Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Fisiopatologia Experimental

Jacqueline Freire Machi

Influência do Treinamento Físico em parâmetros cardíacos, vasculares, inflamatórios e de estresse oxidativo em um modelo de menopausa e síndrome metabólica no envelhecimento

São Paulo, Março de 2015.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Fisiopatologia Experimental

Jacqueline Freire Machi

Influência do Treinamento Físico em parâmetros cardíacos, vasculares, inflamatórios e de estresse oxidativo em um modelo de menopausa e síndrome metabólica no envelhecimento

Tese apresentada à faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo

Área de Concentração: Fisiopatologia
Experimental

Orientador: Prof. Dra. Maria Cláudia Costa
Irigoyen

São Paulo, Março de 2015.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Machi, Jacqueline Freire

Influência do treinamento físico em parâmetros cardíacos, inflamatórios e de estresse oxidativo em um modelo de menopausa e síndrome metabólica no envelhecimento/Jacqueline Freire Machi. -- São Paulo, 2015.

Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Fisiopatologia Experimental.

Orientadora: Maria Cláudia Costa Irigoyen.

Descritores: 1.Ovariectomia 2.Exercício 3.Síndrome X metabólica
4.Doenças cardiovasculares 5.Envelhecimento 6.Fructose

USP/FM/DBD-137/15

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ter sido sempre a essência em minha vida, verdadeiro dono do meu destino, meu guia, por quem grito nas horas de socorro, ao meu pai **Orivaldo Ruiz Machi**, à minha mãe **Rosana Freira Machi**, por sua paciência comigo nas horas de angústia e às vezes desesperos, fazendo que eu nunca desista desse sonho e dedico também à minha irmã, **Karina** sendo uma advogada que é, sempre me alertando e corrigindo os meus erros.

Dedico também a todos os meus familiares, tios, tias, primos, primas, pelos incentivos que sempre foram me dados e em especial uma verdadeira rainha da minha vida, que sempre me elogiando e principalmente me abençoando nesse trabalho, isto só poderia ser obra da minha avó **Josepha Ruiz Beltran Machi**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço de coração aos professores **Kátia De Angelis, Rogério Wichi e Maria Cláudia Irigoyen**, que vestidas realmente da profissão, sempre me orientando, me ensinando, me alertando, enfim sempre mostrando o caminho ideal para que eu consiga mesmo alcançar este meu sonho na minha vida acadêmica. Tenho aprendido muito não só com suas lições acadêmicas como também suas lições de vida, pois ali estão verdadeiras guerreiras.

Amigos do Incor, Maikon, Leandro, Edson, Janaina, Ivana, Dudu, Fernando, Cristiano, Michele e Daniela colegas que em muitos momentos contribuíram com suas forças, conselhos, ajudas e colaborações. Em especial aos amigos **Oscar Albuquerque, Kátia Scapini e Paula Cruz** pelas noites em claro literalmente, serei sempre grata a vocês, e torcendo para que essa nossa vida jamais nos separe.

Amigos da Uninove Nathalia, Janaina, Sarah, Cristiane, Iris, Janaina, Filipe, Camila, Guilherme por serem tão prestativos comigo nas horas que mais precisei e que por isso também serei grata por toda à vida. Em especial **Danielle da Silva** Dias companheira a mais de 10 anos a qual aprendi muito não só na vida acadêmica como pessoal.

Amigos da Universidade São Judas, Leandro, Leide, Camila e Catarina, por fazerem parte também dessa colaboração e que agradeço de coração e espero lhes retribuir em um futuro próximo.

À **Mariana Morris**, por seu enorme profissionalismo, dedicação, e principalmente por sua simpatia. Ela tem sido um verdadeiro anjo da guarda em minha vida, ela tem sido o meu alicerce nessa minha vida fora do meu país, ela tem dado sua confiança nesse meu trabalho acadêmico. Não é possível exprimir toda a minha admiração à grandeza desta mulher.

À Universidade de São Paulo e todos os professores, coordenadores, secretários e funcionários que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Envelhecimento da mulher e associação com as doenças cardiovasculares	1
1.2. Síndrome Metabólica e seus complicadores	2
1.3. Modelos experimentais de menopausa e síndrome metabólica	5
1.4. Síndrome metabólica e envelhecimento: o impacto da menopausa	6
1.5. Estresse Oxidativo e Disfunção Endotelial	9
1.6. O treinamento físico no manejo das disfunções metabólicas e cardiovasculares observadas no envelhecimento e na menopausa.....	12
2. HIPÓTESE	14
3. JUSTIFICATIVA	15
4. OBJETIVOS.....	18
4.1. Objetivo Geral	18
4.2. Objetivos Específicos.....	18
5. MÉTODOS	19
5.1. Amostra	19
5.2. Ooforectomia bilateral	21
5.3. Indução do modelo experimental de síndrome metabólica	22
5.4. Determinação da Glicemia, Triglicérides e Resistência à Insulina	23
5.5. Teste de Esforço para Controle do Exercício	24
5.6. Treinamento Físico	25
5.7. Avaliações Ecocardiográficas	26
5.8. Canulação	28

5.9.	Registro da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca de Repouso	29
5.10.	Identificação da fase do ciclo estral	30
5.11.	Sensibilidade dos Pressorreceptores	30
5.12.	Tônus Simpático e Parassimpático	32
5.13.	Efeito Simpático e Vagal	33
5.14.	Avaliação da modulação autonômica cardiovascular no domínio do tempo e da frequência (análise espectral)	33
5.15.	Eutanásia dos Animais	34
5.16	Estudo das artérias mesentéricas de resistência (remoção e preparação da mesentérica)	34
5.16.1.	Protocolos para estudo das artérias mesentéricas de resistência	36
5.17.	Preparação dos tecidos	36
5.18.	Dosagem de Proteínas	37
5.19.	Dosagens de Estresse Oxidativo e Antioxidantes	37
5.19.1.	Dosagem de Proteínas Carboniladas (dano a proteína)	37
5.19.2.	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	37
5.19.3.	Glutathione Total	38
5.19.4.	Glutathione Oxidada	38
5.19.5.	Catalase (CAT)	38
5.19.6.	Superóxido Dismutase (SOD)	39
5.19.7.	Glutathione Peroxidase (GPx)	39
5.20.	Perfil Inflamatório	40
5.21.	Análise estatística	40
6.	RESULTADOS PROTOCOLO 1	41
6.1.	Peso corporal	41

6.2.	Consumos de Água e Ração	42
6.3.	Cálculo da ingestão calórica	44
6.4.	Tecido Adiposo Branco	45
6.5.	Glicemia	46
6.6.	Triglicerídeos	47
6.7.	Colesterol	47
6.8.	Teste de tolerância à insulina	49
6.9.	Capacidade Física (tempo de corrida)	50
6.10.	Capacidade Física (Km/h)	51
6.11.	Avaliação Ecocardiográfica	53
6.11.1.	Morfometria cardíaca	53
6.11.2.	Função Sistólica e Diastólica	54
6.12.	Pressão Arterial	56
6.13.	Frequência Cardíaca	58
6.14.	Avaliação da sensibilidade barorreflexa	58
6.14.1.	Resposta Taquicárdica	58
6.14.2.	Respostas Bradicárdicas	59
6.15.	Avaliações do controle autonômico da frequência cardíaca pelo bloqueio farmacológico	60
6.15.1.	Tônus Vagal	60
6.15.2.	Tônus Simpático	61
6.15.3.	Efeito Vagal e Efeito Simpático	61
6.16.	Frequência Cardíaca Intrínseca	62
6.17.	Modulação autonômica cardiovascular (variabilidade da frequência cardíaca)	64

6.17.1.	Domínio do Tempo.....	64
6.17.2.	Domínio da Frequência	65
6.17.3.	Variabilidade da pressão arterial	68
6.18.	Perfil inflamatório	71
6.19.	Avaliações do Estresse Oxidativo	74
6.20.	Estudo de correlação	77
7.	RESULTADOS PROTOCOLO 2	78
7.1.	Pesos Corporal	78
7.2.	Variação do Ganho de Peso Corporal	79
7.3.	Consumos de Frutose e Ração	80
7.4.	Cálculo da Ingestão Calórica	81
7.5.	Tecido Adiposo Branco	83
7.6.	Glicemia	84
7.7.	Triglicerídeos	85
7.8.	Colesterol Total	85
7.9.	Teste de tolerância à insulina	87
7.10.	Capacidade Física (tempo de corrida)	88
7.11.	Capacidade Física (Km/h)	89
7.12.	Avaliação Ecocardiográfica	90
7.12.1.	Morfometria cardíaca	90
7.12.2.	Função Sistólica e Diastólica	91
7.13.	Pressão Arterial	94
7.14.	Frequência Cardíaca	96
7.15.	Avaliação da sensibilidade barorreflexa	97
7.15.1.	Resposta Taquicárdica	97

7.15.2.	Respostas Bradicárdicas	97
7.16.	Avaliações do controle autonômico da frequência cardíaca pelo bloqueio farmacológico	98
7.16.1.	Tônus vagal	98
7.16.2.	Tônus simpático	99
7.16.3.	Efeito Vagal e Efeito Simpático	100
7.17.	Frequência Cardíaca Intrínseca	101
7.18.	Avaliações do controle autonômico da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência (análise espectral)	103
7.18.1.	Domínio do Tempo	103
7.18.2.	Domínio da Frequência	106
7.18.3.	Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica	108
7.19.	Reatividade Vascular	111
7.19.1.	Resposta à acetilcolina (ACh)	111
7.19.2.	Resposta ao Nitroprussiato de Sódio (NPS)	111
7.19.3.	Resposta à Noradrenalina	112
7.19.4.	Resposta à Fenilefrina	113
7.20.	Perfil Inflamatório	114
7.21.	Estresse Oxidativo	117
7.22.	Estudo de correlação	120
8.	DISCUSSÃO	122
8.1.	Avaliação do Peso Corporal e Parâmetros Metabólicos	122
8.2.	Avaliação do Perfil Hemodinâmico e do Controle Autonômico Cardiovascular	126
8.3.	Inflamação	130
8.4.	Estresse Oxidativo	131

8.5.	Avaliação da morfometria e função cardíaca	134
8.6.	Capacidade Física.....	136
8.7.	Avaliações metabólicas	138
8.8.	Avaliação do Perfil Hemodinâmico e do Controle Autonômico Cardiovascular	142
8.9.	Reatividade Vascular	149
8.10	Inflamação	151
8.11.	Estresse Oxidativo	153
8.12.	Avaliação Ecocardiográfica	157
8.13	Avaliação da Capacidade Física	158
9.	CONCLUSÕES	161
10.	REFERÊNCIAS	162

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sequência experimental do estudo	21
Figura 2. Etapas de realização da ooforectomia bilateral em ratas.....	22
Figura 3. Tratamento de D-frutose na água de beber.....	23
Figura 4. Aparelhos utilizados para análises das concentrações plasmáticas de glicose e triglicerídeos.	23
Figura 5. Injeção de insulina para teste de resistência à insulina (ITT).....	24
Figura 6. Correlação entre o consumo de oxigênio (VO ₂) e a velocidade no teste de corrida (km/h) em ratas ooforectomizadas e ao lado, esteira utilizada para teste de esforço.	25
Figura 7. À esquerda: posição anátomo-cirúrgica da canulação de artéria e veia femoral. No centro e à direita: o feixe vaso nervoso, composto pela veia femoral esquerda, artéria femoral esquerda e nervo femoral esquerdo; esquema da canulação.	28
Figura 8. Sistema de registro de pressão arterial e conexão entre a cânula e o transdutor eletromagnético.	29
Figura 9. Tipos de células encontradas em cada ciclo estral.	30
Figura 10. Registro da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.	32
Figura 11. Miógrafo utilizado para a análise de reatividade vascular.	35
Figura 12. Peso corporal dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao longo das 09 semanas de protocolo.....	41
Figura 13. Peso Corporal dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	42
Figura 14. Ingestão Líquida (ml/dia) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	43
Figura 15. Ingestão de Ração (g/dia) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	44
Figura 16. Ingestão calórica diária total dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	45

Figura 17. Tecido Adiposo Branco em gramas dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	46
Figura 18. Glicemia dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	46
Figura 19. Triglicerídeos dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	47
Figura 20. Colesterol dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	48
Figura 21. Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	49
Figura 22. Tempo Máximo Alcançado no Teste de Esforço dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	51
Figura 23. Velocidade Alcançada no Teste de Esforço dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	52
Figura 24. Relação pico da onda E com pico da onda A (relação E/A) e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	55
Figura 25. (A) Pressão arterial sistólica, (B) Pressão arterial diastólica, (C) Pressão arterial média dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	57
Figura 26. Frequência cardíaca dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	58
Figura 27. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas Taquicárdicas dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	59
Figura 28. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas bradicárdicas dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	59

Figura 29. Tônus vagal (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	60
Figura 30. Tônus Simpático (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	61
Figura 31. Efeito Vagal (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	62
Figura 32. Efeito Simpático (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	62
Figura 33. Frequência cardíaca intrínseca dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	63
Figura 34. Intervalo de Pulso (IP) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	64
Figura 35. Desvio padrão da Variância do IP dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	64
Figura 36. Variância do IP dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	65
Figura 37. RMSSD (ms) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	65
Figura 38. Banda de baixa frequência do IP (LF) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	66
Figura 39. Banda de alta frequência do IP (HF un) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	66
Figura 40. Balanço Simpático-vagal LF/HF dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	67

Figura 41. Desvio padrão da Variância da PAS dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	69
Figura 42. Variância da PAS dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	69
Figura 43. Banda de baixa frequência da PAS (LF) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	70
Figura 44. Interleucinas 1 α e 1 β dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	72
Figura 45. Interleucinas: IL6 dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	73
Figura 46. Interleucinas: IL10 dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).....	73
Figura 47. TNF alfa dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	74
Figura 48. Peso corporal dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao longo das 09 semanas de protocolo.	78
Figura 49. Peso Corporal dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	79
Figura 50. Ingestão Líquida (ml/dia) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)	80
Figura 51. Ingestão de Ração (g/dia) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	81
Figura 52. Ingestão calórica diária proveniente da frutose dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	82

Figura 53. Ingestão calórica diária proveniente da Ração dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	82
Figura 54. Ingestão calórica diária total dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	83
Figura 55. Tecido Adiposo Branco em grama dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	84
Figura 56. Glicemia dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	84
Figura 57. Triglicerídeos dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	85
Figura 58. Colesterol dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	86
Figura 59. Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	87
Figura 60. Tempo Máximo no Teste de Esforço dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	89
Figura 61. Velocidade Máxima Alcançada no Teste de Esforço dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	89
Figura 62. VEC= Velocidade de encurtamento circunferencial dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	91
Figura 63. TRIV= Tempo de relaxamento isovolumétrico corrigido pelo peso e tempo de desaceleração da onda E dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	93

Figura 64. IDM= Índice de performance miocárdica dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)	94
Figura 65. (A) Pressão arterial sistólica, (B) Pressão arterial diastólica, (C) Pressão arterial média dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	95
Figura 66. Frequência cardíaca dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	96
Figura 67. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas taquicárdicas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	97
Figura 68. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas bradicárdicas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	98
Figura 69. Tônus vagal (bpm) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)	99
Figura 70. Tônus Simpático (bpm) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)	100
Figura 71. Efeito Vagal e Simpático (bpm) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	101
Figura 72. Frequência cardíaca intrínseca dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	102
Figura 73. Intervalo de Pulso (IP) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	104
Figura 74. Desvio padrão do intervalo de pulso dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	105

Figura 75. RMSSD (ms) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	106
Figura 76. Banda de baixa frequência do IP (LF%) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	106
Figura 77. Banda de alta frequência do IP (HF) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	107
Figura 78. Balanço simpático vagal dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)	107
Figura 79. DP da Variância da PAS dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	108
Figura 80. Variância da PAS dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	109
Figura 81. Banda de baixa frequência da PAS (LF) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	110
Figura 82. Curvas concentração-resposta para acetilcolina (ACh: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas com endotélio funcional e pré-contraídas com noradrenalina (10^{-5} M) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	111
Figura 83. Curvas concentração-resposta para Nitroprussiato de Sódio (NPS: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas e pré-contraídas com noradrenalina (10^{-5} M) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	112
Figura 84. Curvas concentração-resposta para noradrenalina (NORA: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	112
Figura 85. Curvas concentração-resposta para fenilefrina (FE: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....	113

Figura 86. Interleucinas: IL1A e 1B dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....114

Figura 87. Interleucinas: IL6 dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....115

Figura 88. Interleucinas: IL10 dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....116

Figura 89. TNF alfa dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso corporal dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no início e no final do protocolo	42
Tabela 2 – Ingestão Líquida e de Ração diária dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	43
Tabela 3 - Ingestão Calórica diária dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).	44
Tabela 4 - Tecido Adiposo Branco em gramas dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no final do protocolo.	45
Tabela 5 – Glicemia, Triglicerídeos e Colesterol dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no início e final do protocolo.	48
Tabela 6 – Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no final do protocolo.	49
Tabela 7 - Duração total do teste de esforço e velocidade alcançada no teste dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no início e final do protocolo.	50
Tabela 8 – Parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizadas Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizadas Sedentárias (IOS) ao final do protocolo.....	53
Tabela 9 – Função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo	54
Tabela 10 - Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD), Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.	56
Tabela 11 – Sensibilidade dos Pressorreceptores dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.....	60

Tabela 12 – Tônus vagal e simpático, Efeito vagal e simpático e Frequência Cardíaca Intrínseca dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.....	63
Tabela 13 - Variabilidade da FC no domínio do tempo e da frequência dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.....	68
Tabela 14 - Variabilidade da pressão arterial dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo	70
Tabela 15 – Perfil Inflamatório dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo	71
Tabela 16 - Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido hepático dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	74
Tabela 17 - Atividade da catalase (CAT) e atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido hepático dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	75
Tabela 18 - Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido cardíaco dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	75
Tabela 19 - Concentração da catalase (CAT) e atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido cardíaco dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	76
Tabela 20 - Glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG) e razão da glutathione reduzida sobre a glutathione oxidada (GSH/GSSG) em tecido cardíaco dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)	77
Tabela 21 – Peso corporal dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no início e no final do protocolo.	79
Tabela 22 – Ingestão Líquida e de Ração diária dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	80

Tabela 23 – Ingestão Calórica diária dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).	81
Tabela 24 - Tecido Adiposo Branco em gramas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no final do protocolo.....	83
Tabela 25 – Glicemia, Triglicerídeos e Colesterol dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no início e final do protocolo.....	86
Tabela 26 – Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no final do protocolo.....	87
Tabela 27 – Duração total do teste de esforço e velocidade alcançada no teste dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). no início e final do protocolo.....	88
Tabela 28 – Parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo	90
Tabela 29 – Função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.....	92
Tabela 30 - Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD), Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.....	96
Tabela 31 – Sensibilidade dos Pressorreceptores dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.....	98
Tabela 32 – Tônus vagal e simpático, Efeito vagal e simpático e Frequência Cardíaca Intrínseca dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.	102

Tabela 33 - Variabilidade do intervalo de pulso dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo. 103

Tabela 34 - Variabilidade da pressão arterial dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo. 108

Tabela 35 – Reatividade Vascular dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.....113

Tabela 36 – Perfil Inflamatório dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.....117

Tabela 37 - Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido hepático dos grupos dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....118

Tabela 38 - Atividade da catalase (CAT) e atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido hepático dos grupos dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....118

Tabela 39 - Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido cardíaco dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)119

Tabela 40 - Atividade da catalase (CAT) e atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido cardíaco dos grupos dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).....119

Tabela 41 - Glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG) e razão da glutathione reduzida sobre a glutathione oxidada (GSH/GSSG) em tecido cardíaco dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF)120

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Exemplo de protocolo de treinamento Físico	26
------------------	--	----

Machi JF. *Influência do treinamento físico em parâmetros cardíacos, vasculares, inflamatórios e de estresse oxidativo em um modelo de menopausa e síndrome metabólica no envelhecimento* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Em 2013, a população idosa mundial era de 841 milhões e espera-se que aumente mais de três vezes até 2050. Neste sentido, a expectativa de vida das mulheres tem sido maior do que a dos homens. Apesar das doenças cardiovasculares (DCV) se desenvolverem mais tarde nas mulheres do que nos homens ela ainda é a principal causa de morte em mulheres. Adicionalmente, o aumento do consumo calórico, especialmente carboidratos refinados e frutose, tem sido correlacionado com o aumento de síndrome metabólica (SM). Estes dados confirmam que a idade, maus hábitos alimentares e o gênero têm uma importância significativa na incidência de risco cardiovascular. Evidências consistentes sobre os benefícios do treinamento físico nas alterações cardiovasculares, metabólicas e autonômicas associadas a DCV, têm levado muitos pesquisadores a sugerirem o treinamento físico regular como um procedimento não farmacológico importante na prevenção e tratamento de diferentes patologias. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi investigar o papel do treinamento físico sobre os efeitos do envelhecimento e da ingestão de frutose em parâmetros metabólicos, cardiovasculares, inflamatórios e de estresse oxidativo em ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos. Métodos: Os experimentos foram realizados com ratos Wistar fêmeas (n=56), jovens (3 meses) e idosas (22 meses) divididas nos seguintes grupos: jovem controle sedentária (JCS), jovem ooforectomizada sedentária (JOS), idosa controle sedentária (ICS), idosa ooforectomizada sedentária (IOS), idosa ooforectomizada frutose (IOF), idosa ooforectomizada treinada (IOT) e idosa ooforectomizada frutose treinada (IOTF). A ovariectomia foi realizada por remoção dos ovários de forma bilateral. Os grupos frutose

foram tratados com D-frutose (100g / L) na água de beber durante 10 semanas. O treinamento físico foi realizado em esteira durante 8 semanas. A morfometria e a função cardíaca foram avaliadas por ecocardiografia. A pressão arterial (PA) e a frequência cardíaca (FC) foram avaliadas pelo registro direto através de um sistema de PA para aquisição de dados. A sensibilidade do barorreflexo (SBR) foi avaliada pelas respostas de taquicardia (RT) e bradicardia (RB) às reduções e aumentos da PA, respectivamente. O controle autonômico foi avaliado pelo bloqueio farmacológico por atenolol e atropina. O stress oxidativo foi medido em tecido cardíaco e hepático e o perfil inflamatório avaliado no plasma. Os resultados foram apresentados em 2 protocolos. No primeiro, os efeitos do envelhecimento e da ooforectomia em animais jovens e idosos foram descritos descritos. No segundo, foram avaliados os efeitos do treinamento físico em ratas idosas ooforectomizadas. Resultados do primeiro protocolo: O envelhecimento ou a privação dos hormônios ovarianos promoveram aumento no peso corporal, na gordura e na concentração de triglicérides, uma redução da sensibilidade à insulina e na capacidade de exercício, disfunção diastólica do VE e aumento no índice de desempenho miocárdico (IDM). O envelhecimento e a privação dos hormônios aumentaram o tônus simpático e diminuíram o tônus vagal. A PAM aumentou nos grupos ooforectomizados jovens (117 ± 2 vs 107 ± 1 mmHg) e envelhecidos (119 ± 2 vs 110 ± 2 mmHg) e a FC não se modificou enquanto a variabilidade da FC estava reduzida nos grupos velhos. O envelhecimento se caracterizou por maior concentração de algumas citocinas inflamatórias (IL-6 e TNF- α). As enzimas antioxidantes estavam aumentadas nos grupos ooforectomizados e o dano a proteínas foi maior nas idosas ooforectomizadas. O aumento do tecido adiposo nos grupos jovens e idosos ooforectomizados ou não, se correlacionou com o aumento da IL-6 e do efeito simpático assim como com a redução da sensibilidade a insulina. O TNF- α foi inversamente associado com a razão GSH/GSSG e diretamente com a função cardíaca global (IDM) que foi inversamente associada com a capacidade física.

Resultados do segundo protocolo: A associação da síndrome metabólica (tratamento com frutose) com ooforectomia induziu disfunção exacerbada de alguns parâmetros como, aumento do peso corporal, tecido adiposo, efeito simpático, balanço simpato vagal, variabilidade da PAS e estresse oxidativo. No entanto, quando foi realizado o treinamento físico, houve uma diminuição do tecido adiposo (IOT: $3,94 \pm 0,44$; IOTF: $5,28 \pm 0,66$ g) e da resistência à insulina (IOT: $4,89 \pm 0,14$; IOTF: $5,12 \pm 0,43$ mg / dl / min) em comparação com os grupos sedentários (IOS: $6,27 \pm 0,62$, IOFS: $10,7 \pm 0,61$ g), (IOS: $3,18 \pm 0,31$; IOFS: $3,59 \pm 0,55$ mg / dl / min). O treinamento físico aumentou a capacidade física (IOT: $19,99 \pm 0,89$, IOTF: $17,55 \pm 1,05$ vs. IOS: $10,52 \pm 0,87$; IOSF: $10,34 \pm 0,59$ min). Os resultados hemodinâmicos demonstraram que o treinamento físico atenuou o aumento da PAM induzido por ovariectomia e / ou sobrecarga de frutose (IOT: $103,3 \pm 1,0$; IOTF: $107 \pm 1,1$ vs. IOS: $119,1 \pm 1,86$; IOSF: $119,1 \pm 2,7$ mmHg) e reduziu a FC basal (IOT: $302,1 \pm 13,20$ IOTF: $306,40 \pm 8,2$ vs. IOS: $389,53 \pm 20,10$, IOSF: $348,93 \pm 17,55$ bpm). O tônus simpático foi menor nos grupos treinados (IOT: $62,2 \pm 3,1$; IOTF: $51,2 \pm 7,1$) em relação aos grupos com sobrecarga de frutose e ou ooforectomizadas (IOS: $102,6 \pm 12,3$; IOSF: $85,39 \pm 3,75$ batimentos / min). O tônus vagal aumentou apenas no grupo treinado sem frutose (IOT: $44,76 \pm 5,87$ vs. IOTF: $22,87 \pm 3,38$; IOS: $17,14 \pm 4,21$; IOSF: $9,21 \pm 2,82$ batidas / min). Os grupos IOT e IOTF apresentaram bradicardia reflexa melhorada em relação aos grupos sedentários (IOT: $-1,74 \pm 0,12$; IOTF: $-1,77 \pm 0,15$ vs. IOS: $0,93 \pm 0,07$; IOSF: $-1,21 \pm 0,12$ bpm / mmHg). A modulação simpática da PAS estava reduzida nos grupos treinados (IOT: $3,33 \pm 0,50$; IOTF: $4,60 \pm 0,65$ vs. IOS: $6,03 \pm 0,95$; IOSF: $7,07 \pm 0,49$ mmHg). Finalmente, os grupos IOT e IOTF apresentaram melhor função diastólica com menor tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) (IOS: $3,08 \pm 0,21$; IOSF: $2,9 \pm 0,24$; IOT: $1,98 \pm 0,15$; IOTF: $2,72 \pm 0,2$ ms), relação E / A (IOS: $1,60 \pm 0,06$ IOSF: $1,62 \pm 0,05$; IOT: $1,41 \pm 0,17$; IOTF: $1,66 \pm 0,08$ ms), e função global cardíaca (MPI) (IOS: $0,40 \pm 0,06$; IOSF: $0,46 \pm 0,10$; IOT: $0,14 \pm$

0,03; IOTF: $0,29 \pm 0,04$). O peso do tecido adiposo se associou positivamente com os níveis plasmáticos de IL-1B e com o efeito simpático e inversamente com a sensibilidade à insulina e com a sensibilidade barorreflexa. O tônus vagal foi positivamente relacionado com a razão redox da glutatona e com a função sistólica. De forma semelhante, os níveis de IL-6 foram positivamente associados com o índice de função cardíaca global. A melhora da capacidade física foi associada com a melhora autonômica e da função cardíaca. Nossos resultados demonstraram que o envelhecimento potencializou os efeitos deletérios cardíacos e funcionais da privação dos hormônios ovarianos em ratas, provavelmente associados à disfunção autonômica, à inflamação e ao estresse oxidativo. No entanto, o treinamento físico após a privação dos hormônios ovarianos, com ou sem sobrecarga de frutose, foi capaz de modular favoravelmente a função autonômica, reduzindo marcadores de inflamação e estresse oxidativo, e consequentemente induzindo melhora na função cardíaca e na capacidade física.

Descritores: ovariectomia; exercício; síndrome X metabólica; doenças cardiovasculares; envelhecimento; frutose.

ABSTRACT

Machi JF. *Physical Training influence in cardiac, vascular, inflammatory and oxidative stress parameters in a model of menopause and metabolic syndrome in aging* [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2015.

In 2013 the world elderly population was 841 million and it is expected to increase more than three times in 2050. In this sense, women's life expectancy has been higher than men. In addition CVD develops later in women than in men and is still the major cause of death in women. Additionally increased caloric consumption, especially refined carbohydrates and fructose, has been correlated with the metabolic syndrome (MS) increase. These data, confirm that the age, habits and gender have a significant importance in the incidence of cardiovascular risk. Constant evidences of cardiovascular, metabolic and autonomic benefits of chronic exercise training have led many researchers to suggest a regular physical training as an important non-pharmacological procedure in the prevention and treatment in pathologies conditions. In this sense, the objective of this study was to investigate the effects of aging and fructose on metabolic, cardiovascular, inflammatory and oxidative stress parameters in female rats submitted to ovarian hormone deprivation (OVX), as well as the role of exercise training in this condition. Methods: experiments were performed on 56 female rats. Sixteen young rats with 3 months of age and forty old rats with 22 month of age ($n = 8$ in each group) were divided into: adult control (JCS), ovariectomized sedentary (IOS), aged sedentary control (ICS), aged ovariectomized sedentary (IOS), aged ovariectomized fructose (IOF), aged ovariectomized trained (IOT) and aged ovariectomized trained fructose (IOTF). Ovariectomy

was performed by bilateral ovaries removal. Fructose-fed rats received D-fructose (100g/L) in drinking water for 10 weeks. The exercise training was performed on a treadmill for 8 weeks. Cardiac morphometric and function were evaluated by echocardiography. Blood pressure (BP) and heart rate (HR) were evaluated by recording direct through a PA system for data acquisition. The baroreflex sensitivity (SBR) was evaluated by tachycardic (RT) and bradycardic (RB) responses. Autonomic control was assessed by vagal and sympathetic tonus and effect. Oxidative stress was measured in cardiac and hepatic tissue and inflammatory profile in plasma. Results: Aging or OVX promoted an increase in body and fat weight, triglyceride concentration and a reduction in insulin sensitivity and exercise capacity. Left ventricular diastolic dysfunction and increased cardiac overload (IPM) were observed in old compared to young groups. Aging and OVX lead to increase in sympathetic tonus, vagal tonus was lower just in old groups. TNF- α was higher in ICS when compared to JCS. IL-6 was increased in old compared young groups. Glutathione redox balance was reduced in JOS, ICS and IOS groups when compared to JCS, indicating increased oxidative stress. The association of metabolic syndrome with ovariectomy induced exacerbation of some dysfunctions, such as increase in body weight, adipose tissue, sympathetic effect, LF/HF balance, VARR PAS and stress oxidative. However when the animal did exercise training decreased the adipose tissue (IOT: 3.94 ± 0.44 ; IOTF: 5.28 ± 0.66 g) and insulin resistance (IOT: 4.89 ± 0.14 ; IOTF: 5.12 ± 0.43 mg/dl/min) compared with the sedentary groups (IOS: 6.27 ± 0.62 , IOFS: 10.7 ± 0.61 g), (IOS: 3.18 ± 0.31 ; IOFS: 3.59 ± 0.55 mg/dl/min). Exercise training increased physical capacity (IOT: 19.99 ± 0.89 , IOTF: 17.55 ± 1.05 vs. IOS: 10.52 ± 0.87 ; IOSF: 10.34 ± 0.59 Min). Hemodynamic results demonstrated that the exercise training attenuated the increase in MBP induced by ovariectomy and/or overload of fructose (IOT: 103.3 ± 1.0 ; IOTF: 107 ± 1.1 vs.: IOS: 119.1 ± 1.86 ; IOSF: 119.1 ± 2.7 mmHg) and reduced the basal HR (IOT: 302.1 ± 13.20 ; IOTF: 306.40 ± 8.2 vs: IOS: 389.53 ± 20.10 , IOSF: 348.93 ± 17.55 bpm). The sympathetic tonus

was lower in exercise training groups (IOT: 62.2 ± 3.1 ; IOTF: 51.2 ± 7.1) compared to ovariectomized and fructose overload groups (IOS: 102.6 ± 12.3 ; IOSF: 85.39 ± 3.75 beats/min). Vagal tonus was increased only in the trained group without fructose (IOT: 44.76 ± 5.87 vs IOFT: 22.87 ± 3.38 ; IOS: 17.14 ± 4.21 ; IOSF: 9.21 ± 2.82 beats/min). IOT and IOTF groups presented reflex bradycardia similar and was observed to be higher than the sedentary groups (IOT: -1.74 ± 0.12 ; IOFT: -1.77 ± 0.15 vs IOS: -0.93 ± 0.07 ; IOSF: -1.21 ± 0.12 bpm/mmHg). Sympathetic modulation of SAP was reduced in exercise training groups (IOT: 3.33 ± 0.50 ; IOFT: 4.60 ± 0.65 vs: IOS: 6.03 ± 0.95 ; IOSF: 7.07 ± 0.49 mmHg). Finally, the groups T and TF showed better diastolic function with lower isovolumetric relaxation time (IVRT) (IOS: 3.08 ± 0.21 ; IOSF: 2.9 ± 0.24 ; IOT: 1.98 ± 0.15 ; IOTF: 2.72 ± 0.2 ms), E/A ratio (IOS: 1.60 ± 0.06 ; IOSF: 1.62 ± 0.05 ; IOT: 1.41 ± 0.17 ; IOTF: 1.66 ± 0.08 ms), and cardiac global function by the myocardial performance index MPI (IOS: 0.40 ± 0.06 ; IOSF: 0.46 ± 0.10 ; IOT: 0.14 ± 0.03 ; IOTF: 0.29 ± 0.04). Our findings demonstrated that aging potentialized the deleterious cardiac and functional effects of OVX in rats, probably associated with exacerbated autonomic dysfunction, inflammation and oxidative stress. However, exercise training after ovarian hormone deprivation, with or without fructose overload, was able to positively modulate the autonomic function, reducing inflammatory and oxidative stress markers, consequently inducing improvement on cardiac function and physical capacity.

Descriptors: ovariectomy; exercise; metabolic syndrome X; cardiovascular diseases; aging; fructose.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Envelhecimento da mulher e associação com as doenças cardiovasculares

A expectativa de vida está aumentando em todo o mundo. Em 2013, a população de idosos do mundo era de 841 milhões com a expectativa de triplicar até 2050, atingindo mais de 2 bilhões de pessoas. Nesse sentido, a expectativa de vida das mulheres tem sido maior do que a dos homens, e estará em constante crescimento ao longo das próximas quatro décadas em todo o mundo (UNITED NATIONS, 2013).

A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo. Além disso, a DCV se desenvolve mais tarde nas mulheres do que nos homens e é ainda a principal causa de morte em mulheres. Só em 2012, 17,5 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares, representando 31% das mortes no mundo (Cardiovascular Diseases (CVDs), 2015). Estima-se que 43 milhões de mulheres nos Estados Unidos sejam afetadas por DCV, levando à morte de mais de 292 mil mulheres a cada ano, sendo responsável por uma em cada quatro mortes. Estes dados confirmam que a idade e o sexo têm uma importância significativa na incidência de risco cardiovascular (American Heart Association's Go Red For Women and Ad Council Launch National Public Service Advertising Campaign to Address a Leading Killer of Women in the U.S.: Heart Disease., 2014; KOCHANNEK et al., 2011). De acordo com esta ideia, as mulheres no período do climatério estão expostas a um risco cardiovascular aumentado que somado ao envelhecimento, associa-se com a redução da capacidade física, força muscular, massa óssea, aumento do peso corporal e prevalência elevada de diabetes.

As DCV têm sido associadas às alterações que geralmente incluem diminuição da atividade parassimpática e / ou aumento da atividade simpática, acompanhadas de mudanças nos marcadores inflamatórios, função cardíaca e estresse oxidativo. Parece, pois de grande importância o estudo em conjunto de medidas de prevenção ou atenuação das alterações observadas no público feminino principalmente relacionadas à menopausa e ao envelhecimento.

1.2. Síndrome Metabólica e seus complicadores

A Síndrome metabólica (SM) tem se tornado cada vez mais frequente no Brasil e no mundo (BOTOSSENEANU et al., 2015; HAFFNER, 2006), sendo classificada como um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares usualmente relacionados à deposição central de gordura que, por vezes, acompanha o envelhecimento (RIBEIRO FILHO et al., 2006). Vários critérios diagnósticos foram propostos por diferentes organizações nas últimas décadas. No entanto, a Federação Internacional de Diabetes (IDF), o National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), a American Heart Association (AHA) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) realizaram uma declaração científica conjunta em 2009, identificando a síndrome metabólica como um conjunto de fatores de risco para DCV e diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que incluem aumento da pressão arterial (PA), dislipidemia (aumento de triglicérides e colesterol), hiperglicemia de jejum e obesidade central (ALBERTI et al., 2009). Segundo critérios dessas organizações, para o indivíduo ser caracterizado como portador de SM, este deve apresentar pelo menos três desses fatores citados acima. Atualmente, diversos estudos vêm apontando que para o indivíduo ser considerado com SM, ele precisa ter presença de diabetes, aumento da

glicose de jejum, intolerância a glicose ou resistência à insulina, associados a mais dois fatores de risco relacionando acima (AYDIN et al., 2014).

Estudos apontam para uma prevalência de SM nos Estados Unidos (EUA) de 21,8% que tem aumentado fortemente nos últimos anos. No Brasil, não há dados conclusivos relacionados à prevalência nacional, mas alguns estudos têm mostrado que a prevalência da SM a nível regional é cerca de 15,8 - 48,3% (DE OLIVEIRA et al., 2012). A SM tem sido um grande problema de saúde pública nos Estados Unidos nas últimas décadas, e sua prevalência tem aumentado devido a maiores taxas de obesidade. O Relatório Nacional de Estatísticas de Saúde dos EUA demonstrou que 34% dos adultos com mais de 20 anos de idade a partir do National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) (2003-2006) apresentam um quadro de SM (ERVIN, 2009).

Na SM associada ao envelhecimento, estudos indicam que esta prevalência é ainda maior, chegando a 42% entre indivíduos com idade superior a 60 anos. Estudos realizados com a população europeia e americana observaram prevalência da SM de 32 a 43,5% entre pessoas na faixa dos 60 e 69 anos de idade, respectivamente (KELISHADI, 2007; ROYER et al., 2007).

Além do envelhecimento como facilitador do desenvolvimento da SM, os maus hábitos alimentares também podem trazer efeitos deletérios ao sistema cardiovascular. Acompanhando o aumento da epidemia de obesidade, o consumo de frutose na dieta da população, casualmente ou não, aumentou cerca de 250% nos últimos 15 anos, associado a um maior consumo de produtos industrializados. Estes, por sua vez, são compostos por frutose em seu processo de fabricação, tais como adoçantes, refrigerantes e xarope de milho, sendo este último comumente utilizado em outros alimentos, como

sucos, cereais matinais e alimentos pré-preparados (BASCIANO; FEDERICO; ADELI, 2005; BRAY; NIELSEN; POPKIN, 2004; TAPPY et al., 2010).

Dessa forma, o elevado consumo de frutose poderia favorecer diversas alterações metabólicas (BASCIANO et al., 2005; DAY, 2007; ELLIOTT et al., 2002; TAPPY et al., 2010). Ao contrário da glicose, a frutose não estimula a secreção de insulina e leptina, e sim de hormônios ligados a estimulação do apetite, já que o transportador de frutose para dentro da célula, o Glut 5, não está presente no cérebro, para assim ter a saciedade, o que sugere que esta substância pode favorecer o ganho de peso e alterações metabólicas associadas, como a resistência à insulina e alterações no perfil lipídico (TEFF et al., 2004; TRAN; YUEN; MCNEILL, 2009).

Além disso, a frutose é mais lipogênica do que a própria glicose, causando aumento dos níveis de triglicérides circulantes, fator este que vem sendo correlacionado com disfunção endotelial, principalmente por prejuízos nas respostas vasodilatadoras (DE MORAES et al., 2008; HALLFRISCH; BEHALL, 1999). A frutose aumenta as concentrações de ácido úrico em seres humanos e em roedores; de fato, a quantidade de ácido úrico pode subir 1-4 mg/dl após refeições que contenham frutose em sua composição. Elevadas concentrações de ácido úrico podem causar hipertensão, hiperinsulinemia e resistência à insulina; em contraste com o controle do ácido úrico os fatores de risco são eliminados (AYDIN et al., 2014). Estudos apontam também para uma diminuição do metabolismo basal, assim como para uma maior absorção de sódio e cloreto nas dietas ricas em frutose.

Por essas razões, evidências clínicas e epidemiológicas sugerem uma progressiva associação entre o consumo de frutose e o desenvolvimento de obesidade, acompanhada de outras anormalidades que caracterizam a SM (ELLIOTT et al., 2002; TAPPY et al., 2010).

Os mecanismos que permeiam esta complexa interação de anormalidades do sistema cardiovascular têm sido bastante estudados, embora não totalmente compreendidos; um número crescente de trabalhos tem demonstrado o papel fundamental do estresse oxidativo e da disfunção endotelial na patogênese das DCV (CAI; HARRISON, 2000).

1.3. Modelos experimentais de menopausa e síndrome metabólica

Os modelos experimentais são de extrema importância para a compreensão da fisiopatologia associada às diferentes condições. Um dos modelos consagrados na literatura para estudo da SM é a sobrecarga de frutose na água de beber de animais de experimentação, por induzir distúrbios semelhantes aos encontrados na SM (SUZUKI et al., 1997; TEFF et al., 2004 BASCIANO et al., 2005). Diferentes estudos que usaram a sobrecarga de frutose através da dieta observaram que os animais apresentaram alteração do metabolismo lipídico e glicêmico, resistência à insulina e aumento de PA (FARAH et al., 2006; FARAH; ELASED; MORRIS, 2007; HWANG et al., 1987; LEVINE, 1986). Associadas a estas alterações, alguns autores relataram também que o consumo de frutose promoveu aumento do peso corporal (BASCIANO et al., 2005; ELLIOTT et al., 2002; LEVINE, 1986). A escolha deste modelo se deve aos resultados já encontrados na literatura, sugerindo ser um modelo interessante para o estudo da SM, como também por resultados do nosso grupo de trabalho, que tem recentemente utilizado a frutose para promover alterações metabólicas e cardiovasculares. Tais resultados demonstram que o consumo elevado de frutose promove aumento da pressão arterial, hiperinsulinemia, dislipidemia e intolerância à glicose em camundongos, ratas e ratos jovens (BRITO et al., 2008; FARAH et al., 2006; FARAH et al., 2007; MACHI et al., 2013).

Conforme já citado, a incidência de doenças cardiovasculares aumenta significativamente em mulheres após a menopausa (ROSSI et al., 2002; SOWERS, M. R.; LA PIETRA, 1995). O mesmo tem sido observado após intervenção cirúrgica (ovariectomia ou ooforectomia) (VIRDIS et al., 2000). A indução da menopausa em modelos experimentais é feita a partir da ooforectomia bilateral, privando assim a fêmea dos efeitos dos hormônios ovarianos já que em ratas idosas parece ser difícil observar a parada completa da secreção desses hormônios, podendo as mesmas apresentarem picos hormonais (IRIGOYEN et al., 2005; SOUZA, S. B. et al., 2007). Essa intervenção (ooforectomia) pode levar ao aumento da PA, provoca alteração no perfil lipídico e metabólico e atenuação da sensibilidade dos pressorreceptores (FLUES et al., 2010; IRIGOYEN et al., 2005), reforçando o papel dos hormônios ovarianos na manutenção da homeostase cardiovascular.

1.4. Síndrome metabólica e envelhecimento: o impacto da menopausa

Segundo previsões da Organização Mundial da Saúde, o Brasil terá 32 milhões de idosos entre 2020 e 2025, o sexto país do mundo em número de idosos (GUS, 2007). É justamente nesta população que se observa a maior prevalência de doenças crônicas, sendo a doença cardiovascular a principal causa de morbimortalidade (MOSTARDA; WICHI; et al., 2009). As DCV estão associadas a alterações que incluem usualmente diminuição da atividade parassimpática e / ou aumento da modulação simpática, fator este intimamente relacionado com disfunção endotelial, alterações de marcadores inflamatórios e estresse oxidativo. Neste sentido, o envelhecimento é um processo natural importante por alterar tais mecanismos que controlam o sistema cardiovascular independente de alterações patológicas (MOSTARDA et al., 2009).

O prejuízo na modulação autonômica decorrente do avanço da idade se reflete em alterações na variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Estudos demonstram que

a redução da VFC, um fator de risco independente para mortalidade geral em pacientes após infarto agudo do miocárdio (KLEIGER et al., 1987; LA ROVERE et al., 1998), está presente em diferentes situações de risco isoladas para a doença cardiovascular, como na hipertensão (BALBINOTT et al., 2005; VANDERLEI et al., 2009), no diabetes mellitus (SCHAAN et al., 2004), na dislipidemia (DANEV et al., 1997) e na obesidade (KARASON et al., 1999). A associação de diferentes fatores de risco em um mesmo indivíduo como as observadas na SM, pode potencializar ainda mais a diminuição da VFC (LIAO, D. et al., 1996).

Outra importante alteração em consequência do envelhecimento é a dessensibilização do controle barorreflexo, o mais importante mecanismo reflexo de controle da PA. Um estudo que avaliou a sensibilidade barorreflexa em indivíduos entre 18 e 55 anos verificou uma diminuição de 3,6% da sensibilidade barorreflexa por ano de estudo, reforçando a ideia do crescente prejuízo autonômico com o envelhecimento (FAUVEL et al., 2007).

Embora tais alterações autonômicas da doença cardiovascular e do envelhecimento sejam comuns a homens e mulheres, o risco de eventos cardiovasculares na mulher em idade fértil é menor do que o do homem. Porém, segundo dados de Framingham, após os 65 anos, a mulher passa a ter o dobro de possibilidades de evento cardiovascular, em relação ao homem (ALDRIGHI; FALUDI; MANSUR, 2005).

A menopausa é caracterizada pela última menstruação da mulher. Essa fase corresponde à transição do período reprodutivo ou fértil para o não reprodutivo, devido à diminuição dos hormônios ovarianos. A ocorrência da menopausa provoca importantes alterações, como redução na capacidade de exercício, na força muscular, na

massa óssea, bem como aumento do peso corporal e da prevalência de diabetes, osteoporose e hipertensão arterial (SOWERS, M. R.; LA PIETRA, 1995).

A pós-menopausa pode explicar em parte as causas da aceleração das DCV com o avanço da idade. Um estudo com 940 mulheres iranianas de 20 a 76 anos, apontou que a prevalência de SM era de 26, 4% da população, sendo esta 53,5% em mulheres pós-menopausa versus 18,3% em mulheres pré-menopausa. Este estudo concluiu que a menopausa pode ser um preditor para SM independente da idade nestas mulheres iranianas (ESHTIAGHT et al., 2010). Nesta mesma linha, o estudo de Dasgupta e colaboradores (2012), com 316 mulheres divididas nas mesmas condições do estudo acima, apontam que a menopausa traz alterações na composição corporal caracterizadas por um aumento da massa de gordura corporal e adiposidade central. Isso cria um ambiente favorável para mudanças de metabolismo, agravando fatores de risco cardiovasculares. Assim, o status menopausal e a obesidade associada são os principais preditores de SM, mais que a idade para estas mulheres na menopausa.

Além do aumento na expectativa de vida, atualmente, as mulheres estão mais expostas a fatores de risco como o estresse, o fumo, os maus hábitos alimentares e o sedentarismo, devido em parte por sua inserção no mercado de trabalho. No Brasil, a prevalência de morte por doença cardiovascular aumentou de 10 para 25% entre os anos 60 e 70 para o sexo feminino (CASTANHO et al., 2001; BRAGA et al., 2013). Dados mais recentes demonstram que entre 1991 e 2010 dos 1.132.732 óbitos relatados em 2010 para todas as causas, 771.584 foram devidos as doenças crônicas, compreendendo 68,1% do total de óbitos. As principais causas de doenças crônicas são: doenças cardiovasculares, câncer, doenças respiratórias crônicas e diabetes que representaram 80,2% do total, tendo um crescimento de 64,4% em 1991 para 73,9% em 2010 (SAÚDE BRASIL, 2011). Porém estas informações são sobre o sexo feminino e masculino

agrupados, sendo necessários outros estudos para avaliar e diagnosticar a saúde da mulher, uma vez que há evidências de que intervenções eficazes sejam desigualmente utilizadas entre os sexos. Reforçando ainda mais este pensamento, um estudo de revisão de Pradhan (2014), demonstrou de maneira convincente que existe uma heterogeneidade significativa entre homens e mulheres em desenvolvimento da síndrome metabólica, em grande parte relacionada com a regulação hormonal da distribuição da gordura corporal e alterações metabólicas decorrentes.

O controle autonômico cardiovascular também se altera pós menopausa (KUO et al., 1999). Tem sido descrito na literatura que o reflexo cardiovascular comandado pelos pressorreceptores arteriais apresenta uma menor eficiência quando comparamos mulheres menopausadas às pré-menopausadas ou até mesmo aos homens (LAITINEN et al., 1998). O comprometimento da função dos pressorreceptores pode atuar como elemento permissivo ao estabelecimento de alterações primárias de outros mecanismos de controle da função cardiovascular (IRIGOYEN et al., 2003; IRIGOYEN et al., 2005). Esses dados em conjunto, confirmam que a idade e o gênero têm uma significativa importância na incidência de risco cardiovascular.

1.5. Estresse Oxidativo e Disfunção Endotelial

A geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) em maiores quantidades gera um desequilíbrio no perfil oxidativo e uma diminuição do óxido nítrico (NO) biodisponível, o que induz prejuízo na função endotelial e cardíaca (GRYGLEWSKI (GRYGLEWSKI; MONCADA; PALMER, 1986; RUBANYI; VANHOUTTE, 1986; PANZA et al., 1990).

Na hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes e no processo fisiológico do envelhecimento, foi demonstrada relação da disfunção endotelial com aumento do estresse oxidativo (CAI; HARRISON, 2000; BERRY et al., 2001). O aumento do

estresse oxidativo é conhecido por desempenhar um papel importante no início e na progressão da doença aterosclerótica vascular, uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo. Estudos recentes do nosso grupo observaram diminuição na atividade da glutathione peroxidase (GPx) considerada uma das principais enzimas que fazem parte das defesas antioxidantes primárias, em ratas jovens com privação dos hormônios ovarianos e sobrecarga de frutose ou diabéticas, assim como aumento da lipoperoxidação de membranas, avaliado pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido cardíaco (CONTI et al., 2014; QUINTEIRO et al., 2014).

Recentemente, a SM está sendo caracterizada por elevação de marcadores inflamatórios e aumento do estresse oxidativo, os quais podem ser preditores de eventos cardiovasculares, como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença arterial periférica; porém, pouco se sabe destas alterações no envelhecimento associado à menopausa e à prática de exercícios físicos (RAO et al., 2010).

Em modelos de SM, nosso grupo vem observando a presença de resistência à insulina (RI) associada a alterações no sistema nervoso simpático (SNS), sugerindo que a ativação destes dois sistemas pode contribuir para alterações vasoconstritoras, que posteriormente reduzirão o fluxo de sangue e glicose para tecidos sensíveis à insulina e podem levar à hipertensão (MACHI et al., 2013).

Estudos vêm apontando que a hipertensão arterial está associada à estrutura alterada dos vasos de resistência, um processo conhecido como remodelamento, já que a resistência periférica é determinada principalmente pela parte distal da vasculatura arterial (os vasos de resistência), consistido de pequenas artérias (artérias com diâmetro <300 µm) e de arteríolas (MULVANY, 2012). Evidências atuais indicam que o aumento da resistência periférica é em parte devido a um estreitamento geral de todos os

vasos de resistência e em parte a uma redução no número de arteríolas conectadas em paralelo, um processo conhecido como rarefação. Em princípio, o estreitamento leva ao aumento da resistência dos vasos, devido à sua função alterada um maior grau do tônus vascular, devido tanto ao aumento da ação neuro-hormonal ou alteração na sensibilidade vascular (MULVANY, 2002;2012). Observa-se assim, a importância do estudo da reatividade vascular e seu elo com o estresse oxidativo, já que a disfunção endotelial precede a elevação da PA e consequentemente as DCV. Portanto, a redução do estresse oxidativo, e o aumento da reatividade vascular, podem representar marcadores de risco cardiovascular, bem como um relevante alvo terapêutico em indivíduos com SM e outras alterações fisiológicas, já que não foram relatadas claramente até o momento alterações morfológicas vasculares (vasos de resistência) em modelos de sobrecarga de frutose na população idosa (PUYO et al., 2004; OUDOT et al., 2009).

Neste modelo que une SM, envelhecimento e o sexo feminino na menopausa, a literatura ainda não apresenta consenso em relação a quem é causa ou consequência. Alguns estudos, porém, já vêm apontando que o endotélio parece ter um papel fundamental nas mudanças vasculares induzidas pela RI associadas com SM. Além disso, a PA é muito afetada nesta condição, já que há disfunção dos vasos de resistência, sugerindo um quadro de hipertensão arterial como dito anteriormente (BAHIA et al., 2006; OUDOT et al., 2009). Um aumento da produção de EROS, associado ou não à hiperglicemia, também pode ativar mecanismos que causem um desbalanço entre vasoconstritores e vasodilatadores resultando na disfunção endotelial (OUDOT et al., 2009).

1.6. O treinamento físico no manejo das disfunções metabólicas e cardiovasculares observadas no envelhecimento e na menopausa

Estudos epidemiológicos e clínicos têm demonstrado que a prática regular de exercício físico é um importante mecanismo no tratamento dos fatores de risco para a doença cardiovascular (GUSTAT et al., 2002; LACKLAND; LAKKA et al., 2003; VOEKS, 2014). Sabe-se que o exercício físico regular pode melhorar o perfil lipídico (DURSTINE; HASKELL, 1994), a sensibilidade à insulina, restaurar a intolerância à glicose para valores próximos aos padrões normais, aprimorar a captação de glicose muscular em diferentes situações patológicas isoladas, e recentemente vêm sendo demonstrado que o exercício físico melhora a derivada de relaxamento do músculo liso vascular. Esta melhora está provavelmente associada ao endotélio, porém os mecanismos pelos quais o exercício aumenta a produção ou biodisponibilidade de NO ainda não são totalmente compreendidos, principalmente quando relacionamos o treinamento físico e a dieta com frutose (HOLLOSZY et al., 1986; MORGADO; SCHNEIDER, 1991; DE MORAES et al., 2007).

Além disso, estudos sugerem que a redução do sobrepeso, a diminuição da adiposidade intra-abdominal, a melhora da resistência à insulina, a diminuição do estresse oxidativo, do ácido úrico, de vasoconstritores e a preservação da modulação do sistema autônomo, obtidos com a prática de exercício físico, podem também contribuir para redução da PA (JAKICIC et al., 2001; TRAN et al., 2009). A sensibilidade dos pressorreceptores, que está prejudicada em diferentes situações patológicas como na hipertensão e no diabetes mellitus também pode ser restabelecida pelo treinamento físico adequado. Em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), Silva e colaboradores (1997), verificaram melhora da sensibilidade reflexa para a bradicardia e taquicardia

após o treinamento físico. O mesmo resultado foi verificado em animais diabéticos (HARTHMANN et al., 2007).

Dados preliminares do nosso grupo com o mesmo desenho experimental, porém em ratos machos jovens, demonstrou que a sobrecarga de frutose induziu aumento de triglicérides, menor decaimento da glicose, sugerindo resistência à insulina, aumento da PA, diminuição da sensibilidade barorreflexa além de alteração na variabilidade da FC e PA. Devido a estas alterações observadas em modelos experimentais de SM, o interesse do nosso laboratório tem sido estudar a relação dose-resposta entre exercício e a efetividade desse tratamento nos distúrbios fisiopatológicos associados a essa alteração metabólica. Dados preliminares estão demonstrando que o exercício com duração de 1 hora/dia, 5 vezes/semana, duração de 8 semanas, em ratos machos jovens que concomitantemente receberam sobrecarga de frutose, parece ser suficiente para atenuar grande parte das alterações metabólicas e autonômicas encontradas neste modelo (ARAÚJO et al., 2015). Assim, temos interesse de avaliar este comportamento em um modelo de menopausa associado ao envelhecimento no sexo feminino, para tentar entender e correlacionar possíveis mecanismos pelos quais a frutose e o treinamento físico estão alterando o metabolismo destes animais, fazendo então: análises metabólicas, cardiovasculares, autonômicas, do estresse oxidativo, expressão proteica e de reatividade vascular.

Frente a todos estes dados favoráveis ao uso do exercício físico para o tratamento dos diversos fatores de risco, este recurso terapêutico tem sido adotado como estratégia no manejo da SM, no envelhecimento e na menopausa (BASSUK; MANSON, 2010; EARNEST; BLAIR; CHURCH, 2010; WILLIAMS et al., 2011). Embora vários estudos demonstrem os efeitos benéficos do treinamento físico no tratamento da DCV frente a fatores de riscos isolados, pouco se conhece sobre a eficácia

do treinamento físico quando diversos fatores estão associados, seja em caráter preventivo quanto terapêutico.

2. HIPÓTESE

Dessa forma nossas hipóteses são que a privação dos hormônios ovarianos e / ou envelhecimento pode levar a ativação simpática, que pode interagir com inflamação e estresse oxidativo, causando disfunção cardíaca e perda de capacidade física, como observado em mulheres pós-menopausa jovens ou mais velhas. Posteriormente, que o treinamento físico tenha um efeito preventivo sobre as possíveis disfunções metabólicas, cardiovasculares e autonômicas causados pela sobrecarga de frutose e/ou a privação dos hormônios ovarianos em fêmeas envelhecidas.

3. JUSTIFICATIVA

A SM vem sendo diagnosticada de forma crescente na população, mesmo com diversas campanhas para prevenção de doenças e aderência ao estilo de vida saudável. Além disso, sua prevalência aumenta significativamente entre os idosos, com 60 anos ou mais, em que se estima uma ocorrência da SM em 50%. O envelhecimento leva a alterações fisiológicas e morfológicas que favorecem o surgimento e/ou agravamento de doenças cardíacas. Com o aumento da expectativa de vida, é cada vez mais comum a presença destas doenças na população. Ao compararmos homens e mulheres, o público feminino apresenta um fator a mais no processo de envelhecimento que é a menopausa, quando há um decaimento das concentrações dos hormônios ovarianos, sabidamente cardioprotetores o que leva a um aumento do risco ainda maior do desenvolvimento das DCV.

O exercício físico regular tem sido recomendado por muitos pesquisadores como uma conduta não farmacológica favorável para a prevenção dos fatores de risco envolvidos na SM. Sabe-se que a maneira mais eficiente para diminuir a prevalência da SM é através da prevenção dos fatores de risco desta doença, evitando assim o custo elevado do tratamento. Porém, tal prática não é adotada como estratégia na população em geral. De fato, a maioria das pessoas pratica exercícios físicos de forma regular, apenas quando a patologia já está presente, no intuito de tratar a doença. Entretanto, a mudança deste comportamento poderia contribuir para prevenir doenças futuras. Neste sentido, parece ser interessante a proposta de uma intervenção não farmacológica, como os exercícios físicos durante o processo de envelhecimento. É possível que essa abordagem possa reduzir ou atenuar os efeitos metabólicos associados aos diferentes fatores de risco a que estão expostos os indivíduos em geral e os do sexo feminino em particular.

As diferenças nas adaptações cardiovasculares e autonômicas ao treinamento físico entre homens e mulheres não estão claras na literatura. A razão principal para a falta desses dados é o fato de que a maioria dos estudos relacionados às adaptações cardiovasculares ao treinamento foi realizada em homens. Dessa forma, fazem-se necessários estudos que avaliem os efeitos do treinamento físico sobre a função cardíaca e a modulação autonômica, tônica e reflexa do sistema cardiovascular em mulheres. Esses estudos poderão servir como base para o melhor entendimento das diferenças relativas ao gênero, bem como servirão de embasamento para a utilização de forma mais precisa do exercício físico como uma abordagem não farmacológica no manejo do risco cardiovascular no sexo feminino, já que pouquíssimos estudos na literatura relacionaram treinamento físico, menopausa, frutose e envelhecimento.

A relação entre estresse oxidativo e SM tem sido demonstrada em alguns modelos experimentais, já que o estresse oxidativo pode contribuir para geração e/ou manutenção da hipertensão por diversos mecanismos incluindo a inibição de fatores vasodilatadores, biodisponibilidade de NO por EROS e até mesmo geração de produtos vasoconstritores da peroxidação lipídica. Essas mudanças vasculares podem estar envolvidas em diferentes vias, incluindo dano às células endoteliais e do músculo liso vascular, sendo de fundamental importância o estudo da reatividade vascular e do estresse oxidativo em um modelo de menopausa associado ao envelhecimento, frutose e treinamento físico.

Se a SM aumenta seu desenvolvimento com o envelhecimento, e pode ser acentuada pela inatividade física, além de ser mais evidente no sexo feminino nesta fase da vida, surge uma indagação: Será que a mulher que treinou durante a fase da vida em que está mais propensa ao desenvolvimento de doenças de uma forma geral, terá uma

proteção ao surgimento de um quadro de SM e consequentemente menor propensão a eventos cardiovasculares?

Se a frutose aumenta a modulação simpática, e o simpático auxilia no controle do tônus vascular, será que o simpático aumentado, poderia alterar o controle vascular e promover maior teor de vasoconstrição? O exercício físico poderia diminuir tal resposta? Além disso, os fatores relaxantes derivados do endotélio, como por exemplo, a maior produção de NO poderia ser mais um fator protetor?

Assim, acreditamos que o treinamento físico pode ter efetividade na prevenção de distúrbios fisiopatológicos associados ao envelhecimento, uma vez que além da perda fisiológica gradual promovida pelo envelhecimento, temos a associação de prejuízos induzidos pelo consumo de frutose e pela ooforectomia.

Este estudo pode contribuir para esclarecer se indivíduos ativos fisicamente durante o envelhecimento, tem proteções cardiovasculares e metabólicas adicionais no controle da SM.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Os objetivos do presente estudo foram avaliar os efeitos metabólicos, cardiovasculares e autonômicos do envelhecimento de ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos, comparando com ratas jovens e posteriormente avaliar as possíveis alterações quando associada a sobrecarga de frutose, bem como o papel do treinamento físico nestas condições.

4.2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos do presente estudo foram avaliar:

1 – Os efeitos do envelhecimento e da privação dos hormônios ovarianos em ratas velhas, nos seguintes parâmetros: peso corporal, glicemia, triglicérides, resistência à insulina, capacidade física, alterações morfofuncionais cardíacas, pressão arterial, frequência cardíaca, sensibilidade dos pressorreceptores, controle autonômico da frequência cardíaca, variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, e compará-los com os mesmos parâmetros obtidos em ratas jovens (Protocolo 1).

2 – Os efeitos do treinamento físico em ratas velhas submetidas à privação dos hormônios ovarianos, submetidas ou não a sobrecarga de frutose, em todos os parâmetros relacionados acima com a inclusão da reatividade vascular (Protocolo 2).

5. MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq) conforme o parecer 360/11.

5.1. Amostra

Foram utilizadas 56 ratas (*Rattus norvegicus*) variedade Wistar fêmeas, sendo 16 ratas jovens de 2 meses de vida e 40 ratas velhas com 22 meses de vida, no início do protocolo, procedentes da mesma linhagem do Biotério da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e do biotério da Universidade São Judas Tadeu (USJT) que foram mantidos no Biotério da Divisão de Experimentação do Instituto do Coração. Todos os animais foram alimentados com ração industrial (dieta normoproteica) para ratos, além de água potável para os animais controle e água com frutose para os animais tratados com frutose. Durante o protocolo, os animais ficaram em temperatura entre 22-24° C, com ciclo claro-escuro de 12 horas. Para cumprir os objetivos propostos, este trabalho foi dividido em 2 protocolos.

Protocolo 1

Para avaliar os efeitos do envelhecimento e da privação dos hormônios ovarianos em ratas adultas jovens e ratas velhas no peso corporal, glicemia, triglicérides, resistência à insulina, teste de esforço máximo, ecocardiografia, pressão arterial, frequência cardíaca, sensibilidade dos pressorreceptores, tônus e efeito simpático e parassimpático, frequência cardíaca intrínseca, variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial, e marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, foram comparados os seguintes grupos:

- Jovens Controles Sedentárias (JCS): acompanhadas durante 8 semanas (n=8);
- Jovem Ooforectomizadas Sedentárias (JOS): foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e acompanhadas por 8 semanas (n=8);
- Idosas Controles Sedentárias (ICS): acompanhadas durante 8 semanas (n=8);
- Idosas Ooforectomizadas Sedentárias (IOS): foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e acompanhadas por 8 semanas (n=8).

Protocolo 2

Para comparar os efeitos do treinamento físico em ratas velhas submetidas à privação dos hormônios ovarianos, submetidas ou não a sobrecarga de frutose, foram realizadas medidas de todos os parâmetros relacionados acima com inclusão da reatividade vascular nos seguintes grupos:

- Idosas Ooforectomizadas Sedentárias (IOS): foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral e acompanhadas por 8 semanas (n=8);
- Idosas Ooforectomizadas Sedentárias Tratadas com Frutose (IOSF): foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral, água com frutose (10%), e acompanhadas por 8 semanas (n=8);
- Idosas Ooforectomizadas Treinadas (IOT): foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral, e concomitantemente realizaram treinamento físico em esteira ergométrica rolante (Imbramed TK-01) durante 8 semanas (n=8).
- Idosas Ooforectomizadas Treinadas Tratadas com Frutose (IOTF): foram submetidas à cirurgia de ooforectomia bilateral, água com frutose (10%), e concomitantemente realizaram treinamento físico em esteira ergométrica rolante (Imbramed TK-01) durante 8 semanas (n=8).

A Figura a seguir ilustra a sequência experimental do estudo (Figura 1).

Figura 1. Sequência experimental do estudo.

5.2. Ooforectomia bilateral

As ratas jovens com 2 meses e as velhas com 22 meses de idade foram anestesiadas intraperitoneal (i.p.) com cloridrato de ketamina (50mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis®) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer®) e colocadas em decúbito dorsal para que se realizasse uma pequena incisão (1 cm) em paralelo com a linha do corpo na pele e na musculatura no terço inferior na região abdominal. Os ovários foram localizados e foi realizada a ligadura dos ovidutos, incluindo os vasos sanguíneos. Os ovidutos foram seccionados e os ovários removidos. A musculatura e a pele foram suturadas e foi administrada uma dose de antibiótico (Benzetacil, 40 U/Kg, i.m) (FLORES et al., 2010; IRIGOYEN et al., 2005; LATOUR; SHINODA; LAVOIE, 2001; SANCHES et al., 2012). Os animais foram avaliados com 10 semanas após a ooforectomia em função de trabalhos prévios de nosso grupo terem demonstrado que este tempo induz alterações que podem ser atenuadas pelo treinamento físico aeróbio dinâmico. (IRIGOYEN et al., 2005; SOUZA et al., 2007) (Figura 2).

Figura 2. Etapas de realização da ooforectomia bilateral em ratas

É importante ressaltar que dados preliminares do nosso grupo, realizaram dosagem dos níveis plasmáticos de estradiol (17 β -estradiol - kit comercial US ESTRADIOL RIA DSL-4800® Diagnostic Systems Laboratories® Inc. Texas-EUA) em ratas ooforectomizadas, conferindo fidedignidade ao protocolo de indução a menopausa (IRIGOYEN et al., 2005; SOUZA et al., 2007).

5.3. Indução do modelo experimental de síndrome metabólica

Os ratos dos grupos IOSF e IOTF aos 22 meses de idade após duas semanas da realização da ooforectomia bilateral, foram submetidos à ingestão de frutose na água de beber (D-frutose, 100g/L). (SUZUKI et al., 1997) (Figura 3). O consumo da frutose (CF) foi mensurado a cada dois dias, através da subtração do volume total oferecido (VTO) menos o volume restante (VR).

A ingestão calórica foi calculada diariamente considerando que o consumo de 1 grama de ração equivale a 2,89 kcal e 1 grama consumido de frutose equivale a 4,0 kcal.

A pesagem dos animais foi realizada uma vez por semana, durante as 10 semanas de protocolo.

Figura 3. Tratamento de D-frutose na água de beber.

5.4. Determinação da Glicemia, Triglicérides e Resistência à Insulina

No início (após uma semana de ooforectomia) e ao final do protocolo, todos os animais foram submetidos a 4 horas de jejum. Foi retirada uma gota de sangue da cauda para análise da glicose plasmática pelo glicosímetro (Accucheck, Roche), e outra gota para medida de triglicérides através do aparelho Accutrend GTC, Roche (DE ANGELIS et al., 2000; DE ANGELIS LOBO D'AVILA et al., 1999; MAEDA et al., 1995; SOUZA, S. B. et al., 2007) (Figura 4).

Figura 4. Aparelhos utilizados para análises das concentrações plasmáticas de glicose e triglicerídeos.

No dia seguinte após a realização destes procedimentos os animais foram anestesiados para avaliação da resistência à insulina (2 horas de jejum). Os animais receberam uma injeção

endovenosa de insulina (0,75 U/kg peso corporal). A glicose plasmática foi medida a partir de amostras de sangue obtidas da veia caudal utilizando-se de um glicosímetro (Accucheck, Roche) nos tempos 0, 4, 8, 12 e 16 min após a injeção de insulina (Figura 5). Os valores de glicemia dos minutos 4 a 16 foram usados para calcular a constante de queda da glicose plasmática (Kitt) (BONORA et al., 1989).

Figura 5. Injeção de insulina para teste de resistência à insulina (ITT).

5.5. Teste de Esforço para Controle do Exercício

Antes da realização do TE inicial, intermediário e final os animais foram adaptados em esteira ergométrica (10 minutos a 0,3 Km/h) durante pelo menos 4 dias. Um teste de esforço foi realizado no início (após uma semana de ooforectomia), no meio e ao final do programa de acompanhamento ou treinamento em todos os grupos estudados. Este teste permitiu a determinação da carga de corrida (km/h) dos grupos IOT e IOTF, controlando desta forma a intensidade do exercício físico. O teste de esforço consistiu em um protocolo escalonado com incrementos de velocidade de 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que fosse atingida a velocidade máxima suportada pelos animais. Distância, velocidade máxima alcançada e tempo foram determinados para cada animal. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o rato não foi mais capaz de correr mediante o incremento de velocidade da esteira (BROOKS; WHITE, 1978; FLORES et al.,

2010; IRIGOYEN et al., 2005; RODRIGUES, BRUNO et al., 2007). Este protocolo de teste de esforço apresenta correlação significativa com a medida do consumo direto de oxigênio em ratos machos, conforme evidenciado por Rodrigues et al. (2007) o que nos confere validade e fidedignidade para prescrição e controle do treinamento físico. A Figura 6 ilustra a correlação ($r= 0,9$ e $p<0,001$) entre a velocidade de corrida e o consumo de oxigênio, durante a realização de teste de esforço máximo em ratas ooforectomizadas obtidas em um estudo piloto.

Figura 6. Correlação entre o consumo de oxigênio (VO₂) e a velocidade no teste de corrida (km/h) em ratas ooforectomizadas e ao lado, esteira utilizada para teste de esforço. Fonte: (RODRIGUES, BRUNO et al., 2007).

5.6. Treinamento Físico

Os grupos de ratas treinadas IOT e IOTF foram submetidas a um protocolo de TF (40-60% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço) em esteira ergométrica com velocidade e carga progressiva 1 vez ao dia, durante 5 vezes por semana, por 8 semanas, concomitantemente ou não a sobrecarga de frutose (como demonstrando no quadro 1) (DE ANGELIS et al., 1997; DE ANGELIS LOBO D'AVILA et al., 1999; FLORES et al., 2010; FLUES et al., 2010).

Quadro 1. Exemplo de protocolo de treinamento Físico

Semana	Duração (min)	Velocidade (Km/h)
1ª	15 – 23	0,3 – 0,6
2ª	23 – 50	0,3 – 0,7
3ª	47 – 55	0,3 – 0,8
4ª	55 – 60	0,3 – 0,8
5ª	60	0,3 – 0,8
6ª	60	0,3 – 0,9
7ª	60	0,3 – 1,0
8ª	60	0,3 - 1,0

5.7. Avaliações Ecocardiográficas

As medidas ecocardiográficas foram realizadas ao final do protocolo no Laboratório de Hipertensão Experimental do InCor – HCFMUSP e seguiram as recomendações do Comitê de Padronização do Modo M da Sociedade Americana de Ecocardiografia (SAHN et al., 1978). Os exames foram realizados por um único observador e em cada exame foi coletado um total de três medidas para cada variável, sendo calculados posteriormente, a média, o desvio padrão da média e o erro padrão da média dessas medidas. O exame ecocardiográfico foi realizado com os animais anestesiados (i.p.) com cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer). O equipamento SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA) foi utilizado com um transdutor de 15 MHz. As imagens foram feitas a uma frequência de 13,0 MHz, para otimização da resolução e a penetração do animal. Para registro das imagens foi utilizado gel de transmissão para ultrassom de viscosidade média/alta (General Imaging Gel, ATL. Reedsville, USA).

A partir da visualização do ventrículo esquerdo (corte transversal) ao nível dos músculos papilares foi realizado: 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 segundo orientação da Sociedade Americana de Ecocardiografia, que estima a massa do ventrículo esquerdo através da utilização da seguinte fórmula matemática: $LVM = [(DDVE + SIV + PP)^3 - (DDVE)^3] \times 1,047$, onde 1,047 (mg/mm³) corresponde a densidade do miocárdio, os valores absolutos da massa do ventrículo esquerdo foram normalizados pelo peso corporal e então $\times 0,8 + 0,6$.

As imagens obtidas através do Doppler foram utilizadas para se calcular os parâmetros da função diastólica do ventrículo esquerdo, sendo eles, 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 foram medidos e foi calculada a relação onda E/onda A. para função sistólica utilizamos o tempo de ejeção (TE), a fração de encurtamento, a velocidade de encurtamento circunferencial (VEC) 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.

O índice de desempenho do miocárdica (IDM) do ventrículo esquerdo foi definido como o somatório do tempo de contração isovolumétrica com o tempo de relaxamento isovolumétrico, dividido pelo tempo de ejeção. Para o cálculo do IDM as medidas de tempo foram obtidas separadamente da curva de velocidade do fluxo diastólico mitral (obtida de maneira semelhante ao utilizado nas ondas E e A) e a da velocidade da via de saída do ventrículo esquerdo na qual foi obtida no plano apical cinco câmaras com a amostra de volume posicionada na região subaórtica que nos possibilita ter uma visão global sobre a função cardíaca.

5.8. Canulação

As cânulas foram confeccionadas com tubos de Policloreto de Vinila (Abbott) equivalente ao polietileno PE10 e PE50. Estas foram soldadas por aquecimento e logo após, as cânulas foram preenchidas com solução fisiológica e mantidas ocluídas com pinos de aço inoxidável (DE ANGELIS et al., 2000; DE ANGELIS LOBO D'AVILA et al., 1999; IRIGOYEN et al., 2005).

No dia anterior aos registros diretos de pressão arterial e frequência cardíaca, os ratos foram anestesiados (i.p.) com cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocados em decúbito dorsal. Foi realizada uma pequena incisão na região femoral para implantação de uma cânula no interior da aorta abdominal e na veia cava inferior, através da artéria e veia femoral esquerda, para registro direto da pressão arterial e para administração de drogas, respectivamente. Após a correta e firme implantação das cânulas na artéria e na veia, as extremidades mais calibrosas das cânulas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele (Figura 7). Cada animal foi mantido em uma caixa individual padrão durante a realização das avaliações hemodinâmicas sistêmicas que iniciaram 24h após a canulação.

Figura 7. À esquerda: posição anátomo-cirúrgica da canulação de artéria e veia femoral. No centro e à direita: o feixe vâsculo nervoso, composto pela veia femoral esquerda, artéria femoral esquerda e nervo femoral esquerdo; esquema da canulação.

5.9. Registro da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca de Repouso

Para realização das avaliações hemodinâmicas sistêmicas, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético (Kent Instruments, EUA) que, por sua vez, estava conectado a um pré-amplificador (Stemtech, EUA). Sinais de pressão arterial foram gravados durante um período de 30 minutos em um microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (Windaq, 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 frequência cardíaca. Os valores de frequência cardíaca foram derivados do sinal pulsátil da pressão arterial (Figura 8).

Figura 8. Sistema de registro de pressão arterial e conexão entre a cânula e o transdutor eletromagnético.

5.10. Identificação da fase do ciclo estral

A fim de evitarmos qualquer influência da oscilação dos hormônios sexuais femininos nos resultados observados nos grupos JCS e ICS, foi realizada a identificação da fase do ciclo estral das ratas antes do registro de PA e da avaliação da sensibilidade barorreflexa.

A secreção vaginal foi coletada com uma pipeta plástica com 10µL de solução salina (NaCl 0,9%) introduzida superficialmente na vagina da rata. O fluido vaginal foi colocado em uma lâmina de vidro para a observação do material em um microscópio óptico, nos aumentos de 10x e 40x. A caracterização da fase do ciclo estral foi baseada na proporção de três tipos de células na secreção vaginal: células epiteliais, células corneificadas e leucócitos. As avaliações foram realizadas em fases não-ovulatórias do ciclo estral das ratas: diestro (predominância de leucócitos) e metaestro (igual proporção de leucócitos, células epiteliais e corneificadas)(MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002).(Figura 9).

Figura 9. Tipos de células encontradas em cada ciclo estral.

A) diestro, B) proestro, C) estro e D) metaestro.

5.11. Sensibilidade dos Pressorreceptores

Após o registro basal uma extensão de aproximadamente 20 cm (PE10) foi conectada na cânula venosa para posterior injeção de drogas vasoativas. A sensibilidade dos pressorreceptores foi testada através da infusão de doses crescentes de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company). Para avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi reduzido dos valores de PAM do

período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi reduzida dos valores de FC do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM (DE ANGELIS et al., 1997) para 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.

Fenilefrina (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente estimulador α_1 cuja ação predominante ocorre nas arteríolas periféricas causando vasoconstrição, foi usada para provocar aumento da pressão arterial. Esse aumento da pressão arterial foi seguido de bradicardia reflexa comandada pelos pressorreceptores.

Nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, UA), um potente vasodilatador tanto de arteríolas como de veias, cuja ação ocorre por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese de 3', 5'- guanosina monofosfato (GMP cíclico) na musculatura lisa de vasos e outros tecidos foi usado para provocar queda da pressão arterial. Essa queda foi seguida por uma resposta taquicárdica reflexa comandada pelos pressorreceptores.

Após os animais terem permanecido em condições de repouso por 15 minutos, a sensibilidade dos pressorreceptores foi testada através da infusão de doses crescentes de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio. Para avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores, o pico máximo ou mínimo da PAM foi reduzido dos valores de PAM do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da FC foi reduzida dos valores de FC do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas, para posterior quantificação das respostas. A sensibilidade barorreflexa foi avaliada pelo índice calculado através divisão da variação da FC pela variação da PAM (DE ANGELIS et al., 1997; DE ANGELIS LOBO D'AVILA et al.,

1999; IRIGOYEN et al., 2005). Essas drogas foram injetadas randomicamente entre os animais, iniciando-se com um ou outro fármaco (Figura10).

As doses utilizadas foram: fenilefrina - 0,5, 1, 2, 4, 8 $\mu\text{g/ml}$; nitroprussiato de sódio- 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g/ml}$. Quando a PA não apresentava uma diferença de 40mmHg entre o repouso e o efeito máximo da droga era aplicado então às doses 16 $\mu\text{g/ml}$ para fenilefrina e 100 $\mu\text{g/ml}$ para nitroprussiato de sódio.

Figura 10. Registro da pressão arterial e frequência cardíaca antes e após a administração de drogas vasoativas.

5.12. Tônus Simpático e Parassimpático

Após a infusão de drogas vasoativas para avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores, e com a volta da FC e PA à valores próximos dos obtidos no registro basal, foi realizada a injeção de atropina (3 mg/kg no volume máximo de 0.2 ml) e após 5 minutos dada a injeção, os sinais de PA foram registrados por 5 minutos. Dessa forma, foi possível avaliar o tônus simpático no controle da FC. Ainda sob efeito da atropina, foi realizada a

injeção de propranolol (4 mg/kg) e após 5 minutos da injeção, os sinais de PA foram registrados por 5 minutos. Após esse duplo bloqueio farmacológico de atropina e propranolol atingiu-se a FC intrínseca (FCI). No dia seguinte, foram realizados os mesmos procedimentos descritos anteriormente invertendo-se as sequências das injeções farmacológicas.

O tônus simpático foi calculado através da subtração da FC máxima alcançada após bloqueio do parassimpático com atropina menos a FCI, observada após o duplo bloqueio. O tônus parassimpático foi calculado através da subtração da FC mínima atingida após o bloqueio simpático com propranolol, menos FCI, observada após o duplo bloqueio (DE ANGELIS et al., 2000; DE ANGELIS LOBO D'AVILA et al., 1999).

5.13. Efeito Simpático e Vagal

A FC basal de cada rato foi considerada como sendo a média das frequências controle nos dois dias de experimento. Para o valor de FC atingido por cada droga foi considerada a resposta máxima de variação da FC após a administração de cada droga.

O efeito da atropina foi calculado pela subtração da FC atingida após a metilatropina menos a FC em repouso no estado basal (Efeito Vagal). O efeito do propranolol representa a FC de repouso no estado basal menos a FC atingida após a administração do propranolol (Efeito Simpático).

5.14. Avaliação da modulação autonômica cardiovascular no domínio do tempo e da frequência (análise espectral)

A variabilidade da FC e da PAS foi avaliada no domínio do tempo (variância) e no domínio da frequência usando a transformada rápida de Fourier. Neste método, séries temporais do intervalo de pulso e da PAS foram divididas em segmentos de 350 batimentos com sobreposição de 50%. Um espectro foi obtido para cada um dos segmentos via o recurso de Levinson-Durbin, com a ordem modelo escolhido de acordo com critério do Akaike,

variando entre 10 e 14. Os componentes oscilatórios dos espectros foram quantificados em 2 faixas de frequência: baixa frequência e alta frequência. A potência do espectro foi calculada para cada componente reconhecível nas faixas de LF e HF integrando-se os espectros dos componentes. A potência foi expressa como a intensidade de LF e HF. Os segmentos que apresentarem oscilações muito lentas que contribuem para mais de 70% da variabilidade total, foram considerados não estacionários e foram descartados do estudo (HEEREN et al., 2009; MOSTARDA; ROGOW; et al., 2009; SOARES et al., 2004).

5.15. Eutanásia dos Animais

No dia seguinte ao término das avaliações hemodinâmicas, os animais de todos os grupos foram submetidos à eutanásia por decapitação e os tecidos foram pesados e congelados para avaliações de estresse oxidativo. O tecido adiposo branco foi coletado e pesado em balança analítica, para comparação entre grupos.

5.16. Estudo das artérias mesentéricas de resistência (Remoção e preparação da mesentérica)

Adicionalmente, nos animais dos grupos IOS, IOSF, IOFT no momento da eutanásia foi coletada a região mesentérica, juntamente com as alças intestinais a qual foi imediatamente colocada em solução de Krebs. As artérias mesentéricas de resistência (AMR) de terceiro ramo (diâmetro interno~200 μ m) foram devidamente dissecadas e cortadas em anéis de 2 mm de comprimento para a realização dos estudos de reatividade vascular e o restante foi armazenado em freezer -80° para análises posteriores conforme necessidade.

A artéria mesentérica foi dissecada em uma placa de petri contendo tampão Krebs-Henseleit (em Mm: NaCl+ 115; KCl+4,7; MgSO₄=1,2; KH₂PO₄=1,5; NaHCO₃=25; CaCl₂=2,5; glicose= 11,1 e pH=7,4) para a remoção dos tecidos conectivos e adiposos, e cortados em segmentos de 2 a 3mm de comprimento.

Após a preparação das AMR em anéis, os mesmos foram cuidadosamente transferidos para um miógrafo de arame (DMT 620M), conforme descrito por Halpen e Mulvany (1977) preservando sua integridade endotelial e elástica (Figura 11).

Figura 11. Miógrafo utilizado para a análise de reatividade vascular e isolamento da artéria mesentérica.

Dois segmentos de tungstênio (40 μm de diâmetro) foram introduzidos no lúmen do vaso e o mesmo devidamente montado num miógrafo de 4 câmaras (5 ml cada) e tensão isométrica para seu estudo de maneira isolada (Danish Myo Technology A/S, Aarhus, Denmark). Após 30 minutos de equilíbrio basal em solução de Krebs contendo 118,6 mmol L^{-1} NaCl; 4,7 mmol L^{-1} KCl; 2,5 mmol L^{-1} CaCl_2 ; 1,2 mmol L^{-1} MgSO_4 ; 1,2 mmol L^{-1} KH_2PO_4 ; 25,1 mmol L^{-1} NaHCO_3 e 11,1 mmol L^{-1} glicose; a 37°, mistura gasosa de 95% O_2 e 5% CO_2 e pH= 7,4, o segmento do vaso em estudo foi estirado até atingir diâmetro e tensão ótimos, mimetizando uma pressão transmural de 100 mmHg (HALPERN, W.; MULVANY, 1977; MARTINKA et al., 2008). Em seguida, os segmentos foram lavados com a solução de Krebs e deixados por 30 minutos para novo período de estabilização.

Após este procedimento, a capacidade máxima de contração do vaso foi testada expondo o mesmo a uma solução de alta concentração de K^+ (120 mM). Os dados foram registrados pelo sistema de aquisição Powerlab e o software Chart 4.0 (AD instruments).

Para comprovação da integridade do endotélio nos anéis em estudo, após estabilização do vaso, foi realizada uma curva dose-resposta frente à Acetilcolina (1nM-10µM) após contração máxima induzida. Apenas os vasos que apresentarem relaxamento > 80% em relação à pré-contração foram utilizados para estudo.

5.16.1. Protocolos para estudo das artérias mesentéricas de resistência

Visando estudar a reatividade das AMR em relação a sua capacidade de relaxamento e contração nos grupos propostos, os seguintes protocolos foram realizados:

A) Curva concentração-resposta à fenilefrina: avaliação da resposta contrátil em todos os grupos estudados a partir da realização de curva dose resposta à (fenilefrina; 1 µM);

B) Curva concentração-resposta à Acetilcolina: para avaliar a capacidade vasodilatadora dependente do endotélio, acetilcolina (Ach; 1nM-10µM) foi adicionada a solução que banha os vasos, previamente contraídos com fenilefrina (concentração);

C) Curva concentração-resposta à Nitroprussiato de sódio: para avaliar a capacidade vasodilatadora independente do endotélio, nitroprussiato de sódio (SNP; 100pM-10nM) foi adicionada a solução que banha os vasos, previamente contraídos com fenilefrina; 1 µM;

D) Curva concentração-resposta à noradrenalina: avaliação da resposta contrátil em todos os grupos estudados a partir da realização de curva dose resposta à (noradrenalina; 1 µM);

5.17. Preparação dos Tecidos

O coração e o tecido hepático foram coletado e homogeneizado durante 30 segundos em um homogeneizador Ultra-Turrax, com KCl 1,15% e fluoreto de fenil metil sulfonila (PMSF), na concentração de 100mmol/L em isopropanol e na quantidade de 10µL/mL de KCl adicionado. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 3000rpm,

em centrífuga refrigerada entre 0 e 4°C (Eppendorf, 5804-R), e o sobrenadante foi congelado em freezer a -70°C para as dosagens (LLESUY et al., 1985).

5.18. Dosagem de Proteínas

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

5.19. Dosagens de Estresse Oxidativo e Antioxidantes

5.19.1 Dosagem de Proteínas Carboniladas (Dano a proteínas)

O ensaio para detecção das carbonilas é uma das técnicas utilizadas para a determinação de proteínas modificadas oxidativamente (REZNICK; PACKER, 1994). A técnica se baseia na reação das proteínas oxidadas do plasma sanguíneo com 2,4 dinitrofenil hidrazina (DNPH) em meio ácido, seguido de sucessivas lavagens com ácidos e solventes orgânicos e incubação final com guanidina. Desta forma, a absorbância das carbonilas será medida em um espectrofotômetro a 360 nm, num meio de reação contendo os seguintes reagentes: guanidina (6M) em ácido clorídrico (HCl) (2,5M) pH= 2,5; 2,4 DNPH em HCl (2,5M); ácido tricloroacético (TCA) 20%; TCA 10%; etanol - acetato de etila 1:1 (V/V). Paralelamente será realizada a curva padrão de proteína, com albumina, com a absorbância lida em 280nm no espectrofotômetro (REZNICK; PACKER, 1994).

5.19.2. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Adicionou-se, a 0,25mL de homogeneizado, 0,75 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% (P/V), que tem a função de desnaturar as proteínas presentes e acidificar o meio de reação. Essa mistura foi então agitada e centrifugada durante 3 minutos a 1000 RPM. Foram retirados 0,5mL do sobrenadante e a este adicionado 0,5mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67% (P/V), que reagiu com os produtos da lipoperoxidação formando um composto de

coloração rosada. A mistura foi incubada por 15 minutos a 100°C e em seguida resfriada no gelo. Em seguida, realizada a leitura da absorbância a 535 nm em espectrofotômetro (Biospectro) (PEDERSON; BUEGE; AUST, 1973).

5.19.3. Glutathione Total

A glutathione total mediu a reação de óxido redução entre GSH e GSSG. O meio de reação no qual foi realizado o ensaio consistiu em uma solução de tampão fosfato 300 mM ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$), e uma solução de DTNB (ácido ditionitrobenzóico). No momento do ensaio, agregou-se 1 mL de tampão fosfato, 100 μL de DTNB, zerou-se o espectro (Biospectro) e após acrescentou-se 250 μL amostra (BEUTLER; DURON; KELLY, 1963).

5.19.4. Glutathione Oxidada

Adicionou-se a amostra ácido perclórico, os quais foram colocados em ependorf e centrifugados, posteriormente foi neutralizado com bicarbonato potássico (CO_3HK). Desta extrai uma alíquota de 60mL + 60mL DNTB + 60mL GSSH e 60mL NADPH. A leitura foi realizada em espectrofotômetro 414 nm. Uma vez neutralizada com CO_3HK foi adicionado 5 ml de 2 vinil piridina e deixou-se repousar por uma hora a temperatura ambiente. Logo repetiu-se o processo anterior. A diferença entre a primeira e a segunda leitura foi a GSSG (TIETZE, 1969).

5.19.5. Catalase (CAT)

A taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio foi diretamente proporcional à atividade da CAT. Desta forma, o consumo de H_2O_2 pode ser utilizado como uma medida de atividade da enzima CAT. O ensaio consistiu em medir a diminuição da absorbância a 240nm, comprimento de onda onde houve a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio, utilizando-se cubetas de quartzo. Para a realização das medidas foi usada uma solução tampão constituída de fosfatos a 50 mmol/L em pH 7,4. Foram adicionados 9 μL deste tampão e 10 μL de amostra

de tecido na cubeta do espectrofotômetro, sendo esta mistura descontada contra um branco de tampão fosfato. A seguir foram adicionados 35 µL de peróxido de hidrogênio (0,3 mol/L) e foi monitorada a diminuição da absorbância no espectrofotômetro (Biospectro) (BOVERIS; CHANCE, 1973).

5.19.6. Superóxido Dismutase (SOD)

A técnica utilizada foi baseada na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. Uma vez que não se consegue determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol foi à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm (Biospectro) durante 2 minutos. A atividade da SOD foi determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado. No meio de reação, utilizou-se 20 µL de homogeneizado, 973 µL de tampão Tris-Fosfato a 50 mmol/L (pH 8,2), 8 µL de pirogalol a 24 mmol/L, 4 µL de CAT a 30 µmol/L. Esta curva obtida foi utilizada como branco. Foi também feita uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual foi obtida a equação da reta para realização dos cálculos.

5.19.7. Glutathione Peroxidase (GPx)

Como a GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathione reduzida (GSH) para formar glutathione oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido, a atividade da enzima pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx. A atividade da GPx foi medida em um espectrofotômetro (Biospectro). Monitorada a diminuição de absorbância do NADPH a 340 nm. Na cubeta do espectrofotômetro, foram adicionados 330 µL de tampão, 50 µL do homogeneizado

(amostra), 500 μ L de NADPH, 10 μ L de azida sódica, 50 μ L de GSH e 10 μ L de GR. Registrou-se a absorbância por um período de aproximadamente 2 minutos, para obtenção da linha de base. Após esse momento, foram adicionados 50 μ L de hidroperóxido de tert-butila, e a diminuição da absorbância devida ao consumo de NADPH foi monitorada por mais 3 minutos (FLOHE; GUNZLER, 1984).

5.20. Perfil Inflamatório

No momento da eutanásia, o plasma dos animais de todos os grupos foi devidamente coletado e rapidamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado em freezer -80° C. As avaliações quantitativas das citocinas IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, e TNF α foram realizadas por Q-Plex™ Rat Cytokine - Inflammation (9-plex) (ELISA) baseado no ensaio de quimioluminescente permitindo a medição simultânea de nove biomarcadores. Cada kit continha uma placa de 96 poços, com o painel de biomarcadores relevante, e todos os reagentes necessários para realização do teste. Placas Q-Plex são construídas através da absorção de nove distintos anticorpos em uma definida matriz para o fundo de cada poço. Foram usados apenas 50 μ L de amostra por poço, podendo ser testadas até 80 amostras para todos os nove marcadores no painel dentro de 2,5 horas.

5.21. Análise estatística

Os resultados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Os testes de Levene e de Mauchly foram utilizados para verificar a homogeneidade e esfericidade das variâncias. Todos os resultados serão apresentados como média $\pm$ erro padrão. Análise de variância (ANOVA) de um ou duplo fator, seguido de post-hoc de Bonferroni foi devidamente aplicado para análise dos dados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Cálculo do Coeficiente de Correlação de Pearson foi utilizado para correlação entre as variáveis.

6. RESULTADOS PROTOCOLO 1

Avaliações Metabólicas

6.1. Peso corporal

A Figura 12 ilustra o ganho de peso corporal em todos os grupos estudados ao longo das 8 semanas de protocolo. A ooforectomia foi realizada na 1ª semana de protocolo, ou seja, quando os animais do grupo JOS apresentavam 02 meses e os animais do grupo IOS 22 meses de vida.

Figura 12. Peso corporal dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao longo das 09 semanas de protocolo. * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

O peso corporal inicial foi maior nos grupos IOS e ICS em relação aos grupos jovens (JOS e JCS). Ao final do protocolo, os grupos JOS, JCS apresentaram aumento significativo no ganho de peso corporal em relação à semana inicial, o que não foi encontrado nos grupos velhos ICS e IOS. A ooforectomia promoveu um aumento no peso corporal no grupo JOS em relação ao JCS. Não se observou mais diferenças entre os grupos JOS e IOS ao final do estudo (Figura 13, Tabela 1).

Tabela 1 - Peso corporal dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no início e no final do protocolo.

Peso	Inicial	Final	Ganho
JCS	202,0 ± 6,04	220,6 ± 6,59‡	18,5 ± 2,0
JOS	227,4 ± 5,02	263,3 ± 5,56 *‡	35,9 ± 6
ICS	250,9 ± 10,13*#	251,4 ± 12,78	0,50 ± 0,5*#
IOS	270,0 ± 11,07*#	271,0 ± 11,38 *	1 ± 0,1 *#

Dados representam média ± EPM.* p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS, ‡ p<0,05 vs. Inicial do mesmo grupo.

Figura 13. Peso Corporal dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS, ‡ p<0,05 vs. Inicial do mesmo grupo.

6.2. Consumos de Água e Ração

As medidas de ingestão líquida e o consumo de ração diários realizadas nas oito semanas do protocolo indicaram que os animais do grupo JOS ingeriram mais ração do que os animais dos grupos (JCS, ICS, IOS) ao final do protocolo. Não foram observadas diferenças para consumo diário de água entre os grupos (Figuras 14 e 15 e Tabela 2).

Tabela 2 – Ingestão Líquida e de Ração diária dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Consumo	Ingestão Líquida (ml)	Ingestão de Ração (g)
JCS	20,76 ± 0,44	14,37 ± 0,29
JOS	22,36 ± 0,50	16,88 ± 0,44*¥†
ICS	20,63 ± 2,30	15,08 ± 0,61
IOS	21,62 ± 0,62	14,55 ± 0,44

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, ¥ p<0,05 vs. ICS, † p<0,05 vs. IOS.

Figura 14. Ingestão Líquida (ml/dia) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Figura 15. Ingestão de Ração (g/dia) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS, † $p < 0,05$ vs. IOS.

6.3. Cálculo da ingestão calórica

A Figura 16 apresenta a ingestão calórica diária proveniente da ração. O grupo JOS ingeriu diariamente mais calorias provenientes da ração do que os demais grupos (Tabela 3). O que foi refletida na ingestão calórica diária total (kcal da água + kcal da ração), no qual o grupo JOS apresentou um maior consumo diário total em relação aos demais grupos estudados.

Tabela 3 - Ingestão Calórica diária dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Kcal	Água	Ração	Total
JCS		41,55 ± 0,85	41,55 ± 0,85
JOS		48,80 ± 1,27*¥†	48,80 ± 1,27*¥†
ICS		43,60 ± 1,76	43,60 ± 1,76
IOS		42,06 ± 1,28	42,06 ± 1,28

Dados representam médias ± EPM. * $p < 0,05$ vs. JCS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS, † $p < 0,05$ vs. IOS.

Figura 16. Ingestão calórica diária total dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS, † $p < 0,05$ vs. IOS.

6.4. Tecido Adiposo Branco

Na Figura 17 são apresentados os resultados de tecido adiposo branco. Os grupos JOS, ICS e IOS apresentou aumento do tecido adiposo branco em relação aos grupos JCS ao final das 8 semanas de protocolo (Tabela 4).

Tabela 4 - Tecido Adiposo Branco em gramas dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
Tecido Adiposo (g)	$3,78 \pm 0,51$	$6,55 \pm 0,88^*$	$6,56 \pm 0,65^*$	$6,27 \pm 0,65^*$

Dados representam médias $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. JCS.

Figura 17. Tecido Adiposo Branco em gramas dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).
* $p < 0,05$ vs. JCS.

6.5. Glicemia

Na Figura 18 são apresentados os resultados de glicemia no início e final do protocolo dos grupos estudados. Os valores de glicemia permaneceram dentro da faixa de normalidade (Tabela 5).

Figura 18. Glicemia dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

6.6. Triglicerídeos

Os valores de triglicérides sanguíneos no início do protocolo foram maiores no grupo ICS quando comparado aos demais grupos estudados. Ao final do protocolo foi verificado que os grupos idosos (ICS e IOS) apresentaram aumento dos triglicérides em relação aos grupos jovens (JCS e JOS). Não observando diferenças estatísticas entre os grupos jovens ao final do protocolo, assim como entre os grupos idosos (Figura 19, Tabela 5).

Figura 19. Triglicerídeos dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

6.7. Colesterol

Na Figura 20 são apresentados os resultados de colesterol no início e final do protocolo dos grupos estudados. Os valores de colesterol permaneceram dentro da faixa de normalidade. Não houve diferença significativa entre os grupos ao longo das 08 semanas (Tabela 5).

Figura 20. Colesterol dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Tabela 5 – Glicemia, Triglicerídeos e Colesterol dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no início e final do protocolo.

		Inicial	Final
Glicemia (mg/dl)	JCS	88,63 ± 1,12	88,13 ± 1,14
	JOS	78,78 ± 1,55	84,75 ± 0,79
	ICS	80,70 ± 3,01	83,40 ± 5,06
	IOS	83,50 ± 2,37	84,20 ± 7,70
Triglicerídeos (mg/dl)	JCS	107,85 ± 4,28	109,85 ± 5,90
	JOS	107,62 ± 2,98	113,50 ± 5,68
	ICS	131,11 ± 19,45*	124,55 ± 8,95*#
	IOS	116,40 ± 7,84	130,80 ± 5,81*#
Colesterol (mg/dl)	JCS	167,00 ± 1,36	166,13 ± 1,44
	JOS	171,88 ± 1,94	164,13 ± 1,23
	ICS	164,64 ± 2,12	169,00 ± 3,64
	IOS	159,89 ± 1,74	164,29 ± 1,55

Dados representam médias ± EPM. ‡ p<0,05 vs. Inicial do mesmo grupo, * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS.

6.8. Teste de tolerância à insulina

Todos os grupos foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (ITT). A glicemia foi medida antes, 4, 8, 12 e 16 minutos após a injeção de insulina (Figura 21, Tabela 6). Observou-se que a constante de decaimento da glicose sanguínea foi menor nos grupos ICS e IOS após 8 semanas de protocolo quando comparado ao grupo JCS. Não foram observadas diferenças entre os grupos JOS e IOS neste parâmetro.

Tabela 6 – Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
KITT (%/min)	4,41 ± 0,36	3,63 ± 0,22	3,33 ± 0,17*	3,18 ± 0,31*

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. JCS.

Figura 21. Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * p<0,05 vs. JCS.

6.9. Capacidade Física (tempo de corrida)

No teste de esforço inicial, realizado 2 semanas após a ooforectomia, os animais dos grupos jovens (JCS e JOS) apresentaram um maior tempo de corrida em relação aos animais velhos (ICS e IOS). Os mesmos resultados foram observados ao final do protocolo. Além disso, no teste final as ratas dos grupo JOS e IOS apresentaram diferença estatística em relação ao grupo JCS e com seus valores iniciais, indicando uma redução na capacidade de exercício nas ratas ooforectomizadas jovens e velhas (Figura 22, Tabela 7).

Tabela 7 - Duração total do teste de esforço e velocidade alcançada no teste dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) no início e final do protocolo.

		Inicial	Final
Duração (min)	JCS	18,27 ± 0,89	19,45 ± 0,87
	JOS	17,70 ± 0,82	14,88 ± 1,87*‡
	ICS	12,20 ± 0,60*#	11,03 ± 0,74*#
	IOS	12,30 ± 0,46*#	10,52 ± 0,87*#‡
Velocidade (Km/h)	JCS	1,98 ± 0,09	1,98 ± 0,07
	JOS	1,91 ± 0,07	1,67 ± 0,08*‡
	ICS	1,28 ± 0,07	1,35 ± 0,05*#
	IOS	1,35 ± 0,05	1,02 ± 0,05*#‡¥

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS ¥ p<0,05 vs. ICS, ‡ p<0,05 vs. Inicial do mesmo grupo.

Figura 22. Tempo Máximo Alcançado no Teste de Esforço dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS, ‡ $p < 0,05$ vs. Inicial do mesmo grupo.

6.10. Capacidade Física – velocidade máxima (Km/h)

Quando avaliamos a capacidade física por carga máxima (velocidade máxima atingida, Km/h) os mesmos comportamentos observados acima foram encontrados, ou seja, quando levamos em consideração carga completa de velocidade no teste de esforço, podemos notar que o grupo ICS apresentou maior velocidade alcançada em relação ao grupo IOS ao final do estudo, sugerindo que a ooforectomia induziu uma perda adicional dessa capacidade mesmo nos animais idosos. Os dois grupos ooforectomizados JOS e IOS apresentaram redução da capacidade física em relação a seus valores iniciais (Figura 23, Tabela 7).

Figura 23. Velocidade Alcançada no Teste de Esforço dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS ¥ $p < 0,05$ vs. ICS, ‡ $p < 0,05$ vs. Inicial do mesmo grupo.

6.11. Avaliações Ecocardiográficas

6.11.1. Morfometria cardíaca

Parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo foram avaliados pelo ecocardiograma (Tabela 8). A massa do VE estava aumentada nos grupos velhos ICS e IOS em relação aos grupos jovens JCS e JOS ao final do protocolo. Este aumento de massa do ventrículo pode resultar de sobrecarga pressórica ou volumétrica, traduzindo uma resposta adaptativa do miocárdio ao excesso de utilização. Além de aumento de massa do VE os grupos ICS e IOS apresentaram aumento da relação aorta/átrio em relação JCS e JOS. O diâmetro do VE em diástole estava aumento no grupo ICS em relação aos grupos JCS e JOS. Este mesmo parâmetro estava aumentado no grupo IOS apenas em relação ao grupo JCS. Não havendo diferenças entre JOS e IOS.

Tabela 8 – Parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizadas Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizadas Sedentárias (IOS) ao final do protocolo.

Avaliações Ecocardiográficas	JCS	JOS	ICS	IOS
Diâmetro do VE diástole (cm)	0,51 ± 0,009	0,56 ± 0,02	0,65 ± 0,02*#	0,61 ± 0,02*
Diâmetro do VE Sístole (cm)	0,30 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,30 ± 0,03
Massa VE (corr peso) (mg/g)	1,03±0,02	1,02±0,02	1,17±0,06*#	1,12±0,04*#
ERP	0,62 ± 0,03	0,63 ± 0,03	0,56 ± 0,05	0,61 ± 0,03

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS. ERP = espessura relativa da parede.

6.11.2. Função Sistólica e Diastólica

Relação E/A e Tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV)

Os grupos velhos (ICS e IOS) apresentaram diminuição da relação E/A, em relação aos grupos jovens (JCS e JOS), anormalidades na relação sugerem que o ventrículo esquerdo, que bombeia o sangue para a circulação, não pode se encher de sangue adequadamente no período entre as contrações. Além da relação E/A, observamos aumento do TRIV no grupo IOS em relação aos demais, apontando uma alteração diastólica nestes grupos (Figura 24, Tabela 9).

Tabela 9 – Função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

Avaliações Ecocardiográficas	JCS	JOS	ICS	IOS
Fração de Ejeção (%)	80,12 ± 3,05	80,75 ± 2,85	85,44 ± 1,62	84,48 ± 3,60
Fração de Encurtamento (%)	42,94 ± 3,34	43,05 ± 2,72	48,36 ± 1,97	49,52 ± 4,18
VEC (circ/seg*100)	0,43 ± 0,01	0,44 ± 0,03	0,46 ± 0,02	0,46 ± 0,04
Relação E/A	2,04 ± 0,08	2,19 ± 0,13	1,74 ± 0,08*#	1,60 ± 0,06*#
TRIV (ms/kg)	2,46 ± 0,20	2,01 ± 0,09	2,33 ± 0,13	3,08 ± 0,21*#¥
Desaceleração onda E (ms/kg)	3,79 ± 0,28	3,60 ± 0,28	3,75 ± 0,27	4,71 ± 0,18#¥
IDM	0,25±0,03	0,26±0,03	0,43±0,05*#	0,40±0,05*#

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS. Velocidade de encurtamento circunferencial (VEC), Relação pico da onda E com pico da onda A (relação E/A), tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e Índice de desempenho miocárdico (IDM).

Figura 24. Relação pico da onda E com pico da onda A (relação E/A) e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) corrigido pelo peso dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

A Tabela 9 apresenta os resultados das avaliações da função cardíaca. Nos animais jovens, não foram observadas diferenças significativas para a função sistólica. Já para a desaceleração da onda E o grupo IOS apresentou um aumento em relação aos grupos JOS e ICS. Já o índice de desempenho miocárdico (IDM) estava aumentado nos grupos ICS e IOS em relação aos grupos JCS e JOS.

6.12. Pressão Arterial

Os resultados da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), e pressão arterial média (PAM) em repouso podem ser observados nas Figuras 25 (A, B e C, respectivamente) e na Tabela 10. A ooforectomia induziu aumento dos valores da PAS nos grupos JOS e IOS quando comparado aos grupos JCS e ICS. A associação do envelhecimento com a privação dos hormônios ovarianos não induziu aumento adicional desses valores o mesmo foi observado em relação à PAD e PAM.

Tabela 10 - Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD), Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
PAS (mmHg)	123,98 ± 2,57	137,01 ± 1,69*¥	128,99 ± 3,19	140,49 ± 2,74*¥
PAD (mmHg)	91,87 ± 1,32	100,35 ± 2,34*¥	91,08 ± 1,25	102,12 ± 2,12*¥
PAM (mmHg)	107,01 ± 1,47	116,85 ± 2,04*¥	109,63 ± 1,67	119,09 ± 1,86*¥
FC (bpm)	355 ± 4,16	362 ± 7,05	382 ± 11,79	389 ± 20,10

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. JCS ¥ p<0,05 vs. ICS.

Figura 25. (A) Pressão arterial sistólica, (B) Pressão arterial diastólica, (C) Pressão arterial média dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS.

6.13. Frequência Cardíaca

A Figura 26 e Tabela 10 apresentam os valores de frequência cardíaca dos quatro grupos estudados. Não foram observadas diferenças entre os grupos ao final do protocolo.

Figura 26. Frequência cardíaca dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

6.14. Avaliação da sensibilidade barorreflexa

6.14.1 Resposta Taquicárdica

A avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores foi avaliada através de respostas bradicárdica e taquicárdica reflexas, induzidas por aumentos e quedas da PA, respectivamente (Tabela 11, Figuras 27 e 28, respectivamente). Os animais dos grupos JOS, ICS e IOS apresentaram menor sensibilidade do reflexo barorreceptor para as respostas taquicárdicas, induzidas por diminuição da pressão arterial (nitroprussiato de sódio), em relação ao grupo controle jovem (JCS), adicionalmente o grupo IOS apresentou menor sensibilidade em relação ao grupo ICS, demonstrando que a ooforectomia e/ou o envelhecimento provocaram uma redução na sensibilidade barorreflexa.

Figura 27. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas taquicárdicas dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS.

6.14.2. Respostas Bradicárdicas

O grupo ICS apresentou menor sensibilidade barorreflexa em relação aos grupos jovens. O grupo IOS apresentou menor sensibilidade do reflexo barorreceptor para as respostas bradicárdicas, induzidas por aumentos da pressão arterial (fenilefrina), quando comparado aos grupos JCS, JOS e ICS. Demonstrando, que o envelhecimento associado à ooforectomia causou um prejuízo adicional nas respostas bradicárdicas no grupo IOS quando comparado aos demais grupos do estudo (Tabela 11, Figura 28).

Figura 28. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas bradicárdicas dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS.

Tabela 11 – Sensibilidade dos Pressorreceptores dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
Resposta Bradicárdica (bpm/mmHg)	-1,47 ± 0,08	-1,51 ± 0,08	-1,24 ± 0,06*#	-0,90 ± 0,05*#¥
Resposta Taquicárdica (bpm/mmHg)	4,13 ± 0,24	3,38 ± 0,27*	2,74 ± 0,17*	2,34 ± 0,43*#

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS, ¥ p<0,05 vs. ICS.

6.15. Avaliações do controle autonômico da frequência cardíaca pelo bloqueio farmacológico

6.15.1. Tônus Vagal

O envelhecimento reduziu o tônus vagal. Os grupos ICS e IOS apresentaram menor tônus vagal em relação aos grupos JCS e JOS (Figura 29 e Tabela 12). Não observando diferenças estatísticas entre os grupos jovens, assim como entre os pares idosos.

Figura 29. Tônus vagal (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS.

6.15.2. Tônus Simpático

Já em relação ao tônus simpático (Figura 30) a ooforectomia e/ou envelhecimento promoveram aumento do tônus simpático nos grupos JOS, ICS e IOS em relação ao grupo JCS (Tabela 12).

Figura 30. Tônus Simpático (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS.

6.15.3. Efeito Vagal e Efeito Simpático

O envelhecimento reduziu o efeito vagal nos grupos ICS e IOS em relação aos grupos jovens (JCS e JOS). Não foram observadas diferenças entre os grupos jovens, assim como entre os pares velhos (Figura 31 e Tabela 12). Já o efeito simpático foi maior nos grupos ICS e IOS em relação aos grupos JCS e JOS, assim como estava aumentado no grupo JOS em relação ao grupo JCS (Figura 32 e Tabela 12).

Figura 31. Efeito Vagal (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

Figura 32. Efeito Simpático (bpm) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

6.16. Frequência Cardíaca Intrínseca

Os grupos velhos (ICS e IOS) apresentaram redução na frequência cardíaca intrínseca em relação aos grupos jovens, sugerindo um efeito adicional do envelhecimento no funcionamento das células marca-passo (Figura 33 e Tabela 12). Não foram observadas diferenças entre os pares jovens assim como entre os pares velhos.

Figura 33. Frequência cardíaca intrínseca dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

Tabela 12 – Tônus vagal e simpático, Efeito vagal e simpático e Frequência Cardíaca Intrínseca dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
Tônus Vagal (bpm)	50,57 ± 3,33	65,63 ± 7,50	18,60 ± 4,71*#	17,14 ± 4,21*#
Tônus Simpático (bpm)	40,78 ± 10,05	80,75 ± 5,64*	82,10 ± 6,77*	95,16 ± 12,83*
Efeito Vagal (bpm)	87,29 ± 8,92	80,80 ± 8,36	34,34 ± 5,77*#	14,38 ± 1,86*#¥
Efeito Simpático (bpm)	23,88 ± 4,87	53,13 ± 9,92*	92,26 ± 7,40*#	83,69 ± 7,41*#
FC Intrínseca (bpm)	396,93 ± 6,00	379,17 ± 5,09	303,61 ± 7,82*#	311,39 ± 9,83*#

Dados representam média ± EPM. * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS.

6.17. Modulação autonômica cardiovascular (variabilidade da frequência cardíaca)

6.17.1. Domínio do Tempo

Podem-se observar na Figura 34, que não foram encontradas diferenças estatísticas do intervalo de pulso entre todos os grupos estudados (JCS, JOS, ICS e IOS). Os grupos ICS e IOS apresentaram um menor desvio padrão do IP (Figura 35), em relação aos dois grupos jovens (JCS e JOS). O mesmo comportamento foi observado para a variância total (Figura 36). Não sendo encontradas diferenças estatísticas entre os grupos jovens, assim como entre os grupos velhos.

Figura 34. Intervalo de Pulso (IP) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Figura 35. Desvio padrão da Variância do IP dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

Figura 36. Variância do IP dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

Ainda no domínio do tempo, não foram observadas estatísticas entre o RMSSD (Figura 37) nos 4 grupos de estudados (JCS, JOS, ICS e IOS).

Figura 37. RMSSD (ms) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

6.17.2. Domínio da Frequência

A banda de baixa frequência do intervalo de pulso (LF%), correspondente à modulação simpática, estava aumentada no grupo JOS em relação ao grupo JCS, os dois

grupos velhos apresentaram uma diminuição nesta banda em relação ao grupo IOS. A banda de alta frequência do intervalo de pulso (HF), que corresponde à modulação parassimpática/vagal, não estava diferente nos grupos estudados (Figura 38 e Figura 39) (Tabela 13).

Figura 38. Banda de baixa frequência do IP (LF) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

Figura 39. Banda de alta frequência do IP (HF un) dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Para avaliar a influência relativa de cada componente sobre a frequência cardíaca, utilizamos o balanço simpato-vagal, podemos observar que o grupo JOS apresentou um predomínio simpático aumentado em relação ao grupo IOS (Figura 40 e Tabela 13).

Figura 40. Balanço Simpato-vagal LF/HF dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). # $p < 0,05$ vs. JOS.

Tabela 13 – Variabilidade da FC no domínio do tempo e da frequência dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
IP (ms)	171,31 ± 2,94	175,44 ± 3,63	163,25 ± 2,93	164,91 ± 7,15
DP IP (ms)	6,39 ± 0,45	7,19 ± 0,48	4,85 ± 0,44 *#	4,67 ± 0,25 *#
Variância (ms²)	43,03 ± 6,22	54,24 ± 6,52	28,40 ± 4,73*#	23,15 ± 2,41 *#
RMSSD (ms)	4,35 ± 0,50	5,13 ± 0,42	4,06 ± 0,24	4,36 ± 0,35
HF abs. (ms²)	7,88 ± 1,90	9,33 ± 1,35	6,01 ± 0,59	6,07 ± 0,81
LF abs. (ms²)	3,02 ± 0,78	5,30 ± 0,66 *	2,18 ± 0,61#	1,35 ± 0,29#
HF (%) IP	25,55 ± 4,31	28,00 ± 3,01	38,22 ± 4,72	39,10 ± 4,27
LF (%) IP	10,44 ± 1,47	16,53 ± 1,79*	8,40 ± 0,99#	9,19 ± 2,10#
HF un IP	68,6 ± 2,56	62,33 ± 2,16	76,20 ± 3,10#	81,8 ± 2,37*#
LF un IP	31,33 ± 2,56	37,66 ± 2,16	23,79 ± 3,10#	18,12 ± 2,37*#
LF/HF	0,48 ± 0,05	0,62 ± 0,06	0,40 ± 0,09	0,32 ± 0,04#

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS.

6.17.3. Variabilidade da pressão arterial

Não foi observada diferença no DP da PAS entre os quatro grupos estudados (Figura 41).

Figura 41. Desvio padrão da Variância da PAS dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Analisando a variabilidade da pressão arterial sistólica, não foram observadas diferenças nesta variável entre os grupos de estudo (Figura 42). A banda LF da PAS estava aumentada nos grupos JOS e IOS em relação aos grupos JCS e ICS apontado que a ooforectomia parece ser um fator determinante para alterações da VPAS independente do efeito do envelhecimento (Figura 43) (Tabela 14).

Figura 42. Variância da PAS dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Figura 43. Banda de baixa frequência da PAS (LF) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs JOS, ¥ $p < 0,05$ vs ICS.

Tabela 14 - Variabilidade da pressão arterial dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

	JCS	JOS	ICS	IOS
DP PAS (mmHg)	$4,46 \pm 0,35$	$4,29 \pm 0,23$	$4,63 \pm 0,20$	$4,33 \pm 0,14$
VARR PAS (mmHg²)	$21,22 \pm 3,8$	$19,02 \pm 2,12$	$22,44 \pm 2,27$	$19,14 \pm 1,33$
LF PAS (mmHg)	$5,54 \pm 0,72$	$7,90 \pm 1,18^*$	$4,74 \pm 0,42^\#$	$8,29 \pm 0,65^{*\text{¥}}$

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. JCS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS.

6.18. Perfil Inflamatório

Interleucinas

(IL-1 α) e (IL-1 β)

Na Figura 44 pode-se observar as citocinas 1 α e 1 β dos 4 grupos estudados. Não foram observadas diferenças para as 1 α e 1 β entre os grupos estudados (Tabela 15).

Tabela 15 – Perfil Inflamatório dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

Citocinas	JCS	JOS	ICS	IOS
IL-1a (pg/ml)	66,76 $\pm$ 2,63	58,17 $\pm$ 2,52	64,34 $\pm$ 1,92	62,24 $\pm$ 2,65
IL-1b (pg/ml)	59,38 $\pm$ 8,60	70,14 $\pm$ 12,77	57,58 $\pm$ 4,91	52,21 $\pm$ 3,82
IL-6 (pg/ml)	224,54 $\pm$ 5,97	208,05 $\pm$ 11,38	278,09 $\pm$ 16,53*#	253,34 $\pm$ 7,01*#
IL-10 (pg/ml)	8,12 $\pm$ 0,18	8,81 $\pm$ 0,42	8,94 $\pm$ 0,58	8,84 $\pm$ 0,46
TNFa (pg/ml)	52,86 $\pm$ 2,46	57,34 $\pm$ 2,25	68,07 $\pm$ 4,32*#	63,12 $\pm$ 2,36*

Dados representam médias $\pm$ EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs JOS.

Figura 44. Interleucinas 1 α e 1 β dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, ¥ $p < 0,05$ vs. ICS.

IL-6

Na Figura 45 são apresentados os resultados da interleucina 6 no plasma dos quatro grupos estudados. Os grupos ICS e IOS apresentaram aumento significativo da IL6 em relação aos dois grupos jovens (JCS e JOS) (Tabela 15).

Figura 45. Interleucina 6 (IL6) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs JOS.

IL-10

A concentração de IL-10 detectada em plasma sanguíneo dos grupos estudados esta representada na Figura 46. Os dados indicam aumento significativo nos níveis de IL10 nos grupos ICS e IOS em relação aos grupos jovens (Tabela 15).

Figura 46. Interleucina 10 (IL-10) dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs JOS.

TNF α

Os valores de TNF- α estavam aumentados nos grupos ICS e IOS em relação ao grupo controle jovem (JCS). Adicionalmente o grupo ICS apresentou aumento de TNF-ALFA em relação ao grupo JOS (Figura 47 e Tabela 15).

Figura 47. TNF α dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS). * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS.

6.19. Avaliações do Estresse Oxidativo

A análise da lipoperoxidação do tecido hepático evidenciou maiores valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no grupo JOS em relação ao grupo JCS.

As proteínas carboniladas estavam aumentadas apenas no grupo IOS em relação ao grupo controle jovem (JCS) ao final do protocolo (Tabela 16).

Tabela 16 - Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido hepático dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Tecido Hepático	JCS	JOS	ICS	IOS
TBARS ($\mu\text{mol/mg}$ proteína)	$0,84 \pm 0,19$	$2,49 \pm 0,29^*$	$2,02 \pm 0,42$	$1,73 \pm 0,43$
Carbonilas (nmol/mg proteína)	$3,47 \pm 0,34$	$5,41 \pm 0,54$	$5,10 \pm 0,59$	$6,99 \pm 1,08^*$

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS ¥ $p < 0,05$ vs. ICS

Em relação às enzimas antioxidantes no tecido hepático, o envelhecimento associado ou não a ooforectomia induziu uma redução nesses grupos (ICS e IOS) da atividade da catalase em relação aos grupos jovens. A atividade da superóxido dismutase não foi diferente entre os 4 grupos estudados ao final do protocolo. Todavia, os grupos ICS e IOS apresentaram prejuízo na atividade da glutathiona peroxidase quando comparado ao grupo JOS (Tabela 17).

Tabela 17 - Atividade da catalase (CAT), da superóxido dismutase (SOD) e da glutathiona peroxidase (GPx) no tecido hepático dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS)

Tecido Hepático	JCS	JOS	ICS	IOS
CAT (nmol/mg proteína)	4,75 ± 0,32	4,92 ± 0,26	3,46 ± 0,38*#	3,42 ± 0,26*#
SOD (USOD/mg proteína)	25,75 ± 0,14	25,28 ± 2,01	23,18 ± 1,81	25,54 ± 1,78
GPx (μmol/min/mg proteína)	0,207 ± 0,01	0,265 ± 0,016*	0,203 ± 0,015#	0,202 ± 0,014#

Dados representam média ± EPM.* p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS ¥ p<0,05 vs. ICS.

A lipoperoxidação de lipídios de membrana foi avaliada no tecido cardíaco, por meio da técnica das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Não foram observadas diferenças neste parâmetro entre os grupos. Em relação à dosagem de proteínas carboniladas foi observado um aumento somente no grupo idosa ooforectomizada sedentária (IOS) comparado ao grupo jovem controle sedentária (JCS) (Tabela 18).

Tabela 18 - Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido cardíaco dos grupos: Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Tecido Cardíaco	JCS	JOS	ICS	IOS
TBARS (μmol/mg proteína)	0,93 ± 0,09	1,46 ± 0,21*	1,02 ± 0,1	1,37 ± 0,19*
Carbonilas (nmol/mg proteína)	6,38 ± 0,70	6,73 ± 0,51	7,37 ± 0,35	8,43 ± 0,50*

Dados representam médias ± EPM.* p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS, ¥ p<0,05 vs. ICS.

Em relação às enzimas antioxidantes no tecido cardíaco, os grupos ooforectomizados (JOS e IOS) apresentaram aumento da atividade da catalase (CAT) quando comparado aos controles (JCS e ICS). Não foi observado diferença na atividade da superóxido dismutase (SOD) entre os 4 grupos estudados ao final do protocolo.

Os grupos ooforectomizados (JOS e IOS) apresentaram aumento da atividade da glutathione peroxidase (GPx) quando comparados aos grupos sem ooforectomia jovem ou velha (JCS e ICS) (Tabela 19).

Tabela 19 - Atividade da catalase (CAT), da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido cardíaco dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Tecido Cardíaco	JCS	JOS	ICS	IOS
CAT (nmol/mg proteína)	0,82 ± 0,09	1,48 ± 0,13*	0,90 ± 0,09#	1,42 ± 0,14*¥
SOD (USOD/mg proteína)	21,80 ± 0,85	24,33 ± 0,86	21,20 ± 1,64	23,48 ± 0,92
GPx (µmol/min/mg proteína)	0,048 ± 0,006	0,072 ± 0,008*	0,038 ± 0,004#	0,075 ± 0,005*¥

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. JCS, # p<0,05 vs. JOS ¥ p<0,05 vs. ICS.

Não foi observado diferença na quantidade de glutathione oxidada entre os grupos ao final do protocolo. Porém houve diminuição da glutathione reduzida (GSH) devido à ooforectomia no grupo jovem ooforectomizada sedentária (JOS) em comparação aos grupos controles tanto de ratas jovens quanto idosas (JCS e ICS).

A razão entre glutathione reduzida e glutathione oxidada apresentou diminuição nos grupos ooforectomizados (JOS e IOS) em relação aos grupos de ratas jovens controles sedentárias (JCS). O grupo de ratas idosas ooforectomizadas (IOS) apresentou uma diminuição adicional em comparação às ratas idosas controles (ICS) (Tabela 20).

Tabela 20 - Glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e razão da glutathiona reduzida sobre a glutathiona oxidada (GSH/GSSG) em tecido cardíaco dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS).

Tecido Cardíaco	JCS	JOS	ICS	IOS
GSSG ($\mu\text{mol/g}$ tecido)	$0,017 \pm 0,004$	$0,019 \pm 0,002$	$0,024 \pm 0,002$	$0,024 \pm 0,003$
GSH ($\mu\text{mol/g}$ tecido)	$0,121 \pm 0,009$	$0,077 \pm 0,007^*$	$0,114 \pm 0,007^\#$	$0,087 \pm 0,012^{*\text{¥}}$
GSH/GSSG ($\mu\text{mol/g}$ tecido)	$7,594 \pm 0,649$	$4,250 \pm 0,257^*$	$5,965 \pm 0,341$	$4,088 \pm 0,627^{*\text{¥}}$

Dados representam média $\pm$ EPM.* $p < 0,05$ vs. JCS, # $p < 0,05$ vs. JOS ¥ $p < 0,05$ vs. ICS.

6.20. Estudos de Correlação

Observaram-se correlações entre o aumento do TAB com o aumento de IL-6 no plasma ($r = 0,5$, $P < 0,05$) e com o efeito simpático cardíaco ($r = 0,7$, $p < 0,05$), bem como com a redução da sensibilidade à insulina ($r = -0,5$, $p < 0,05$).

A disfunção cardíaca autonômica, representada pelo aumento do TS ($r = 0,65$, $p < 0,05$) e diminuição do TV ($r = -0,7$, $p < 0,05$), foi correlacionada com os níveis aumentados de IL-6. Os níveis de IL-6 também foram positivamente correlacionados com os níveis de TNF-alfa ($r = 0,7$, $p < 0,05$).

O TNF-alfa foi inversamente correlacionado com GSH/GSSG ($r = -0,6$, $p < 0,05$), sugerindo que os animais que apresentaram níveis mais elevados de marcadores inflamatórios apresentaram maiores níveis de estresse oxidativo cardíaco. Finalmente, a função global cardíaca, representada pelo IDM, foi positivamente correlacionada com a IL-6 ($r = 0,65$, $p < 0,05$), o TNF-alfa ($r = 0,5$, $p < 0,05$) e o TS ($r = 0,55$, $p < 0,05$) e negativamente correlacionada com a capacidade física ($r = -0,55$, $p < 0,05$).

7. RESULTADOS PROTOCOLO 2

Avaliações metabólicas

7.1. Peso Corporal

A Figura 48 ilustra o ganho de peso corporal em todos os grupos ooforectomizados estudados ao longo das 8 semanas de protocolo.

Figura 48. Peso corporal dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao longo das 08 semanas de protocolo.

Não houve diferença significativa entre os grupos na primeira semana de protocolo. Diferença essa observada ao final do protocolo entre os grupos IOSF e IOT com o grupo IOS. O grupo IOSF também apresentou aumento de peso corporal ao final do protocolo, quando comparados aos seus valores no momento inicial do estudo (Figura 49 e Tabela 21).

Figura 49. Peso Corporal dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS Inicial, † $p < 0,05$ vs. Inicial do mesmo grupo.

7.2. Variação do Ganho de Peso Corporal

A Tabela 21 apresenta o ganho de peso em todos os grupos. Ao se realizar o delta de variação de ganho de peso corporal, podemos observar que os grupos IOT e IOTF apresentaram um menor ganho de peso em relação ao IOSF, quando analisamos o peso final – peso inicial. Estes dados mostram que o treinamento físico foi eficaz em atenuar o ganho de peso corporal nestes grupos treinados.

Tabela 21 – Peso corporal (g) dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no início e no final do protocolo.

Peso (g)	Inicial	Final	Ganho
IOS	270,00 ± 10,38	271,00 ± 12,47	1 ± 0,2
IOSF	271,00 ± 7,03	296,89 ± 9,53 ^{†*}	25 ± 4,3
IOT	297,50 ± 10,17	305,50 ± 7,28*	8 ± 0,2 #
IOTF	274,37 ± 7,75	284,25 ± 9,55	9,88 ± 3,3#

Dados representam média ± EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS Inicial, † $p < 0,05$ vs. Inicial do mesmo grupo, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ‡ $p < 0,05$ vs. IOTF.

7.3. Consumos de Frutose e Ração

As medidas de ingestão líquida e consumo de ração diários realizadas nas 8 semanas do protocolo indicaram que os animais submetidos ao tratamento de frutose IOSF e IOTF ingeriram mais líquido e menos ração do que os animais tratados com água IOS e IOT (Figura 50 e Figura 51 e Tabela 22).

Tabela 22 – Ingestão Líquida e de Ração diária dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Consumo	Ingestão Líquida (ml)	Ingestão de Ração (g)
IOS	21,62 ± 0,62	14,55 ± 0,44
IOSF	48,95 ± 3,05*¥	11,69 ± 0,26*¥
IOT	25,53 ± 0,49	16,08 ± 0,61
IOTF	47,51 ± 1,82 *¥	12,79 ± 0,28*¥

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, ¥ p<0,05 vs. IOT

Figura 50. Ingestão Líquida (ml/dia) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

* p<0,05 vs. IOS, ¥ p<0,05 vs. IOT.

Figura 51. Ingestão de Ração (g/dia) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

* $p < 0,05$ vs. IOS, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

7.4. Cálculo da Ingestão Calórica

A Figura 52 apresenta a ingestão calórica diária proveniente da frutose. Não existiu diferença no consumo de frutose entre os grupos que a consumiram. A Figura 53 demonstra que todos os grupos que receberam frutose IOSF e IOTF ingeriram diariamente menos calorias provenientes da ração do que os animais dos grupos IOS e IOT. Quando se comparou a ingestão calórica diária total (kcal da frutose + kcal da ração) foram observadas diferenças entre os grupos frutose em relação aos grupos água (Figura 54 e Tabela 23).

Tabela 23 – Ingestão Calórica diária dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Kcal	Água	Ração	Total
IOS		42,06 $\pm$ 1,28	42,06 $\pm$ 1,28
IOSF	19,58 $\pm$ 1,22*¥	33,80 $\pm$ 0,77*¥	53,38 $\pm$ 1,29*¥
IOT		46,49 $\pm$ 1,78	46,49 $\pm$ 1,78*
IOTF	19,00 $\pm$ 0,73*¥	36,96 $\pm$ 0,81*¥	55,97 $\pm$ 0,80*¥

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

Figura 52. Ingestão calórica diária proveniente da frutose dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

* $p < 0,05$ vs. IOS, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

Figura 53. Ingestão calórica diária proveniente da Ração dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

* $p < 0,05$ vs. IOS, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

Figura 54. Ingestão calórica diária total dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

* p<0,05 vs. IOS, ¥ p<0,05 vs. IOT.

7.5. Tecido Adiposo Branco

O consumo de frutose promoveu aumento do tecido adiposo branco nos animais sedentários (IOSF). Os grupos IOT e IOTF apresentaram menor valor de tecido adiposo branco quando comparado ao grupo IOSF. Não existiu diferença entre os grupos IOT e IOTF ao final do protocolo (Figura 55 e Tabela 24).

Tabela 24 - Tecido Adiposo Branco em gramas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
Tecido Adiposo (g)	6,27 ± 0,62	10,07 ± 0,61*	3,94 ± 0,44#	5,28 ± 0,66#

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF.

Figura 55. Tecido Adiposo Branco em grama dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).
* $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.6. Glicemia

Na Figura 56 são apresentados os resultados de glicemia no início e final do protocolo dos grupos estudados. Os valores de glicemia permaneceram dentro da faixa de normalidade. Não houve diferença significativa entre os grupos ao longo das 8 semanas. (Tabela 25).

Figura 56. Glicemia dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

7.7. Triglicerídeos

Não foram observadas diferenças entre os triglicerídeos iniciais dos 4 grupos estudados IOS, IOSF, IOT e IOTF.

Já na avaliação intra-grupo, observados na Figura 57, podemos observar que os valores do grupo IOS permaneceram dentro da faixa de normalidade durante todo o protocolo. Já os animais dos grupos que receberam sobrecarga de frutose e/ou Treinamento Físico IOSF e IOTF apresentaram aumento significativo dos níveis de triglicerídeos no final do protocolo em relação aos valores iniciais. Os grupos IOSF e IOT apresentaram aumento dos níveis de triglicerídeos ao final do estudo em relação ao grupo IOS ao final do estudo (Tabela 25).

Figura 57. Triglicerídeos dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). ‡ p<0,05 vs. Inicial do mesmo grupo, * p<0,05 vs. IOS.

7.8. Colesterol Total

Os valores de colesterol sanguíneos ao final do protocolo foram maiores no grupo IOS quando comparado ao grupo IOSF. Os grupos IOT e IOTF permaneceram dentro da faixa de normalidade durante todo o protocolo (Figura 58, Tabela 25).

Figura 58. Colesterol dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS.

Tabela 25 – Glicemia, Triglicerídeos e Colesterol dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no início e final do protocolo.

		Inicial	Final
Glicemia (mg/dl)	IOS	$83,50 \pm 2,37$	$84,20 \pm 7,70$
	IOSF	$83,20 \pm 2,89$	$86,00 \pm 2,51$
	IOT	$83,13 \pm 2,74$	$86,60 \pm 2,98$
	IOTF	$81,80 \pm 1,91$	$82,70 \pm 2,31$
Triglicerídeos (mg/dl)	IOS	$116,40 \pm 7,84$	$130,80 \pm 5,81$
	IOSF	$125,77 \pm 9,11$	$165,11 \pm 23,13\ddagger$
	IOT	$143,14 \pm 17,09$	$170,25 \pm 23,04$
	IOTF	$133,80 \pm 6,46$	$151,50 \pm 20,02\ddagger$
Colesterol (mg/dl)	IOS	$159,89 \pm 1,74$	$164,29 \pm 1,55$
	IOSF	$159,40 \pm 1,34$	$157,39 \pm 1,43^*$
	IOT	$159,88 \pm 3,05$	$159,00 \pm 3,05$
	IOTF	$154,50 \pm 0,37$	$159,40 \pm 3,05$

Dados representam média $\pm$ EPM. $\ddagger$ $p < 0,05$ vs. Inicial do mesmo grupo, * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.9. Teste de tolerância à insulina

Os animais dos grupos IOS e IOSF apresentaram menor KITT (constante de decaimento da glicose) no teste de tolerância à insulina quando comparados aos seus pares treinados IOT e IOTF ao final do protocolo, o que representa uma menor sensibilidade à insulina (Figura 59 e tabela 26).

Tabela 26 – Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) no final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
KITT (%/min)	3,18 ± 0,31	3,59 ± 0,55	4,89 ± 0,14*#	5,12 ± 0,43*#

Dados representam médias ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF.

Figura 59. Teste de tolerância à insulina (ITT) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF.

7.10. Capacidade Física (tempo de corrida)

Para avaliação da capacidade física, foram realizados testes de esforço máximo no início (TE1), na semana intermediária (TE2), e ao final (TE3) do protocolo (Tabela 27, Figuras 60 e 61). No TE1 todos os grupos apresentaram desempenhos semelhantes. Todavia, no teste de esforço final, os ratos dos grupos IOT e IOTF apresentaram aumento no tempo de corrida em relação aos seus valores iniciais, intermediários e quando comparado aos grupos IOS e IOSF. Não sendo observadas diferenças entre os grupos treinados ao final do estudo.

Tabela 27 – Duração total do teste de esforço e velocidade alcançada no teste dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF), no início e final do protocolo.

		Inicial	Final
Duração (min)	IOS	12,30 ± 0,46	10,52 ± 0,87
	IOSF	10,73 ± 10,34	10,34 ± 0,59
	IOT	11,65 ± 0,63	19,99 ± 0,89*#‡
	IOTF	10,70 ± 1,29	17,55 ± 1,05*#‡
Velocidade (Km/h)	IOS	1,35 ± 0,05	1,02 ± 0,05
	IOSF	1,12 ± 0,04	1,08 ± 0,05
	IOT	1,20 ± 0,06	2,06 ± 0,07*#‡
	IOTF	1,20 ± 0,06	1,85 ± 0,12*#‡

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, ‡ p<0,05 vs. inicial do mesmo grupo.

Figura 60. Tempo Máximo no Teste de Esforço dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). # $p < 0,05$ vs. IOSF, * $p < 0,05$ vs. IOS, ‡ $p < 0,05$ vs. inicial do mesmo grupo.

7.11. Capacidade Física (Velocidade máxima, Km/h)

Quando avaliamos a capacidade física pela velocidade máxima completa percorrida, foram observados resultados semelhantes aos apresentados acima para tempo de corrida (Figura 61).

Figura 61. Velocidade Máxima Alcançada no Teste de Esforço dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ‡ $p < 0,05$ vs. inicial do mesmo grupo.

7.12. Avaliação Ecocardiográfica

7.12.1. Morfometria cardíaca

Na tabela 28 são apresentados os parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo dos grupos, IOS, IOSF, IOT e IOFT. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos para massa do VE, diâmetros, e espessura relativa da parede ao final do protocolo.

Tabela 28 – Parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

Avaliações Ecocardiográficas	IOS	IOSF	IOT	IOTF
Diâmetro do VE diástole (cm)	0,60 ± 0,02	0,65 ± 0,01	0,62 ± 0,02	0,64 ± 0,03
Diâmetro do VE sístole (cm)	0,34 ± 0,04	0,31 ± 0,01	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,01
Massa VE corrigido peso corporal (mg/g)	1,12 ± 0,04	1,11 ± 0,04	1,21 ± 0,04	1,10 ± 0,03
ERP	0,60 ± 0,03	0,62 ± 0,06	0,67 ± 0,06	0,60 ± 0,05

Dados representam média ± EPM. **ERP**= espessura relativa da parede.

7.12.2. Função Sistólica e Diastólica

Velocidade de encurtamento circunferencial

A avaliação da função cardíaca é representada na Tabela 29 (Figura 62). Os índices de função sistólica avaliados como fração de ejeção e fração de encurtamento não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Todavia, quando avaliamos a velocidade de encurtamento circunferencial (VEC), o grupo IOT apresentou um maior desempenho neste índice em relação aos grupos sedentários (IOS e IOSF).

Figura 62. VEC= Velocidade de encurtamento circunferencial dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

Tabela 29 – Função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

Avaliações Ecocardiográficas	IOS	IOSF	IOT	IOTF
Fração de Ejeção (%)	84,48 ± 3,60	86,37 ± 1,68	92,80 ± 1,33	90,56 ± 2,68
Fração de Encurtamento (%)	49,52 ± 4,18	48,94 ± 2,27	59,47 ± 2,49	56,45 ± 3,51
VEC (circ/seg*100)	0,46 ± 0,04	0,47 ± 0,04	0,75 ± 0,04*#	0,55 ± 0,02
Relação E/A	1,60 ± 0,06	1,62 ± 0,05	1,41 ± 0,17	1,66 ± 0,08
TRIV (ms/kg)	3,08 ± 0,21	2,90 ± 0,24	1,98 ± 0,15*#	2,72 ± 0,20¥
Desaceleração onda E (ms/kg)	4,71 ± 0,18	3,96 ± 0,29	2,58 ± 0,26*#	4,01 ± 0,22¥
IDM	0,40±0,05	0,54 ± 0,06	0,28 ± 0,06#	0,29 ± 0,04#

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOFS, ¥ p<0,05 vs. IOT. TRIV = tempo de relaxamento isovolumétrico. IDM= índice de desempenho miocárdico.

Tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), Tempo de desaceleração da onda E

Ao avaliarmos os parâmetros de função diastólica o grupo IOT apresentou menor TRIV e menor tempo de desaceleração da onda E, em relação aos grupos IOS, IOSF e IOTF. O treinamento físico no grupo IOTF não normalizou tais parâmetros (Figura 63 e Tabela 29).

Figura 63. TRIV= Tempo de relaxamento isovolumétrico corrigido pelo peso e tempo de desaceleração da onda E dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs IOT.

Índice de desempenho miocárdico

O índice de desempenho miocárdico, índice este que nos permite uma avaliação global da função do ventrículo, estava diminuída no grupo IOT em relação aos grupos sedentários IOS e IOSF. Não foram observadas diferenças entre os grupos treinados (Figura 64 e Tabela 29).

Figura 64. IDM= Índice de desempenho miocárdico dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.13. Pressão Arterial

Os parâmetros hemodinâmicos obtidos após a canulação e análise do registro de pressão arterial são apresentados na Tabela 30. A associação do envelhecimento com a privação dos hormônios ovarianos e/ou sobrecarga de frutose, induziram aumento dos valores de PAS, PAD e PAM nos grupos IOS e IOSF. O treinamento físico aplicado nos grupos IOT e IOTF reverteu ou preveniu o aumento de PAS, PAD e PAM quando comparado aos pares sedentários (Figura 65).

Figura 65. (A) Pressão arterial sistólica, (B) Pressão arterial diastólica, (C) Pressão arterial média dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.14. Frequência Cardíaca

A Figura 66 apresenta os valores de frequência cardíaca. Os animais treinados (IOT e IOTF) apresentaram redução na frequência cardíaca quando comparado aos seus pares sedentários. O treinamento físico promoveu a bradicardia de repouso nos grupos IOT e IOTF quando comparado aos grupos IOS e IOSF (Tabela 30).

Figura 66. Frequência cardíaca dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

* $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

Tabela 30 - Pressão Arterial Sistólica (PAS), Pressão Arterial Diastólica (PAD), Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
PAS (mmHg)	140,49 ± 2,74	143,42 ± 2,73	127,82 ± 2,16*#	129,89 ± 1,18*#
PAD (mmHg)	102,12 ± 2,12	98,66 ± 2,78	84,23 ± 1,48*#	89,16 ± 1,23*#
PAM (mmHg)	119,09 ± 1,86	119,08 ± 2,69	103,31 ± 1,04*#	107,00 ± 1,09*#
FC (bpm)	389 ± 20,10	348 ± 17,55	302 ± 13,20*#	306 ± 8,18*#

Dados representam média ± EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.15. Avaliação da sensibilidade barorreflexa

7.15.1 Resposta Taquicárdica

A sensibilidade do reflexo barorreceptor foi avaliada através de respostas bradicárdicas e taquicárdicas reflexas. Nas respostas taquicárdicas houve diminuição da sensibilidade nos grupos IOS, IOSF e IOFT quando comparado ao grupo IOT. Esse resultado demonstra que as associações do envelhecimento da ooforectomia e da sobrecarga de frutose promoveram redução da sensibilidade barorreflexa para as respostas taquicárdicas. Porém o grupo treinado tratado com frutose IOFT apresentou melhora deste reflexo regulador da pressão arterial quando comparado ao grupo IOSF (Tabela 31, Figura 67).

Figura 67. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas taquicárdicas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

7.15.2. Respostas Bradicárdicas

Já para as respostas bradicárdicas não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos IOS e IOSF, porém os grupos sedentários apresentaram diminuição do reflexo barorreceptor em relação aos grupos IOT e IOTF. O treinamento físico promoveu melhora na

sensibilidade barorreflexa para respostas bradicárdicas, não sendo observadas diferenças entre os grupos treinados IOT e IOTF (Figura 68, Tabela 31).

Figura 68. Sensibilidade dos pressorreceptores avaliada através de respostas bradicárdicas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

Tabela 31 – Sensibilidade dos Pressorreceptores dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
Resposta Bradicárdica (bpm/mmHg)	-0,93 ± 0,07	-1,21 ± 0,12	-1,74 ± 0,12*#	-1,77 ± 0,15*#
Resposta Taquicárdica (bpm/mmHg)	3,00 ± 0,31	2,10 ± 0,18	3,89 ± 0,17*#	2,97 ± 0,19#¥

Dados representam média ± EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

7.16. Avaliações do controle autonômico da frequência cardíaca pelo bloqueio farmacológico

7.16.1. Tônus vagal

Os resultados da avaliação do controle autonômico da frequência cardíaca são apresentados na tabela 32. Os grupos IOS, IOSF e IOFT apresentaram menor tônus vagal em

relação ao grupo IOT. O consumo de frutose induziu uma redução no TV nos animais tratados com frutose no grupo IOFT quando comparado ao seu par tratado com água IOT (Figura 69 e Tabela 32).

Figura 69. Tônus vagal (bpm) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

7.16.2. Tônus simpático

Já em relação ao tônus simpático (Figura 70) o tratamento com frutose promoveu aumento do tônus simpático no grupo IOSF em relação ao seu par treinado (IOTF). O mesmo comportamento foi observado entre o grupo IOS e IOT. Não foram observadas diferenças entre os grupos sedentários (IOS e IOSF), assim como entre os grupos treinados (IOT e IOTF), (Tabela 32).

Figura 70. Tônus Simpático (bpm) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.16.3. Efeito Vagal e Efeito Simpático

O grupo IOS apresentou menor efeito vagal em relação aos demais grupos IOSF, IOT e IOFT. O efeito vagal dos grupos treinados não apresentou diferenças estatísticas entre si. Não foram observadas diferenças no efeito simpático entre os grupos sedentários (IOS e IOSF), assim como entre os grupos treinados (IOT e IOFT). O treinamento físico foi eficaz em reduzir esses valores nos grupos treinados tratados com água ou frutose em relação aos seus pares sedentários (Figura 71, Tabela 32).

Figura 71. Efeito Vagal e Simpático (bpm) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.17. Frequência Cardíaca Intrínseca

Não foram observadas diferenças significativas na frequência cardíaca intrínseca entre os quatro grupos estudados (IOS, IOSF, IOT e IOTF) (Figura 72 e Tabela 32).

Figura 72. Frequência cardíaca intrínseca dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Tabela 32 – Tônus vagal e simpático, Efeito vagal e simpático e Frequência Cardíaca Intrínseca dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
Tônus Vagal (bpm)	17,14 ± 4,21	9,21 ± 2,82	44,76 ± 5,87*#	22,87 ± 3,38¥
Tônus Simpático (bpm)	102,60 ± 12,36	85,39 ± 3,75	62,21 ± 3,12*	51,18 ± 7,12*#
Efeito Vagal (bpm)	16,45 ± 2,84	60,94 ± 10,39*	63,04 ± 3,83*	47,59 ± 5,05*
Efeito Simpático (bpm)	83,69 ± 7,41	71,07 ± 8,87	39,24 ± 5,41*#	37,03 ± 6,54*#
FC Intrínseca (bpm)	311,39 ± 9,83	314,03 ± 8,09	322,58 ± 5,53	310,72 ± 9,83

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, ¥ p<0,05 vs. IOT.

7.18. Avaliações do controle autonômico da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência (análise espectral).

7.18.1. Domínio do Tempo

Pode-se observar na Figura 73, que o intervalo de pulso nos grupos IOS e IOSF foi menor em relação aos grupos treinados IOT e IOTF, mostrando a eficácia do treinamento físico aplicado. Não foram observadas diferenças entre os grupos sedentários (IOS e IOSF) ou grupos treinados (IOT e IOTF) entre si.

Tabela 33 - Variabilidade do intervalo de pulso dos grupos Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
IP (ms)	164,91 ± 7,15	170,35 ± 3,25	195,90 ± 5,54*#	182,67 ± 6,41*#
DP IP (ms)	4,67 ± 0,25	6,27 ± 0,42*	6,98 ± 0,58*	6,54 ± 0,72*
Variância (ms²)	23,15 ± 2,41	44,34 ± 6,00*	53,71 ± 8,07*	52,22 ± 9,81*
RMSSD (ms)	4,36 ± 0,35	4,50 ± 0,25	5,77 ± 0,54*#	4,41 ± 0,28¥
HF abs. (ms²)	6,07 ± 0,81	7,17 ± 0,80	11,77 ± 2,60*#	7,01 ± 0,66¥
LF abs. (ms²)	1,35 ± 0,29	3,24 ± 0,32*	3,50 ± 0,65*	2,57 ± 0,43*
HF un IP	81,87 ± 2,37	71,67 ± 2,33*	77,60 ± 2,65	76,63 ± 2,30
LF un IP	18,12 ± 2,37	28,32 ± 2,33*	22,39 ± 2,65	23,36 ± 2,30
HF (%) IP	39,10 ± 4,27	31,28 ± 2,43	35,91 ± 3,23	36,6 ± 4,95
LF (%) IP	9,19 ± 2,10	12,91 ± 1,74	10,51 ± 1,60	9,51 ± 1,19

Dados representam média ± EPM. * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, ¥ p<0,05 vs. IOT.

Figura 73. Intervalo de Pulso (IP) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

Já para o desvio padrão do IP podemos observar que os grupos IOT e IOTF apresentaram uma maior variância em relação ao grupo IOS, não sendo encontradas diferenças com o grupo IOSF. O mesmo comportamento foi observado para a variância total, entre estes grupos (Figura 74 e Tabela 33).

Figura 74. Desvio padrão do intervalo de pulso e variância dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os quatro grupos para o índice RMSSD (raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais sucessivos), um parâmetro que tem sido considerado um indicativo de atividade parassimpática (Figura 75).

Figura 75. RMSSD (ms) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

7.18.2. Domínio da Frequência

Quando se analisou o índice LF% obtido por análise espectral, observou-se um aumento da modulação simpática no grupo IOSF em relação aos grupos IOS e IOTF, mostrando que o consumo de frutose induziu significativo aumento na banda LF (modulação simpática) do intervalo de pulso neste grupo. O efeito associativo da frutose com o treinamento físico mostrou-se capaz de impedir o aumento da modulação simpática para o coração (Figura 76).

Figura 76. Banda de baixa frequência do IP (LF%) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS.

Não foi observada diferença, quando se analisou o índice HF (um), representativa de modulação parassimpática cardíaca entre os quatro grupos (IOS, IOSF, IOT e IOTF) (Figura 77).

Figura 77. Banda de alta frequência do IP (HF) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

O grupo frutose IOSF apresentou um maior balanço Simpáto Vagal em relação ao grupo IOS ao final do protocolo, não observamos diferenças com os dois grupos treinados nesta variável (Figura 78).

Figura 78. Balanço simpáto vagal dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS.

7.18.3. Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica

A variabilidade da pressão arterial sistólica é apresentada na Tabela 36. Foi observado diminuição do DP da pressão arterial sistólica (PAS) no grupo IOT em relação ao IOS e IOSF. O grupo IOTF apresentou menor DP PAS em relação ao grupo IOSF, porém o TF não foi capaz de normalizar esse parâmetro já que seus valores estavam aumentados em relação ao grupo IOT (Figura 79 e Tabela 34).

Tabela 34 - Variabilidade da pressão arterial dos grupos Jovem Controle Sedentária (JCS), Jovem Ooforectomizada Sedentária (JOS), Idosa Controle Sedentária (ICS), Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS) ao final do protocolo.

	IOS	IOSF	IOT	IOTF
DP PAS (mmHg)	4,33 ± 0,14	4,95 ± 0,13*	3,65 ± 0,21*#	4,46 ± 0,21#¥
VARR PAS (mmHg²)	19,14 ± 1,33	25,03 ± 1,33*	14,04 ± 1,73*#	20,72 ± 2,12#
LF PAS (mmHg²)	6,03 ± 0,95	7,07 ± 0,49	3,33 ± 0,50*#	4,60 ± 0,65#

Dados representam média ± EPM. *p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, † p<0,05 vs. IOTF.

Figura 79. DP da Variância da PAS dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, ¥ p<0,05 vs. IOT.

O grupo IOSF apresentou um aumento da VPAS em relação ao grupo IOS. O grupo IOT apresentou diminuição da VPAS em relação aos dois grupos sedentários (IOS e IOSF), já o grupo IOSF apresentou diferença apenas com seu par sedentário (IOSF) (Figura 80 e Tabela 34).

Figura 80. Variância da PAS dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

O treinamento com ou sem consumo de frutose induziram uma redução significativa na banda LF da pressão arterial sistólica nas ratas do grupo IOT e IOTF quando comparadas as ratas dos grupos IOS e IOSF, mostrando que o treinamento físico foi eficaz em reduzir essa variável (Figura 81 e Tabela 34).

Figura 81. Banda de baixa frequência da PAS (LF) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.19. Reatividade Vascular

7.19.1. Resposta à acetilcolina (ACh)

A ACh foi capaz de induzir o relaxamento do vaso dependente da concentração em anéis isolados de artéria mesentérica com endotélio intacto nos grupos IOS e IOFT em relação ao grupo IOSF (Figura 82 e Tabela 35).

Figura 82: Curvas concentração-resposta para acetilcolina (ACh: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas com endotélio funcional e pré-contraídas com noradrenalina (10^{-5} M) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). Dados representam médias $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.19.2. Resposta ao Nitroprussiato de Sódio (NPS)

A resposta de relaxamento independente do endotélio avaliada através de doses crescentes de NPS em artérias mesentéricas previamente contraídas com acetilcolina, apresentaram uma magnitude de resposta de relaxamento similar entre os 3 grupos estudados (Figura 83).

Figura 83. Curvas concentração-resposta para Nitroprussiato de Sódio (NPS: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas e pré-contraídas com noradrenalina (10^{-5} M) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

7.19.3. Resposta à Noradrenalina

A resposta vasoconstritora avaliada através de doses crescentes de Noradrenalina em artérias mesentéricas aumentou de maneira concentração-dependente, o tônus basal dos anéis das artérias de resistência dos grupos IOS e IOFT. Os grupos IOSF apresentou redução na magnitude à contração induzida por noradrenalina em relação aos demais grupos (Figura 84).

Figura 84. Curvas concentração-resposta para noradrenalina (NORA: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). Dados representam médias $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.19.4. Resposta à Fenilefrina

A administração de fenilefrina aumentou de maneira concentração-dependente o tônus basal dos anéis de artérias mesentéricas isoladas dos animais dos grupos IOS e IOFT, não havendo diferença quanto à resposta máxima à fenilefrina entre estes dois grupos. O grupo IOSF apresentou redução na magnitude à contração induzida por fenilefrina em relação aos demais grupos (Figura 85).

Figura 85: Curvas concentração-resposta para fenilefrina (FE: 10^{-9} – 10^{-5} M) em anéis isolados de artérias mesentéricas dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). Dados representam médias $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOSF.

Tabela 35 – Reatividade Vascular dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

% Contração	IOS	IOSF	IOTF
Acetilcolina	69,19 $\pm$ 4,7 *	34,57 $\pm$ 7,8	64,67 $\pm$ 7,0 *
Nitroprussiato de Sódio	46,25 $\pm$ 4,2	36,61 $\pm$ 10,8	56,74 $\pm$ 3,6
Noradrenalina	203,78 $\pm$ 8,53*	30,22 $\pm$ 4,74	211,12 $\pm$ 11,35*
Fenilefrina	80,95 $\pm$ 8,5 *	36,00 $\pm$ 4.74	67,64 $\pm$ 11,35 *

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOSF.

7.20. Perfil Inflamatório

Interleucinas

(IL-1 α) e (IL-1 β)

O grupo IOTF apresentou aumento da IL 1A em relação aos grupos IOSF e IOT. Quanto a IL1B, observamos um aumento significativa no grupo IOSF em relação aos demais grupos IOS, IOT e IOTF (Figura 86 e Tabela 36).

Figura 86. Interleucinas: IL1A e 1B dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

IL-6

A partir da Figura 87 é possível verificar que o treinamento físico sem consumo de frutose induziu diminuição da IL6 no grupo IOT em relação ao grupo IOTF.

Figura 87. Interleucina 6 (IL-6) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

IL-10

O grupo submetido ao treinamento físico sem consumo de frutose (IOT) apresentou diminuição significativa na produção de IL-10 no plasma, quando comparado aos grupos IOS e IOTF. Adicionalmente, os animais do grupo IOTF apresentaram um aumento na IL-10 em relação ao seu par sedentário IOSF (Figura 88).

Figura 88. Interleucina 10 (IL-10) dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

TNF – alfa

O grupo IOTF apresentou aumento do TNF alfa no plasma sanguíneo em relação aos demais grupos estudados ao final do estudo (Figura 89). Já o grupo IOT apresentou diminuição de TNF alfa em relação aos demais grupos.

Figura 89. TNF alfa dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF). * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

Tabela 36 - Perfil Inflamatório dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF) ao final do protocolo.

Citocinas	IOS	IOSF	IOT	IOTF
IL-1a (pg/ml)	64,97 ± 3,56	60,31 ± 2,05	57.09 ± 1,66	71,16 ± 2,54#¥
IL-1b (pg/ml)	52,20 ± 3,82	69,33 ± 6,05*	38,38 ± 4,31#	53,72 ± 3,29#
IL-6 (pg/ml)	253,34± 7,01	239,37 ± 8,59	214,80 ± 9,59	267,77 ± 11,24¥
IL-10 (pg/ml)	8,84 ± 0,46	9,46± 0,65	7,94 ± 0,37*	13,98 ± 0,59*#¥
TNFa (pg/ml)	63,12 ± 2,36	61,16± 0,97	51,99 ± 1,99*#	71,03 ± 3,75*#¥

Dados representam média ± EPM. *p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, ¥ p<0,05 vs. IOT.

7.21. Estresse Oxidativo

Foi demonstrado na avaliação da lipoperoxidação no fígado, pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que o grupo idoso ooforectomizada treinada (IOT) apresentou redução desse parâmetro em relação ao grupo idosa ooforectomizada sedentária (IOS). Analisando a dosagem de proteínas carboniladas no tecido hepático o grupo de ratas idosas ooforectomizadas tratadas com frutose e submetidas ao treinamento físico (IOTF) apresentou redução desse parâmetro quando comparadas com o mesmo grupo sem treinamento físico (IOSF) (Tabela 37).

Tabela 37. Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido hepático dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Tecido Hepático	IOS	IOSF	IOT	IOTF
TBARS ($\mu\text{mol/mg}$ proteína)	1,73 $\pm$ 0,43	1,32 $\pm$ 0,15	0,53 $\pm$ 0,09*	1,21 $\pm$ 0,19
Carbonilas (cps/mg proteína)	6,99 $\pm$ 1,08	7,89 $\pm$ 1,00	5,05 $\pm$ 0,45#	4,71 $\pm$ 0,48#

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

A atividade da catalase (CAT) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido hepático, não foram estatisticamente diferentes entre os grupos estudados. Todavia, a atividade da superóxido dismutase (SOD) mostrou-se aumentada no grupo treinado frutose (IOTF) em relação ao seu par sedentário (IOSF) (Tabela 38).

Tabela 38. Atividade da catalase (CAT), da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido hepático dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Tecido Hepático	IOS	IOSF	IOT	IOTF
CAT (nmol/mg proteína)	3,42 $\pm$ 0,26	3,73 $\pm$ 0,34	3,77 $\pm$ 0,55	3,91 $\pm$ 0,43
SOD (USOD/mg proteína)	25,54 $\pm$ 1,78	19,88 $\pm$ 0,88	24,98 $\pm$ 1,38	28,53 $\pm$ 2,88#
GPx ($\mu\text{mol/min/mg}$ proteína)	0,202 $\pm$ 0,014	0,21 $\pm$ 0,013	0,239 $\pm$ 0,013	0,201 $\pm$ 0,025

Dados representam média $\pm$ EPM. # $p < 0,05$ vs. IOSF.

Não foram observadas diferenças nas proteínas carboniladas no tecido cardíaco entre os quatro grupos do estudo (IOS, IOSF, IOT e IOTF). Em relação às substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), somente o grupo de ratas ooforectomizadas tratadas com frutose e submetidas ao TF (IOTF) apresentou diminuição desse parâmetro quando comparado ao grupo idosa ooforectomizada sedentária (IOS) (Tabela 39).

Tabela 39. Carbonilas e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no tecido cardíaco dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Tecido Cardíaco	IOS	IOSF	IOT	IOTF
TBARS ($\mu\text{mol/mg}$ proteína)	$1,37 \pm 0,19$	$1,08 \pm 0,07$	$1,02 \pm 0,12$	$0,78 \pm 0,08^*$
Carbonilas (cps/mg proteína)	$8,43 \pm 0,50$	$9,27 \pm 0,78$	$8,69 \pm 1,25$	$9,47 \pm 0,66$

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS.

Foi realizada a avaliação das enzimas antioxidantes também no tecido cardíaco, havendo redução da CAT nos grupos treinados e sedentários que foram submetidos ao tratamento com frutose em relação ao grupo IOS e IOT, além de um aumento adicional no grupo IOT em relação ao grupo IOS após TF. Foi observado um aumento da SOD no grupo que realizou o treinamento físico sem frutose (IOT) em relação aos demais grupos estudados (IOS, IOSF e IOTF) (Tabela 40).

Os grupos frutose demonstraram diminuição da atividade da glutathione peroxidase (GPx) quando comparados ao grupo IOS (Tabela 40).

Tabela 40. Atividade da catalase (CAT), da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx) no tecido cardíaco dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Tecido Cardíaco	IOS	IOSF	IOT	IOTF
CAT (nmol/mg proteína)	$1,42 \pm 0,14$	$0,91 \pm 0,06^*$	$1,73 \pm 0,07^{*}\#$	$1,09 \pm 0,06^{*}\text{¥}$
SOD (USOD/mg proteína)	$23,48 \pm 0,92$	$23,09 \pm 0,99$	$30,09 \pm 2,57^{*}\#$	$24,83 \pm 1,45\text{¥}$
GPx ($\mu\text{mol/min/mg}$ proteína)	$0,075 \pm 0,005$	$0,052 \pm 0,004^*$	$0,068 \pm 0,005\#$	$0,055 \pm 0,006^*$

Dados representam média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ vs. IOS, # $p < 0,05$ vs. IOSF, ¥ $p < 0,05$ vs. IOT.

Não foi observado diferença na quantidade de glutathione oxidada entre os grupos ao final do protocolo. Porém houve diminuição da glutathione reduzida (GSH) devido a

ooforectomia no grupo jovem ooforectomizada sedentária (IOS) em comparação aos grupos controles tanto de ratas jovens quanto idosas (JCS e ICS) (Tabela 41).

A razão entre glutathiona reduzida e glutathiona oxidada apresentou-se diminuída nos grupos sedentários (IOS e IOSF) em relação aos grupos treinados (IOT e IOTF). O grupo de ratas idosas ooforectomizadas com sobrecarga de frutose (IOSF) apresentou uma diminuição adicional em comparação ao grupo controle (IOS) (Tabela 41).

Tabela 41. Glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG) e razão da glutathiona reduzida sobre a glutathiona oxidada (GSH/GSSG) em tecido cardíaco dos grupos: Idosa Ooforectomizada Sedentária (IOS), Idosa Ooforectomizada Sedentária Frutose (IOSF), Idosa Ooforectomizada Treinada (IOT) e Idosa Ooforectomizada Treinada Frutose (IOTF).

Tecido Cardíaco	IOS	IOSF	IOT	IOTF
GSSG (μmol/g tecido)	0,023 ± 0,003	0,029 ± 0,002*	0,017 ± 0,001*#	0,021 ± 0,001*#
GSH (μmol/g tecido)	0,087 ± 0,01	0,077 ± 0,006	0,094 ± 0,001#	0,108 ± 0,008#
GSH/GSSG	4,08 ± 0,56	2,67 ± 0,15*	5,41 ± 0,40*#	5,33 ± 0,24*#

Dados representam médias ± EPM.* p<0,05 vs. IOS, # p<0,05 vs. IOSF, ¥ p<0,05 vs. IOT.

7.22. Estudos de correlação

Foram observadas correlações positivas do tecido adiposo com os níveis de IL1B plasmáticos (r=0,55, p<0,05) e com o efeito simpático (r=0,65, p<0,05) e correlações inversas com a sensibilidade à insulina (Kitt, r=-0,6, p<0,05), com a sensibilidade barorreflexa (resposta taquicárdica, r=-0,65, p<0,05) e com o tônus vagal (r=-0,72, p<0,05).

A sensibilidade barorreflexa (resposta taquicárdica) foi também inversamente correlacionada com o IL1b (r=-0,65, p<0,05) e com a VAR PAS (r=-0,7, p<0,05), e positivamente correlacionada com o tônus vagal (r=0,65, p<0,05). O tônus simpático cardíaco foi correlacionado com o LF da PAS (r=0,6, P<0,05). O tônus vagal foi inversamente correlacionado com os níveis de IL1B (r=-0,6, p<0,05) e com a LF da PAS (r=-0,7, p<0,05) e

positivamente correlacionado com a razão GSH/GSSG ($r=0,65$, $p<0,05$) e com o VEC ($r=0,65$, $p<0,05$).

Adicionalmente, o VEC foi correlacionado de forma inversa com o LF-PAS ($r=-0,60$, $p<0,05$) e foi diretamente correlacionado com a razão GSH/GSSG ($r=0,80$, $P<0,05$). Os níveis de IL-6 foram correlacionados com o IDM ($r=0,60$, $p<0,05$).

Por fim, a melhora no tempo do teste de esforço foi correlacionada com menores valores de modulação simpática vascular ($r=-0,75$, $p<0,05$) e TRIV ($r=-0,6$, $p<0,05$) e com maiores valores de tônus vagal ($r=0,7$, $P<0,05$), de sensibilidade barorreflexa (resposta taquicárdica, $r=0,7$, $p<0,05$) e de VEC ($r=0,7$, $p<0,05$).

8. DISCUSSÃO

Protocolo 01

A DCV é a principal causa de morte entre as mulheres nos países desenvolvidos, causando mais de 400 mil mortes por ano. A média das taxas anuais dos primeiros eventos cardiovasculares aumentam de 3 (35 a 44 anos de vida) para 74 em 1000 (85 a 94 anos de vida) em homens, enquanto entre as mulheres taxas comparáveis ocorrem 10 anos mais tarde no decorrer da vida. De fato, sabe-se que após a menopausa a mortalidade por DCV aumenta muito na mulher, podendo superar àquela encontrada em homens da mesma idade. Adicionalmente, o risco de DCV é mais do que dobrado entre as mulheres que se submetem a ooforectomia bilateral em comparação com as mulheres na pré-menopausa (ROGER et al., 2011). Neste sentido, nossos resultados são consistentes com nossa hipótese de que a privação precoce dos hormônios ovarianos e / ou envelhecimento pode levar à ativação simpática, que interagindo com a inflamação e estresse oxidativo, levam à disfunção cardíaca, perda da capacidade física e consequentemente maior risco cardiovascular.

8.1. Avaliação do Peso Corporal e Parâmetros Metabólicos

A interação entre os hormônios sexuais e o ganho de peso ponderal vem sendo avaliada constantemente (FERREIRA; FOLEY; BROWN, 2012; FISHER et al., 2000; TEZINI et al., 2013). No presente trabalho, o grupo de ratas jovens ooforectomizadas (JOS) apresentou maior ganho de peso corporal quando comparadas às ratas jovens controle (JCS). O ganho ponderal pós-ooforectomia pode estar relacionado com a supressão dos hormônios, tendo em vista que o estrogênio aumenta o consumo energético e, como consequência, diminui o peso corporal (SHIMOMURA et al., 2002). Hiperfagia também vem sendo evidenciada como uma das razões para este aumento de peso (SHARP et al., 2000; SHINODA; LATOUR; LAVOIE, 2002). Dado semelhante foi observado no presente estudo

já que o grupo JOS apresentou um maior consumo energético quando comparado aos demais grupos do estudo. Interessantemente um estudo longitudinal de Ferreira et al. (2012) aponta que este comportamento pode variar após 16 semanas de acompanhamento, quando estes animais começam a apresentar uma menor ingestão calórica em relação às semanas anteriores. Isto poderia explicar o fato de que os grupos velhos (ICS e IOS) não apresentaram aumento de peso corporal no período do estudo (22 até 24 meses de vida).

Dois mecanismos parecem estar associados com o restabelecimento do balanço de energia: um aumento na circulação dos níveis de leptina (MAYES; WATSON, 2004; SHIMOMURA et al., 2002) ou um aumento nos níveis de estrogênio especificamente produzido pelo tecido adiposo (WIERMAN; KOHRT, 2007), que também poderia influenciar nos níveis de leptina. O aumento da massa no grupo JOS poderia ser a consequência de um efeito estrogênico sobre o hipotálamo, afetando tanto a ingestão de alimentos como a atividade voluntária, que por sua vez terão um impacto na massa corporal (ECKEL; GEARY, 2001).

Apesar dessas informações existem evidências na literatura de que a distribuição da gordura no corpo pode ser mais importante do que o aumento de peso (DAVIS et al., 2012; HALPERN, A., 1998) deixando de ser só um local de armazenamento de gordura, mas também desempenhando uma atividade funcional, no caso como uma fonte de leptina, adipocitocinas e outras moléculas de sinalização lipídicas, tais como ceramidas ou diglicéridos (WRONSKA et al., 2015). Recentemente pesquisadores começaram a estudar as adiponectinas, hormônio este secretado pelos adipócitos, que em condições de hipoadiponectinemia, se relaciona com a resistência a insulina, e que quando modificados em seus genes, predispõe a doenças como a síndrome metabólica, resistência à insulina, diabetes, obesidade e doenças arteriais coronarianas (SOUZA et al., 2004). Portanto, apesar dos grupos velhos permanecerem durante o protocolo sem alteração de peso corporal, foi observado

aumento do tecido adiposo (ICS e IOS), que pode predispor às diversas alterações metabólicas e cardiovasculares citadas anteriormente. Este comportamento foi também observado no grupo JOS.

Tomados em conjunto, alguns dados disponíveis a partir de modelos animais indicam que a depleção de estrogênio favorece o aumento de gordura abdominal central que pode ser amenizado pela terapia com estrogênio em modelos experimentais (BROWN et al., 2010).

Neste sentido, a prevalência de obesidade abdominal é quase o dobro da obesidade generalizada, com taxas nos EUA em 2008, de 65,5% em mulheres com idade entre 40-59 anos e 73,8% em mulheres com 60 anos ou mais (FLEGAL et al., 2010). Em mulheres na pós-menopausa, as concentrações de leptina e adiponectina são substancialmente correlacionadas com hormônios sexuais independentemente do estado de obesidade (KARIM et al., 2015). Portanto, o aumento do tecido adiposo branco, bem como da atividade simpática, já que os adipócitos são capazes de produzir angiotensinogênio, provavelmente podem contribuir para um aumento da PA e a obesidade central, que são fundamentais para o controle metabólico e cardiovascular (LANDSBERG et al., 2013). Além disso, no presente estudo observou-se uma correlação entre tecido adiposo branco e aumento de IL-6 no plasma, demonstrando a interação metabólica e do sistema imune promovendo alterações deletérias associadas com o advento da menopausa. Adicionalmente, evidenciamos correlação entre o aumento do tecido adiposo e o aumento do efeito simpático cardíaco.

Durante o protocolo, a glicemia permaneceu dentro da faixa de normalidade em todos os grupos, mostrando que a presença do envelhecimento ou privação dos hormônios ovarianos não interferiu neste marcador metabólico. Entretanto, em relação à resistência à insulina, o grupo JOS, apresentou redução numérica do KITT, mas não estatística, enquanto os grupos ICS e IOS apresentaram aumento da resistência à insulina em relação ao grupo controle (JCS), o que poderia ser correlacionado com baixos níveis de adiponectina

(GULCELIK et al., 2013). A resistência à insulina é uma condição fisiopatológica associada ao envelhecimento. Entretanto, o mecanismo molecular envolvido nesta situação de resistência ainda não está totalmente elucidado. Estudos de Saad et al. (1992) estudaram como é realizada a regulação das proteínas envolvidas nas etapas iniciais da ação insulínica em fígado e músculo de ratos com diferentes idades, 2, 5, 12 e 20 meses. Não houve mudanças na concentração do receptor de insulina, em ratos com 2 e 20 meses de idade. Entretanto, o grau de fosforilação estava diminuindo em fígado, nos ratos com 20 meses. Curiosamente, os níveis proteicos teciduais de IRS-1 diminuíram precocemente (5 meses) e permaneceram em níveis reduzidos, em músculo. Nas amostras de animais com 2 e 20 meses, previamente imuno precipitadas com anticorpos anti-IRS-1 e anti-IRS-2 e incubadas com anticorpo anti-fosfotirosina, houve redução do grau de fosforilação em músculo e tecido hepático. A associação IRS-1/PI 3-quinase diminuiu significativamente em fígado e músculo de ratos velhos. Esses dados apontam para a ideia de que o processo de envelhecimento per se já é capaz de aumentar a resistência à insulina devido a alterações de sinalização que parecem iniciar precocemente (5 meses de vida) em animais de experimentação (PAULI et al., 2010). A resistência à insulina também tem sido correlacionada com os estoques de triglicerídeos celular, os quais estão envolvidos em lipotoxicidade e falha das células beta, levando ao diabetes (ZIEGLER et al., 2001). De fato, No presente estudo observamos correlação entre o aumento do tecido adiposo e a resistência à insulina.

Ainda em parâmetros metabólicos, apenas triglicérides estavam aumentadas nos grupos velhos (JCS e IOS) em relação aos grupos jovens (JCS e JOS), enquanto o colesterol total foi semelhante entre todos os grupos. Este achado pode estar associado com o fato de que com o declínio gradual do estrogênio no período climatério existe uma redução da atividade do receptor de LDL (KULLER et al., 1994).

Dessa forma, de acordo com os achados da literatura, demonstramos que a ooforectomia em ratas jovens induziu aumento adicional de peso corporal e de tecido adiposo em relação ao grupo controle jovem, além de uma tendência a resistência à insulina, e que o processo de envelhecimento em ratas controle ou ooforectomizadas induziu aumento de tecido adiposo, triglicerídeos sanguíneos e resistência à insulina, alterações essas comuns na síndrome metabólica.

8.2 Avaliação do Perfil Hemodinâmico e do Controle Autonômico Cardiovascular

No presente estudo, foi observado o aumento da atividade simpática para o coração nos grupos JOS, ICS e IOS em relação ao grupo controle jovem, indicando que este poderia ser um dos mecanismos do comprometimento da função diastólica em ratos velhos. Neste sentido estudos têm demonstrado que as concentrações de noradrenalina plasmática basal são elevadas em populações idosas (ESLER et al., 1995; RUBIN et al., 1982).

A redução da atividade parassimpática apenas observada em animais idosos pode dar apoio para a função cardíaca piorada nestes animais. Stratton et al (2003), estudaram os efeitos cardiovasculares do bloqueio parassimpático demonstrado por pequenos aumentos na frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e ritmo de enchimento diastólico precoce em pessoas mais velhas em relação às mais novas (FLEG; KENNEDY, 1982). Depressão da arritmia sinusal respiratória com a idade também sugere uma diminuição da influência parassimpática no nodo sinusal, assim como a disfunção na atividade da porção neural (aferente central ou eferente) do sistema vagal e de receptores muscarínicos cardíacos que

podem estar envolvido nas mudanças parassimpáticas associadas ao envelhecimento (IRIGOYEN et al., 2000; KUO et al., 1999).

Como observado também em praticas clínicas, essas alterações autonômicas foram acompanhadas por mudanças na linha de base FC, no qual os grupos ICS e IOS apresentaram aumento desta variável em relação aos grupos JCS e JOS, possivelmente causada pelas disfunções observadas no equilíbrio autonômico cardíaco (TEZINI et al., 2013). Adicionalmente, os grupos velhos (ICS e IOS) apresentaram uma redução da frequência cardíaca intrínseca (FCI) que pode ser explicada devido a mudanças relacionadas à idade no nodo sinusal (JOYNER, 2008; RUBIO-RUIZ et al., 2014). Em relação à PAS, PAD e PAM, foi observado um aumento nos grupos JOS e IOS em comparação com os seus controles intactos (JCS e ICS). É possível que o estado inflamatório aumentado assim como o estresse oxidativo observado nestas ratas ooforectomizadas, possam estar associados com uma redução de óxido nítrico e, em consequência, com aumentos da PA (RUBIO-RUIZ et al., 2014). Vale resaltar que apesar do grupo ICS não apresentar aumento de PA eles apresentaram disfunção autonômica, indicando que a atividade nervosa simpática muscular possa estar alterada para algum território conforme visto em homens e mulheres idosos normotensos. Além disso, o controle do sistema imune pelo sistema nervoso pode ser um mecanismo ativo para regular a ativação de um sistema após a integração de sinais vindos de outros circuitos neurais, como descritos por Tracey et al. (2002) como a via colinérgica anti-

inflamatória que, através do nervo vago, podem modular a libertação excessiva de TNF-alfa e de outros marcadores inflamatórios em presença de diferentes estímulos.

Adicionado a estes fatores, a entrada de mulheres no período do climatério promove piora hemodinâmica (SOUZA et al 2007; IRIGOYEN et al., 2005), que por si só aumenta o risco do aparecimento de doenças cardiovasculares, que podem estar acompanhadas por mudanças autonômicas que geralmente incluem a diminuição da atividade parassimpática e / ou aumento da atividade simpática e mudanças associadas nos marcadores inflamatórios, função cardíaca e estresse oxidativo, partindo da ideia que os sistemas fisiológicos são reflexamente regulados pelo sistema nervoso autônomo. Na verdade, os reflexos mantêm a homeostase em diferentes sistemas, como observado com o barorreflexo, que controla a pressão arterial momento a momento.

De fato, o envelhecimento, per se, induz mudanças no controle barorreflexo da frequência cardíaca. O declínio da sensibilidade do barorreflexo foi demonstrado em animais experimentais e seres humanos mais velhos (IRIGOYEN et al., 2000). No presente estudo o envelhecimento e a privação dos hormônios ovarianos, reduziram a resposta taquicárdica induzida por nitroprussiato de sódio nos grupos JOS, ICS e IOS em relação ao grupo controle, enquanto a resposta bradicárdica induzida por fenilefrina estava prejudicada apenas no grupo IOS em comparação aos demais grupos estudados. Dessa forma, podemos dizer que a redução da bradicardia estaria associada ao envelhecimento enquanto a redução da taquicárdica esta associada a privação dos hormônios e envelhecimento presente tanto nos grupos

ooforectomizados quanto envelhecidos. Comprometimentos na sensibilidade barorreflexa relacionadas à idade tem sido associados com alterações na complacência arterial, alterações da integração autonômica central, redução do fluxo vagal e diminuição da densidade do receptor muscarínico do nodo sinusal (BRODDE et al., 1998; ITOH; BUNAG, 1992).

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) vem sendo estudada há vários anos, sendo cada vez maior o interesse pela compreensão de sua utilidade clínica em doenças. De forma geral, a VFC descreve as oscilações dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalos R-R), que estão relacionadas às influências do SNA sobre o nódulo sinusal, sendo uma medida não invasiva, que pode ser utilizada para identificar fenômenos relacionados ao SNA em indivíduos saudáveis, atletas e portadores de doenças (PUMPRLA et al., 2002). Desta forma, podemos observar que os grupos ICS e IOS apresentaram diminuição do DP IP, assim como da variância total em relação aos grupos jovens (JCS e JOS) apontando uma variabilidade no domínio do tempo diminuída. Esses dados estão de acordo com a literatura apontando que o processo de envelhecimento está associado com uma redução da variabilidade da FC, ligado a um declínio relativo da regulação da modulação autonômica parassimpática e simpática (COLOSIMO et al., 1997; PFEIFER et al., 1983) encontrado com o passar da vida. Quando avaliamos a variabilidade da FC no domínio da frequência observamos um aumento da modulação simpática no grupo JOS em relação aos demais grupos estudados. Portanto, apesar dos grupos ICS e IOS apresentarem aumento de tônus simpático obtido após bloqueio farmacológico isto não se aplicou na modulação simpática sobre a frequência cardíaca, que estava diminuída nos grupos ICS e IOS em relação aos grupos JCS e JOS, apontando para a perda de capacidade de modular a FC nestes animais. Portanto, apesar do tônus simpático estar aumentado nos grupos ICS e IOS o fato de haver diminuição da FCI pode em parte responder por que se encontrou menor modulação simpática

nestes animais. Essa idéia se reforça quando identificamos que o grupo JOS apresentou aumento tanto de atividade quanto da modulação e não apresentou menor FCI. Estes dados em conjunto sugerem que pode haver aumento da influência simpática na variabilidade da FC com o aumento da idade.

A idade vem sendo associada com aumento de PA, bem como uma diminuição na complacência arterial e de distensibilidade do sistema arterial, especialmente no mundo ocidental (SALADINI et al., 2014). Dentre esses achados, a complacência arterial tem sido vista como um poderoso determinante de risco cardiovascular (BLACHER et al., 1999). Entre os possíveis mecanismos envolvidos nessas alterações, a hiperatividade do sistema nervoso simpático parece contribuir de forma consistente da mesma forma que tem sido associada como aumento da variabilidade PAS observado no envelhecimento (YOUNG et al., 2006). No presente estudo observamos que os grupos com privação dos hormônios ovarianos JOS e IOS apresentaram um aumento do LF da PAS representativo da modulação simpática em relação aos grupos controles JCS e ICS. Esse achado sugere que a ooforectomia contribuiu isoladamente para o aumento da modulação simpática.

8.3 Inflamação

A origem da ativação imune após o envelhecimento tem sido objeto de vários estudos de investigação, embora não se tenha até o momento uma resposta definitiva a essa questão. Processos inflamatórios, combinados com a liberação de citocinas são passos importantes na resposta à lesão tecidual e podem desempenhar um papel ativo na função cardíaca. Assim, nossos dados demonstram que os grupos ICS e IOS apresentaram aumento nos níveis de IL-6 e TNF- alfa quando comparados com os grupos JCS e JOS. De acordo com a ideia de que a via anti-inflamatória colinérgica via nervo vago, pode estar associada à modulação de

citoconas, a atividade parassimpática diminuída conforme visto nos grupos idosos poderia em partes explicar esse aumento inflamatório observado nos grupos ICS e IOS. (ANDERSON et al., 2010; BOROVIKOVA et al., 2000) Neste sentido nossas correlações entre a IL-6 e tonus vagal ($r = -0,7$) e tonus simpático ($r = 0,65$) podem reforçar esta hipótese. Da mesma forma que os reflexos mantêm a homeostase em diferentes sistemas, como observado pelo baroreflexo no controle da circulação, há um arco reflexo inflamatório que modula a resposta imune em resposta a sinais aferentes neuronais induzidos por produtos moleculares de lesão, infecção e inflamação (TRACEY, 2002).

Nossos resultados demonstraram que o envelhecimento potencializou os efeitos cardíacos e funcionais deletérios da privação dos hormônios ovarianos em ratos e que esta potencialização está provavelmente associados à disfunção autonômica exacerbada, inflamação e estresse oxidativo encontradas nesses grupos. Neste sentido, a prevenção e/ou atenuação da disfunção autonômica desencadeada pelo processo de envelhecimento pode resultar numa redução do perfil pró-inflamatória e do estresse oxidativo, bem como preservar a função cardíaca, possivelmente contribuindo para melhorar a qualidade e a expectativa de vida desta população.

8.4 Estresse Oxidativo

Atualmente, confere-se as EROS a participação em diversos processos patológicos e também nas alterações verificadas durante o envelhecimento. As EROS são produzidas naturalmente em nosso organismo através dos processos metabólicos oxidativos e, muitas

vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico, na desintoxicação de drogas, e nos processos que desencadeiam o relaxamento dos vasos sanguíneos em resposta a atividade do óxido nítrico, que é um radical livre (HALLIWELL, 1992). A produção de radicais livres e de outras substâncias altamente reativas em decorrência do metabolismo do oxigênio é contrabalanceado por muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis e impedir a indução de danos celulares (HALLIWELL, 2007).

No presente estudo, observamos prejuízo em parâmetros de estresse oxidativo nos grupos JOS, ICS e IOS. A privação dos hormônios ovarianos induziu aumento da lipoperoxidação de membranas, avaliado pelo TBARS, no tecido cardíaco dos grupos JOS e IOS em relação ao grupo controle jovem (JCS). Esses dados corroboram com os dados de Barp (2002) no qual ratas castradas tiveram aumento lipoperoxidação em tecido cardíaco. Nesta mesma linha um estudo realizado por Hernández (2000), observou que a falta de estrogênio induziu o aumento de estresse oxidativo e baixa disponibilidade de óxido nítrico. De forma semelhante, em mulheres na pós-menopausa foi verificado aumento da lipoperoxidação mesmo com aumento dos níveis de estrogênio (AKCAY et al., 2000). De fato, um estudo prévio do nosso grupo demonstrou uma correlação positiva entre a PA e a peroxidação lipídica, o que reforça o papel do estresse oxidativo nas flutuações de PA durante a privação hormonal (IRIGOYEN et al., 2005).

As proteínas carboniladas no tecido hepático e cardíaco estavam aumentadas no grupo IOS quando comparado ao grupo controle (JCS). Este aumento, supostamente, pode estar relacionado ao aumento de dano à proteína causada pelo envelhecimento associado pela privação dos hormônios ovarianos.

A catalase está aumentada no tecido hepático dos grupos velhos (ICS e IOS) quando comparado aos grupos jovens (JCS e JOS). Porém, esse aumento difere de achados em outros

modelos experimentais em tecido cardíaco (IRIGOYEN et al., 2005). Uma hipótese para justificar essa diferença pode ser a condição de associação de fatores de risco, ou seja, ooforectomia associada ao envelhecimento, com produção excessiva de peróxido de hidrogênio, podendo induzir aumento da concentração desta enzima.

A GPx, pode ser considerada uma das principais enzimas que fazem parte das defesas antioxidantes primárias (MILLS, B. D., 1957; MILLS, G. C., 1960). Dessa forma, pode-se pontuar que a família das glutathionas peroxidases (GPx) é capaz de remover o peróxido de hidrogênio, acoplando sua redução à água com a oxidação da glutathiona reduzida (GSH). A privação dos hormônios ovarianos promoveu um aumento na atividade GPx no tecido cardíaco nos grupos JOS e IOS quando comparado com os grupos JCS e ICS. Essas mudanças podem ser explicadas como um mecanismo compensatório já que não observamos diferenças da atividade da CAT para o mesmo tecido, e ambas as enzimas competem pelo mesmo substrato (peróxido de hidrogênio).

É importante ressaltar que a razão GSH/GSSG foi diminuída nos grupos JOS, ICS e IOS, quando comparados ao grupo controle (JCS). Além disso, JOS e IOS apresentaram uma adicional diminuição na GSH/GSSG em comparação com o grupo ICS. Estes resultados indicam que o envelhecimento e/ou a privação dos hormônios ovarianos pode estar associada com problemas no equilíbrio redox. Nesse aspecto, nossos dados através de correlações reforçam a ideia de que a remodelação cardíaca está associada com aumento do estresse oxidativo (ROSA et al., 2013) e inflamação (correlações entre TNF-alfa com GSH / GSSG, $r = -0,6$; IPM com IL-6 e TNF - alfa, $r = 0,65$ e $r = 0,5$, respectivamente). Por conseguinte, ambos os mecanismos podem levar ao comprometimento da função global do ventrículo esquerdo.

8.5 Avaliação da morfometria e função cardíaca

Os aumentos da massa do VE e espessura relativa da parede associados com a idade são vistos mais comumente em mulheres do que em homens. Além disso, hipertrofia ventricular esquerda com função preservada são mais comuns em mulheres após a menopausa. O estrogênio regula a expressão de genes por ligação aos receptores de estrogênio (designados gene ESR1 e ESR2). Os receptores de estrogênio são expressos em cardiomiócitos e fibroblastos. A variação genética em ESR1 parece ter associação com variação fenotípica da massa do VE (LEIBOWITZ et al., 2006). Estudos que analisaram a associação de diferenças genéticas com MVE consideraram o importante papel do receptor-alfa do estrógeno no efeito do estrogênio sobre o coração. Assim, mudanças longitudinais na massa do ventrículo esquerdo, avaliadas pelo modo M na ecocardiografia, diferem não só por sexo, idade e tamanho do corpo, mas também por um polimorfismo na região reguladora do ESR1 (PETER et al., 2007). Nesse estudo, as alterações morfométricas de aumento da Massa do VE nas ratas envelhecidas parecem se associar mais a esse fenômeno (envelhecimento) do que às variações de expressão ou função estrogênica, pois as alterações ocorreram em ambos os grupos, ooforectomizadas ou não. Por outro lado, com 22 meses de idade as fêmeas intactas podem apresentar níveis tão reduzidos de hormônios que sejam semelhantes às ooforectomizadas nas diferentes respostas aos estímulos estressores (LOPES et al., 2006; LOPES et al., 2004).

A função sistólica, expressa pela fração de encurtamento, fração de ejeção e pela velocidade de encurtamento circunferencial, foi semelhante entre os três grupos experimentais. No entanto, a avaliação da função diastólica expressa pela relação E/A, TRIV e desaceleração da onda E mostrou-se alterada em nos grupos velhos (ICS e IOS) quando comparados aos grupos jovens (JCS e JOS). Anormalidades nestes parâmetros sugerem que o ventrículo esquerdo, que bombeia o sangue em circulação, não é preenchido adequadamente no período entre contrações, sugerindo uma disfunção diastólica. As avaliações morfométricas do ventrículo esquerdo indicaram que os grupos ICS e IOS apresentam maior massa do VE e aumento da LVDIA quando comparado com os grupos JCS e JOS. É importante ressaltar que o índice global de função cardíaca (IDM) foi maior nos grupos ICS e IOS quando comparados com JCS e JOS. Alterações morfológicas cardíacas durante o envelhecimento podem prejudicar o relaxamento cardíaco. Na ausência de doença cardíaca a função sistólica permanece em grande parte preservada. Embora essas mudanças observadas com o envelhecimento sejam fruto de processo de adaptação e interpretadas como normais, a sobreposição de fatores de risco adicionais relacionadas com a idade, tais como hipertensão (que foi observada no grupo IOS) ou arteriosclerose, podem tornar o coração mais susceptível e, portanto sujeito a falência funcional (PETER et al., 2007).

Disfunção diastólica do ventrículo esquerdo e alterações morfométricas podem ser resultado de vários fatores, como o aumento da concentração de colágeno e fibrose e/ou diminuição da complacência, que são influenciados pelo sistema nervoso autônomo e o

sistema renina-angiotensina (MOSTARDA et al., 2012; XING et al., 2010). No presente estudo as alterações autonômicas identificadas pelos bloqueios farmacológicos, sugerem ativação simpática e redução da resposta vagal nas fêmeas idosas e nas fêmeas jovens ooforectomizadas indicando um possível papel para o sistema nervoso autônomo nessas alterações. De fato, observamos correlação positiva entre o aumento do estresse cardíaco (IPM) e o aumento do tônus simpático cardíaco.

8.6 Capacidade Física

As alterações metabólicas e cardiovasculares acima descritas podem estar relacionadas a alterações na qualidade de vida e na capacidade funcional observada em mulheres após a privação dos hormônios ovarianos (ASIKAINEN; KUKKONEN-HARJULA; MIILUNPALO, 2004). Neste sentido, o teste de esforço (TE) é um dos métodos não invasivos mais usados para avaliar pacientes com doença cardiovascular. O TE tem por objetivo submeter o paciente a estresse físico, com a finalidade de avaliar a resposta clínica, hemodinâmica, eletrocardiográfica e metabólica ao esforço. Essa avaliação possibilita detectar isquemia miocárdica, arritmias cardíacas e distúrbios hemodinâmicos induzidos pelo esforço, avaliar a capacidade funcional, avaliar o diagnóstico e o prognóstico das doenças cardiovasculares, bem como prescrever exercícios (NEGRÃO; BARRETO, 2005). Nosso grupo demonstrou uma correlação entre a velocidade atingida no teste de esforço e o consumo de oxigênio em ratos (RODRIGUES, BRUNO et al., 2007). Vale lembrar que o consumo de

oxigênio representa hoje não só um indicador de performance, mas um marcador prognóstico em cardiopatas (ARMSTRONG; BRUBAKER; OTTO, 2005; MYERS et al., 1998).

Estudos apontam que o estrogênio desempenha um papel importante no metabolismo ósseo e muscular (SMITH et al., 2012). Neste sentido, o grupo de ratas ooforectomizadas apresentou diminuição de capacidade física em relação a seus valores iniciais e em relação ao grupo controle jovens ao final do protocolo. Os grupos de ratas velhas apresentaram uma pior capacidade física inicial e final quando comparados aos grupos de ratas jovens. De fato, um estudo verificou que a atividade da citrato sintase no tecido muscular de ratos velhos (27 meses de idade) estava reduzida quando comparados a ratos jovens, o que sugere redução da capacidade oxidativa nestes animais (SONG, W. et al., 2009). O pior desempenho observado em ratas velhas sugere que a privação dos hormônios ovarianos em animais velhos pode levar à redução adicional da massa magra (sarcopenia) e massa óssea (osteopenia).

Um achado muito importante do nosso estudo foi a correlação negativa entre capacidade física e o índice de performance miocárdica (IPM), índice este que nos permite uma avaliação global da função do ventrículo. Essa correlação inversa sugere que a disfunção cardíaca associou-se a diminuição da capacidade física, podendo reduzir a qualidade de vida e consequentemente ter influência na expectativa de vida.

PROTOCOLO 02

Devido ao aumento da expectativa de vida, mais do que um terço da vida é gasto no estado pós-menopausa. Por volta do ano 2035, 1 em cada 4 pessoa nos Estados Unidos terá 65 anos de idade (ORTMAN; VELKOFF; HOGAN, 2014), sendo de suma importância à compreensão da influência da menopausa nos futuros riscos de doença cardiovascular além de aumentar nossa capacidade de identificar alvos para medidas de prevenção mais eficazes. Neste sentido, o objetivo do protocolo 2 foi avaliar os efeitos da privação dos hormônios ovarianos no envelhecimento de ratas submetidas ou não a sobrecarga de frutose, bem como o papel do treinamento físico nestas condições. O fato da menopausa e do envelhecimento aumentarem simultaneamente o risco de doença cardiovascular é metodologicamente desafiador, mas é crítico separar a influência do envelhecimento cronológico da menopausa (BITTNER, 2009) e de se procurar entender a influência de cada um e/ou de ambos sobre o desenvolvimento da doença. Dados longitudinais em relação ao período pré-menopausa e sua transição são limitados, porém o estudo de Sowers et al (2000) demonstrou que este é um período crítico na vida das mulheres no que tange aos fatores de risco modificáveis que poderiam reduzir o posterior desenvolvimento de doença cardiovascular e por consequência levar à maior sobrevida se adequadamente manejados. Neste sentido, estudos demonstram que a prática regular de exercício físico associado à dieta pode ser determinante para a diminuição da prevalência de SM e riscos cardiovasculares nesta população (ANDERSSSEN et al., 2007).

8.7 AVALIAÇÕES METABÓLICAS

O peso corporal no grupo IOSF apresentou-se aumentado em relação ao grupo IOS ao final do protocolo. Alguns estudos que utilizaram sobrecarga de frutose não detectaram alterações no peso corporal ao final do protocolo (CATENA et al., 2003; SONG, D.; HUTCHINGS; PANG, 2005). Todavia, existem alguns trabalhos que associam o consumo de

frutose a maior ganho de peso corporal em humanos e animais (TORDOFF; ALLEVA, 1990). De acordo com Sharma et al. (2015) vale salientar que os efeitos da frutose vão variar de acordo com o gênero assim como a idade da população estudada. Interessantemente, neste estudo, os autores observaram que os receptores de insulina para o córtex renal aumentavam em machos que receberam sobrecarga de frutose e que o mesmo não era observado em fêmeas, pois fêmeas sem a sobrecarga de frutose já apresentavam aumento destes receptores.

Não foram observadas diferenças de peso corporal entre os demais grupos de estudo. É possível que o fato de termos trabalhado somente com ratas velhas no protocolo 2, as quais já haviam tido grande ganho de peso, e, portanto, estavam em uma fase de menor ganho, possa ter contribuído para não terem sido observadas diferenças entre os grupos treinados e sedentários ao final do protocolo.

É interessante notar que a ingestão calórica total (ração + frutose) foi semelhante entre os grupos sedentário ou treinado (IOSF e IOTF), mostrando que a prática de exercícios físicos foi fundamental para melhor redistribuição do peso corporal. Todavia, este consumo calórico estava maior quando comparado aos grupos IOS e IOT que ingeriram (ração + água). Portanto, mais do que o consumo calórico, a distribuição da gordura no corpo como o aumento de tecido adiposo branco observado no grupo IOSF em relação aos demais grupos parece refletir melhor mudanças na composição corporal em resposta à ingesta de frutose.

Um estudo demonstrou que o aumento ou não de peso corporal em modelos com sobrecarga de frutose, xarope de milho ou glicose pode ser determinante para as alterações metabólicas tais como aumento de LDL e colesterol total (STANHOPE, K. L.; SCHWARZ; HAVEL, 2013) já que ratos que receberam frutose, xarope de milho ou glicose e não aumentaram peso corporal apresentaram menores índices plasmáticos destas variáveis. De acordo com essa linha de raciocínio pode-se explicar em parte o aumento dos triglicerídeos no

grupo IOSF em relação ao grupo IOS. Neste mesmo sentido, uma intervenção de 3 semanas com 16 indivíduos acima do peso que receberam 1.000 kcal por dia adicional a partir de açúcares simples, demonstrou que a gordura no fígado estava aumentada em 27% enquanto o peso corporal teve acréscimo de apenas 2%. Além disso, os níveis de triglicerídeos de jejum na circulação foram aumentados em 48% (SEVASTIANOVA et al., 2012). Portanto, apesar dos grupos IOT e IOTF não apresentarem ganho de peso corporal, é possível que mais do que o consumo de frutose, o envelhecimento parece ser determinante para promover aumento nos níveis de triglicerídeos nos grupos treinados semelhantes aos observados no grupo IOSF.

Estudos em humanos têm sido bastante escassos em relação a esta questão, principalmente na população idosa. Recentemente uma investigação sobre os efeitos específicos de frutose versus glicose em adultos jovens foi realizada. Os indivíduos com excesso de peso ou obesidade foram investigados e glicose ou frutose foi dada em forma de bebida (fornecendo 25% da energia diária necessária) durante 10 semanas. Em síntese os autores descobriram que a frutose dietética dada em forma de bebida e em contraste com a glicose promoveu dislipidemia com um aumento acentuado no nível de triglicerídeos pós-prandiais, diminuindo a sensibilidade à insulina, aumentando a adiposidade visceral, e, possivelmente e de grande importância aumentando a lipogênese hepática em adultos com sobrepeso/obesidade (STANHOPE, K. L. et al., 2011; STANHOPE, KIMBER L. et al., 2009).

Portanto, apesar dos grupos IOT e IOTF não apresentarem diminuição dos níveis de triglicerídeos, o treinamento físico foi eficaz em atenuar o aumento de tecido adiposo e melhorar a sensibilidade à insulina que usualmente estão alterados também em mulheres menopausadas. Estes dados estão de acordo com os resultados encontrados com o sexo feminino, no trabalho de Giannopoulou e colaboradores (2005), no qual o treinamento físico reduziu parâmetros metabólicos em mulheres pós-menopausa com diabetes tipo 2.

A resistência à insulina associada com o envelhecimento é melhorada após exercício, mas os mecanismos moleculares desta melhora não são completamente compreendidos. Desta forma, um estudo avaliou as proteínas de sinalização da insulina em ratos velhos submetidos ao treinamento físico de natação e observaram que a curva de decaimento da glicose, que está alterada em ratos idosos, foi restaurada 16 horas após o exercício. Além disso, o envelhecimento per se leva a um aumento da fosforilação na Ser307 da IRS-1, assim como a um aumento na expressão de PTP-1B e atenuação na sinalização de insulina, fatores estes que também foram revertidos com exercício. Estes resultados fornecem novos insights sobre os mecanismos pelos quais o exercício restaura a sensibilidade à insulina durante o envelhecimento (PAULI et al., 2010).

Desta forma, podemos inferir que a frutose no grupo sedentário (IOSF), apresentou resultados semelhantes em relação ao grupo IOS, não acentuando grande parte das alterações metabólicas e hemodinâmicas (exceto para tecido adiposo) que podem ser atribuídas às alterações observadas com o envelhecimento. Considerando a informação de alguns autores de que a participação da frutose no metabolismo hepático através da ativação da *fosfofrutoquinase* seja requisito fundamental para assim desenvolver por completo as alterações da síndrome metabólica (ALEGRET; LAGUNA, 2012), vale lembrar que no presente estudo não observamos aumento de estresse oxidativo no tecido hepático destes animais, o que poderia sugerir que o tempo de tratamento neste estudo não foi capaz de trazer prejuízos para o fígado o que poderia explicar em parte não se ter observado grandes diferenças nas idosas ooforectomizadas sedentárias, apenas pelo tratamento da frutose. Em contrapartida, o exercício físico regular foi eficaz em atenuar o aumento destas disfunções com ou sem a presença da sobrecarga de frutose. Adicionalmente, observamos correlações positivas do tecido adiposo com os níveis de IL1B plasmáticos ($r=0,55$, $p<0,05$) e com o efeito simpático ($r=0,65$, $p<0,05$) e correlações inversas com a sensibilidade à insulina (Kitt,

$r=-0,6$, $p<0,05$), com a sensibilidade baroreflexa (resposta taquicárdica, $r=-0,65$, $p<0,05$) e com o tônus vagal ($r=-0,72$, $p<0,05$), reforçando a ideia de associação entre alterações no tecido adiposo e ativação neuroimune. Neste sentido, a redução ao tecido adiposo nos grupos treinados poderia favorecer atenuar a resistência à insulina, a inflamação e a disfunção autonômica.

8.8 Avaliação do Perfil Hemodinâmico e do Controle Autonômico Cardiovascular

Mudanças fisiológicas no controle barorreflexo da FC estão intimamente relacionadas com alterações periféricas e/ou centrais dos reflexos barorreceptores. Essas mudanças refletem adaptações fisiológicas associadas com o processo de envelhecimento e podem influenciar na eficácia do controle da PA em diferentes condições fisiológicas e fisiopatológicas (IRIGOYEN et al. 2000).

Existem evidências na literatura de que a sobrecarga de frutose em ratos quando utilizada na ração ou na água de beber, além de induzir resistência à insulina, aumento dos triglicerídeos e da insulina plasmática, também promove elevação da pressão arterial sistólica (SUZUKI et al., 1997; YOSHIDA et al., 2003). Esse achado fica evidente quando a frutose é administrada em ratas jovens (BRITO et al., 2008), nas quais tem sido demonstrado aumento da PAM pelo uso prolongado de frutose em presença ou não de ooforectomia. Em ratas envelhecidas intactas tem sido descrito aumento da PA (TEZINI et al. 2013) e/ou manutenção dos valores de PA em ratos machos velhos (DE ANGELIS et al., 1997). Todavia, quando a idade foi associada com a ooforectomia, como no presente estudo e já discutido no bloco anterior de resultados, a PA aumenta. Entretanto, nas fêmeas ooforectomizadas e envelhecidas quando tratadas com frutose a PA permaneceu aumentada, mas não diferente dos valores encontradas nas velhas apenas ooforectomizadas. De fato, o que encontramos no presente estudo, foi que o grupo IOSF apresentou aumento de PAS, PAD e PAM quando comparado

com os grupos treinados (IOT e IOTF). Ou que o treinamento foi capaz de reduzir a PA nas idosas ooforectomizadas tratadas ou não com frutose de forma semelhante.

É possível que o prejuízo do controle reflexo da FC comandado pelos barorreceptores arteriais nos grupos sedentários (IOS e IOSF) e sua melhora observada nos grupos treinados (IOT e IOTF) tenha sido determinante a diminuição da PA nos grupos treinados. Adicionalmente foi possível observar que mesmo apresentando melhor resposta taquicárdica reflexa, quando comparado com o grupo IOSF, o grupo IOTF apresentou valores são diminuídos de taquicardia reflexa às reduções induzidas da PA em relação a animais treinados sem sobrecarga de frutose, mostrando que a exposição a diferentes fatores de risco (no caso, idade avançada, ooforectomia e sobrecarga de frutose) promove efeitos proporcionalmente mais negativos na sensibilidade dos pressorreceptores.

A disfunção barorreflexa também já foi associada à deficiência na condução das informações levadas ao núcleo do trato solitário (ANDERSEN et al., 2003) . Por outro lado, Brum et al. (2000) evidenciaram que a melhora na sensibilidade barorreflexa da FC em machos SHR treinados estava relacionada ao aumento significativo na sensibilidade do nervo depressor aórtico, ou seja, na melhora da aferência desse mecanismo. Alterações na complacência arterial podem alterar a aferência do barorreflexo. Segundo o conceito mecânico-elástico aplicado sobre os barorreceptores, quanto maior a complacência vascular sob a mesma pressão de pulso, maior será a ativação dos pressorreceptores (KIRCHHEIM, 1976) e, portanto melhora o controle barorreflexo arterial.

Estudos recentes que avaliaram os efeitos do envelhecimento sobre o controle barorreflexo da PA, exercido pelos pressorreceptores localizados na região carotídea da árvore arterial, sugerem que mulheres mais velhas têm maior dependência de condutância vascular para modular PAM via barorreflexo. Além disso, mulheres mais velhas demonstram uma atenuada capacidade para corrigir a PAM em resposta a estímulos hipotensores (CREDEUR

et al., 2014). Neste sentido, o estudo de Tanahashi et al., (2014) demonstrou que o treinamento físico aumenta a complacência arterial carotídea em mulheres na pós-menopausa, e este aumento está relacionado à melhora do controle barorreflexo da circulação.

Assim como observado no presente estudo em que o treinamento físico levou à redução da PA a valores dentro da normalidade, outros estudos têm demonstrado resultados semelhantes em humanos hipertensos treinados (WHELTON et al., 2002) e em mulheres normotensas pós-menopausa, que participaram de um protocolo de treinamento físico durante 15 semanas (~65% do consumo máximo de oxigênio) (ASIKAINEN et al., 2004). Portanto, neste trabalho confirmamos o papel positivo do treinamento físico na atenuação do prejuízo na sensibilidade barorreflexa induzida pela associação da privação dos hormônios ovarianos ao envelhecimento em fêmeas Wistar. Contudo, os mecanismos que norteiam a normalização do controle barorreflexo após o treinamento físico não são totalmente conhecidos.

Nesse sentido, Bertagnolli et al. (2006) demonstraram, em ratos espontaneamente hipertensos, que após 10 semanas de treinamento físico ocorria uma expressiva melhora no estresse oxidativo da artéria aorta, possivelmente, aumentando a sua complacência. Além disso, esses autores observaram associação direta entre a diminuição no estresse oxidativo e o aumento no controle barorreflexo da frequência cardíaca desses animais. Dados estes que também foram observados no nosso grupo apontando melhora da sensibilidade barorreflexa associada à redução do estresse oxidativo e aumento das enzimas antioxidativas (IRIGOYEN et al., 2005). Outros estudos abordam redução de estresse oxidativo como forma de alteração benéfica da sensibilidade barorreflexa, atuando no aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico, que em mulheres pós- menopausa pode estar comprometida devido à privação dos hormônios ovarianos (HERNANDEZ et al., 2000). Assim, a melhora do estresse oxidativo tanto para tecido cardíaco como hepático de forma mais significativa no grupo IOT quando comparado os grupo IOTF poderia explicar em partes a maior magnitude de melhora da

sensibilidade barorreflexa no grupo IOT em relação ao grupo IOTF (possivelmente afetado pelo componente frutose).

Dessa forma, podemos concluir que treinamento físico pode modular o declínio relativo à idade em função barorreflexa e as anormalidades presentes no controle autonômico, representando, assim, alguns dos efeitos benéficos da atividade física na redução do risco de morbidade e mortalidade cardiovascular.

Os grupos IOS e IOSF apresentaram aumento da FC em relação aos grupos treinados, possivelmente por uma maior participação simpática, já que a FC está constantemente submetida a flutuações dos tônus autonômicos, determinada pela ativação e/ou inibição dos sistemas simpático e parassimpático. Além disso, diferentes estímulos como a respiração, contração muscular e variações da atividade dos pressorreceptores são responsáveis por este padrão dinâmico da atividade autonômica (REIS et al., 1998).

O treinamento físico aplicado nos grupos treinados (IOT e IOTF) promoveu redução da FC em relação aos valores observados nos grupos sedentários. De fato, bradicardia de repouso, tem sido utilizada como um marcador cardiovascular da eficácia do treinamento físico, o que provavelmente ocorreu no presente estudo, devido uma melhora do controle autonômico. A bradicardia induzida pelo treinamento demonstrando no grupo IOTF assim como o efeito cardioprotetor do exercício aeróbico regular podem ser resultados de outros mecanismos além do já consagrado aumento da modulação vagal (BOYETT et al., 2013). Uma vez que o grupo IOTF não apresentou melhora da modulação vagal em mesma magnitude que o grupo IOT apesar de semelhantes reduções na FC basal. Neste sentido, um estudo com animais jovens e velhos que realizaram treinamento regular de natação demonstrou que o sistema renina angiotensina muda com o avanço da idade. Neste estudo de Zamo et al., (2011) os animais velhos apresentaram diminuição da atividade do sistema renina angiotensina especificamente no músculo cardíaco o que pode ter impedido a resposta de

hipertrofia muscular do ventrículo observada no grupo jovem. Ambos os grupos diminuíram o conteúdo da angiotensina II, o que pode, pelo menos em parte, ter contribuído para o efeito de menor FC e PAM pós-exercício físico.

Em relação ao controle autonômico cardíaco (simpático e parassimpático) os grupos IOS e IOSF apresentaram maior participação simpática (Tônus e efeito) em comparação aos grupos treinados IOT e IOTF. Estes dados vão de encontro aos da literatura obtidos em modelos experimentais de inatividade física em que o desequilíbrio entre o sistema nervoso parassimpático e simpático sobre o sistema cardiovascular parece ser o responsável pelas alterações observadas (HUGHSON; SHOEMAKER, 2015). Em contrapartida apenas o grupo IOT apresentou aumento de tônus vagal em relação aos demais grupos. O não aumento do tônus vagal no grupo IOTF pode ser atribuído ao consumo crônico de frutose já que é consenso que há uma diminuição de tônus vagal com a idade e que este tende a estar reduzido em determinadas condições clínicas, como na doença arterial coronariana, após infarto do miocárdio e na presença de diabetes e síndrome metabólica (ALMEIDA; ARAÚJO, 2003).

Além disto, vale lembrar que indivíduos sadios ou portadores de cardiopatia que apresentem diminuição da variabilidade da FC têm maiores propensões a eventos cardíacos, já que a VFC diminuída constitui um importante prognóstico para tais eventos. Estudos demonstram que a redução da VFC já foi estabelecida como um fator de risco independente para eventos arrítmicos e mortalidade geral em pacientes após infarto agudo do miocárdio. Esta diminuição da VFC está relacionada à hiperatividade adrenérgica e diminuição da atividade parassimpática cardíaca (REIS et al., 1998).

A análise da VFC através do domínio do tempo e da frequência permitiu verificar que a privação dos hormônios ovarianos promoveu diminuição dos indicadores de variabilidade total (DP IP e VAR RR) no grupo IOS em relação aos grupos IOSF, IOT e IOTF IOS. Para modulação parassimpática (índice RMSSD e do HF) apenas o TF aplicado no grupo IOT foi

eficaz em aumentar tais parâmetros, indicando que o tratamento de frutose, mesmo em presença do treinamento foi capaz de bloquear a melhora da modulação parassimpática.

Já para a modulação simpática podemos observar que os grupos IOSF, IOT e IOTF apresentaram aumento de modulação simpática em relação ao grupo IOS. Apesar desse aumento na modulação, devemos chamar a atenção que os grupos treinados responderam ao TF com redução do tônus e do efeito simpático e aumento do tônus e efeito vagal. Dessa forma, o aumento na variância da FC pode ser entendido nesses grupos como associada a essas mudanças no controle autonômico da FC. Quanto ao grupo IOSF que não treinou, mas mesmo assim teve um aumento na variabilidade total, deve-se levar em conta que esse aumento foi maior na modulação simpática do que na parassimpática como bem demonstrado pelo aumento do balanço vagal observado somente neste grupo.

A variabilidade da pressão VAR-PAS e a banda de BF-PAS estavam aumentadas apenas no grupo IOSF em relação aos demais grupos, o que reforça a idéia de que a frutose associada com a ooforectomia induziu prejuízo consistente no controle autonômico nesse grupo. Em camundongos tratados com frutose na ração foi observado um aumento da PA no período da noite destes animais, que foi atribuído ao aumento da VAR-PAS e consequentemente ao aumento da banda de LF (representativa da modulação simpática) (FARAH et al., 2006). Este aumento na banda de baixa frequência pode representar um aumento da atividade simpática vascular que poderia explicar o aumento da resistência vascular periférica, bem como alterações estruturais e/ou funcionais, que podem estar relacionadas às alterações cardiovasculares e a atenuação do barorreflexo (IRIGOYEN et al., 2003; IRIGOYEN et al., 2005).

Os estudos clínicos vêm demonstrando uma associação entre o aumento da variabilidade da PA e a morbidade e mortalidade cardiovascular (MOODITHAYA; AVADHANY, 2009). Em um estudo em humanos, de Liao et al. (1998) realizado com uma

população de 2.359 homens com síndrome metabólica, foi demonstrado que a variabilidade da frequência cardíaca estava diminuída, com redução do índice HF quando comparado aos indivíduos sem nenhuma desordem metabólica. O mesmo está sendo observado em mulheres menopausadas em relação às mulheres pre-menopausadas, nas quais a diferença no nível de estrogênio contribuiu para a diferença de valores relativos dos componentes HF e LF da VFC. Interessantemente, a diferença na composição corporal não explicou a diferença na VFC entre os grupos. Desta forma, o estudo concluiu que ambos (níveis de estrogênio e envelhecimento) estão associados às alterações autonômicas observadas entre as mulheres na pós-menopausa (MOODITHAYA; AVADHANY, 2009).

Com base em nossas correlações assim como nos resultados obtidos, podemos concluir que a disfunção autonômica, caracterizada pelo aumento do tônus simpático e diminuição do tônus vagal associado à disfunção barorreflexa, contribuiu determinantemente para o estabelecimento e para a manutenção no aumento da PA. O aumento da atividade nervosa simpática favoreceu a disfunção diastólica bem como contribuiu para o aumento do estresse oxidativo e inflamação. A redução da sensibilidade barorreflexa implicou em maior variabilidade da pressão arterial e do componente LFPAS, os quais se somam aos mecanismos envolvidos no estabelecimento da hipertensão e no aparecimento das demais lesões de órgãos-alvo, determinando a morbimortalidade. É importante ressaltar que o treinamento aeróbio diminuiu o estresse oxidativo e a inflamação, normalizando a função barorreflexa e atenuando as demais alterações autonômicas e cardiovasculares geradas pelo envelhecimento no grupo IOT e em menor expressão no grupo IOTF. Desta forma, o treinamento aeróbio constituiu-se, portanto, em eficiente medida terapêutica para reduzir índices associados com morbimortalidade em animais com privação dos hormônios ovarianos submetidos ou não a sobrecarga de frutose.

8.9 REATIVIDADE VASCULAR

A disfunção vascular está associada com um fenótipo do endotélio pró-inflamatória e pró-trombótico (LANDMESSER; HORNIG; DREXLER, 2004). Menopausa e ooforectomia também vêm sendo apontados como causadores da inflamação sistêmica (ABU-TAHA et al., 2009), além de estarem associadas com menor dilatação dependente do endotélio em mulheres pós-menopausa em comparação com as mulheres na pré-menopausa (CELERMAJER et al., 1994; GAVIN et al., 2009; TADDEI et al., 1996). A menopausa está associada com um declínio acelerado da função vascular, no entanto, se este é um efeito da idade e/ou menopausa e como o exercício pode afetar esse declínio permanece não totalmente esclarecido. Recentemente, foi relatado em indivíduos jovens e saudáveis que a ingestão de frutose aumenta a pressão arterial agudamente, sem qualquer mudança aparente na condutância vascular total. Portanto, no presente estudo, frente à interação de vários sistemas em resposta à simultaneidade de situações interpretadas como de maior risco, avaliamos como estaria a reatividade vascular em vasos mesentéricos de resistência em ratas com privação dos hormônios, associada a sobrecarga de frutose e também em presença dos efeitos do exercício físico.

O avanço da idade é o principal fator de risco para o desenvolvimento de DCV, sendo esta afirmação, em parte devida ao desenvolvimento de disfunção endotelial vascular (relaxamento dependente do endotélio), em resposta a agentes químicos como ACh nessa condição. Desta forma, o presente estudo observou em anéis isolados de artéria mesentérica com endotélio intacto que o grupo IOSF apresentou menor relaxamento que os grupos IOS e IOTF em diferentes concentrações, demonstrando que mais do que o fator idade a frutose foi determinante para menor relaxamento do vaso. A biodisponibilidade reduzida da síntese de NO (óxido nítrico) como um resultado de estresse oxidativo é o mecanismo chave para a reduzida dilatação dependente de endotélio que ocorre com o envelhecimento (SEALS;

JABLONSKI; DONATO, 2011). Além disso, o estresse oxidativo vascular aumenta com idade como podemos observar no presente estudo e como consequência da maior produção de espécies reativas de oxigênio (por exemplo, superóxido) sem um aumento compensatório das defesas antioxidantes. Desta forma, nossos achados demonstraram que animais velhos já apresentam uma menor dilatação dependente de endotélio em relação a animais controle (dados da literatura) e que a frutose no grupo IOSF parece ter sido determinante para um adicional prejuízo em relação aos demais grupos que pode ser explicado possivelmente pelo maior estresse oxidativo observado em comparação ao grupo IOS.

Desta forma, o estilo de vida (incluindo o exercício aeróbico regular, fatores dietéticos) somado a fatores biológicos (menopausa/estrogênio) podem ser determinantes para modular a função endotelial vascular com o envelhecimento (SEALS et al., 2011).

A resposta de relaxamento independente do endotélio avaliada através de doses crescentes de nitroprussiato de sódio em artérias mesentéricas previamente contraídas com fenilefrina, apresentou uma magnitude similar entre os 3 grupos estudados. O grupo IOSF apresentou redução na magnitude à contração induzida por noradrenalina e fenilefrina em relação aos demais grupos (IOS e IOTF). O tônus vascular é determinado por um equilíbrio entre vários mecanismos em que a inervação perivascular desempenha um papel importante. Esta regulação envolve simpático, mediadores colinérgicos, nitrérgicos, peptidérgicos e/ou inervação sensorial que é específica para o leito vascular considerado (SASTRE et al., 2010). Em contrapartida, tem sido demonstrado que o exercício físico é capaz de reduzir a hipertensão por diminuição da atividade simpática e por diferentes mecanismos que envolvem atividade do sistema nervoso (LOESCH, 2002; MUELLER, 2007). Desta forma, assim como para o relaxamento vascular a frutose demonstrou ser fator determinante para a menor magnitude de resultado no grupo IOSF.

Dado o número de adultos mais velhos, e o constante crescimento dessa população no presente e no futuro, a busca de novas informações se faz necessária de forma a embasar outras estratégias eficazes para a prevenção e tratamento do envelhecimento vascular.

8.10 INFLAMAÇÃO

Pesquisas recentes apontam para uma forte ligação entre envelhecimento e inflamação, já que durante o envelhecimento a inflamação sistêmica crônica aumenta e o balanço redox pode se alterar desfavoravelmente (KOENIG et al., 2014). Portanto, o desenvolvimento de estratégias para prevenir e reduzir inflamação na população idosa tornou-se prioridade nas pesquisas em gerontologia nos últimos anos (FRANCESCHI (FRANCESCHI et al., 2007; TOTH et al., 2006).

No presente estudo o grupo IOT apresentou menores concentrações plasmáticas de TNF- α em relação aos grupos IOS e IOSF, dados que vão de acordo com o estudo de Kim et al (2014) que demonstrou diminuição do TNF- α cardíaco e outras interleucinas nos grupos diabéticos submetidos a treinamento aeróbio. Durante a última década, estudos sobre os efeitos anti-inflamatórios do exercício têm apontado para três possíveis mecanismos: redução em massa de gordura visceral; aumento da produção e liberação de citocinas anti-inflamatórias de contração dos músculos esqueléticos (miocinas); e redução da expressão de receptores toll-like (TLRs) em monócitos e macrófagos (2014). Por outro lado, o "reflexo inflamatório" proposto por Tracey et al., (2002) parece atribuir um papel importante ao sistema nervoso no desenvolvimento e controle do processo inflamatório, uma vez que os autores sugerem que a ativação do nervo vago pode levar a uma redução na produção de citocinas por parte do sistema retículo endotelial encontrado em diferentes regiões e tecidos tais como linfa, gânglios, fígado, coração, baço, e do trato gastrointestinal. De forma consistente, o treinamento físico parece aumentar a modulação parassimpática sobre coração e

diminuir o balanço simpato vagal (SOUZA et., 2007). De fato, no presente estudo os grupos treinados apresentaram aumento do tônus vagal, sendo que o grupo IOT apresentou aumento de tonus vagal de forma mais exarcebada que o grupo IOTF o que pode em parte explicar a menor produção de citocinas neste grupo. Vale lembrar que observamos correlação inversa entre os níveis de IL1B e o tônus vagal no presente protocolo.

Esta diminuição de TNF- α assim como da IL-6 não foram observadas no grupo IOTF no presente estudo, o que pode ser explicado pela intervenção adicional da sobrecarga de frutose no grupo IOTF, que sabidamente pode aumentar o potencial inflamatório do envelhecimento. Nesse sentido, o aumento da inflamação durante o envelhecimento tem sido associado a um aumento do fator nuclear de ligação (NFkB) que é responsável pela regulação da transcrição de uma variedade de genes alvos, incluindo as citocinas pró-inflamatórias tais como interleucina (IL 6) e factor de necrose tumoral (TNF- α) (HINOJOSA; BOYD; ORIHUELA, 2009; SCHRECK; ALBERMANN; BAEUERLE, 1992). Desta forma, quando analisamos especificamente o perfil inflamatório ele estava aumentado em maiores proporções no grupo IOTF em relação ao grupo IOT, apontando a possível ligação entre os dois sistemas.

Por outro lado, o treinamento físico no grupo IOTF aumentou a IL-10 plasmática quando comparada aos demais grupos. Vale ressaltar que a IL-10 secretada por adipócitos atua como antagonista do TNF- α , inibindo a sinalização do fator nuclear kappa B (NF-kB) (FAIN et al., 2004). Tal fato, pode estar associado a melhora de sensibilidade à insulina, visto que a IL-10 inibe a produção de TNF- α e que, experimentalmente, o tratamento com TNF- α leva à redução da autofosforilação do receptor da insulina estimulada pela própria insulina e inibição subsequente da fosforilação de IRS-1. Além disso, o TNF- α induz modificação do IRS-1 por fosforilação em serina, o que torna essa molécula inibitória para a sinalização do

receptor de insulina. Adicionalmente a IL-10 inibe a síntese de outras citocinas, como o IFN- γ , IL-2, IL-12, TNF- β .

Entretanto, o grupo IOTF não apresentou aumento da IL1b que estava aumentada no grupo IOSF. Esse achado parece ser importante já que vem sendo documentado que esta citocina inflamatória em idosos parece estar em maiores concentrações quando comparada com mais jovens, com ou sem a participação do indução do NFkB (BEKTAS et al., 2013), indicando que o envelhecimento está associado a alteração no sistema imunológico, resultando em um estado pró-inflamatório, que em parte pode ser revertido pelo treinamento físico como observado no grupo IOTF.

Interessantemente, em indivíduos idosos ou com maior risco de insuficiência cardíaca foram observados níveis elevados de PCR, TNF-alfa e IL-6 (AGUIRRE et al., 2000) associados à redução da variabilidade da FC (BOSENMAIER et al., 2000). No estudo de Janszky et al. (2004) os autores demonstraram uma forte correlação dos níveis de PCR e IL-6 com a variabilidade da FC em mulheres com doença coronariana. No entanto, poucos estudos avaliaram a associação de marcadores inflamatórios e disfunções cardiometabólicas no sexo feminino, principalmente após a privação dos hormônios ovarianos.

Em conjunto, nossos resultados sugerem que treinamento físico pode aumentar atividade cardíaca vagal, bem como reduzir o simpático periférico, alterações estas que podem ter contribuído para uma redução no perfil inflamatório de ratas velhas submetidas a sobrecarga de frutose.

8.11 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo pode desempenhar um importante papel fisiopatológico no período da menopausa e do envelhecimento, como em todos os demais períodos da vida. Muitos marcadores são utilizados para quantificar o estresse oxidativo. No presente trabalho para avaliarmos a defesa antioxidante mensuramos a Catalase (CAT), a Glutathione Peroxidase

(GPX) e a Superóxido Dismutase (SOD), enquanto a Liperoxidação por TBARS (LPO) e as Carbonilas forma mensuradas para avaliar a lipoperoxidação de membranas e o dano as proteínas, respectivamente.

Sabe-se que os hormônios sexuais são associados com estresse oxidativo e peroxidação lipídica (LPO) (OZTEKIN et al., 2007; PERSKY et al., 2000; TOPCUOGLU et al., 2009). Muitos estudos têm usado a ooforectomia em modelos animais para demonstrar a relação entre hormônios sexuais e estresse oxidativo em diversos tecidos focando na LPO. Vale ressaltar que a LPO se inicia com a reação do hidrogênio dos ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular com as ERO, promovendo, dessa forma, a perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo de organelas e formação de produtos citotóxicos, culminando em muitos casos com a morte celular (HERSHKO, 1989). Portanto, pode-se sugerir que quando há diminuição da LPO há menos danos para a célula.

No presente trabalho foi analisada a lipoperoxidação no tecido hepático e cardíaco por TBARS e foi observado que os grupos treinados (IOT e IOTF) apresentaram diminuição quando comparados ao grupo (IOS). Essa diminuição de dano pode ser explicada, pelo menos em parte, por uma diminuição do TNF- α (DHINGRA et al., 2007) no grupo IOT que poderia induzir um equilíbrio entre a geração de EROs e suas enzimas antioxidantes (NORDMANN (NORDMANN, 1994). Similarmente, em ratos velhos que realizaram treinamento físico foram observadas melhora nas avaliações de estresse oxidativo cardíaco (TBARS) quando comparados a ratos machos adultos (DE ANGELIS et al., 1997). Da mesma forma, em estudos com humanos, o treinamento físico reduziu o estresse oxidativo em mulheres na pós-menopausa com ou sem uso da terapia de reposição hormonal (ATTIPOE et al., 2008).

A enzima GPx apresentou aumento de atividade após o treinamento físico no tecido cardíaco. É provável que a redução da lipoperoxidação de membranas observada no tecido hepático e cardíaco dos grupos treinados tenha ocorrido pelo aumento da ação da GPx na

redução de peróxidos orgânicos (CHANCE; SIES; BOVERIS, 1979). Confirmando em parte os resultados do presente estudo, previamente nosso grupo demonstrou que oito semanas de treinamento físico aeróbio em ratas adultas ooforectomizadas, no tecido foi capaz de diminuir a lipoperoxidação de membranas cardíaco, porém as enzimas responsáveis pela detoxificação do peróxido de hidrogênio (CAT) e de hidroperóxidos orgânicos (GPx) não apresentaram aumento de atividade após o treinamento físico, somente a enzima SOD aumentou sua atividade (IRIGOYEN et al., 2005).

Em nosso estudo a SOD aumentou no tecido hepático do grupo IOTF e no tecido cardíaco do grupo IOT. Possivelmente o aumento da SOD está relacionado com a tentativa de diminuir a ação inativadora do ânion superóxido sobre o NO, aumentado no envelhecimento e na privação dos hormônios ovarianos (LAURINDO et al., 1994). O aumento da enzima SOD também foi observado em ratos machos velhos (28 meses) (RADAK et al., 2004) e também em ratas velhas submetidas à privação dos hormônios ovarianos (AKSAKAL et al., 2011).

Em um estudo que verificou a defesa antioxidante hepática em ratas velhas com 12 meses de idade, o treinamento físico de 12 semanas foi eficaz em aumentar a atividade das enzimas SOD, CAT e Glutathione Redutase (GR) em 21%, 44% e 63%, respectivamente quando comparadas com ratas jovens, prevenindo o dano causado nesse tecido (KAKARLA; VADLURI; REDDY KESIREDDY, 2005). Estudos anteriores em animais jovens demonstraram que o treinamento físico aumentou a atividade da SOD nos tecidos cardíacos, pulmonares e musculares de ratos (HUSAIN; HAZELRIGG, 2002).

A avaliação de dano pode ser feita pela lipoperoxidação, mas também pode ser realizada pela quantificação de proteínas carboniladas. Neste sentido, nossos resultados evidenciam benefícios do treinamento físico nos grupos submetidos a treinamento físico, demonstrado por redução de TBARS no grupo IOT e de proteínas carboniladas no grupo IOTF no tecido hepático, bem como redução de TBARS no grupo IOTF no tecido cardíaco.

A razão GSH/GSSG é mantida por um sistema de reciclagem eficiente de GSH a partir de GSSG. Tem sido descrito que a alteração na concentração de GSH causada pela ooforectomia é acompanhada pelo aumento da peroxidação lipídica, com elevada produção de malondialdeído, e ainda, que a peroxidação lipídica aumenta com a idade (ALVARADO et al., 2006; KIRAY et al., 2007; VIVEROS et al., 2007). Nossos resultados são compatíveis com a maioria dos estudos, que relataram um aumento na peroxidação lipídica e uma diminuição nos níveis de GSH após ovariectomia (AKSAKAL et al., 2011). Semelhantemente, em um estudo com ratos machos velhos (28 meses), oito semanas de treinamento físico induziu um aumento de GSH e da razão GSH/GSSG, sugerindo um aumento da resistência ao estresse oxidativo (RADAK et al., 2004).

Um dado muito interessante é o fato de que apesar dos grupos IOT e IOTF apresentarem melhora da razão GSH/GSSG, o grupo IOSF apresentou uma diminuição adicional neste parâmetro quando comparado ao grupo controle IOS. Adicionalmente em nossas correlações, o tônus vagal foi positivamente associado com a razão GSH/GSSG ($r=0,65$, $p<0,05$), mostrando que a melhora autonômica caracterizada pelo aumento do tônus vagal estava associada à redução do estresse oxidativo representada pelo aumento da razão GSH/GSSG.

Neste sentido, o achado mais importante com relação ao estresse oxidativo é a atenuação do prejuízo na razão redox da glutathiona (GSH/GSSG) nos grupos treinados (IOT e IOTF) quando comparada aos grupos sedentários (IOS e IOTF). Essa melhora não foi suficiente para alcançar parâmetros de normalidade se comparada a animais jovens controle (JCS), porém já indica uma melhora importante em uma variável que fornece uma visão geral sobre o balanço do estresse oxidativo nesta população com diversos fatores de risco associados (envelhecimento, menopausa e SM).

O protocolo de treinamento físico nos grupos IOT e IOTF induziu atenuação do quadro de estresse oxidativo, evidenciado por redução da lipoperoxidação e melhora do balanço redox provavelmente em decorrência de uma resposta adaptativa ao treino de aumento das defesas antioxidantes.

8.12 AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA

Alterações morfológicas cardíacas durante o envelhecimento incluem o aumento do ventrículo esquerdo (VE) e ou espessamento da parede, padrões estes já discutidos no protocolo 1 e que não foram modificadas pós-treinamento físico. Na ausência de doenças ou eventos cardíacos, a função sistólica permanece em grande parte preservada mesmo após tais alterações. No presente estudo não observamos diferença para fração de ejeção e fração de encurtamento entre os quatro grupos, entretanto o grupo IOT apresentou aumento do VEC em relação aos grupos sedentários e não foi significativamente diferente do grupo IOTF.

Sabe-se que em grande parte das vezes a disfunção diastólica precede a disfunção sistólica (DE SIMONE et al., 2000). Neste sentido, o presente estudo demonstrou que ratas com privação dos hormônios ovarianos (IOS) e sua associação com a frutose (IOSF) apresentaram aumento no tempo de desaceleração isovolumétrica (TRIV) (relaxamento mais lentificado) e na desaceleração da onda E (tendência à mudança de complacência ventricular), padrões estes que foram atenuados após o treinamento físico no grupo IOT e em menores magnitudes no grupo IOTF. Já que após treinamento físico os grupos treinados apresentaram valores semelhantes aos observados nos animais controle. Esta melhora sistólica (VEC) ou diastólica (TRIV e DESC onda E) refletiu em uma função global melhorada demonstrada no presente estudo pelo IDM. Adicionalmente, no estudo das correlações podemos observar que o VEC foi correlacionado de forma inversa com o LF-PAS ($r=-0,60$, $p<0,05$) e foi diretamente correlacionado com o tônus vagal ($r=0,65$, $P<0,05$) e com a razão GSH/GSSG

($r=0,80$, $P<0,05$). Adicionalmente, os níveis de IL-6 foram correlacionados com o IDM ($r=0,60$, $p<0,05$). Em conjunto, estas correlações reforçam a grande interação entre disfunção autonômica, inflamação e estresse oxidativo induzindo prejuízo na função cardíaca. Assim, estes resultados sugerem que a melhora na função cardíaca nos grupos treinados esteja associada à melhora autonômica possivelmente induzindo redução de inflamação sistêmica e estresse oxidativo no tecido cardíaco, o que poderia resultar em uma melhora da qualidade de vida e da longevidade desta população.

8.13 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE FÍSICA

O envelhecimento está associado a um declínio das funções musculares e ósseas levando à sarcopenia e osteoporose, respectivamente. A sarcopenia é definida pelas alterações de massa e função dos músculos relacionada com a idade (BIJLSMA et al., 2012; BOIRIE, 2009; DARDEVET et al., 2012). Boirie, 2009; Dardevet et al, 2012), enquanto que a osteoporose é “uma doença esquelética sistêmica caracterizada” por baixa massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo com consequente aumento da fragilidade óssea e susceptibilidade a fraturas (KANIS et al., 2008). Estudos recentes têm reforçado a conexão entre essas duas patologias relacionadas com a idade avançada, assim como padrões de desregulação comuns como: diminuição do estrogênio androgênio, IGF-1 séricos, aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF) e possíveis modificações gênicas (KARASIK, 2011; TERRACCIANO et al., 2013). Tanto a sarcopenia como a osteoporose podem resultar da diminuição da atividade física, e, por conseguinte, da carga mecânica inferior, que pode ocorrer durante o envelhecimento (BOOTH; ROBERTS; LAYE, 2012). De fato, o transplante de células-tronco musculares de ratos jovens para ratos com idade avançada atrasa o aparecimento da sarcopenia e prolonga a vida (LAVASANI et al., 2012).

No presente estudos observamos que o treinamento físico aplicado nos grupos IOT e IOTF foi eficaz em aumentar a capacidade física quando comparados aos grupos sedentários

(IOS e IOSF) e a seus valores iniciais. A baixa capacidade física de ratos sedentários pode ser explicada por dados de um grupo francês que demonstrou que a ooforectomia, altera ambos os metabolismos (ossos e músculo) em ratos velhos (TAGLIAFERRI et al., 2014). A privação dos hormônios ovarianos nestes animais velhos foi associada com diminuição da densidade mineral óssea e deficiência na microarquitetura. No músculo esquelético, uma redução da taxa de síntese de proteína associada a um declínio na expressão do gene MuRF1 que está envolvido na degradação proteica foram abordados como possíveis mecanismos envolvidos nos efeitos da privação dos hormônios ovarianos associados ao envelhecimento (TAGLIAFERRI et al., 2015).

O mesmo comportamento pode ser observado em mulheres pós-menopausa idosas com SM, que apresentam: menor capacidade funcional e força muscular, menor potência de membros inferiores e flexibilidade em comparação com as mulheres sem síndrome metabólica (VIEIRA et al., 2013). Essas informações sugerem que além da privação dos hormônios, as mulheres com SM apresentam um risco adicional de terem alterações relacionadas a ossos e músculos.

O melhor entendimento de ligações entre a função ovariana e o risco cardiovascular pode auxiliar na identificação de fatores de risco para o desenvolvimento de doença aterosclerótica pré-menopausa que estão associados à variabilidade de DCV na pós-menopausa. Desta forma, diversos estudos demonstram que um maior VO₂máx, em indivíduos com melhor capacidade física, como observado no presente estudo correlaciona-se com melhor função endotelial, PA e melhores parâmetros metabólicos e teciduais. Resultados semelhantes foram obtidos em mulheres pré-menopausa (GREEN et al., 2002), menopausadas (AIELLO et al., 2004; KIRWAN et al., 2003) e com reposição hormonal (GREEN et al., 2002). Protocolos com dieta e treinamento físico, realizando ou não a reposição hormonal, também evidenciaram melhora de capacidade física (STEFANICK et al., 1998).

É importante destacar que no presente estudo a melhora no tempo do teste de esforço final foi correlacionada com menores valores de modulação simpática vascular ($r=-0,75$, $p<0,05$) e TRIV ($r=-0,6$, $p<0,05$) e com maiores valores de tônus vagal ($r=0,7$, $P<0,05$), de sensibilidade barorreflexa (resposta taquicárdica, $r=0,7$, $p<0,05$) e de VEC ($r=0,7$, $p<0,05$). Ou seja, estas correlações reforçam a hipótese que a melhora na função autonômica pós treinamento físico impacta de forma positiva na função cardíaca e consequentemente na capacidade física.

9. CONCLUSÕES

O objetivo deste estudo foi investigar o papel do treinamento físico sobre os efeitos do envelhecimento e da sobrecarga de frutose em parâmetros metabólicos, cardiovasculares, inflamatórios e de estresse oxidativo em ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos. Nossos resultados demonstraram que o envelhecimento potencializou os efeitos deletérios cardíacos e funcionais da privação dos hormônios ovarianos em ratas, provavelmente associados à disfunção autonômica, à inflamação e ao estresse oxidativo. No entanto, o treinamento físico após a privação dos hormônios ovarianos, com ou sem sobrecarga de frutose, foi capaz de modular favoravelmente a função autonômica, reduzindo marcadores de inflamação e estresse oxidativo, e consequentemente induzindo melhora na função cardíaca e na capacidade física. Estes achados sugerem um importante papel da atividade física regular no manejo do risco cardiometabólico associado ao envelhecimento e a menopausa.

10. REFERENCIAS

ABU-TAHA, M. et al. Menopause and ovariectomy cause a low grade of systemic inflammation that may be prevented by chronic treatment with low doses of estrogen or losartan. **J Immunol**, v. 183, n. 2, p. 1393-402, Jul 15 2009.

AGUIRRE, V. et al. The c-Jun NH2-terminal Kinase Promotes Insulin Resistance during Association with Insulin Receptor Substrate-1 and Phosphorylation of Ser307. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 12, p. 9047-9054, March 24, 2000 2000.

AIELLO, E. J. et al. Effect of a yearlong, moderate-intensity exercise intervention on the occurrence and severity of menopause symptoms in postmenopausal women. **Menopause**, v. 11, n. 4, p. 382-8, Jul-Aug 2004.

AKCAY, T. et al. Effects of hormone replacement therapy on lipid peroxides and oxidation system in postmenopausal women. **J Toxicol Environ Health A**, v. 59, n. 1, p. 1-5, Jan 14 2000.

AKSAKAL, E. et al. Relationship between oxidative stress and cardiomyopathic changes in ovariectomized rats. **Cardiology**, v. 119, n. 4, p. 235-41, 2011.

ALBERTI, K. G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-5, Oct 20 2009.

ALDRIGHI, J. M.; FALUDI, A. A.; MANSUR, A. P. **Doença Cardiovascular e Climatério**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005.

ALEGRET, M.; LAGUNA, J. C. Opposite fates of fructose in the development of metabolic syndrome. **World J Gastroenterol**, v. 18, n. 33, p. 4478-80, Sep 7 2012.

ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, C. G. S. Effects of aerobic training on heart rate. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 9, p. 113-120, 2003.

ALVARADO, C. et al. Dietary supplementation with antioxidants improves functions and decreases oxidative stress of leukocytes from prematurely aging mice. **Nutrition**, v. 22, n. 7-8, p. 767-77, Jul-Aug 2006.

American Heart Association's Go Red For Women and Ad Council Launch National Public Service Advertising Campaign to Address a Leading Killer of Women in the U.S.: Heart Disease., 2014. Disponível em: < <http://newsroom.heart.org/news/american-heart-associations-go-red-for-women-and-ad-council-launch-national-public-service-advertising-campaign-to-address-a-leading-killer-of-women-in-the-u-s-:-heart-disease> >. Acesso em: 21/02/2015.

ANDERSEN, P. M. et al. Sixteen novel mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene in amyotrophic lateral sclerosis: a decade of discoveries, defects and disputes. **Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord**, v. 4, n. 2, p. 62-73, Jun 2003.

ANDERSON, K. J. et al. The cardiovascular effects of normobaric hyperoxia in patients with heart rate fixed by permanent pacemaker. **Anaesthesia**, v. 65, n. 2, p. 167-71, Feb 2010.

ANDERSSSEN, S. A. et al. Combined diet and exercise intervention reverses the metabolic syndrome in middle-aged males: results from the Oslo Diet and Exercise Study. **Scand J Med Sci Sports**, v. 17, n. 6, p. 687-95, Dec 2007.

ARAUJO, I. C. et al. Early developmental exposure to high fructose intake in rats with NaCl stimulation causes cardiac damage. **Eur J Nutr**, Jan 7 2015.

ARMSTRONG, L. E.; BRUBAKER, P. H.; OTTO, R. M. 7th. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

ASIKAINEN, T. M.; KUKKONEN-HARJULA, K.; MIILUNPALO, S. Exercise for health for early postmenopausal women: a systematic review of randomised controlled trials. **Sports Med**, v. 34, n. 11, p. 753-78, 2004.

ATTIPOE, S. et al. Oxidative stress levels are reduced in postmenopausal women with exercise training regardless of hormone replacement therapy status. **J Women Aging**, v. 20, n. 1-2, p. 31-45, 2008.

AYDIN, S. et al. Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. **Nutrition**, v. 30, n. 1, p. 1-9, Jan 2014.

BAHIA, L. et al. Relationship between adipokines, inflammation, and vascular reactivity in lean controls and obese subjects with metabolic syndrome. **Clinics**, v. 61, p. 433-440, 2006.

BALBINOTT, A. W. et al. Dose-dependent autonomic dysfunction in chronic L-NAME-hypertensive diabetic rats. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 46, n. 5, p. 563-9, Nov 2005.

BARP, J. et al. Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, n. 9, p. 1075-81, Sep 2002.

BASCIANO, H.; FEDERICO, L.; ADELI, K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutr Metab (Lond)**, v. 2, n. 1, p. 5, Feb 21 2005.

BASSUK, S. S.; MANSON, J. E. Physical activity and cardiovascular disease prevention in women: a review of the epidemiologic evidence. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 20, n. 6, p. 467-73, Jul 2010.

BEKTAS, A. et al. Age-associated alterations in inducible gene transcription in human CD4+ T lymphocytes. **Aging (Albany NY)**, v. 5, n. 1, p. 18-36, Jan 2013.

BERRY, C. et al. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 10, n. 2, p. 247-55, Mar 2001.

- BERTAGNOLLI, M. et al. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. **J Hypertens**, v. 24, n. 12, p. 2437-43, Dec 2006.
- BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. **J Lab Clin Med**, v. 61, p. 882-8, May 1963.
- BIJLSMA, A. Y. et al. Chronology of age-related disease definitions: osteoporosis and sarcopenia. **Ageing Res Rev**, v. 11, n. 2, p. 320-4, Apr 2012.
- BITTNER, V. Menopause, age, and cardiovascular risk: a complex relationship. **J Am Coll Cardiol**, v. 54, n. 25, p. 2374-5, Dec 15 2009.
- BLACHER, J. et al. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. **Hypertension**, v. 33, n. 5, p. 1111-7, May 1999.
- BOIRIE, Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia. **J Nutr Health Aging**, v. 13, n. 8, p. 717-23, Oct 2009.
- BONORA, E. et al. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 68, n. 2, p. 374-8, Feb 1989.
- BOOTH, F. W.; ROBERTS, C. K.; LAYE, M. J. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. **Comprehensive Physiology**, v. 2, n. 2, p. 1143-1211, 2012.
- BOROVIKOVA, L. V. et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature**, v. 405, n. 6785, p. 458-62, May 25 2000.
- BOSSENMAIER, B. et al. Serine residues 1177/78/82 of the insulin receptor are required for substrate phosphorylation but not autophosphorylation. **Diabetes**, v. 49, n. 6, p. 889-95, Jun 2000.
- BOTOSENEANU, A. et al. Prevalence of metabolic syndrome and its association with physical capacity, disability, and self-rated health in lifestyle interventions and independence for elders study participants. **J Am Geriatr Soc**, v. 63, n. 2, p. 222-32, Feb 2015.
- BOVERIS, A.; CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. **Biochem J**, v. 134, n. 3, p. 707-16, Jul 1973.
- BOYETT, M. R. et al. Viewpoint: Is the resting bradycardia in athletes the result of remodeling of the sinoatrial node rather than high vagal tone? **J Appl Physiol**, v. 114, n. 9, p. 1351-1355, 2013.
- BRAGA, J. R. et al. Management of diabetes mellitus and associated cardiovascular risk factors in Brazil - the Brazilian study on the practice of diabetes care. **Diabetol Metab Syndr**, v. 5, n. 1, p. 46, 2013.

BRAY, G. A.; NIELSEN, S. J.; POPKIN, B. M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. 4, p. 537-543, April 1, 2004 2004.

BRITO, J. O. et al. Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 41, n. 9, p. 804-8, Sep 2008.

BRODDE, O. E. et al. Cardiac muscarinic receptors decrease with age. In vitro and in vivo studies. **J Clin Invest**, v. 101, n. 2, p. 471-8, Jan 15 1998.

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

BROWN, L. M. et al. Metabolic impact of sex hormones on obesity. **Brain Res**, v. 1350, p. 77-85, Sep 2 2010.

CAI, H.; HARRISON, D. G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circ Res**, v. 87, n. 10, p. 840-4, Nov 10 2000.

Cardiovascular Diseases (CVDs). 2015. Disponível em: < www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/ >. Acesso em: 02/21/2015.

CASTANHO, V. S. et al. Sex differences in risk factors for coronary heart disease: a study in a Brazilian population. **BMC Public Health**, v. 1, p. 3, 2001.

CATENA, C. et al. Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose-induced hypertension. **Am J Hypertens**, v. 16, n. 11 Pt 1, p. 973-8, Nov 2003.

CELERMAJER, D. S. et al. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. **J Am Coll Cardiol**, v. 24, n. 2, p. 471-6, Aug 1994.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiol Rev**, v. 59, n. 3, p. 527-605, Jul 1979.

COLOSIMO, A. et al. Estimating a cardiac age by means of heart rate variability. **Am J Physiol**, v. 273, n. 4 Pt 2, p. H1841-7, Oct 1997.

CONTI, F. F. et al. Cardiovascular autonomic dysfunction and oxidative stress induced by fructose overload in an experimental model of hypertension and menopause. **BMC Cardiovasc Disord**, v. 14, p. 185, 2014.

CREDEUR, D. P. et al. Effect of aging on carotid baroreflex control of blood pressure and leg vascular conductance in women. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 306, n. 10, p. H1417-25, May 15 2014.

DANEV, S. et al. Relationship between heart rate variability and hypercholesterolaemia. **Cent Eur J Public Health**, v. 5, n. 3, p. 143-6, Sep 1997.

DARDEVET, D. et al. Commentaries on Viewpoint: Muscle atrophy is not always sarcopeniaSARCOPENIA SHOULD STAY SARCOPENIAIS MISUSE OF THE TERM SARCOPENIA DUE TO A LACK OF BIOMARKERS?SARCOPENIA IS NOT ALWAYS MUSCLE ATROPHYON MUSCLE ATROPHY, AGING, AND DISEASETHE DILEMMA OF DEF.... 2012. 680-684

DASGUPTA, S. et al. Menopause versus aging: The predictor of obesity and metabolic aberrations among menopausal women of Karnataka, South India. **Journal of Mid-Life Health**, v. 3, n. 1, p. 24-30, Jan-Jun 2012.

DAVIS, S. R. et al. Understanding weight gain at menopause. **Climacteric**, v. 15, n. 5, p. 419-29, Oct 2012.

DAY, C. Metabolic syndrome, or What you will: definitions and epidemiology. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 4, n. 1, p. 32-38, March 1, 2007 2007.

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

DE ANGELIS, K. L. et al. Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, v. 30, n. 3 Pt 2, p. 767-71, Sep 1997.

DE ANGELIS LOBO D'AVILA, K. et al. Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats. **Hypertension**, v. 34, n. 4 Pt 2, p. 768-72, Oct 1999.

DE MORAES, C. et al. Reactivity of mesenteric and aortic rings from trained rats fed with high caloric diet. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 147, n. 3, p. 788-92, Jul 2007.

DE MORAES, C. et al. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiol**, v. 8, p. 12, 2008.

DE OLIVEIRA, E. P. et al. Dietary factors associated with metabolic syndrome in Brazilian adults. **Nutr J**, v. 11, p. 13, 2012.

DE SIMONE, G. et al. Relation of Left Ventricular Diastolic Properties to Systolic Function in Arterial Hypertension. **Circulation**, v. 101, n. 2, p. 152-157, January 18, 2000 2000.

DHINGRA, S. et al. p38 and ERK1/2 MAPKs mediate the interplay of TNF-alpha and IL-10 in regulating oxidative stress and cardiac myocyte apoptosis. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 6, p. H3524-31, Dec 2007.

DURSTINE, J. L.; HASKELL, W. L. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 22, p. 477-521, 1994.

EARNEST, C. P.; BLAIR, S. N.; CHURCH, T. S. Age attenuated response to aerobic conditioning in postmenopausal women. **Eur J Appl Physiol**, v. 110, n. 1, p. 75-82, Sep 2010.

ECKEL, L. A.; GEARY, N. Estradiol treatment increases feeding-induced c-Fos expression in the brains of ovariectomized rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 281, n. 3, p. R738-46, Sep 2001.

ELLIOTT, S. S. et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **Am J Clin Nutr**, v. 76, n. 5, p. 911-22, Nov 2002.

ERVIN, R. B. Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003-2006. **Natl Health Stat Report**, n. 13, p. 1-7, May 5 2009.

ESLER, M. D. et al. Aging effects on human sympathetic neuronal function. **Am J Physiol**, v. 268, n. 1 Pt 2, p. R278-85, Jan 1995.

FARAH, V. et al. Nocturnal hypertension in mice consuming a high fructose diet. **Auton Neurosci**, v. 130, n. 1-2, p. 41-50, Dec 30 2006.

FARAH, V.; ELASED, K. M.; MORRIS, M. Genetic and dietary interactions: role of angiotensin AT1a receptors in response to a high-fructose diet. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 2, p. H1083-9, Aug 2007.

FAUVEL, J. P. et al. Aging process on spectrally determined spontaneous baroreflex sensitivity: a 5-year prospective study. **Hypertension**, v. 50, n. 3, p. 543-6, Sep 2007.

FERREIRA, J. A.; FOLEY, A. M.; BROWN, M. Sex hormones differentially influence voluntary running activity, food intake and body weight in aging female and male rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 8, p. 3007-18, Aug 2012.

FISHER, M. W. et al. Role of ovarian failure in reproductive senescence in aged red deer (*Cervus elaphus*) hinds. **J Reprod Fertil**, v. 120, n. 2, p. 211-6, Nov 2000.

FLEG, J. L.; KENNEDY, H. L. Cardiac arrhythmias in a healthy elderly population: detection by 24-hour ambulatory electrocardiography. **Chest**, v. 81, n. 3, p. 302-7, Mar 1982.

FLEGAL, K. M. et al. PRevalence and trends in obesity among us adults, 1999-2008. **JAMA**, v. 303, n. 3, p. 235-241, 2010.

FLOHE, L.; GUNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 114-21, 1984.

FLORES, L. J. et al. Effects of exercise training on autonomic dysfunction management in an experimental model of menopause and myocardial infarction. **Menopause**, v. 17, n. 4, p. 712-7, Jul 2010.

FLUES, K. et al. Exercise training associated with estrogen therapy induced cardiovascular benefits after ovarian hormones deprivation. **Maturitas**, v. 65, n. 3, p. 267-71, Mar 2010.

FRANCESCHI, C. et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. **Mech Ageing Dev**, v. 128, n. 1, p. 92-105, Jan 2007.

GAVIN, K. M. et al. Vascular endothelial estrogen receptor alpha is modulated by estrogen status and related to endothelial function and endothelial nitric oxide synthase in healthy women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 9, p. 3513-20, Sep 2009.

GIANNOPOULOU, I. et al. Effects of diet and/or exercise on the adipocytokine and inflammatory cytokine levels of postmenopausal women with type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 54, n. 7, p. 866-75, Jul 2005.

GREEN, J. S. et al. Menopause, estrogen, and training effects on exercise hemodynamics: the HERITAGE study. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 1, p. 74-82, Jan 2002.

GRYGLEWSKI, R. J.; MONCADA, S.; PALMER, R. M. Bioassay of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor (EDRF) from porcine aortic endothelial cells. **Br J Pharmacol**, v. 87, n. 4, p. 685-94, Apr 1986.

GULCELIK, N. E. et al. Adipocytokines and aging: adiponectin and leptin. **Minerva Endocrinol**, v. 38, n. 2, p. 203-10, Jun 2013.

GUS, I. Perfis de saúde: Brasil, 2006 - modificações e suas causas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. e88-e91, 2007.

GUSTAT, J. et al. Relation of self-rated measures of physical activity to multiple risk factors of insulin resistance syndrome in young adults: the Bogalusa Heart Study. **J Clin Epidemiol**, v. 55, n. 10, p. 997-1006, Oct 2002.

HAFFNER, S. M. Risk constellations in patients with the metabolic syndrome: epidemiology, diagnosis, and treatment patterns. **Am J Med**, v. 119, n. 5 Suppl 1, p. S3-9, May 2006.

HALLFRISCH, J.; BEHALL, K. M. Breath hydrogen and methane responses of men and women to breads made with white flour or whole wheat flours of different particle sizes. **J Am Coll Nutr**, v. 18, n. 4, p. 296-302, Aug 1999.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **J Neurochem**, v. 59, n. 5, p. 1609-23, Nov 1992.

_____. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans**, v. 35, n. Pt 5, p. 1147-50, Nov 2007.

HALPERN, A. A importância da obesidade. **Diabetes & Metabolismo**, v. 2, p. 114-15, 1998.

HALPERN, W.; MULVANY, M. J. Tension responses to small length changes of vascular smooth muscle cells [proceedings]. **J Physiol**, v. 265, n. 1, p. 21P-23P, Feb 1977.

- HARTHMANN, A. D. et al. Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats. **Auton Neurosci**, v. 133, n. 2, p. 115-20, May 30 2007.
- HEEREN, M. V. et al. Exercise improves cardiovascular control in a model of dislipidemia and menopause. **Maturitas**, v. 62, n. 2, p. 200-4, Feb 20 2009.
- HERNANDES, L. et al. Streptozotocin-induced diabetes duration is important to determine changes in the number and basophily of myenteric neurons. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 58, n. 4, p. 1035-9, Dec 2000.
- HERNANDEZ, I. et al. 17beta-estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 279, n. 5, p. R1599-605, Nov 2000.
- HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin Hematol**, v. 26, n. 4, p. 277-85, Oct 1989.
- HINOJOSA, E.; BOYD, A. R.; ORIHUELA, C. J. Age-associated inflammation and toll-like receptor dysfunction prime the lungs for pneumococcal pneumonia. **J Infect Dis**, v. 200, n. 4, p. 546-54, Aug 15 2009.
- HOLLOSZY, J. O. et al. Effects of exercise on glucose tolerance and insulin resistance. Brief review and some preliminary results. **Acta Med Scand Suppl**, v. 711, p. 55-65, 1986.
- HUGHSON, R. L.; SHOEMAKER, J. K. Autonomic responses to exercise: Deconditioning/inactivity. **Auton Neurosci**, v. 188, p. 32-5, Mar 2015.
- HUSAIN, K.; HAZELRIGG, S. R. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. **Biochim Biophys Acta**, v. 1587, n. 1, p. 75-82, May 21 2002.
- HWANG, I. S. et al. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Hypertension**, v. 10, n. 5, p. 512-6, Nov 1987.
- IRIGOYEN, M. C. et al. Fisiopatologia da hipertensão: o que avançamos? . **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v. 13, n. 1, p. 20-45, 2003.
- IRIGOYEN, M. C. et al. Aging and baroreflex control of RSNA and heart rate in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 279, n. 5, p. R1865-71, Nov 2000.
- IRIGOYEN, M. C. et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 998-1003, Oct 2005.
- ITOH, H.; BUNAG, R. D. Aging reduces cardiovascular and sympathetic responses to NTS injections of serotonin in rats. **Exp Gerontol**, v. 27, n. 3, p. 309-20, 1992.
- JAKICIC, J. M. et al. American College of Sports Medicine position stand. Appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 12, p. 2145-56, Dec 2001.

JOYNER, M. J. **Not so fast: intrinsic heart rate vs. β -adrenergic responsiveness in the aging human heart.** 2008. 3-4

KAKARLA, P.; VADLURI, G.; REDDY KESIREDDY, S. Response of hepatic antioxidant system to exercise training in aging female rat. **J Exp Zool A Comp Exp Biol**, v. 303, n. 3, p. 203-8, Mar 1 2005.

KANIS, J. A. et al. A reference standard for the description of osteoporosis. **Bone**, v. 42, n. 3, p. 467-75, Mar 2008.

KARASIK, D. How pleiotropic genetics of the musculoskeletal system can inform genomics and phenomics of aging. **Age**, v. 33, n. 1, p. 49-62, 2011.

KARASON, K. et al. Heart rate variability in obesity and the effect of weight loss. **Am J Cardiol**, v. 83, n. 8, p. 1242-7, Apr 15 1999.

KARIM, R. et al. Association of endogenous sex hormones with adipokines and ghrelin in postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 100, n. 2, p. 508-15, Feb 2015.

KELISHADI, R. Childhood overweight, obesity, and the metabolic syndrome in developing countries. **Epidemiol Rev**, v. 29, p. 62-76, 2007.

KIRAY, M. et al. Suppression of apoptosis and oxidative stress by deprenyl and estradiol in aged rat liver. **Acta Histochem**, v. 109, n. 6, p. 480-5, 2007.

KIRCHHEIM, H. R. Systemic arterial baroreceptor reflexes. **Physiol Rev**, v. 56, n. 1, p. 100-77, Jan 1976.

KIRWAN, L. D. et al. Exercise training in women with heart disease: influence of hormone replacement therapy. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 2, p. 185-92, Feb 2003.

KLEIGER, R. E. et al. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **Am J Cardiol**, v. 59, n. 4, p. 256-62, Feb 1 1987.

KOCHANNEK, K. D. et al. Deaths: final data for 2009. **Natl Vital Stat Rep**, v. 60, n. 3, p. 1-116, Dec 29 2011.

KOENIG, R. et al. Avenanthramide supplementation attenuates exercise-induced inflammation in postmenopausal women. **Nutr J**, v. 13, p. 21, 2014.

KULLER, L. H. et al. Epidemiologic studies of menopause: changes in risk factors and disease. **Exp Gerontol**, v. 29, n. 3-4, p. 495-509, May-Aug 1994.

KUO, T. B. et al. Effect of aging on gender differences in neural control of heart rate. **Am J Physiol**, v. 277, n. 6 Pt 2, p. H2233-9, Dec 1999.

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

LACKLAND, D.; VOEKS, J. Metabolic Syndrome and Hypertension: Regular Exercise as Part of Lifestyle Management. **Current Hypertension Reports**, v. 16, n. 11, p. 1-7, 2014/09/05 2014.

LAITINEN, T. et al. Age and gender dependency of baroreflex sensitivity in healthy subjects. **J Appl Physiol** (1985), v. 84, n. 2, p. 576-83, Feb 1998.

LAKKA, T. A. et al. Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 8, p. 1279-86, Aug 2003.

LANDMESSER, U.; HORNIG, B.; DREXLER, H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? **Circulation**, v. 109, n. 21 Suppl 1, p. II27-33, Jun 1 2004.

LANDSBERG, L. et al. Obesity-related hypertension: pathogenesis, cardiovascular risk, and treatment--a position paper of the The Obesity Society and The American Society of Hypertension. **Obesity (Silver Spring)**, v. 21, n. 1, p. 8-24, Jan 2013.

LATOUR, M. G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J. M. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **J Appl Physiol** (1985), v. 90, n. 1, p. 235-41, Jan 2001.

LAURINDO, F. R. et al. Vascular free radical release. Ex vivo and in vivo evidence for a flow-dependent endothelial mechanism. **Circ Res**, v. 74, n. 4, p. 700-9, Apr 1994.

LAVASANI, M. et al. Muscle-derived stem/progenitor cell dysfunction limits healthspan and lifespan in a murine progeria model. **Nat Commun**, v. 3, p. 608, 2012.

LEIBOWITZ, D. et al. Association of an estrogen receptor-alpha gene polymorphism with left ventricular mass. **Blood Press**, v. 15, n. 1, p. 45-50, 2006.

LEVINE, R. Monosaccharides in health and disease. **Annu Rev Nutr**, v. 6, p. 211-24, 1986.

LIAO, D. et al. Association of cardiac autonomic function and the development of hypertension: the ARIC study. **Am J Hypertens**, v. 9, n. 12 Pt 1, p. 1147-56, Dec 1996.

LIAO, D. et al. Multiple Metabolic Syndrome Is Associated With Lower Heart Rate Variability: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Diabetes Care**, v. 21, n. 12, p. 2116-2122, December 1, 1998 1998.

LLESUY, S. F. et al. Comparison of lipid peroxidation and myocardial damage induced by adriamycin and 4'-epiadriamycin in mice. **Tumori**, v. 71, n. 3, p. 241-9, Jun 30 1985.

LOESCH, A. Perivascular nerves and vascular endothelium: recent advances. **Histol Histopathol**, v. 17, n. 2, p. 591-7, Apr 2002.

LOPES, G. S. et al. Aging-related changes of intracellular Ca²⁺ stores and contractile response of intestinal smooth muscle. **Exp Gerontol**, v. 41, n. 1, p. 55-62, Jan 2006.

- LOPES, G. S. et al. Mitochondrial alterations and apoptosis in smooth muscle from aged rats. **Biochim Biophys Acta**, v. 1658, n. 3, p. 187-94, Oct 4 2004.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v. 193, n. 1, p. 265-75, Nov 1951.
- MACHI, J. F. et al. Walking promotes metabolic and baroreflex sensitivity improvement in fructose-fed male rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 1, p. 41-9, Jan 2013.
- MAEDA, C. Y. et al. Autonomic dysfunction in short-term experimental diabetes. **Hypertension**, v. 26, n. 6 Pt 2, p. 1100-4, Dec 1995.
- MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz J Biol**, v. 62, n. 4A, p. 609-14, Nov 2002.
- MARTINKA, P. et al. Adenosine increases calcium sensitivity via receptor-independent activation of the p38/MK2 pathway in mesenteric arteries. **Acta Physiologica**, v. 193, n. 1, p. 37-46, 2008.
- MAYES, J. S.; WATSON, G. H. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. **Obesity Reviews**, v. 5, n. 4, p. 197-216, 2004.
- MILLS, B. D. A training program for housekeepers. 6. Trainees put their training into practice. **Mod Hosp**, v. 89, n. 2, p. 136; passim, Aug 1957.
- MILLS, G. C. Glutathione peroxidase and the destruction of hydrogen peroxide in animal tissues. **Arch Biochem Biophys**, v. 86, p. 1-5, Jan 1960.
- MOODITHAYA, S. S.; AVADHANY, S. T. Comparison of cardiac autonomic activity between pre and post menopausal women using heart rate variability. **Indian J Physiol Pharmacol**, v. 53, n. 3, p. 227-34, Jul-Sep 2009.
- MORGADO, A.; SCHNEIDER, S. H. Sports medicine for the diabetic athlete. **N J Med**, v. 88, n. 9, p. 651-4, Sep 1991.
- MOSTARDA, C. et al. Exercise training prevents diastolic dysfunction induced by metabolic syndrome in rats. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 67, n. 7, p. 815-20, Jul 2012.
- MOSTARDA, C. et al. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. **Auton Neurosci**, v. 145, n. 1-2, p. 11-6, Jan 28 2009.
- MOSTARDA, C. et al. Hipertensão e modulação autonômica no idoso: papel do exercício físico. **Revista Brasileira de Hipertensão** v. 16, n. 1, p. 55-60, 2009.
- MUELLER, P. J. Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 34, n. 4, p. 377-84, Apr 2007.
- MULVANY, M. J. Small artery remodeling and significance in the development of hypertension. **News Physiol Sci**, v. 17, p. 105-9, Jun 2002.

_____. Small artery remodelling in hypertension. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 110, n. 1, p. 49-55, Jan 2012.

MYERS, J. et al. Clinical, hemodynamic, and cardiopulmonary exercise test determinants of survival in patients referred for evaluation of heart failure. **Ann Intern Med**, v. 129, n. 4, p. 286-93, Aug 15 1998.

NEGRÃO, C. E.; BARRETO, A. C. P. **Cardiologia do exercício – Do atleta ao cardiopata**. Barueri: Editora Manole, 2005.

NORDMANN, R. Alcohol and antioxidant systems. **Alcohol Alcohol**, v. 29, n. 5, p. 513-22, Sep 1994.

ORTMAN, J. M.; VELKOFF, V. A.; HOGAN, H. An Aging Nation: The Older Population in the United States. 2014 2014. Disponível em: <<http://www.census.gov/library/publications/2014/demo/p25-1140.html>>. Acesso em: 24/12/2014.

OU DOT, A. et al. Endothelial dysfunction in insulin-resistant rats is associated with oxidative stress and COX pathway dysregulation. **Physiol Res**, v. 58, n. 4, p. 499-509, 2009.

OZTEKIN, E. et al. Lipid peroxidation in liver tissue of ovariectomized and pinealectomized rats: effect of estradiol and progesterone supplementation. **Cell Biochem Funct**, v. 25, n. 4, p. 401-5, Jul-Aug 2007.

PANZA, J. A. et al. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **N Engl J Med**, v. 323, n. 1, p. 22-7, Jul 5 1990.

PAULI, J. R. et al. Acute exercise reverses aged-induced impairments in insulin signaling in rodent skeletal muscle. **Mech Ageing Dev**, v. 131, n. 5, p. 323-9, May 2010.

PEDERSON, T. C.; BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal electron transport. The role of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-cytochrome c reductase in liver microsomal lipid peroxidation. **J Biol Chem**, v. 248, n. 20, p. 7134-41, Oct 25 1973.

PERSKY, A. M. et al. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 223, n. 1, p. 59-66, Jan 2000.

PETER, I. et al. Age-related changes in echocardiographic measurements: association with variation in the estrogen receptor-alpha gene. **Hypertension**, v. 49, n. 5, p. 1000-6, May 2007.

PFEIFER, M. A. et al. Differential changes of autonomic nervous system function with age in man. **Am J Med**, v. 75, n. 2, p. 249-58, Aug 1983.

PRADHAN, A. D. Sex differences in the metabolic syndrome: implications for cardiovascular health in women. **Clin Chem**, v. 60, n. 1, p. 44-52, Jan 2014.

PUMPRLA, J. et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **Int J Cardiol**, v. 84, n. 1, p. 1-14, Jul 2002.

PUYO, A. M. et al. Fructose overload modifies vascular morphology and prostaglandin production in rats. **Auton Autacoid Pharmacol**, v. 24, n. 2, p. 29-35, Apr 2004.

QUINTEIRO, H. et al. Aerobic exercise training promotes additional cardiac benefits better than resistance exercise training in postmenopausal rats with diabetes. **Menopause**, Oct 13 2014.

RADAK, Z. et al. Age-associated increase in oxidative stress and nuclear factor kappaB activation are attenuated in rat liver by regular exercise. **FASEB J**, v. 18, n. 6, p. 749-50, Apr 2004.

RAO, V. S. et al. Association of inflammatory and oxidative stress markers with metabolic syndrome in asian indians in India. **Cardiol Res Pract**, v. 2011, p. 295976, 2010.

REIS, A. F. D. et al. Disfunção parassimpática, variabilidade da frequência cardíaca e estimulação colinérgica após infarto agudo do miocárdico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, p. 193-199, 1998.

REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods Enzymol**, v. 233, p. 357-63, 1994.

RIBEIRO FILHO, F. F. et al. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 230-238, 2006.

RODRIGUES, B. et al. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovascular Diabetology**, v. 6, p. 38-38, 2007.

RODRIGUES, B. et al. Role of exercise training on autonomic changes and inflammatory profile induced by myocardial infarction. **Mediators Inflamm**, v. 2014, p. 702473, 2014.

ROGER, V. L. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2011 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 123, n. 4, p. e18-e209, February 1, 2011 2011.

ROSSI, R. et al. Menopause and cardiovascular risk. **Pathophysiol Haemost Thromb**, v. 32, n. 5-6, p. 325-8, Sep-Dec 2002.

ROYER, M. et al. The US National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III): prevalence of the metabolic syndrome in postmenopausal Latin American women. **Climacteric**, v. 10, n. 2, p. 164-70, Apr 2007.

RUBANYI, G. M.; VANHOUTTE, P. M. Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. **Am J Physiol**, v. 250, n. 5 Pt 2, p. H815-21, May 1986.

RUBIN, P. C. et al. Noradrenaline release and clearance in relation to age and blood pressure in man. **Eur J Clin Invest**, v. 12, n. 2, p. 121-5, Apr 1982.

RUBIO-RUIZ, M. E. et al. Aging in blood vessels. Medicinal agents FOR systemic arterial hypertension in the elderly. **Ageing Res Rev**, v. 18, p. 132-47, Nov 2014.

SAAD, M. J. et al. Regulation of insulin receptor substrate-1 in liver and muscle of animal models of insulin resistance. **J Clin Invest**, v. 90, n. 5, p. 1839-49, Nov 1992.

SALADINI, F. et al. Regular physical activity is associated with improved small artery distensibility in young to middle-age stage 1 hypertensives. **Vasc Med**, v. 19, n. 6, p. 458-64, Dec 2014.

SANCHES, I. C. et al. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**, v. 19, n. 5, p. 562-8, May 2012.

SASTRE, E. et al. [Perivascular innervation of the superior mesenteric artery: pathophysiological implications]. **Rev Neurol**, v. 50, n. 12, p. 727-37, Jun 16 2010.

SCHAAN, B. D. et al. Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 12, p. 1895-902, Dec 2004.

SCHRECK, R.; ALBERMANN, K.; BAEUERLE, P. A. Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). **Free Radic Res Commun**, v. 17, n. 4, p. 221-37, 1992.

SEALS, D. R.; JABLONSKI, K. L.; DONATO, A. J. Aging and vascular endothelial function in humans. **Clin Sci (Lond)**, v. 120, n. 9, p. 357-75, May 2011.

SEVASTIANOVA, K. et al. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. **Am J Clin Nutr**, v. 96, n. 4, p. 727-34, Oct 2012.

SHARMA, N.; LI, L.; ECELBARGER, C. M. **Sex differences in renal and metabolic responses to a high-fructose diet in mice.** 2015. F400-F410

SHARP, J. C. et al. Analysis of Ovariectomy and Estrogen Effects on Body Composition in Rats by X-Ray and Magnetic Resonance Imaging Techniques. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 15, n. 1, p. 138-146, 2000.

SHIMOMURA, K. et al. Is Leptin a Key Factor which Develops Obesity by Ovariectomy? **Endocrine Journal**, v. 49, n. 4, p. 417-423, 2002.

SHINODA, M.; LATOUR, M. G.; LAVOIE, J. M. Effects of physical training on body composition and organ weights in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 26, n. 3, p. 335-43, Mar 2002.

SILVA, G. J. et al. Acute and chronic effects of exercise on baroreflexes in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 30, n. 3 Pt 2, p. 714-9, Sep 1997.

- SMITH, E. R. et al. White spotting variant mouse as an experimental model for ovarian aging and menopausal biology. **Menopause**, v. 19, n. 5, p. 588-96, May 2012.
- SOARES, P. P. et al. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. **Auton Neurosci**, v. 113, n. 1-2, p. 24-31, Jun 30 2004.
- SONG, D.; HUTCHINGS, S.; PANG, C. C. Chronic N-acetylcysteine prevents fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. **Eur J Pharmacol**, v. 508, n. 1-3, p. 205-10, Jan 31 2005.
- SONG, W. et al. Exercise training modulates the nitric oxide synthase profile in skeletal muscle from old rats. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 64, n. 5, p. 540-9, May 2009.
- SOUZA, M. S. S. et al. Relação entre adiponectina e distúrbios metabólicos. **Femina**, v. 32, n. 10, p. 847-850, 2004.
- SOUZA, S. B. et al. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. **Hypertension**, v. 50, n. 4, p. 786-91, Oct 2007.
- SOWERS, M. F.; CRAWFORD, S.; STERNFELD, B. Design, survey sampling and recruitment methods of SWAN: a multi-center, multi-ethnic, community-based cohort study of women and the menopausal transition. In: LOBOS, R.; MARCUS, R., *et al* (Ed.). **Menopause**. New York Academic Press, 2000. p.175-188.
- SOWERS, M. R.; LA PIETRA, M. T. Menopause: its epidemiology and potential association with chronic diseases. **Epidemiol Rev**, v. 17, n. 2, p. 287-302, 1995.
- STANHOPE, K. L. et al. Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 10, p. E1596-605, Oct 2011.
- STANHOPE, K. L.; SCHWARZ, J. M.; HAVEL, P. J. Adverse metabolic effects of dietary fructose: results from the recent epidemiological, clinical, and mechanistic studies. **Curr Opin Lipidol**, v. 24, n. 3, p. 198-206, Jun 2013.
- STANHOPE, K. L. et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. **J Clin Invest**, v. 119, n. 5, p. 1322-1334, 2009.
- STEFANICK, M. L. et al. Effects of diet and exercise in men and postmenopausal women with low levels of HDL cholesterol and high levels of LDL cholesterol. **N Engl J Med**, v. 339, n. 1, p. 12-20, Jul 2 1998.
- STRATTON, J. R. et al. Effects of aging on cardiovascular responses to parasympathetic withdrawal. **J Am Coll Cardiol**, v. 41, n. 11, p. 2077-83, Jun 4 2003.
- SUZUKI, M. et al. Effect of an insulin sensitizer, pioglitazone, on hypertension in fructose-drinking rats. **Jpn J Pharmacol**, v. 74, n. 4, p. 297-302, Aug 1997.

TADDEI, S. et al. Menopause is associated with endothelial dysfunction in women. **Hypertension**, v. 28, n. 4, p. 576-82, Oct 1996.

TAGLIAFERRI, C. et al. Increased body fat mass and tissue lipotoxicity associated with ovariectomy or high-fat diet differentially affects bone and skeletal muscle metabolism in rats. **Eur J Nutr**, Nov 5 2014.

TAGLIAFERRI, C. et al. Muscle and bone, two interconnected tissues. **Ageing Res Rev**, Mar 21 2015.

TANAHASHI, K. et al. Aerobic exercise training decreases plasma asymmetric dimethylarginine concentrations with increase in arterial compliance in postmenopausal women. **Am J Hypertens**, v. 27, n. 3, p. 415-21, Mar 2014.

TAPPY, L. et al. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. **Nutrition**, v. 26, n. 11-12, p. 1044-9, Nov-Dec 2010.

TEFF, K. L. et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 6, p. 2963-72, Jun 2004.

TERRACCIANO, C. et al. Differential features of muscle fiber atrophy in osteoporosis and osteoarthritis. **Osteoporos Int**, v. 24, n. 3, p. 1095-100, Mar 2013.

TEZINI, G. C. et al. Ageing is the main determinant of haemodynamics and autonomic cardiac changes observed in post-menopausal female rats. **Auton Neurosci**, v. 174, n. 1-2, p. 36-41, Mar 2013.

TIETZE, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. **Anal Biochem**, v. 27, n. 3, p. 502-22, Mar 1969.

TOPCUOGLU, A. et al. Effects of estrogens on oxidative protein damage in plasma and tissues in ovariectomised rats. **Clin Invest Med**, v. 32, n. 2, p. E133-43, 2009.

TORDOFF, M. G.; ALLEVA, A. M. Effect of drinking soda sweetened with aspartame or high-fructose corn syrup on food intake and body weight. **Am J Clin Nutr**, v. 51, n. 6, p. 963-9, Jun 1990.

TOTH, M. J. et al. Immune activation is associated with reduced skeletal muscle mass and physical function in chronic heart failure. **Int J Cardiol**, v. 109, n. 2, p. 179-187, 2006.

TRACEY, K. J. The inflammatory reflex. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 853-9, Dec 19-26 2002.

TRAN, L. T.; YUEN, V. G.; MCNEILL, J. H. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. **Mol Cell Biochem**, v. 332, n. 1-2, p. 145-59, Dec 2009.

VANDERLEI, L. C. et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, v. 24, n. 2, p. 205-17, Apr-Jun 2009.

- VIEIRA, D. C. et al. Decreased functional capacity and muscle strength in elderly women with metabolic syndrome. **Clin Interv Aging**, v. 8, p. 1377-86, 2013.
- VIRDIS, A. et al. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction associated with acute estrogen deprivation in normotensive women. **Circulation**, v. 101, n. 19, p. 2258-63, May 16 2000.
- VIVEROS, M. P. et al. A model of premature aging in mice based on altered stress-related behavioral response and immunosenescence. **Neuroimmunomodulation**, v. 14, n. 3-4, p. 157-62, 2007.
- WHELTON, S. P. et al. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann Intern Med**, v. 136, n. 7, p. 493-503, Apr 2 2002.
- WIERMAN, M. E.; KOHRT, W. M. Review Article: Vascular and Metabolic Effects of Sex Steroids: New Insights Into Clinical Trials. **Reproductive Sciences**, v. 14, n. 4, p. 300-314, May 1, 2007 2007.
- WILLIAMS, A. D. et al. Cardiovascular and metabolic effects of community based resistance training in an older population. **J Sci Med Sport**, v. 14, n. 4, p. 331-7, Jul 2011.
- WRONSKA, A. et al. White Adipose Tissue Depot-Specific Activity of Lipogenic Enzymes in Response to Fasting and Refeeding in Young and Old Rats. **Gerontology**, Feb 20 2015.
- XING, S. S. et al. Overexpression of interleukin-18 aggravates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction in fructose-fed rats. **Mol Med**, v. 16, n. 11-12, p. 465-70, Nov-Dec 2010.
- YOSHIDA, K. et al. Effects of exercise training on glomerular structure in fructose-fed spontaneously hypertensive rats. **Hypertens Res**, v. 26, n. 11, p. 907-14, Nov 2003.
- YOUNG, C. N. et al. Venous smooth muscle tone and responsiveness in older adults. **J Appl Physiol (1985)**, v. 101, n. 5, p. 1362-7, Nov 2006.
- ZAMO, F. S. et al. The renin–angiotensin system is modulated by swimming training depending on the age of spontaneously hypertensive rats. **Life Sciences**, v. 89, n. 3–4, p. 93-99, 2011.
- ZIEGLER, O. et al. [Macronutrients, fat mass, fatty acid flux and insulin sensitivity]. **Diabetes Metab**, v. 27, n. 2 Pt 2, p. 261-70, Apr 2001.