al., 2004).

A síntese de NO emana de estímulos que podem ser químicos ou físicos. O estímulo físico é produzido pela força que o sangue exerce sobre a parede dos vasos arteriais, denominada *shear stress ou* força de cisalhamento (BOO; JO, 2003), que é exasperada com os EF (KURU et al., 2002).

Já a regeneração das FM, fisiologicamente lesadas pelos EF, leva à hipertrofia do MEE, e é dependente da ativação das células-satélites. O NO é o responsável por interceder à ativação das células-satélites (RENAULT et al., 2000).

Um estudo com ratos Zucker obesos (340 a 400 g) apontou que esses animais, quando submetidos aos EF em esteira rolante, aguentavam correr numa velocidade que era apenas a metade da velocidade que atingiam seus pares selvagens não obesos (175 a 200 g), sugerindo que a capacidade física reduzida pode ser secundária a elevação de MC, mas isso ainda é controverso (ARDÉVOL et al., 1998).

Há dimorfismo sexual em relação aos níveis de EF em roedores (LEVINE; EBERHARDT; JENSEN, 1999), pois as fêmeas são mais enérgicas que os machos

(TROPP; MARKUS, 2001). Uma das preposições para o dimorfismo sexual são os elevados níveis de estrogênio visto nas fêmeas, já que o papel do estrogênio na regulação dos EF pode ser notado por meio de alterações hormonais que seguem o ciclo estral de ratas. Durante a fase do proestro, em que os níveis plasmáticos de estrogênio estão aumentados, existe elevação nos EF em roedores (IGNACIO et al., 2009). Ao contrário, na fase do diestro, quando os níveis de estrogênio estão reduzidos, incide diminuição nos EF dos animais (GENTRY; WADE, 1976).

Por outro lado, o aumento de MC parece regular os EF (IGNACIO et al., 2009). Shimomura et al. (1990) apontaram que não ocorreu alterações no CA de ratas ovariectomizadas que tiveram aumento de MC e redução da atividade, quando comparadas às do grupo controle. Dessa maneira, o aumento de MC poderia ser determinado pela diminuição do gasto energético e pela queda gradual na atividade locomotora de ratas ovariectomizadas. Existem explicações que validam a regulação dos EF pela MC (IGNACIO et al., 2009).

Esses animais, além do aumento de MC, despontaram também maior CA. No estudo de Richard; Rochon; Deshaies (1987), para verificar os evidenciáveis intercâmbios entre os EF e o estrógeno no balanço energético de ratas ovariectomizadas, foi observado que a ovariectomia aumenta o CA e a MC por acréscimo do conteúdo de proteína na carcaça.

Corroborando a literatura, o presente estudo mostrou que os EF de moderada intensidade, executado em esteira ergométrica, incrementaram a resistência das ratas ao treinamento, de tal forma que as mesmas suportavam mais tempo de EF ($p<0.001$). No entanto, não se observou diferença entre os grupos submetidos apenas à L-ARG.

Segundo a literatura (TAKAHASHI, 2006), a ovariectomia reduz a capacidade física. No entanto, neste estudo, os grupos CONT e SED-ARG não apresentaram diferença estatisticamente significante para essa variável. O teste de esforço é um dos exames não invasivos mais utilizados no homem para avaliação das DCV. Além de avaliar a capacidade física, o teste permite verificar uma correlação entre a velocidade atingida e o consumo de oxigênio em ratos (SANCHES, 2007), o qual, por sua vez, é um marcador de prognóstico em cardiopatias (ARMSTRONG, 2005).

6.5 Músculos estriados esqueléticos e músculo estriado cardíaco

A regeneração das FM, fisiologicamente lesadas pelos EF, induz a hipertrofia do músculo e é dependente da ativação das células-satélites (RENAULT et al., 2000). O objetivo é a manutenção e adaptação dos MEE às várias demandas funcionais (SEALE; RUDNICKI, 2000)

O NO é o responsável por interceder a ativação das células-satélites (RENAULT et al., 2000) que se diferenciam e participam na formação de FM maduras (SEALE; RUDNICKI, 2000).

A administração prolongada de L-ARG aumenta a produção de NO (PETTE; STARON, 1997). Assim, pode melhorar a força contrátil por meio de uma maior síntese de proteínas musculares (FLAKOLL et al., 2004) por se tratar de um aminoácido. Além disso, a vasodilatação provocada pelo NO implica a elevação da perfusão muscular e na redução do consumo de glicose pelos MEE (MCCONELL et al., 2006).

Segundo Tapiero et al. (2002) a administração oral da L-ARG gera potente estímulo em relação a secreção de hormônio do crescimento (GH). Os EF também elevam a concentração sérica do GH (CHROMIAK; ANTONIO, 2002), cuja função é provocar o desenvolvimento e a hipertrofia muscular (MCCONELL et al., 2006).

Os EF promovem mudanças nas FM alterando as propriedades funcionais do MEE. Observa-se a alteração da quantidade de FM lentas e de FM rápidas de acordo com a especificidade do EF. De forma geral, os EF provocam modificações nas proteínas musculares e nos tipos de FM, permitindo a transição no sentido lento para rápido, I→IIA→IID→IIB, ou rápido para lento, IIB→IID→IIA→I (PETTE; STARON, 1997). No caso de EF de baixa intensidade e longa duração, há inferência da conversão de FM rápidas em FM lentas (CAMPOS et al., 2002).

Em um estudo de Frandsen; Lopez-Figueroa; Hellsten *hs*(1996) foi evidenciada a presença de eNOS no sarcolema e no sarcoplasma de todas as FM, mas com forte expressão nas FM do tipo I, o que explica o fato de observarmos as alterações apenas no músculo sóleo, no experimento do presente estudo.

Por outro, os músculos gastrocnêmios (tibial e fibular) e EDL apresentam maior quantidade de FM de contração rápida, o que lhes atribui à capacidade de contração vigorosa e rápida, ao passo que o músculo sóleo tem maior quantidade de FM do tipo lenta (maior resistência a fadiga) e, portanto, é mais requisitado em atividades de longa duração (GUYTON; HALL, 2002), como a proposta por este estudo.

Conforme demonstrado nos resultados, comparando o grupo CONT em relação aos outros grupos, não houve um aumento significativo em termos absolutos da massa do músculo sóleo. Além disso, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, em relação a massa úmida dos músculos gastrocnêmios (tibial e fibular) e EDL.

Entretanto, a hipertrofia muscular observada nos cortes histológicos do músculo sóleo deve-se provavelmente ao aumento de NO e do hormônio do crescimento em consequência dos EF e/ou a suplementação de L-ARG, corroborando a literatura.

Além de se avaliar os efeitos dos EF e/ou a suplementação de L-ARG na musculatura estriada esquelética, avaliou-se o efeito desses agentes na musculatura cardíaca. Sabe-se que os EF causam hipertrofia cardíaca, em razão de alterações hemodinâmicas sistêmicas que resultam em elevação do enchimento cardíaco e das modificações na contração ventricular. No presente estudo, observamos um aumento na massa muscular cardíaca dos animais dos grupos EXER-ARG e EXER em relação aos grupos CONT e SED-ARG, o que é compatível com a realização dos EF. Por outro lado, a suplementação de L-ARG isolada foi incapaz de alterar a função e a massa muscular cardíaca.

6.6 Tecido ósseo

A osteoporose no estágio pós-menopausa é uma doença óssea sistêmica associada à deficiência de estrógenos e do envelhecimento, caracterizada por uma

redução da CMO que é responsável pelo aumento no risco de fraturas (WANG et al., 2011).

A ação dos estrógenos sobre a CMO ainda não foi nitidamente esclarecida, porém sabe-se que eles influenciam a diferenciação de células progenitoras hematocitopoiéticas em osteoclastos e compartilha da regulação de citocinas e de fatores locais compreendidos nos mecanismos de remodelação óssea (TENÓRIO et al., 2005).

Os EF, por provocarem estímulo mecânico que induz à osteogênese, têm sido usados em várias modalidades para se conseguir a sustentação ou a elevação da CMO, tanto em pesquisas envolvendo animais, como em humanos, sendo considerados estratégia para diminuir o risco de osteoporose (HART et al., 2001).

A densidade de osteócitos sofre interferências de mudanças na diferenciação final de células da linhagem osteoblástica, podendo estar aumentada na osteoporose, ou quando a mineralização da matriz óssea está danificada (POWER et al., 2002). Os osteócitos apresentariam o papel de regular o recrutamento de unidades básicas de modelação em resposta a estímulo mecânico, modulando a diferenciação de osteoblastos em osteócitos e elevando a produção de fatores locais. Mullender et al. (1996) observaram maior densidade de osteócitos e maior densidade e menor área de lacunas osteocitárias em pacientes com osteoporose, indicando que, nessa patologia, os osteócitos geram menor volume ósseo e advém diminuição na vida média dos osteoblastos. Além disso, o tamanho dos osteócitos é proporcional ao tamanho dos osteoblastos dos quais eles se diferenciaram (MAROTTI, 2000).

As investigações presentes neste estudo analisaram os efeitos da L-ARG e dos EF na qualidade óssea em animais ovariectomizados, os quais têm sido vastamente utilizados para investigar a deficiência de estrógenos associada a osteoporose. Houve um período de espera de 30 dias após a ovariectomia para permitir o desenvolvimento das alterações de osteopenia, e depois os tratamentos de intervenção foram dados durante oito semanas para testar os efeitos sobre a perda óssea.

Pode-se argumentar que a L-ARG não é somente uma fonte de síntese de NO, porém apresenta muitas outras funções biológicas (BAECKER et al., 2005). Wimalawansa et al. (2000) relataram ao analisar a aplicação transdérmica de nitroglicerina associada ao NO, uma vez por dia, preveniu a perda óssea induzida por ovariectomia, porém duas ou três vezes ao dia foram impotentes esclarecida pelo desenvolvimento de resistência a nitroglicerina.

As modificações histológicas que foram notadas no fêmur das ratas do grupo CONT são similares àquelas descritas para a osteoporose. O dano da microarquitetura óssea nesse grupo, após o período experimental, é caracterizado pela perda de conectividade do osso trabecular; essa perda pode ser esclarecida pelo próprio mecanismo de remodelação óssea, o qual é desequilibrado pela deficiência de estrógenos, induzindo assim, a diminuição na formação óssea ou elevação na reabsorção óssea. É possível sugerir que não ocorra a divisão celular devido a ausência de sinalização da L-ARG ou do próprio estrógeno. Wimalawansa (2000) propõe que os efeitos dos estrógenos no metabolismo ósseo pode ser, pelo menos em parte, dependente de NO.

PATLAS et al. (2000) avaliaram o efeito da ovariectomia na diáfise, na metáfise e na epífise óssea de ratas, notando a redução do osso trabecular somente na região da metáfise. Concluíram que a ovariectomia desempenha alterações significativas no osso trabecular de ossos longos, sobretudo nas extremidades e, em menor representação, na região média.

Sabe-se que a redução óssea na menopausa, em virtude das alterações de estrógenos, conduz a um prejuízo entre o osso cortical e o osso trabecular. Dessa maneira, a quantidade e a qualidade do osso trabecular podem ser considerados fatores preditivos para fraturas decorrentes da osteoporose (PALACIO et al., 2010).

Há que se defender a afirmação dos autores, mas essa diminuição da porosidade no grupo CONT não revelou prejuízos nas propriedades mecânicas do osso, sugerindo que o tratamento com L-ARG e/ou EF não acarreta melhorias das propriedades mecânicas. Tanto a L-ARG e/ou EF são incapazes de proteger totalmente contra esses efeitos.

SARDONE et al. (2011) estudaram a influência do alendronato e da rosiglitazone nas vértebras de ratas ovariectomizadas. Os resultados dos testes mecânicos sugeriram diminuição na força das vértebras. O tratamento com rosiglitazone procedeu em alterações negativas de carga máxima, de tensão máxima e de energia nesses animais. Indicam que o rosiglitazone pode causar uma resistência reduzida e fragilidade elevada no osso trabecular, resultando em aumentos da susceptibilidade a fraturas. Entretanto, no tratamento com alendronato apontam a manutenção do osso cortical e do osso trabecular, indicando que o alendronato pode prevenir a perda de CMO quando associado ao rosiglitazone.

Nos estudos de Santos (2004), essa maior fragilidade dos ossos de ratas ovariectomizadas tratadas com glicocorticoides também ficou evidente quanto à efetivação dos testes biomecânicos sobre rigidez e flexão, indicando que a somatória dos resultados desse tratamento desempenhou ação negativa sobre a fragilidade óssea e, por conseguinte, diminuição na resistência à fratura por flexão.

Em resumo, os resultados deste estudo indicam que a suplementação de L-ARG e/ou os EF não são efetivos para a diminuição da reabsorção do osso ou a formação óssea crescente de mulheres pós-menopausa. Outros estudos denotam que a L-ARG apresenta uma eficácia positiva no metabolismo ósseo por síntese de colágeno, induzindo osteoblastos (CHEVALLEY et al., 1998) e a elevação do CMO em animais (FIORE et al., 2000). Mais estudos são imprescindíveis para se harmonizar fatores contrários à suplementação de L-ARG e/ou aos EF observados neste estudo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho podemos concluir que:

1. Esses dados indicam que os EF e a suplementação de L-ARG representam um caminho para a continuidade terapêutica na prevenção e no tratamento de patologias ósseas.
2. Os EF e a suplementação de L-ARG tiveram impacto sobre o CA, porém os EF associados à suplementação de L-ARG não influíram na MC dos animais.
3. Os resultados mostraram que os EF e/ou a suplementação de L-ARG efetuada por meio de esteira ergométrica alteraram histologicamente as fibras musculares do sóleo, as quais foram dependentes do tempo do protocolo experimental.
4. Exercícios aeróbios de moderada intensidade e/ou a suplementação de L-ARG devem ser utilizados com cautela no tratamento não farmacológico na PA.

REFERÊNCIAS

AGUIAR JUNIOR, A. S.; PINHO, R. A. Efeitos do exercício físico sobre o estado redox cerebral. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 5, p. 355-360, 2007.

ALEXANDER, N; TIBBS, W. J.; DRURY, D. R. Cold-pressor responses in families of rabbits with spontaneous hypertension. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 95, n. 2, p. 356-359, 1957.

ANDERSEN, J. L. Muscle fiber type adaptation in the elderly human muscle. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 13, n. 1, p. 40-47, 2003.

ARAÚJO, S. S.; OLIVEIRA, A. C. C. Aptidão física em escolares de Aracaju. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 10, n. 3, p. 271-276, 2008.

ARIDA, R. M.; SCORZA, C. A.; DA SILVA, A. V.; SCORZA, F. A.; CAVALHEIRO, E. A. Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. **Neuroscience Letters**, v. 364, n. 3, p. 135-138, 2004.

ARMSTRONG, L. E. **ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription.** Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

ARDÉVOL, A.; ADÁN, C.; REMESAR, X.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; ALEMANY, M. Hind leg heat balance in obese Zucker rats during exercise. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, v. 435, n. 4, p. 454-464, 1998.

BAECKER, N.; BOESE, A.; SCHOENAU, E.; GERZER, R.; HEER, M. L-Arginine, the natural precursor of NO, is not effective for preventing bone loss in postmenopausal women. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 20, n. 3, p. 471-479, 2005.

BERBEL, A. M.; DE CARVALHO, D. A.; DE SOUZA, V. F. Osteoporose nas UBSs: conhecimento e prevenção na visão dos coordenadores da Subprefeitura de Pirituba/SP. **Conscientiae Saúde**, v. 8, n. 1, p. 111-122, 2009.

BERTHOUD, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. Neuroscience and biobehavioral reviews. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 4, p. 393-428, 2002.

BOO, Y. C.; JO, H. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases. **American Journal of Physiology Cell Physiology**, v. 285, n. 3, p. C499-C508, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes e recomendações para o cuidado integral de doenças crônicas não transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BROOKE, M. H.; KAISER, K. K. Muscle fiber types: how many and what kind? **Archives of Neurology**, v. 23, n. 4, p. 369-379, 1970.

BROOKS, G. A.; WHITE, T. P. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. **Journal of Applied Physiology: respiratory, environmental and exercise physiology**, v. 45, n. 6, p. 1009-1015, 1978.

BUCCI, M.; VINAGRE, E. C.; CAMPOS, G. E. R.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n. 1, p.17-28, 2005.

CAMPOS, G. E.; LUECKE, T. J.; WENDELN, H. K.; TOMA, K.; HAGERMAN, F. C.; MURRAY, T. F.; RAGG, K. E.; RATAMESS, N. A.; KRAEMER, W. J.; STARON, R. S. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **European Journal of Applied Physiology**, v. 88, n. 1-2, p. 50-60, 2002.

CHEVALLEY, T.; RIZZOLI, R.; MANEN, D.; CAVERZACIO, J.; BONJOUR, J. P. Arginine increases insulin-like growth factor-I production and collagen synthesis in osteoblast-like cells. **Bone**, v. 23, n. 2, p. 103-109, 1998.

CHROMIAK J. A.; ANTONIO J. Use of amino acids as growth hormone-releasing agents by athletes. **Nutrition**, v. 18, n. 7-8, p. 657-661, 2002.

COELHO, C. F.; BURINI, R. C. Atividade física para prevenção e tratamento das doenças crônicas não transmissíveis e da incapacidade funcional. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 6, p. 937-946, 2009.

CORNELISSEN, V. A.; FAGARD, R. H. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 667-675, 2005.

COYLEWRIGHT, M.; RECKELHOFF, J. F.; OUYANG, P. Menopause and hypertension: an age-old debate. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 952-9, 2008.

DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; DE FIGUEIREDO, L. F. P. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 1, p. 103-111, 2010.

DANTAS, A. P.; SCIVOLETTO, R.; FORTES, Z. B.; NIGRO, D.; CARVALHO, M. H. Influence of female sex hormones on endothelium-derived vasoconstrictor prostanoid generation in microvessels of spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 34, n. 4, p. 914-919, 1999.

DE MOURA J. R.; SASS, N.; GUIMARÃES, S. B.; VASCONCELOS, P. R.; MATTAR, R.; KULAY, L. JR. Effects of L-Arginine oral supplements in pregnant spontaneously hypertensive rats**. Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 192-196, 2006.

DE SIMONE, G.; DEVEREUX, R. B.; CHINALI, M.; ROMAN, M. J.; BEST, L. G.; WELTY, T. K.; LEE, E. T.; HOWARD, B. V. Risk factors for arterial hypertension in adults with initial optimal blood pressure: the strong heart study. **Hypertension**, v. 47, n. 2, p. 162-167, 2006.

DEGASPARI, S. **Influência da desnervação cirúrgica nos diferentes tipos de fibras musculares, morfologia da célula satélite e microvascularização do músculo sóleo de ratos Wistar.** 2003. 70 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

DESCHENES, M. R.; MARESH, C. M.; KRAEMER, W. J. The neuromuscular junction: structure, function and its role in the excitation of muscle. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 8, p. 103-109, 1994.

DÓREA, E. L.; LOTUFO, P. A. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica. **Hipertensão**, v. 7, n. 3, p. 86-89, 2004.

DUARTE, Y. **Envelhecimento, funcionalidade e arranjos domiciliares na América Latina e Caribe.** 2005. 123 p. Tese (Livre-docência) - Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

ELAVSKY, S.; MCAULEY, E. Personality, menopausal symptoms, and physical activity outcomes in middle-aged women. **Personality and individual differences**, v. 46, n. 2, p. 123-128, 2009.

ENGLISH, A. W.; EASON, J.; SCHWARTZ, G.; SHIRLEY, A.; CARRASCO, D. I. Sexual dimorphism in the rabbit masseter muscle: myosin heavy chain composition of neuromuscular compartments. **Cells Tissues Organs**, v. 164, n. 4, p. 179-191, 1999.

ESHRE Capri Workshop Group. Hormones and cardiovascular health in women. **Human Reproduction Update**, v. 12, n. 5, p. 483-497, 2006.

FAGARD, R. H. Physical activity, physical fitness and the incidence of hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 23, n. 2, p. 265-267, 2005.

FERREIRA, M. T. O papel da atividade física na composição corporal de idosos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 43-52, 2003.

FIORE, C. E.; PENNISI, P.; CUTULI, V. M.; PRATO, A.; MESSINA, R.; CLEMENTI, G. L-arginine prevents bone loss and bone collagen breakdown in cyclosporin A-treated rats. **European Journal Pharmacology**, v. 408, n. 3, p. 323-326, 2000.

FLAKOLL, P.; SHARP, R.; BAIER, S.; LEVENHAGEN, D.; CARR, C.; NISSEN, S. Effect of beta-hydroxy-methylbutyrate, arginine, and lysine supplementation on strength, functionality, body composition, and protein metabolism in elderly women. **Nutrition**, v. 20, n. 5, p. 445-451, 2004.

FRANDSEN, U.; LOPEZ-FIGUEROA, M.; HELLSTEN, Y. Localization of nitric oxide synthase in human skeletal muscle. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 227, n. 1, p. 88-93, 1996.

FRANKLIN, S. S.; PIO, J. R.; WONG, N. D.; LARSON, M. G.; LEIP, E. P.; VASAN, R. S.; LEVY, D. Predictors of new-onset diastolic and systolic hypertension: the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 111, n. 9, p. 1121-1127, 2005.

FUCHS S. C.; PETTER, J. G.; ACCORDI, M. C.; ZEN, V. L.; PIZZOL-JR, A. D.; MOREIRA, L. B.; FUCHS, F. D. Establishing the prevalence of hypertension. Influence of sampling criteria. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 76, n. 6, p. 449-452, 2001.

FUCHS, F. D.; MOREIRA, D. M.; RIBEIRO, J. P. Eficácia anti-hipertensiva do condicionamento físico aeróbio. Uma análise crítica das evidências experimentais. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia,** v. 61, n. 3, p. 187-190, 1993.

GENTRY, R. T.; WADE, G. N. Sex differences in sensitivity of food intake, body weight, and running-wheel activity to ovarian steroids in rats. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 90, n. 8, p. 747-754, 1976.

GONÇALVES, S.; HARDT, J. R.; SILVA, A. S. S.; HASS, P. Hipertensão arterial e a importância da atividade física. **Estudos de Biologia**, v. 67, n. 29, p. 205-213, 2007.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CALHOUN, D. A.; MANCIA, G. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in human. **Hypertension**, v. 23, n. 3, p. 294-301, 1994

GROLLMAN, A.; GROLLMAN, E. F. The teratogenic induction of hypertension. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 41, n. 4, p. 710-714, 1962.

GUEDES, D. P. **Controle do peso corporal: composição corporal, atividade física e nutrição.** 2. ed. Rio de Janeiro: Shape, 2003.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HAGBERG, J. M.; PARK, J. J.; BROWN, M. D. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. **Sports Medicine**, v. 30, n. 3, p. 193-206, 2000.

HAMBRECHT, R.; HILBRICH, L.; ERBS, S.; GIELSEN, S.; FIEHN, E.; SCHOENE, N.; SCHULER, G. Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: additional effects of exercise training and oral L-Arginine supplementation. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 35, n. 3, p. 706-713, 2000.

HART, K. J.; SHAW, J. M.; VAJDA, E.; HEGSTED, M.; MILLER, S. C. Swim–trained rats have greater bone mass, density, strenght, and dynamics. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 4, p. 1663-1668, 2001.

HAWKE, T. J.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 2, p. 534-551, 2001.

HEANEY, R. P. Calcium needs of the elderly to reduce fracture risk. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 192S-197S, 2001.

HUI, S. C.; CHAN, T .Y. Mechanisms mediating NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypophagia in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 283, n. 1-3, p. 141-150, 1995.

IGNACIO, D. L.; FRANKEFELD, T. G. P.; FORTUNATO, R. S.; VAISMAN, M.; WERNECK-DE-CASTRO, J. P. S.; CARVALHO, D. P. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 53, n. 3, p. 310-317, 2009.

KELEMEN, L. E.; ATKINSON, J. E.; DE ANDRADE, M.; PANKRATZ, V. S.; CUNNINGHAM, J. M.; WANG, A.; HILKER, C. A.; COUCH, F. J.; SELLERS, T. A.; VACHON, C. M. Linkage analysis of obesity phenotypes in pre-and post-menopausal women from a United States mid-western population. **Medical Genetics**, v. 11, p. 156-164, 2010.

KIMURA M.; IRAHARA, M.; YASUI, T.; SAITO, S.; TEZUKA, M.; YAMANO, S.; KAMADA, M.; AONO, T. The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. **Biochemical Biophysical Research Communications**, v. 290, n. 4, p. 1349-1353, 2002.

KINGWELL, B. A. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. **The FASEB Journal**, v. 14, n. 12, p. 1685-1696, 2000.

KOO, E. N. **Treinamento físico e ovariectomia em ratas espontaneamente hipertensas: respostas hemodinâmicas, metabólicas e morfométricas.** 2002. 95 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

KULICS, J. M.; COLLINS, H. L.; DICARLO, S. E. Postexercise hypotension is mediated by reductions in sympathetic nerve activity. **The American Journal of Physiology**, v. 276, n. 1, p. H27-H32, 1999.

KURU, O.; SENTüRK, U. K.; DEMIR, N.; YESILKAYA, A.; ERQüLER, G.; ERKILIC, M. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. **European Journal of Applied Physiology**, v. 87, n. 2, p. 134-140, 2002.

LATOUR, M. G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J. M. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 1, p. 235-241, 2001.

LEHNINGER, A. **Princípios da bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LESNIAK, K. T.; DUBBERT, P. M. Exercise and hypertension. **Current Opinion in Cardiology**, v. 16, n. 6, p. 356-359, 2001.

LESSA, I.; ARAÚJO, M. J.; MAGALHÃES, L.; ALMEIDA FILHO, N.; AQUINO, E.; COSTA, M. C. R. Clustering of modifiable cardiovascular risk factors in adults living in Salvador (BA). **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 16, n. 2, p. 131-137, 2004.

LEVINE, J. A.; EBERHARDT, N. L.; JENSEN, M. D. Role of nonexercise activity thermogenesis in resistance to fat gain in humans. **Science**, v. 283, n. 5399, p. 212-214, 1999.

LIN, T. Y.; TEIXEIRA, M. J.; ROMANO, M. A.; GREVE, J. M. A.; KAZAYAMA, H, H, S. Avaliação funcional do doente com dor crônica. **Revista de Medicina***,* v. 80, n. 2, p. 443-473, 2001.

LUBIANCA, J. N.; VALLE, F. H.; FUCHS, F. D. Menopausa e hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 15, n. 4, p. 222-224, 2008.

LUCOTTI, P.; SETOLA, E,; MONTI, L. D.; GALLUCCIO, E.; COSTA, S.; SANDOLI, E. P.; FERMO, I.; RABAIOTTI, G.; GATTI, R.; PIATTI, P. Beneficial effects of a long-term oral L-Arginine treatment added to a hypocaloric diet and exercise training program in obese, insulin-resistant type 2 diabetic patients**. American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 291, n. 5, p. E906-E912, 2006.

MACIEL, M. G. Atividade física e funcionalidade do idoso*.* **Motriz***,* v. 16 n .4, p. 1024 -1032, 2010.

MAGALHÃES, F. C.; BARRETTI, D.; HASHIMOTO, N.; MELO, S. F. S.; ROQUE, F. R.; DE OLIVEIRA, E. M. Hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento físico: eventos moleculares e celulares que modificam o fenótipo. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 7, n. 1, p.189-193, 2008.

MALTA, D. C.; CEZÁRIO, A. C.; MOURA, L.; MORAIS NETO, O. L.; DA SILVA JUNIOR, J. B. Construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do Sistema Único de Saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 15, n. 3, p. 47-65, 2006.

MAROTTI, G. The osteocyte as a wiring transmission system. **Journal of Musculoskeletal & Neuron Interact**, v. 1, n. 2, p. 133-136, 2000.

MARTINS, M. C. C.; RICARTE, I. F.; ROCHA, C. H. L.; MAIA, R. B.; DA SILVA, V. B.; VERAS, A. B.; DE SOUZA FILHO, M. D. Pressão Arterial, Excesso de Peso e Nível de Atividade Física em Estudantes de Universidade Pública. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 2, p. 192-199, 2010.

MAXWELL, A. J.; HO, H. V.; LE, C. Q.; BERNSTEIN, D.; COOKE, J. P. L-Arginine enhances aerobic exercise capacity in association with augmented nitric oxide production. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 3, p. 933-938, 2001.

MAYES, J. S.; WATSON, G. H. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. **Obesity Reviews**, v. 5, n. 4, p. 197-216, 2004.

MELTON, S. A.; HEGSTED, M.; KEENAN, M. J.; ZHANG, Y.; MORRIS, S.; POTTER BULLOT, L.; O'NEIL, C. E.; MORRIS, G. S. Swimming eliminates the weight gain and abdominal fat associated with ovariectomy in the retired breeder rat despite high-fat diet selection. **Appetite**. v. 35, n. 1, p. 1-7, 2000.

MCCONELL, G. K.; HUYNHN, N. N.; LEE-YOUNG, R. S.; CANNY, B. J.; WADLEY, G. D. L-Arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 290, n. 1, p. E60-E66, 2006.

MONCADA, S. Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 811, p. 60-69, 1997.

MONCADA, S.; PALMER, R. M.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 43, n. 2, p. 109-142, 1991.

MONEMI, M.; KADI, F.; LIU, J. X.; THORNELL, L. E., ERIKSSON, P. O. Adverse chances in fiber type and myosin heavy chain compositions of human jaw muscle vs. limb muscle during ageing. **Acta Physiological Scandinavia**, v. 167, n. 4, p. 339-345, 1999.

MULLENDER, M. G.; VAN DER MEER, D. D.; HUISKES, R.; LIPS, P. Osteocyte density changes in aging and osteoporosis. **Bone**, v. 18, n. 2, p. 109-113, 1996.

MYERS, J.; PRAKASH, M.; FROELICHER, V.; DO, D.; PARTINGTON, S.; ATWOOD, J. E. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 11, p. 793-801, 2002**.**

NAVEGA, T. V.; OISHI, J. Comparação da qualidade de vida relacionada à saúde entre mulheres na pós-menopausa praticantes de atividade física com e sem osteoporose. **Revista Brasileira de Reumatologia,** v. 47, n. 4, p. 258-264, 2007.

NEGRÃO, C. E.; RONDON, M. U. P. B.; KUNIVOSH, F .H. S.; LIMA, E. G. Aspectos do treinamento físico na prevenção da hipertensão arterial. **Revista Hipertensão**, v. 3, n. 4, p. 98-101, 2001.

NETER, J. E.; STAM, B. E.; KOK, F. J.; GROBBEE, D. E.; GELEIJNSE, J. M. Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Hypertension**, v. 42, n. 5, p. 878-884, 2003.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, p. 282-293, 1963.

Organização Mundial da Saúde. **Prevenção de doenças crônicas:** um investimento vital. Genebra: OMS, 2005.

PALACIO, E. P.; JACOB, E. M.; CAMPI, T. B.; MüLLER, S. S. O zoledronato no tratamento da osteoporose umeral em ratas. Estudo prospectivo e randomizado. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 90-95, 2010.

PASS, D.; FREETH, G. The rat. **Anzccart News**, v. 6, n. 4, p. 1-4, 1993.

PARDINI, D. Menopausal hormone therapy. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia & Metabolismo**, v. 51, n. 6, p. 938-942, 2007.

PATLAS, N.; ZARDIK, Y.; YAFFE, P.; SCHWARTZ, Z.; ORNOY, A. Oophorectomy-induced osteopenia in rats in relation to age and time postoophorectomy. **Cells Tissues Organs**, v. 166, n. 3, p. 267-274, 2000.

PAULO, E. M; SANDRI, J. V. A. A atividade física como ação promotora da saúde do idoso. In: TRABALHO APRESENTADO NO III CONGRESSO SUL-BRASILEIRO DE MEDICINA DE FAMÍLIA E COMUNIDADE, 3., Florianópolis, **Cuidado Individual, Familiar e Comunitário**, v. 1, n. 1, p. 31, 2012.

PEIXOTO R. T.; PEIXOTO, E. C,; SENA, M. A.; TEDESCHI, A. L.; BORGES, I. P.; RACHID, M. B. Gender influence on the immediate and medium-term progression after primary percutaneous coronary intervention and analysis of independent risk factors for death or events. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 86, n. 3, p. 211-218, 2006.

PESCATELLO, L. S.; FRANKLIN, B. A.; FAGARD, R.; FARGUHAR, W. B.; KELLEY, G. A.; RAY, C. A. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and Hypertension. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 3, p. 533-553, 2004.

PETTE, D.; STARON, R. S. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. **International Review of Cytology**, v. 170, p. 143-223, 1997.

PETTER, J.; BARNARD, R. J.; EDGERTON, V. R.; GILLESPIE, C. A.; STEMPEL, K. E. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. **Biochemistry**, v. 11, n. 14, p. 2627-2634, 1972.

PHELAN, E. L.; SMIRK, F. H. Cardiac hypertrophy in genetically hypertensive rats. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 80, p. 445-448, 1960.

PHILLIPS, G. B.; JING, T.; HEYMSFIELD, S. B. Does insulin resistance, visceral adiposity, or a sex hormone alteration underlie the metabolic syndrome? Studies in women. **Metabolism**, v. 57, n. 6, p. 838-844, 2008.

POEHLMAN, E. T.; TOTH, M. J.; FISHMAN, P. S.; VAITKEVICIUS, P.; GOTTIEB, S. S.; FISHER, M. L., FONONG, T. Sarcopenia in aging humans: the impact of menopause and disease. **The Journals of Gerontololy. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 50, p. 73-77, 1995.

POWER, J.; LOVERIDGE, N.; RUSHTON, N.; PARKER, M.; REEVE, J. Osteocyte density in aging subjects is enhanced in bone adjacent to remodeling haversian sistems. **Bone**, v. 30, n. 6, p. 859-865. 2002.

RECKELHOFF, J. F.; FORTEPIANI, L. A. Novel mechanisms responsible for postmenopausal hypertension. **Hypertension**, v. 43, n. 5, p. 918-923, 2004.

RENAULT, V.; PIRON-HAMELIN, G.; FORETIER, C.; DIDONNA, S.; DECARY, S.; HENTATI, F.; SAILLANT, G.; BUTLER-BROWNE, G.S.; MOULY, V. Skeletal muscle regeneration and the mitotic clock. **Experimental Gerontology**, v. 35, n. 6-7, p. 711-719, 2000.

RICHARD, D.; ROCHON, L.; DESHAIES, Y. Effects of exercise training on energy balance of ovariectomized rats. **The American Journal of Physiology**, v. 253, n. 5, p. R740-745, 1987.

RIVLIN, R. S. Keeping the young-elderly healthy: is it too late to improve our health through nutrition? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 5, p. 1572S-1576S, 2007.

ROCHA, A. S. Impacto da intervenção motivacional no aumento do nível de atividade física. **Einstein**, v. 8, n. 1 (Pt 1), p. 46-52, 2010.

RODRIGUES, A. N.; PERZ, A. J.; CARLETTI, L.; BISSOLI, N. S.; ABREU, G. R. Valores de consumo máximo de oxigênio determinados pelo teste cardiopulmonar em adolescentes: uma proposta de classificação. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 6, p. 426-430, 2006.

RODRIGUES, N. C.; RAUTH, J. Os desafios do envelhecimento no Brasil. In: FREITAS, E. V. **Tratado de geriatria e gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002.

RONDON, M. U. B.; ALVES, M. J.; BRAGA, A.; M.; TEIXEIRA, O. T.; BARRETTO, A. C.; KRIEGER, E. M.; NEGRÃO, C. E. Postexercise blood pressure reduction in elderly hypertensive patients. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 39, n. 4, p. 676-682, 2002.

ROUBENOFF, R. The pathophysiology of wasting in the elderly. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 1, p. 256S-259S, 1999.

SALVADOR, E. P.; FLORINDO, A. A.; REIS, R. S.; COSTA, E. F. Percepção do ambiente e prática de atividade física no lazer entre idosos. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 6, p. 972-980, 2009.

SANCHES, I. C. **Perfil metabólico e cardiovascular de ratas hipertensas submetidas a um modelo experimental de menopausa e síndrome metabólica: papel do treinamento físico.** 2007. 122 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2007.

SANTARÉM, J. M. Atividade física recomendável na menopausa. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 1, n. 1, p. 87-91, 2011.

SANTOS, P. S. **Desenvolvimento de um modelo experimental para o estudo da osteoporose.** 2004. 83 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

SARDONE, L. D.; RENLUND, R.; WILLETT, T. L.; FANTUS, I. G.; GRYNPAS, M. D. Effect of rosiglitazone on bone quality in a rat model of insulin resistance and osteoporosis. **Diabetes**, v. 60, n. 12, p. 3271-3278, 2011.

SCHRAGE, W. G.; JOYNER, M. J.; DINENNO, F. A. Local inhibition of nitric oxide and prostaglandins independently reduces forearm exercise hyperemia in humans. **The Journal of Physiology**, v. 557, p. 599-611, 2004.

SEALE, P.; RUDNICKI, M. A. A new look at the origin, function, and "stem-cell" status of muscle satellite cells. **Developmental Biology**, v. 218, n. 2, p. 115-124, 2000.

SEGURA, D. C. A.; NASCIMENTO, F. C.; PETROSKI, E. L.; KLEIN, D.; FERMINO, D. Relação entre atividade física e osteoporose. **Arquivos de Ciências de Saúde**, v. 11, n. 1, p. 51-56, 2007.

SHIMOMURA, Y.; SHIMIZU, H.; TAKAHASHI, M.; SATO, N.; UEHARA, Y.; NEGISHI, M.; KOBAYASHI, I.; KOBAYASHI, S. The significance of decreased ambulatory activity during the generation by long-term observation of obesity in ovariectomized rats. **Physiology & Behavior**, v. 47, n. 1, p. 155-159, 1990.

SILVA, H. G.; MENDONÇA, L. M.; CONCEIÇÃO, F. L.; ZAHAN, S. E.; FARIAS, M. L. Influence of obesity on bone density in postmenopausal women. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabolism**o, v. 51, n. 6, p. 943-949, 2007.

SLEIGHT, P.; FREIS, E. **Hypertension**. England: Ed. Butterworths, 1982.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA: Sociedade Brasileira de Hipertensão; Sociedade Brasileira de Nefrologia. **V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial**. São Paulo: SBC, 2006.

SPRITZER, N. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 29, p. 199-213, 1996.

STRICKER-KRONGRAD, A.; BECK, B.; BURLET, C. Nitric oxide mediates hyperphagia of obese Zucker rats: relation to specific changes in the microstructure of feeding behavior. **Life Sciences**, v. 58, n. 1, p. PL9-PL15, 1996.

SUZUKI, C. S.; MORAES, S. A.; FREITAS, I. C. M. Atividade física e fatores associados em adultos residentes em Ribeirão Preto, SP. **Revista de Saúde Pública**, v. 45, n. 2, p. 311-320, 2011.

SUZUKI, J. Microvascular angioadaptation after endurance training with L-Arginine supplementation in rat heart and hindleg muscles. **Experimental Physiology**, v. 90, n. 5, p. 763-771, 2005.

TAKAHASHI, R. N. **Animais espontaneamente hipertensos (ratos SHR) como modelo experimental de TDAH.** In: Florianópolis, 2006.

TAPIERO, H.; MATHÉ, G.; COUVRIER, P.; TEW, K. D. L-Arginine. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 9, p. 439-445, 2002.

TCHERNOF, A.; DESMEULES, A.; RICHARD, C.; LABERGE, P.; DARIS, M.; MAILLOUX, J.; RHÉAUME, C.; DUPONT, P . Ovarian hormone status and abdominal visceral adipose tissue metabolism. **The Journal of Clinical Endocrinology And Metabolism**, v. 87, n. 7, p. 3425-3430, 2004.

TEIXEIRA, C .V. L.; DONATTI, T. S.; CANONICI, A. P. Perfil de risco de doenças cardiovasculares em idosas praticantes de diferentes modalidades de exercícios físicos. **Revista Movimenta**, v. 2, n. 1, p. 17-22, 2009.

TENÓRIO, A. S.; ALVES, S. B.; BEZERRA, A. L.; SOUZA, G. M. L.; CASTANHO, M. T. I. A.; TASHIRO, T.; GALINDO, L. C. M.; MORAES, S. R. A. Efeito do treinamento físico sobre o tecido ósseo e a concentração sérica de cálcio em camundongos fêmeas ovariectomizadas. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 4, 280-283, 2005.

TOSTES, R. C.; NIGRO, D.; FORTES, Z. B.; CARVALHO, M. H. Effects of estrogen on the vascular system. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 9, p. 1143-1158, 2003.

TROPP, J.; MARKUS, E. Sex differences in the dynamics of cue utilization and exploratory behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 119, n. 2, p. 143-154, 2001.

VANHOUTTE, P. M. Endothelial control of vasomotor function - From health to coronary disease. **Circulation Journal**, v. 67, n. 7, p. 572-575, 2003.

VERAS, R. P. Atenção preventiva ao idoso: uma abordagem de saúde coletiva. In: PAPALÉO NETTO, M. **Gerontologia**. São Paulo: Atheneu, 1996.

VÉRAS-SILVA, A. S.; MATTOS, K. C.; GAVA, N. S.; BRUM, P. C.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, E. M. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **The American Journal of Physiology**, v. 273, n. 6, p. H2627-H2631, 1997.

VILICEV, C. M. **Efeito do tiromimético seletivo pelo receptor beta do hormônio tiroideano GC-1 na composição corporal de ratas Wistar**. 2005. 51 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

WANG, Y.; HUANG, P.; TANG, P. F.; CHAN, K. M.; LI, G. Alendronate (ALN) combined with Osteoprotegerin (OPG) significantly improves mechanical properties of long bone than the single use of ALN or OPG in the ovariectomized rats. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 6, n. 34, p. 2-8, 2011.

WEISSEL, M. Disturbances of thyroid function in the elderly. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 118, n. 1-2, p. 16-20, 2006.

WHELTON, S. P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Annals of Internal Medicine**, v. 136, n. 7, p. 493-503, 2002.

WILDMAN, R. P.; GU, D.; MUNTNER, P.; HUANG, G.; CHEN, J.; DUAN, X.; HE, J. Alcohol intake hypertension subtypes in Chinese man. **Journal of Hypertension**, v. 23, n. 4, p. 703-705, 2005.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do esporte e do exercício**, 2. ed. São Paulo: Manole, 2001.

WIMALAWANSA, S. J.; CHAPA, T.; FANG, L.; YALLAMPALLI, C.; SIMMONS, D.; WIMALAWANSA, S. Frequency-dependent effect of nitric oxide donor nitroglycerin on bone. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, n. 6, p. 1119-1125, 2000.

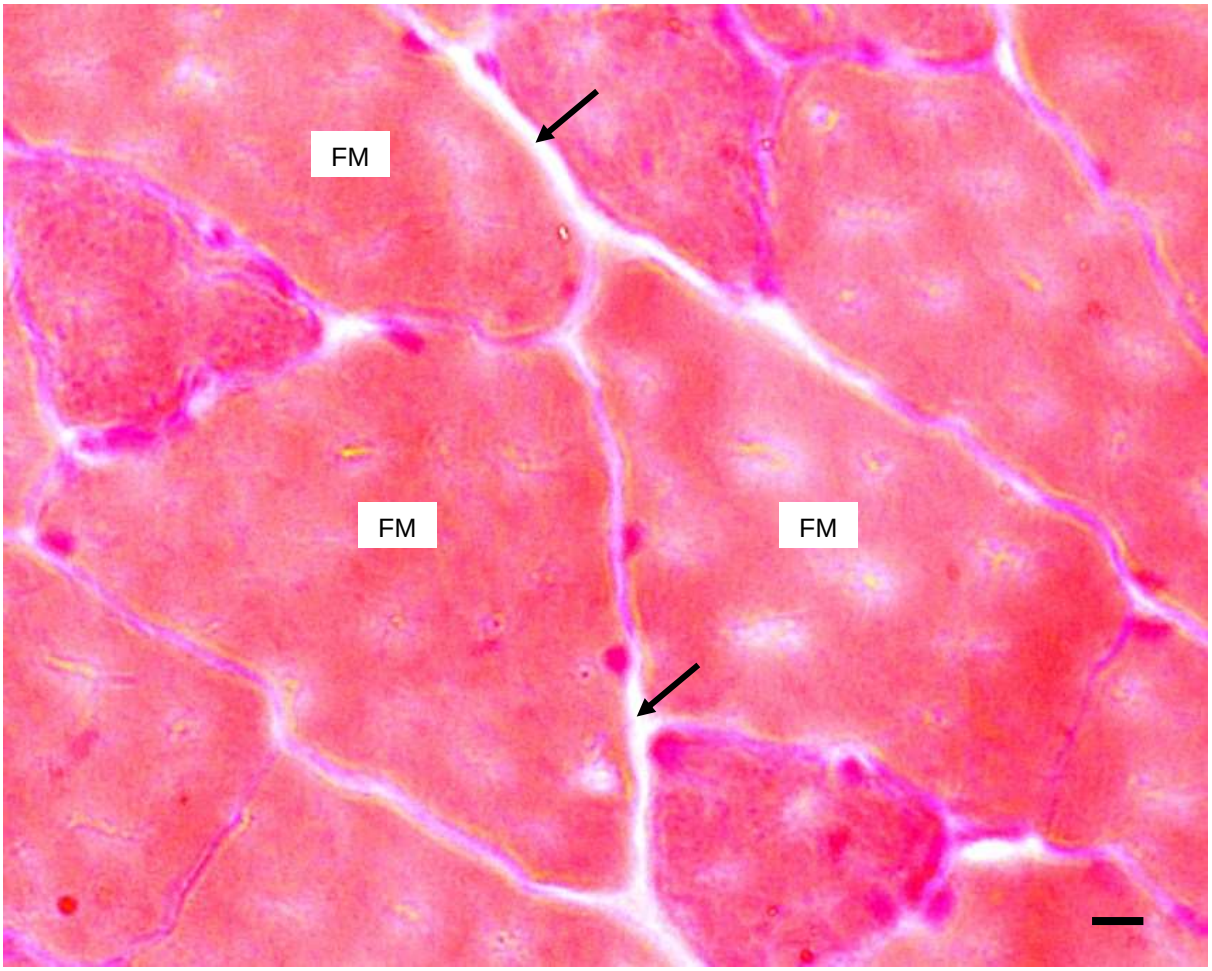
WIMALAWANSA, S. J. Nitroglycerin therapy is as efficacious as standard estrogen replacement therapy (Premarin) in prevention of oophorectomy-induced bone loss: A human pilot clinical study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, n. 11, p. 2240-2244, 2000.

YANAGISAWA, M.; KURIHARA, H.; KIMURA, S.; GOTO, K.; MASSAKI, T. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca^{2+} channels. **Journal of Hypertension, Supplement**, v .6, n .4, p. 188-191, 1988.

ZAGO, A. S.; ZANESCO, A. Óxido nítrico, doenças cardiovasculares e exercício físico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 87, n. 6, p. 264-270, 2002.

Apêndice A

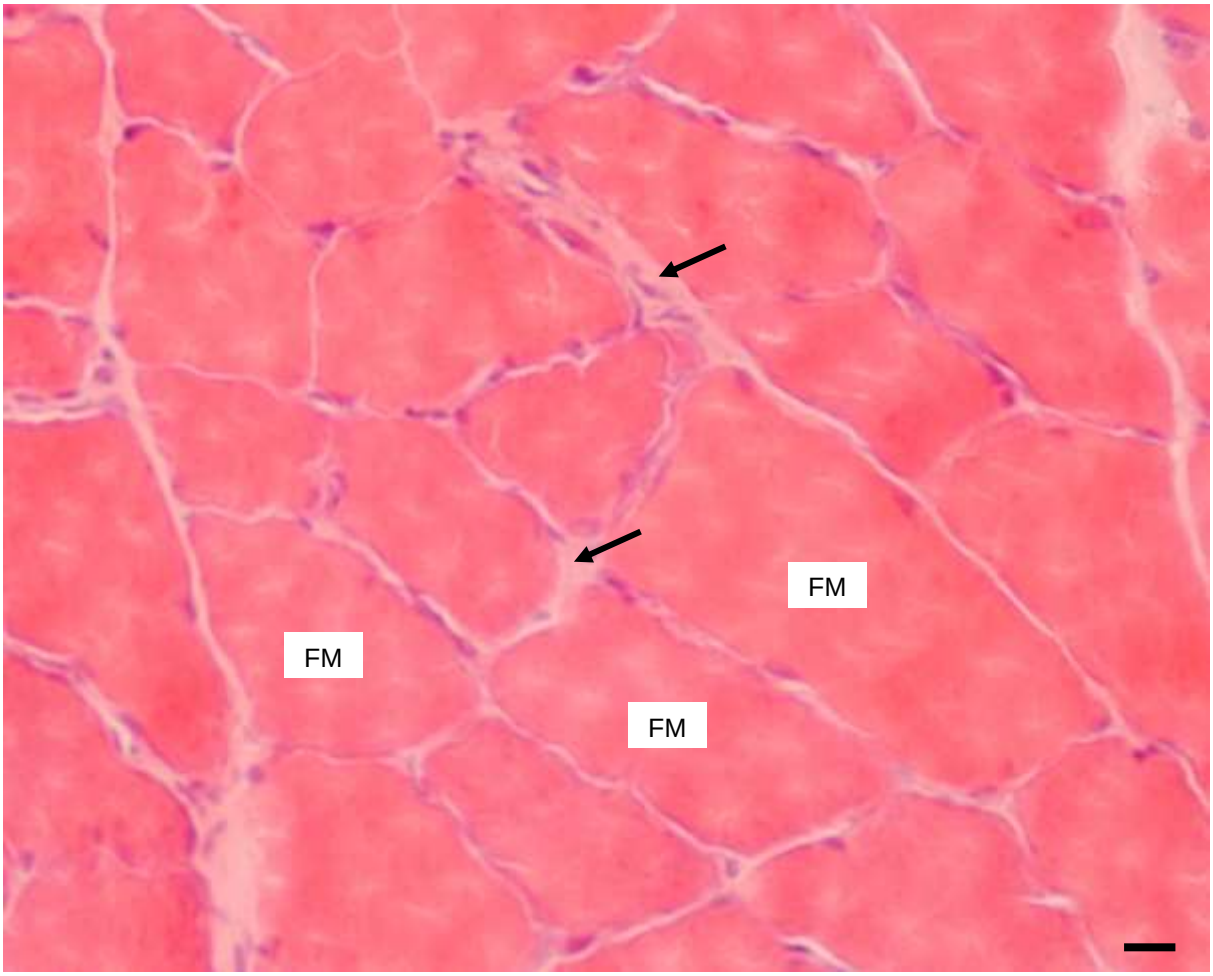
Figura 11 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de EXER-ARG. Coloração: HE. Barra: 20 µm



Legenda: fibras musculares (FM) e área de tecido conjuntivo (setas)
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice B

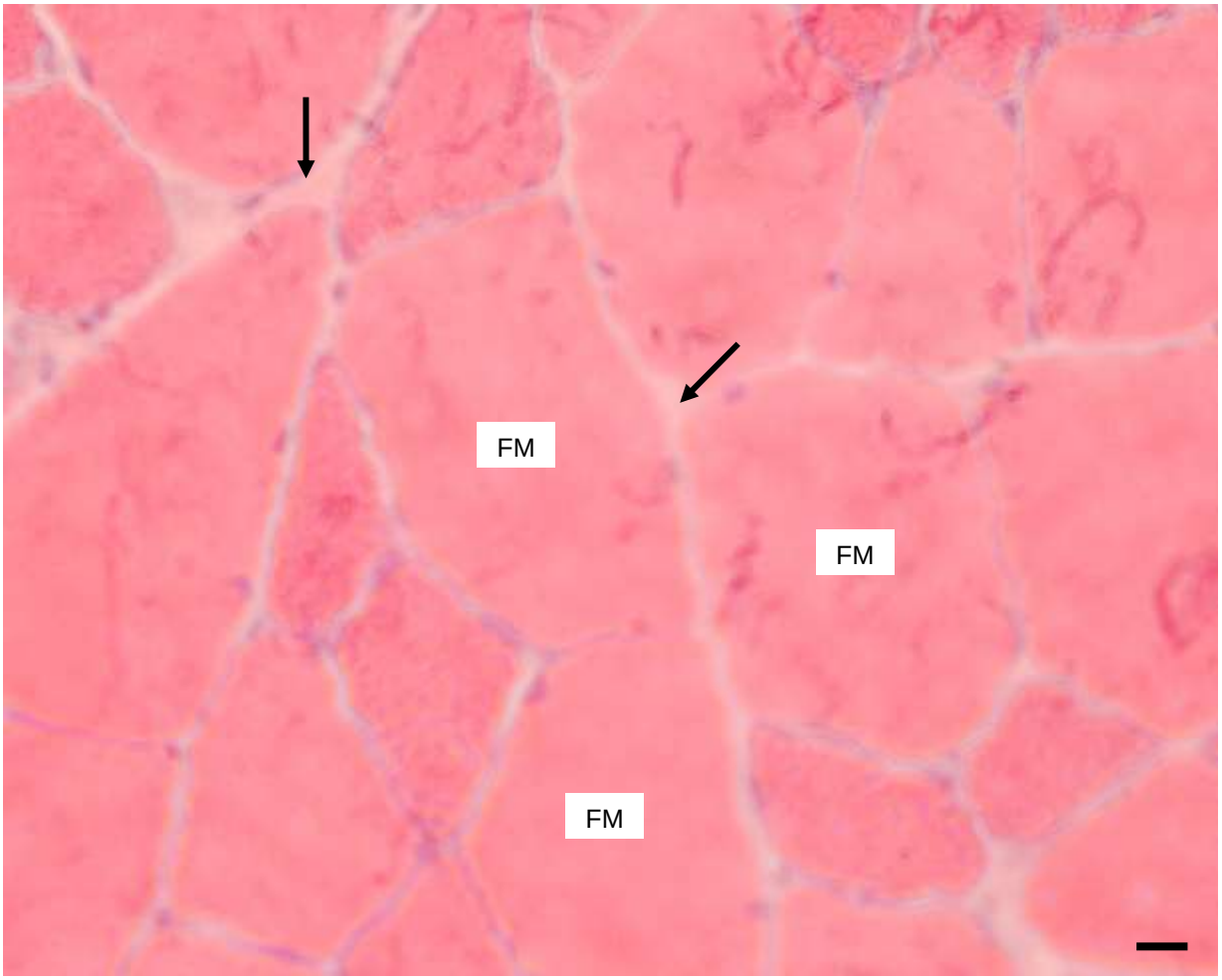
Figura 12 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de EXER. Coloração: HE. Barra: 20 µm



Legenda: fibras musculares (FM) e área de tecido conjuntivo (setas)
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice C

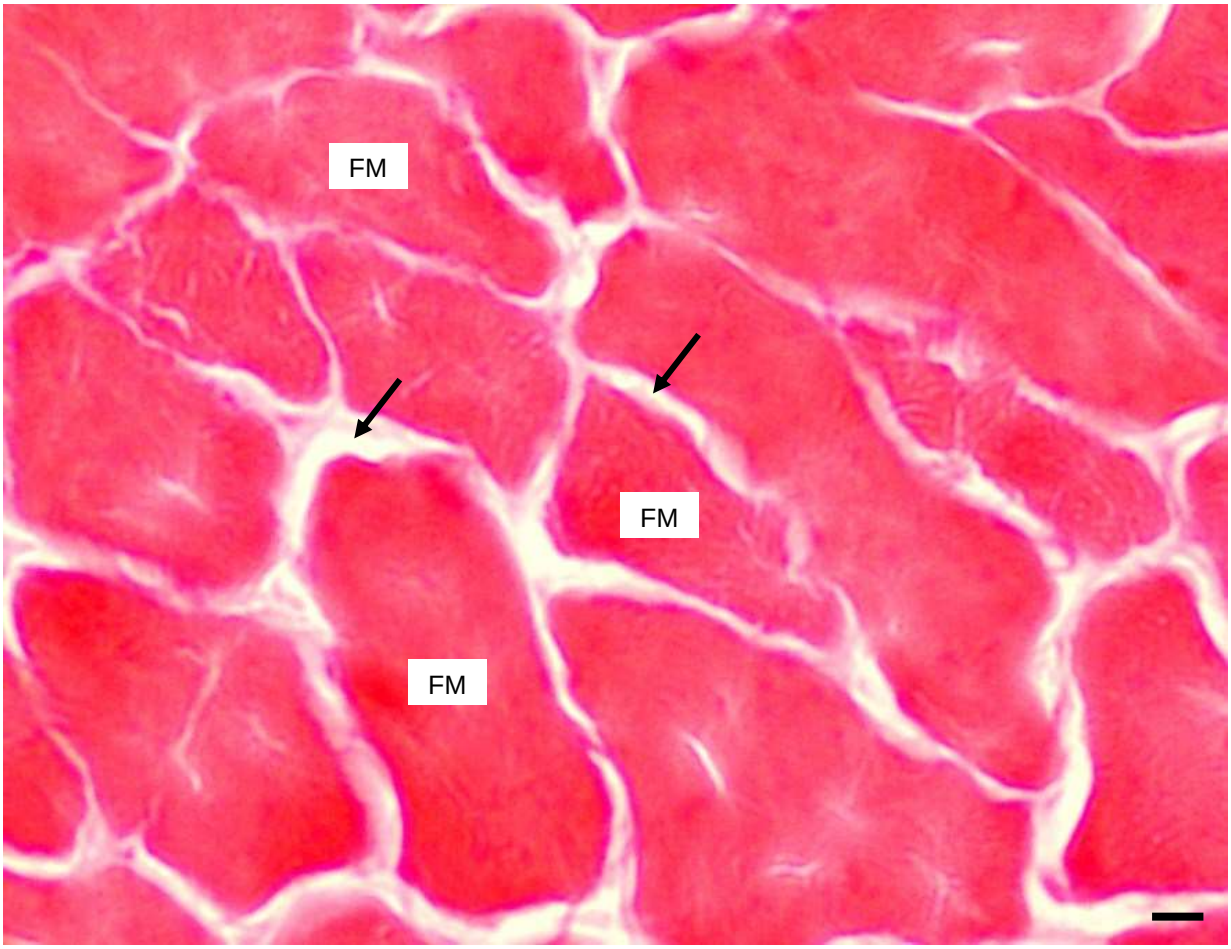
Figura 13 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de SED-ARG. Coloração: HE. Barra: 20 µm



Legenda: fibras musculares (FM) e área de tecido conjuntivo (setas)
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice D

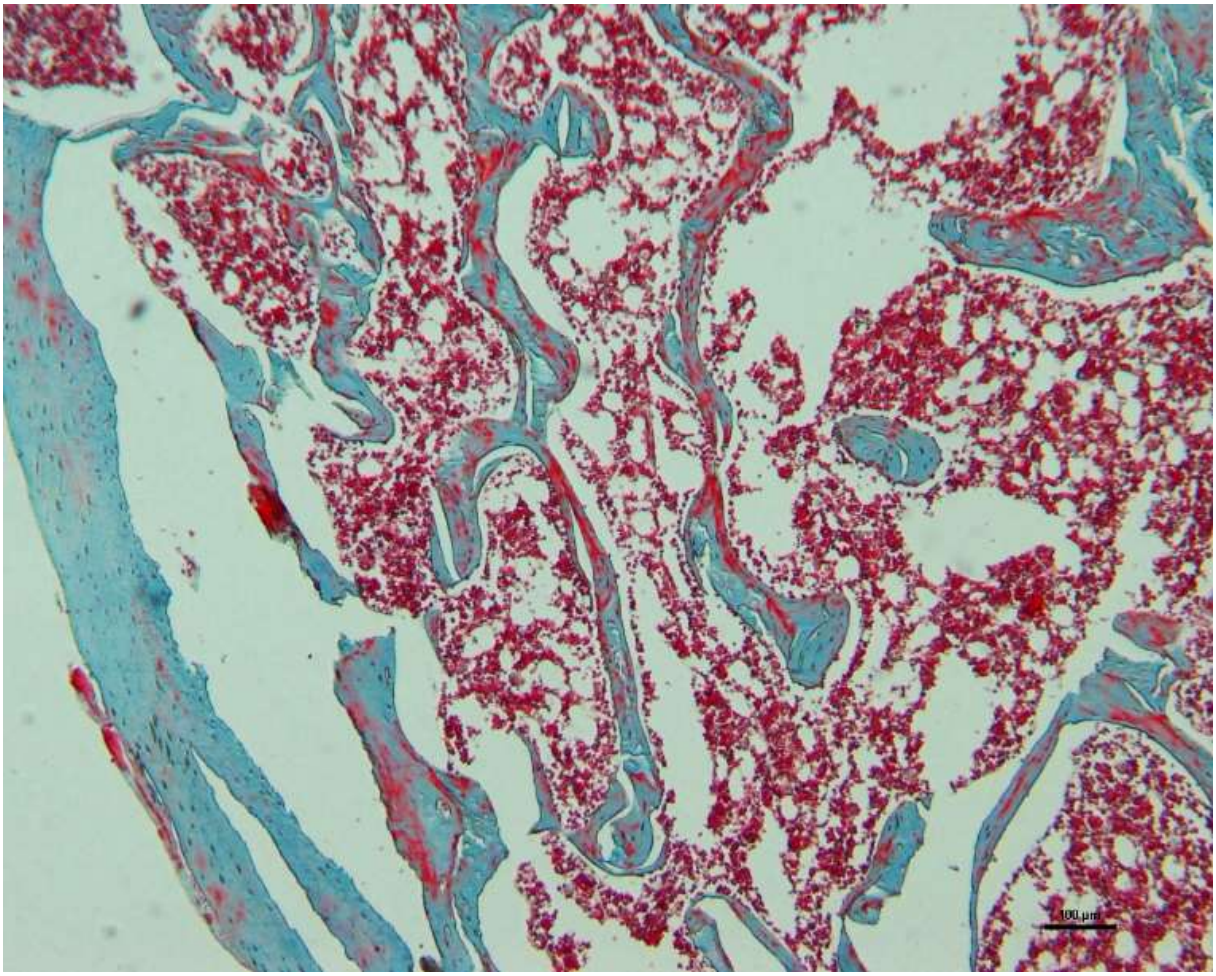
Figura 14 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do músculo sóleo de CONT. Coloração: HE. Barra: 20 µm



Legenda: fibras musculares (FM) e área de tecido conjuntivo (setas)
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice E

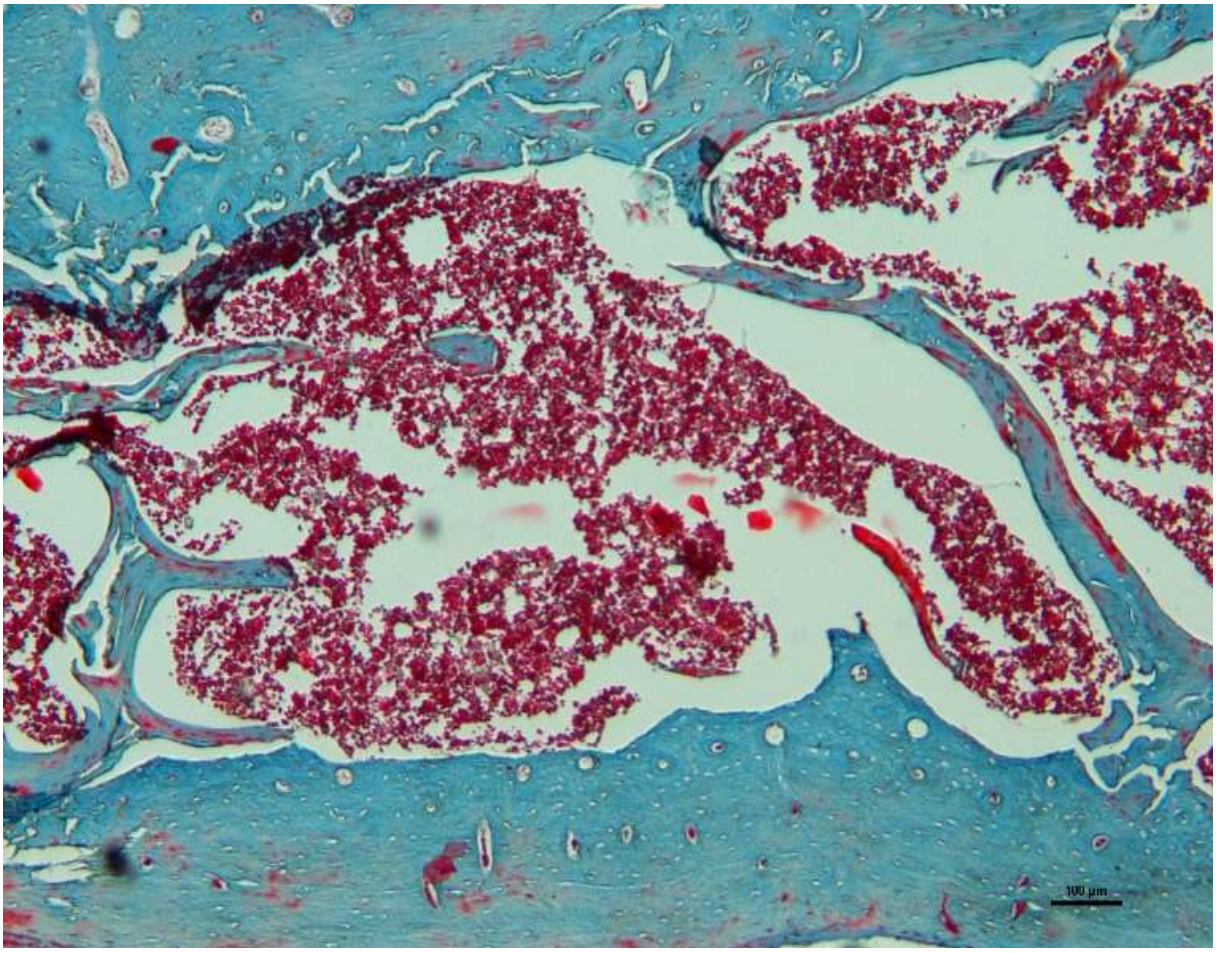
Figura 18 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de CONT. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm



Legenda: O osso cortical aparece em azul e a medula óssea em vermelho
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice F

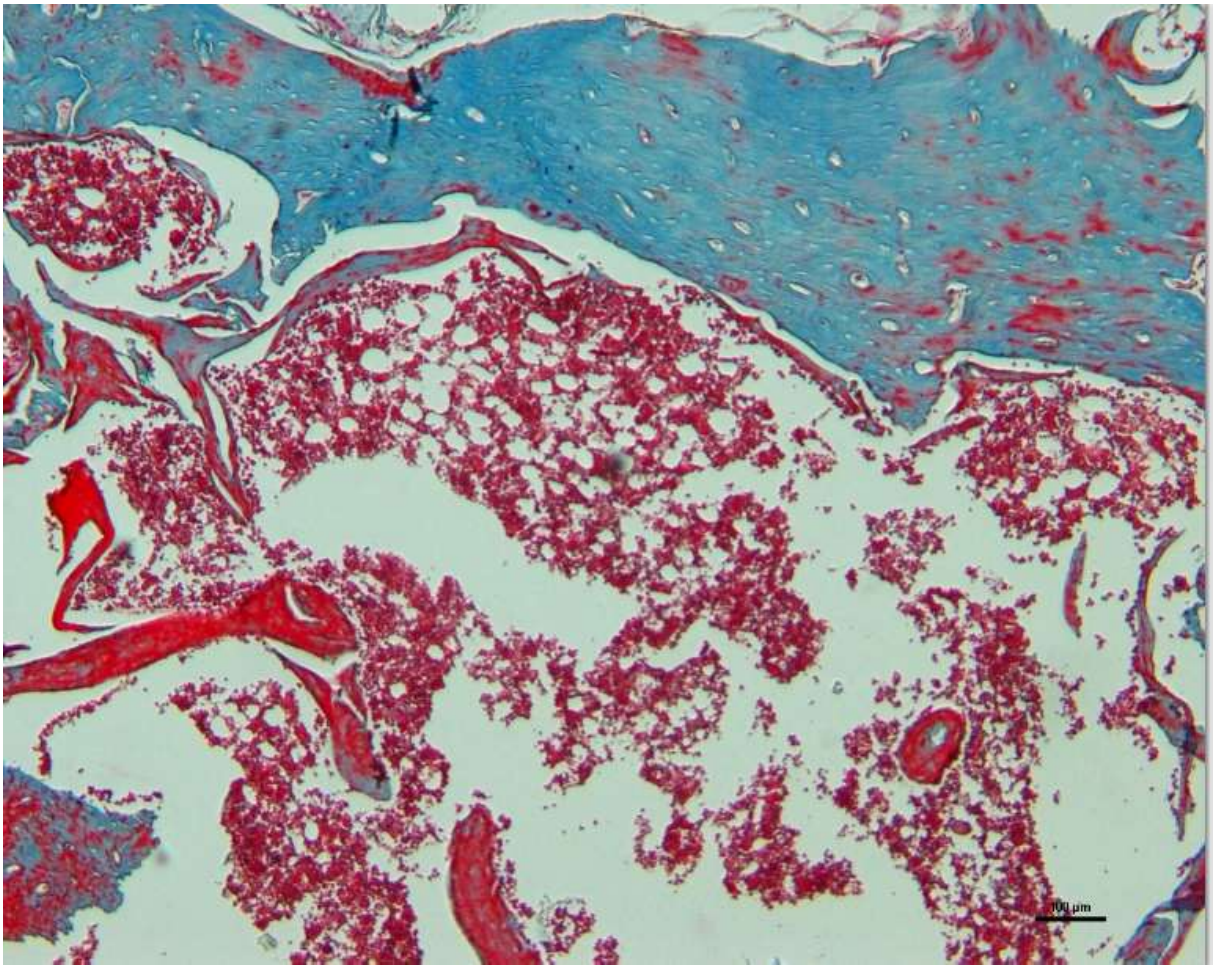
Figura 19 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de EXER-ARG. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm



Legenda: O osso cortical aparece em azul e a medula óssea em vermelho
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice G

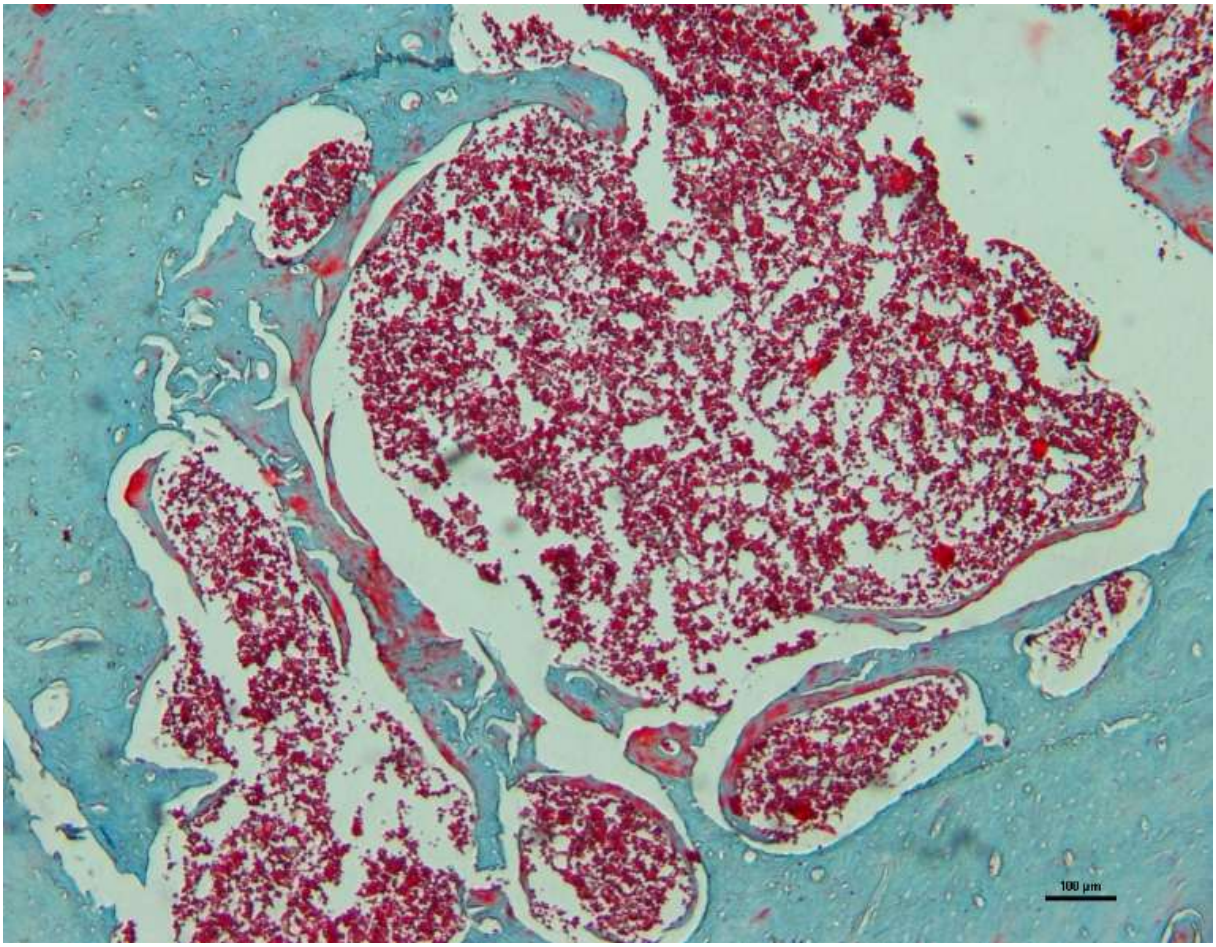
Figura 20 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de SED-ARG. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm



Legenda: O osso cortical aparece em azul e a medula óssea em vermelho
Fonte: (VILICEV, 2013)

Apêndice H

Figura 21 - Microscopia de luz. Corte histológico transversal do fêmur proximal de EXER. Coloração: tricromo de Masson. Barra: 100 µm



Legenda: O osso cortical aparece em azul e a medula óssea em vermelho
Fonte: (VILICEV, 2013)