LUCIANA JORGE

**Papel do treinamento físico na mortalidade de ratos diabéticos
pós-infarto do miocárdio: avaliações das funções cardíaca e
autônômica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental
Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia Irigoyen

São Paulo

2009

LUCIANA JORGE

**Papel do treinamento físico na mortalidade de ratos diabéticos
pós-infarto do miocárdio: avaliações das funções cardíaca e
autônômica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental
Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia Irigoyen

São Paulo

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Jorge, Luciana

Papel do treinamento físico na mortalidade de ratos diabéticos pós-infarto do miocárdio : avaliações das funções cardíaca e autonômica / Luciana Jorge. -- São Paulo, 2009.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental.

Orientadora: Maria Claudia Irigoyen.

Descritores: 1.Ratos Wistar 2.Diabetes mellitus experimental 3.Infarto do miocárdio 4.Exercício 5.Mortalidade

USP/FM/SBD-292/09

Dedicatória

Dedico esta dissertação aos meus pais, Paulo e Maria Lúcia; aos meus irmãos, Alvim e Andreza; as minhas avós, Maria Aparecida e Marlene e aos meus amigos; pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas. Sem vocês eu não seria nada. Cada um com sua importância, cada qual com sua personalidade, gratidão eterna!

AGRADECIMENTOS

Nada na vida conquistamos sozinhos. Sempre precisamos de outras pessoas para alcançar os nossos objetivos. Muitas vezes um simples gesto pode mudar a nossa vida e contribuir para o nosso sucesso.

*Aos meus pais, **Paulo e Maria Lúcia**, que além de me darem a vida, me deram a sabedoria de viver, a paciência de esperar, a força para vencer e a coragem para me re-erguer. Que me dão amor incondicional. Que muitas vezes abriram mão de seus sonhos para realização dos meus! Que foram e ainda são exemplos de pessoas para mim!*

*Aos meus irmãos, **Alvim e Andreza** e as minhas avós, **Cida e Marlene**, que sempre me deram muito amor e carinho, além de sempre torcerem por mim. E acima de tudo, sempre tiveram muita paciência com meu jeito espoleta e rebelde de ser!*

*A **Profa. Dra. Maria Cláudia Irigoyen**, pela paciência, incentivo, confiança e apoio para o meu desenvolvimento acadêmico/científico durante todos estes anos. Contudo, agradeço em especial pela amizade e pelo carinho.*

*A **Profa. Dra. Kátia De Angelis**, minha segunda orientadora, por me ensinar a amar a fisiologia cardiovascular e por sua incansável dedicação para o meu desenvolvimento acadêmico/científico, acima de tudo, para o meu desenvolvimento pessoal, com sua amizade e atenção!*

*À amiga **Rebeca Masagão** pela amizade sólida e verdadeira e à amiga **Maira Monje** pela sua alegre e tranquila convivência, pela energia positiva e pelo carinho.*

*Aos meus amigos, que sempre me mantiveram em pé. E olha que não foram poucos os momentos que pensei que cairia, que torcem e se preocupam comigo: **Tabata, Rafael, Lara, Mariana Pasarello, Daniel, Luciano Sabbatini, Luciana Amorin e muitos outros.***

*A minha amada afilhada **Valentina**, que me ensinou o verdadeiro significado da palavra amor.*

*Aos meus fieis escudeiros, **Teddy** e a **Nina**, que talvez, sejam os que mais sofreram com a minha ausência. Obrigada pelo amor incondicional e pela felicidade contagiante!*

*Aos meus amigos **Cristiano Teixeira Mostarda**, **Bruno Rodrigues** e **Leandro Ezequiel**, sem os quais a realização deste trabalho seria impossível, contudo, agradeço especialmente pela amizade, carinho e atenção nos momentos de desabafo.*

*As amigas **Aline Piratello** e **Janaina Aguiar**, pelo incentivo e grande amizade durante esta etapa. Amizade essa que pretendo levar para a vida toda.*

*Aos amigos do laboratório, **Georgia**, **Edson**, **Kaleizu**, **Raquel Sirvente**, **Raquel De La Fuente**, **Ivana**, **Karin**, **Christiane**, **André**, **Matheus**, **Mariana**, **Tatiana**, **Roberta**, **Silvia**, **Josilene** e **Suellen** pelo carinho e incentivo em todos os momentos.*

*Aos amigos do Laboratório do Movimento Humano da Universidade São Judas Tadeu, **Marcelo**, **Márcio**, **Juliana**, **Janaína**, **Íris**, **Michelle** e **Nathália**, que apesar da distância nunca deixaram de torcer por minha vitória.*

A todos da Unidade de Hipertensão e da Divisão de Experimentação do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*A **FAPESP** pela bolsa de estudos e pelo fomento desta pesquisa.*

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Diabetes e doença cardiovascular	1
1.2 Disfunções autonômicas e cardiovasculares no diabetes	7
1.3 Treinamento físico e diabetes	10
2 OBJETIVO.....	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Animais e grupos	16
3.2 Indução do Diabetes	17
3.3 Infarto do Miocárdio	17
3.4 Avaliações Ecocardiográficas	19
3.5 Avaliação do consumo de oxigênio	21
3.6 Treinamentos físico	22
3.7 Canulação	23
3.8 Registro de Pressão Arterial	24
3.9 Avaliação da Sensibilidade dos Pressorreceptores	24
3.10 Avaliações do reflexo cardiopulmonar	25
3.11 Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial no Domínio do tempo e da Frequência (Análise espectral FFT)	26
3.12 Avaliações da função ventricular pela cateterização do ventrículo esquerdo	27
3.13 Avaliação do fluxo sanguíneo – Método das Microesferas Coloridas.....	28
3.14 Análise estatística.....	32
4. RESULTADOS	34
4.1 Peso corporal e glicemia	34
4.2 Consumo Máximo de Oxigênio (VO ₂ máx.).....	35
4.3 Avaliações Ecocardiográficas	36
4.3.1 Morfométrica.....	36
4.3.2 Função Sistólica e Diastólica	38
4.4 Pressão Arterial e Frequência Cardíaca	41
4.5 Sensibilidade Barorreflexa	43
4.6 Reflexo Cardiopulmonar	44
4.7 Avaliações Invasivas da Função Ventricular	45
4.8 Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial	46
4.9 Débito cardíaco e fluxos sanguíneos regionais	49
4.10 Mortalidade	52
5. DISCUSSÃO	55

5.1 Avaliações metabólicas e cardiorrespiratórias	55
5.2 Fluxo sanguíneo, morfometria e função cardíaca: avaliações não invasivas e invasivas da função ventricular esquerda.....	58
5.3 Avaliações hemodinâmicas e autonômicas	64
6. CONCLUSÃO	78
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF – banda de alta frequência

ÁreaVEDIA – área do ventrículo esquerdo

BF – banda de baixa frequência

DC - débito cardíaco

DM – diabetes mellitus

+dP/dt – derivada de contração do ventrículo esquerdo

- dP/dt – derivada de relaxamento do ventrículo esquerdo

EPM – erro padrão da media

FC – frequência cardíaca

FE - fração de ejeção

GC – grupo controle

GI – grupo infartado

GIT – grupo infartado treinado

GID- grupo infartado/diabético

GIDT- grupo infartado/diabético treinado

IBR – índice de bradicardia reflexa

IC - insuficiência cardíaca

IC - índice cardíaco

IM – infarto do miocárdio

IP –intervalo de pulso

ITR – índice de taquicardia reflexa

MVE - massa do ventrículo esquerdo

PA – pressão Arterial

PAM – pressão arterial media

PAS – pressão arterial sistólica

PAD – pressão arterial diastólica

PDF – pressão diastólica final

RVP – resistência vascular periférica

SDNN – media dos desvios padrões

STZ – estreptozotocina

TF – treinamento físico

TRIV - tempo de relaxamento isovolumétrico

VEC - velocidade de encurtamento circunferência

VEDIA - cavidade do ventrículo esquerdo em diástole

VE – ventrículo esquerdo

VFC – variabilidade da frequência cardíaca

VPAS – variabilidade da pressão arterial sistólica

VO₂ max – consumo Maximo de oxigênio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Avaliação do percentual de sobrevivência dos animais dos grupos: GC: grupo controle; GD: grupo diabético; GI: grupo infartado; GDI: grupo diabético infartado.....	5
Figura 2: Oclusão da artéria coronária esquerda no miocárdio do rato.....	18
Figura 3: Esquema mostrando a realização da medida do consumo máximo de oxigênio (VO ₂ máx.) em ratos.....	22
Figura 4: Registro da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.....	25
Figura 5: Consumo máximo de oxigênio (VO ₂ máx.) durante o protocolo nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	36
Figura 6: Área acinética e discinética do VE nas avaliações iniciais e finais, nos animais do infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	41
Figura 7: Pressão arterial média nos animais dos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	42
Figura 8: Índices de bradicardia (IBR) e de taquicardia (ITR) reflexas nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)	44
Figura 9: Pressão diastólica final nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	46
Figura 10: Variância do intervalo de pulso (IP) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	48
Figura 11: Índice alfa nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	49

Figura 12: Débito cardíaco (DC) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	50
Figura 13: Índice cardíaco (IC) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	50
Figura 14: Resistência vascular periférico (RVP) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	51
Figura 15: Percentual de sobrevivência nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT) ao final do protocolo.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: <i>Peso corporal e glicemia nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético/infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	35
Tabela 2 <i>Consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	36
Tabela 3: <i>Parâmetros ecocardiográficos de morfometria nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	37
Tabela 4: <i>Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	39
Tabela 5: <i>Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	40
Tabela 6: <i>Avaliações hemodinâmicas sistêmicas nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	42
Tabela 7: <i>Índices de bradicardia (IBR) e de taquicardia (ITR) reflexas nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	43
Tabela 8: <i>Reflexo cardiopulmonar, avaliada pelas respostas bradicárdicas e hipotensoras, nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado.</i>	45
Tabela 9: <i>Pressão sistólica ventricular esquerda (PSVE), pressão diastólica final (PDF) e derivadas de contração ($+dP/dt$) e relaxamento ($-dP/dt$) do ventrículo esquerdo nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).</i>	46

<i>Tabela 10:</i> Variabilidade da IP nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	47
<i>Tabela 11:</i> Variabilidade da PAS nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	48
<i>Tabela 12:</i> Fluxo sanguíneos regionais nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).....	52

RESUMO

Jorge L. *Papel do treinamento físico na mortalidade de ratos diabéticos pós-infarto do miocárdio: avaliações das funções cardíaca e autonômica [Dissertação]*. São Paulo: Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo; 2009.

O treinamento físico tem sido amplamente utilizado como uma importante ferramenta não farmacológica no manejo das doenças cardiovasculares. No entanto, resultados referentes à intervenção precoce através do treinamento físico em diabéticos após o infarto do miocárdio (IM) permanecem controversos e pouco explorados. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da intervenção precoce através do treinamento físico na mortalidade, na capacidade funcional, na função ventricular e autonômica e nos fluxos sanguíneos em ratos infartados, diabéticos ou não. Foram utilizados ratos Wistar machos divididos em 5 grupos: controle (GC), infartado sedentário (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado sedentário (GDI), diabético infartado treinado (GDIT). Após 15 dias de indução do diabetes por STZ foi realizada a ligadura da artéria coronária esquerda nos grupos infartados. O treinamento físico foi iniciado uma semana após o IM e realizado em esteira ergométrica adaptada durante 12 semanas. Medidas do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) e da glicemia foram realizadas no 1º, 60º e 90º dias de protocolo. No início e ao final do protocolo de treinamento físico foram realizadas avaliações ecocardiográficas para determinação da função ventricular. Ao final do protocolo foram realizados registros diretos da pressão arterial (PA), avaliações da sensibilidade do reflexo comandado pelos barorreceptores e pelos receptores cardiopulmonares, da modulação autonômica cardiovascular, da função ventricular esquerda, dos fluxos sanguíneos regionais e do débito cardíaco. O treinamento físico

reduziu a glicemia e aumentou o peso corporal nos ratos diabéticos, bem como normalizou o VO_2 máx. nos grupos treinados (GIT e GDIT). A área de IM do ventrículo esquerdo (VE) foi semelhante entre os grupos infartados (GI: 34%; GDI: 36%; GIT: 34%; GDIT: 37%) na avaliação ecocardiográfica inicial. Contudo, os animais treinados apresentaram uma redução da área acinética do VE (GIT: 19% e GDIT: 21%) em relação aos seus valores iniciais e em comparação aos seus respectivos grupos sedentários (GI: 35% e GDI: 38%) ao final do protocolo. Além disso, a fração de ejeção que estava reduzida nos animais infartados (GI: 43%; GDI: 44%; GIT: 41%; GDIT: 43%) em relação ao GC (74%) no início do protocolo, foi normalizada nos grupos treinados ao final do protocolo (GIT: 59% e GDIT: 58 %). Paralelamente a esses resultados, a cateterização do VE evidenciou incremento na $+dP/dt$ e $-dP/dt$ bem como redução da pressão diastólica final dos grupos treinados (GIT e GDIT) em relação aos grupos sedentários. A PA e a sensibilidade barorreflexa, que estavam reduzidas nos animais do GI e do GDI quando comparados com o GC, foram normalizadas após o treinamento físico. O GI e o GDI apresentaram redução da variância do intervalo de pulso (IP), do índice alfa e do componente de baixa frequência do IP em relação ao GC. Entretanto, o treinamento físico promoveu a normalização dessas variáveis em relação aos animais do GC. A banda de alta frequência do IP estava muito reduzida nos GI, GIT e GDI quando comparados ao GC. No entanto, observou-se que somente os animais do GDIT apresentaram aumento dessa variável, acompanhado de diminuição da variabilidade da pressão arterial sistólica em relação aos outros grupos não diabéticos. Somando-se a estes achados, o treinamento físico ainda foi capaz de aumentar o débito cardíaco, reduzir a resistência vascular periférica e melhorar os fluxos sanguíneos regionais,

especialmente para os pulmões, rins, gastrocnêmio e coração (só para o GDIT) nos animais treinados (GIT e GDIT) em relação aos seus respectivos grupos sedentários. Em conjunto, todos os benefícios provocados pelo treinamento físico resultaram em aumento da sobrevivência nos grupos treinados (GIT: 87,5% e GDIT: 75%) em relação aos sedentários (GI: 41,30% e GDI: 30,81%). Concluindo, estes achados confirmaram dados de nosso grupo em que a mortalidade foi semelhante entre os animais infartados normoglicêmicos e diabéticos, sugerindo que a FE e o VO_2 máx., clássicos preditores de mortalidade pós IM, não são os únicos determinantes de prognóstico em ratos infartados diabéticos. A exacerbada disfunção autonômica cardiovascular observada quando da combinação destas duas patologias pode ter sido um fator considerável nesta condição. Finalmente, o resultado mais importante deste estudo foi o fato dos grupos infartados, diabéticos ou não, apresentarem significativa redução da mortalidade após o período de treinamento físico. Essa abordagem não farmacológica foi eficaz em atenuar as disfunções cardíacas, hemodinâmicas e autonômicas nos animais submetidos à isquemia em presença ou não do diabetes, o que provavelmente culminou no aumento da sobrevida destes animais.

Descritores: Ratos Wistar, Diabetes mellitus experimental, Infarto do miocárdio, Exercício físico, Mortalidade.

ABSTRACT

Jorge L. *Role of exercise training on mortality in diabetic rats after myocardial infarction: cardiac and autonomic functions evaluations.* [Dissertation]. Sao Paulo: Medicine School. University of Sao Paulo; 2009

Exercise training has been widely used as an important non-pharmacological approach in the management of cardiovascular diseases. However, results on early intervention using exercise training in diabetics after myocardial infarction (MI) remain controversial and not well studied. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of early exercise training intervention on mortality, functional capacity, ventricular and autonomic functions and regional blood flows in infarcted rats, diabetics or not. Male Wistar rats were divided into 5 groups: control (CG), sedentary infarcted (SIG), trained infarcted (TIG), sedentary infarcted diabetic (SIDG), trained infarcted diabetic (TIDG). After 15 days of streptozotocin (STZ) administration, left coronary artery ligation was performed in infarcted groups. Exercise training was started one week after MI and was performed on a treadmill, at a low-moderate intensity, for 12 weeks. Measurements of maximum oxygen consumption ($\text{VO}_2 \text{ max.}$) and blood glucose were performed at 1, 60 and 90 days of protocol. At the beginning and end of the protocol, LV function was assessed by echocardiography. At the end of the protocol, blood pressure, cardiopulmonary and baroreceptors sensitivities, cardiovascular autonomic modulation, invasive LV function, regional blood flow and cardiac output were measured. Exercise training reduced blood glucose and increased body weight in diabetic rats, as well as normalized the $\text{VO}_2 \text{ max.}$ in trained groups (TIG and TIDG). Left ventricle (LV) akinetic area at the initial evaluation was similar between MI groups (SIG: 34%; DI:

36%; TIG: 34%; TIDG: 37%). However, trained animals showed reduction of this parameter (TIG: 19% and TIDG: 21%) as compared with their initial values and in comparison with sedentary groups (SIG: 35% and SIDG: 38%). Furthermore, the ejection fraction, that was reduced in MI animals (SIG: 43%; SIDG: 44%; TIG: 41%; TIDG: 43%) compared to CG (74%) at the beginning of the protocol, was normalized in trained groups at the end of the protocol (TIG: 59% and TIDG: 58%). Additionally, the LV catheterization showed increased + dP/dt and -dP/dt, and reduced LV end diastolic pressure in trained (TIG and TIDG) in relation to sedentary groups. BP and baroreflex sensitivity, which were reduced in SIG and SIDG as compared with CG, were normalized after exercise training. SIG and SIDG had reduction in pulse interval (PI) variance, alpha index and low frequency band of PI in comparison with CG. Exercise training normalized these parameters in comparison to CG. The high frequency band of PI was reduced in SIG, TIG and SIDG as compared to CG. However, it was observed that only TIDG presented increase in this parameter, as well as reduction in blood pressure variability in relation to non-diabetic groups. In addition to these findings, the exercise training was still able to increase the cardiac output, to reduce the peripheral vascular resistance and to improve the regional blood flows, especially to the lungs, kidneys, gastrocnemius and heart (only for TIDG) in trained animals (TIG and TIDG) in relation to their respective sedentary groups. Taken together, all benefits induced by exercise training resulted in increased survival in the trained groups (TIG: 87.5% and TIDG: 75%) as compared with sedentary (SIG: 41.30% and SIDG: 30.81%). In conclusion, these findings confirm previous data from our group that the mortality was similar between infarcted normoglycemic and diabetic animals, suggesting that the EF and VO₂ max,

classic predictors of mortality after MI, would be not the only determinants of prognostic in diabetic infarcted rats. The exacerbated cardiovascular autonomic dysfunction, observed in the combination of these two pathologies, may be an important factor that deserves consideration in this condition. Finally, the most important result of this study was that the infarcted groups, diabetic or not, showed a significant reduction of mortality rate after exercise training. This non-pharmacological approach was effective in to attenuate the cardiac, hemodynamic and autonomic dysfunctions in animals submitted to MI, diabetics or not, which probably resulted in increased survival in these groups.

Keywords: Wistar Rats, Experimental diabetes mellitus, Myocardial infarction, Physical exercise, Mortality.

1. Introdução

1.1 Diabetes e doença cardiovascular

Define-se diabetes mellitus (DM) como uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta e/ou incapacidade da insulina exercer seus efeitos, caracterizando-se por hiperglicemia crônica, com distúrbios do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (Sociedade Brasileira de Diabetes, 1999).

De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2005), só nos países do continente americano de DM poderá chegar a 64 milhões de pessoas até o ano de 2025. Enquanto no Brasil, estes números chegarão em torno de 11,6 milhões de pessoas portadoras de DM até a mesma data. A prevalência vem crescendo em decorrência de vários fatores, tais como processo de modernização, maior taxa de urbanização, industrialização, hábitos alimentares inadequados, inatividade física, obesidade, estresse, aumentos da expectativa de vida e maior sobrevida das pessoas com diabetes (Zanetti, 1996; Tavares, 1997).

O diabetes normalmente vem acompanhado de complicações crônicas características, geralmente denominadas como doença microvascular, macrovascular e neuropática. Estas complicações ocorrem tanto no diabetes tipo I como no diabetes tipo II, embora com algumas diferenças: a doença macrovascular é a maior causa de morbimortalidade no diabetes tipo II, provavelmente pela idade de início e síndrome metabólica associada. A doença microvascular manifesta-se com maior frequência e intensidade no diabetes tipo I, provavelmente pela maior duração da doença e maior gravidade no quadro glicêmico (Duncan, 1996). Vale ressaltar que a causa mais

frequente de mortalidade no diabetes é a doença cardiovascular, sendo a principal responsável pelo pior prognóstico nestes pacientes.

Estudos de Framingham demonstraram que a hiperglicemia diabética dobra o risco de desenvolvimento de doenças cardíacas circulatórias nos homens e triplica nas mulheres (Muir et al., 1992). Além disso, neste mesmo estudo, os mesmos autores demonstraram que indivíduos diabéticos apresentaram maior risco de lesões coronarianas, insuficiência cardíaca congestiva (IC), infartos recorrentes, arritmias e choques cardiogênicos, quando comparados à população não diabética.

Indivíduos diabéticos são mais predispostos à IC, independente da presença de doença coronariana ou hipertensão. Isto é possível pela presença da chamada cardiomiopatia diabética, evidenciada por estudos experimentais, clínicos, patológicos e epidemiológicos (Okoshi et al., 2007). Esta, por sua vez, provoca alterações estruturais e funcionais em indivíduos diabéticos. De fato, cerca de 60% dos pacientes diabéticos normotensos têm disfunção sistólica, diastólica e redução do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) (Zaslavsky et al., 2005; Brandenburg et al., 1999).

Harjai et al. (2003) estudando pacientes acompanhados durante seis meses de internação pós infarto do miocárdio (IM), registraram maior incidência de mortalidade em indivíduos diabéticos quando comparados com os não diabéticos (8,1 vs 4,2%, respectivamente), sendo esta evidência provavelmente resultante do maior tamanho do IM nos pacientes diabéticos. O prognóstico tem sido melhor em pacientes diabéticos com bom controle metabólico comparado com os pacientes com insuficiente controle metabólico. Todavia, a principal complicação cardíaca no DM, com ou sem IM, consiste na contratilidade diminuída do ventrículo esquerdo (VE) e

no aumento da incidência de distúrbios de condução atrioventricular e intraventricular, alterações funcionais essas que podem contribuir para um pior prognóstico após o IM em pacientes diabéticos (Gray et al., 2002).

Existem evidências de insuficiência ventricular em corações isolados perfundidos de ratos diabéticos expostos à isquemia de 48 horas, havendo um acúmulo intracelular de metabólitos, aumento da oxidação de ácidos graxos e um efeito tóxico nos sistemas enzimáticos intracelulares. Em nosso laboratório foi detectado prejuízo na função ventricular “in vivo” e “in vitro” em ratos diabéticos, sendo esta revertida pelo treinamento físico aeróbico (De Angelis et al., 2000A; Wichi et al., 2007). Em um estudo realizado por Forrat et al., (1993) com cães diabéticos por estreptozotocina (STZ) foi aplicado um modelo de isquemia/reperfusão sendo demonstrado que para qualquer quantidade de fluxo colateral a extensão da necrose miocárdica foi maior nos diabéticos, sugerindo desta forma, que indivíduos diabéticos têm pior prognóstico pós IM.

Estudos preliminares de nosso laboratório demonstraram, entretanto, que a extensão da área de IM foi menor em ratos diabéticos (Fang, 1999). Nesse estudo, não se acompanhou a mortalidade dos animais STZ, não sendo possível, portanto, excluir que o menor infarto observado nos ratos diabéticos fosse decorrente do fato de que só os animais que apresentaram infarto menor tivessem sobrevivido, enquanto, aqueles com maior área de lesão tivessem morrido. Outros dados semelhantes na literatura apontam para a idéia de uma maior tolerância à isquemia aguda nos animais diabéticos (Ravingerova et al., 2003).

Tosaki et al. (1995) mostraram que o coração diabético foi mais resistente à isquemia/reperfusão após pouco tempo de exposição à hiperglicemia, não sendo visto

o mesmo em ratos com longo tempo de diabetes por STZ. Posteriormente tais achados foram confirmados por Xu et al. (2004) que utilizou tempos de 4 e 20 semanas de diabetes, por STZ, para a indução da oclusão coronariana em ratos. Os autores observaram que os animais infartados com 4 semanas de diabetes tiveram uma área de infarto cerca de 20% menor se comparados com os animais que foram ocluídos com 20 semanas de diabetes. De fato, os dados experimentais mostram ambos: maior ou menor vulnerabilidade do coração diabético à injúria isquêmica.

Recentemente em nosso laboratório, testamos a hipótese de que o coração diabético seria mais resistente à injúria. Para isto, as alterações morfofuncionais cardíacas foram avaliadas pelo ecocardiograma logo após o IM e aos 90 dias de protocolo. Observou-se área de infarto do VE semelhante entre os grupos infartados, diabéticos ou não, no início do protocolo. Todavia, ao final de 90 dias o grupo diabético infartado apresentou melhor função ventricular quando comparado ao grupo somente infartado. Nesse mesmo estudo avaliamos adicionalmente a mortalidade dos animais. Os resultados mostraram que dentre os grupos infartados, os diabéticos apresentaram menor mortalidade, até 10 dias após IM, indicando que o estado diabético pode estar associado a uma cardioproteção, como pode ser visto na Figura 1. Vale destacar, que aos 90 dias, entretanto, a mortalidade foi semelhante entre os grupos infartados, independente da presença do diabetes.

Figura 1 - Avaliação do percentual de sobrevivência dos animais dos grupos: GC: grupo controle; GD: grupo diabético; GI: grupo infartado; GDI: grupo diabético infartado.

Analisando em conjunto os dados obtidos, hipotetizamos que alguns fatores poderiam estar contribuindo para o desfecho dos resultados. Por exemplo, a redução da frequência cardíaca (FC) comumente observada neste modelo de diabetes por STZ (De Angelis et al., 2001 e 2002, Maeda et al., 1995, Dall'Ago et al., 1997) assim como a redução nas alterações na função sistólica ou diastólica ventriculares pós IM poderiam contribuir para a menor mortalidade em animais diabéticos infartados (em relação aos infartados não diabéticos). Conforme já demonstrado na literatura, o aumento da FC tem sido associado com uma maior mortalidade (Diaz et al., 2005) e intervenções relacionadas à redução da FC como o uso de beta bloqueadores (Yusuf et al., 1996) e, mais recentemente, a estimulação colinérgica (Soares et al., 2004) tem apresentado resultados satisfatórios. Por outro lado, a menor disfunção diastólica e/ou sistólica certamente poderia induzir melhor eficiência da bomba cardíaca, como maior fração de ejeção (FE), o que tem sido considerado marcador prognóstico na evolução pós IM (Thieuleux et al., 1985).

Outros possíveis mecanismos de grande importância ainda não avaliados são as alterações de fluxo coronário ou da modulação autonômica cardiovascular, os quais poderiam estar envolvidos nas diferenças observadas.

Em relação ao papel das variações de fluxo miocárdico, vale ressaltar que o fenômeno do pré condicionamento isquêmico pode ser definido como um mecanismo protetor endógeno, no qual curtos períodos de isquemia e reperfusão conferem ao miocárdio maior resistência a um insulto isquêmico prolongado. Tal fenômeno foi primeiramente descrito por Murry et al. em 1986, usando o cão como modelo experimental. Desde essa observação inicial, achados similares foram demonstrados em diferentes espécies como ratos e suínos (Yellon et al., 1992) além de trabalhos mais recentes indicarem que a proteção conferida pelo pré condicionamento estaria associada a canais de potássio (K^+) sensíveis à adenosina trifosfato (ATP) do sarcolema. Além disso, estudos sugerem que este seria um fenômeno encontrado somente em corações saudáveis e, portanto, corações de indivíduos diabéticos ou com IC não teriam este tipo de proteção (Ghosh et al., 2001). Em contraste, um trabalho realizado em coração isolado de ratos diabéticos e não diabéticos mostrou que no estado basal (antes do pré condicionamento por períodos de isquemia) o coração diabético apresentava uma resistência maior a arritmias induzidas por isquemia (Ravingerova et al., 2003). Após o pré condicionamento isquêmico houve redução das arritmias apenas nos corações não diabéticos, não se identificando proteção adicional nos diabéticos. Dessa forma, no estado basal o diabético apresentou menor susceptibilidade à isquemia, embora não tivesse apresentado resposta adicional ao pré condicionamento (Ravingerova et al., 2003).

Entre os fatores que influenciam a progressão da lesão isquêmica estão a condição do fluxo sanguíneo e a do metabolismo cardíaco, de maneira que a isquemia miocárdica depende de um aumento na demanda de oxigênio e/ou de uma redução na sua oferta. Embora não se tenha induzido períodos de isquemia no coração dos animais diabéticos, chama-se a atenção para o fato de que o fluxo coronário parece estar reduzido nesses animais, tanto no estado basal como durante o exercício quando comparados com animais normais (Tune et al., 2002).

De fato, resultados não publicados de nosso laboratório mostraram redução do fluxo coronário avaliado aos 15 e aos 90 dias de indução do diabetes por STZ. Nesse contexto, o reduzido fluxo coronariano nos animais diabéticos poderia induzir adaptações em rotas anaeróbias de fornecimento de energia, condicionando o tecido miocárdico a trabalhar em condições de menor aporte de oxigênio. Dessa forma, durante a isquemia, quando o aporte de oxigênio está reduzido, este tecido poderia apresentar maior resistência à lesão conforme já descrito por diferentes autores e observado por nós no experimento relatado anteriormente, na primeira parte deste texto. **Em face disso, avaliações do fluxo coronário em animais infartados (com ou sem diabetes), poderiam contribuir para o entendimento dos mecanismos envolvidos na resposta isquêmica de corações de portadores de diabetes.**

1.2 Disfunções autonômicas e cardiovasculares no diabetes

A neuropatia autonômica é uma complicação frequente do DM associada com alta morbidade e mortalidade em pacientes sintomáticos (Ewing et al., 1980), a qual afeta a modulação autonômica do nodo sinusal, reduzindo a variabilidade da

frequência cardíaca (VFC) (Fazan et al., 1997). O aumento da mortalidade pode estar relacionado a alterações no controle cardiovascular, incluindo atenuação do controle reflexo autonômico levando à hipotensão ortostática, IM não acompanhado de sensação dolorosa e morte súbita (Page & Watkins, 1978), sendo esta possivelmente determinada por episódios de dessaturação (Neumann et al., 1995) ou arritmias. Existem evidências de que a disfunção simpática cardíaca no DM envolve áreas de desnervação (distal) tanto quanto áreas de hiperinervação (proximal) do VE, o que facilitaria as arritmias malignas por alterar a estabilidade elétrica e/ou comprometer o fluxo sanguíneo miocárdico (Stevens et al., 1998).

Em nosso grupo, temos utilizado o modelo experimental de diabetes por STZ no estudo das disfunções do controle autonômico do sistema cardiovascular. Estudos de nosso laboratório verificaram redução PA e da FC, desde 5 até 80 dias após a indução do DM (Schaan et al., 1997; Dall'Ago et al., 1997; Maeda et al., 1995; De Angelis et al., 2008). Os mecanismos envolvidos nestas disfunções ainda não estão perfeitamente esclarecidos, mas existem evidências consistentes do envolvimento de alterações na FC intrínseca, no tônus vagal e no controle reflexo da FC (barorreflexo e quimiorreflexo) neste prejuízo cardiovascular (De Angelis et al., 2002 e 2009).

No que tange à modulação autonômica cardiovascular, tem sido repetidamente demonstrado em humanos e animais de experimentação que o IM induz um aumento da atividade simpática e uma atenuação do reflexo comandado pelos barorreceptores (Felder et al., 1979; Hageman et al., 1993).

O aumento da atividade simpática tem sido documentado de diferentes maneiras, incluindo a medida direta do nervo fibular, a medida das concentrações séricas de noradrenalina, a resposta a simpaticolíticos e outros, associados não só

com alterações no tônus vascular, mas também com maior risco de morte cardíaca após o IM (Negrão, 2008). As alterações do simpático periférico dependem não só da geração central de uma atividade tônica, como de uma atividade física modulada por diferentes receptores periféricos, dentre eles o barorreflexo, que tem sido reconhecido também como um importante preditor de risco após evento cardiovascular. De fato, o estudo ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) forneceu evidências clínicas do valor prognóstico da sensibilidade do barorreflexo e da variabilidade da frequência cardíaca na mortalidade cardíaca pós IM, independente da FE do VE e de arritmias ventriculares (La Rovere et al., 1998).

Os pressoreceptores e os receptores cardiopulmonares estão também envolvidos na modulação da atividade simpática do sistema cardiovascular, a qual tem sido documentada como exacerbada pós IM e na IC (Schwartz et al., 1990). Em nosso grupo, Lacerda et al. (2007), verificou prejuízo da sensibilidade dos pressoreceptores e dos receptores cardiopulmonares pós IM, associado a uma hiperatividade simpática em ratos infartados. Em outro trabalho, pacientes com cardiopatia chagásica e função ventricular preservada apresentaram deficiência no reflexo cardiopulmonar, adicionando o envolvimento desses receptores na constelação de alterações do sistema nervoso autônomo observado nesta doença (Consolim-Collombo et al., 2000). Esses achados, em conjunto, demonstram um papel importante da função ventricular e do controle reflexo da circulação nas disfunções cardiovasculares.

Considerando a importância da modulação autonômica do coração nas respostas de adaptação à isquemia miocárdica, avaliações da relação dos sistemas

simpático/parassimpático sobre o coração poderiam fornecer informações relevantes dos mecanismos envolvidos, por exemplo, na determinação da maior FE observada nos animais infartados diabéticos, quando comparados aos infartados somente.

Com esse objetivo, tem-se desenvolvido uma série de ferramentas de análise dos diversos parâmetros cardiovasculares e, empregado alguns marcadores de atividade autonômica para o coração para a estratificação de risco coronariano. Dentre eles, a análise tempo frequência dos sinais cardiovasculares, tem sido uma das mais utilizadas. Pelo seu uso, seria possível avaliar a variabilidade da pressão arterial (VPA) e da FC nos diferentes grupos, quantificando a participação dos componentes oscilatórios de frequência bem como calcular o índice alfa e desta forma ter informações sobre o controle barorreflexo em faixas fisiológicas de variação de pressão arterial (PA).

Nesse sentido, considerando que no período de 10-15 dias pós IM a mortalidade no grupo diabético infartado foi reduzida em relação ao grupo somente infartado, poderíamos considerar que esse período é uma janela terapêutica onde intervenções farmacológicas e não farmacológicas, como o treinamento físico, poderiam ser aplicadas com maior probabilidade de sucesso. Assim seria desejável avaliar a função autonômica cardiovascular pós treinamento físico em ratos diabéticos infartados, a fim de se verificar melhoras nestas variáveis determinantes de mortalidade em portadores de diabetes.

1.3 Treinamento físico e diabetes

Os benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos após o exercício físico agudo e crônico têm levado muitos investigadores a sugerir o treinamento físico como uma conduta não farmacológica importante no tratamento de diferentes patologias como o DM e a IC (Walberg et al., 1988; Roveda et al, 2005; La Rovere et al., 2002)

O treinamento físico pode provocar alterações neurovegetativas e cardiovasculares importantes. Bradicardia de repouso, por exemplo, tem sido verificada em humanos e animais e tem sido atribuída a aumento do tônus vagal, diminuição da atividade simpática e alteração nas células marcapasso (Negrão et al., 1992), bem como à diminuição do estresse oxidativo (De Angelis et al., 1997) e a hipertrofia cardíaca (Sigvardsson et al., 1977). Em animais diabéticos, o treinamento físico se mostrou eficaz em reverter às alterações da FC e da PA, além de melhorar a função contrátil do coração desses animais (De Angelis et al., 2000).

Além disso, dados ainda não publicados de nosso laboratório mostram que a redução do fluxo coronário basal observado em ratos diabéticos após 90 dias de indução foi revertida pelo treinamento físico em esteira (10 semanas), indicando que o este poderia ser considerado uma importante ferramenta no manejo dessas alterações circulatórias. **Todavia, pouco se sabe sobre as alterações no fluxo sanguíneo miocárdico e periférico em animais infartados diabéticos e não diabéticos, bem como, se o treinamento físico poderia induzir melhora destas alterações refletindo na redução da mortalidade destes grupos.**

Estudos realizados em humanos (Barney et al., 1988; Mc`Donald et al., 1993) e animais (Bedford & Tipton 1987; Negrão et al., 1992b De Angelis et. al.2004) tem detectado importantes modificações no arco reflexo pressorreceptor, após um período de treinamento físico em normotensos. Em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos diabéticos, verificou-se a melhora da sensibilidade reflexa para a bradicardia e taquicardia após o treinamento físico (Silva et. al, 1997; De Angelis et. al.,2002). Tais resultados não foram observados em ratos hipertensos por bloqueio da síntese do óxido nítrico (De Angelis et al., 1999a). Em nosso laboratório, demonstramos que o prejuízo na sensibilidade dos pressorreceptores foi revertida pelo treinamento físico em ratos diabéticos por STZ (Harthmann et al., 2007).

Além disto, La Rovere et al. (2002) evidenciaram que o treinamento físico após o IM pode modificar favoravelmente a sobrevida a longo prazo e que este benefício está provavelmente relacionado a melhora da sensibilidade barorreflexa e consequentemente, do balanço autonômico nestes indivíduos infartados. Esses dados de melhora no controle reflexo da PA sugerem que o treinamento físico possa modificar favoravelmente o controle autonômico cardiovascular reduzindo mortalidade.

Nesse sentido o treinamento físico vem sendo uma notável estratégia não farmacológica no tratamento de pacientes diabéticos com IC, contudo, existem controvérsias na literatura a respeito da intervenção precoce em pacientes pós IM. Além disso, alterações morfológicas e funcionais cardiovasculares induzidas pelo treinamento físico nesses pacientes permanecem pouco estudadas.

2. Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da intervenção precoce através do treinamento físico na mortalidade, na capacidade funcional, na função ventricular, nos fluxos sanguíneos e no débito cardíaco, bem como no controle autonômico cardiovascular, avaliado pela análise da variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca e pela sensibilidade dos pressorreceptores e dos receptores cardiopulmonares em ratos infartados, diabéticos ou não.

3. Materiais e métodos

3.1 Animais e grupos

A presente dissertação teve a aprovação do seu projeto pela Comissão de Ética para Análises de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (nº. 799/06).

Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 200 e 300g provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos agrupados, em ambiente com temperatura controlada (22⁰ - 24⁰C) e com luz controlada em ciclo de 12 horas (claro:escuro). Água e comida foram oferecidas de modo irrestrito, sendo que a dieta foi normoprotéica (12% de proteínas). Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais e controles a seguir relacionados.

Grupo Controle (GC)- Foram acompanhados durante 105 dias (n=08).

Grupo Infartado (GI)- Foi realizada a oclusão coronariana 15 dias após o início do protocolo e os animais foram acompanhados por mais 90 dias (n=08).

Grupo Infartado treinado (GIT)- Foi realizada a oclusão coronariana 15 dias após o início do protocolo. Cinco dias após a oclusão da coronária, os animais foram treinados por 85 dias (n=08).

Grupo Diabético/ Infartado (GID) – O diabetes foi induzido no dia 1 e no dia 15 foi realizada a oclusão coronariana, seguindo-se o acompanhamento dos animais por mais 90 dias (n=08).

Grupo Diabético/ Infartado treinado (GDIT) – O diabetes foi induzido no dia 1 e no dia 15 foi realizada a oclusão coronária. Cinco dias após a oclusão da coronária, os animais foram treinados por 85 dias (n=08).

Sequência experimental

3.2 Indução do Diabetes

Após um jejum de 8 horas, os animais foram anestesiados com éter etílico e o diabetes foi induzido por uma única injeção endovenosa de STZ (50mg/Kg, e.v., Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) na veia da cauda (Rerup, 1970). A STZ foi dissolvida em tampão citrato (0,01M, pH 4,5) e injetada cerca de 5 minutos após sua diluição. Os animais controles foram injetados somente com tampão citrato (Junod et al., 1969).

Cerca de 2 dias após a indução, os animais foram novamente submetidos a um jejum de 8 horas para verificar a ação da STZ. A dosagem da glicemia foi realizada por hemoglicose teste, através de tiras Advantage (Advantage - Roche®). Foram selecionados para os grupos diabéticos os animais que apresentaram glicemia acima de 250 mg/dL.

3.3 Infarto do Miocárdio

Quinze dias após a indução do diabetes ou acompanhamento, os animais foram pesados e anestesiados com uma mistura de Ketamina (80 mg/kg) e Xilazina (12mg/kg) por via intraperitoneal. Foram colocados em decúbito dorsal e intubados

(Gelco-14G). Um pequeno corte foi realizado na pele e os músculos peitorais foram afastados. O animal foi submetido à respiração artificial (Intermed, Inter 3, São Paulo, SP, Brasil) e foi realizada uma toracotomia esquerda no quarto espaço intercostal, sendo colocado um afastador entre as costelas para permitir a melhor visualização. O pericárdio foi seccionado e o átrio esquerdo afastado para visualização da artéria coronária esquerda. Esta foi ligada (fio mononylon 6.0) provocando a isquemia miocárdica.

Após a ligadura da coronária a incisão torácica foi fechada (fio mononylon 5.0) e o pneumotórax foi retirado mediante a sucção do ar com uma agulha (5x7) conectada a uma seringa de 10ml. Logo após, o animal foi retirado da ventilação artificial e estimulada a respiração. Os músculos afastados foram reposicionados e a pele suturada (fio mononylon 4.0). Os animais receberam 30000 UI de Benzilpenicilina benzatina (Penretard, Cibran, Tanquá, RJ, Brasil, i.m.) e foram colocados em ambiente aquecido para recuperação (Pfeffer et al., 1979 ; De Angelis, K. 2001.; Braga ,LM. 2007; Braga, LM. 2008).

Figura 2- Oclusão da artéria coronária esquerda no miocárdio do rato

3.4 Avaliações Ecocardiográficas

As medidas ecocardiográficas foram realizadas 2 e 90 dias pós IM no Laboratório de Hipertensão Experimental do InCor – HC FMUSP e seguiram as recomendações do Comitê de Padronização do Modo M da Sociedade Americana de Ecocardiografia (Sahn et al., 1978). Os exames foram realizados por um único observador e em cada exame foi coletado um total de cinco medidas para cada variável, sendo calculados posteriormente, a média, o desvio padrão da média e o erro padrão da média dessas medidas. O exame ecocardiográfico foi realizado com os animais anestesiados com uma solução de Ketamina (80 mg/Kg) e Xilazina (12 mg/Kg), através de injeção intra peritoneal. Foi utilizado o equipamento SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA), com transdutor de 15 MHz para as avaliações ecocardiográficas. As imagens foram feitas a uma frequência de 13,0 MHz, para otimização da resolução e a penetração do animal. Para registro das imagens foi utilizado gel de transmissão para ultrassom de viscosidade média/alta (General Imaging Gel, ATL, Reedsville, USA). As imagens foram armazenadas em fitas de vídeo cassete (Sony SVO-9500 MD), em discos ópticos (Sony 128Mb) e em papel fotográfico geradas através de impressão colorida (Sony, Color Video Printer Mavigraph UP-5600 MDU).

A partir da visualização do ventrículo esquerdo (corte transversal) ao nível dos músculos papilares foram realizados: diâmetro diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do ventrículo esquerdo e a espessura do septo interventricular (SIV) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (PP) em sístole e diástole. Após a realização das medidas foi calculada a massa do ventrículo esquerdo (MVE) segundo orientação

da Sociedade Americana de Ecocardiografia, que estima a massa do ventrículo esquerdo através da utilização da seguinte fórmula matemática: $MVE = [(DDVE+SIV+PP)^3-(DDVE)^3] \times 1,047$, onde 1,047 (mg/mm³) corresponde a densidade do miocárdio. Além da massa do ventrículo esquerdo foi calculada a força de encurtamento do ventrículo esquerdo ($D\% = [(DDVE-DSVE)/DDVE] \times 100$).

Os índices de função sistólica do modo bidimensional foram obtidos a partir do método de Simpson modificado, uma vez que é um método mais fidedigno para corações infartados do que aqueles obtidos apenas a partir do modo M.

Os valores absolutos da MVE foram normalizados de duas diferentes formas. Essas normalizações se fazem necessárias em função da massa ventricular variar entre animais de diferentes pesos corporais. Foi calculado o índice de hipertrofia cardíaca através da divisão da massa do ventrículo esquerdo (em gramas de tecido) pelo peso corporal (em quilogramas).

As imagens obtidas através do Doppler foram utilizadas para se calcular os parâmetros da função diastólica do VE. Foram medidos os picos de velocidade da onda E, os picos de velocidade da onda A, o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e o tempo de desaceleração e foi calculado a relação onda E / onda A. Utilizando ainda o tempo de ejeção (TE) do fluxo de via de saída do VE foi calculada a velocidade de encurtamento circunferencial da fibra miocárdica ($VEC = [(DDVE-DSVE)/DDVE]/TE$). Embora o VEC seja sensível a mudanças agudas da pressão arterial na sobrecarga hemodinâmica, em condições basais, na ausência de mudanças agudas da pressão arterial, o cálculo do VEC fornece informações quanto à contratilidade miocárdica.

A região de infarto foi delimitada de acordo com a cinética das paredes do miocárdio, avaliadas pelas seguintes janelas ecocardiográficas: longitudinal paraesternal direita, transversal (ao nível dos músculos papilares) e apical (2 e 4 câmaras). Regiões hipocinéticas (espessamento sistólico abaixo do normal), acinéticas (ausência de espessamento durante a sístole) e discinéticas (movimentação paradoxal durante a sístole) foram consideradas como infartadas. Desta forma, a área de infarto foi delimitada através da razão destas regiões com a área total das paredes miocárdicas do VE (Nozawa et al., 2006; Braga, et al. 2007; Braga, et al. 2008).

3.5 Avaliação do consumo de oxigênio

Todos os animais foram submetidos à avaliação da capacidade física máxima, por meio respirometria aberta no início, na 5^a e na 10^a semanas de treinamento físico. A determinação metabólica de consumo de oxigênio foi de acordo com o método descrito por Brooks e White (1978). O consumo de oxigênio VO_2 foi avaliado por meio de uma caixa metabólica conectada a um sensor de oxigênio (Ametek N-22M-S-3^A/I) que analisa, continuamente, as amostras das frações expiradas de oxigênio (FeO_2), bem como os valores das concentrações ambientais de oxigênio (FiO_2). Posteriormente os valores de VO_2 de cada animal foi calculado pela seguinte fórmula matemática, preestabelecida em nosso laboratório (Rodrigues, et al. 2007):

$VO_2 \text{ (mlO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = VE (FiO_2 - FeO_2) / PC$, onde: VE = Fluxo da bomba de sucção (ml/min); FiO_2 = Fração inspirada de O_2 ; FeO_2 = Fração expirada de O_2 ; PC = Peso corporal do animal (g).

Figura 3 – Esquema mostrando a realização da medida do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) em ratos.

3.6 Treinamento físico

Os animais foram adaptados por 5 dias pós IM, antes do início do treinamento físico. O treinamento físico foi realizado entre 50-60% do VO_2 máximo dos animais, em esteira ergométrica adaptada, cinco vezes por semana durante 12 semanas com intensidade e duração progressivas conforme previamente descrito por De Angelis et al. 1997, 1999. Na sexta semana foi realizada nova avaliação de VO_2 para adequar a intensidade de treinamento físico.

Avaliação hemodinâmica

3.7 Canulação

Ao final do período de treinamento físico ou acompanhamento, os animais foram anestesiados com Ketamina (80 mg/kg) e Xilazina (12mg/kg) para colocação de cateteres de polietileno (PE-10, com diâmetro interno de 0,01 mm que estava conectado ao PE-50, com diâmetro interno de 0,05 mm). As cânulas foram preenchidas com soro fisiológico, e posicionadas no interior da aorta abdominal e da veia cava inferior, através da artéria e veia femural esquerdas para registro de pressão arterial, frequência cardíaca e administração de drogas, respectivamente. Através de uma pequena incisão na região inguinal esquerda em direção ao feixe vasculo nervoso, as extremidades das cânulas com menor calibre (PE-10) foram introduzidas na artéria e na veia femural.

As cânulas foram fixadas com fio de algodão, na artéria e na veia e suas extremidades mais calibrosas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele. Após o término da cirurgia os animais foram tratados com uma única injeção intramuscular de penicilina G (Benzetacil®, Fontoura-Wyeth, 60.000 U). Cada rato foi mantido em caixa individual (Plexiglas, 25x15x10 cm) durante a realização do experimento (De Angelis et al. 1997, 1999; Irigoyen et al.,2005).

3.8 Registro de Pressão Arterial

Vinte e quatro horas após a canulação, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético (Blood Pressure XDCR, Kentc[®] Scientific, Litchfield, CT, EUA) que, por sua vez, estava conectado a um pré-amplificador (Stemtech BPMT-2, Quintron Instrumentc[®] Inc, Milwaukee, EUA). Sinais de pressão arterial foram gravados durante um período de 40 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, 1Kz, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento a batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para estudo dos valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e FC. Os valores de FC foram derivados do sinal pulsátil da PA (De Angelis et al. 1997, 1999; Irigoyen et al.,2005).

3.9 Avaliação da Sensibilidade dos Pressorreceptores

Após o registro da pressão arterial e da frequência cardíaca, uma extensão de aproximadamente 20 cm (PE10) foi conectada na cânula venosa para posterior injeção de drogas vasoativas.

Após os animais terem permanecido em condições de repouso por 15 minutos, a sensibilidade dos pressorreceptores foi testada através da infusão de

fenilefrina e de nitroprussiato de sódio. Fenilefrina e nitroprussiato foram infundidos randomicamente entre os animais, iniciando-se a sessão com um ou outro fármaco.

Para avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi comparado aos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi comparada com os valores de FC do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade baroreflexa avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM (De Angelis et al. 1997, 1999; Irigoyen et al.,2005).

Figura 4: Registro da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.

3.10 Avaliação do reflexo cardiopulmonar

A sensibilidade do reflexo cardiopulmonar foi avaliada no repouso, através de injeções endovenosas, em doses crescentes, de serotonina ou 5-hidroxitriptamina (2,0 e 8,0 µg/kg).

A serotonina estimula receptores cardiopulmonares do tipo 5-HT₃. Esses receptores cardíacos possuem aferências vagais, não mielinizadas, que são quimiossensíveis e, quando estimulados, desencadeiam o reflexo de Bezold-Jarisch. O reflexo de Bezold-Jarisch envolve diminuição do tônus simpático nos vasos de resistência e ativação das aferências vagais sobre o marcapasso cardíaco, ocorrendo quedas simultâneas da PA e da FC.

Foi considerado como sensibilidade do reflexo cardiopulmonar, a magnitude das respostas de queda da PAM e da FC, frente às injeções das diferentes doses de serotonina.

3.11 Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial nos domínios do tempo e da frequência

A partir do registro basal dos animais acordados, foi possível utilizar a ferramenta de análise tempo frequência da variabilidade da PAS. Os parâmetros para análise no domínio do tempo consistem em calcular os valores médios PAS, sendo a sua variabilidade quantificada pela média do desvio padrão.

A análise no domínio da frequência consistiu da decomposição do sistograma pela Transformada Rápida de Fourier (FFT). Após esse remodelamento matemático, foram obtidas as potências absolutas e em unidades normalizadas nas respectivas bandas de frequências pré determinadas: baixa frequência (BF, 0,20-0,75 Hz) e alta frequência (AF, 0,75-3,0 Hz).

A variabilidade do intervalo de pulso foi obtida pela análise do tacograma a partir do registro da PAS, onde a frequência dos batimentos foi determinada pelo

intervalo entre dois picos sistólicos. Para essa análise foram utilizados registros estáveis, de no mínimo 5 minutos e com frequência de amostragem de 2.000 Hz. Também dois componentes foram obtidos na análise espectral: BF e AF. Os dados foram expressos em valores absolutos e em unidades normalizadas. O componente BF foi usado como um índice da modulação simpática. O componente AF foi usado como um índice da modulação parassimpática. A relação BF/AF indicará o balanço simpato-vagal (Ishise, et al. 1998).

Os valores da PAS e intervalo RR foram utilizados para estimar a sensibilidade barorreflexa cardíaca pela análise espectral (índice alfa) na banda de BF. A coerência entre o intervalo RR e o sinal da PAS foi avaliada por meio da análise espectral cruzada. O índice alfa foi calculado apenas quando a magnitude da coerência entre o intervalo RR e o sinal da PAS excedeu 0,5 (intervalo, 0-1). Após encontrada coerência, o cálculo do índice alfa foi obtido a partir da raiz quadrada da razão entre os valores de BF do IP e BF da PA. Estes valores são expressos em ms/mmHg

3.12 Avaliações da função ventricular pela cateterização do ventrículo esquerdo

Ao final das avaliações hemodinâmicas sistêmicas, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, ip) e um cateter de polietileno P50 foi utilizado para a canulação do VE via artéria carótida direita. O cateter foi inserido até o ventrículo e sua posição determinada pela observação da característica onda de pressão ventricular. Sinais de pressão ventricular esquerda foram gravados durante um período de 5 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de

aquisição de dados (CODAS, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), permitindo análise dos pulsos de pressão, batimento a batimento, com uma frequência de amostragem de 2000 Hz por canal, para estudo dos valores de máxima pressão sistólica ventricular, pressão diastólica final (PDF) e derivadas de contração ($+dP/dt$) e relaxamento ($-dP/dt$) do VE.

A análise foi feita utilizando-se programa comercial associado ao sistema de aquisição. As planilhas de dados obtidas foram analisadas em programa comercial para análise (Excel), onde calcular-se-á a média e desvio padrão da $+dP/dt$ e da $-dP/dt$ para cada animal. A máxima pressão ventricular sistólica foi determinada utilizando-se programa comercial associado ao sistema de aquisição. Este programa permite a detecção de máximos e mínimos da curva de pressão batimento a batimento, fornecendo os valores de pressão ventricular sistólica (PSVE). A PDF foi determinada pela detecção manual do ponto de inflexão no traçado da onda de pressão diastólica do VE. Foram realizadas no mínimo 20 detecções por registro (Wichi, et al. 2007).

3.13 Avaliação do fluxo sanguíneo – Método das Microesferas Coloridas

Para determinação do fluxo sanguíneo foram utilizadas microesferas coloridas amarelas (Dye-Trak microspheres, Triton Technology). As microesferas são compostas de polystyrene (98%) e divinilbenzeno (2%) tendo diâmetro de $15,1 \pm 0,2 \mu m$ e concentração comercial de 3000 esferas/ml.

Após o registro de PA foi injetada uma solução contendo 300.000 esferas/180 μ l sonificadas durante 3 minutos imediatamente antes da infusão. Esta

solução (180 µl) foi colocada em 75 cm de uma extensão de cateter P50 conectada a uma seringa de 1 ml com salina pré-aquecida (40°C) contendo Tween 80 (0,01%). A cânula posicionada na aorta abdominal foi conectada a uma seringa de 1 ml, pré-heparinizada, para retirada de sangue durante a infusão. Dez segundos, antes da injeção das esferas iniciou-se a retirada de sangue através de uma bomba de retirada a um fluxo de 0,5 ml/min que continuou por 75 segundos. Foram injetadas 300.000 esferas (amarelas) do VE a um fluxo de 0,36 ml/min durante 50 segundos. Desta forma, os 180 µl de solução contendo as microesferas foram injetadas nos primeiros 30 segundos.

O volume de sangue retirado foi repostado através do volume injetado durante a infusão das esferas e por um pequeno volume de salina (0,1-0,2 ml) injetado “*in bolus*” logo após o término do procedimento.

O animal foi sacrificado com uma *overdose* de pentobarbital sódico, injetado no peritônio e os tecidos foram retirados para análise (ventrículo esquerdo, ventrículo direito, rins direito e esquerdo, pulmões, gastrocnêmio e sóleo).

Digestão e processamento dos tecidos

As amostras de sangue foram pesadas e colocadas em tubos de polipropileno de 15 ml. Foram centrifugadas a 2000g por 10 minutos. Adicionaram-se 4 ml de um reagente de hemólise ao pellet e centrifugou-se durante 30 minutos a 2000g. O sobrenadante foi desprezado e colocou-se 2 ml de hidróxido de sódio (2N), e levado ao banho (90°C) e seguindo o mesmo procedimento dos demais tecidos.

Os tecidos foram processados segundo técnica adaptada de Hakkinen et al, 1995. Os tecidos foram pesados (0,4 – 1,2 g) e colocados em tubo de polipropileno

de 15 ml, previamente identificado. Após a adição de 4 ml de hidróxido de sódio (2N) os tubos foram tampados e colocados em banho à 90°C por aproximadamente 2 horas. As amostras foram agitadas a cada 15 minutos até a dissolução dos tecidos. Os tubos foram removidos do banho e foi adicionado 8 ml de Reagente de Digestão. As amostras foram misturadas por inversão (5x) e centrifugadas por 30 minutos à 2000g. Os sobrenadantes foram desprezados, adicionou-se 10 ml de Reagente de Contagem, e as amostras foram novamente colocadas no banho (90°C) por aproximadamente 3 horas. Os tubos foram agitados a cada 20 minutos até que não notasse debris. Após, retirada do banho, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 2000g e o sobrenadante aspirado, permanecendo no tubo aproximadamente 100-200µl. Adicionou-se etanol absoluto (4°C), agitou-se os tubos para lavagem das amostras e centrifugou-se por 15 minutos a 2000g (4°C). O etanol foi aspirado, permanecendo 100-200µl no fundo dos tubos. As amostras foram colocadas em estufa (56°C) overnight para evaporação.

Extração do corante e medidas de absorbância

Para extração do corante, 250 µl de dimetilformamida foi colocada em cada tubo. As amostras foram agitadas vigorosamente por 30 segundos e centrifugadas por 10 minutos à 2000g.

Colocou-se 200 µl do sobrenadante em uma cubeta de quartzo de 180 µl (Sigma) e realizou-se a leitura das absorbâncias no espectrofotômetro. Os picos dos espectros de absorbância das microesferas amarelas foram usados a uma largura de banda de luz <1,8 nm. A absorbância mínima aceitável foi de 0,02 AU. Absorbâncias menores que estas foram excluídas da análise.

Determinação do fluxo sanguíneo

O volume de sangue coletado foi calculado dividindo o peso da amostra de sangue por 1,05 g/ml, a constante gravitacional específica do sangue. A constante de retirada do sangue (ml/min) foi determinada pela divisão do volume de sangue (ml) coletado pelo tempo (em minutos) de retirada da amostra. Para cada infusão, o cociente da divisão da constante retirada do sangue pela AU da amostra de sangue foi utilizado como base para calcular o fluxo para os tecidos:

$$Q_t = A_t (Q_s/A_s)$$

Onde, Q_t e Q_s são o fluxo para o tecido ou sangue, e A_t e A_s são as absorbâncias do tecido ou do sangue, respectivamente.

Os fluxos sanguíneos foram divididos pelo peso das amostras (g) para obter o fluxo em ml/min/g de tecido.

Determinação do débito cardíaco

O débito cardíaco, expresso em ml/min, foi calculado segundo a fórmula:

$$\frac{\text{número total de microesferas injetadas (300.000)} \times \text{fluxo de referência (0,5ml/min)}}{\text{número de microesferas no sangue}}$$

Determinação do índice cardíaco

O índice cardíaco foi obtido pela divisão do débito cardíaco (ml/min) pelo peso corporal (Kg) do animal, sendo expresso em ml/min/Kg.

Determinação da resistência vascular sistêmica total

A resistência vascular sistêmica total foi determinada pela divisão da pressão arterial média pelo débito cardíaco, sendo expresso em mmHg/ml/min.

3.14 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão. O teste de análise de variância (ANOVA) *two way* e para medidas repetidas foram devidamente aplicados para análise dos dados post hoc de Student-Newman-Keuls. A sobrevida foi estimada pelo método de Kaplan-Meier e comparada pelo teste log-rank. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

4. Resultados

4.1 – Peso corporal e glicemia

No início do protocolo, o peso corporal foi semelhante entre os grupos estudados. Entretanto, ao longo do estudo, os animais diabéticos (GDI e GDIT) apresentaram redução do peso corporal em relação aos grupos normoglicêmicos (GC, GI, GIT) (Tabela 1). Ao final do protocolo, os animais dos GC, GI e GTI apresentaram aumento do peso corporal quando comparados aos seus valores iniciais. Enquanto o GDI apresentou redução do peso corporal. O peso corporal do GDIT não foi diferente dos valores iniciais, além disso, foi maior se comparado ao do GDI (Tabela 1).

Na Tabela 1 também estão representados os valores de glicemia (mg/dl) dos grupos estudados, 15 dias após a injeção de STZ ou tampão citrato e aos 90 dias de protocolo experimental. Os animais diabéticos mantiveram seus níveis glicêmicos elevados em relação aos grupos normoglicêmicos, aos 15 e 90 dias de protocolo. No entanto, o GDIT apresentou uma redução da glicemia em relação aos seus valores iniciais.

Tabela 1 – Peso corporal (gramas) e glicemia (mg/dL) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético/infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
Peso Corporal (g)					
<i>inicial</i>	234±3	232±2	236±9	229±4	230±4
<i>final</i>	508±3&	469±10&	478±8&	201±3*‡#&	249±3*‡#†
Glicemia (mg/dL)					
<i>inicial</i>	88±2	78±2	77±2	384±12*‡	397±8*‡
<i>final</i>	88±1	81±2	80±1	371±9*‡	348±10*‡&

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; # p<0,05 vs. infartados treinados; †p<0,05 vs. diabético infartado; & p<0,05 vs. o mesmo grupo no período inicial.

4.2 – Consumo Máximo de Oxigênio (VO₂ máx.)

Na Tabela 2 estão apresentados os VO₂ máx. (ml/Kg/min) dos grupos experimentais avaliados em 15, 60 e 90 dias. Analisando o VO₂ máx., pode se observar que os animais infartados, diabéticos ou não, apresentaram valores reduzidos de VO₂ máx. em relação ao GC aos 15 dias de protocolo. Redução adicional do VO₂ máx. foi observada no GDI em relação ao GI aos 60 e 90 dias de protocolo. Além disso, notou-se que o VO₂ máx. do GIT e do GDIT, inicialmente reduzido, apresentou aumento progressivo ao longo do período do treinamento físico quando comparados aos animais infartados sedentários (GI e GDI), atingindo valores semelhantes ao do GC ao final dos 90 dias de protocolo (Figura 5).

Tabela 2 – Consumo máximo de oxigênio (VO₂ máx.) (ml/Kg/min) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).

Tempos/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
15 dias	82±3	55±1*	59±3*	54±1*	56±2*
60 dias	80±3	55±1*	64±3*	48±1*‡#	68±2*‡†
90 dias	77±3	49±1*	72±3‡&	45±2*‡#	71±1†‡&

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; # p<0,05 vs. infartados treinados; †p<0,05 vs. diabético infartado; & p<0,05 vs. avaliação aos 15 dias.

Figura 5 – Consumo máximo de oxigênio (VO₂ máx.) (ml/Kg/min) durante o protocolo nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; † p<0,05 vs. diabético infartado; & p<0,05 vs. avaliação aos 15 dias.

4.3 - Avaliações Ecocardiográficas

4.3.1-Morfometria

Na avaliação morfométrica inicial do VE, não foram observadas diferenças na massa do ventrículo esquerdo corrigido (MVE) entre os grupos experimentais. No

entanto, na avaliação final observou-se que os animais do GI, do GIT e do GDIT apresentaram maior MVE em relação ao GC. Entretanto, no GDI não foi observada essa diferença (Tabela 3).

Na avaliação da cavidade do VE na diástole (VEDIA), observou-se um aumento nos animais infartados (GI, GIT, GDI e GDIT) quando comparados ao GC no início e no final do protocolo (Tabela 3).

Em relação à área do ventrículo esquerdo na diástole (Área VEDIA), observou-se um aumento em todos os grupos infartados quando comparado com o GC na fase inicial do protocolo. Na avaliação final, foram observados valores aumentados da área do VEDIA nos GI, GIT e GDI em comparação ao GC. Entretanto, os animais do GDIT não apresentaram diferença significativa da área do VEDIA em relação ao GC.

Tabela 3 – Parâmetros ecocardiográficos de morfometria nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
MVE (g/Kg)					
<i>Inicial</i>	1,02±0,02	1,06±0,04	1,11±0,04	1,00±0,05	1,13±0,04
<i>Final</i>	1,10±0,03	1,22±0,03*	1,25±0,03*	1,14±0,05	1,21±0,03*
VEDIA (cm)					
<i>Inicial</i>	0,65±0,01	0,75±0,01*	0,79±0,03*	0,77±0,03*	0,81±0,03*
<i>Final</i>	0,71±0,02	0,86±0,03*	0,85±0,03*	0,86±0,03*	0,84±0,04*
Área VEDIA (cm²)					
<i>Inicial</i>	0,77±0,03	0,92±0,04*	0,92±0,03*	0,96±0,07*	0,97±0,04*
<i>Final</i>	0,82±0,04	1,12±0,06*	1,10±0,04*	1,08±0,04*	0,99±0,06

Valores representam médias ± EPM. Massa do VE corrigida pelo peso corporal (MVE) e cavidade do VE na diástole (VEDIA), Área do VE Diástole (Área VEDIA). *p<0,05 vs. controle.

4.3.2-Função Sistólica e Diastólica

A função sistólica foi avaliada pela FE e pela velocidade de encurtamento circunferencial (VEC, circ/seg), conforme observado na Tabela 4.

Na avaliação inicial observou-se que a FE estava reduzida, nos grupos infartados (GI, GIT, GDI e GDIT) em relação ao GC. Entretanto, após o treinamento físico o GIT e o GDIT apresentaram uma melhora na FE quando comparada aos seus valores iniciais e com os seus respectivos grupos sedentários (GI e GDI), não sendo mais encontrada diferença com o GC. Além disso, observamos que na avaliação final o GDI apresentou uma FE maior que o GI.

No início do protocolo o VEC foi menor nos grupos infartados em relação ao GC. No entanto, na avaliação final somente o GI apresentou redução do VEC em comparação ao GC (Tabela 4).

Tabela 4 – Parâmetros ecocardiográficos de função sistólica nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
<i>FE (%)</i>					
<i>Inicial</i>	74±2	43±3*	41±2*	44±4*	43±3*
<i>Final</i>	71±1	40±1*	59±4*‡&	54±1*‡	58±4*‡&
<i>VEC (circ/s 10⁻⁴)</i>					
<i>Inicial</i>	55±3	36±2*	36±4*	38±2*	36±6*
<i>Final</i>	52±2	35±3*	38±4	41±2	41±3

Valores representam média ± EPM. Fração de ejeção (FE) e velocidade de encurtamento circunferencial VEC. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; †p<0,05 vs. diabético infartado; & p<0,05 vs. o mesmo grupo no período inicial.

A função diastólica foi avaliada pelo TRIV, pela velocidade de desaceleração do pico E (Desac. E) e pela avaliação da relação do pico E com o pico A (Rel. E/A).

Não foram observadas diferenças no TRIV e no Desac. E entre os grupos estudados. Quando avaliada, inicialmente, a Rel. E/A dos grupos infartados estava maior quando comparado a do GC. Na avaliação final os animais do GI mostraram manutenção dos valores elevados deste parâmetro em relação ao GC. Os GIT, GDI e GDIT demonstraram uma redução dessa variável em relação a sua respectiva avaliação inicial e em comparação ao GI (Tabela 5).

Tabela 5- Parâmetros ecocardiográficos de função diastólica nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
<i>TRIV (ms)</i>					
<i>Inicial</i>	32,6±2	27,4±2	29±2	30,4±3	28,7±1
<i>Final</i>	30,3±1	30,1±2	30,5±2	36,6±2	30,1±2
<i>Desac. E (ms)</i>					
<i>Inicial</i>	32,2±3	30,7±2	33,0±4	29,7±3	26,7±2
<i>Final</i>	29,4±3	35,0±3	29,4±3	37,1±4	33,0±2
<i>Rel. E / A</i>					
<i>Inicial</i>	1,6±0,1	2,5±0,2*	2,6±0,2*	2,7±0,2*	2,5±0,4*
<i>Final</i>	1,6±0,1	2,7±0,4*	1,5±0,03‡&	1,6±0,09‡&	1,5±0,07‡&

Valores representam média ± EPM. Tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV); desaceleração do pico E (Desac. E) e relação E/A (Rel. E/A). *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; & p<0,05 vs. mesmo parâmetro no período inicial.

A área de IM, avaliada pelas áreas acinéticas e discinéticas do VE, através do ecocardiograma, foi semelhante entre os GI, GIT, GDI e GDIT na avaliação ecocardiográfica inicial. O percentual da parede do VE infartada na avaliação final do GI (35 ± 1%) foi igual quando comparada à sua avaliação inicial (34 ± 3%), o mesmo foi observado no GDI (inicial: 36 ± 3% e final: 38 ± 4%). Entretanto, no GIT observou-se uma redução dessa área de IM ao final do período de treinamento físico (inicial: 34 ± 5 % e final: 19 ± 6%), sendo esta melhora também observada no GDIT (inicial: 37±3% e final: 21±4%) em relação a sua área de infarto inicial e em comparação aos seus respectivos grupos sedentários (GI e GDI) (Figura 6).

Figura 6 – Área acinética e discinética do VE (%) nas avaliações iniciais e finais nos animais dos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). ‡ p<0,05 vs. infartados; †p<0,05 vs. diabético infartado; & p<0,05 vs. o mesmo grupo no início do protocolo.

4.4. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

Como pode ser visto na Tabela 6, os animais infartados sedentários (GI e GDI) apresentaram valores reduzidos de PA quando comparados ao grupo GC (Figura 7). Além disso, o GDI apresentou redução na FC se comparado ao GC e ao GI. O treinamento físico induziu melhora nessas variáveis hemodinâmicas. Os grupos GIT e GDIT apresentaram valores da PA e da FC semelhantes aos observados no GC. Além disso, a PA e a FC foram maiores no GDIT em relação ao GDI (Tabela 6).

Tabela 6 - Avaliações hemodinâmicas sistêmicas nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
PAS (mmHg)	125±2	114±3*	120±1	108±2*	121±1†
PAD (mmHg)	91±2	86±3*	89±1	83±2*	96±1‡†
PAM (mmHg)	108±2	98±3*	103±1	96±2*	109±1‡†
FC (bpm)	352±12	349±6	335±10	282±19*‡	323±10†

Valores representam média ± EPM. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média; FC: frequência cardíaca. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

Figura 7- Pressão arterial média (mmHg) nos animais dos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

4.5 Sensibilidade Barorreflexa

A resposta bradicárdica, representada pelo índice de bradicardia reflexa (IBR) em resposta a aumentos de PA após doses crescentes de fenilefrina, foi menor nos animais do GI e GDI quando comparados ao GC. No GDI observou-se um prejuízo no IBR em relação ao GI. Já o treinamento físico induziu uma melhora no índice de bradicardia reflexa, quando comparado o GIT e o GDIT com seus respectivos controles (GI e o GDI), de modo que os animais treinados apresentaram valores semelhantes aos observados no GC (Tabela 7) (Figura 8).

As respostas taquicárdicas, representadas pelo índice de taquicardia reflexa (ITR) em resposta a quedas de PA após a injeção de nitroprussiato de sódio, também apresentaram valores reduzidos nos animais do GI e do GDI quando comparadas ao GC. A resposta taquicárdica estava reduzida no GDI em relação ao GI. Os grupos GIT e GDIT apresentaram uma melhora no ITR em relação aos valores observados no GI e no GDI, aproximando-se dos valores o GC (Tabela 7) (Figura 8).

Tabela 7 - Índices de bradicardia (IBR) e de taquicardia (ITR) reflexas (bpm/mmHg) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)

variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
IBR (bpm/mmHg)	-2,08±0,11	-1,45±0,08*	-2,10±0,13‡	-1,01±0,11*‡	-1,77±0,12†
ITR (bpm/mmHg)	3,23±0,17	2,00±0,41*	3,20±0,20‡	1,29±0,20*‡	2,59±0,23†

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

Figura 8- Índices de bradicardia (IBR) e de taquicardia (ITR) reflexas (bpm/mmHg) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). * $p < 0,05$ vs. controle; ‡ $p < 0,05$ vs. infartados; † $p < 0,05$ vs. diabético infartado.

4.6 Reflexo Cardiopulmonar

O reflexo cardiopulmonar foi avaliado através da variação da pressão arterial (hipotensão) e da frequência cardíaca (bradicardia) após doses crescentes de serotonina (5HT). A resposta de bradicardia após a injeção de 5HT, nas doses de 2 e 8 μ g, foi menor no GDI quando comparado ao GC, GI e GIT. O treinamento físico no GDIT induziu melhora na resposta de bradicardia as doses de 2 e 8 μ g 5HT quando comparado com GDI. A resposta de bradicardia a dose de 8 μ g de 5HT permaneceu reduzida no GDIT em relação aos animais normoglicêmicos (GC e GIT). Observou-se maior resposta bradicardica à dose de 8 μ g de 5HT em relação à dose de 2 μ g de 5HT nos GC, GI, GIT e GDIT. A resposta hipotensora não variou de acordo com as doses. O GDI apresentou redução na resposta hipotensora às doses 2 e 8 μ g de 5HT em relação ao GC. Não foram observadas diferenças na resposta hipotensora entre os GC, GI, GIT e GDIT (Tabela 8).

Tabela 8 – Reflexo cardiopulmonar, avaliada pelas respostas bradicárdicas (bpm) e hipotensoras (mmHg), nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
ΔFC(bpm)					
2μg	-117 $\pm$ 36	-109 $\pm$ 25	-103 $\pm$ 7	-18 $\pm$ 6*‡#	-60 $\pm$ 22†
8μg	-261 $\pm$ 17 &	-233 $\pm$ 22&	-210 $\pm$ 32&	-28 $\pm$ 6*‡#	-131 $\pm$ 28*#†&
ΔPA(mmHg)					
2μg	-20 $\pm$ 4	-27 $\pm$ 5	-22 $\pm$ 5	-6,7 $\pm$ 1*	-13 $\pm$ 3
8μg	-35 $\pm$ 2	-24 $\pm$ 5	-38 $\pm$ 8	-13 $\pm$ 6*	-19 $\pm$ 5

Valores representam média $\pm$ EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; # p<0,05 vs. infartados treinados; †p<0,05 vs. diabético infartado; & p<0,05 vs. dose de 2 μ g de 5HT.

4.7. Avaliações Invasivas da Função Ventricular

Os valores de PSVE, PDF e da FC, bem como as derivadas de contração (+dP/dt) e relaxamento (-dP/dt) do VE estão apresentados na Tabela 9.

A PSVE, +dP/dt e - dP/dt estavam reduzidas nos animais do GI e GDI em relação ao GC. O GIT e ao GDIT não apresentaram diferenças do GC na PSVE e nas dP/dt positivas e negativas, além disto, apresentaram valores aumentados das dP/dt positivas e negativas em relação ao GI. O GDIT teve maior - dP/dt em relação ao GDI. O GDIT apresentou menor PSVE em relação ao GC. Notou-se também acentuada redução dos valores de PSVE no GDI quando comparados ao GI. Os animais dos grupos infartados sedentários (GI e GDI) apresentaram aumento dos valores de PDF quando comparados aos ratos do GC, o que não foi observado no GIT e no GDIT. Além disso, no GI notou-se aumento adicional da PDF em relação ao GDI (Figura 9) (Tabela 9).

Tabela 9 – Pressão sistólica ventricular esquerda (PSVE) (mmHg), pressão diastólica final (PDF) (mmHg) e derivadas de contração (+dP/dt) e relaxamento (-dP/dt) (mmHg/seg) do ventrículo esquerdo nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT)

variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
<i>PSVE</i>	134±5	113±4*	123±3	93±4*‡#	100±4*#
<i>PDF</i>	5±0,3	16±2*	4,6±0,6‡	12±3‡*	7±3‡
<i>+dP/dt</i>	9.445±420	4.642±457*	9.439±548‡	5.402±752*	7.422±540‡
<i>-dP/dt</i>	-7.186±169	-3.208±481*	-8.089±437‡	-4.030±484*	-6.056±370‡#†

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; # p<0,05 vs. infartados treinados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

Figura 9 – Pressão diastólica final nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados.

4.8 Variabilidade da Frequência Cardíaca e da Pressão Arterial

A variabilidade do intervalo de pulso (IP) foi avaliada no domínio do tempo e da frequência. Não houve diferença no RMSSD entre os grupos estudados. Valores reduzidos de variância do intervalo de pulso (VAR IP) foram observados no GI e no GDI em relação ao GC. Redução adicional de VAR IP foi observada no GDI quando

comparado ao GI. Entretanto, os animais treinados (GIT e GDIT) apresentaram melhora dessa variável quando comparados aos animais sedentários, chegando a valores similares aos observados no GC.

No componente de baixa frequência BF do IP, os GI e GDI apresentaram valores reduzidos quando comparados com o GC, enquanto o GTI e GDIT apresentaram valores semelhantes aos observados no GC. Entretanto, quando comparamos o GI e o GDI observou-se maior redução nessa variável nos animais diabéticos infartados (Tabela 10).

O GI, o GIT e o GDI apresentaram redução na banda de alta frequência (AF) quando comparados ao GC. O treinamento físico não induziu alterações nesta variável no GIT. Já o GDIT apresentou um considerável aumento da banda de AF do IP quando comparado a todos os outros grupos estudados.

Tabela 10 – Variabilidade da IP nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT) , diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).

variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
RMSSD (ms)	5,72±0,6	4,74±0,30	5,41±0,40	6,84±1,11	5,89±0,74
VAR-IP (ms²)	100±13	58±10*	128±21‡	32±5*‡	105±21†‡
BF (ms²)	3,65±0,53	1,56±0,29*	4,53±1,22‡	0,67±0,16‡*	5,95±0,89†‡
AF (ms²)	14,11±0,87	7,34±1,01*	8,87±1,43*	6,79±0,84*	23,80±2,78#†*‡

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; # p<0,05 vs. infartados treinados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

Figura 10 – Variância do intervalo de pulso (IP) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). * $p < 0,05$ vs. controle; ‡ $p < 0,05$ vs. infartados; † $p < 0,05$ vs. diabético infartado

Não foram observadas diferenças na variância da pressão (VAR da PAS) entre GC, GI e GIT. O GDI e o GDIT apresentaram diminuição nos valores de variância da PAS quando comparados aos demais grupos.

A banda de BF da PAS foi semelhante entre os GC, GI, GIT e GDI. O GDIT apresentou redução da banda de BF da PAS quando comparado ao GC e ao GIT (Tabela 11).

Tabela 11 – Variabilidade da PAS nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).

Variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
VAR-PAS (mmHg ²)	26,01±2,46	35,69±6,84	35,64±3,35	10,23±2,12‡#*	10,35±2,63‡#*
BF (mmHg ²)	4,38±0,62	3,78±0,81	4,70±0,50	2,59±0,45	1,11±0,15*#

Valores representam média ± EPM. * $p < 0,05$ vs. controle; ‡ $p < 0,05$ vs. infartados; # $p < 0,05$ vs. infartados treinados; † $p < 0,05$ vs. diabético infartado.

Como pode ser observado na Figura 11, o índice alfa, que tem sido aceito como um representante da sensibilidade do barorreflexo espontâneo, também estava reduzido no GI ($0,47 \pm 0,06$) e no GDI ($0,78 \pm 0,14$) em relação ao GC ($1,05 \pm 0,10$), no entanto, essa diferença não foi observada entre o GC e os grupos treinados (GIT: $1,00 \pm 0,12$ e GDIT: $2,29 \pm 0,23$). Adicionalmente, o GDIT teve maior índice alfa em relação aos demais grupos experimentais.

Figura 11 – Índice alfa (ms/mmHg) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). * $p < 0,05$ vs. controle; ‡ $p < 0,05$ vs. infartados, # $p < 0,05$ vs. infartados treinados; † $p < 0,05$ vs. diabético infartado.

4.9 Débito cardíaco e fluxos sanguíneos regionais

Na análise do débito cardíaco (DC), observou-se que os animais infartados sedentários (GI: 72 ± 7 e GDI: 57 ± 4 ml/min) apresentaram redução dessa variável quando comparado ao GC (111 ± 8 ml/min). O treinamento físico induziu normalização (GIT: 100 ± 10 e GDIT: 90 ± 7 ml/min) (Figura 12) nos grupos treinados.

Figura 12 – Débito cardíaco (DC) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). * $p < 0,05$ vs. controle; ‡ $p < 0,05$ vs. infartados; † $p < 0,05$ vs. diabético infartado.

No índice cardíaco foi observada uma diminuição nos animais GI (153 ± 14 ml/kg/min) quando comparados com os do GC (219 ± 14 ml/kg/min). Essa diferença não foi observada nos animais infartados treinados (GIT: 204 ± 8 ml/kg/min). Já nos grupos diabético infartados observou-se um aumento do índice cardíaco (GDI: 281 ± 26 e GDIT: 351 ± 32 ml/kg/min), quando comparados com o GI. O GDIT também apresentou um aumento do índice cardíaco em relação ao GC e ao GIT (Figura 13).

Figura 13 – Índice cardíaco nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). * $p < 0,05$ vs. controle; ‡ $p < 0,05$ vs. infartados; # $p < 0,05$ vs. infartados treinados; † $p < 0,05$ vs. diabético infartado.

Na Figura 14 estão apresentados os valores de resistência vascular periférica (RVP). A RVP apresentou-se aumentada nos animais infartado sedentários (GI: $1,50 \pm 0,2$ e GDI: $1,75 \pm 0,3$ mmHg/ml/min) em relação ao GC ($0,95 \pm 0,1$ mmHg/ml/min). Enquanto os grupos submetidos ao treinamento físico tiveram uma redução na RVP (GIT: $0,99 \pm 0,1$ e GDIT: $1,16 \pm 0,1$ mmHg/ml/min) em relação aos seus respectivos grupos sedentários (GI e GDI).

Figura 14— Resistência vascular periférica (RVP) nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT). *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

Os animais GI e GDI apresentaram uma diminuição nos fluxos sanguíneos: coronariano (VE e VD), pulmonar (significativo só no GDI), renal e muscular quando comparados aos animais do GC. O treinamento físico não foi capaz de alterar o fluxo coronariano (VE e VD) e o fluxo para o músculo sóleo no GIT, porém o fluxo sanguíneo dos pulmões, dos rins e gastrocnêmio não foram diferentes entre o GIT e o GC. Redução adicional do fluxo pulmonar, renal e muscular (gastrocnêmio) foi observado no GDI em relação ao GI. Já no GDIT o treinamento físico induziu melhora no fluxo coronariano, renal e para o gastrocnêmio, não sendo observada

diferença em relação ao GC. O fluxo pulmonar e do músculo sóleo permaneceram reduzidos no GDIT em comparação ao GC (Tabela 12).

Tabela 12 – Fluxo sanguíneos regionais nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT).

variáveis/ grupos	GC	GI	GIT	GDI	GDIT
VE	3,37±0,5	1,38±0,1*	1,46±0,3*	1,94±0,2*	2,76±0,4
VD	2,08±0,3	1,05±0,5*	0,96±0,4*	0,48±0,11*	1,97±0,2†‡
Pulmão	1,31±0,1	0,76±0,2*	1,22±0,3	0,40±0,09*‡	0,73±0,2*
RD	3,69±1	1,86±0,4*	2,27±0,7	0,91±0,3*‡	2,73±0,4†
RE	3,57±1	1,83±0,5*	2,12±0,4	0,97±0,3*‡	2,89±0,4†
Gastrocnêmio	0,34±0,01	0,14±0,04*	0,35±0,01‡	0,12±0,04*	0,50±0,05†‡
Sóleo	3,05±0,6	1,45±0,6*	1,27±0,7*	0,58±0,3*‡	0,49±0,1*

Ventrículo esquerdo (VE), ventrículo direito (VD), pulmão, rim direito (RD), rim esquerdo (RE) e dos músculos gastrocnêmio e sóleo. Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle; ‡ p<0,05 vs. infartados; # p<0,05 vs. infartados treinados; †p<0,05 vs. diabético infartado.

4.10 Mortalidade

A Figura 15 ilustra a sobrevida dos animais pertencentes aos GC, GI, GIT, GDI e GDIT ao final do protocolo. Nota-se pela sobrevida no final do protocolo de 41,30% no GI e de 30,81% no GDI que estes grupos tiveram um alto índice de mortalidade ao longo do protocolo quando comparados ao GC. Entretanto, observou-se que o treinamento físico aumentou esses índices de sobrevida, não sendo observada diferença entre os grupos treinados (GIT: 87,5% e GDIT: 75%) em relação ao GC.

Figura 15 – Percentual de sobrevivência nos grupos controle (GC), infartado (GI), infartado treinado (GIT), diabético infartado (GDI) e diabético infartado treinado (GDIT) ao final do protocolo. * $p < 0,05$ vs. controle; † $p < 0,05$ vs. infartados; # $p < 0,05$ vs. infartados treinados; ‡ $p < 0,05$ vs. diabético infartado.

5. Discussão

Na busca da melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nas alterações observadas em diabéticos pós IM, bem como os possíveis benefícios fisiológicos da intervenção precoce (1 semana) através do treinamento físico nesta condição, objetivou-se no presente trabalho avaliar os efeitos do treinamento físico nas funções ventricular e autonômica, no débito cardíaco, nos fluxos sanguíneos e na mortalidade de ratos infartados, diabéticos ou não. Nossos achados evidenciam prejuízo autonômico exacerbado e disfunção cardíaca atenuada em ratos diabéticos infartados quando comparados aos animais somente infartados, todavia, sem alteração significativa na mortalidade total deste grupo no período de protocolo. No entanto, o resultado mais importante deste estudo foi o benefício cardiovascular e autonômico do treinamento físico observado nos animais pós IM, diabéticos ou não, o qual repercutiu favoravelmente na sobrevivência.

5.1 Avaliações metabólicas e cardiorrespiratórias

O presente estudo confirma os resultados obtidos em trabalhos anteriores que demonstraram os prejuízos metabólicos e cardiorrespiratórios induzidos pelo diabetes por STZ. A ação diabetogênica da STZ mostra-se bastante eficiente na indução de um quadro severo de diabetes, apresentando alterações semelhantes às observadas em humanos diabéticos, tais como: hiperglicemia, hipoinsulinemia, poliúria e perda de peso (Junod et al., 1969). No presente estudo, o GDI e o GDIT apresentaram hiperglicemia e perda de peso corporal significante se comparados aos

grupos normoglicêmicos, conforme observado anteriormente em nosso laboratório (Maeda et al., 1995a; Dall'Ago et al., 1997; Schaan et al., 1997; De Angelis et al., 2000a; Wichi et al., 2007; De Angelis et al., 2007). Todavia, vale destacar que o grupo diabético infartado submetido ao treinamento físico (GDIT) apresentou redução da glicemia e manutenção do peso corporal.

De fato, estudos prévios têm demonstrado que o treinamento físico pode ser eficaz no controle metabólico, melhorando a homeostase da glicose, reduzindo a relação glicose/insulina e aumentando a sensibilidade à insulina (De Angelis et al., 1999). Além disso, o treinamento físico não só atenua a redução de GLUT4 no miocárdio (Hall et al., 1995), como também aumenta a expressão sarcolemal de GLUT4 em ratos diabéticos, contribuindo para o melhor metabolismo da glicose (Osborn et al., 1997).

O teste de esforço, juntamente com medidas de trocas gasosas (VO_2), é um excelente parâmetro para quantificar a capacidade cardiorrespiratória, o nível de condicionamento físico, bem como detectar algum tipo de patologia associada, tanto para o indivíduo atleta quanto para aqueles com doenças preexistentes (Lange et al., 2001). O VO_2 máx. representa o maior pico de captação de oxigênio atingido durante incrementos de esforço físico. A redução deste parâmetro pode ser resultado de diversos fatores, como exemplo, uma limitação do DC, um reduzido fluxo sanguíneo periférico e/ou prejuízo no metabolismo da musculatura esquelética (Francis et al., 2001).

A utilização do VO_2 máx. na prática clínica tem sido considerada um importante indicador prognóstico em indivíduos com IC, além de detectar prejuízos precoces em indivíduos diabéticos (Ming et al., 2001), uma vez que oferece padrões

fidedignos para o diagnóstico clínico. A avaliação das respostas cardiorrespiratórias ao exercício agudo e crônico, de forma semelhante ao realizado em humanos, tem sido uma prática comum na investigação de modelos animais de diferentes patologias (Wisloff et al., 2001; Rodrigues et al., 2007; Rolim et al., 2006).

No presente estudo, observamos redução na avaliação inicial do VO_2 máximo nos GI, GTI, GDI e GDIT e na avaliação final dos animais do GI e do GDI em relação ao do GC. De fato, em pacientes com disfunção ventricular, a intolerância ao exercício é uma manifestação clínica bastante comum e se correlaciona com o grau de disfunção cardíaca e à severidade da doença (Jikuhara et al., 1997; Negrão, 2008). Bigi et al. (2001) demonstraram uma reduzida capacidade de esforço, VO_2 máx. e uma correlação positiva entre a queda do VO_2 máx e o limiar anaeróbico em pacientes após evento isquêmico. Além disso, nossos resultados corroboram dados da literatura, nos quais animais com 5 semanas após IM apresentaram reduções no VO_2 máx. e do DC, o que limita o transporte de oxigênio para a musculatura esquelética, promovendo um desbalanço entre oferta e necessidade de oxigênio em relação aos incrementos de esforço (Rolim et al., 2006). Além disto, a presença de diabetes associado ao IM induziu redução mais exacerbada do VO_2 máx., conforme observado na avaliação final do GDI. Estudos anteriores de nosso grupo já haviam demonstrado que o diabetes experimental reduz o VO_2 máx. de ratos (Rodrigues et al., 2007) e, nesse sentido, é possível que as disfunções cardíaca e muscular (De Angelis et al. 2000; De Angelis et al., 2002) observadas neste modelo de diabetes possam ter-se somado as já conhecidas disfunções pós IM. Os achados do presente estudo confirmam redução do DC do GI e do GDI e redução dos fluxos sanguíneos,

o que poderia comprometer o consumo de oxigênio destes animais durante a realização do esforço.

Evidências acumuladas nas últimas duas décadas têm demonstrado que o treinamento físico é uma notável estratégia não farmacológica para o tratamento de pacientes com IC crônica. De fato, estudos têm demonstrado que o treinamento físico aumenta em torno de 12 a 31% o VO_2 pico já nos primeiros três meses de treinamento (Pinã IL 2003), aumentando assim a capacidade funcional destes pacientes.

Neste sentido, em nosso estudo observamos que o treinamento físico foi eficaz em promover um aumento progressivo do $\text{VO}_{2\text{máx}}$. no GIT e no GDIT, ao longo do protocolo experimental, evidenciando um melhor transporte e utilização de oxigênio com consequente melhora funcional. Kemi et al. (2007) em um estudo recente demonstraram que o treinamento físico foi eficaz em melhorar a capacidade aeróbica e a função cardíaca em ratos infartados, em combinação ou não com a administração de Losartan. O aumento do VO_2 máx. nos grupos treinados no presente estudo pode estar associado ao aumento do DC e/ou dos fluxos regionais observados nestes animais quando comparados aos grupos infartados sedentários.

5.2 Fluxo sanguíneo, morfometria e função cardíaca: avaliações não invasivas e invasivas da função ventricular esquerda

No presente estudo a área do infarto, avaliada pelo ecocardiograma através das áreas acinéticas e discinéticas da parede do VE, foi em torno de ~34% na avaliação inicial nos grupos infartados (GI, GIT, GDI e GDIT). Vale destacar que Moises et al.

(2000) e Nozawa et al. (2006) demonstraram que a avaliação da área de infarto pelo ecocardiograma é uma medida 100% sensível e que se correlaciona com as avaliações anatomo-patológicas (histologia). Neste aspecto vale destacar que ao final do protocolo de treinamento físico ou acompanhamento, observamos que os animais sedentários apresentaram uma manutenção das áreas acinéticas e discinéticas, enquanto, os animais submetidos ao treinamento físico (GIT e GDIT) apresentaram redução da área miocárdica comprometida. Esta redução observada nos animais treinados pode ter sido causada pela recuperação do miocárdio remanescente, ou seja, a área discinética observada pelo ecocardiograma pode ter recuperado sua movimentação contrátil natural em virtude do aumento do fluxo sanguíneo induzido pelas sessões de exercício (evidenciada inclusive em repouso no GDIT).

A perda, em torno de 40%, da massa de miócitos do VE após um evento isquêmico está associada à hipotensão, redução da FE e do DC após o IM (Anversa et al., 1985a, Pfeffer et al., 1991, Stefanon et al., 1994; De Angelis et al., 2001). Em resposta a alterações hemodinâmicas, a massa ventricular remanescente se hipertrofia (Anversa et al. 1985b, Meggs et al., 1993). Neste sentido, nota-se que na avaliação ecocardiográfica inicial não houve diferença na MVE entre os grupos estudados. De fato, Liu et al. (1997) demonstraram peso corporal, peso cardíaco e a razão peso do coração/peso corporal semelhantes entre ratos infartados e controles até 2 semanas após o IM. Entretanto, ao final do protocolo observou-se que os animais dos GI, GIT e GDIT apresentaram aumento da MVE; porém, esta hipertrofia encontrada nos animais infartados (sedentários e treinados) pode ter naturezas diferentes. Vale destacar que o GDI não apresentou aumento significativo de MVE ao final do protocolo em relação ao GC, sugerindo que o diabetes modifique o curso temporal da

hipertrofia ventricular pós IM. Neste sentido, resultados recentes de nosso grupo demonstram redução da MVE em ratos diabéticos por STZ (Wichi et al., 2007).

Nos animais sedentários, apesar da hipertrofia cardíaca compensar o déficit provocado pela morte dos miócitos decorrente do IM na fase inicial deste processo (aproximadamente até duas semanas pós-infarto), cronicamente a hipertrofia ventricular esquerda não resulta em melhora da função sistólica do VE, conforme avaliada em corações isolados por Mill et al. (1990) e pelo método de angiografia direta (para avaliar a função do VE em ratos anestesiados) por Liu et al. (1997). De fato, como observado neste estudo, os animais infartados sedentários (GI e GDI) apresentaram prejuízos importantes na função ventricular, como redução da FE, do DC, da PSVE, da derivada de contração do VE, além do aumento da PDF, acompanhada de dilatação da câmara ventricular (aumento da VEDIA e da área do VEDIA).

Os valores de FE (40-45%) observados nos grupos infartados neste estudo podem indicar um déficit moderado do VE, conforme Campos Filho et al. (2005). Além disso, é importante lembrar que todos os pacientes portadores de FE inferior a 50% são considerados portadores de disfunção sistólica (Simões et al., 2005). Indivíduos nestas condições apresentam grande predisposição para evolução ao quadro de IC, sendo esta uma síndrome clínica de alta incidência, caracterizada por intolerância ao esforço físico, fadiga associada ou não a edema e dispneia (Roveda et al., 2005). Vale destacar que o aumento da PDF nos grupos infartados sedentários reflete não só uma disfunção da PSVE, devido à perda de massa ventricular em função do IM, mas também um prejuízo no relaxamento cardíaco, demonstrado pela redução na $-dP/dt$ (De Felice et al., 1989; Pfeffer et al., 1990; Stefanon et al., 1994).

Pfeffer et al. (1985b) observaram diminuição do débito ventricular e não alteração da RVP em ratos com área de infarto maior que 42%, após 3 semanas de IM. Todavia, Drexler et al. (1985) demonstraram manutenção destes parâmetros após 6 semanas de IM. Inversamente, Pfeffer et al. (1985a) detectaram alterações mais acentuadas tanto no DC como na RVP em ratos com maior tempo de IM (3 meses) e tamanho do infarto de 40 a 45% do VE. De Felice et al. (1989) realizando uma avaliação temporal das alterações hemodinâmicas em ratos Sprague-Dawley determinaram inalteração do DC e do índice cardíaco com 4 semanas de IM (43% do VE) seguida de redução de ambos parâmetros na 7^a, 10^a, 20^a, 35^a semanas de IM (43-49% do VE).

Interessantemente e confirmando dados obtidos ainda não publicados por nosso grupo, o GDI apresentou menor disfunção cardíaca se comparado ao GI, evidenciado pela maior FE e VCF e pela menor PDF. Esses achados sugerem que o diabetes possa induzir um pré-condicionamento isquêmico e/ou adaptações à hiperglicemia. Vale ainda comentar que apesar do DC estar reduzido de forma semelhante no GI e no GDI o índice cardíaco estava melhor nos animais do GDI, o que poderia contribuir para a melhor perfusão do VE nos animais diabéticos infartados em relação aos animais somente infartados, resultando em melhor desempenho sistólico e diastólico deste grupo.

Quando submetidos ao treinamento físico, observamos que os animais do GIT e do GDIT evidenciaram melhora significativa da FE, VEC, relação E/A, $+dP/dt$ e, surpreendentemente, normalização da PDF, além de normalização da área do VEDIA do GDIT. Esses achados sugerem a presença da hipertrofia considerada “fisiológica” nos animais treinados, já bem estabelecida em humanos (Baggish et al, 2008; McMullen, 2007) e animais (Wisløff et al, 2001). Neste tipo de hipertrofia, ocorre

adição em série dos novos sarcômeros, e consequente aumento em seu comprimento pelo aumento no número das miofibrilas, para normalizar o estresse na parede do miocárdio levando a um aumento da cavidade do VE. A cavidade aumentada gera um elevado pico de tensão sistólica, que estimula o crescimento dos miócitos, pela adição de novos sarcômeros em paralelo, aumentando também a espessura da parede do VE de forma compensatória (Wisløff et al, 2001). Adaptações estas que levam, consequentemente, à melhora da função cardíaca, conforme observada nos grupos treinados no presente estudo.

Além disso, esta melhora da função ventricular pode estar associada a um aumento na expressão de proteínas relacionadas à receptação de cálcio intracelular. Conforme observado por Rolim et al. (2007), o treinamento físico aumenta a expressão de SERCA2 e fosfolambam fosforilado (na serina 16 e na treonina 17) bem como promove a normalização do trocador sódio/cálcio em um modelo de IC.

Vale destacar também que boa parte dos estudos realizados em pacientes com IC não demonstraram benefícios de forma significativa na bomba cardíaca que pudessem explicar a melhora de VO₂ máx. nestes pacientes pós treinamento físico, atribuindo o aumento do VO₂ máx. a melhora periférica (muscular, diferença arterio venosa de O₂) (Negrão, 2008). Nossos resultados sugerem que a intervenção precoce pós IM, poderia modificar favoravelmente a função cardíaca, em presença ou não de diabetes, além de induzir melhora nos fluxos musculares e na função autonômica.

Baseados em resultados prévios, ainda não publicados, de nosso laboratório, que evidenciaram redução do fluxo coronário avaliado aos 15 e aos 90 dias pós indução do diabetes por STZ, adicionalmente neste estudo avaliamos o DC e os fluxos sanguíneos regionais através da técnica de microesferas coloridas.

Confirmando a confiabilidade das nossas medidas, vale ressaltar que tanto o DC como os fluxos regionais quantificados nesse trabalho foram similares aos obtidos por outros autores em estudos prévios usando, por exemplo, o método de microesferas radioativas e/ou coloridas (Gardiner et al., 1990; Hakkinen et al., 1995; Kassab et al., 1998). O método de microesferas fornece informações de perfusão regional mais detalhadas que as obtidas com sensores de fluxo (Prinzen & Bassingthwaighe, 2000). Além disso, pode ser acessado em qualquer tecido do mesmo animal e não é influenciado por mudanças na permeabilidade vascular ou no volume de tecido, além de não necessitar de exposição cirúrgica ou manipulação de tecidos antes das medidas de fluxos sanguíneos (Chang et al., 1997).

Conforme esperado, observamos redução dos fluxos coronariano, renal, pulmonar e muscular nos animais do GI e do GDI. Esta redução pode ser explicada, pois, neste estudo, o IM ocasionou redução da FE, DC e aumento da RVP, influenciando diretamente o componente circulatório. Além disto, deve-se considerar que parte do tecido remanescente do IM permaneceu em isquemia, o que poderia contribuir para a redução de fluxo sanguíneo para o VE.

Os fluxos sanguíneos, renal e muscular, diminuídos observados neste trabalho foram previamente descrito por outros autores em ratos diabéticos e infartados (Hill e Larkins, 1989). Além disto, vale lembrar que redução adicional de fluxos regionais (renal e muscular) foi observada no GDI em relação ao GI, ao passo que o fluxo para o VE estava menos reduzido no GDI em comparação do GI (apesar de sem diferença estatística). Esses achados, em conjunto, sugerem adaptações de fluxo tecido-dependentes. Adicionalmente, essas alterações também poderiam representar uma adaptação de determinados tecidos à desordem metabólica de base provocada pelo

diabetes. Nesse aspecto, a hiperglicemia poderia ter esse tipo de consequência, uma vez que, a glicose, pode ter potencial vasoconstritor direto (King, 1996). De fato, o aumento da glicose pode levar ao aumento de produção de radicais livres reduzindo a disponibilidade de NO as células musculares lisas, induzindo um estado de aumento do tônus vasoconstritor (D'Amico et al., 2001). De fato, muitos estudos na literatura têm evidenciado uma grande incidência de doença macro e microvasculares em pacientes diabéticos (Deewania et al., 2003), o que poderia explicar a maior redução de fluxos para alguns territórios no GDI, sendo que essas disfunções têm sido associadas à disfunção endotelial.

No presente estudo, o treinamento físico aeróbio promoveu aumento no fluxo regional dos animais do GIT e evidente normalização para os fluxos em todos os órgãos avaliados no GDIT. É importante salientar que no GDIT o fluxo sanguíneo coronariano também foi normalizado, o mesmo não sendo observado para o GIT, o que poderia contribuir para a melhora nas funções sistólica e diastólica cardíaca. Evidências vêm sendo demonstradas a respeito dos benefícios do treinamento físico na função endotelial, a qual está associada a uma maior biodisponibilidade de NO, o que poderia estar relacionado à melhora da perfusão coronariana (Myers, 2003). Além disto, a redução da área de IM associada à melhora de função sistólica cardíaca podem ter contribuído de forma significativa para aumentar o débito cardíaco e os fluxos regionais nestes grupos.

5.3 Avaliações hemodinâmicas e autonômicas

Utilizando medidas diretas da pressão arterial batimento a batimento, observamos redução na PAM, PAS e PAD nos grupos infartados (GI e GDI) em relação ao grupo controle. De fato, estudos do nosso laboratório, utilizando técnicas de medida direta (Maeda et al., 1995a; Dall 'Ago et al., 1997; Schaan et al., 1997; De Angelis et al., 2000), têm demonstrado repetidamente queda de PA basal em ratos machos normotensos diabéticos em diferentes tempos de diabetes experimental.

Reconhecendo que a PAS reflete a capacidade de trabalho cardíaco, como sugerido por Yu & McNeill (1992), poderíamos especular que a redução da PA observado no presente trabalho possa estar relacionada à redução no desempenho ventricular. Reforçando essa possibilidade, encontramos na literatura estudos demonstrando que as mudanças observadas na PA de animais diabéticos poderiam estar relacionadas com alterações hemodinâmicas após o tratamento com estreptozotocina. É possível que alterações no DC, produzidas pela queda da FC, bem como pela redução da contratilidade ventricular (De Angelis et al., 2000) pudessem contribuir para redução da PA em animais diabéticos infartados.

Já é conhecido também que o IM está associado à hipotensão, tanto em humanos (Grassi & Mancia, 1994) quanto em animais de experimentação. Mill et al. (1997) observaram hipotensão em ratos avaliados com 30 dias de IM, sendo esta também observada por Koike et al. (1996) com 8 dias pós-IM. Outros autores também observaram taquicardia e hipotensão nos animais com 1 e 10 dias após IM (Mill et al., 1991; Meyrelles et al., 1994; Lacerda, 2000). Em nosso laboratório, De

Angelis et al. (2001) demonstraram reduzida PA e FC em animais com 8 semanas de IM. Essa hipotensão arterial poderia ser atribuída a algum grau de comprometimento do coração isquêmico, com conseqüente redução do DC e/ou a redução da atividade simpática periférica sobre os vasos de resistência. Vale lembrar que a atividade simpática periférica pode ser regulada diferencialmente em diversos territórios, obedecendo à regulação de vários fatores neuro-humorais ajustados local ou sistemicamente, por meio de reflexos comandados por diferentes receptores (Abboud et al., 1983).

Experimentos realizados em nosso laboratório evidenciaram que o treinamento físico aeróbio reverte a hipotensão e bradicardia de ratos diabéticos, provavelmente devido a melhora da função do marcapasso cardíaco, apesar de não modificar de forma significativa o prejuízo no tônus vagal para o coração (De Angelis et al., 2000). Estes resultados demonstram diferentes respostas frente ao treinamento físico, dependendo do modelo experimental estudado. De fato, neste estudo o treinamento físico normalizou a FC e a PA nos animais infartados, diabéticos ou não. A normalização da PA nos grupos treinados, neste caso, pode ser devido a uma melhora na função sistólica e diastólica, bem como a redução da RVP, observada como adaptação ao treinamento físico.

A neuropatia autonômica é uma complicação frequente do DM e está associada a altas taxas de morbidade e mortalidade em pacientes sintomáticos (Ewing et al., 1980). Em indivíduos diabéticos, a VFC pode preceder sintomas clínicos de disfunção autonômica (Task Force, 1996). Estudos de nosso laboratório têm mostrado redução na sensibilidade barorreflexa, tônus cardíaco vagal e VFC em animais diabéticos por STZ (De Angelis et al., 2002; Schaan et al., 2004). Além

disso, La Rovere et al. (1998) demonstraram que redução da sensibilidade barorreflexa, bem como da VFC estavam relacionadas com aumento nas taxas de mortalidade em pacientes após o IM. Cientes da importância clínica da disfunção autonômica presente tanto no diabetes quanto em indivíduos pós IM, avaliamos a sensibilidade barorreflexa e dos receptores cardiopulmonares e as variabilidades da FC e da PAS nos animais infartados, diabéticos ou não, bem como o papel do treinamento físico nestas variáveis autonômicas.

O controle barorreflexo da circulação é um dos mais importantes mecanismos de controle momento a momento da PA. De fato, o controle da VPAS pelo barorreflexo é a chave para a homeostase fisiológica. Isso é demonstrado clinicamente em estudos que mostraram que o prejuízo da função barorreflexa é um fator de risco independente para morte súbita em pacientes pós IM (La Rovere et al., 1998). Além disso, pacientes diabéticos com reflexos cardiovasculares normais têm menor mortalidade quando comparados àqueles que apresentam algum tipo de prejuízo na função reflexa autonômica (Ewing et al., 1980).

No presente estudo, animais infartados sedentários (GI e GDI) mostraram redução da sensibilidade dos reflexos comandados pelos pressorreceptores (resposta bradicárdica e taquicárdica) em relação aos animais do GC, e esse importante reflexo cardiovascular estava adicionalmente reduzido no GDI em comparação ao GI. Esses dados podem ser explicados pelo fato de que já existem demonstrações de que 5 dias de diabetes por STZ leva o prejuízo no controle barorreflexo da FC em ratos caracterizado pela redução de resposta de taquicardia, sem alteração de bradicardia, numa fase tão precoce da doença (Maeda et al., 1995a). Quinze e 30 dias após administração de STZ, entretanto, observou-se também redução de bradicardia

nesses animais (Dall'Ago et al., 1997), mudanças essas que persistiram até 80 dias depois da injeção de STZ (De Angelis et al., 2002; Harthmann et al., 2007). Um estudo do nosso laboratório demonstrou que não é o ramo eferente do reflexo, comandado pelos pressorreceptores, o principal responsável pela disfunção barorreflexa observada no diabetes por STZ em curto prazo (10-20 dias), já que observamos que mesmo em presença de respostas reflexas reduzidas nos diabéticos as respostas bradicárdicas são similarmente maiores quando produzidas pela estimulação direta do nervo vago ou por injeções de metacolina em ratos (Dall'Ago et al., 2002).

Somando-se aos prejuízos autonômicos observados nos diabéticos, em um estudo acompanhando pacientes após o IM, a descarga simpática estava aumentada em poucos dias após o evento isquêmico (2-4 dias) e mantida elevada após 3 a 6 meses (Graham et al., 2002). Além disso, a IC induzida em ratos foi caracterizada por um aumento em diversos fatores como atividade de renina plasmática, arginina vasopressina e fator natriurético atrial na fase aguda e na fase crônica, com consequente aumento da atividade nervosa simpática (Francis et al., 2001). A hiperatividade simpática, além de estar ligada à morbidade e mortalidade (Francis et al., 1989), também induz a disfunção barorreflexa em indivíduos com IC (Eckberg et al., 1971).

Neste estudo, os dados sugerem que o treinamento físico induz melhora na sensibilidade barorreflexa, nos animais infartados, tanto nos normoglicêmicos quanto nos diabéticos, para respostas de bradicardia quanto de taquicardia. Essa melhora pode estar associada com alterações nos receptores periféricos, no sistema nervoso central ou nas fibras eferentes dos órgãos efetores. De fato, La Rovere et al. (2003)

demonstraram que o aumento da sensibilidade barorreflexa em pacientes infartados ocasionado pelo treinamento físico tem grande implicação no prognóstico favorável destes pacientes, reduzindo assim mortalidade em um longo segmento de tempo. Além disso, estudos anteriores do nosso laboratório mostraram prejuízo na sensibilidade barorreflexa que pode ser parcialmente revertido com o treinamento em ratos diabéticos machos e em ratas fêmeas ooforectomizadas diabéticas (Souza et al., 2007; Harthamann et al., 2007), reduzindo, de forma semelhante, a mortalidade nas fêmeas ooforectomizadas diabéticas treinadas. Recentemente Rondon et al. (2007) demonstram que o treinamento físico em animais infartados induziu melhora da sensibilidade barorreflexa associada a redução da atividade simpática. Assim, nosso estudo confirma os dados destes últimos autores e evidencia ainda que na associação de DM e IM o treinamento físico também foi eficaz em atenuar a disfunção do reflexo pressorreceptor.

Estudos em humanos e em modelos experimentais têm mostrado que o controle reflexo da circulação não depende somente dos barorreceptores arteriais, mas também, com certa importância, dos receptores cardiopulmonares (Meyrelles et al., 1994; Meyrelles et al., 1994a; Vasquez, 1994; Meyrelles et al., 1995; Vasquez et al., 1997). Situações que provoquem mudanças no volume de sangue central ou aplicação de pressões sub atmosféricas na parte inferior do corpo humano, desencadeiam os reflexos cardiopulmonares (Meyrelles et al., 1994a). Os efeitos reflexos da estimulação dos receptores cardiopulmonares, localizados em átrios e ventrículos, vasos pulmonares e parênquima pulmonar resultam no reflexo inibitório de hipotensão (vasodilatação) e bradicardia simultâneas. Este reflexo cardiopulmonar ficou conhecido como reflexo de Bezold-Jarisch (devido seus investigadores

pioneiros), e podem ser facilmente estimulados experimentalmente por injeções de 5-hidroxitriptamina (5-HT/ serotonina) ou fenilbiguanida, apresentando como resultados o aumento da atividade vagal e redução da atividade simpática e do DC (Strandgaard e Paulson, 1992; Meyrelles et al., 1994; Vasquez, 1994; Vasquez et al., 1997).

Os resultados obtidos no presente estudo, referentes às respostas da FC e da PA a estimulação do reflexo cardiopulmonar, demonstraram uma atenuação das respostas bradicárdicas e hipotensoras no GDI quando comparado ao GC e eventualmente aos demais grupos estudados. No entanto, não se observou redução deste reflexo no GI. Em estudos pioneiros que avaliaram o reflexo cardiopulmonar em ratos machos submetidos ao IM foi observado prejuízo da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar provocada pela ligadura da artéria coronária esquerda, o que, representou redução do reflexo Bezold-Jarisch (Vasquez, 1994; Meyrelles et al., 1995). Esta disfunção cardioinibitória reflexa representa as conseqüências das progressivas alterações morfofuncionais do músculo cardíaco após o IM, provavelmente associado à inativação dos receptores na área do IM e hipertrofia da massa remanescente do VE (Meyrelles, 1994; Vasquez, 1994). Segundo Rocha et al. (2003) estes resultados de redução do reflexo cardiopulmonar em animais infartados não são consenso, pois em estudo com coelhos infartados não foram encontradas reduções do reflexo cardiopulmonar e sim aumento das respostas de hipotensão e bradicardia. Esta controvérsia de resultados parece estar ligada à diferença de modelo experimental utilizado em cada estudo, já que os animais, as drogas e o período de acompanhamento foram diferentes. Em outro estudo do grupo de Meyrelles et al. (1994) foi verificada a redução do reflexo cardiopulmonar em ratos tratados durante

15 dias com isoproterenol, droga que induziu hipertrofia cardíaca alteração que também ocorre após o IM induzido pela ligadura da artéria coronária.

Recentemente, também foram encontrados resultados de atenuação do reflexo cardiopulmonar (referente a delta de PA e delta de FC) em ratos com vagotomia cervical bilateral quando comparados aos ratos controles (Ditting et al., 2006). Já em estudo com animais hipertensos por L-NAME, evidenciou-se exagerada resposta do reflexo cardiopulmonar quando comparado ao grupo controle, sugerindo que a inibição da síntese de óxido nítrico pode ter causado uma resposta aumentada do reflexo de Bezold-Jarisch (Araújo et al., 1995). Em animais diabéticos, nosso grupo evidenciou prejuízo no reflexo cardiopulmonar testado por expansão de volume (Oliveira et al., 1999). Os achados do presente estudo evidenciam que somente na associação de duas disfunções (IM e DM) foi observada exacerbada atenuação deste reflexo autonômico, sugerindo que a presença do diabetes seja um fator agravante nesse caso. Entre as hipóteses para o prejuízo desse reflexo, podemos salientar as alterações nas informações aferentes originadas no coração, assim como perda da eficiência da via eferente vagal cardíaca (Módolo et al., 1995). Neste aspecto, vale lembrar que observamos exacerbado desbalanço autonômico no GDI com redução da VFC e do componente de AF do IP, representativo da modulação vagal cardíaca no presente estudo.

No entanto, o resultado mais importante com relação à avaliação do reflexo cardiopulmonar foi que o treinamento físico aplicado resultou em melhora nas respostas do reflexo cardiopulmonar para as variações da PA e FC. Resultados obtidos em estudos com exercício físico e reflexo cardiopulmonar apresentam-se ainda muito controversos. Estudos em homens durante a realização de exercício

físico agudo demonstraram aumento da sensibilidade barorreflexa e quimiorreflexa sem alteração da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar (Eiken et al., 1991). Em homens portadores de estenose aórtica durante a realização de teste de esforço observou-se que os receptores cardiopulmonares poderiam estar envolvidos em distúrbios fisiopatológicos durante exercício físico, já que estes indivíduos responderam com uma grande ativação dos receptores cardiopulmonares a elevação de volume e da pressão intraventricular durante a sessão (Mark et al., 1973). Pliquett et al. (2003) estudando coelhos com IC, treinados por 3 semanas em esteira, verificaram melhora da sensibilidade do reflexo de Bezold-Jarisch, avaliada através da relação entre a atividade nervosa simpática renal e a dimensão cardíaca durante sobrecarga de volume, provavelmente devido à redução da sensibilidade simpatoexcitatória periférica causada pela IC. Neste aspecto, o aumento da VFC e a normalização do AF do IP induzidos pelo treinamento físico poderia colaborar na melhora da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar observada no presente trabalho no GDIT.

Além destes importantes reflexos cardiovasculares, a VFC e VPAS têm-se tornado importantes ferramentas para o diagnóstico e prognóstico em muitas patologias, dentre elas o DM e a IC (Gottsäter et al., 2006; La Rovere et al., 1998). Em virtude da neuropatia autonômica, pacientes com DM normalmente apresentam uma reduzida habilidade de regular a FC, atribuída não só a dessensibilização barorreflexa, mas também disfunção parassimpática cardíaca e/ou central. As injúrias causadas pelo diabetes ao sistema nervoso parassimpático podem reduzir a VFC, determinada principalmente pelos danos causados ao controle parassimpático,

tornando-se assim um importante índice de disautonomia nestes pacientes (Pagani et al., 1988).

Na literatura parece haver um consenso no que diz respeito à redução da VFC no diabetes, demonstrada tanto em humanos (Gottsater et al., 2006) como em ratos STZ (Fazan et al., 1997; Fazan et al., 1999; Schaan et al., 2004; Souza et al., 2007; De Angelis et al., 2008), sendo que esta redução pode estar associada a duração e a gravidade do diabetes. De fato, em nosso estudo observamos uma redução da VFC e da VPAS nos grupos diabéticos avaliadas pela variância total. Provavelmente, essa redução possa ser explicada pela redução do tônus vagal e manutenção do tônus simpático observados neste modelo de diabetes (De Angelis et al., 2000b; Souza et al., 2007). A redução da VFC nos animais diabéticos infartados sedentários corrobora os achados de Fazan et al. (1999), mostrando quedas mais acentuadas na VFC de acordo com o tempo de indução do diabetes por STZ. Adicionalmente, os autores observaram também uma queda da VPAS somente nos animais diabéticos de 10 dias a 18 semanas de indução, não sendo observadas estas diferenças na fase aguda (5 dias).

Somando-se à neuropatia autonômica do diabetes (com redução do tônus vagal) com o conjunto de anormalidades encontradas na IC, como exemplo o aumento em diversos fatores como atividade de renina plasmática, arginina vasopressina e fator natriurético atrial, com consequente aumento da atividade nervosa simpática (Francis et al., 2001), poderíamos esperar um maior prejuízo no balanço autonômico destes animais. De fato, observamos neste estudo que os animais infartados sedentários apresentaram prejuízo da VFC, representada pela variância do IP, quando comparados com os animais do GC. Vale destacar, que a redução nesta

variável foi mais acentuada no GDI em comparação ao GI, evidenciando, possivelmente, que a associação do diabetes e IM provavelmente colocam estes animais numa situação de maior risco, reduzindo a capacidade de controlar adequadamente variações circadianas da PA e FC.

Em indivíduos saudáveis, situações de aumento da atividade simpática normalmente vêm acompanhadas de aumento da banda de BF (Task Force, 1996). Por outro lado, o aumento da atividade simpática em pacientes com doença cardiovascular pode ser acompanhado de aumento (Lombardi et al., 1996), diminuição (Guzzetti et al., 1995) ou mesmo nenhuma alteração (Bigger et al., 1995) da banda de BF. Em estudos, clínicos e experimentais com IC tem sido demonstrado que aumentos na banda de BF da VFC estão ligados ao grau de simpato excitação, avaliado por medidas diretas da atividade nervosa simpática ou de norepinefrina plasmática (Kienzle et al., 1992; Ishise et al., 1998). Entretanto, em estágios avançados da doença o oposto também é verdadeiro, ou seja, a banda de BF da VFC chega a quase desaparecer em virtude do aumento da atividade simpática (Galinier et al., 2000; Van de Borne et al., 1997). A redução deste componente tem sido associada a prognósticos negativos em indivíduos insuficientes, visto que La Rovere et al. (2003) mostraram que reduzida banda de BF é um preditor independente de mortalidade cardiovascular nestes pacientes. Além disso, a redução deste componente espectral da VFC pode estar associada à progressiva desregulação dos receptores miocárdicos β -adrenérgicos (Bristow et al., 1982), uma redução do estoque de catecolamina no miocárdio (Eisenhofer et al., 1996), prejuízo no barorreflexo (La Rovere et al., 1998) ou por alterações nas vias autonômicas centrais (Van de Borne et al., 1997)

Dessa forma, a redução da banda de BF do IP não só no GI isoladamente, mas, principalmente, a acentuada redução desta variável no GDI, são importantes indicativos de disfunção autonômica, que associada à redução da sensibilidade barorreflexa neste grupo confirmando a presença de disautonomia nos grupos diabéticos.

Adicionalmente, a redução da banda de AF da VFC também foi observada no GI e no GDI. Esta redução representa a diminuição da contribuição da modulação parassimpática usualmente descrita na fisiopatologia do desenvolvimento da IC. A diminuição da modulação parassimpática é um componente integral do desbalanço autonômico de um coração insuficiente e potencialmente implicado na gênese de arritmias ventriculares e morte cardíaca (Binkley et al., 1991). Em um estudo recente, os autores observaram que a banda de AF da VFC reduzia gradualmente em decorrência da evolução da IC em cães, indicando, desta forma, que este componente pode ser um bom marcador de gravidade induzida pela IC (Motte et al., 2005).

No presente estudo observou-se uma normalização da variância do IP e do componente de AF do IP nos grupos treinados (GIT e GDIT), além de redução da banda de BF da PAS no GIT. Possivelmente, esta alteração está relacionada com a redução da modulação simpática no GIT, além de melhora na modulação simpática no GDIT, sendo interpretado como um importante benefício obtido através do treinamento físico neste grupo, uma vez que, em decorrência da neuropatia autonômica diabética, estes animais apresentam sinais de denervação. Além disso, o aumento do componente de BF no mesmo grupo (GDIT) ressalta a importância do treinamento físico na modulação parassimpática dos animais treinados, que na

maioria das vezes é um excelente marcador de bom prognóstico em diferentes patologias.

De fato, mudanças no balanço simpático/parassimpático têm sido observadas em pacientes com IC, com mudanças na dominância de inervação simpática para a parassimpática nestes pacientes (Radaelli, 1996). Além disso, Pliquett et al., (2003) observaram que o treinamento físico diminuiu os níveis de norepinefrina plasmática em um modelo de IC em coelhos. De forma semelhante, Liu et al. (2000) demonstraram que 1 mês de treinamento físico em coelhos com IC foi suficiente para reduzir a atividade nervosa simpática renal nestes animais.

6. Conclusão

Concluindo, estes achados confirmaram dados de nosso grupo em que a mortalidade foi semelhante entre os animais infartados normoglicêmicos e diabéticos, sugerindo que a FE e o VO_2 máx., clássicos preditores de mortalidade pós IM, não são os únicos determinantes de prognóstico em ratos infartados diabéticos. A exacerbada disfunção autonômica cardiovascular observada quando da combinação destas duas patologias pode ter sido um fator considerável nesta condição. Finalmente, o resultado mais importante deste estudo foi o fato dos grupos infartados, diabéticos ou não, apresentarem significativa redução da mortalidade após o período de treinamento físico. Essa abordagem não farmacológica foi eficaz em atenuar as disfunções cardíacas, hemodinâmicas e autonômicas nos animais submetidos à isquemia em presença ou não do diabetes, o que provavelmente culminou no aumento da sobrevida destes animais.

7. Referencias Bibliográficas

Abboud FT. Interaction of cardiovascular reflexes in circulatory control. In: Shepherd JT, Abboud FM. *The Cardiovascular System*. 3 ed. Bethesda; v.1, p. 675-753. American Physiological Society. 1983.

Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, Olivetti G. Myocardial response to infarction in the rat. II. Morphometric measurements of infarct size and myocyte cellular hypertrophy. *American Journal of Pathology*. 1985a; 118:484-492.

Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G. Left ventricular failure induced by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *American Journal of Physiology*. 1985b; 248: H876-882.

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

Baggish AL, Wang F, Weiner RB, Elinoff JM, Tournoux F, Boland A, Picard MH, Hutter AM Jr, Wood MJ. Training-specific changes in cardiac structure and function: a prospective and longitudinal assessment of competitive athletes. *J Appl Physiol*. 2008;104(4):1121-8.

Barney, J.A., Ebert, T.J., Groban, L., Farrel, P.A., Hughes, C.V. e Smith, J.J. Carotid baroreflex responsiveness in high-fit and sedentary young men. *J Appl Physiol*. 1988; 65:2190-2194.

Bigi R, Desideri A, Rambaldi R, Cortigiani L, Sponzilli C, Fiorentini C. Angiographic and prognostic correlates of cardiac output by cardiopulmonary exercise testing in patients with anterior myocardial infarction. *Chest*. 2001; 120(3):825-33.

Bigger JT, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Schneider WJ, Stein PK. RR variability in healthy, middle-aged persons compared with patients with chronic coronary heart disease or recent acute myocardial infarction. *Circulation*. 1995; 1; 91(7):1936-43.

Binkley PF, Nunziata E, Haas GJ, Nelson SD, Cody RJ. Parasympathetic withdrawal is an integral component of autonomic imbalance in congestive heart failure: demonstration in human subjects and verification in a paced canine model of ventricular failure. *J Am Coll Cardiol*. 1991; 18: 464–472.

Brandenburg SL, Reusch JE, Bauer TA, Jeffers BW, Hiatt WR, Regensteiner JG. Effects of exercise training on oxygen uptake kinetic responses in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22(10):1640-6.

Braga LM, Rosa K, Rodrigues B, Malfitano C, Camassola M, Chagastelles P, Lacchini S, Fiorino P, De Angelis K, Schaan BD, Irigoyen MC, Nardi NB. Systemic delivery of adult stem cells improves cardiac function in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008;35(2):113-9.

Braga LM, Lacchini S, Schaan BD, Rodrigues B, Rosa K, De Angelis K, Borges LF, Irigoyen MC, Nardi NB. In situ delivery of bone marrow cells and mesenchymal stem cells improves cardiovascular function in hypertensive rats submitted to myocardial infarction. *J Biomed Sci*. 2007;15(3):365-74.

Bedford, T.G. e Tipton, C.M. Exercise training and the arterial baroreflex. *J Appl Physiol*. 1987; 63: 1926-1932.

Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, Billingham ME, Harrison DC, Stinson EB. Decreased catecholamine sensitivity and

beta-adrenergic-receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med.* 1982; 307: 205–211.

Brooks, G. A. e T. P. White. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol.* 1978; v.45, n.6, Dec, p.1009-15.

Campos Filho O, Gi MA, Tatani SB. Ecocardiografia doppler. In: Nobre F, Serrano Jr, CV. *Tratado de cardiologia da Socesp.* 2005; Barueri: Manole. 179-215.

Chang K, Ido Y, LeJeune W, Williamson JR, Tilton RG. Increased sciatic nerve blood flow in diabetic rats: assessment by "molecular" vs. particulate microspheres. *Am J Physiol.* 1997 Jul;273(1 Pt 1):E164-73

Consolim-Colombo, F.M., Filho, J.A., Lopes, H.F., Sobrinho, C.R., Otto, M.E., Riccio, G.M., Mady, C. e Krieger, E.M. Decreased cardiopulmonary baroreflex sensitivity in Chagas' heart disease. *Hypertension.* 2000; Dec; 36(6):1035-9.

Diaz, A., M. G. Bourassa, *et al.* Long-term prognostic value of resting heart rate in patients with suspected or proven coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2005; v.26, n.10, May, p.967-74.

Dall'Ago P, Fernandes TG, Machado UF, Bell AA, Irigoyen MC. Baroreflex and chemoreflex dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res.* 1997; 30(1):119-24.

Dall'Ago P, Silva VO, De Angelis KL, Irigoyen MC, Fazan R Jr, Salgado HC. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002; 35(7):843-9.

De Angelis, K. L., A. R. Oliveira, *et al.* Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res.* 2000; v.33, n.6, Jun, p.635-41.

De Angelis, K.L.D., Wichi, R.B., Jesus, W.W., Moreira, E.D., Morris, M., Krieger, E.M. E Irigoyen, M.C. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *J Appl Physiol*. 2004; 96(6):2174-2178.

De Angelis K.L.D., Gadonski G., Fang J, Dall'ago P., Albuquerque V.L., Peixoto L.R.A., Fernandes T.G., Irigoyen M.C. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. *Hypertension*. 1999; 34 (2):768-772.

De Angelis K.L.D., Oliveira Ar., Dall'ago P., Peixoto L.R.A, Gadonsk G., Fernandes T.G., Irigoyen M.C. Effects of Exercise Training in Autonomic and Myocardial Dysfunction in Streptozotocin-Diabetic Rats. 2000; *Braz J Med Biol Res*; 33: 635-641.

De Angelis K, Leirner AA, Irigoyen MC, Cestari IA. Nonstimulated cardiomyoplasty improves hemodynamics in myocardial-infarcted rats. *Artif Organs*. 2001; 25(11):939-43.

De Angelis K, Schaan BD, Maeda CY, Dall'Ago P, Wichi RB, Irigoyen MC. Cardiovascular control in experimental diabetes. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35(9): 1091-100.

De Angelis K.L.D., Oliveira A.R., Werner A., Bock P., Belló-Klein A., Irigoyen M.C. Exercise training in aging: hemodynamis, metabolic and oxidative stress evaluations. *Hypertension* . 1997; 30(3) II: 767-771.

De Angelis K, Irigoyen MC, Morris M. Diabetes and cardiovascular autonomic dysfunction: application of animal models. *Auton Neurosci*. 2009; Jan 28;145(1-2):3-10.

De Angelis K, Schaan BD, Rodrigues B, Malfitano C, Irigoyen MC. Cardiovascular autonomic dysfunction in experimental diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007 ; 51/2:185-194.

De Felice A, Frering R, Horan P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *Am J Physiol.* 1989;257 (1 Pt 2):H289-96.

Ditting, T., Hilgers, K.F., Scrogin, K.E., Linz, P. E Veelken, R. Influence of short-term versus prolonged cardiopulmonary receptor stimulation on renal and preganglionic adrenal sympathetic nerve activity in rats. *Basic Res Cardiol.* 2006; 101:223-234.

Drexler H, Depenbusch JW, Truog AG, Zelis R, Flaim SF. Effects of diltiazem on cardiac function and regional blood flow at rest and during exercise in a conscious rat preparation of chronic heart failure (myocardial infarction). *Circulation.* 1985; 71(6): 1262-70.

Duncan, B.B., Schmidt, M.I., Giugliani, E.R.J. *Medicina Ambulatorial: Condutas Clínicas em Atenção Primária*, 2. Ed., Artes Médicas, Porto Alegre, 1996

Eiken, O., Convertino, V.A., Doerr, D.F., Dudley, G.A., Morariu, G. E Mekjavic, I.B. Interaction of the carotid baroreflex, the muscle chemoreflex and the cardiopulmonary baroreflex in man during exercise. *Physiologist.* 1991; 34(suppl 1):S118-S120.

Eckberg DL, Drabinsky M, Braunwald E. Defective cardiac parasympathetic control in patients with heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1971; 285: 877–883.

Eisenhofer G, Friberg P, Rundqvist B, Quyyumi AA, Lambert G, Kaye DM, Kopin IJ, Goldstein DS, Esler MD. Cardiac sympathetic nerve function in congestive heart failure. *Circulation.* 1996; 93: 1667–1676.

Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med.* 1980; 49: 95-108.

Fang, J. *Avaliação dos Padrões Hemodinâmicos, dos Reflexos Comandados pelos Pressorreceptores, do Perfil de Estresse Oxidativo e da Extensão da Necrose Miocárdica nos Ratos Diabéticos Submetidos à Oclusão Coronariana do Tronco Coronariano Esquerdo.* UFRGS, Porto Alegre, 1999.

Fazan R Jr, Ballejo G, Salgado MC, Moraes MF, Salgado HC. Heart rate variability and baroreceptor function in chronic diabetic rats. *Hypertension.* 1997; 30(3 Pt 2):632-5.

Fazan R Jr, Dias da Silva VJ, Ballejo G, Salgado HC. Power spectra of arterial pressure and heart rate in streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Hypertens.* 1999; 17(4):489- 95.

Francis GS. The relationship of the sympathetic nervous system and the reninangiotensin system in congestive heart failure. *Am. Heart J.* 1989; 118: 642–648.

Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Felder RB. Progression of heart failure aftermyocardial infarction in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001; 281:R1734–R1745.

Felder, R. B. e M. D. Thames. Interaction between cardiac receptors and sinoaortic baroreceptors in the control of efferent cardiac sympathetic nerve activity during myocardial ischemia in dogs. *Circ Res.* 1979; v.45, n.6, Dec, p.728-36.

Forrat R, Sebbag L, Wiernsperger N, Guidollet J, Renaud S, de Lorgeril M. Acute myocardial infarction in dogs with experimental diabetes. *Cardiovasc Res.* 1993; 27(11): 1908-12.

Galinier M, Pathak A, Fourcade J, Androdias C, Curnier D, Varnous S, Boveda S, Massabuau P, Fauvel M, Senard JM, and Bounhoure JP. Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2000; 21: 475–482.

Gardiner, S.M., Compton, A.M., Benett, T., Palmer, R.M.J. E Moncada, S. Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension*. 1990; 15:486-492.

Grassi G, Mancia G. Physiopatologic and clinical features of hypertensive cardiopathy. *Cardiologia*. 1994; 39 (12): 291-294.

Graham LN, Smith PA, Stoker JB, Mackintosh AF, Mary DA. Time course of sympathetic neural hyperactivity after uncomplicated acute myocardial infarction. *Circulation*. 2002; 106: 793–797.

Gray A, Clarke P, Farmer A, Holman R; United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Implementing intensive control of blood glucose concentration and blood pressure in type 2 diabetes in England: cost analysis (UKPDS 63). *BMJ*. 2002; 325 (7369): 860.

Ghosh S., N. B. Standen. Failure to precondition pathological human myocardium. *J Am Coll Cardiol*. 2001; v.37, n.3, Mar 1, p.711-8.

Gottsater A, Ahlgren AR, Taimour S, Sundkvist G. Decreased heart rate variability may predict the progression of carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. *Clin Auton Res*. 2006 ; 16(3): 228-34.

Guzzetti S, Cogliati C, Turiel M, Crema C, Lombardi F, Malliani A. Sympathetic predominance followed by functional denervation in the progression of chronic heart failure. *Eur Heart J*. 1995;16(8): 1100-7.

Hall JL, Sexton WL & Stanley WC. Exercise training attenuates the reduction in myocardial GLUT-4 in diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*. 1995; 78: 76-81.

Hageman, G. R. e N. S. Gantenberg. Attenuation of baroreflex changes in cardiac sympathetic efferent activities during acute myocardial ischemia. *Am Heart J*. 1993; v.126, n.2, Aug, p.347-51.

Hakkinen, R., T. Linkosalo, et al. Methods for combining phenological time series: application to bud burst in birch (*Betula pendula*) in Central Finland for the period 1896-1955. *Tree Physiol*. 1995; v.15, n.11, Nov, p.721-6.

Harthmann AD, De Angelis K, Costa LP, Senador D, Schaan BD, Krieger EM, Irigoyen MC. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. *Auton Neurosci*. 2007; 30;133(2):115-20.

Hill MA, Larkins RG. Alterations in distribution of cardiac output in experimental diabetes in rats. *Am J Physiol*. 1989 Aug;257(2 Pt 2):H571-80.

Irigoyen, M.C.; Paulini, J.; Flores, L.J., Flues, M.; Moreira, E.D.; Consolim-Colombo, F.; Bello-Klein, A. E De Angelis, K. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. *Hypertension*. 2005; 46(2):1-6.

Ishise H, Asanoi H, Ishizaka S, Joho S, Kameyama T, Umeno K, Inoue H. Time course of sympathovagal imbalance and left ventricular dysfunction in conscious dogs with heart failure. *J Appl Physiol*; 84: 1234–1241. 1998.

Jikuhara T, Sumimoto T, Tarumi N, Yuasa F, Hattori T, Sugiura T, Iwasaka T. Left atrial function as a reliable predictor of exercise capacity in patients with recent myocardial infarction. *Chest*. 1997; 111(4): 922-8.

Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest.* 1969; 48(11): 2129-39.

Kassab S, Miller MT, Hester R, Novak J, Granger JP. Systemic hemodynamics and regional blood flow during chronic nitric oxide synthesis inhibition in pregnant rats. *Hypertension.* 1998 Jan;31(1 Pt 2):315-20.

Kemi OJ, Høydal MA, Haram PM, Garnier A, Fortin D, Ventura-Clapier R, Ellingsen O. Exercise training restores aerobic capacity and energy transfer systems in heart failure treated with losartan. *Cardiovasc Res.* 2007 Oct 1;76(1):91-9.

Kienzle MG, Ferguson DW, Birkett CL, Myers GA, Berg WJ, and Mariano DJ. Clinical, hemodynamic and sympathetic neural correlates of heart rate variability in congestive heart failure. *Am J Cardiol.* . 1992; 69: 761– 767.

King AJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Brenner BM. Systemic hemodynamic effects of endothelin in rats. *Am J Physiol.* 1990 Mar;258(3 Pt 2):H787-92.

Koike MK, Consolim-Colombo FM, Ida F, Moreira ED, Krieger EM. Baroreceptor function after myocardial infarction in rats. In: *Scientific Meeting of the international Society of Hypertension (abstract).* 1996; 16. Glasgow: p. 478.

Lacerda, J. E. C. *Estudo da Atividade Simpática em ratos submetidos ao infarto do miocárdio.* Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (tese), Sao Paulo, 2000.

Lacerda JE, Consolim-Colombo FM, Moreira ED, Ida F, Silva GJ, Irigoyen MC, Krieger EM. Influence of cardiopulmonary reflex on the sympathetic activity during myocardial infarction. *Auton Neurosci.* 2007 May 30;133(2):128-35.

Lange BT. Exercise spirometry in medical practice. *Rev. Med Liege.* 2001; 56(4): 228- 32.

La Rovere, M. T., C. Bersano, *et al.* Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction. *Circulation*. 2002; v.106, n.8, Aug 20, p.945-9.

La Rovere, M. T., J. T. Bigger, Jr. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet*. 1998; v.351, n.9101, Feb 14, p.478-84.

La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, Mortara A, Capomolla S, Febo O, Ferrari R, Franchini M, Gnemmi M, Opasich C, Riccardi PG, Traversi E, Cobelli F. Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation*. 2003 Feb 4; 107(4): 565-70.

Liu JL, Irvine S, Reid IA, Patel KP, Zucker IH . Chronic exercise reduces sympathetic nerve activity in rabbits with pacing-induced heart failure: a role for angiotensin II. *Circulation*. 2000; 102:1854–1862.

Liu YH, Yang XP, Nass O, Sabbah HN, Peterson E, Carretero OA. Chronic heart failure induced by coronary artery ligation in Lewis inbred rats. *Am J Physiol*. 1997; 272(2Pt 2): H722-7.

Lombardi F, Sandrone G, Spinnler MT, Torzillo D, Lavezzaro GC, Brusca A, Malliani A. Heart rate variability in the early hours of an acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1996; 15; 77(12): 1037-44.

Maeda C.Y., Fernandes T.G., Timm H.B., Irigoyen M.C. Autonomic dysfunction in short-term experimental diabetes. *Hypertension* . 1995; 26 (Part 2): 1000-1004.

Mark, A.L., Kioschos, J.M., Abboud, F.M., Heistad, D.D. E Schmid, P.G. Abnormal vascular responses to exercise in patients with aortic stenosis. *J Clin Invest.* 1973; 52:1138-1146.

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

McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007Apr;34(4):255-62.

Meggs LG, Coupet J, Huang H, Cheng W, Li P, Capasso JM, Homcy CJ, Anversa P. Regulation of Angiotensin II receptors on ventricular myocytes after myocardial infarction in rats. *Circulation Research.* 1993; 72: 1149-1162.

Meyrelles SS, Cabral AM, Vasquez EC. Impairment of the Bezold-Jarisch reflex in conscious rats with myocardial hypertrophy. *Braz J Med Biol Res.* 1994; 27(4): 1065-9.

Meyrelles, S.S., Mill, J.G. E Vasquez, E.C. Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch no infarto experimental do miocárdio. *Arq Bras Cardiol.* 1995; 64(6):521-524.

Meyrelles, S.S., Cabral, A.M. E Vasquez, E.C. Contribuição do reflexo cardiopulmonar na regulação cardiovascular. *Arq Bras Cardiol.* 1994a; 62(2):123-130.

Mill JG, Stefanon I, Leite CM, Vassallo DV. Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res.* 1990; 24(9): 748- 753.

Mill JG, Milanez Mda C, Busatto VC, de Moraes AC, Gomes Mda G. Activation of the cardiac angiotensin-converting enzyme after myocardial infarction and its role in ventricular remodeling. *Arq Bras Cardiol.* 1997; 69(2): 101-10.

Mill JG, Vassallo DV, Leite CM. Time course of changes in heart rate and sympathetic tone after coronary artery ligation in rats. *Braz J Med Biol Res.* 1991; 24(8): 855-8

Ming W, Gibbons LW, Kampert JB, Nichaman MZ, Blair SN. Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 diabetes. *Annals of Internal Medicine.* 2001; 132: 605-61.

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

Moises V, Ferreira RL, Nozawa E, Kanashiro RM, Campos Filho O, Andrade JL, Carvalho ACC, Tucci PJ. Structural and functional characteristics of rat hearts with and without myocardial infarct. Initial experience with doppler echocardiography. *Arq. Bras.Cardiol.* 2000; 75(2): 131-136.

Motte S, Mathieu M, Brimiouille S, Pensis A, Ray L, Ketelslegers JM, Montano N, Naeije R, van de Borne F, Mc Entee K. Respiratory-related heart rate variability in progressive experimental heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 289: 1729-1735.

Muir A, Schatz DA, Maclaren NK. The pathogenesis, prediction, and prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1992 Jun; 21(2): 199-219.

Murry, C. E., R. B. Jennings, *et al.* Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* . 1986; v.74, n.5, Nov, p.1124-36.

Negrao, C. E., Moreira E. D. Vagal function impairment after exercise training. *J Appl Physiol.* 1992; v.72, n.5, May, p.1749-53.

Negrao CE, Middlekauff HR. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2008Feb;13(1): 51-60.

Neumann C, Martinez D, Schmid H. Nocturnal oxygen desaturation in diabetic patients with severe autonomic neuropathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 1995; 28: 97-102.

Nozawa E, Kanashiro RM, Murad N, Carvalho AC, Cravo SL, Campos O, Tucci PJ, Moises VA. Performance of two-dimensional Doppler echocardiography for the assessment of infarct size and left ventricular function in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2006 May; 39(5): 687-95.

Oliveira VL, Moreira ED, Farah VD, Consolim-Colombo F, Krieger EM, Irigoyen MC. diopulmonary reflex impairment in experimental diabetes in rats. *Hypertension.* 1999 Oct;34(4 Pt 2):813-7

Osborn BA, Darr JT, Laddaga RA, Romano FD & Paulson DJ. Exercise training increases sarcolemmal GLUT-4 protein and mRNA content in diabetic heart. *Journal of Applied Physiology.* 1997; 82: 828-834.

Okoshi K, Guimarães JF, Di Muzio BP, Fernandes AA, Okoshi MP. Diabetic cardiomyopathy- *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007 Mar;51(2):160-7.

Pagani M, Malfatto G, Pierini S, Casati R, Masu A, Poli M, Guzzetti S, Lombardi F, Cerutti S, Malliani A. A spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy. *J Auton Nerv Syst.* 1988; 23:143-153.

Page MM, Watkins PJ. Cardiorespiratory arrest and diabetic autonomic neuropathy. *Lancet*. 1978; 1: 14-16.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E. Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol*. 1991; 260 (5 Pt 2): H1406-14.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*. 1979 Apr; 44(4): 503- 12.

Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation*. 1990; 81(4) Apr:1161- 72.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation*. 1985b Aug;72(2):406-12

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res*. 1985a Jul;57(1):84-95.

Pinã IL, Apstein CS, Balady GJ, Belardinelli R, Chaitman BR, Duscha BD, Fletcher, Fleg JL, Myers JN, Sullivan MJ, American Heart Association Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention Exercise and heart failure: a statement from the american Heart Association Committee on exercise, rehabilitation, and prevention. *Circulation*. 2003; 107:1210–1225.

Pliquett RU, Kornish KG, Patel KP, Shultz HD, Zucker IH . Amelioration of depressed cardiopulmonary reflex control of sympathetic nerve activity by short-term exercise training in male rabbits with heart failure. *J Appl Physiol* .2003; 95:1883–1888.

Prinzen FW, Bassingthwaite JB. Blood flow distributions by microsphere deposition methods. *Cardiovasc Res*. 2000 Jan 1;45(1):13-21.

Radaelli A, Coats AJ, Leuzzi S, Piepoli M, Meyer TE, Calciati A, Finardi G, Sleight P. Physical training enhances sympathetic and parasympathetic control of heart rate and peripheral vessels in chronic heart failure. *Clin Sci (Lond)*. 1996 ; 91:92–94.

Ravingerova, T., J. Neckar, *et al.* Ischemic tolerance of rat hearts in acute and chronic phases of experimental diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2003; v.249, n.1-2, Jul, p.167-74.

Rerup CC. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol Rev*. 1970 Dec; 22(4): 485-518.

Rocha, I., Rosário, L.B., Barros, M.A. E Silva-Carvalho, L. Enhancement of carotid chemoreceptor reflex and cardiac chemosensitive reflex in the acute phase of myocardial infarction of the anesthetized rabbit. *Basic Res Cardiol*. 2003; 98:175-180.

Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda C, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2007; 6:38.

Rolim NP, Mattos KC, Brum PC, Baldo MV, Middlekauff HR, Negrão CE. The decreased oxygen uptake during progressive exercise in ischemia-induced heart failure is due to reduced cardiac output rate. *Braz J Med Biol Res*. 2006; 39(2): 297-304.

Rolim NP, Medeiros A, Rosa KT, Mattos KC, Irigoyen MC, Krieger EM, Krieger JE, Negrão CE, Brum PC. Exercise training improves the net balance of cardiac

Ca²⁺ handling protein expression in heart failure. *Physiol Genomics*. 11;29(3):246-52,2007 May.

Rondon E, Brasileiro-Santos MS, Moreira ED, Rondon MUPB, Mattos KC, Coelho MA, Silva GJJ, Brum PC, Fiorino P, Irigoyen MC, Krieger EM, Middlekauff HR and Negrão CE. Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;291:2801-2806.

Roveda F, Rolim N, Reis SF. Exercício físico e insuficiência cardíaca. In: Negrão CE, Barretto ACP. *Cardiologia do Exercício*. Barueri-SP. Manole;p.179-189. 2005

Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation*. 1978 Dec; 58(6): 1072-83.

Schaan B.D., Maeda C.Y., Timm H., et al. Time Course of Changes in Heart Rate and Blood Pressure Variability in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Treated With Insulin. *Braz J Med Biol Res* . 1997; 30: 1081-1086.

Schaan BD, Dall'Ago P, Maeda CY, Ferlin E, Fernandes TG, Schmid H, Irigoyen MC. Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2004; 37(12): 1895-902.

Sigvardsson, K., E. Svanfeldt, et al. Role of the adrenergic nervous system in development of training-induced bradycardia. *Acta Physiol Scand*. 1977; v.101, n.4, Dec, p.481-8.

Silva, G.J.J., Brum, P.C., Negrão, C.E. E Krieger, E.M. Acute and chronic effect of exercise or baroreflex in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1997; 30: 714-719.

Simões MV, Marques F, O'Connell JL. Diagnóstico, classificação e avaliação prognóstica da insuficiência cardíaca. In: Nobre F. e Serrano Jr CV. *Tratado de cardiologia da Socesp*. Barueri-SP. Manole: p.750-761. 2005.

Soares, P. P., A. C. Da Nobrega. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. *Auton Neurosci*. 2004; v.113, n.1-2, Jun 30, p.24-31.

Souza SB, Flues K, Paulini J, Mostarda C, Rodrigues B, Souza LE, Irigoyen MC, De Angelis K. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Hypertension*. 2007; 50(4): 786-91.

Sociedade Brasileira De Diabetes. Consenso, Detecção e Tratamento das Complicações Crônicas do Diabetes Mellitus. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo*. 1999; Rio de Janeiro, v. 43, p. 7-15.

Stefanon I, Martins MA, Vassallo DV, Mill JG. Analysis of right and left ventricular performance of the rat heart with chronic myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res*. 1994; 27(11): 2667-79.

Stevens MJ, Raffel DM, Allman KC, Dayanikli F, Ficaro E, Sandford T, Wieland DM, Pfeifer MA, Schwaiger M. Cardiac sympathetic dysinnervation in diabetes: implications for enhanced cardiovascular risk. *Circulation*. 1998; 98: 961-968.

Strandgaard & Paulson. Regulation of cerebral blood flow in health disease. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1992; 14:589-593.

Tancrede, G., S. Rousseau-Mignerón, *et al*. Beneficial effects of physical training in rats with a mild streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Diabetes*. 1982; v.31, n.5 Pt 1, May, p.406-9.

Tavares D. Educação conscientizadora do idoso diabetico, uma proposta de intervencao do enfermeiro. Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo - USP (tese). 1997 Ribeirao Preto.

Task Force of the European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation*. 1996; 95: 1043-1065.

Thieuleux FA, Lablanche JM, Boniface M, Boniface G, Bertrand ME. Hemodynamic and coronariography evaluation for identification of hight risk patients following myocardial infarction. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1985; 78(8): 1223-1230.

Tipton, C. M. Exercise, training and hypertension: an update. *Exerc Sport Sci Rev*. 1991; v.19, p.447-505.

Tosaki A, Engelman DT, Engelman RM, Das DK. Diabetes and ATP-sensitive potassium channel openers and blockers in isolated ischemic/reperfused hearts. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995 Dec; 275(3): 1115-23.

Tune, J. D., C. Yeh, *et al*. Coronary blood flow control is impaired at rest and during exercise in conscious diabetic dogs. *Basic Res Cardiol*. 2002; v.97, n.3, May, p.248-57.

Van de Borne P, Montano N, Pagani M, Oren R, Somers VK. Absence of low-frequency variability of sympathetic nerve activity in severe heart failure. *Circulation*. 1997; 95: 1449–1454.

Vasquez, E.C. Contribution of the cardiopulmonary reflex to the cardiovascular regulation in normal and pathophysiological states. *Br J Med Biol Res*; 1994; 27(4):1049-1064.

Vasquez, E.C., Meyrelles, S.S., Mauad, H. E Cabral, A.M. Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. *Br J Med Biol Res.* 1997; 30(4):521-532.

Walberg, J. L., V. K. Ruiz, *et al.* Exercise capacity and nitrogen loss during a high or low carbohydrate diet. *Med Sci Sports Exerc.* 1988; v.20, n.1, Feb, p.34-43.

WHO - World Health Organization (on line). Prevalence of Diabetes Among Older Adults in America. 2005a. Disponivel em: <http://www.who.int/research/en/>.

Wichi R, Malfitano C, Rosa K, De Souza SB, Salemi V, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC. Noninvasive and invasive evaluation of cardiac dysfunction in experimental diabetes in rodents. *Cardiovasc Diabetol.* 2007; 6:14.

Wisloff U, Helgerud J, Stlen A, Ellingsen O. Atrioventricular plane displacement in female endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2001 Sep; 33(9): 1503-10.

Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max) and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001a; 280(3):H1301-10.

Xu G, Takashi E, Kudo M, Ishiwata T, Naito Z. Contradictory effects of short- and longterm hyperglycemias on ischemic injury of myocardium via intracellular signaling pathway. *Exp Mol Pathol.* 2004 Feb; 76(1): 57-65.

Yellon, D. M., A. M. Alkhulaifi, *et al.* Ischaemic preconditioning limits infarct size in the rat heart. *Cardiovasc Res.* 1992; v.26, n.10, Oct, p.983-7.

Yu Z, McNeill JH. Blood pressure and heart rate response to vasoactive agents in conscious diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 1992; 70(12): 1542-8.

Yusuf, S., S. Anand, *et al.* Treatment for acute myocardial infarction. Overview of randomized clinical trials. *Eur Heart J.* 1996; v.17 Suppl F, Dec, p.16-29.

Zanetti, M. O diabetes mellitus tipo1 em crianças e adolescentes: um desafio para as mães e profissionais de saúde. Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo - USP (tese). 1996: Ribeirao Preto.

Zaslavsky LM, Pinotti AF, Gross JL. Diastolic dysfunction and mortality in diabetic patients on hemodialysis: a 4.25-year controlled prospective study. *J Diabetes Complications.* 2005 Jul-Aug; 19(4): 194-200

**CARDIAC AND PERIPHERAL ADJUSTMENTS INDUCED BY EARLY
EXERCISE TRAINING INTERVENTION WERE ASSOCIATED WITH
AUTONOMIC IMPROVEMENT IN INFARCTED RATS: ROLE IN
FUNCTIONAL CAPACITY AND MORTALITY.**

* Luciana Jorge, BSc ¹, * Bruno Rodrigues, PhD ¹, Kaleizu Teodoro Rosa, PhD ¹,
Cristiano Teixeira Mostarda, MSc ¹, Kátia De Angelis, PhD ², Nicola Montano, MD,
Maria Cláudia Irigoyen, MD, PhD ¹.

* Both authors contributed equally to this paper.

¹ Hypertension Unit, Heart Institute (InCor), Medical School of University of São
Paulo, São Paulo, Brazil; ² Human Movement Laboratory, São Judas Tadeu
University. São Paulo, Brazil. ³ Department of Clinical Sciences, Internal Medicine
II, Luigi Sacco Hospital, University of Milan, Milan, Italy.

Correspondence to:

Bruno Rodrigues, PhD
Hypertension Unit, Heart Institute (InCor)
Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 44 – Subsolo
São Paulo, São Paulo, Brazil – 05403-000
Telephone: +55 11 3069 5006
Fax: +55 11 3085 7887
E-mail: bruno.rodrigues@incor.usp.br

Abstract

Aims: The effects of early exercise training (ET) on left ventricular (LV) and autonomic function, hemodynamic, tissue blood flow (BF), maximal oxygen consumption (VO_2 max), and mortality in myocardial infarction (MI) rats.

Methods and Results: Male Wistar rats were divided into: control (C), sedentary-infarcted (SI), and trained-infarcted (TI). One week after MI, TI group underwent an ET protocol (90 days, 50-70% VO_2 max). LV function was evaluated noninvasively and invasively. Baroreflex sensitivity (BRS), heart rate variability, and pulse interval (PI) were evaluated. Cardiac output (CO) and regional BF were determined using colored microspheres. Infarcted area was reduced in TI ($19 \pm 6\%$) compared with SI ($34 \pm 5\%$) after ET. ET attenuated the LV and autonomic functions, as well as CO and regional BF. PI variance was positively correlated with $+\text{dP}/\text{dt}$ and $-\text{dP}/\text{dt}$ in all rats. Additionally, CO and gastrocnemius BF correlated with VO_2 max. These changes brought about by ET resulted in mortality rate reduction in the TI (13%) compared with the SI (74%) group.

Conclusion: Early aerobic ET reduced cardiac and peripheral dysfunctions and preserved cardiovascular autonomic control after MI in trained rats. Consequently, these ET changes resulted in improved functional capacity and survival after MI.

Key Words: Myocardial infarction, exercise training, cardiac function, autonomic function, blood flow

Introduction

Myocardial infarction (MI) is the most common cause of heart failure (HF) and is an important precursor of left ventricular (LV) systolic and diastolic dysfunctions, leading to high mortality rates and major impairment in quality of life. Furthermore, the period after MI seems to be accompanied by neurohumoral excitation, which initially helps to stabilize patients who have ventricular dysfunction, but becomes deleterious with the persistence of the cardiac dysfunction. Thus, after some time, neurohumoral excitation leads to worsening of the clinical syndrome of cardiac failure and is directly associated with the poor prognosis of HF patients [1]. In this issue, La Rovere et al [2] showed that reducing baroreflex sensitivity (BRS) and heart rate variability (HRV) in patients after MI was associated with improvement in mortality rate, independently of ejection fraction.

Accumulating evidence in the last two decades has shown that exercise training (ET) is a remarkable non-pharmacological strategy for the treatment of chronic HF patients [3]. ET substantially improves exercise tolerance in animal models of HF [4] and humans [5, 6]. Additionally, there is some evidence that ET significantly reduces the degree of all-cause mortality in HF patients [7]. In fact, recently the participation of patients with NYHA class II to IV HF in an ET program provides a modest but statistically significant improvement in patient-reported health status [8]. However, the mechanisms involved in the positive effects of ET are still under scrutiny.

Our group has previously reported [4] that ET was able to increase aortic depressor nerve activity and reduce renal sympathetic nerve activity;

these benefits were associated with enhancement in BRS in ischemia-induced HF rats. However, the effects of early ET intervention on autonomic dysfunction after MI are still not completely understood.

This study was undertaken to test the hypothesis that early ET intervention enhances LV function and tissue blood flow due to normalization of autonomic dysfunction, resulting in improved functional capacity and survival rate in large MI rats. The present investigation was designed to evaluate the effects of early ET (started 1 week after MI) on (1) LV dysfunction and geometry; (2) hemodynamic and regional blood flow; (3) BRS and cardiac autonomic modulation; (4) functional capacity (maximum oxygen consumption), and total mortality.

Methods

Experiments were performed in adult male Wistar rats (230–250g) from the Animal House of the University of São Paulo, São Paulo, Brazil. Rats were fed standard laboratory chow and water *ad libitum*. The animals were housed in collective polycarbonate cages in a temperature-controlled room (22°C) with a 12-hour dark-light cycle (light 07:00-19:00h). The experimental protocol was approved by the institutional animal care and use committee of the Medical School of the University of São Paulo, and this investigation was conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1985). The rats were randomly assigned to 3 groups: control (C, n=8), myocardial infarction (SI, n=30), myocardial infarction

associated with exercise training (TI, n=16). All-cause mortality was investigated during the last 12 weeks of the protocol in all of the animals, and assessment began after the stated ET period, avoiding the influence of anesthesia. Other evaluations in this study were performed in 8 rats from each group.

Myocardial Infarction

Anesthetized rats (80mg/kg Ketamine and 12mg/kg Xylazine, IP) underwent surgical occlusion of the left coronary artery, which resulted in MI as previously described [9, 10]. Briefly, a left intercostal thoracotomy is performed, the third intercostal space dissected, and the heart exposed. The left anterior descending coronary artery is occluded with a single nylon (6.0) suture at approximately 1mm distal to the left atrial appendage. The chest is closed with silk suture, and the animals are maintained in a ventilator until recovery. All rats receive antibiotics (penicillin, 20,000 U) and Tramadol (20 mg/kg, every 6 h).

Echocardiography

Echocardiographic evaluation was performed by a double-blinded observer, under the guidelines of the American Society of Echocardiography, 2 days (initial evaluation) after MI and after the exercise training protocol (final evaluation). Rats were anesthetized (80 mg/kg Ketamine and 12 mg/kg Xylazine, IP), and images were obtained with a 10-14 mHz linear transducer in a SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA) for measurements of morphometric parameters: LV mass (corrected by body

weight) and LV diastolic diameter (LVDIA); systolic function: ejection fraction (EF) and velocity of circumferential fiber shortening (VCF); diastolic function: LV isovolumetric relaxation time (IVRT) and E/A ratio, as described in detail elsewhere [9, 10, 11].

The MI area was delimited taking into account the movement of LV walls. Regions with systolic shortening classified as normal or absent (akinetic), as well as portions with paradoxical movement, were considered infarcted. The infarcted area (%) was thus measured as the ratio of these regions by the total area of LV walls [9, 10].

Maximal Oxygen Consumption (VO_2 max) and Exercise Training

Sedentary and trained rats were adapted to the treadmill (10 minutes per day; 0.3 km/h) for 1 week after MI. The VO_2 max was determined by analyzing expired gas during a progressive exercise ramp protocol, with 3 m/min increments every 3 minutes and no grade until exhaustion. Gas analysis was performed using an oxygen (S-3A/I) analyzer (Ametek, Pittsburgh, PA, USA). The VO_2 was calculated using the measured flow through the metabolic chamber, the expired fraction of effluent oxygen and the fraction of oxygen in room air, as described elsewhere [12].

ET was performed on a motorized treadmill at low-moderate intensity (~50% to 70% of VO_2 max.) for 1 hour a day, 5 days a week for 12 weeks, with a gradual increase in speed from 0.3 to 1.2 km/h [4, 13, 14].

Cardiovascular Assessments

One day after the final echocardiographic evaluation, 2 catheters filled with 0.06 mL of saline were implanted into the femoral artery and femoral vein of the anesthetized rats (80 mg/kg Ketamine and 12 mg/kg Xylazine, IP). The arterial cannula was connected to a strain-gauge transducer (Blood Pressure XDCR, Kent Scientific, USA), and arterial pressure (AP) signals were recorded over a 30-minute period by a microcomputer equipped with an analog-to-digital converter board (WinDaq, 2-kHz, DATAQ, Springfield, OH). The recorded data were analyzed on a beat-to-beat basis to quantify changes in mean AP (MAP) and heart rate (HR) [15, 16].

Sequential bolus injections (0.1 mL) of increasing doses of phenylephrine (0.25 to 32 $\mu\text{g/kg}$) and sodium nitroprusside (0.05 to 1.6 $\mu\text{g/kg}$) were given to induce increases or decreases in MAP pressure responses (for each drug), ranging from 5 to 40 mm Hg. BRS was expressed as bradycardic (BR) and tachycardic (TR) responses in beats per minute per millimeter of mercury, as described elsewhere [15, 16, 17].

Cardiac Autonomic Modulation

The overall variability of the pulse interval (PI variance) was assessed in the time and frequency domains by spectral estimation. For this, the whole 20-minute time series of PI was cubic-spline-interpolated (250 Hz) and decimated to be equally spaced in time. Following linear trend removal, power spectral density was obtained by Fast Fourier Transformation using Welch's method over 16.384 points with a Hanning window and 50%

overlapping. Spectral power for very-low-frequency (VLF: 0.00-0.20), low-frequency (LF: 0.20–0.75 Hz) and high-frequency (HF: 0.75–4.0 Hz) bands were calculated by power spectrum density integration within each frequency bandwidth, using a customized routine (MATLAB 6.0; Mathworks, Natick, MA) [18, 19]. The autonomic balance (LF/HF) was calculated by the ratio of LF and HF absolute values.

LV Catheterization and Microsphere Infusion

After cardiovascular assessments, LV pressure signals were measured with a transducer and conditioner (Blood Pressure XDCR, Kent Scientific, USA) and digitally recorded (5 min) with a data acquisition system (WinDaq, 2-kHz, DATAQ, Springfield, OH). The following indices were obtained: heart rate (HR), LV systolic pressure (LVSP), LV end-diastolic pressure (LVEDP), and maximum rate of LV pressure rise and fall (+dP/dt and -dP/dt) [15]. After LV pressure basal records, yellow (150.000) 15- μ m Dye-Trak microspheres (Triton Technology, San Diego, CA, USA) were infused to blood flow measurements in LV, right ventricle, lungs, kidneys, gastrocnemius muscle, and cardiac output (CO) and peripheral vascular resistance (PVR) determinations. Microsphere infusion and processing were performed as described previously [20, 21].

Statistical Analysis

Data are reported as means $\pm$ SEM. Two-way and repeated measures ANOVA were used to compare groups followed by the Student-Newman-Keuls post-test. Pearson correlation was used to study associations between

variables. The survival curve was estimated by the Kaplan-Meier method and compared by the log-rank test. Significance level was established at $p < 0.05$.

Results

Body Weight and VO₂ Max Evaluations

Body weight was similar among all study groups at the beginning of the protocol ($\sim 230 \pm 15$ g). At the end of the protocol, C, SI and TI groups had increased body weight compared with their initial values (C: 508 ± 3 ; SI: 469 ± 10 ; TI: 478 ± 8 g) however, infarcted groups (SI and TI) had reduced body weight compared with the C group. VO₂ max values obtained 15, 60, and 90 days after the start of the ET protocol are presented in Table 1. The infarcted groups (SI and TI) had impaired VO₂ max at 15 and 60 days compared with that in group C. Importantly, 90 days of exercise training were effective at increasing VO₂ max in the TI group compared with the SI group.

Left Ventricular Function: Noninvasive and Invasive Evaluations

The akinetic LV area (myocardial infarction area) measured by echocardiography was similar at the initial and final evaluations in the SI group (35 ± 3 vs. 34 ± 3 %). In contrast, the TI group had a reduction in akinetic LV area after the ET protocol (final evaluation) (19 ± 6 %) compared with its initial evaluation (34 ± 5 %) and with the SI group, as can be seen in Figure 1.

The echocardiographic parameters are shown in Table 2. Initial evaluation, performed 2 days after MI, showed that LVDIA and E/A ratio were increased in MI groups (SI and TI) compared with those in group C. IVRT was similar between study groups at the initial and final measurements. Moreover, SI and TI groups displayed a reduction in EF compared with that in the C group.

The final echocardiographic evaluations (after 90 days of ET) showed that LV mass and LVDIA were increased in SI and TI groups compared with that in the C group. ET benefits were observed by improvement in EF and normalization of the E/A ratio in the TI group compared with the SI group, with its initial evaluation.

LV catheterization demonstrated a reduction in $+dP/dt$ (4642 ± 457 mm Hg/sec) and $-dP/dt$ (-3208 ± 481 mm Hg/sec) and increased LVEDP (16 ± 2 mm Hg) in the SI group compared with the C group (9445 ± 420 and -7186 ± 169 mm Hg/sec and 5 ± 0.3 mm Hg, respectively). Exercise training improved systolic and diastolic functions, indicated by the increased $+dP/dt$ and $-dP/dt$ (9439 ± 458 and -8089 ± 437 mm Hg/sec) and reduced LVEDP (4.6 ± 0.6 mm Hg) in group TI compared with group SI. In addition, the TI group had similar values as those of the C group.

Hemodynamic and Autonomic Function Evaluations

Hemodynamic measurements were performed at the end of the exercise training protocol. SAP, DAP, and MAP were reduced in the SI group compared with the C group. However, the TI group had a normalization of

these hemodynamic parameters, as well as the classic resting bradycardia after the ET protocol (Table 3). CO was reduced and PVR was increased in SI rats compared with C rats. Exercise training normalized these parameters in the TI rats (Table 3).

The results of autonomic function evaluation are summarized in Table 3. BRS evaluated by bradycardic and tachycardic responses evoked by AP rises and falls was impaired in the SI group; however, exercise training improved the BRS represented by BR and TR in the TI group. Heart rate variability in the time and frequency domains expressed by the pulse interval variance and the absolute LF band of HRV were reduced in the SI group compared with that in the C group. In addition, both infarcted groups (SI and TI) displayed reduction of VLF band in comparison with C group. Exercise training increased the PI variance, the absolute LF and HF bands of HRV in TI animals compared with sedentary ones. However, these alterations were not reflected in the LF/HF autonomic balance.

Regional Blood Flow Evaluation

Results of regional blood flow measurements are shown in Table 4. The SI group had reduced tissue perfusion, as demonstrated by diminished blood flow to LV, RV, lungs, left and right kidneys, and gastrocnemius muscles compared with that in the C group. The TI rats, however, had improvement in all regional blood flows compared with that in SI rats, except for coronary blood flow.

Correlations

In addition of these data, CO ($r=0.7$; $p=0.002$, Figure 2A) and EF ($r=0.7$; $p<0.0001$, data not shown) were positively correlated with the improvement in VO_2 max in study animals, indicating that the improvement in VO_2 max was due, at least in part, to an improvement in cardiac function. Similarly, a positive correlation was also obtained between gastrocnemius blood flow and VO_2 max ($r=0.8$; $p<0.0001$, Figure 2B), suggesting that exercise training-induced peripheral adjustments may have influenced the aerobic capacity of study animals.

Interestingly, PI variance was positively correlated with indexes of systolic function, as $+dP/dt$ ($r=0.7$; $p=0.001$, Figure 3A) and EF ($r=0.7$; $p=0.0006$, data not shown), as well as diastolic function, as $-dP/dt$ ($r=0.8$; $p<0.0001$, Figure 3B). These correlations indicate that the exercise training-induced improvement in autonomic function may be reflected in the normalization of LV systolic and diastolic functions.

Mortality Rate

Figure 4 shows the total mortality rate (Kaplan-Meier survival curve) in study groups throughout the experimental period (90 days). During the ET period, total mortality rate was higher in the SI group (22 deaths among 30 SI rats, 74%) compared with the C group (no deaths). Surprisingly, exercise training strongly reduced total mortality in the TI group (2 deaths among 16 TI rats, 13%) ($p<0.001$) compared with the SI group.

Discussion

Since the classical studies by Sullivan et al [22] in the late 1980s, evidence has accumulated supporting the beneficial effects of exercise training in HF and as a key intervention for preventive cardiology [23, 24]. However, the mechanisms by which ET can delay the onset of cardiovascular derangement after MI are not completely understood. In the present investigation, we demonstrated that early ET intervention (1 week) after MI induced (1) an increase in systolic and diastolic functions, (2) normalization of hemodynamic and regional blood flows, and (3) an improvement in cardiovascular autonomic function. These benefits resulted in increased functional capacity and a reduced mortality rate in trained infarcted rats.

Besides classical adaptations to ET, such as the improvement in VO_2 max and resting bradycardia, in the present study we observed a significant reduction of MI size, evaluated by echocardiography. The quantification of the akinetic area of LV by echocardiography has been compared with histological evaluations [25, 26]. Additionally, confirming echocardiographic results, we observed a strong correlation between infarcted area evaluated by echocardiography and Masson's trichrome stain histological method ($r=0.9$, $p<0.0001$, data not shown). Thus, in this study, we hypothesized that the prominent reduction of MI size induced by exercise training may be associated with restoration of risk area movement.

Despite the fact that LV mass and LVDIA were not different from sedentary and trained infarcted groups in the present investigation, we

hypothesized that the LV remodeling observed in the trained group may be physiologic, resulting from the cardiac adaptation to ET. Confirming our hypothesis, we observed the normalization of systolic and diastolic function in trained rats, represented by improved EF, +dPdt, -dP/dt, and LVEDP. Taken together, these results clearly suggest that early ET intervention (started 1 week after MI) may be favorable to the restoration of cardiac function after ischemic injury. Additionally, the normalization of CO and PVR observed in the TI group was probably responsible for maintaining the regional blood flow in this group. Considering that, oxygen uptake is related to CO and arterial venous difference, and arterial venous difference is regulated by peripheral blood flow, the correlations obtained between EF and CO with VO_2 max, as well as between gastrocnemius blood flow and VO_2 max, suggest that the normalization of cardiac and peripheral dysfunctions observed in infarcted rats can be a key point in determining the improvement in functional capacity in the studied animals.

To further investigate the mechanisms underlying the improved cardiac function and tissue perfusion, and also the reduced mortality rate observed in TI animals, we evaluated BRS and HRV. We confirmed that hemodynamic and autonomic parameters, such as AP, CO, BRS, and HRV, were reduced in SI rats, resulting in reduced functional capacity and a higher mortality rate, reinforcing the role of cardiovascular indexes as prognostic markers and mortality indicators after MI [2]. Moreover, previous reports have noted that many secondary abnormalities associated with MI may reflect physical deconditioning [27, 28], which itself may be partly responsible for

some of the associated abnormalities and exercise limitations of HF, including impairment in autonomic balance.

The mechanisms of neurohumoral excitation after MI are not entirely understood. It is likely that after MI activation of cardiac sympathetic afferent fibers increases sympathetic outflow already during the phase of diastolic dysfunction [29]. Later development of LV dysfunction is associated with further increment in neurohumoral excitation, due to arterial and cardiopulmonary baroreceptors abnormalities [30, 31, 32]. Consequently, these alterations may cause a reduction in peripheral blood flow, because a constant decrease occurs in CO, compensated by sympathetic overactivity, neurohumoral activation and HRV impairment, which is an important determinant of mortality in MI patients [2].

In the present study, early ET restored autonomic control of circulation represented by BRS and PI variance. This suggests that ET may not only increase the reflex responses mediated by the parasympathetic nervous system, but also suppress the influence of the sympathetic nervous system in ischemic heart disease. In fact, after the ET protocol, we observed that infarcted rats had LF band normalization compared with sedentary ones, suggesting that ET reduced the sympathetic modulation in these animals, since the LF component of HRV reduction has been associated with sympathetic overactivity and poor prognoses [33]. Moreover, the HF band of HRV increased after ET although it was not normalized, indicating an improvement in parasympathetic modulation on the heart in TI.

Additionally, the positive correlations observed between PI variance, which represents a cardiac autonomic index, with parameters of LV contraction (+dP/dt and EF) and relaxation (-dP/dt), suggests that the improvement in autonomic modulation by ET may have determined the normalization of cardiac dysfunction and consequently a reduction in the risk of arrhythmias observed after MI.

Our study corroborates previous investigations that have shown that ET improves autonomic nervous activity and decreases the incidence of cardiac events or sudden death in patients with MI or with chronic HF [28]. Cardiovascular autonomic indexes, such as BRS, HRV [2], and LF and HF bands of power spectral analyses [27] are important prognostic markers and mortality indicators after MI. It is important to highlight that ET normalized all these parameters in the present study. Based on these findings and corroborating previous data from our group in which ET reduced the mortality rate in diabetic animals [13, 18]; this study confirms that early ET was also effective in reducing the total mortality rate in infarcted animals.

In conclusion, early ET intervention reduced cardiac and peripheral dysfunctions. These benefits were associated with preservation of cardiovascular autonomic control after MI in trained rats. Consequently, these ET adjustments resulted in improvement in functional capacity and survival rate after MI.

Sources of Funding

This study was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP- 01/00009-0; 07/57595-5) and Fundação E.J. Zerbini. L.J. held a master scholarship from Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo. (FAPESP- 06/53800-0). B.R. held a post-doctorate scholarship from Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq). M.C.I and K.D.A. hold financial support from Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq-BPQ).

Conflict of Interest

The author(s) declare that they have no conflict of interest.

References

1. Negrao CE, Middlekauff HR. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. *Heart Fail Rev* 2008;**13**(1):51-60.
2. La Rovere MT, Bigger JT Jr. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet* 1998;**351**(9101):478-84.
3. Liao L, Allen LA, Whellan DJ. Economic burden of heart failure in the elderly. *Pharmacoeconomics* 2008;**26**(6):447-62.
4. Rondon E, Brasileiro-Santos MS, Moreira ED, Rondon MUPB, Mattos KC, Coelho MA, Silva GJJ, Brum PC, Fiorino P, Irigoyen MC, Krieger EM, Middlekauff HR and Negrão CE. Exercise training improves aortic depressor nerve sensitivity in rats with ischemia-induced heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;**291**:2801-2806.
5. Ferguson DW, Berg WJ, Roach PJ, Oren RM, Mark AL. Effects of heart failure on baroreflex control of sympathetic neural activity. *Am J Cardiol.* 1992;**69**:523-531.
6. Cohn JN, Johnson GR, Shabetai R, Loeb H, Tristani F, Rector T, Smith R, Fletcher R, for the V-HeFT VA Cooperative Studies Group. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias, and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in HF. *Circulation.* 1993;**87**(suppl VI):5-16.

7. Esler M, Kaye D. Measurement of sympathetic nervous system activity in heart failure: the role of norepinephrine kinetics. *Heart Fail Rev.* 2000;**5**:17-25.

8. Flynn KE, Piña IL, Whellan DJ, Lin L, Blumenthal JA, Ellis SJ, Fine LJ, Howlett JG, Keteyian SJ, Kitzman DW, Kraus WE, Miller NH, Schulman KA, Spertus JA, O'Connor CM, Weinfurt KP. Effects of exercise training on health status in patients with chronic heart failure: HF-ACTION randomized controlled trial. *JAMA.* 2009 Apr 8;**301**(14):1451-9.

9. Braga LM, Rosa K, Rodrigues B, Malfitano C, Camassola M, Chagastelles P, Lacchini S, Fiorino P, De Angelis K, Schaan BD, Irigoyen MC, Nardi NB. Systemic delivery of adult stem cells improves cardiac function in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008;**35**(2):113-9.

10. De Macedo Braga LM, Lacchini S, Schaan BD, Rodrigues B, Rosa K, De Angelis K, Borges LF, Irigoyen MC, Nardi NB. In situ delivery of bone marrow cells and mesenchymal stem cells improves cardiovascular function in hypertensive rats submitted to myocardial infarction. *J Biomed Sci.* 2008;**15**(3):365-74.

11. Wichi R, Malfitano C, Rosa K, De Souza SB, Salemi V, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC. Noninvasive and invasive evaluation of cardiac dysfunction in experimental diabetes in rodents. *Cardiovasc Diabetol.* 2007;**26**:6-14.

12. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2007; Dec 13;**6**:38.
13. Souza SBC, Flues K, Paulini J, Mostarda C, Rodrigues B, Souza LE, Irigoyen MC, De Angelis, K. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Hypertension*. 2007;**50**:786-791.
14. De Angelis KL, Oliveira AR, Dall'Ago P, Peixoto LR, Gadonski G, Lacchini S, Fernandes TG, Irigoyen MC. Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. 2000;**33**(6):635-41.
15. Dall'ago P, D'Agord Schaan B, da Silva VO, Werner J, da Silva Soares PP, de Angelis K, Irigoyen MC. Parasympathetic dysfunction is associated with baroreflex and chemoreflex impairment in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Auton Neurosci*. 2007;**131**(1-2):28-35.
16. Irigoyen MC, Paulini J, Flores LJ, Flues K, Bertagnolli M, Moreira ED, Consolim-Colombo F, Belló-Klein A, De Angelis K. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. *Hypertension*. 2005;**46**(4):998-1003.
17. Harthmann AD, De Angelis K, Costa LP, Senador D, Schaan BD, Krieger EM, Irigoyen MC. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. *Auton Neurosci*. 2007;**133**(2):115-20.

18. Mostarda C, Rogow A, Moraes Silva IC, De La Fuente RN, Jorge L, Rodrigues B, Heeren MV, Caldini EG, De Angelis K, Irigoyen MC. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. *Auton Neurosci*. 2009;**145**(1-2):11-16. Epub 2008 Nov 20.
19. Bertagnolli M, Schenkel PC, Campos C, Mostarda CT, Casarini DE, Belló-Klein A, Irigoyen MC, Rigatto K. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2008;**21**(11):1188-93.
20. De Angelis K, Gama VM, Farah VA, Irigoyen MC. Blood flow measurements in rats using four color microspheres during blockade of different vasopressor systems. *Braz J Med Biol Res*. 2005;**38**(1):119-25.
21. De Angelis K, Ogawa T, Sanches IC, Rigatto KV, Krieger EM, Irigoyen MC. Impairment on cardiac output and blood flow adjustments to exercise in L-NAME-induced hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;**47**(3):371-6.
22. Sullivan MJ, Higginbotham MB, Cobb FR. Exercise training in patients with chronic heart failure delays ventilatory anaerobic threshold and improves submaximal exercise performance. *Circulation*. 1989;**79**:324-329.
23. Freimann S, Scheinowitz M, Yekutieli D, Feinberg MS, Eldar M, Kessler-Icekson G. Prior exercise training improves the outcome of acute myocardial infarction in the rat: heart structure, function, and gene expression. *J Am Coll Cardiol*. 2005;**45**:931-938.

24. Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation*. 1999;**99**:963-972.
25. Nozawa E, Kanashiro RM, Murad N. Performance of two-dimensional Doppler echocardiography for the assessment of infarct size and left ventricular function in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2006;**39**(5):687-95.
26. Andrews Portes L, Magalhaes Saraiva R, Alerta Dos Santos A, Tucci PJ. Swimming training attenuates remodeling, contractile dysfunction and congestive heart failure in rats with moderate and large myocardial infarctions. *Clin Exper Pharmacol Physiol*. 2008 Oct 15. [Epub ahead of print]
27. Coats AJS, Adamopoulos S, Radaelli A, McCance A, Meyre TE, Bernardi L. Controlled trial of physical training in chronic heart failure: Exercise performance, hemodynamics, ventilation, and autonomic function. *Circulation*. 1992;**85**:2119-2131.
28. Kiilavuori K, Toivonen H, Naveri H, Leinonen H. Reversal of autonomic derangements by physical training in chronic heart failure assessed by heart rate variability. *Eur Heart J*. 1995;**16**:490-495.
29. Malliani A, Montano N. Emerging excitatory role of cardiovascular sympathetic afferents in pathophysiological conditions. *Hypertension*. 2002; Jan;**39**(1):63-8.
30. Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GD, Simon AB, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*. 1984; **311**(13):819-23.

31. Eckberg DL, Drabinsky M, Braunwald E. Defective cardiac parasympathetic control in patients with heart disease. *N Engl J Med.* 1971;**285**:877-883.
32. Wang W, Chen JS, Zucher IH. Carotid sinus baroreceptor sensitivity in experimental heart failure. *Circ Res.* 1991;**68**:1294-1301.
33. Guzzetti S, La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, Borroni E, Porta A, Mortara A, Malliani A. Different spectral components of 24 h heart rate variability are related to different modes of death in chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2005;**26**(4):357-62.

Figure Legends

Figure 1. Myocardial infarction area (akinetic area) evaluated by echocardiography in sedentary (SI) and trained infarcted (TI) animals at the beginning and at the final of the protocol. ‡ $p < 0.05$ vs. initial evaluation; † $p < 0.05$ vs. SI.

Figure 2. Positive correlations between maximal oxygen consumption (VO_2 max.): **A.** cardiac output ($r=0.7$, $p=0.002$); **B.** gastrocnemius blood flow ($r=0.8$, $p=0.0001$).

Figure 3. Correlations between pulse interval variance (PI variance) and: **A.** LV maximal rate of pressure rise ($+dP/dt$) ($r=0.7$, $p=0.001$); **B.** LV maximal rate of pressure fall ($-dP/dt$) ($r=0.82$, $p=0.0001$).

Figure 4. Kaplan-Meier survival curve from control (C), sedentary-infarcted (SI), trained-infarcted (TI) groups. * $p < 0.001$ vs. C; † $p < 0.001$ vs. SI.

Table 1. Maximal oxygen consumption (mL/kg/min⁻¹) at 15, 60, and 90 days after exercise training in control (C), sedentary infarcted (SI), and trained infarcted (TI) rats.

Groups / Days	C	SI	TI
15	82 ± 3	55 ± 1*	59 ± 3*
60	80 ± 3	53 ± 1*	64 ± 3*
90	77 ± 3	49 ± 1*	72 ± 3†

Values are expressed as mean ± SEM. * p<0.05 vs. C; † p<0.05 vs. SI (n=8 for each group).

Table 2. Initial and final echocardiographic measurements in control (C), sedentary infarcted (SI), and trained infarcted (TI) groups.

Parameter / Group		C	SI	TI
<i>Morphometric</i>				
LV mass (g/kg)	Initial	1.02±0.02	1.06±0.04	1.11±0.04
	Final	1.10±0.03	1.22±0.03*	1.25±0.03*
LVDIA (cm)	Initial	0.65±0.01	0.75±0.01*	0.79±0.03*
	Final	0.71±0.02	0.86±0.03*	0.85±0.03*
<i>Systolic Function</i>				
EF (%)	Initial	74±2	43±3*	41±2*
	Final	71±1	40±1*	59±4*†‡
<i>Diastolic Function</i>				
IVRT (ms)	Initial	33±2	27±2	29±2
	Final	30±1	30±2	30±2
E/A ratio	Initial	1.6±0.1	2.5±0.20	2.6±0.20
	Final	1.6±0.2	2.7±0.4*	1.5±0.03†‡

Values are expressed as mean ± SEM. LV mass – Left ventricular mass corrected by body weight; LVDIA – Left ventricular diameter during diastole; EF - Ejection fraction; IVRT– Left ventricular isovolumetric relaxation time; E/A ratio – E wave and A wave ratio. ‡ p<0.05 vs. initial evaluation; * p<0.05 vs. C; † p<0.05 vs. SI. (n=8 for each group).

Table 3. Hemodynamic and autonomic parameters evaluated at the end of the protocol in control (C), sedentary infarcted (SI), and trained infarcted (TI) groups.

Parameter/Group	C	SI	TI
<i>Hemodynamic</i>			
SAP (mm Hg)	125±2	114±3*	120±1†
DAP (mm Hg)	91±2	86±3*	89±1†
MAP (mm Hg)	108±2	98±3*	103±1†
HR (bpm)	352±12	349±6	321±5*†
CO (mL/min)	111±8	72±7*	100±10†
PVR (mm Hg/mL/min)	0.9±0.1	1.5±0.2*	0.9±0.1†
<i>Baroreflex Sensibility</i>			
BR (bpm/mm Hg)	-2.08±0.1	-1.45±0.08*	-2.1±0.1†
TR (bpm/mm Hg)	3.2±0.1	2.0±0.4*	3.2±0.2†
<i>Heart Rate Variability</i>			
PI Variance (ms²)	100±13	58±10*	128±21†
VLF band (ms²)	30.1±5.9	5.7±0.7*	3.27±1*
LF band (ms²)	3.6±0.5	1.5±0.2*	4.5±1.2†

HF band (ms²)	14.1±0.8	6.2±1.0*	8.9±1.4*†
LF/HF	0.26±0.02	0.26±0.06	0.36±0.04

Values are expressed as mean ± SEM. SAP - Systolic arterial pressure; DAP – Diastolic arterial pressure; MAP – Mean arterial pressure; HR – Heart rate; CO: cardiac output; PVR – Peripheral vascular resistance; BR – Bradycardic response; TR – Tachycardic response; PI variance – Pulse interval variance; VLF – Very low frequency band; LF band – Low frequency band; HF band – High frequency band; LF/HF – Low frequency and high frequency bands ratio. * p<0.05 vs. C; † p<0.05 vs. SI. (n=8 for each group).

Table 4. Regional blood flows in control (C), sedentary infarcted (SI), and trained infarcted rats (TI).

Blood flow / Group	C	SI	TI
Left Ventricle (mL/min/g)	3.3±0.5	1.4±0.1*	1.4±0.3*
Right Ventricle (mL/min/g)	2.1±0.3	1.1±0.5*	0.9±0.4*
Lungs (mL/min/g)	1.3±0.1	0.7±0.2*	1.2±0.3
Right Kidney (mL/min/g)	3.7±1	1.9±0.4*	2.3±0.7
Left Kidney (mL/min/g)	3.6±1	1.8±0.5*	2.1±0.4
Gastrocnemius (mL/min/g)	0.3±0.01	0.1±0.04*	0.3±0.01†

Values are expressed as mean ± SEM. * p<0.05 vs. C; † p<0.05 vs. SI. (n=8 for each group).

Figure 1

Figure 2

Figure 3

Figure 4