

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

**O processo inflamatório após a indução de infarto agudo do miocárdio
é atenuado por treinamento físico prévio em ratos:
análise dos mecanismos de cardioproteção induzida com o exercício**

Marília Harumi Higuchi dos Santos

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão

São Paulo

2009

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S237p Santos, Marília Harumi Higuchi dos
O processo inflamatório após a indução de infarto agudo do miocárdio é atenuado por treinamento físico prévio em ratos: análise dos mecanismos de cardioproteção induzida com o exercício / Marília Harumi Higuchi dos Santos. -- São Paulo, 2009.
103p.

Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Maranhão, Raul Cavalcante

1. Inflamação : Medicina 2. Exercício físico : Fisiologia humana 3. Infarto do miocárdio : Medicina I. T. II. Maranhão, Raul Cavalcante, orientador.

616.0473 CDD

MARÍLIA HARUMI HIGUCHI DOS SANTOS

O processo inflamatório após a indução de infarto agudo do miocárdio
é atenuado por treinamento físico prévio em ratos:
análise dos mecanismos de cardioproteção induzida com o exercício

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão
orientador/presidente

1º examinador

2º examinador

3º examinador

4º examinador

São Paulo, _____ de _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a

Carol, Carlos e Lourdes

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer a Deus que com amor me sustenta e me transforma a cada etapa de minha vida. Agradeço a Ele por tudo que tive, tenho e terei.

Ao querido orientador Prof. Raul Cavalcante Maranhão que, além de ser grande pesquisador, e professor, sempre me apoiou e incentivou a prosseguir, ajudando a encontrar as melhores soluções para as dificuldades encontradas ao longo do caminho, com grande paciência e compreensão humana.

Ao querido Prof. Dr. Paulo Tucci que não só colocou à disposição a área experimental de seu laboratório e me ensinou todos os procedimentos experimentais necessários para a realização dessa tese, como compartilhou sua amizade, perseverança e sabedoria, e sobretudo sua paciência.

À minha querida mãe, Profa. Dra. Maria de Lourdes Higuchi, modelo de mãe, médica e pesquisadora, que me orientou, auxiliou, e apoiou nos momentos mais difíceis da minha vida durante a realização dessa tese.

À minha avó, Da. Nina Higuchi (*in memoriam*), que sempre me provou que tudo era possível.

Ao meu querido pai Carlos Alberto e minha querida irmã Carol que me ajudaram a organizar a minha vida e as minhas emoções.

Aos meus colegas de trabalho do Laboratório do Prof. Tucci, Ednei, Andrey, Eduardo, Rosely, Danilo, Leonardo, Alexandra, sem os quais não teria completado meus experimentos.

Aos colegas do Laboratório de Metabolismo de Lípidos, em especial Fernanda e Tatiana, que me ensinaram as técnicas bioquímicas do laboratório, com paciência e amizade.

Aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Patologia do InCor que me auxiliaram com as técnicas de histologia, em especial, Renata, Joyce, Suely, Márcia e Nadia.

Aos meus amigos que toleraram as minhas variações de humor e ausências.

Aos meus companheiros de Corrida de Aventura, Danielle Nagaoka, Regis Bezerra, José Fernando Paiva e Ricardo Tavares que me ensinaram a ir muito mais longe do que eu imaginava ser possível.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado direto e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização deste doutorado.

SANTOS, M.H.H. dos. **O processo inflamatório após a indução de infarto agudo do miocárdio é atenuado por treinamento físico prévio em ratos: análise dos mecanismos de cardioproteção induzida com o exercício.** 2009. 103p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

O exercício é hoje reconhecidamente um fator de proteção para morbidade e mortalidade cardiovascular. Apesar de extensos dados de estudos epidemiológicos e de intervenção, os mecanismos subjacentes cardioprotetores do exercício ainda não estão bem elucidados. Alguns autores acreditam que o treinamento físico induz o desenvolvimento de células miocárdicas mais resistentes a agressões externas e maior vascularização. Além disso, o exercício parece exercer grande influência sobre o sistema imunológico. O entendimento dos mecanismos através dos quais o exercício influencia o desfecho clínico do infarto agudo do miocárdio (IM) pode trazer uma melhor compreensão das diferentes evoluções clínicas de indivíduos aparentemente semelhantes. O estudo de quais moléculas e sistemas estão envolvidas nessa cardioproteção e de como medeiam e integram a resposta miocárdica ao estresse pode influenciar futuras terapias. O objetivo do presente trabalho é testar a hipótese de que a ocorrência de IM em animais previamente treinados é acompanhada de melhor função ventricular pós-IM, maior vascularização, em associação com menor expressão de marcadores inflamatórios e moduladores do metabolismo, e menos apoptose. **Materiais e Métodos:** Sessões de 60 min/dia, 05 dias/semana, por 08 semanas foram aplicadas no grupo exercício. Após este período os animais exercitados e sedentários foram randomizados para cirurgia de IM através da ligadura da artéria coronária esquerda (EI e SI, respectivamente), ou cirurgia controle (ES e SS, respectivamente), seguido de um período de sedentarismo de 04 semanas. A função ventricular esquerda foi obtida através da ecocardiografia, bem como o tamanho do infarto. A técnica de imunohistoquímica foi utilizada para detecção de PPAR- α , PPAR- γ , TNF- α , NF- κ B, e α -actina, e os resultados foram quantificados através de um sistema de análise de imagens automática por detecção de cores. A técnica de TUNEL foi utilizada para marcação de apoptose. Foram estudadas três regiões do coração: infarto (I), peri-infarto (P), e miocárdio sem infarto (M). **Resultados:**

a mortalidade relacionada ao infarto foi maior no grupo sedentário em relação ao exercitado (25% vs 12%; $P < 0,05$), sem diferença em relação a tamanho de IM. Comparado ao grupo EI, SI exibiu menor fração de encurtamento, maior taxa de apoptose, e aumento dos marcadores inflamatórios NF-kB e TNF- α em I. O grupo SI mostrou correlações negativas entre quantidades de: a) PPAR- α em M vs TNF- α em I ($R: -0,826$, $P=0,005$); b) PPAR- α vs NF-kB em I ($R: -0,576$, $P=0,02$) e em P ($R: -0,505$, $P=0,03$); c) TNF- α em I e PPAR- α e PPAR- γ em M ($R: -0,826$, $P=0,005$ e $R: -0,786$, $P=0,02$); d) NF-kB em I e PPAR- α em M ($R: -0,576$, $P=0,01$) e e) NF-kB em P e PPAR- α em M ($R: -0,505$, $P=0,03$). Houve correlação positiva entre NF-kB e PPAR- γ em P ($R: 0,596$, $P=0,02$). A densidade arteriolar não diferiu entre os dois grupos infartados, porém no grupo EI houve correlação negativa entre a densidade arteriolar em I e PPAR- γ em P ($R: -0,76$, $P=0,02$). O número de células apoptóticas por campo (mediana) em SI e EI foi, respectivamente, 3,97 e 1,90 em I; 3,67 e 1,57 em P; e 1,41 e 1,13 em M. Houve menor número de células em apoptose em M em relação a I e P ($P < 0,001$) no grupo SI. Em EI, o número de células em apoptose/campo não diferiu entre as regiões estudadas. O número de células em apoptose por campo foi maior em SI comparado a EI em I ($3,97 \pm 0,61$ vs $1,90 \pm 1,82$; $P < 0,05$) e em P ($3,67 \pm 0,73$ vs $1,57 \pm 1,07$; $P < 0,01$). **Conclusão:** Os achados do presente trabalho suportam a hipótese de que a ocorrência de IM em animais previamente treinados é acompanhada de menor inflamação, menores taxas de apoptose, melhor função ventricular e possivelmente melhor interrelação entre moduladores do metabolismo energético e do sistema imunológico.

Descritores: exercício, cardioproteção, infarto agudo do miocárdio, inflamação, experimental

ABSTRACT

SANTOS, M.H.H. dos. **The inflammatory process after induced myocardial infarcts in rats is attenuated by previous exercise: analysis of the mechanisms of cardioprotection induced with the exercise.** 2009. 103p. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Exercise is a well recognized protective factor for cardiovascular morbidity and mortality. In spite of extensive data from epidemiologic studies and intervention, the subjacent cardioprotective mechanisms of exercise are still non clear. Some authors believe that the physical training induces development of more resistant myocardial fibers against external injuries and increased vascularization. Also, exercise seems to influence the modulation of the immune system. The understanding of mechanisms by which the exercise acts in the acute myocardial infarction (MI) progression may bring a better comprehension of different clinical outcome in apparently similar individuals. The knowledge of which molecules and systems are involved in this cardioprotection and how they mediate and integrate the stress myocardial response may help future therapies. The objective of the present work is to test the hypothesis that the occurrence of MI in previously trained animals is associated with a better post MI ventricular function, major vascularization, in association with lower expression of inflammatory markers and of metabolic modulators, and less apoptosis. **Material and Methods:** Sessions of 60 min/day, 05 days/week, for 08 weeks were applied in the exercised group. After this period, the exercised and sedentary animals were randomized to surgery for myocardial infarction, through the ligation of left coronary artery (EI and SI, respectively), or control surgery (ES and SS, respectively), followed by a 04 week sedentary period. The left ventricular function was obtained by the echocardiography as also the infarct size. Immunohistochemistry was used for detection of PPAR- α , PPAR- γ , TNF- α , NF- κ B, ad α -actin, and the results were quantified in an image analysis system by automatic color detection. TUNEL technique was used for detection of apoptosis. Three regions of the heart were studied: infarcted (I), peri-infarcted (P), and non infarcted myocardium (M). **Results:** Infarction-related mortality was higher in SI comparing to EI group (25% vs 12%; $P < 0.05$), without differences in MI size. Compared to EI, SI group exhibited lower shortening fraction, higher apoptosis rate and higher local levels of inflammatory markers, such as NF- κ B and

TNF- α at I. SI group showed negative correlations between the quantities of PPARs and inflammatory cytokines: a) PPAR- α at M vs TNF- α at I (R:-0.826, P=0.005); b) PPAR- α vs NF-kB at I (R: -0.576, P=0.02) and P (R:-0.505, P=0.03); c) TNF- α at I vs PPAR- α and PPAR- γ at M (R:-0.826, P=0.005 e R:-0.786, P=0.02); d) NF-kB at I vs PPAR- α at M (R:-0.576, P=0.01); and e) NF-kB at P vs PPAR- α at M (R:-0.505, P=0.03). There was a positive correlation between NF-kB vs PPAR- γ at P (R: 0.596, P=0.02). The arteriolar density did not differ between the two infarcted groups. However, the exercised infarcted group showed a negative correlation between the arteriolar density at I and PPAR- γ at P (R:-0.76, P=0.02).

Conclusion: These findings support the hypothesis that the occurrence of MI in previously trained animals is followed by lower local inflammatory markers, better ventricular function, and possibly a better interrelationship between modulators of the energetic metabolism and of the immune system.

Descriptors: exercise, cardioprotection, acute myocardial infarction, inflammation, experimental

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	PPARs e a transcrição gênica	27
Figura 2 -	Efeitos diretos e indiretos dos receptores nucleares PPAR	30
Figura 3 -	PPARs: ponto-chave na transcrição gênica	31
Figura 4 -	Ativação de TNF.	36
Figura 5 -	Sinalização induzida via TNF no coração.....	38
Figura 6 -	Vias de sinalização do NF-kB.....	41
Figura 7 -	Apoptose.....	45
Figura 8 -	Miocárdio com Infarto do Grupo Sedentário - coloração de Tricromo de Masson	52
Figura 9 -	Medida da função ventricular esquerda.....	56
Figura 10 -	Foto de região de infarto agudo do miocárdio com a reação de imunohistoquímica para detecção de TNF- α em marrom.....	57
Figura 11 -	Comparação de porcentagem de área positiva para antígenos de TNF- α na região de infarto entre os grupos sedentário-infarto (SI) e exercício-infarto (EI)	57
Figura 12 -	Foto de região de infarto agudo do miocárdio com a reação de imunohistoquímica para detecção de NF-kB em marrom.....	60
Figura 13 -	Porcentagem de área positiva para antígenos nucleares de NF-kB no infarto nos grupos sedentário-infarto (SI) e exercício-infarto (EI).....	61
Figura 14 -	Foto de região de infarto agudo do miocárdio com a reação de imunohistoquímica para detecção de PPAR- α em marrom.....	62
Figura 15 -	Foto de Região de Infarto do Miocárdio com detecção de PPAR- γ em marrom.....	63
Figura 16 -	Número de células em apoptose por campo nos grupos sedentário-infarto (SI) e exercício-infarto (EI) nas regiões de infarto e peri-infarto	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados Ecocardiográficos	55
Tabela 2 -	Porcentagem de área positiva para antígenos de α -actina de músculo liso nas regiões de infarto do miocárdio (I), peri-infarto (P), e de miocárdio sem infarto (M)	57
Tabela 3 -	Porcentagem de área positiva para antígenos de TNF- α nas regiões: infarto do miocárdio (I), peri-infarto, e miocárdio sem infarto (M)	58
Tabela 4 -	Porcentagem de área positiva para antígenos de NF-kB nas regiões: infarto do miocárdio (I), peri-infarto, e miocárdio sem infarto (M)	61
Tabela 5 -	Porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- α no infarto (I), peri-infarto (P), e miocárdio sem infarto (M)	62
Tabela 6 -	Porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- γ no infarto (I), no peri-infarto (P), e no miocárdio sem infarto (M)	63
Tabela 7	Número de células em apoptose por campo no infarto (I), peri-infarto (P) e miocárdio sem infarto (M)	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

acil-CoA	acil-coenzima A
ATP	adenosina trifosfato
Ca ²⁺	Calcio 2+
DAB	diaminobenzidina
DAC	doença arterial coronariana
DDFVE	diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo
DNA	acido desoxiribonucleico
DSFVE	diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo
EI	grupo exercício-infarto
EPCs	células endoteliais progenitoras
ES	grupo exercício-sham
FADD	proteína de domínio de morte associada ao Fas (Fas-associated death domain protein)
FADH ₂	flavina-adenina dinucleotídeo reduzido
FAN	fator associado à esfingomielinase neutra
FE	fração de encurtamento
FEAT	fração de encurtamento da área transversal (FEAT)
H ₂ O ₂	superóxido de hidrogênio
I	região de infarto
IKK	enzima inibidora da NF-kB quinase
IL	interleucina
IM	Infarto do Miocárdio

ISGF-RE	elemento responsivo ao fator gênico estimulado por interferon
LDL	Lipoproteína de Baixa densidade
M	região de miocárdio sem infarto
MCP-1	proteína-1 de quimiotração de monócitos
MEKK3	proteínoquinase mitógeno-ativada de quinase 3
MnSOD	superóxido dismutase de manganésio
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro
mtTFA	fator de transcrição mitocondrial
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NFAT	fator nuclear de células T ativadas (nuclear factor of activated T cells)
NF-κB	fator nuclear kappa B
NF-κB-RE	elemento de resposta do NF-κB
NIK	NF-κB quinase indutora
NRFs	fatores nucleares de respiração
P	região peri-infarto
PC	perímetro endocárdico da cavidade ventricular na diástole
PDK4	piruvato desidrogenase quinase 4
PGC-1	co-fator PPAR-γ coativador-1
PPAR	receptores ativados por proliferadores de peroxissomos
PPRE	elementos específicos de resposta ao PPAR
PRDX	Peroxidase mitocôndrio-específica
RIP	proteína que interage com receptor (receptor interacting protein)
RNA	ácido ribonucleico
RXR	receptor X retinóide
SI	grupo sedentário-infarto

SS	grupo sedentário-sham
STAT	tradutor de sinal e ativador de transcrição
sTNFR	receptor específico do fator de necrose tumoral solúvel
TER	elemento responsivo ao O-tetradecanoilforfol 13-acetato
TI	tamanho do infarto
TNF	fator de necrose tumoral
TNFR	receptor específico do fator de necrose tumoral
TNFR1	receptor 1 específico de TNF
TRADD	domínio de morte associado ao receptor de fator de necrose tumoral (TNFR-associated death domain)
TRAF2	fator 2 associado ao receptor de fator de necrose tumoral (TNF receptor associated factor-2)
TUNEL	<i>terminal dUTP nick-end labeling</i>
Ub	ubiquitina
VE	ventrículo esquerdo
VEGF	fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Fatores de risco relacionados ao estilo de vida.....	19
1.2 Inflamação, risco cardiovascular e exercício	20
1.3 Exercício e proteção miocárdica.....	21
1.4 Exercício e capacidade antioxidativa do coração.....	22
1.5 Exercício e metabolismo energético cardíaco	23
1.6 Exercício e apoptose	24
1.7 Exercício e citocinas.....	24
1.8 Metabolismo cardíaco	25
1.9 Regulação do fenótipo metabólico miocárdico	26
1.10 Controle da expressão de enzimas do metabolismo no coração. Atuação dos PPARs.....	27
1.10.1 PPAR- α	28
1.10.2 PPAR- γ	29
1.11 Remodelamento ventricular pós-infarto do miocárdio	32
1.12 TNF- α	34
1.13 Sistema NF- κ B	38
1.14 Angiogênese no Infarto	42
1.15 Apoptose	43
2 OBJETIVOS.....	48
3 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1 Animais.....	49
3.2 Treinamento de resistência	49
3.3 Indução de Infarto do Miocárdio	49
3.4 Ecodopplercardiograma	50
3.4.1 Avaliação do tamanho do infarto	51
3.5 Histologia.....	52
3.5.1 Coloração de Tricromio de Masson	52
3.5.2 Técnica de imunohistoquímica	52
3.5.3 Técnica de TUNEL para detecção de apoptose	53
3.6 Análise estatística.....	54
4 RESULTADOS.....	55
4.1 Resultados Ecocardiográficos.....	55
4.1.1 Tamanho do infarto, dimensão e função do ventrículo esquerdo	55
4.2 Quantificação das Reações de Imunohistoquímica.....	56
4.2.1 Área de Infarto	56
4.2.2 Densidade arteriolar.....	57
4.2.3 TNF- α	58

4.2.4	NF-kB.....	60
4.2.5	PPAR- α	62
4.2.6	PPAR- γ	63
4.2.7	Apoptose.....	64
4.2.8	Correlações.....	66
5	DISCUSSÃO.....	67
5.1	Risco cardiovascular – mortalidade relacionada com o IM.....	68
5.2	Exercício e função ventricular pós-IM.....	68
5.3	Exercício e angiogênese.....	69
5.4	Efeito do exercício sobre os PPARs.....	71
5.5	Modulação da resposta inflamatória pelo exercício.....	74
5.6	Modulação da expressão do receptor NF-kB pelo exercício.....	75
5.7	Modulação da apoptose através do exercício.....	76
5.8	Interrelações entre os fatores estudados - PPARs, TNF, NFkB e vascularização - e a influência do exercício prévio ao IM.....	76
6	CONCLUSÕES.....	80
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
	ANEXOS.....	104

1 INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular é uma das principais causas de morbidade e contribui substancialmente para os custos escalonados da saúde, sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo (Allender *et al.*, 2008). Fatores de risco cardiovascular modificáveis incluem fatores baseados no estilo de vida (por exemplo: tabagismo, exercício, e dieta) e condições patológicas (por exemplo: hipertensão, diabetes, obesidade, dislipidemia, síndrome metabólica). Quando dois ou mais desses fatores de risco ocorrem simultaneamente, interagem de forma sinérgica no aumento do risco cardiovascular (Stamler *et al.*, 1986; Meigs *et al.*, 1987). Com efeito, a presença de múltiplos fatores de risco em indivíduos assintomáticos, aparentemente saudáveis, aumenta o risco cardiovascular tanto quanto o faz em pacientes com doença cardiovascular sintomática. Por exemplo, em pacientes sem história cardiovascular, o risco em oito anos de doença cardiovascular aumenta em quatro vezes na presença de um único fator de risco (hipercolesterolemia)(Kannel, 1990; Steg *et al.*, 2007). Por consequência, hoje se considera menos importante a diferenciação entre prevenção primária e secundária, sendo mais relevante a avaliação do risco cardiovascular global para a redução dos eventos clínicos.

O risco cardiovascular global pode ser estimado através de diferentes escores de risco desenvolvidos pelas sociedades médicas. Entretanto, independentemente do método utilizado, existe a premissa de que o risco cardiovascular aumenta de maneira exponencial na presença de múltiplos fatores de risco.

O INTERHEART, um grande estudo internacional caso-controle designado para verificar a importância dos fatores de risco sobre a doença arterial coronária em 52 países do mundo, mostrou que nove fatores de risco (dislipidemia, tabagismo, hipertensão, diabetes, obesidade abdominal, fatores psicossociais,

ingestão pobre de frutas e verduras, consumo excessivo de álcool e falta de atividade física) eram responsáveis por 90% do risco de infarto do miocárdio (IM) (Yusuf *et al.*, 2004).

1.1 Fatores de risco relacionados ao estilo de vida

A modificação do estilo de vida representa o meio mais efetivo de reduzir o risco cardiovascular. O estudo INTERHEART mostrou que medidas como ingestão diária adequada de frutas e vegetais, prática regular de exercícios e cessação de tabagismo podem reduzir o risco relativo de IM em 80%.

O sedentarismo está associado a maior morbidade e mortalidade cardiovascular (Berlin e Colditz, 1990; Shepard e Balady, 1999; Booth *et al.*, 2002). Estudos epidemiológicos mostram que o exercício diminui a incidência de IM e que indivíduos ativos apresentam menores taxas de complicações e mortalidade relacionadas com IM (Sandvik *et al.*, 1993; Manson *et al.*, 2002). Por outro lado, a prática de atividade física mesmo de leve intensidade parece ter efeitos cardioprotetores importantes (Sandvik *et al.*, 1993; Wagner *et al.*, 2002).

Sabe-se que indivíduos fisicamente ativos têm menor risco de desenvolver doenças relacionadas com a idade e, em geral, têm maior longevidade (Blair *et al.*, 2001). Estudos epidemiológicos evidenciam que o exercício físico é um meio efetivo de prevenir várias doenças crônicas, tais como doenças cardíacas e diabetes tipo 2 (Colbert *et al.*, 2004; Stewart, 2004). Além disso, o exercício parece melhorar a imunidade do indivíduo. Alguns estudos mostram que indivíduos fisicamente ativos são menos susceptíveis a infecções virais e bacterianas do que indivíduos sedentários (DiPenta *et al.*, 2004; Kohut e Senchina, 2004).

Estudo sobre a associação entre comportamento sedentário e fatores de risco cardiovasculares em mulheres mostrou que assistir à televisão aumenta o risco de obesidade em 23% e o de diabetes tipo 2 em 13%, quando comparado com outros comportamentos de sedentarismo. (Hu *et al.*, 2003) Nesse estudo, a relação foi “dose-dependente”, com o maior risco correlacionando com o maior tempo gasto assistindo à televisão (20 horas por semana). Diferentemente, a

prática de caminhadas leves por mais de 30 minutos por dia reduziu o risco de obesidade em 24% e o de diabetes tipo 2 em 35%.

Atualmente, as recomendações da *American College of Sports Medicine* (Pate *et al.*, 1995) e da *American Heart Association* (Fletcher *et al.*, 2001) incluem a prática de exercício aeróbico leve a moderado por 30 minutos por dia na maioria dos dias da semana no intuito de promover redução de peso, redução de pressão arterial, melhora da sensibilidade à insulina e redução do colesterol de baixo peso molecular (LDL) (Hakim *et al.*, 1998; Manson *et al.*, 2002).

1.2 Inflamação, risco cardiovascular e exercício

Estudos transversais (cross-seccional) mostram associação entre inatividade física e baixo grau de inflamação sistêmica em indivíduos aparentemente saudáveis. Por outro lado, dois estudos longitudinais mostraram que o treinamento físico regular reduziu os níveis de proteína C reativa (PCR), sugerindo que a atividade física pode suprimir essa inflamação de baixo grau. A atividade física melhora a função endotelial, reduz a inflamação vascular e leva a aumento da perfusão miocárdica (Stewart *et al.*, 2002; Wannamethee *et al.*, 2002).

Apesar de extensos dados de estudos epidemiológicos e de intervenção, os mecanismos subjacentes aos benefícios cardioprotetores do exercício ainda não estão totalmente elucidados. Existe a possibilidade de que o treinamento físico torne as células miocárdicas mais resistentes a agressões externas.

A capacidade do miocárdio em adaptar-se com sucesso ao estresse externo, seja ele resultante de sobrecarga hemodinâmica ou de isquemia e/ou infarto do miocárdio, determina se o coração irá descompensar, ou ao contrário, se manterá a função preservada (Mann, 2003). A hipertrofia, as respostas citoprotetoras dos miócitos, e o tipo de reparo são três mecanismos críticos de adaptação que permitem que o coração se mantenha junto ao estresse. O conhecimento de que esses processos são críticos para a manutenção da homeostase miocárdica vem de longa data, porém, as moléculas que medeiam e integram a resposta

miocárdica, tanto em relação ao miócito intacto quanto em relação ao ventrículo como um todo, permanecem pouco entendidas. Do mesmo modo, as situações ou os mecanismos capazes de modificar a resposta inicial ao estresse são pouco compreendidos.

1.3 Exercício e proteção miocárdica

Uma medida prática contra a injúria cardíaca é a prática de exercícios. Sabe-se que sessões regulares de exercícios aeróbicos fornecem cardioproteção (Balady, 2002; Ignarro *et al.*, 2007; Powers *et al.*, 2008) e acredita-se que o exercício induza a um fenótipo cardioprotetor (Kavazis *et al.*, 2009). O exercício é capaz de reduzir vários fatores de risco para a doença arterial coronariana (DAC), tais como: hiperlipidemia, diabetes, obesidade, e hipertensão. Alguns ensaios clínicos bem desenhados demonstram que o exercício é um fator cardioprotetor independente, mesmo na presença de outros fatores de risco (Fletcher *et al.*, 1992).

Está bem estabelecido que exercícios aeróbicos de resistência (ex. corrida em esteira) conferem cardioproteção contra uma variedade de insultos isquêmicos incluindo injúria oxidativa induzida por isquemia e reperfusão, disfunção contrátil, e morte celular por necrose (Lennon *et al.*, 2004; Quindry *et al.*, 2005). O treinamento aeróbico melhora a função cardíaca e leva a adaptações celulares incluindo maior número de mitocôndrias, aumento dos miócitos e da sensibilidade ao cálcio. Mc Elroy *et al.*, 1978, demonstraram que ratos submetidos a treinamento físico prévio ao IM tiveram menor área de infarto medida 2 dias após o IM e o achado foi atribuído a grande neovascularização nos corações treinados. Freimann *et al.*, 2005, mostraram que ratos submetidos a treinamento programado antes da indução de IM por ligadura da coronária, tinham menor tamanho de infarto, junto com melhor vascularização e função miocárdica.

1.4 Exercício e capacidade antioxidativa do coração

O treinamento aeróbico regular também confere aumento da capacidade antioxidativa miocárdica. Estudos evidenciam que exercícios aeróbicos de resistência ocasionam redução na produção oxidante mitocondrial (Judge *et al.*, 2005; Starnes *et al.*, 2007) e aumento da atividade enzimática antioxidante mitocondrial (Judge *et al.*, 2005a; 2005b). Kavazis *et al.*, 2008, também mostraram que o treinamento físico promove adaptações importantes à mitocôndria cardíaca, conferindo um fenótipo resistente à apoptose. O exercício produz espécies reativas de oxigênio no coração (Salo *et al.*, 1991; Kumar *et al.*, 1992). Grande parte dessas espécies são geradas como resultado da redução univalente do oxigênio molecular a ânion superóxido por elétrons que escapam da cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria (Boveris e Chance, 1973). A maior parte dos ânions superóxido é neutralizada pela superóxido dismutase de manganésio, enzima localizada especificamente na matriz mitocondrial (Chance *et al.*, 1979). Entretanto, tal reação reduz apenas parcialmente o estresse oxidativo na mitocôndria, pois seu produto (isto é, H_2O_2) também é oxidante. Para contrabalançar a H_2O_2 intracelular, as células animais possuem enzimas antioxidantes adicionais que removem H_2O_2 [exemplo: catalase, glutathione peroxidase, e a família das peroxidases (isto é, PRDX)](Chang *et al.*, 2004).

Kavazis *et al.*, 2009, constataram aumento de uma peroxidase mitocôndria específica, a PRDXIII, após o treinamento aeróbico de resistência. Esse pode ser um dos mecanismos através do qual o exercício é capaz de atenuar a apoptose de cardiomiócitos, visto que o acúmulo intracelular de H_2O_2 causado pela depleção ou oxidação de PRDXIII resulta na aceleração de apoptose (Chang *et al.*, 2004; Cox *et al.*, 2008). Além disso, a hiperexpressão de PRDXIII foi capaz de inibir o remodelamento ventricular e a insuficiência cardíaca após IM. Em adição, a hiperexpressão de PRDXIII reduziu o estresse oxidativo mitocondrial e a disfunção mitocondrial após IM (Matsushima *et al.*, 2006). É importante destacar que a quantidade de proteína PRDXIII foi supra-regulada em animais pré-condicionados.

1.5 Exercício e metabolismo energético cardíaco

Após o treinamento aeróbico regular, ocorre aumento de várias proteínas da mitocôndria envolvidas na bioenergética celular. As mitocôndrias são organelas altamente dinâmicas que ajustam continuamente a regeneração de ATP para atender alterações nas demandas bioenergéticas das células. Dessa forma, a regulação de proteínas/enzimas envolvidas na produção de energia pode ajudar a satisfazer o aumento da demanda energética durante o exercício e/ou melhorar a função cardíaca no repouso.

Nos mamíferos, sob condições fisiológicas normais, o miocárdio obtém grande parte da energia a partir da oxidação de ácidos graxos. Entretanto, durante o desenvolvimento de doenças cardíacas, as fontes de energia do miocárdio vão da β -oxidação de ácidos graxos em direção à glicólise. Por outro lado, defeitos genéticos nas enzimas mitocondriais relacionadas com a β -oxidação de ácidos graxos em humanos sugerem que uma capacidade menor de utilização de ácidos graxos pode levar à insuficiência cardíaca e distúrbios do ritmo do coração. Por exemplo, a acil-CoA desidrogenase está regulada negativamente em modelo de insuficiência cardíaca em roedores, e amostras obtidas de corações humanos com cardiomiopatia apresentam níveis reduzidos de acil-CoA-desidrogenase (Barger e Kelly, 1999). Kavazis *et al.*, 2009, mostraram que ocorre aumento dos níveis protéicos de várias proteínas envolvidas com a β -oxidação de ácidos graxos [por exemplo: acil-CoA desidrogenase, hydroxiacil-coenziam A desidrogenase, delta(3,5)-delta(2,4)-dienoil-CoA isomerase] após sessões repetidas de treinamento aeróbico. Além disso, os níveis de duas proteínas relacionadas com o metabolismo de aminoácidos (metilmalonato-semi-aldeído desidrogenase e aspartato aminotransferase) aumentaram após o treinamento aeróbico. As aminotransferases podem converter alguns aminoácidos em outros aminoácidos, e a transaminação de aminoácidos pode ser um processo adaptativo importante no coração imaturo, melhorando sua resistência ao dano isquêmico (Julia *et al.*, 1990).

1.6 Exercício e apoptose

Outro mecanismo cardioprotetor obtido através do treinamento físico é atenuação de apoptose. O aumento de apoptose após lesões por isquemia e reperfusão em cardiomiócitos tem sido frequentemente reportado (Gottlieb *et al.*, 1994), entretanto, existem poucos dados para se descrever a influência do treinamento físico no tecido cardíaco. Siu *et al.*, 2004, mostraram que o treinamento físico atenua a extensão da apoptose em músculos cardíacos e esqueléticos 48 horas após a última sessão de treino. A cardioproteção induzida pelo exercício em relação à apoptose parece estar associada com a elevação de sistemas antioxidantes (tais como MnSOD) junto com fatores celulares que regulam os níveis citosólicos de cálcio [Ca²⁺] (Powers *et al.*, 2004; French *et al.*, 2008). Na realidade, está bem estabelecido que os radicais livres e outras espécies reativas produzidas durante a isquemia e reperfusão pode oxidar tanto lípidos quanto proteínas nas células e são contribuintes importantes para a injúria miocárdica induzida por isquemia e reperfusão (Powers *et al.*, 2002). Dessa forma, uma maior capacidade antioxidativa miocárdica forneceria maior proteção contra a injúria oxidativa induzida pela isquemia e em teoria, poderia proteger contra a apoptose.

1.7 Exercício e citocinas

As espécies reativas de oxigênio produzidas durante o exercício aumentam os níveis de fator de necrose tumoral (TNF)- α e interleucina (IL)-1 β no miocárdio. Entretanto, esse aumento de citocinas induzido pelo exercício é acompanhado de aumento em enzimas antioxidativas como a Mn-SOD durante a fase tardia de cardioproteção. Um importante elemento regulador das vias de sinalização de citocinas é o fator nuclear kappa B (NF-kB) e sua ativação é influenciada pelo estado de óxido-redução da célula (Abate *et al.*, 1990; Staal *et al.*, 1990; Menon *et al.*, 1993; Hayashi *et al.*, 1993; Schenk *et al.*, 1994; Pinkus *et al.*, 1996). A ativação do NF-kB estimula citocinas como TNF- α (Greene, 1990; Baeuerle e Henkel, 1995; Verma *et al.*, 1995) que, por sua vez, aumenta a produção de

espécies reativas de oxigênio nas células (Meier *et al.*, 1989; Radeke *et al.*, 1990; Tao *et al.*, 1993; Feng *et al.*, 1995; Nelson *et al.*, 1995).

Nesta tese, abordaremos como o exercício atua na prevenção de doenças cardiovasculares, mais especificamente sobre as fases aguda e crônica do IM, através da análise de reguladores do metabolismo cardíaco, citocinas inflamatórias, fatores reguladores da inflamação, apoptose e angiogênese. A seguir, revisaremos tópicos do metabolismo cardíaco nas doenças cardíacas, da inflamação pós-injúria miocárdica, da apoptose nas doenças cardíacas, e da angiogênese pós-IM.

1.8 Metabolismo cardíaco

Sob condições não isquêmicas, quase toda a formação de ATP no coração (>95%) é proveniente da fosforilação oxidativa na mitocôndria e o remanescente é proveniente de glicólise e formação de GTP no ciclo de ácido cítrico. O coração possui um conteúdo relativamente baixo de ATP (5 $\mu\text{mol/g}$ peso molhado) e altas taxas de hidrólise de ATP ($\sim 0,5 \mu\text{mol.g peso}^{-1}.\text{s}^{-1}$ no repouso). Dessa forma, em condições usuais, existe renovação praticamente completa do conteúdo de ATP no miocárdio a cada dez segundos (Opie, 1991; Ingwall, 2001). Cerca de 60-70% da hidrólise de ATP fornece energia para o encurtamento contrátil, e o remanescente, de 30-40% é primariamente usado pela Ca^{2+} -ATPase do retículo sarcoplasmático e outras bombas iônicas (Gibbs, 1978; Suga, 1990). No coração sadio, a taxa de hidrólise de ATP é regulada de modo que o conteúdo de ATP permaneça constante mesmo com grandes aumentos na potência do coração (Balaban, 1986; Balaban *et al.*, 1986) tal como ocorre durante exercício intenso ou estresse catecolaminérgico agudo.

A fosforilação oxidativa mitocondrial é abastecida com energia proveniente dos elétrons transferidos a partir de combustíveis de carbono por reações de desidrogenação que geram NADH e FADH₂, produzidos primariamente na via de oxidação β de ácidos graxos, o ciclo de ácido cítrico, e, em menor extensão, a partir da reação de piruvato desidrogenase. Existe uma ligação estoicométrica entre a taxa de oxidação dos combustíveis de carbono, a redução de NADH e

FADH₂, o fluxo através da cadeia de transporte de elétrons, o consumo de oxigênio, a fosforilação oxidativa, a hidrólise de ATP, a interação actina-miosina e a potência cardíaca de contração produzida pelo coração. Dessa maneira, um aumento na potência de contração resulta em aumento concomitante de todos os componentes do sistema.

As taxas de fluxo de substratos energéticos através das várias vias metabólicas são controladas tanto pelo grau de expressão das proteínas-chave do metabolismo (enzimas e transportadores) como pela regulação complexa da via que é exercida por regulação alostérica de enzimas e relação substrato/produto.

1.9 Regulação do fenótipo metabólico miocárdico

O fenótipo metabólico miocárdico pode ser definido como a preferência de substrato pelo coração frente a determinado *milieu* metabólico (por exemplo: concentrações arteriais de glicose, lactato, ácidos graxos, insulina, catecolaminas, oxigênio), frente a condições hemodinâmicas (frequência cardíaca, pré e pós-carga, fluxo sanguíneo coronário), e frente ao estado inotrópico. Esse fenótipo é primariamente dependente do conteúdo de proteínas (enzimas e transportadores) que facilitam o fluxo através de vias metabólicas e a estrutura e integridade de organelas celulares, tais como mitocôndrias, que são responsáveis pelo metabolismo energético. Várias enzimas do metabolismo são redundantes ou expressas em excesso e, dessa forma, é possível que alterações no fenótipo metabólico possam não ser inferidas a partir de alterações na expressão e atividade de determinada enzima. Assim, para a avaliação do metabolismo de substratos no miocárdio em situações de estresse, é importante avaliar vários aspectos da via metabólica. Além disso, é bastante complexa a análise de alterações na expressão, atividade e taxa de renovação de proteínas envolvidas no metabolismo energético. Parte do controle da transcrição gênica nuclear sobre a capacidade miocárdica de oxidação mitocondrial de ácidos graxos é realizada pelos fatores de transcrição ativados por ligantes denominados receptores ativados por proliferadores de peroxisomos, ou PPARs.

1.10 Controle da expressão de enzimas do metabolismo no coração. Atuação dos PPARs

Os PPARs são receptores nucleares envolvidos no controle celular do metabolismo de vários tecidos, incluindo o miocárdio. Esses fatores de transcrição controlam a expressão gênica através da formação inicial de heterodímeros com os receptores X retinóides e ligação posterior a elementos específicos de resposta (PPREs), localizados nas regiões promotoras de vários genes que codificam enzimas do metabolismo, como mostra a figura abaixo.

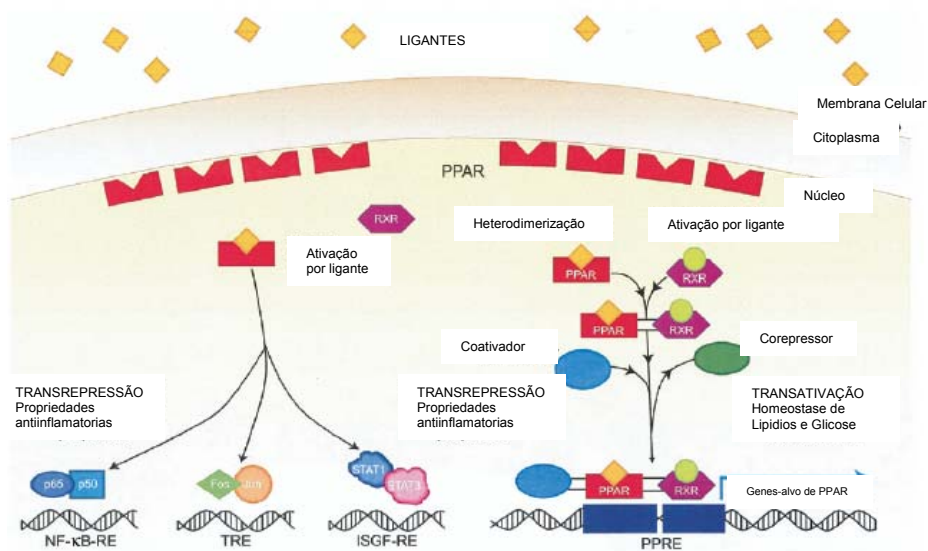


Figura 1 - PPARs e a transcrição gênica.

Mecanismos através dos quais os receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs) afetam a transcrição gênica. Uma vez ativados por ligantes, os PPARs levam à ativação ou repressão da transcrição gênica. A transativação, responsável primariamente pelos efeitos dos PPARs sobre a homeostase de lipídios e de glicose, envolve a heterodimerização de PPARs ligados e esse heterodímero altera a transcrição gênica através da ligação a elementos respondedores de PPAR específicos nas regiões promotoras dos genes-alvo. O recrutamento ligante-dependente de co-ativadores e proteínas co-fatores fornece mais um mecanismo de controle da transcrição gênica. A transrepressão, que é primariamente responsável pelos efeitos anti-inflamatorios dos PPARs, envolve a interferência de outras vias de transdução de sinais, incluindo a via do fator nuclear κB (NF- κB). ISGF-RE=elemento responsivo ao fator gênico estimulado por interferon; NF- κB -RE= elemento de resposta do NF- κB ; STAT= tradutor de sinal e ativador de transcrição; TRE= elemento responsivo ao O-tetradecanoilforfol 13-acetato; PPRE= elemento responsivo ao PPAR (Modificado de Libby e Plutzky, 2007)

O complexo PPAR/RXR, por sua vez, é supra-regulado pelo co-fator PPAR- γ coativador-1 (PGC-1). A hiperexpressão de PGC-1 aumenta o RNAm de vários genes mitocondriais e desencadeia biogênese mitocondrial. Uma vez ligado ao PPRE, o complexo PPAR/RXR/PGC-1 aumenta a taxa de transcrição de genes da oxidação de ácidos graxos e PDK4. A atividade dos heterodímeros de PPAR/RXR está aumentada por ácidos graxos e eicosanóides; desse modo, os heterodímeros de PPAR/RXR agem como sensores de lípidos na célula, resultando em maior capacidade para o catabolismo de ácidos graxos em resposta à maior exposição da célula a lípidos.

O coração sadio, perfundido aerobicamente, utiliza ácidos graxos livres como fonte primária de energia, embora o metabolismo de substratos no coração possa ser profundamente alterado em algumas condições patológicas (Lopaschuk *et al.*, 1994). Durante situações de hipóxia no miocárdio, ocorre um desvio no metabolismo energético. Há desvio da oxidação de ácidos graxos em direção ao aumento da utilização de glicose (Tripp, 1989). Os mecanismos moleculares exatos responsáveis pelas alterações no fenótipo metabólico do miocárdio são pouco compreendidos e podem estar relacionados com alterações na ativação e expressão dos PPARs. Neste trabalho, avaliaremos as isoformas PPAR- α e PPAR- γ , que estão relacionados com o metabolismo de lipídios.

1.10.1 PPAR- α

O PPAR- α é um membro da superfamília de receptores nucleares que promove a expressão de enzimas-chave da via oxidativa de ácidos graxos (Bishop-Bailey, 2000; Watanabe *et al.*, 2000). O PPAR- α ativado heterodimeriza-se no núcleo com o receptor RXR (Kliwer *et al.*, 1992) e, depois, esse dímero se liga a sequências específicas de DNA e ativa a expressão de enzimas do metabolismo de lípidos (Keller *et al.*, 1993; Huss *et al.*, 2001).

A expressão de PPAR- α é elevada em tecidos com altas taxas de oxidação de ácidos graxos (coração, fígado, gordura marrom, rim) e está associada à regulação da expressão de componentes-chave da captação, esterificação e oxidação de ácidos graxos por ativadores transcripcionais de genes codificadores

de proteínas-chave na via de β -oxidação. A ativação de PPAR- α por ligantes farmacológicos, como os fibratos, aumenta a expressão de enzimas relacionadas com a oxidação de ácidos graxos (Young *et al.*, 2001) e a taxa de oxidação de ácidos graxos nos cardiomiócitos (Gilde *et al.*, 2003). Em conformidade com esses achados, demonstrou-se que camundongos PPAR- α *knockout* têm menor expressão de enzimas de oxidação de ácidos graxos e menor oxidação desses substratos (Campbell *et al.*, 2002).

1.10.2 PPAR- γ

O RNAm de PPAR- γ é expresso em níveis muito baixos nos cardiomiócitos. Acredita-se que o PPAR- γ não exerça papel direto sobre a regulação da oxidação de ácidos graxos no coração. No entanto, esse receptor pode atuar indiretamente, através da redução da concentração de ácidos graxos à qual o coração é exposto. Os agentes sensibilizadores da insulina, as tiazolidinedionas, são ligantes do PPAR- γ e podem sequestrar ácidos graxos nos adipócitos, diminuir os ácidos graxos circulantes, e triglicérides e, dessa forma, reduzir a exposição do miocárdio aos ácidos graxos (Berger e Moller, 2002). Além disso, a ação dos agonistas de PPAR- γ sobre os adipócitos provavelmente reduz a estimulação por ligantes do complexo PPAR- α /RXR nos cardiomiócitos, reduzindo assim, a captação e a oxidação de ácidos graxos no coração.

Evidências a partir de pequenos estudos clínicos e estudos em animais sustentam o conceito de que variações na oxidação de carboidratos no miocárdio afetam a função VE e a eficiência mecânica do coração. Os mecanismos celulares responsáveis por esses efeitos não estão claros. Por exemplo, Lygate *et al.*, 2003, mostraram que a fração de ejeção do VE melhora com o uso de rosiglitazona, um agonista de PPAR- γ , em modelo de IM experimental. Por outro lado, o PPAR- γ parece ter papel chave na regulação da inflamação como será discutido adiante.

Os PPARs são expressos em células endoteliais, células de músculo liso vasculares, linfócitos T e monócitos/macrófagos, onde regulam genes-alvo envolvidos com a biologia vascular, como mostra a figura abaixo (Plutzky, 2001; Li

e Glass, 2002). Esses achados sugerem que a ativação de PPAR pode regular a inflamação. Os PPARs podem reprimir genes-alvo da inflamação alterando a expressão do importante NF- κ B (Plutzky, 2003), e ligantes de PPAR- γ são capazes de diminuir os níveis de proteína C reativa (Haffner *et al.*, 2002). Também se demonstrou que os agonistas de PPAR podem atuar em vias independentes de PPAR (Chawla *et al.*, 2001), como se vê na figura abaixo.

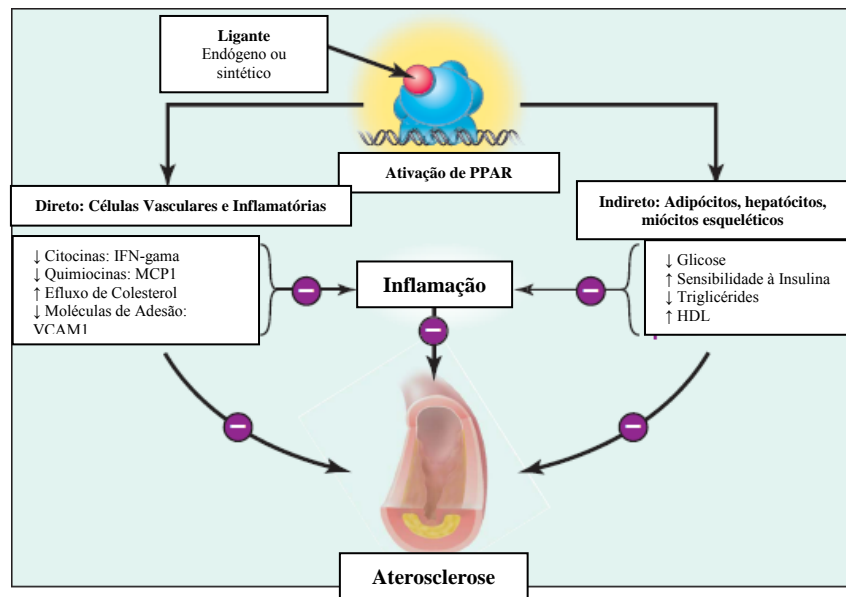


Figura 2 - Efeitos diretos e indiretos dos receptores nucleares PPAR.

A ativação de PPAR por ligantes sintéticos induz alterações metabólicas que podem limitar a inflamação e aterosclerose indiretamente. Alternativamente, a expressão de PPARs na maioria das células vasculares e a regulação de genes relevantes pelo PPAR nessas células aumenta a possibilidade de que os PPARs tenham efeito direto sobre a inflamação e aterosclerose (Fonte: Plutzky, 2003)

Interessantemente, os PPARs podem ter efeitos tanto anti como pró-inflamatórios. Lee *et al*, 2003, estudando a outra isoforma de PPAR, o PPAR-delta, mostram como a ativação desses receptores pode ser bastante complexa. Foi demonstrado que, embora a hiperexpressão ou deleção de PPAR-delta em macrófagos sugerisse um efeito pró-inflamatório desse receptor, o tratamento com um ligante sintético de PPAR-delta apontou o efeito oposto, diminuindo a produção de moléculas inflamatórias tais como proteína-1 de quimiotração de monócitos (MCP-1). Na análise desses achados, os autores postularam que o efeito do PPAR-delta depende da ligação ou não do receptor a um ligante, como

apresenta a figura abaixo. Na ausência de um ligante, o PPAR-delta sequestraria um repressor transcripcional das respostas inflamatórias, levando à inflamação. Na presença do ligante, o PPAR-delta liberaria o repressor, que estaria livre para exercer seus efeitos antiinflamatórios, como mostra a figura 3.

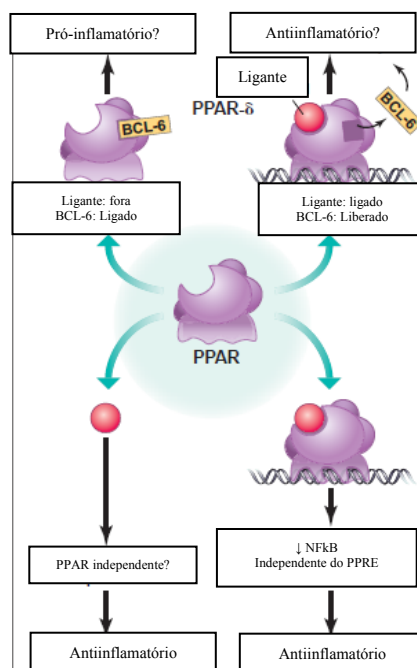


Figura 3 - PPARs: Ponto-chave na transcrição gênica.

A ligação de ligante ao receptor nuclear delta pode levar a liberação de BCL-6, um repressor transcripcional da inflamação. Isso pode resultar em expressão reduzida de genes de citocinas inflamatórias, menor inflamação, e redução na aterosclerose. Alternativamente, na ausência do ligante, o BCL-6 permanece ligado ao PPAR-delta, resultando em resposta pró-inflamatória. Em resposta a um ligante, PPARs ativados podem se ligar a elementos de resposta de PPAR nas regiões promotoras de genes-alvo específicos, controlando a sua expressão gênica. Os PPARs podem limitar a expressão de alguns genes-alvo da inflamação independentemente da associação com elementos de resposta de PPAR como, por exemplo, através da alteração da expressão de fatores de transcrição NF-κB e AP-1. Ligantes sintéticos de PPAR também podem ter efeitos PPAR-independentes (Fonte: Plutzky, 2003)

Esses achados são importantes também no estudo das outras isoformas de PPARs, visto que grande parte do conhecimento sobre esses receptores foi adquirida através de estudos com ligantes sintéticos. Soma-se a isso o grande desconhecimento em relação aos ligantes endógenos dos PPARs. Chawla *et al.* reportaram que a lipase de lipoproteínas, uma enzima-chave do metabolismo de triglicérides, gera ligantes de PPAR-delta *in vivo*. De fato, em células endoteliais,

mostrou-se que a lipoproteína lipase limita a resposta inflamatória de maneira PPAR- α -dependente. Trata-se de um efeito que requer atividade intacta da lipase e é independente da função não catalítica da enzima de promover a captação de lipoproteínas nos macrófagos (Plutzky, 2003). Dessa maneira, um melhor entendimento sobre a ativação *in natura* de PPARs é necessário e pode ter amplas implicações, revelando como o corpo produziria os próprios agonistas de PPAR que protegeriam contra o diabetes, a dislipidemia ou a aterosclerose.

1.11 Remodelamento ventricular pós-infarto do miocárdio

A indução de isquemia súbita por oclusão coronária desencadeia uma série de eventos que culminam na morte de cardiomiócitos isquêmicos (Jennings *et al.*, 1990). A necrose de cardiomiócitos provoca uma cascata inflamatória que serve para clarear o infarto de células mortas e debris celulares, resultando também em cicatrização e substituição do tecido danificado com cicatriz. Assim, o reparo cardíaco após IM está intimamente ligado à resposta inflamatória. A cicatrização do infarto pode ser subdividida em três fases superponíveis: a fase inflamatória, a fase proliferativa e a fase de maturação. Durante a fase inflamatória, a ativação de quimiocinas e cascatas de citocinas resulta no recrutamento de leucócitos para a região infartada. Os neutrófilos e macrófagos limpam a ferida de células mortas e debris celulares. Os macrófagos ativados liberam citocinas e fatores de crescimento, levando à formação de um tecido de granulação. Nesse estágio, a expressão de mediadores inflamatórios é suprimida, enquanto fibroblastos e células endoteliais proliferam. Durante a fase proliferativa da cicatrização, miofibroblastos ativados produzem proteínas de matriz extracelular, e forma-se uma extensa rede microvascular. A maturação da cicatriz evolui da seguinte maneira: fibroblastos e células vasculares sofrem apoptose, e forma-se uma matriz baseada em colágeno. A cicatrização do infarto resulta em alterações profundas na arquitetura e geometria ventricular, também conhecidas como remodelamento ventricular. As alterações moleculares e celulares afetam tanto os cardiomiócitos quanto as células intersticiais, manifestando-se clinicamente com aumento e alteração da forma do ventrículo, seguido de deterioração da função cardíaca. O remodelamento está ligado à progressão para insuficiência cardíaca e

pior prognóstico após o IM. Embora as vias envolvidas no remodelamento cardíaco permaneçam em grande parte pouco compreendidas, sabe-se que as alterações patológicas e estruturais associadas à cicatrização do infarto influenciam diretamente o remodelamento e afetam o prognóstico de pacientes com IM. Após a morte dos cardiomiócitos, as células do tecido de granulação e a rede da matriz extracelular fornecem a estabilidade mecânica ao tecido danificado.

A resposta inflamatória e a elaboração de citocinas são componentes integrais da resposta do hospedeiro à injúria e têm papel central ativo após o IM. O grau de resposta inflamatória é determinante nos desfechos clínicos. As citocinas inflamatórias são liberadas pelo miocárdio para modular o reparo tecidual e as adaptações pós-injúria. Citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , não são constitutivamente expressas no coração normal (Kapadia *et al.*, 1995; Kapadia *et al.*, 1997;) e são elaboradas logo após o IM. Acredita-se que essas citocinas possam regular agudamente a sobrevivência ou apoptose do miócito e desencadear respostas inflamatórias celulares adicionais. Cronicamente, elas podem mediar o reparo e remodelamento ventricular através da ativação de metaloproteinases, da formação de colágeno, da regulação das integrinas e da angiogênese, bem como da mobilização de células progenitoras. As consequências dos efeitos das citocinas inflamatórias podem ser favoráveis, levando à cicatrização e restauração de função, ou desfavoráveis, levando à ruptura cardíaca aguda ou dilatação crônica do ventrículo, pavimentando um caminho para a insuficiência cardíaca.

A produção e a supra-regulação dessas citocinas representam uma resposta intrínseca ou inata à injúria miocárdica que, cronicamente, pode levar à insuficiência miocárdica. A estimulação crônica da secreção de citocinas em resposta a isquemia miocárdica ou a infarto promove apoptose progressiva de miócitos (Krown *et al.*, 1996; Palojoki *et al.*, 2001), hipertrofia de miócitos (Yokoyama *et al.*, 1997), defeitos na contratilidade (Kubota *et al.*, 1997), e degeneração da matriz extracelular. Assim, o reparo cardíaco após o IM está intimamente ligado à resposta inflamatória.

Vários estudos demonstraram ativação de cascatas de citocinas no miocárdio infartado. A indução e liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β , e IL-6, são consistentemente encontradas em modelos experimentais de infarto agudo do miocárdio (Frangogiannis *et al.*, 1998a; 1998b; Dewald *et al.*, 2004). A ativação de complemento, geração de radicais livres e ativação de NF- κ B são capazes de estimular a síntese de RNAm de citocinas tanto em células residentes como em células derivadas da corrente sanguínea, resultando em intensa regulação positiva de citocinas na região de infarto. Um padrão característico das citocinas são a pleiotropia e a redundância: uma citocina exibe grande variedade de efeitos biológicos sobre vários tipos celulares, e citocinas similares exercem ações similares e superponíveis sobre o mesmo tipo celular. Os efeitos multifuncionais, superponíveis e muitas vezes contraditórios das citocinas dificultam o entendimento de seu papel funcional na cicatrização do infarto. Além disso, o complexo processo de remodelamento ventricular não está limitado às áreas de infarto (McKay *et al.*, 1986; Abernethy *et al.*, 1991). A causa dessa regulação gênica positiva de citocinas não está clara, embora vários fatores que provocam dilatação do ventrículo esquerdo (VE) possam contribuir para tal.

Algumas citocinas e moduladores da inflamação parecem ter papel central na regulação do remodelamento ventricular; dentre eles, destacam-se o TNF- α , o NF- κ B, o PPAR- α , e o PPAR- γ (Hanemaaijer *et al.*, 1993).

1.12 TNF- α

A liberação de TNF- α ocorre precocemente no miocárdio infartado e pode estimular a expressão de outros mediadores inflamatórios através dos leucócitos e células endoteliais.

O TNF- α é uma molécula de 17-kDa, secretada como homotrímero estável. Sob tal forma, o TNF- α tem meia-vida de cerca de 30 minutos e pode ser medido tanto no soro, como no plasma, através de ensaios citotóxicos ou imunorreativos.

Maekawa *et al.*, 2002, demonstraram que camundongos TNF- α -deficientes submetidos a protocolos de IM experimental, tinham menor expressão de quimiocinas e de moléculas de adesão, sugerindo papel importante do TNF- α na mediação da resposta inflamatória pós-IM.

O efeito hipertrófico do TNF- α foi demonstrado em vários estudos. Concentrações fisiologicamente relevantes de TNF- α promovem hipertrofia através do aumento da síntese de proteínas contráteis e estruturais, em modelos experimentais. Mostrou-se que camundongos transgênicos com hiperexpressão cardíaca de TNF desenvolvem hipertrofia (Kubota *et al.*, 1997).

O estímulo de TNF a cardiomiócitos altera o remodelamento ventricular por promover hipertrofia de cardiomiócitos (Yokoyama *et al.*, 1997), morte celular progressiva de cardiomiócitos através de apoptose (Krown *et al.*, 1996) e defeitos contráteis, bem como alterações na expressão gênica fetal (Kubota *et al.*, 1997; Kubota *et al.*, 2000). O TNF desencadeia apoptose em cardiomiócitos isolados através da via da esfingomielinase neutra.

O TNF também tem efeitos sobre o inotropismo cardíaco. Os efeitos inotrópicos negativos do TNF foram demonstrados em cardiomiócitos isolados e em modelos experimentais de IM, e parecem envolver diversos mecanismos. Por exemplo, expressão sustentada de TNF pode levar a regulação negativa de SERCA 2A, que é responsável pela homeostase do cálcio nos cardiomiócitos. Além de atuar sobre a inflamação, a apoptose, a hipertrofia e o inotropismo cardíaco, o TNF tem efeitos sobre o metabolismo cardíaco. Demonstrou-se que o TNF aumenta a atividade de lipoproteína lipase em corações de camundongos, e de porcos *in vivo* (Semb *et al.*, 1987).

O remodelamento ventricular também é afetado pelos efeitos do TNF sobre a matriz extracelular do miocárdio. A administração de endotoxina em humanos saudáveis, um potente estimulador para produção de TNF, provocou aumento de cerca de 20% do volume diastólico final de VE (Suffredini *et al.*, 1989). Estudo experimental mostrou que ratos submetidos a injeções de TNF tiveram degradação progressiva da matriz extracelular e dilatação do VE (Bozkurt *et al.*,

1998). Achados similares foram reportados em experimentos em cães (Pagani *et al.*, 1992).

As ações do TNF são mediadas pela ligação a um de seus receptores específicos, os receptores de TNF 1 e 2 (TNFR-1 e -2), que são expressos na superfície da maioria das células. Quando liberados, os fragmentos de domínio extracelulares de ambos os receptores podem ser detectados como formas solúveis (sTNFR-1 e -2), (Figura 4). Embora exista uma forte correlação entre níveis elevados de sTNFRs e aumento de mortalidade em 30 dias, em pacientes com insuficiência cardíaca, a função exata dos sTNFRs permanece obscura.

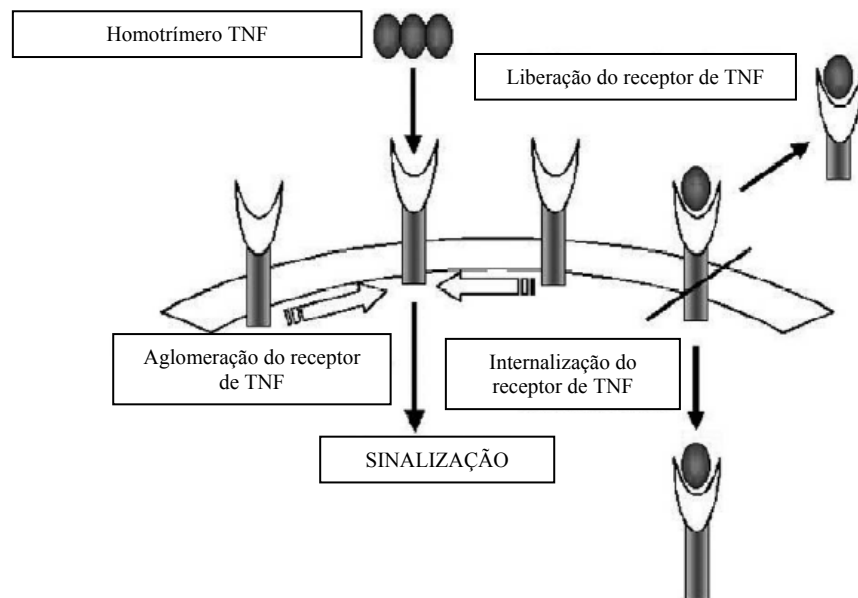


Figura 4 - Ativação de TNF.

Após a ligação dos homotrîmeros de TNF com os receptores de TNF na membrana celular, o agrupamento  necessário para induzir a transdução do sinal. A regulação da expressão de receptor TNF na membrana envolve tanto a liberação como a internalização do receptor de TNF (Modificado de Conraads *et al.*, 2002)

Citocinas como TNF- α parecem ter efeito pleiotrópico significativo sobre as células hospedeiras, com potencial para apoptose *versus* preservação e hipertrofia celular. O balanço líquido entre esses dois processos em oposição define o balanço do remodelamento. O ligante de TNF atinge todos os seus diferentes efeitos fisiológicos e patológicos através da sua ligação com dois

receptores distintos de superfície: o receptor de TNF 1 (TNF-R1) e o receptor de TNF 2 (TNFR-2). O TNF-R1 pertence à família de receptores de morte de superfície celular, uma subclasse crescente da superfamília de TNF-R que também inclui Fas/CD95 e outros receptores de morte. Em resposta ao TNF, o TNF-R1 é trimerizado, e a proteína do domínio de morte associada ao receptor de TNF (TRADD) é recrutada para as regiões do citoplasma dos receptores através de interações homotípicas com os domínios de morte, como mostra a figura 5. A proteína do domínio de morte associada ao receptor de TNF, recruta o domínio de morte associado ao Fas que, por sua vez, interage com a pró-caspase 8, estimulando, dessa forma, a ativação autoproteolítica da caspase-8, e, com isso, inicia-se a morte celular através da destruição dos mecanismos de auto-reparo celular. Entretanto, a ativação de proteínas da família Bcl-2, como o Bcl-2, Bcl-x, pode alterar a liberação do citocromo c e o balanço final líquido desses sinais determinará se a apoptose irá prosseguir por completo. Além da via apoptótica dependente das caspases, o TNF também pode induzir morte celular através do recrutamento de uma proteína denominada FAN (fator associado à esfingomielinase neutra). O FAN interage diretamente com a esfingomielinase ligada à membrana com degeneração resultante de ceramida. A ceramida desencadeia a apoptose através de um mecanismo que parece envolver espécies reativas de oxigênio.

Por outro lado, fatores associados aos TNFR, como o TRAF2, interagem e ativam moléculas de sinalização, como a quinase indutora de NFκB, que fosforila a IKK (inibidora da NF-κB quinase) que leva à translocação de NF-κB para o núcleo e a ativação de genes envolvidos com a inflamação, crescimento e sobrevivência das células (Liu *et al.*, 1996; Natoli *et al.*, 1997).

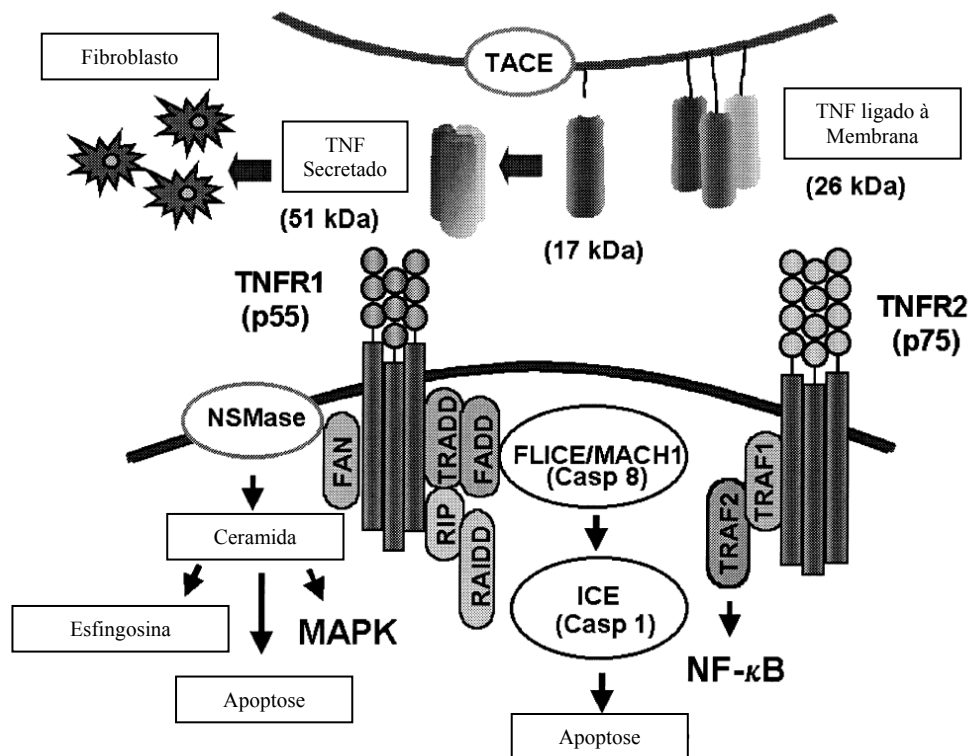


Figura 5 - Sinalização induzida via TNF no coração.

Esquema proposto para a sinalização TNF-induzida no coração. Como mostrado, o TNF secretado é capaz de se ligar a receptores de TNF em vários tipos celulares, enquanto que o TNF ligado a membrana é confinado a ligação a receptores de TNF nas células adjacentes. (Modificado de Mann, 2002)

1.13 Sistema NF-κB

O NF-κB é um fator de transcrição bem caracterizado e que desencadeia uma resposta hipertrófica em miócitos cardíacos (Gupta *et al.*, 2002). É um fator de transcrição ubíquo e multifuncional que modula a expressão de uma variedade de genes que codificam a transcrição de genes da inflamação, tais como citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento (Baeuerle e Henkel, 1994). Nas células em repouso, as proteínas de NF-κB estão presentes no citoplasma sob a forma de heterodímeros inativos compostos de duas subunidades, p50 e p65, e estão ligados a proteína inibitória IκB-α, que previne a translocação para dentro do núcleo da célula (Baldwin Jr., 1996). Sob estímulo, a IκB é fosforilada e degradada por proteólise, através de uma via mediada por 26S proteossomo e que facilita a translocação do NF-κB para dentro do núcleo e regula a transcrição gênica (Thurberg e Collins, 1998). Um passo crítico na ativação de NF-κB é a

fosforilação de I κ Bs por um complexo multimérico chamado complexo I κ B quinase (IKK) e que consiste de em duas subunidades catalíticas (IKK-alfa e IKK-beta) (Zandi *et al.*, 1998), o modulador essencial de NF- κ B, IKK- γ e a proteína associada ao IKK (Mercurio *et al.*, 1999). Um paradigma geral da ativação de NF- κ B pelo complexo IKK suporta que a ativação sinal-induzida das I κ B quinases fosforilam a I κ B- α , que desencadeia a subsequente degradação de I κ B- α e a ativação/translocação de NF- κ B.

No miocárdio isquêmico, o complexo NF- κ B e I κ B tem papel chave na regulação da expressão de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão (Lenardo e Baltimore, 1989). O NF- κ B é ativado por um grande número de agentes, incluindo citocinas, como TNF-alfa, e radicais livres. Os genes regulados pela família de fatores de transcrição do NF- κ B são diversos e compreendem aqueles envolvidos com a resposta inflamatória, a adesão celular e o controle de crescimento (Stancovski e Baltimore, 1997).

Após a ativação, o NF- κ B transloca-se para o núcleo e liga-se às regiões promotoras ou amplificadoras de genes-alvo, iniciando a transcrição desses genes. A ativação de NF- κ B já foi demonstrada em vários modelos de isquemia e reperfusão miocárdica experimental (Chandrasekar e Freeman, 1997; Kupatt *et al.*, 1999). A transferência *in vivo* de oligodeoxinucleotídeos de NF- κ B para a ligação com o fator transcricional, bloqueou a ativação de genes inflamatórios, reduziu a extensão do IM após reperfusão, sugerindo papel crucial do NF- κ B na regulação da resposta inflamatória pós-IM (Morishita *et al.*, 1997).

A ativação de NF- κ B durante o processo de hipertrofia cardíaca em miócitos cardíacos neonatal já foi previamente demonstrada (Purcell *et al.*, 2001). Embora a atrofia muscular envolva a ativação diferencial de múltiplas vias de sinalização celular, sugere-se que o NF- κ B é um dos mais importantes sistemas de sinalização e sua ativação leva à perda de músculo esquelético (Hong *et al.*, 2008). Citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , funcionam através da ativação de NF- κ B. Estudos em modelos animais mostraram que a modulação específica da atividade de NF- κ B pode prevenir a perda muscular na distrofia muscular de *Duchenne*, em vários tipos de câncer, em injúrias nervosas, e em

descondicionamento muscular, etc (Cai *et al.*, 2004; Hunter e Kandarian, 2004; Mourkioti *et al.*, 2006; Acharyya *et al.*, 2007).

A família do NF- κ B é constituída por cinco membros que podem ser divididos em dois grupos. Um grupo inclui RelA (p65), RelB e c-Rel, que são sintetizadas como proteínas maduras e são caracterizadas pela presença de um domínio homólogo Rel N-terminal (RHD), essencial para a dimerização e ligação de DNA e um domínio de ativação transcricional C terminal. O segundo grupo engloba as proteínas NF- κ B1 (p50) e NF- κ B2 (p52), que são sintetizadas como grandes precursoras p105 e p100, respectivamente, e contêm um RHD N terminal e um domínio de repetição anquirina C terminal. O processamento proteolítico de p105 e p100 no terminal C dá origem às proteínas p50 e p52, respectivamente. Ambas as proteínas p50 e p52 contêm um RHD N terminal, mas não têm domínios de ativação transcricional na terminação C (Hayden e Ghosh, 2004). Membros diferentes da família NF- κ B dimerizam-se para facilitar a ligação ao DNA. Entre eles, p50 e p65 são os heterodímeros mais prototípicos presentes em quase todos os tipos celulares e são responsáveis pela expressão aumentada de grande número de genes pró-inflamatórios e de sobrevivência celular. A interação com os I κ Bs mascara a sequência de localização nuclear no complexo NF- κ B, prevenindo a translocação para o núcleo e mantendo o NF- κ B em um estado inativo no compartimento citoplasmático.

O complexo NF- κ B é ativado em resposta a uma variedade de estímulos que incluem infecções virais e bacterianas, exposição a citocinas pró-inflamatórias, mitógenos, fatores de crescimento e estresses oxidativos e biomecânicos (Kumar *et al.*, 2004). Diferentes estímulos iniciam a transdução de sinais de vias. A maioria dessas vias convergem para o complexo I κ B quinase (IKK) que é composto de duas subunidades catalíticas (IKK- α e IKK- β) e uma subunidade reguladora (IKK- γ /NEMO). Dependendo de qual das subunidades do complexo IKK são envolvidas, a ativação de NF- κ B pode ocorrer tanto através da via clássica como da via alternativa. (Figura 6)

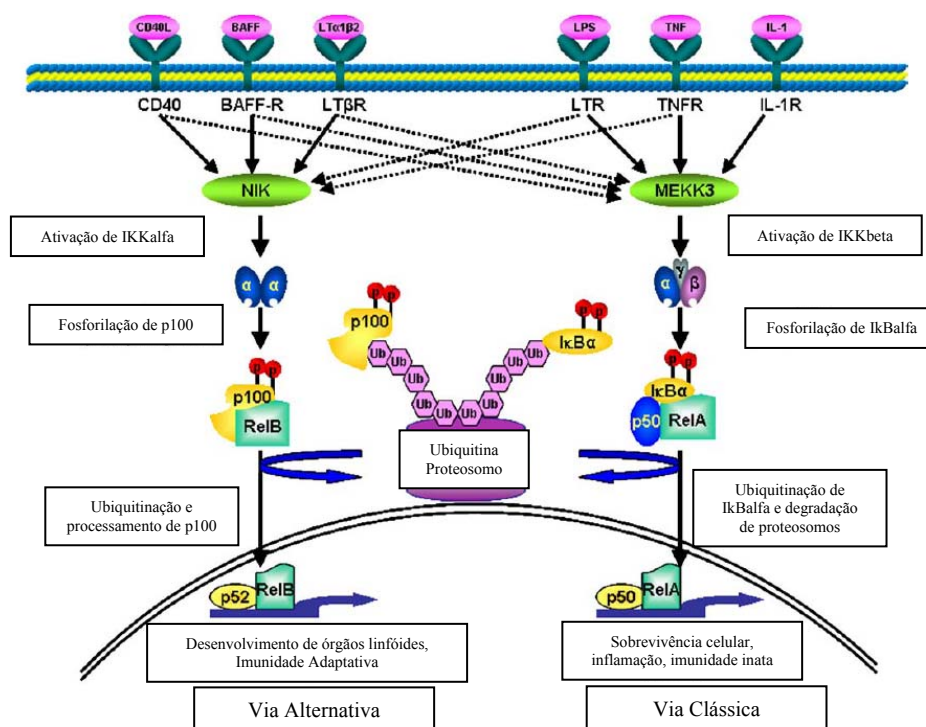


Figura 6 - Vias de sinalização do NF-κB.

Representação esquemática das duas vias de sinalização do NF-κB. A ativação do NF-κB pode ocorrer pela via clássica ou pela via alternativa. A via clássica envolve a ativação de IKK-β levando à fosforilação e degradação de IκBs. A via alternativa envolve a IKK-α e leva à fosforilação do processamento de p100, gerando heterodímeros p52:relB. NIK: NF-κB quinase indutora, Ub: ubiquitina, MEKK3: proteinoquinase mitógeno-ativada de quinase 3 (Modificado de van Empel, de Windt, 2004).

A via clássica é dependente de IKK-β e IKK-γ, e a ativação de NF-κB ocorre através da degradação de proteínas IκB. A via alternativa depende de IKK-α e NIK e envolve o processamento regulado da proteína precursora de p100 (Li e Verma, 2002; Aggarwal, 2003). Estudos mostram que, dependendo do tipo de estímulo, tanto a via clássica como a alternativa são ativadas no músculo esquelético, e a ativação dessas duas vias de NF-κB podem causar atrofia de músculo esquelético (Hunter *et al.*, 2002; Cai *et al.*, 2004).

A IKK ativada fosforila as proteínas IκB NF-κB-ligadas e direciona as mesmas para a poliubiquitinação e rápida degradação através da criação de um sítio de ligação para o complexo ubiquitina ligase SCFβ-TrCP (Li e Verma, 2002). O estímulo clássico tal como de citocinas pró-inflamatórias ativam o NF-κB através da fosforilação sítio específica IKK-β-mediada e subsequentes ubiquitinação e degradação da proteína inibitória IκB-α pela via de proteossomo

26S. Os complexos de NF- κ B liberados a partir das proteínas de inibição I κ B deslocam-se para o núcleo, levando à ativação transcricional de vários genes-alvo, como descrito anteriormente.

O NF- κ B controla a expressão de grande número de genes, incluindo àqueles que codificam citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão celular, fatores de crescimento, moléculas imunorreguladoras, proteínas de fase aguda e de resposta ao estresse, receptores de superfície celular, fatores de transcrição e várias enzimas, inclusive aquelas envolvidas na degradação de proteínas pelo sistema de ubiquitina-proteosomos (Kumar *et al.*, 2004).

Outro fato importante a ser destacado é o de que várias moléculas reguladas pelo NF- κ B, especialmente as citocinas pró-inflamatórias, são potentes ativadores de NF- κ B, estabelecendo uma alça de *feedback* positivo que resulta em hiperestimulação de NF- κ B (Kumar *et al.*, 2004). Mourkioti *et al.*, 2006, demonstraram que a inibição da atividade de NF- κ B, por deleção específica de IKK- β , aumenta a regeneração muscular por limitar a resposta inflamatória e a fibrose.

1.14 Angiogênese no Infarto

A angiogênese é parte integral do processo de cicatrização da ferida. Os novos vasos são componentes importantes do tecido de granulação e são necessários para prover oxigênio e nutrientes para as células altamente ativas dinâmica e metabolicamente (Li *et al.*, 1996; Lopez *et al.*, 1998; Laham *et al.*, 2003). Fatores de crescimento angiogênico, tais como o fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF), são induzidos e liberados durante as primeiras horas após a isquemia miocárdica (Toyota *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2006), resultando em crescimento neovascular. Durante a fase proliferativa da cicatrização, uma rica rede de capilares é formada junto com vasos-mãe largos, pobres em pericitos. Uma vez que a vasculatura amadurece, alguns vasos neoformados são cobertos com pericitos, enquanto que os vasos descobertos regridem. Embora esteja bem descrito o tempo de surgimento de formação de novos vasos, os mecanismos responsáveis pela angiogênese do infarto permanecem pouco compreendidos.

Durante a fase de maturação da cicatrização do infarto, o tecido de granulação é substituído por uma cicatriz rica em colágeno e que exibe uma densidade capilar relativamente baixa, mas grande número de vasos cobertos com células murais. Os vasos maduros cobertos exibem menor potencial angiogênico e são protegidos de regressão, ao passo que as células endoteliais descobertas podem sofrer apoptose.

1.15 Apoptose

Outro ponto que vem sendo muito estudado no processo de remodelamento ventricular é a apoptose (Anversa *et al.*, 1996; Saraste *et al.*, 1997). Demonstrou-se a presença de apoptose em cardiomiócitos durante as fases aguda e crônica do IM, tanto em modelos animais quanto em humanos (Gottlieb *et al.*, 1994; Itoh *et al.*, 1995; Kajstura *et al.*, 1996; Fliss e Gattinger, 1996; Bialik *et al.*, 1997; Saraste *et al.*, 1997). Acredita-se que a apoptose nas células do tecido de granulação após o IM tenha papel importante no remodelamento ventricular, durante a fase crônica do IM (Hayakawa *et al.*, 2003; Takemura e Fujiwara, 2004). Em pacientes com IM, as citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , têm papel importante no desencadeamento de respostas inflamatórias celulares adicionais e injúria citotóxica subsequente. Alguns pesquisadores acreditam que o TNF- α possa induzir apoptose em cardiomiócitos durante o IM agudo, pelos altos níveis séricos de TNF- α em pacientes com insuficiência cardíaca e a íntima relação entre o nível de expressão de TNF- α e apoptose *in vitro* (Krown *et al.*, 1996). Entretanto, existem poucos estudos sobre o padrão de expressão de TNF- α associado à apoptose de cardiomiócitos no IM em humanos.

Akasaka *et al.*, 2006, mostraram que apoptose e necrose são responsáveis pela perda celular aguda na fase precoce do IM, e ocorrem também na zona ao redor do IM, indicando que a apoptose possa mediar morte celular fora da área de IM. A indução de apoptose na zona periinfarto parece estar relacionada com a dilatação ventricular. Dessa forma, a apoptose de cardiomiócitos ao redor do infarto pode ter papel importante no remodelamento ventricular que ocorre pós-IM. Demonstrou-se que a inibição da apoptose nas células do tecido de

granulação através de um inibidor da pancaspase pode melhorar o remodelamento ventricular.

Em resposta a diversas condições de sobrecarga (pressão, volume etc.), as células do músculo cardíaco tipicamente hipertrofiam ou cometem “suicídio” no processo conhecido como remodelamento ventricular. Devido ao provável caráter mal-adaptativo da hipertrofia de miócitos (Esposito *et al.*, 2002) e à limitada capacidade de auto-renovação (Beltrami *et al.*, 2001; Beltramini *et al.*, 2003), os processos biológicos que levam à hipertrofia de miócitos ou à apoptose permanecem como o centro de atenção de várias terapias que focam alvos biológicos.

A identificação de vias adicionais de sinalização que são intrinsecamente envolvidas com o aumento do miócito tem fornecido uma via alternativa em que a maioria das cascatas de sinalização descobertas parecer preencher um papel dicotômico facilitando a hipertrofia de miócitos e sinalizando pontos fortes de sobrevivência da célula. Dessa forma, no processo de descompensação VE, a sinalização das vias celulares de hipertrofia e apoptose estariam inicialmente direcionadas para um remodelamento hipertrófico na fase inicial do remodelamento pós-IM, período em que existe função cardíaca estável, e progrediriam para a falência dessas vias de hipertrofia/sobrevivência em inibir a apoptose de miócitos que, por fim, sinalizariam passos críticos em relação a descompensação cardíaca por perda intensa de unidades contráteis, dilatação dos ventrículos e, por fim, perda da força contrátil, como mostra a figura abaixo. Os modelos dualísticos de sinalização celular que facilitam simultaneamente a hipertrofia e a sobrevivência da população de cardiomiócitos, incluem os paradigmas de sinalização que (1) utilizam o receptor gp130, (2) a via IDF-1-PI3K-Akt, (3) a sinalização cálcio-dependente através da calcineurina e NFAT, e (4) sinais que ativam NF- κ B.

As citocinas estão intimamente envolvidas no processo inflamatório como, por exemplo, a cicatrização da ferida após o infarto e existe acúmulo miocárdico de TNF- α após o IM. O TNF- α , por sua vez, pode induzir tanto hipertrofia de miócitos como apoptose em cultura, enquanto que camundongos transgênicos gerados para hiperexpressar uma forma secretada de TNF- α desenvolvem

hipertrofia concêntrica que evolui para cardiomiopatia dilatada com o passar do tempo (Kubota *et al.*, 1997; Sivasubramanian *et al.*, 2001). A partir de vários estudos em células não cardíacas, sabe-se que a ligação direta do TNF- α a seu receptor cognato (TNFR) provoca a ativação de caspase e de NF- κ B, com cada uma dessas vias levando a efeitos fenotípicos opostos em relação à sobrevivência celular (Micheau e Tschopp, 2003). A sinalização de TNF- α envolve a ligação do trîmero de TNF ao domínio extracelular do receptor-1 de TNF (TNFR-1), recrutamento de várias proteínas de adaptação intracelulares e, por fim, a caspase-8, cujos pró-domínios podem se ligar a proteínas de adaptação que interagem com esses receptores (Suda e Nagata, 1994), como mostra a figura abaixo.

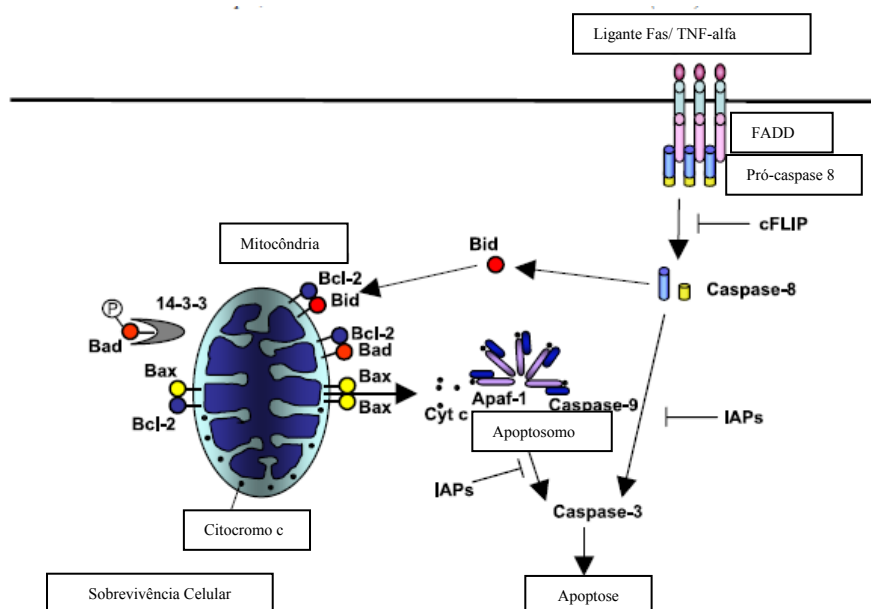


Figura 7 - Apoptose.

Duas principais vias apoptóticas ativas nas células de mamíferos, incluindo a célula do músculo cardíaco. A via de morte mitocondrial é usada extensamente em resposta a sinais extracelulares e insultos externos tais como dano ao DNA. Essas diversas vias de resposta convergem na mitocôndria, geralmente através da ativação de membros pró-apoptóticos da família Bcl-2. Sinais pró-apoptóticos redirecionam as proteínas para a mitocôndria, onde elas “brigam” para determinar o destino da célula. A ativação de membros pro-apoptóticos pode ocorrer através de proteólise, desfosforilação e transcrição gênica de novo. Os membros da família Bcl-2 pro- e anti-apoptose encontram-se na superfície da mitocôndria, onde eles competem para a regulação da saída do citocromo c através de mecanismos ainda não esclarecidos totalmente. Se há predominância do campo pro-apoptótico, um ensaio de moléculas é liberado do compartimento mitocondrial. Outra via de morte celular inclui os receptores de morte que são desencadeados através da ligação de membros da superfamília de receptores de morte, tais como Fas ou CD 95 e TNF- α , a seus receptores cognatos, que induzem agregação de receptor, formação de um complexo sinalizador indutor de morte e, finalmente, ativação das caspases 8 e 3. (Modificado de Empel, 2004).

Camundongos transgênicos com hiperexpressão de TNF- α restrita aos cardiomiócitos desenvolvem inflamação, pronunciada hipertrofia de miócitos e vários sinais de insuficiência cardíaca (Janczewski *et al.*, 2003). Esses camundongos têm ativação de vias pró-apoptóticas nos miócitos cardíacos, como evidenciado pela supra-regulação da expressão de várias proteínas relacionadas com o domínio de morte, incluindo TNFR1, Fas, FADD, TRADD, RIP e caspase-8 (Kubota *et al.*, 2001).

Outro braço maior da sinalização de TNF- α envolve o recrutamento do complexo de multiproteínas IKK ao TNFR1 de forma a mediar a fosforilação e degradação das proteínas de I κ B que, normalmente, retêm o NF- κ B dentro do citoplasma de células não estimuladas.

O NF- κ B tem papel na regulação do crescimento celular. A ruptura genética de membros da família NF- κ B, como o p65, p50, ou c-Rel, prejudica a proliferação de linfócitos (Sha *et al.*, 1995; Kongten *et al.*, 1995; Doi *et al.*, 1997). O papel do NF- κ B no crescimento hipertrófico de células completamente diferenciadas ainda é pouco claro. O NF- κ B possui um caráter mais ambivalente na sobrevivência da célula uma vez que está envolvido na regulação de genes tanto pró- como anti-apoptóticos, incluindo os fatores anti-apoptóticos cIAPs, família Bcl-2 (Bcl xL), proteína inibitória FLICE (FLIP), e fatores pró-apoptóticos, como Fas, FasL, caspase-8, caspase-11 e TNF- α (Karin e Lin, 2002). De fato, a transfecção de um chamariz (*decoy*) de nucleotídeo de NF- κ B dentro do coração de ratos reduziu a atividade de NF- κ B e resultou na redução do dano da isquemia e reperfusão, sugerindo uma função pró-apoptótica para o NF- κ B (Sawa *et al.*, 1997; Kupatt *et al.*, 2002). Por outro lado, camundongos transgênicos que abrigam a expressão cardíaco-específica de uma proteína mutante supressora de I κ B- α , que nega a re-localização nuclear do NF- κ B, mostraram um aumento significativo na apoptose de miócitos após isquemia e reperfusão e aumento do tamanho do infarto (Dawn *et al.*, 2001). Esses dados correlacionam-se com os níveis reduzidos de expressão de c-IAP1 e Bcl-2, sugerindo que o NF- κ B tem efeitos citoprotetores no coração e que esses sinais pró-sobrevivida sejam mediados, ao menos em parte, por sua atividade transcricional.

A análise dos mecanismos supostamente envolvidos com a cardioproteção induzida pelo exercício compreende complexas vias de sinalização celular que estão envolvidas tanto com as adaptações fisiológicas às mudanças ambientais às quais o organismo é exposto, quanto no agravamento de processos patológicos. Nesta tese, abordaremos os efeitos do treinamento físico sobre as fases de remodelamento cardíaco inicial pós-IM, avaliando pontos-chaves discutidos anteriormente, dentre os quais se destacam o PPAR- α , o PPAR- γ , o TNF- α , o NF- κ B e a apoptose.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é testar a hipótese de que a ocorrência de IM em animais previamente treinados é acompanhada de melhor função ventricular pós-IM, maior vascularização, bem como menor expressão de marcadores inflamatórios e moduladores do metabolismo e menos apoptose.

Para isso, serão quantificados os níveis locais de α -actina de músculo liso, PPAR- α , PPAR- γ , TNF- α , NF- κ B, e apoptose.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Os animais utilizados são ratas Wistar de peso inicial entre 180 a 220g, provenientes do Biotério da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-UNIFESP). Foi optado pela utilização de fêmeas, pelo fato deste gênero apresentar menor mortalidade ao infarto do miocárdio experimental. O protocolo experimental foi aprovado pelo comitê de ética da EPM-UNIFESP.

3.2 Treinamento de resistência

O treinamento de resistência consistiu em natação durante 1 hora por dia, durante 05 dias na semana, por 08 semanas, excluindo-se a semana de adaptação na qual os ratos foram acostumados à natação com sessões de 10 minutos acrescidas de mais 10 minutos a cada dia até completarem 60 minutos de treino. O treino foi realizado em tanque de água a 35°C com uma área de superfície de 2830 cm² e profundidade de 60 cm.

3.3 Indução de Infarto do Miocárdio

A indução do IM será feita de acordo com Johns e Olson (1954) com pequenas adaptações. Os animais serão anestesiados com mistura de cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), entubados e ventilados com pressão positiva em ventilador para roedores (*modelo Harvard 683*). Após tricotomia do hemitórax esquerdo, será realizada toracotomia lateral no local onde o coração causa impacto à palpação. Com o animal na posição supina, será feita incisão de pele e divulsão dos músculos peitorais e intercostais, com auxílio de pinça Kelly curva.

Após divulsão da musculatura intercostal, as costelas serão afastadas com auxílio da pinça de Kelly e de afastador para roedores. A pericardiotomia será produzida com pinça anatômica e a artéria coronária descendente anterior esquerda será visualizada e ligada, a 3 mm da origem da aorta, com fio e sutura prolene 6,0. A seguir, o tórax será fechado através de sutura em bolsa previamente preparada em torno das bordas da incisão. O animal será mantido, então, em ventilação artificial enriquecida com oxigênio até que ocorra ventilação espontânea. A ventilação artificial será retirada e, quando o animal se mostrar estável, realizaremos a extubação. Os animais serão colocados em caixas sob o calor de lâmpada de tungstênio até recuperação completa da anestesia.

Nos animais controles serão realizados os mesmos procedimentos cirúrgicos do grupo IAM, porém sem oclusão da coronária.

3.4 Ecodopplercardiograma

O ecodopplercardiograma foi realizado em todos os ratos uma semana após produção do infarto e ao final de quatro semanas após o infarto. Para isso, os ratos foram pesados, submetidos à tricotomia do tórax e sedação com o mesmo anestésico e dose utilizados na cirurgia de oclusão coronária. Os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo para obtenção das imagens ecocardiográficas, três eletrodos aderidos às patas para registro simultâneo do traçado eletrocardiográfico, para identificação dos acidentes do ciclo cardíaco e determinação da frequência cardíaca. O aparelho utilizado foi o Sonos 5500 (Philips), com capacidade de produzir imagens nos modos unidimensional e bidimensional e analisar a velocidade do fluxo sanguíneo pela técnica de Doppler espectral e mapeamento de fluxo a cores. Foi utilizado transdutor de fusão (5 a 12 MHz) com profundidade de 2 a 3 cm. Os registros dos traçados do modo M e do Doppler terão velocidade de 100 mm/s. As imagens foram gravadas em fitas de vídeo VHS para análise posterior, sendo o resultado final proveniente da média das obtidas de três ciclos cardíacos diferentes. Em todo o exame foram seguidas as normas preconizadas pela *American Society of Echocardiography* (Goettdiener *et al.*, 2004).

Por meio do modo M foram obtidos os tamanhos de átrio esquerdo, raiz de aorta, espessura diastólica e sistólica das paredes anterior e posterior do VE, os diâmetros diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo e a velocidade de encurtamento de parede posterior.

A função contrátil foi analisada pela fração de encurtamento da área transversal (FEAT), representada pela média das medidas obtidas nos planos basal, médio e apical do ventrículo esquerdo, no corte transversal e paraesternal segundo a fórmula:

$$\text{FEAT} = [(AD-AS/AD)] \times 100\%$$

AD: área diastólica e AS: área sistólica

Doppler pulsátil ao nível da face ventricular da valva mitral forneceu a curva de velocidade de fluxo para análise dos parâmetros de função diastólica. Foram realizadas medidas da velocidade das ondas E e A, tempo de desaceleração da onda E, taxa de desaceleração da onda E, integral de velocidade das ondas E e A e a relação E/A.

3.4.1 Avaliação do tamanho do infarto

Foi obtido pela ecocardiografia, por método quantitativo que utilizará imagens bidimensionais dos planos transversais: basal, médio e apical do ventrículo esquerdo. Em cada um destes três planos foram medidos o perímetro endocárdico da cavidade ventricular na diástole (PC) e o comprimento do arco correspondente ao segmento com infarto (SI). Em cada plano foram obtidas três medidas e a média aritmética das medidas nos três planos foi considerada o tamanho do infarto (TI), expresso em percentagem, pela equação.

$$\text{TI (\%)} = \text{SI/PC} \times 100$$

Foi considerado infarto do miocárdio à ecocardiografia as imagens do miocárdio com aumento da ecogenicidade e/ou alteração do espessamento e movimento sistólico do miocárdio (acinesia ou discinesia). Foi considerado IM

pequeno quando o TI for menor que 20%, moderado entre 20 e 40% e grande quando maior que 40%.

3.5 Histologia

3.5.1 Coloração de Tricromo de Masson

Para detecção do infarto, será utilizada a coloração de Tricromo de Masson que detecta colágeno, como mostra a figura a seguir.



Figura 8 - Foto de Miocárdio com Infarto do Grupo Sedentário corado pelo Tricromo de Masson. Aumento original 0,8x

3.5.2 Técnica de imunohistoquímica

Os cortes transversais do músculo esquelético e do coração fixados em formol serão processados rotineiramente para emblocamento em parafina. Secções histológicas de 5 um dos blocos de parafina das biópsias serão submetidas à reação de imunoperoxidase utilizando-se os seguintes anticorpos primários anti-humano: anti-alfa-actina de músculo liso, PPAR- α (C-20) policlonal IgG produzido em cabra e PPAR- γ (E-8) monoclonal produzido em camundongo

(*Santa Cruz Biotechnology*) e anticorpo policlonal anti-TNF- α e anticorpo policlonal anti-NF-kB p65 ambos produzido em coelhos (*Abcam*).

As lâminas contendo os cortes serão submetidas à recuperação de antígenos por calor (banho-maria) e tampão citrato, recobertas com peróxido de hidrogênio a 3% em PBS para bloqueio da peroxidase endógena. A seguir serão incubadas com bloqueador de proteína livre de soro (*serum-free protein block, Carpinteria, CA, EUA*) com o objetivo de inibir as ligações não específicas que podem estar presentes no tecido conjuntivo e então incubadas com os respectivos anticorpos primários.

Nos espécimes que receberam o anticorpo primário específico monoclonal, o anticorpo secundário será a anti-imunoglobulina de camundongo produzido em coelho conjugado com a biotina (*Dako*). Como composto de ligação para a biotina será usada a estreptavidina conjugada com a peroxidase (*Amersham Internacional*). Nos policlonais primários, o anticorpo secundário será anti-cabra.

Todas as lâminas submetidas às reações de imunoperoxidase serão colocadas em uma solução cromogênica contendo 40 mg de 3,3'-diaminobenzidina (DAB - *Sigma Chemical Corporation, St Louis, Mo*) e 600 μ l de peróxido de hidrogênio a 6% em 100 ml de PBS, pH 7,4, por 10 minutos a 37°. C e depois contra-coradas com Hematoxilina de Harris. Como controle negativo, omitiremos o anticorpo primário nas mesmas secções dos casos estudados, para detectar possíveis ligações não específicas.

A quantificação da positividade será realizada no sistema de análise de imagem *Quantimet 500 Leica*, através da detecção da cor marrom que reflete positividade, sendo o resultado expresso em fração de área positiva.

3.5.3 Técnica de TUNEL para detecção de apoptose

Para detecção das células apoptóticas, um ensaio de TUNEL (*terminal dUTP nick-end labeling*, técnica que marca núcleos com degradação de DNA) fluorescente foi realizado em lâminas de tecido miocárdico fixado em formalina, embebido em parafina, de 5 μ m de espessura. De forma breve, as secções foram

lavadas em xilol e rehidratadas. As secções foram pré-tratadas com proteinase K em diluição de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ em 10 mM Tris/HCL, pH 7,5 por 15 min a 32–35 °C. As secções foram enxaguadas em tampão salino fosfato 0,1 M (PBS), pH 7,3, e incubadas em uma atmosfera úmida a 37 °C por 60 min na mistura de reação de TUNEL acoplada com fluoresceína (Boehringer, Mannheim, Germany). Para controle negativo, o componente terminal transferase foi omitido da mistura de reação de TUNEL. As secções coradas pelo TUNEL foram analisadas sob microscópio de ótica fluorescente por investigador independente (RI). O número de células TUNEL-positivas foram contadas em todos os campos microscópicos em 200X de cada caso. Três sub-regiões do coração foram estudadas: zona de infarto, zona peri-infarto, e zona sem infarto.

3.6 Análise estatística

Os resultados foram analisados através do software Graph Pad Prism (Graph Pad Software Inc., San Diego, USA) versão 4.0. Para análise das diferenças entre os grupos sedentário-sham, exercício-sham, sedentário-infarto e exercício-infarto, foi utilizado o one-way ANOVA seguido por teste de comparações múltiplas. Para comparação de regiões equivalentes entre os grupos infartados, foi utilizado o teste T de Student não paramétrico. Para avaliação de correlação entre as variáveis estudadas, foi utilizado o teste de correlação de Spearman. O nível de significância estabelecido foi de $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Resultados Ecocardiográficos

4.1.1 Tamanho do infarto, dimensão e função do ventrículo esquerdo

Como mostra a tabela 1, o tamanho de infarto estimado pela ecocardiografia foi de 35% do perímetro interno de VE no grupo sedentário-infarto e 42% no grupo exercício-infarto, sem diferença estatística entre os grupos ($P=0.28$). Não houve diferença estatística entre o diâmetro sistólico final de VE (DSFVE) e o diâmetro diastólico final de VE (DDFVE) entre os grupos com infarto do miocárdio ($P>0,05$). Entretanto, a fração de encurtamento do grupo sedentário-infarto foi menor do que a do grupo exercício-infarto ($24,1\% \pm 11,2\%$ vs $35,8\% \pm 7,8\%$; $P<0,01$), como mostra a figura 9. Esse fato indica uma função contrátil diminuída de VE no grupo sedentário-infarto.

Tabela 1 - Dados Ecocardiográficos

Grupo	Infarto do Miocárdio		P	Cirurgia Controle		P
	Sedentário (12)	Exercitado (12)		Sedentário (10)	Exercitado (10)	
Tamanho do Infarto (%)	34,91 \pm 17,47	38,93 \pm 13,77	NS			
DSFVE	0,67 \pm 0,18	0,77 \pm 0,09	NS	0,47 \pm 0,06	0,50 \pm 0,04	NS
DDFVE	0,90 \pm 0,14	0,94 \pm 0,08	NS	0,76 \pm 0,09	0,78 \pm 0,04	NS
Fração de Encurtamento (%)	24,13 \pm 11,16	35,80 \pm 7,80	< 0,01	67,95 \pm 1,90	69,14 \pm 3,26	NS
Onda E/A	4,47 \pm 1,33	5,50 \pm 1,02	NS	2,62 \pm 0,91	2,85 \pm 1,36	NS

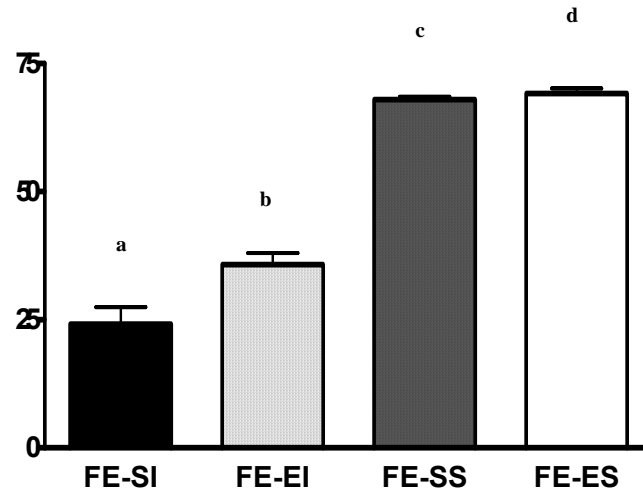


Figura 9 - Medida da função ventricular esquerda.

Fração de encurtamento (%) nos grupos sedentário infarto (FE-SI), exercício-infarto (FE-EI), sedentário-sham (FE-SS), exercício-sham (FE-ES). Medidas obtidas após o procedimento cirúrgico. a < b, P < 0,01. a < c, d; P < 0,001. b < c, d; P < 0,01. a < b, P < 0,01. a < c, d; P < 0,001. b < c, d; P < 0,001

4.2 Quantificação das Reações de Imunohistoquímica

4.2.1 Área de Infarto

A área de infarto, determinada pela coloração de Tricromo de Masson, do grupo sedentário-infarto e do grupo exercício-infarto foi de 7,12 mm² e 7,26 mm², respectivamente, sem diferença estatística entre os grupos. (P=0,90)

4.2.2 Densidade arteriolar

No grupo sedentário-infarto, a porcentagem de área positiva para antígenos de α -actina de músculo liso, que reflete a densidade arteriolar, foi de $5,67 \pm 1,60$ no infarto; $0,41 \pm 0,42$ no peri-infarto; e $0,41 \pm 0,41$ no miocárdio sem infarto. No grupo exercício-infarto obtivemos $5,57 \pm 1,34$ no infarto; $0,77 \pm 0,60$ no peri-infarto; e $0,74 \pm 0,68$ no miocárdio sem infarto. No miocárdio dos grupos controles sedentário e exercitado obtivemos $0,02 \pm 0,02$ e $0,02 \pm 0,02$, respectivamente como mostra a tabela 2.

Nos grupos com infarto, houve maior densidade arteriolar na região de infarto em relação à região peri-infarto e de miocárdio não infartado (ambos, $P < 0,01$).

Tabela 2 - Porcentagem de área positiva para antígenos de α -actina de músculo liso nas regiões de infarto do miocárdio (I), peri-infarto (P), e de miocárdio sem infarto (M)

Densidade Arteriolar							
Região	Grupo	Infarto do Miocárdio			Controle		P
		Sedentário (12)	Exercitado (12)	P	Sedentário (10)	Exercitado (10)	
I		$5,67 \pm 1,60$	$5,57 \pm 1,34$	NS			
P		$0,41 \pm 0,42$	$0,77 \pm 0,60$	NS			
M		$0,41 \pm 0,41$	$0,74 \pm 0,68$	NS	$0,02 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,03$	NS

4.2.3 TNF- α

No grupo sedentário-infarto, a porcentagem de área positiva para antígenos de TNF- α foi de $1,72 \pm 0,53$ em I; $0,12 \pm 0,10$ em P; e $0,05 \pm 0,05$ em M, como mostra a tabela 3. No grupo exercício-infarto, obtivemos: $0,62 \pm 0,37$ em I; $0,06 \pm 0,07$ em P; e $0,01 \pm 0,01$ em M. No miocárdio dos grupos-controle os valores foram de $0,02 \pm 0,02$ para o grupo sedentário e $0,02 \pm 0,03$ para o grupo exercitado. A figura 10 mostra região de IM com positividade para TNF- α .

Nos grupos de infarto, houve maior porcentagem de TNF- α em I em relação a P e M (ambos, $P < 0,01$). O grupo sedentário-infarto apresentou maior porcentagem de TNF- α em I em relação ao grupo exercitado-infarto ($1,72 \pm 0,24$ vs $0,62 \pm 0,18$, $P = 0,01$), como mostra a figura 11. Não houve diferença estatística entre as demais regiões estudadas.

Tabela 3 - Porcentagem de área positiva para antígenos de TNF- α nas regiões: infarto do miocárdio (I), peri-infarto, e miocárdio sem infarto (M)

		TNF- α					
Região	Grupo	Infarto do Miocárdio*			Controle		
		Sedentário (5)	Exercitado (5)	P	Sedentário (6)	Exercitado (6)	P
I		$1,72 \pm 0,53$	$0,62 \pm 0,37$	$< 0,001$			
P		$0,12 \pm 0,10$	$0,06 \pm 0,07$	NS			
M		$0,05 \pm 0,05$	$0,01 \pm 0,01$	NS	$0,02 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,03$	NS

* Nos grupos com infarto, houve maior porcentagem de TNF- α na região de infarto em relação às regiões peri-infarto e miocárdio sem infarto, ambos $P < 0,01$.

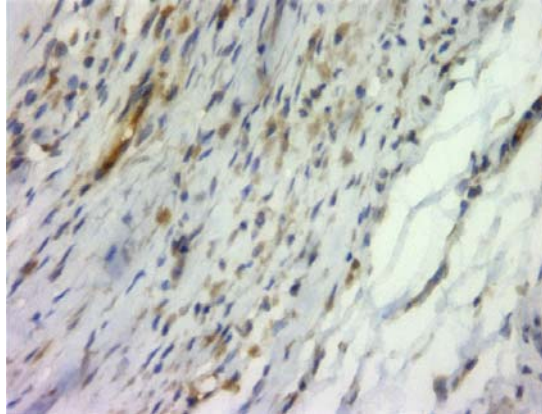


Figura 10 - Foto de região de infarto agudo do miocárdio com a reação de imunohistoquímica para detecção de TNF- α em marrom. Aumento original 40x

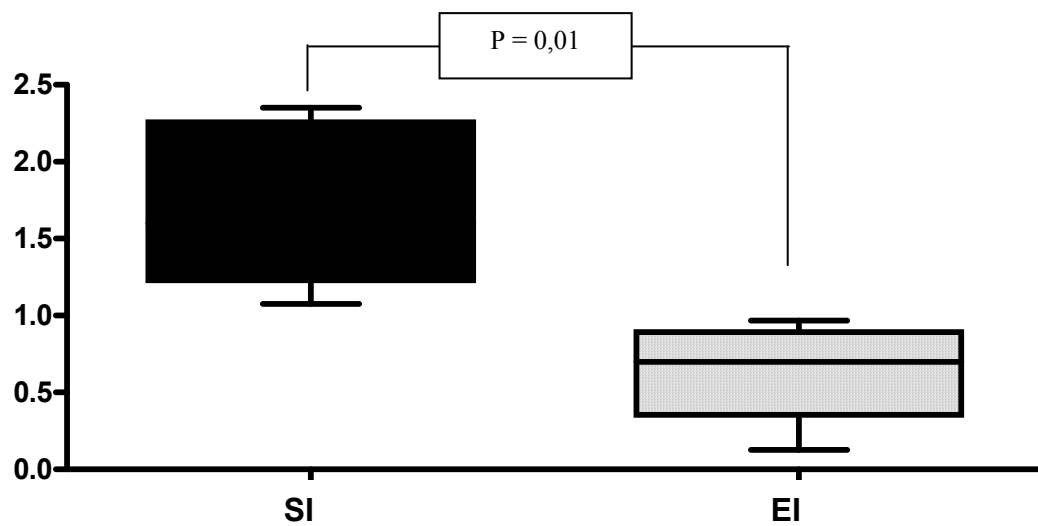


Figura 11 - Comparação de porcentagem de área positiva para antígenos de TNF- α na região de infarto entre os grupos sedentário-infarto (SI) e exercício-infarto (EI)

4.2.4 NF-kB

No grupo sedentário-infarto, a porcentagem de área positiva para antígenos nucleares de NF-kB foi de $0,80 \pm 0,94$ em I; $0,18 \pm 0,16$ em P; e $0,05 \pm 0,06$ em M, como mostra a tabela 4. No grupo exercício-infarto, a porcentagem de área positiva para NF-kB foi de $0,35 \pm 0,26$ em I, $0,12 \pm 0,09$ em P; e $0,06 \pm 0,05$ em M. A figura 12 mostra região de IM com positividade para NF-kB.

No miocárdio dos grupos controle obtivemos $0,15 \pm 0,08$ no grupo sedentário e $0,08 \pm 0,06$ no grupo exercitado.

No grupo sedentário infarto, houve maior porcentagem de NF-kB em I em relação às regiões P e M (ambos, $P < 0,01$). Essa diferença entre as regiões não foi encontrada o grupo exercício-infarto. Na região de infarto, houve maior porcentagem de NF-kB no grupo sedentário em relação ao grupo exercitado ($0,80 \pm 0,94$ vs $0,35 \pm 0,26$; $P < 0,05$), como mostra a figura 13. Não houve diferença entre as demais regiões estudadas.

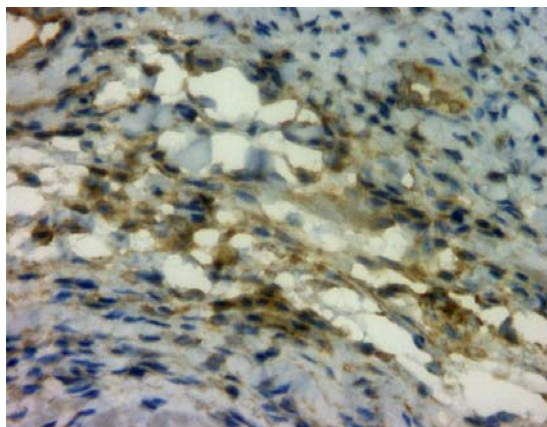


Figura 12 - Foto de região de infarto agudo do miocárdio com a reação de imunohistoquímica para detecção de NF-kB em marrom. Aumento original 40x

Tabela 4 - Porcentagem de área positiva para antígenos de NF-kB nas regiões: infarto do miocárdio (I), peri-infarto, e miocárdio sem infarto (M)

NF-kB							
Região	Grupo	Infarto do Miocárdio		P	Controle		P
		Sedentário* (9)	Exercitado (9)		Sedentário (6)	Exercitado (6)	
I		0,80 ± 0,94	0,35 ± 0,26	<0,05			
P		0,18 ± 0,16	0,12 ± 0,09	NS			
M		0,05 ± 0,06	0,06 ± 0,05	NS	0,15 ± 0,08	0,08 ± 0,06	NS

* No grupo sedentário-infarto, houve maior porcentagem de NF-kB na região de infarto em relação às regiões peri-infarto e miocárdio sem infarto, $P < 0,01$.

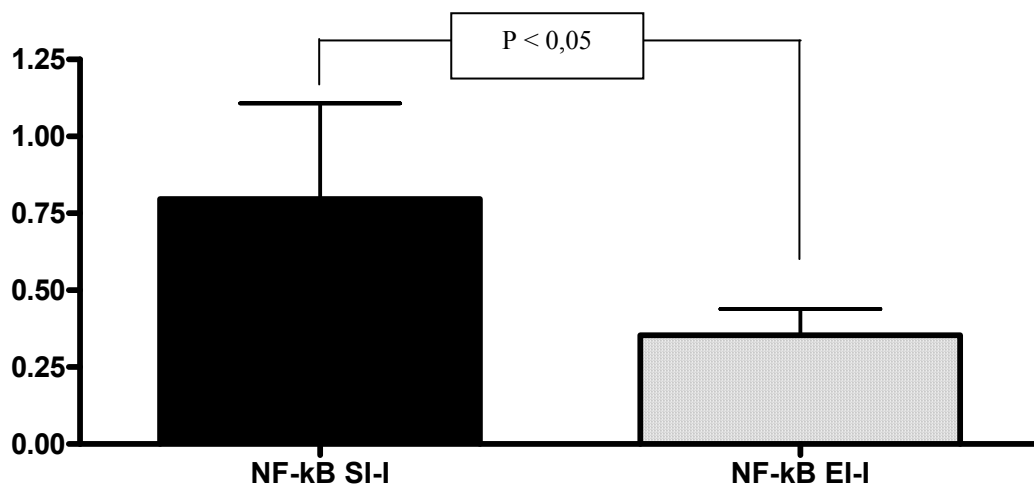


Figura 13 - Porcentagem de área positiva para antígenos nucleares de NF-kB no infarto nos grupos sedentário-infarto (SI) e exercício-infarto (EI)

4.2.5 PPAR- α

No grupo sedentário-infarto, a porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- α foi de $2,17 \pm 1,16$ em I; $0,92 \pm 0,46$ em P; e $0,15 \pm 0,24$ em M, como mostra a tabela 5. No grupo exercício-infarto, a porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- α foi de $2,35 \pm 2,37$ em I; $1,42 \pm 1,52$ em P; e $0,15 \pm 0,12$ em M. No grupo controle obtivemos $0,11 \pm 0,09$ no grupo sedentário e $0,05 \pm 0,03$ no grupo exercício. A figura 14 mostra região de IM com positividade para PPAR- α .

No grupo sedentário-infarto, houve maior porcentagem de PPAR- α em I em relação às regiões P e M (ambos, $P < 0,01$). No grupo exercício-infarto, houve maior porcentagem de PPAR- α em I em relação à M ($P < 0,05$).

Comparando as regiões I, P, e M entre os grupos com infarto, não houve diferença entre os grupos.

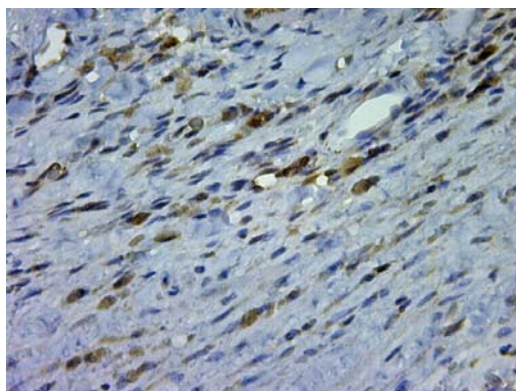


Figura 14 - Foto de região de infarto agudo do miocárdio com a reação de imunohistoquímica para detecção de PPAR- α em marrom. Aumento original 40x

Tabela 5 - Porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- α no infarto (I), peri-infarto (P), e miocárdio sem infarto (M)

		PPAR- α					
Região	Grupo	Infarto do Miocárdio*			Controle		
		Sedentário (9)	Exercitado (14)	P	Sedentário (9)	Exercitado (15)	P
I		$2,17 \pm 1,16$	$2,35 \pm 2,37$	NS			
P		$0,92 \pm 0,46$	$1,42 \pm 1,52$	NS			
M		$0,15 \pm 0,27$	$0,15 \pm 0,12$	NS	$0,11 \pm 0,09$	$0,05 \pm 0,03$	NS

*No grupo sedentário-infarto, houve maior porcentagem de PPAR- α em I em relação a P e M, $P < 0,01$. No grupo exercício-infarto, houve maior porcentagem de PPAR- α em I em relação à M, $P < 0,05$.

4.2.6 PPAR- γ

No grupo sedentário-infarto, a porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- γ foi de $0,85 \pm 0,74$ em I; $0,48 \pm 0,31$ em P; e $0,08 \pm 0,07$ em M, como mostra a tabela 06. No grupo exercício-infarto, os valores obtidos foram: $1,39 \pm 1,83$ em I; $1,37 \pm 1,83$ em P; e $0,16 \pm 0,18$ em M. Nos grupos-controle obtivemos $0,01 \pm 0,00$ no grupo sedentário e $0,03 \pm 0,02$ no grupo exercitado. No grupo sedentário-infarto, houve maior porcentagem de PPAR- γ em I em relação à M ($P < 0,01$). No grupo exercício-infarto não houve diferença entre as regiões estudadas ($P = 0,61$). A figura 15 mostra região de IM com positividade para PPAR- γ .

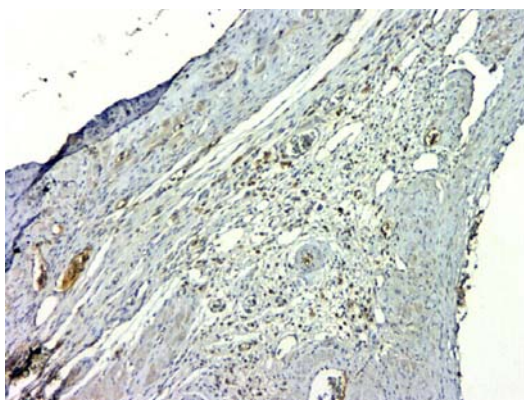


Figura 15 - Foto de Região de Infarto do Miocárdio com detecção de PPAR- γ em marrom. Aumento original 10x

Tabela 6 - Porcentagem de área positiva para antígenos de PPAR- γ no infarto (I), no peri-infarto (P), e no miocárdio sem infarto (M)

		PPAR- γ					
Região	Grupo	Infarto do Miocárdio		P	Controle		P
		Sedentário* (9)	Exercitado (14)		Sedentário (9)	Exercitado (15)	
I		$0,85 \pm 0,74$	$1,39 \pm 1,83$	NS			
P		$0,48 \pm 0,31$	$1,37 \pm 1,83$	NS			
M		$0,08 \pm 0,07$	$0,16 \pm 0,18$	NS	$0,01 \pm 0,00$	$0,03 \pm 0,02$	NS

*No grupo sedentário-infarto, houve maior porcentagem de PPAR- γ em I em relação à M, $P < 0,01$.

4.2.7 Apoptose

O número de células apoptóticas por campo nos grupos sedentário-infarto e exercício infarto foi, respectivamente, $3,97 \pm 0,61$ e $1,90 \pm 1,82$ em I; $3,67 \pm 0,73$ e $1,57 \pm 1,07$ em P; e $1,41 \pm 0,57$ e $1,13 \pm 0,64$ em M. Nos grupos-controle, obtivemos $0,73 \pm 0,61$ no grupo sedentário e $0,34 \pm 0,19$ no grupo exercitado, como mostra a tabela 7. No grupo sedentário-infarto, obtivemos menor número de células em apoptose por campo em M em relação a I e P ($P < 0,001$). No grupo exercício-infarto, o número de células em apoptose por campo não diferiu entre as regiões estudadas. Analisando os animais infartados, houve o número de células em apoptose por campo foi maior no grupo sedentário em relação ao grupo exercitado em I ($3,97 \pm 0,61$ vs $1,90 \pm 1,82$; $P < 0,05$), em P ($3,67 \pm 0,73$ vs $1,57 \pm 1,07$; $P < 0,01$), como mostra a figura 16.

Tabela 7 Número de células em apoptose por campo no infarto (I), peri-infarto (P) e miocárdio sem infarto (M)

		Apoptose					
Região	Grupo	Infarto do Miocárdio		P	Controle		P
		Sedentário (5)	Exercitado (5)		Sedentário (6)	Exercitado (7)	
	I	$3,97 \pm 0,61$	$1,90 \pm 1,82$	<0,05			
	P	$3,67 \pm 0,73$	$1,57 \pm 1,07$	<0,01			
	M	$1,41 \pm 0,57$	$1,13 \pm 0,64$	NS	$0,73 \pm 0,61$	$0,34 \pm 0,20$	NS

*No grupo sedentário-infarto, houve maior taxa de apoptose nas regiões I e P em relação a M, $P < 0,01$. Essa diferença entre as regiões não ocorreu no grupo exercício-infarto.

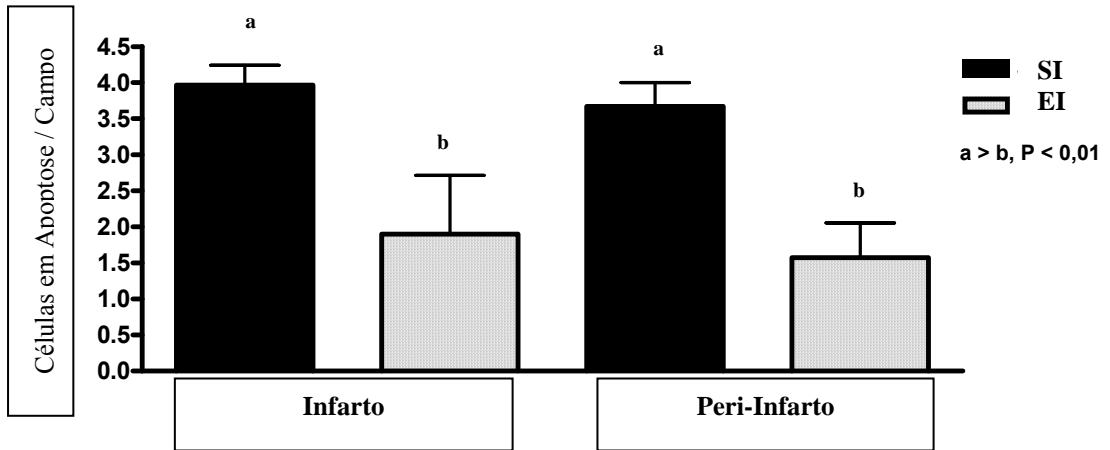


Figura 16 - Número de células em apoptose por campo nos grupos sedentário-infarto (SI) e exercício-infarto (EI) nas regiões de infarto e peri-infarto

4.2.8 Correlações

No grupo sedentário-infarto foram encontradas as seguintes correlações:

- Correlação negativa entre quantidade de PPAR- α na região sem infarto e quantidade de PPAR- γ na região peri-infarto. (R: - 0,69; P=0,03).
- Correlação negativa entre quantidade de NF- κ B na região de infarto e peri-infarto e quantidade de PPAR- α na região sem infarto. (R: - 0,80 e R:- 0,78; respectivamente, ambos com P < 0,01).
- Correlação negativa entre quantidade NF- κ B na região de infarto de quantidade de PPAR- γ na região sem infarto (R: - 0,73; P=0,02)
- Correlação positiva entre quantidade de PPAR- γ e NF- κ B na região peri-infarto (R: 0,72; P=0,03).
- Correlação positiva entre quantidade de PPAR- γ e densidade arteriolar na região sem infarto. (R: 0,68; P=0,04).

No grupo exercício-infarto foram encontradas as seguintes correlações:

- Correlação negativa entre densidade arteriolar e quantidade de PPAR- γ na região peri-infarto (R: - 0,76; P=0,02).

5 DISCUSSÃO

Uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo é o infarto agudo do miocárdio. Apesar de grandes avanços no tratamento das síndromes coronarianas agudas nas últimas décadas, o IM continua responsável pela morte de milhares de pessoas. Portanto, estratégias que resultem em um fenótipo cardioprotetor são importantes. Estudos demonstram consistentemente que a prática de exercícios regulares fornece cardioproteção (Balady, 2002; Ignarro *et al.*, 2007; Powers *et al.*, 2008) e acredita-se que o exercício induza a um fenótipo cardioprotetor (Kavazis *et al.*, 2009).

Sabe-se que indivíduos fisicamente ativos têm menor risco de desenvolver doenças relacionadas com a idade e, em geral, têm maior longevidade (Blair *et al.*, 2001). Estudos epidemiológicos mostram que o exercício físico é um meio efetivo de prevenir várias doenças crônicas, como doenças cardíacas e diabetes tipo 2 (Colbert *et al.*, 2004; Stewart, 2004). Além disso, alguns estudos mostram que indivíduos fisicamente ativos são menos susceptíveis do que indivíduos sedentários a infecções virais e bacterianas, sugerindo que o exercício pode melhorar a função imunológica em geral (DiPenta *et al.*, 2004, Kohut e Senchina, 2004).

A determinação dos mecanismos através dos quais o exercício propicia essa ampla gama de benefícios para a saúde permanece um desafio. Existem evidências que suportam uma variedade de mecanismos, incluindo um aumento da função imune inata (Kohut e Senchina, 2004), um decréscimo da inflamação crônica (Bruunsgaard, 2005), e um aumento da resistência ao estresse (Fleshner, 2005).

Nesta tese, analisou-se como o exercício afetaria a progressão do IM, baseando-se, para tal, no estudo de marcadores inflamatórios, reguladores do metabolismo e da inflamação, apoptose e vascularização.

5.1 Risco cardiovascular – mortalidade relacionada com o IM

Neste trabalho, observou-se que a ocorrência de IM em ratos previamente treinados foi associada à menor mortalidade pós-operatória em comparação com os animais sedentários. Isso demonstra um efeito cardioprotetor do exercício e poderia explicar a não diminuição do tamanho do infarto no grupo treinado, como observado anteriormente por Freimann, uma vez que infartos maiores estão associados à maior mortalidade. No trabalho de Dayan *et al.*, 2005, encontrou-se mortalidade relacionada com o IM cinco vezes maior no grupo sedentário em comparação com o grupo exercitado.

O treinamento físico tem mostrado melhora da capacidade funcional e da qualidade de vida em pacientes com insuficiência cardíaca (Belardinelli *et al.*, 1999; Cohen-Solal *et al.*, 1999) e reduz a morbidade e mortalidade dessa doença (Coats, 2000; Piepoli *et al.*, 2004; Pina e Daoud, 2004).

5.2 Exercício e função ventricular pós-IM

A forma fisiológica de hipertrofia cardíaca é uma resposta adaptativa a treinamento físico de longa duração, enquanto que a forma patológica é geralmente uma resposta mal-adaptativa a estímulos provocadores, como hipertensão ou estenose aórtica (DeBosch *et al.*, 2006). A hipertrofia fisiológica aparente no coração de atletas manifesta-se como hipertrofia excêntrica. Por outro lado, a progressão para insuficiência cardíaca está tipicamente associada com fibrose aumentada e ruptura da organização celular normal no miocárdio VE (Nagata *et al.*, 2006; Schultz *et al.*, 2007). Nagata *et al.*, 2006, mostraram que o treinamento físico reduz a extensão de fibrose intersticial no VE de ratos hipertensos, em conformidade com o conceito de que a hipertrofia fisiológica não está associada à fibrose intersticial (Shiojima e Walsh, 2006; DeBosch *et al.*, 2006). A atenuação da concricidade VE observada no grupo treinado, mostra uma resposta compensatória morfológica para manter a função cardíaca. Miyachi *et al.*, 2009, mostraram que o treinamento físico altera a geometria ventricular esquerda, restaura o crescimento capilar coronariano e atenua o desenvolvimento de insuficiência cardíaca em ratos hipertensos.

Em nosso estudo, após o IM, não houve diferença entre DSFVE e DDFVE entre os grupos infartados até o momento de interrupção do estudo, isto é, quatro semanas pós-infarto. Entretanto, a ocorrência de IM em ratos previamente treinados mostrou menor depressão da função cardíaca quando comparada com a depressão cardíaca encontrada no grupo sedentário-infarto demonstrada por uma maior fração de encurtamento no primeiro grupo, mesmo frente a um mesmo tamanho de infarto.

5.3 Exercício e angiogênese

Após a ocorrência de IM, fatores de crescimento angiogênico são induzidos e liberados nas primeiras horas após o início da isquemia miocárdica, resultando em crescimento neovascular. Posteriormente, ocorre a formação de uma rica rede de capilares que amadurece de modo progressivo. A angiogênese é o processo através do qual ocorre formação de novos vasos sanguíneos, medida, em parte, por fatores angiogênicos tipo o fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF).

O exercício, por sua vez, também é um importante indutor angiogênico. Sessões agudas de exercício estão associadas a aumento da expressão de citocinas angiogênicas (Egginton, 2009). O treinamento físico mostrou efeitos benéficos sobre a circulação coronariana, incluindo a demanda por oxigênio do miocárdico, a função endotelial, o tônus autonômico, os marcadores inflamatórios e o desenvolvimento de vasos colaterais coronarianos (Clausen e Trap-Jensen, 1976; Vona *et al.*, 2004). Entretanto, os efeitos diretos do exercício sobre a angiogênese na doença cardíaca isquêmica permanecem pouco definidos.

Grandes estudos demonstram que a angiogênese ocorre no músculo esquelético como resposta adaptativa ao exercício que pode satisfazer os requerimentos teciduais para entrega de oxigênio e os processos metabólicos (Gustafsson e Kraus, 2001). O VEGF é um fator crucial para a angiogênese miocárdica e salvamento do miocárdio após IM (Li *et al.*, 1996; Lopez *et al.*, 1998; Sato *et al.*, 2001; Laham *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2006). Em modelos animais, o treinamento físico aumenta o número de células endoteliais progenitoras (EPCs) e

aumenta a angiogênese (Laufs *et al.*, 2004). Em humanos, demonstrou-se que uma única sessão de exercício é capaz de aumentar agudamente o número de EPCs e as células angiogênicas circulantes em cultura (Rehman *et al.*, 2004). Além disso, o treinamento físico aumenta os níveis de VEGF no plasma, tanto em atletas de resistência treinados como em indivíduos sedentários (Kraus *et al.*, 2004). As respostas angiogênicas aumentadas ao exercício no músculo esquelético e no miocárdio sadio foram exploradas previamente (Brown, 2003; Brown *et al.*, 2003).

Wu *et al.*, 2009, demonstraram que a expressão de VEGF está supra-regulada de maneira tempo-dependente pelo treinamento físico em camundongos pós-IM. Receptores VEGF foram induzidos de forma máxima em camundongos que sofreram IM expostos ao treinamento físico. Em adição, exercício pós-IM resultou em decréscimo do tamanho do infarto e significativo aumento da densidade capilar nos camundongos com IM. Finalmente, o pré-condicionamento com exercício antes do IM promoveu a expressão de VEGF em todos os estágios, em ambos os níveis de mRNA e proteína. Esse estudo confirmou estudos anteriores e sugere que programas de exercício, antes e depois de eventos isquêmicos, podem ter efeitos benéficos, como já se nota na prática clínica. Isso pode estar relacionado com a expressão de citocinas angiogênicas e seus receptores. McElroy *et al.*, 1978, também propuseram que o aumento da vascularidade miocárdica através do exercício seria a base para a restrição da injúria miocárdica pós-IM.

O balanço entre o crescimento cardíaco e a angiogênese coronária é um determinante-chave da função cardíaca, com distúrbios nesse equilíbrio estando associados à transição de hipertrofia adaptativa para insuficiência cardíaca (Shiojima *et al.*, 2005). A hipertrofia cardíaca fisiológica está associada a um número normal ou aumentado de capilares, ao passo que a hipertrofia patológica está associada à redução na densidade capilar (Hudlicka *et al.*, 1992). De fato, a densidade capilar miocárdica está reduzida em pacientes com distúrbios cardíacos, como, por exemplo, estenose aórtica, cardiomiopatia dilatada, ou cardiomiopatia isquêmica (Rakusan *et al.*, 1992; Karch *et al.*, 2005).

Nagata *et. al*, 2006, mostraram que o exercício reduziu a extensão da fibrose intersticial e da densidade capilar, bem como atenuou a concentricidade VE nos ratos hipertensos. Em adição, o treinamento induziu posterior aumento da razão entre o número de capilares coronarianos e o de cardiomiócitos. Esses dados são coerentes com estudos anteriores que mostraram que a densidade capilar é aumentada na hipertrofia VE induzida por exercício (Crisman *et al.*, 1985; Ziada *et al.*, 2005).

Em nosso estudo, não houve diferença em relação à densidade capilar entre os grupos com infarto. Porém, no grupo com treinamento físico prévio ao infarto, houve maior densidade capilar na região de infarto em relação à região periinfarto e região sem infarto, demonstrando um efeito aditivo sobre a angiogênese desencadeada após o IM.

5.4 Efeito do exercício sobre os PPARs

Como mencionado anteriormente, o coração adulto sadio utiliza dois substratos energéticos principais, os ácidos graxos e a glicose, para gerar ATP para o trabalho cardíaco (Stanley e Chandler, 2002; Taegtmeyer, 1994). As principais funções de trabalho do miócito cardíaco são a contração (função de bomba), a captação de Ca^{2+} para dentro do retículo sarcoplasmático e a manutenção dos gradientes iônicos no sarcolema (Huss e Kelly, 2004). Sob condições fisiológicas, quase todo o ATP é gerado a partir da oxidação mitocondrial de ácidos graxos e glicose; 2% ou menos são derivados a partir da glicólise anaeróbia. A oxidação de ácidos graxos fornece de 60% a 90% do ATP miocárdico no coração adulto sadio de mamíferos, enquanto que o balanço (de 10% a 40%) é proveniente de glicose e lactato (Bing *et al.*, 1954; Shipp *et al.*, 1961; Wisnecki *et al.*, 1987).

Embora a oxidação de ácidos graxos sirva primeiramente como uma via primária geradora de ATP para o miocárdio, o coração tem uma capacidade de estoque de lipídios limitada. Assim, as vias de captação e oxidação celular de ácidos graxos devem estar intimamente acopladas. O metabolismo cardíaco muda em relação ao substrato utilizado como resposta a diversas condições

fisiológicas ou dietéticas e como um componente de processos fisiopatológicos, os quais são acompanhados por hipertrofia cardíaca, insuficiência cardíaca e isquemia miocárdica.

As células musculares cardíacas e esqueléticas cujo metabolismo é alto, flutuante, e adaptativo às necessidades do corpo, exibem vias sofisticadas para síntese, transferência e utilização da energia de acordo com a necessidade do corpo (Ventura-Clapier, 1998; Hood *et al.*, 2006; Hood *et al.*, 2006). O treinamento físico melhora a função endotelial e a perfusão coronariana, diminui a resistência periférica e induz o remodelamento das células musculares cardíacas e esqueléticas, levando a maior captação de oxigênio, oxidação de substratos e resistência à fadiga (Booth e Thomason, 1991; Hambrecht *et al.*, 1998; Pette e Staron, 2000; Gielen *et al.*, 2001).

A adaptação ao treinamento aeróbico de resistência envolve aspectos energéticos da função muscular. O músculo cardíaco deve manter a circulação sanguínea tanto em situações de repouso como em situações de alta demanda periférica, como aquelas desencadeadas por exercício físico. Um atleta treinado é capaz de aumentar rapidamente o débito cardíaco em cerca de seis vezes do repouso até altos níveis de atividade (Pina *et al.*, 2003). O trabalho realizado pelo coração e, dessa forma, o fornecimento de energia devem ser permanentes, adaptáveis, rapidamente regulados e altamente eficientes.

Uma questão importante do metabolismo energético refere-se à regulação transcricional e às vias de sinalização envolvidas na manutenção da homeostase energética e na biogênese mitocondrial (Kelly e Scarpulla, 2004). A biogênese mitocondrial depende da função coordenada de genomas nucleares. O fator de transcrição mitocondrial (mtTFA) é codificado pelo genoma nuclear e ativa a transcrição e replicação de DNA mitocondrial. A expressão é controlada por fatores nucleares de respiração (NRFs) que, adicionalmente, estimulam a expressão de várias proteínas mitocondriais codificadas no núcleo. A expressão e a atividade transcricional das NRFs estão sob o controle do co-ativador PGC-1- α (co-ativador transcricional do PPAR- γ) (Puigserver e Spiegelman, 2003; Kelly e Scarpulla, 2004). O PGC-1- α coordena a expressão protéica mitocondrial com a utilização de substrato através da co-ativação de PPAR- α , que regula a oxidação

de ácidos graxos, e dos NRFs, que ativam a transcrição de proteínas codificadas no núcleo e na mitocôndria.

Em modelos animais, alguns estudos mostram que o exercício aeróbico de resistência aumenta a glicólise e o metabolismo oxidativo (Coleman *et al.*, 1988; Stuewe *et al.*, 2000), enquanto outros demonstram que as respostas adaptativas resultam de aumento da massa muscular ao invés da expressão gênica mitocondrial (Kayar *et al.*, 1986; Murakami *et al.*, 1995). Os dados em relação à capacidade mitocondrial cardíaca são controversos. Foram reportados tanto o aumento como nenhuma alteração na capacidade de utilização de ácidos graxos com o treinamento (Terblanche *et al.*, 2001; Iemitsu *et al.*, 2003). Sugere-se então que a hipertrofia induzida pelo exercício resulta, na maioria das vezes, em produção de energia normal a partir do metabolismo de ácidos graxos.

Estudos mostram que a presença de hipóxia no miocárdio induz a redução da expressão e função de PPAR- α e γ (Narravula e Colgan, 2001; Yun *et al.*, 2002).

Neste trabalho, não houve diferença em relação à expressão de PPAR- α nos grupos com infarto. Em relação à expressão de PPAR- γ nas regiões de infarto, periinfarto e miocárdio sem infarto, a ocorrência de infarto em animais previamente treinados ao infarto esteve associada com maior quantidade de PPAR- γ na região periinfarto do que os animais previamente sedentários; porém, este dado não atingiu significância estatística ($P=0,09$).

Entretanto, no grupo SI houve correlação negativa entre quantidade de PPAR- α na região sem infarto e quantidade de PPAR- γ na região peri-infarto, mostrando uma inter-relação entre aumento da inflamação e diminuição do metabolismo energético de ácidos graxos neste grupo. Reforça essa tendência a correlação negativa entre quantidade de NF- κ B na região de infarto e peri-infarto e quantidade de PPAR- α na região sem infarto. Por outro lado, essas mesmas correlações não ocorreram no grupo EI.

5.5 Modulação da resposta inflamatória pelo exercício

A resposta inflamatória e a elaboração de citocinas estão particularmente ativas após o IM e influenciam diretamente o remodelamento cardíaco e eventuais desfechos clínicos. Como mencionado anteriormente, citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , não são expressas constitutivamente no coração sadio. A liberação de TNF- α ocorre precocemente no miocárdio infartado e pode estimular a expressão de outros mediadores inflamatórios por leucócitos e células endoteliais. Maekawa *et al.*, 2002, demonstraram que camundongos TNF- α -deficientes submetidos a protocolos de IM tinham menor expressão de quimiocinas e moléculas de adesão, mostrando a relevância do TNF- α na mediação da resposta inflamatória pós-IM. Sabe-se, contudo, que o papel do TNF- α no IM é muito mais complexo do que o de simples desencadeante de uma cascata de citocinas. Sugano *et al.*, 2000, mostrou que o tratamento com um DNA plasmidial da expressão de sTNFR1 reduziu a atividade biológica do TNF- α no miocárdio e, assim, inibiu a apoptose de cardiomiócitos. Estudos que destacam os efeitos pleiotrópicos das citocinas nos processos biológicos podem explicar os efeitos imprevisíveis de estratégias terapêuticas direcionadas às citocinas na prática clínica. O TNF- α regula a deposição de tecido fibroso (Peng *et al.*, 2002) e o remodelamento ventricular pós-IM em modelos animais (Gurantz *et al.*, 2005).

A cascata inflamatória é baseada em uma rede complexa de passos moleculares com efeitos pleiotrópicos, ditados por variáveis críticas celulares, espaciais e temporais. Além disso, o tempo e a localização da intervenção é tão importante quanto a escolha do alvo terapêutico. A cicatrização efetiva depende de uma resposta celular bem orquestrada no tempo e espaço, com indução e supressão precisa de mediadores específicos. Assim, intervenções direcionadas para mediadores inflamatórios devem levar em conta parâmetros topográficos e temporais. Uma intervenção que pode ter efeitos favoráveis, se aplicada localmente no centro do infarto, resulta em alterações deletérias na zona periinfarto ou no miocárdio sem infarto e em remodelamento. Por exemplo, uma estratégia que diminua a deposição de colágeno no coração infartado pode atenuar a fibrose intersticial nas áreas não infartadas, mas também pode acentuar o remodelamento ventricular por suprimir a deposição de colágeno no centro do infarto, levando à menor força de tensão e dilatação ventricular subsequente.

Nesse sentido, nosso estudo mostra que o exercício consegue modular a resposta inflamatória de forma a não prejudicar a cicatrização e a função ventricular, como se viu pela atenuação da expressão de TNF- α e NF- κ B na região de infarto associada à maior força de contração encontrada no grupo de animais previamente treinados.

Em nosso estudo, no grupo de animais infartados, houve maior expressão de TNF- α na região de infarto em comparação as regiões periinfarto e sem infarto. Além disso, a zona de infarto dos animais previamente sedentários exibiu ao IM maior quantidade de TNF- α em comparação com o grupo previamente treinado, mostrando um efeito imunomodulador do exercício.

As investigações em modelos animais e estudos *in vitro* estão continuamente aumentando nosso entendimento da base fisiopatológica da cicatrização do infarto. O reparo ótimo requer mecanismos que suprimam a síntese de mediadores inflamatórios dentro da área infartada, prevenindo a extensão da formação de tecido de granulação na região de miocárdio viável. Entretanto, a resolução em tempo ótimo da inflamação e a contenção do infiltrado na área infartada são cruciais para a formação de uma cicatriz efetiva. As intervenções que suplementam esses mecanismos protetores inerentes devem resultar em atenuação significativa do remodelamento VE.

5.6 Modulação da expressão do receptor NF- κ B pelo exercício

O NF- κ B tem papel chave na regulação das citocinas no miocárdio isquêmico (Lenardo e Baltimore, 1989), bem como sobre os genes envolvidos com a adesão e crescimento celular (Stancovski e Baltimore, 1997). Como se mencionou anteriormente, nas células em repouso, os dímeros de NF- κ B residem no citoplasma sob a forma inativa, ligados à subunidade I κ B. Sob estímulo, o I κ B é fosforilado, ubiquitinilado e degradado por clivagem proteolítica pelo sistema de proteossomos. Tal processo resulta em ativação do NF- κ B que se transloca para o núcleo e se liga a regiões promotoras ou amplificadoras dos genes-alvo, iniciando a transcrição dos mesmos.

Em nosso estudo, a quantidade de NF-kB na região de infarto foi maior no grupo sedentário-infarto em relação à mesma região do grupo exercício-infarto, sugerindo uma melhor imunomodulação no último grupo. Além disso, no grupo sedentário-infarto, houve maior porcentagem de NF-kB na região com infarto em relação às regiões periinfarto e miocárdio sem infarto. No grupo exercício-infarto, essa diferença entre as regiões não foi encontrada.

5.7 Modulação da apoptose através do exercício

Como se observou anteriormente, a apoptose de cardiomiócitos foi detectada nas diferentes fases do IM, tanto em modelos animais como em humanos, e parece ter papel importante no processo de remodelamento ventricular. Por outro lado, já se demonstrou que o exercício modula a apoptose em diferentes tipos musculares, inclusive nos músculos cardíacos (Siu *et al.*, 2004). Não está claro, entretanto, se o exercício é capaz de atenuar o aumento da apoptose que ocorre após o IM. Em nosso estudo, o treinamento prévio ao infarto atenuou a taxa de apoptose nas regiões de infarto e periinfarto do miocárdio.

5.8 Interrelações entre os fatores estudados - PPARs, TNF, NFkB e vascularização - e a influência do exercício prévio ao IM

O remodelamento ventricular pós-IM é um processo complexo que ocorre após infartos grandes (Pfeffer e Braunwald, 1990) e não está limitado apenas às áreas de infarto (McKay *et al.*, 1986; Abernethy *et al.*, 1991). No remodelamento ventricular, observa-se uma integração entre sinais mecânicos e químicos em respostas coordenadas que envolvem o endotélio, os vasos sanguíneos, as células inflamatórias e as células musculares. O entendimento de quais mecanismos sincronizam esses sistemas para regular o tônus vascular, a homeostase e as respostas adaptativas do corpo permanece um desafio; também continua sendo um desafio o entendimento de como os fatores de risco cardiovascular alteram esse balanço e perpetuam um estado crônico de inflamação.

Sabe-se que o exercício atua sobre todos os componentes citados, possivelmente ajudando na integração e melhor modulação das diferentes vias de sinalização relacionadas com mecanismos de adaptação e de desadaptação do organismo. A insuficiência cardíaca que se segue ao IM é um reflexo da má adaptação do miocárdio após o infarto quando há grande liberação de citocinas que alteram as vias de sinalização responsáveis pela cicatrização celular. Tal processo envolve recrutamento de mais células inflamatórias, fatores de angiogênese, deposição de colágeno, hipertrofia dos cardiomiócitos sobreviventes, apoptose celular e alterações no metabolismo celular. O TNF-alfa, uma das principais citocinas liberadas no pós-IM, pode promover a apoptose junto aos receptores de morte e ativar a quinase indutora de NF-kB, levando à ativação do NF-kB. O NF-kB ativado, por sua vez, inicia a regulação da transcrição gênica de citocinas, de fatores de crescimento e apoptose. Os PPARs, reguladores do metabolismo e da inflamação, podem, por sua vez, atuar sobre TNF-alfa, NF-kB, metaloproteinases, e oxidação de ácidos graxos. Dessa forma, como já se expôs anteriormente, a influência benéfica do exercício prévio ao IM pode estar ligada ao efeito modulador sobre as moléculas-chave das vias sinalizadoras.

No presente trabalho, verificamos ainda uma melhor interação entre as diferentes moléculas estudadas. Verificamos que o exercício interfere na relação entre dois importantes moduladores da inflamação, os PPARs e o NF-kB. No grupo sedentário-infarto, foi encontrada correlação negativa entre a quantidade de NF-kB na região de infarto e de periinfarto e a quantidade de PPAR- α no miocárdio sem infarto. Isso sugere que a intensa resposta inflamatória que ocorre após o IM, sobretudo nas regiões de infarto e periinfarto, interfere negativamente sobre moduladores do metabolismo de ácidos graxos na região não infartada, mais especificamente, o PPAR-alfa. Nos animais exercitados, não se observou essa correlação negativa, o que sugere que o exercício inibe a produção de fatores que interferem negativamente sobre os moduladores do metabolismo de ácidos graxos. Isso pode ser um dos mecanismos que explica a razão pela qual o grupo exercício-infarto manteve melhor função contrátil em relação ao grupo sedentário-infarto, mesmo tendo um infarto de igual tamanho.

Como mencionado anteriormente, no grupo sedentário-infarto, houve uma correlação negativa entre a quantidade do modulador inflamatório PPAR-gama e

o modulador do metabolismo cardíaco PPAR-alfa na região sem infarto. Novamente, essa correlação não existiu no grupo exercício-infarto e também pode sugerir um mecanismo de cardioproteção. Provavelmente, o aumento da resposta inflamatória evidenciada por altos níveis de PPAR-gama na região periinfarto afete negativamente a oxidação de ácidos graxos no coração. Por outro lado, no animal previamente exercitado, isso não ocorreu e esteve associado a melhor função contrátil cardíaca.

Outra correlação negativa observada no grupo sedentário-infarto foi a quantidade de NF-kB no infarto e a quantidade de PPAR-gama na região sem infarto. Tal fato sugere que a inflamação em uma região do miocárdio pode afetar a expressão de moduladores da inflamação em outras de suas regiões, modulando, com isso, a resposta inflamatória e o remodelamento do ventrículo como um todo.

Na região periinfarto do grupo sedentário-infarto, houve correlação positiva entre a quantidade de PPAR-gama e a quantidade de NF-kB, sugerindo que parte da resposta inflamatória que se segue pós-IM é modulada pela ação de PPAR-gama sobre o NF-kB e que essa modulação é alterada pelo exercício. Além disso, no animal sem treino prévio para o infarto, o PPAR-gama parece modular a angiogênese na região sem infarto, visto que nela houve correlação positiva entre essas duas variáveis.

No entanto, a angiogênese parece ser modulada de forma diferente no animal previamente treinado para o infarto. No grupo formado por animais treinados para o infarto, entre o modulador inflamatório PPAR-gama e a densidade capilar na região periinfarto.

A intersecção metabólica entre distúrbios metabólicos e inflamação permanece pouco entendida, mas pode refletir a necessidade evolucionária crucial de ligar a utilização de combustíveis e os estoques de combustível com a cicatrização de feridas e o reparo tecidual.

Dessa maneira, o exercício atuaria no sentido oposto do desarranjo metabólico e inflamatório associado às doenças cardiovasculares, modulando a

inflamação e melhorando a inter-relação entre os marcadores e moduladores inflamatórios e os reguladores metabólicos.

6 CONCLUSÕES

Os achados do presente trabalho suportam a hipótese de que a ocorrência de IM em animais previamente treinados é acompanhada de menor inflamação, menores taxas de apoptose, melhor função ventricular e possivelmente melhor interrelação entre moduladores do metabolismo energético e do sistema imunológico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, C.; PATEL L.; RAUSCHER F.J. 3rd; CURRAN, T. Redox regulation of fos and jun DNA-binding activity in vitro. *Science*, v.249, p.1157-1161, 1990.

ABERNETHY, M.; SHARPE, N.; SMITH, H.; GAMBLE, G. Echocardiographic prediction of left ventricular volume after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, v.17, p.1527-1532, 1991.

ACHARYYA, S.; VILLALTA, S.A.; BAKKAR, N.; BUPHA-INTR, T.; JANSSEN, P.M.; CARATHERS, M.; LI, Z.W.; BEG, A.A.; GHOSH, S.; SAHENK, Z.; WEINSTEIN, M.; GARDNER, K.L.; RAFAEL-FORTNEY, J.A.; KARIN, M.; TIDBALL, J.G.; BALDWIN, A.S.; GUTTRIDGE, D.C. Interplay of IKK/NF- κ B signaling in macrophages and myofibers promotes muscle degeneration in Duchenne muscular dystrophy. *J Clin Invest*, v.117, p.889-901, 2007.

AGGARWAL, B.B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol*, 3:745-756, 2003.

AKASAKA, Y.; MORIMOTO, N.; ISHIKAWA, Y.; FUJITA, K.; ITO, K.; KIMURAMATSUMOTO, M.; ISHIGURO S.; MORITA H.; KOBAYASHI Y., ISHI T. Myocardial apoptosis associated with the expression of proinflammatory cytokines during the course of myocardial infarction. *Mod Pathol*, v.19, p.588-598, 2006.

ALLENDER, S.; SCHARBOTOUGH, P.; PETO, V.; *et al.* *European cardiovascular disease statistics: 2008 edition*. London: British Heart Foundation, 2008.

ANVERSA, P.; KAJSTURA, J.; OLIVETTI, G. Myocyte death in heart failure. *Curr Opin Cardiol*, v.11, p.245-251, 1996.

BAEUERLE, P.A.; HENKEL, T. Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 12:141-179, 1994.

BALABAN, R.S. Regulation of oxidative phosphorylation in the mammalian cell. *Am J Physiol Cell Physiol*, v.258, p.C377-C389, 1990.

BALABAN, R.S.; KANTOR, H.L.; KATZ, L.A.; BRIGGS, R.W. Relation between work and phosphate metabolite in the in vivo paced mammalian heart. *Science*, v.232, p.1121-1123, 1986.

BALADY, G.J. Survival of the fittest-more evidence. *N Engl J Med*, v.346, p.852-854, 2002.

BALDWIN, A.S. JR. The NF-kappa B and I-kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 14: 649-681, 1996.

BARGER, P.M.; KELLY, D.P. Fatty acid utilization in the hypertrophied and failing heart: molecular regulatory mechanisms. *Am J Med Sci*, v.318, p.36-42, 1999.

BELARDINELLI, R.; GEORGIU, D.; CIANCI, G.; PURCARO, A. Randomized, controlled trial of long-term moderate exercise training in chronic heart failure: effects on functional capacity, quality of life, and clinical outcome. *Circulation*, v.99, p.1173-82, 1999.

BELTRAMI, A.P.; BARLUCCHI, L.; TORELLA, D.; BAKER, M.; LIMANA, F.; CHIMENTI, S.; KASAHARA, H.; ROTA, M.; MUSSO, E.; URBANEK, K.; LERI, A.; KAJSTURA, J.; NADAL-GINARD, B.; ANVERSA, P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*, v.114, n.6, p.763-76, 2003.

BELTRAMI, A.P.; URBANEK, K.; KAJSTURA, J.; YAN, S.M.; FINATO, N.; BUSSANI, R.; NADAL-GINARD, B.; SILVESTRI, F.; LERI, A.; BELTRAMI, C.A.; ANVERSA, P. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*, v.344, n.23, 1750-7, 2001.

BERGER, J.; MOLLER, D.E. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*, v.53, p.409-435, 2002.

BERLIN, J.A.; COLDITZ, G.A. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol*, v.132, p.612-28, 1990.

BIALIK, S.; GEENEN, D.L.; SASSON, I.E.; CHENG, R.; HORNER, J.W.; EVANS, S.M.; LORD, E.M.; KOCH, C.J.; KITSIS, R.N. Myocyte apoptosis during acute myocardial infarction in the mouse localizes to hypoxic regions but occurs independently of p53. *J Clin Invest*, v.100, n.6, p.1363-1372, 1997.

BING, R.J.; SIEGEL, A.; UNGAR, I.; GILBERT, M. Metabolism of the human heart. II. Studies on fat, ketone and amino acid metabolism. *Am J Med*. v.16, p.504-515, 1954.

BISHOP-BAILEY, D. Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol*, v.129, p.823-834, 2000.

BLAIR, S.N.; CHENG, Y.; HOLDER, J.S. Is physical activity or physical fitness more important in defining health benefits? *Med Sci Sports Exerc*, v.33 (6 Suppl), p. S379-S399, 2001.

BOOTH, F.W.; CHAKRAVARTHY, M.V.; GORDON, S.E.; SPANGENBURG, E.E. Waging war on physical inactivity: using modern molecular ammunition against an ancient enemy. *J Appl Physiol* 2002;93:3-30.

BOOTH, F.W.; THOMASON, D.B. Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. *Physiol Rev*, v.71, p.541-85, 1991.

BOVERIS, A.; CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*, v.134, p.707-716, 1973.

BOZKURT, B.; KRIBBS, S.; CLUBB Jr, F.J.; MICHAEL, L.H.; DIDENKO, V.V.; HORNSBY, P.J.; SETA, Y.; ORAL, H.; SPINALE, F.G.; MANN, D.L. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- α promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation*, v.97, p.1382-1391, 1998.

BROWN, M.D. Exercise and coronary vascular remodeling in the healthy heart. *Exp Physiol*, v.88, p.645-658, 2003.

BROWN, M.D.; HUDLICKA, O. Modulation of physiological angiogenesis in skeletal muscle by mechanical forces: involvement of VEGF and metalloproteinases. *Angiogenesis*, v.6, p.1-14, 2003.

BRUUNSGAARD, H. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *J Leukoc Biol*, v.89, p.819-835, 2005.

CAI, D.; FRANTZ, J.D.; TAWA Jr, N.E.; MELENDEZ, P.A.; OH, B.C.; LIDOV, H.G.; HASSELGREN, P.O.; FRONTERA, W.R.; LEE, J.; GLASS, D.J.; SHOELSON, S.E. IKK β /NF- κ B activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell*, v.119, p.285-298, 2004.

CAMPBELL, F.M.; KOZAK, R.; WAGNER, A.; ALTAREJOS, J.Y.; DYCK, J.R.; BELKE, D.D.; SEVERSON, D.L.; KELLY, D.P.; LOPASCHUK, G.D. A role for peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in the control of cardiac malonyl-CoA levels: reduced fatty acid oxidation rates and increased glucose oxidation rates in the hearts of mice lacking PPARalpha are associated with higher concentrations of malonyl-CoA and reduced expression of malonyl-CoA decarboxylase. *J Biol Chem*, v.277, p.4098-4103, 2002.

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

CHANDRASEKAR, B.; FREEMAN, G.L. Induction of nuclear factor κ B and activation protein 1 in postischemic myocardium. *FEBS Lett*, v.401, p.30-34, 1997.

CHANG, T.S.; CHO, C.S.; PARK, S.; YU, S.; KANG, S.W.; RHEE, S.G. Peroxiredoxin III, a mitochondrion-specific peroxidase, regulates apoptotic signaling by mitochondria. *J Biol Chem*, v.279, p.41975-41984, 2004.

CHAWLA, A.; BARAK, Y.; NAGY, L.; LIAO, D.; TONTONOZ, P.; EVANS, R.M. PPAR-gamma dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nat Med*, v.7, p.48-52, 2001.

CHAWLA, A.; LEE, C.H.; BARAK, Y.; HE, W.; ROSENFELD, J.; LIAO, D.; HAN, J.; KANG, H.; EVANS, R.M. PPARdelta is a very low-density lipoprotein sensor in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.100, n.3, p.1268-73, 2003.

CLAUSEN, J.P.; TRAP-JENSEN, J. Heart rate and arterial blood pressure during exercise in patients with angina pectoris. Effects of training and of nitroglycerin. *Circulation*, v.53, p.436-442, 1976.

COATS, A.J.S. Exercise training in heart failure. *Curr Control Trials Cardiovasc Med*, v.1, p.155-60, 2000.

COHEN-SOLAL, A.; GUITI, C.; GEYER, C.; LOGEART, D.; ENNEZAT, P.V. Exercise training in chronic heart failure; why? *Heart Fail Rev*, v.3, p.1-11, 1999.

COLBERT, L.H.; VISSER, M.; SIMONSICK, E.M.; TRACY, R.P.; NEWMAN, A.B.; KRITCHEVSKY, S.B.; PAHOR, M.; TAAFFE, D.R.; BRACH, J.; RUBIN, S.; HARRIS, T.B. Physical activity, exercise, and inflammatory markers in older adults: findings from the Health, Aging and Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc*, v.52, n.7, p. 1098-1104, 2004.

COLEMAN, R.; WEISS, A.; FINKELBRAND, S.; SILBERMANN, M. Age and exercise-related changes in myocardial mitochondria in mice. *Acta Histochem*, v.83; p.81-90, 1988.

CONRAADS, V.M.; BOSMANS, J.M.; VRINTS, C.J. Chronic heart failure: an example of a systemic chronic inflammatory disease resulting in cachexia. *Int J Cardiol*, v.85, n.1, p.33-49, 2002.

COX, A.G.; PULLAR, J.M.; HUGHES, G.; LEDGERWOOD, E.C.; HAMPTON, M.B. Oxidation of mitochondrial peroxiredoxin 3 during the initiation of receptor-mediated apoptosis. *Free Radic Biol Med*, v.44, p.1001-1009, 2008.

CRISMAN, R.P.; RITTMAN, B.; TOMANEK, R.J. Exercise-induced myocardial capillary growth in the spontaneously hypertensive rat. *Microvasc Res*, v.30, p.185-194, 1985.

DAWN, B.; XUAN, Y.T.; MARIAN, M.; FLAHERTY, M.P.; MURPHREE, S.S.; SMITH, T.L.; BOLLI, R.; JONES, W.K. Cardiac-specific abrogation of NF- κ B activation in mice by transdominant expression of a mutant I κ B alpha. *J Mol Cell Cardiol*, v.33, n.1, p.161-73, 2001.

DAYAN, A.; FEINBERG, M.S.; HOLBOVA, R.; DESHET, N.; SCHEINOWITZ, M. Swimming exercise training prior to acute myocardial infarction attenuates left ventricular remodeling and improves left ventricular function in rats. *Ann Clin Lab Sci*, v.35, p.73-78, 2005.

DeBOSCH, B.; TRESKOV, I.; LUPU, T.S.; WEINHEIMER, C.; KOVACS, A.; COURTOIS, M.; MUSLIN, A.J. Akt1 is required for physiological cardiac growth. *Circulation*. v.113, p.2097-2104, 2006.

DEWALD, O.; REN, G.; DUERR, G.D.; ZOERLEIN, M.; KLEMM, C.; GERSCH, C.; TINCEY, S.; MICHAEL, L.H.; ENTMAN, M.L.; FRANGOGIANNIS, N.G. Of mice and dogs: species-specific differences in the inflammatory response following myocardial infarction. *Am J Pathol*, v.164, p.665-677, 2004.

DiPENTA, J.M.; JOHNSON, J.G.; MURPHY, R.J. Natural killer cells and exercise training in the elderly: a review. *Can J Appl Physiol*, v.29,n.4, p. 419-443, 2004.

DOI, T.S.; TAKAHASHI, T.; TAGUCHI, O.; AZUMA, T.; OBATA, Y. NF- κ B RelA-deficient lymphocytes: normal development of T cells and B cells, impaired production of IgA and IgG1 and reduced proliferative responses. *J Exp Med*, v.185, n.5, p.953- 961, 1997.

EGGINTON, S. Invited review; activity-induced angiogenesis. *Eur J Appl Physiol*, v.457, p.963-77, 2009.

ESPOSITO, G.; RAPACCIUOLO, A.; NAGA PRASAD, S.V.; TAKAOKA, H.; THOMAS, S.A.; KOCH, W.J.; ROCKMAN, H.A. Genetic alterations that inhibit in vivo pressure-overload hypertrophy prevent cardiac dysfunction despite increased wall stress. *Circulation*, v.105, n.1, p.85-92, 2002.

FENG, L.; XIA, Y.; GARCIA, G.E.; HWANG, D.; WILSON, C.B. Involvement of reactive oxygen intermediates in cyclooxygenase-2 expression induced by interleukin-1, tumor necrosis factor-alpha, and lipopolysaccharide. *J Clin Invest*, v.95, p.1669-1675, 1995.

FLESHNER, M. Physical activity and stress resistance: sympathetic nervous system adaptations prevent stress-induced immunosuppression. *Exerc Sport Sci Rev*, v.33, n.3, p. 120-126, 2005.

FLETCHER, G.F.; BALADY, G.J.; AMSTERDAM, E.A.; CHAITMAN, B.; ECKEL, R.; FLEG, J.; FROELICHER, V.F.; LEON, A.S.; PIÑA, I.L.; RODNEY, R.; SIMONS-MORTON, D.A.; WILLIAMS, M.A.; BAZZARRE, T. Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, v.104, p.1694-1740, 2001.

FLETCHER, G.F.; BLAIR, S.N.; BLUMENTHAL, J.; CASPERSEN, C.; CHAITMAN, B.; EPSTEIN, S.; FALLS, H.; FROELICHER, E.S.; FROELICHER, V.F.; PINA, I.L. Statement on exercise. Benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans. A statement for health professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation*, v.86, p.340-344, 1992.

FLISS, H.; GATTINGER, D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. *Circ Res*, v.79, p.949-956, 1996.

FRANGOIANNIS, N.G.; LINDSEY, M.L.; MICHAEL, L.H.; YOUKER, K.A.; BRESSLER, R.B.; MENDOZA, L.H.; SPENGLER, R.N.; SMITH, C.W.; ENTMAN, M.L. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation*, v.98, p.699-710, 1998a.

FRANGOIANNIS, N.G.; YOUKER, K.A.; ROSSEN, R.D.; GWECHENBERGER, M.; LINDSEY, M.H.; MENDOZA, L.H.; MICHAEL, L.H.; BALLANTYNE, C.M.; SMITH, C.W.; ENTMAN, M.L. Cytokines and the microcirculation in ischemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*, v.30, p.2567-2576, 1998b.

FREIMANN, S.; SCHEINOWITZ, M.; YEKUTIELI, D.; FEINBERG, M.S.; ELDAR, M.; KESSLER-ICEKSON, G. Prior exercise training improves the outcome of acute myocardial infarction in the rat. Heart structure, function, and gene expression. *J Am Coll Cardiol*, v.45, p.931-938, 2005.

FRENCH, J.P.; HAMILTON, K.L.; QUINDRY, J.C.; LEE, Y.; UPCHURCH, P.A.; POWERS, S.K. Exercise-induced protection against myocardial apoptosis and necrosis: MnSOD, calcium-handling proteins, and calpain. *FASEB J.* v.22, n.8, p.2862-2871, 2008.

GIBBS, C.L. Cardiac energetics. *Physiol Rev*, v.58, p.174-254, 1978.

GIELEN, S.; SCHULER, G.; HAMBRECHT, R. Exercise training in coronary artery disease and coronary vasomotion. *Circulation*, v.103, p.E1-6, 2001.

GILDE, A.J.; Van Der LEE, K.A.; WILLEMSEN, P.H.; CHINETTI, G.; Van Der LEIJ, F.R.; van der VUSSE, G.J.; STAELS, B.; van BILSEN, M. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and PPAR β/δ , but not PPAR γ , modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ Res*, v.92, p.518-524, 2003.

GOTTDIENER, J.S.; BEDNARZ, J.; DEVEREUX, R.; GARDIN, J.; KLEIN, A.; MANNING, W.J.; MOREHEAD, A.; KITZMAN, D.; OH, J.; QUINONES, M.; SCHILLER, N.B.; STEIN, J.H.; WEISSMAN, N.J.; AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY. American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials. *J Am Soc Echocardiogr*, v.17, n.10, p.1086-119, 2004.

GOTTLIEB, R.A.; BURLESON, K.O.; KLONER, R.A.; BABIOR, B.M.; ENGLER, R.L. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest*, v.94, p.1621-1628, 1994.

GREENE, W.C. Regulation of HIV-1 gene expression. *Annu Rev Immunol*, v.8: p.453-475, 1990.

GUPTA, S.; PURCELL, N.H.; LIN, A.; SEN, S. Activation of nuclear factor κ B is necessary for myotrophin-induced cardiac hypertrophy. *J Cell Biol*, v.159, p.1019-1028, 2002.

GURANTZ, D.; COWLING, R.T.; VARKI, N.; FRIKOVSKY, E.; MOORE, C.D.; GREENBERG, B.H. IL-1 β and TNF-alpha upregulate angiotensin II type 1 (AT1) receptors on cardiac fibroblasts and are associated with increased AT1 density in the post-MI heart. *J Mol Cell Cardiol*, v.38, p.505-515, 2005.

GUSTAFSSON, T.; KRAUS, W.E. Exercise-induced angiogenesis-related growth and transcription factors in skeletal muscle, and their modification in muscle pathology. *Front Biosci*, v.6, p.D75-D89, 2001.

HAFFNER, S.M.; GREENBERG, A.S.; WESTON, W.M.; CHEN, H.; WILLIAMS, K.; FREED, M.I. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*, v.106, n.6, p.679-84, 2002.

HAKIM, A.A.; PETROVITCH, H.; BURCHFIEL, C.M.; ROSS, G.W.; RODRIGUEZ, B.L.; WHITE, L.R.; YANO, K.; CURB, J.D.; ABBOTT, R.D. Effects of walking on mortality among nonsmoking retired men. *N Engl J Med*, v.338; p.94-99, 1998.

HAMBRECHT, R.; FIEHN, E.; WEIGL, C.; GIELEN, S.; HAMANN, C.; KAISER, R.; YU, J.; ADAMS, V.; NIEBAUER, J.; SCHULER, G. Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Circulation*, v.98, p.2709-15, 1998.

HANEMAAIJER, R.; KOOLWIJK, P.; le CLERCQ, L.; de VREE, W.J.; van HINSBERG, V.W. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vein and microvascular endothelial cells: effects of tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 and phorbol ester. *Biochem J*, v.296, p.803-809, 1993.

HAYAKAWA, K.; TAKEMURA, G.; KANO, M.; LI, Y.; KODA, M.; KAWASE, Y.; MARUYAMA, R.; OKADA, H.; MINATOGUCHI, S.; FUJIWARA, T.; FUJIWARA, H. Inhibition of granulation tissue cell apoptosis during the subacute stage of myocardial infarction improves cardiac remodeling and dysfunction at the chronic stage. *Circulation*, v.108, p.104-109, 2003.

HAYASHI, T.; UENO, Y.; OKAMOTO, T. Oxidoreductive regulation of nuclear factor κ B: involvement of a cellular reducing catalyst thioredoxin. *J Biol Chem*, v.268, p.11380-11388, 1993.

HAYDEN, M.S.; GHOSH, S. Signaling to NF- κ B. *Genes Dev*, v.18, p.2195-2224, 2004.

HONG, L.I.; MALHOTRA, S.; KUMAR, A. Nuclear factor- κ B signaling in skeletal muscle atrophy. *J Mol Med*, v.86, p.1113-1126, 2008.

HOOD, D.A.; IRRCHER, I.; LJUBICIC, V.; JOSEPH, A.M. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *J Exp Biol*, v.209, p.2265-75, 2006.

HU, F.B.; LI, T.Y.; COLDITZ, G.A.; WILLETT, W.C.; MANSON, J.E. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. *JAMA*, v.289, n.14, p.1785-1791, 2003.

HUDLICKA, O.; BROWN, M.; EGGINTON, S. Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev*, v.72, p.369-417, 1992.

HUNTER, R.B.; KANDARIAN, S.C. Disruption of either the Nfkb1 or the Bcl3 gene inhibits skeletal muscle atrophy. *J Clin Invest*, v.114, p.1504-1511, 2004.

HUNTER, R.B.; STEVENSON, E.; KONCAREVIC, A.; MITCHELL-FELTON, H. ESSIG, D.A.; KANDARIAN, S.C. Activation of an alternative NF- κ B pathway in skeletal muscle during disuse atrophy. *FASEB J*, v.16, p.529-538, 2002.

HUSS, J.M.; KELLY, D.P. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ Res*. v.95, p.568-578, 2004.

HUSS, J.M.; LEVY, F.H.; KELLY, D.P. Hypoxia inhibits the peroxisome proliferator-activated receptor alpha/retinoid X receptor gene regulatory pathway in cardiac myocytes: a mechanism for O₂-dependent modulation of mitochondrial fatty acid oxidation. *J Biol Chem*, v.276, p.27605-27612, 2001.

IEMITSU, M.; MIYAUCHI, T.; MAEDA, S.; SAKAI, S.; FUJII, N.; MIYAZAKI, H.; KAKINUMA, Y.; MATSUDA, M.; YAMAGUCHI, I. Cardiac hypertrophy by hypertension and exercise training exhibits different gene expression of enzymes in energy metabolism. *Hypertens Res*, v.26, n.10, p.829-37, 2003.

IGNARRO, L.J.; BALESTRIERI, M.L.; NAPOLI, C. Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: an update. *Cardiovasc Res*, v.73, p.326-340, 2007.

INGWALL, J.S. *ATP and the Heart*. Boston, MA: Kluwer, 2001.

ITOH, G.; TAMURA, J.; SUZUKI, M.; SUZUKI, Y.; IKEDA, H. KOIKE, M.; NOMURA, M.; JIE, T.; ITO, K. DNA fragmentation of human infarcted myocardial cells demonstrated by the nick end labeling method and DNA agarose gel electrophoresis. *Am J Pathol*, v.146, p.1325-1331, 1995.

JANCZEWSKI, A.M.; KADOKAMI, T.; LEMSTER, B.; FRYE, C.S.; McTIERNAN, C.F.; FELDMAN, A.M. Morphological and functional changes in cardiac myocytes isolated from mice overexpressing TNF- α . *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.284, p.H960-969, 2003.

JENNINGS, R.B.; MURRY, C.E.; STEENBERGEN JR., C.; REIMER, K.A. Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation*, v.82, p.II2-II12, 1990.

JOHNS, T.N.; OLSON, B.J. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg*, v.140, n.5, p.675-682, 1954.

JUDGE, S.; JANG, Y.M.; SMITH, A.; HAGEN, T.; LEEUWENBURGH, C. Age associated increases in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in cardiac interfibrillar mitochondria: implications for the mitochondrial theory of aging. *FASEB J*, v.19, p.419-421, 2005.

JUDGE, S.; JANG, Y.M.; SMITH, A.; SELMAN, C.; PHILLIPS, T.; SPEAKMAN, J.R.; HAGEN, T.; LEEUWENBURGH, C. Exercise by lifelong voluntary wheel running reduces subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial hydrogen peroxide production in the heart. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.289, p.R1564-R1572, 2005.

JULIA, P.; YOUNG, H.H.; BUCKBERG, G.D.; KOFSKY, E.R.; BUGYI, H.I. Studies of myocardial protection in the immature heart. II. Evidence for importance of amino acid metabolism in tolerance to ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, v.100, p.888-895, 1990.

KAJSTURA, J.; CHENG, W.; REISS, K.; CLARK, W.A.; SONNENBLICK, E.H.; KRAJEWSKI, S.; REED, J.C.; OLIVETTI, G.; ANVERSA, P. Apoptotic and necrotic myocyte cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. *Lab Invest*, v.74, p.86-107, 1996.

KANNEL, W.B. Bishop lecture. Contribution of the Framingham Study to preventive cardiology. *J Am Coll Cardiol*, v.15, p.206-211, 1990.

KAPADIA, S.; LEE, J.; TORRE-AMIONE, G.; BIRDSALL, H.H.; MA, T.S.; MANN, D.L. Tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest*. v.96, p.1042-1052, 1995.

KAPADIA, S.R.; ORAL, H.; LEE, J.; NAKANO, M.; TAFFET, G.E.; MANN, D.L. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res*. v.81, p.187-195, 1997.

KARCH, R.; NEUMANN, F.; ULLRICH, R.; NEUMULLER, J.; PODESSER, B.K.; NEUMANN, M.; SCHREINER, W. The spatial pattern of coronary capillaries in patients with dilated, ischemic, or inflammatory cardiomyopathy. *Cardiovasc Pathol*,. v.14, p.135-144, 2005.

KARIN, M.; LIN, A. NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nat Immunol*, v.3, n.3, p.221-227, 2002.

KAVAZIS, A.N.; ALVAREZ, S.; TALBERT, E.; LEE, L.; POWERS, S.K. Exercise training induces a cardioprotective phenotype and alterations in cardiac subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondrial proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.297, p.H144-H152, 2009.

KAVAZIS, A.N.; McCLUNG, J.M.; HOOD, D.A.; POWERS, S.K. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.294, p.H928-H935, 2008.

KAYAR, S.R.; CONLEY, K.E.; CLAASSEN, H.; HOPPELER, H. Capillarity and mitochondrial distribution in rat myocardium following exercise training. *J Exp Biol*, v.120, p.189-199, 1986.

KELLER, H.; DREYER, C.; MEDIN, J.; MAHFOUDI, A.; OZATO, K.; WAHLI, W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.90, p.2160-2164, 1993.

KELLY, D.P.; SCARPULLA, R.C. Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev*, v.18, p.357-368, 2004.

KLIEWER, S.A.; UMESONO, K.; NOONAN, D.J.; HEYMAN, R.A.; EVANS, R.M. Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature*, v.358, p.771-774, 1992.

KOHUT, M.L.; SENCHINA, D.S. Reversing age-associated immunosenescence via exercise. *Exerc Immunol Rev*, v.10, p.6-41, 2004.

KÖNTGEN, F.; GRUMONT, R.J.; STRASSER, A.; METCALF, D.; LI, R.; TARLINTON, D.; GERONDAKIS, S. Mice lacking the c-rel proto-oncogene exhibit defects in lymphocyte proliferation, humoral immunity, and interleukin-2 expression. *Genes Dev*, v.9, n.16, p.1965-1977, 1995.

KRAUS, R.M.; STALLINGS 3rd, H.W.; YEAGER, R.C.; GAVIN, TP. Circulating plasma VEGF response to exercise in sedentary and endurance-trained men. *J Appl Physiol*, v.96, p.1445-1450, 2004.

KROWN, K.A.; PAGE, M.T.; NGUYEN, C.; ZECHNER, D.; GUTIERREZ, V.; COMSTOCK, K.L.; GLEMBOTSKI, C.C.; QUINTANA, P.J.E.; SABBADINI, R.A. Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes: involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death. *J Clin Invest*, v.98, p.2854-2865, 1996.

KUBOTA, T.; BOUNOUTAS, G.S.; MIYAGISHIMA, M.; KADOKAMI, T.; SANDERS, V.J.; BRUTON, C.; ROBBINS, P.D.; McTIERNAN, C.F.; FELDMAN, A.M. Soluble tumor necrosis factor receptor abrogates myocardial inflammation but not hypertrophy in cytokine-induced cardiomyopathy. *Circulation*, v.101, p.2518-2525, 2000.

KUBOTA, T.; McTIERNAN, C.F.; FRYE, C.S.; DEMETRIS, A.J.; FELDMAN, A.M. Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha causes lethal myocarditis in transgenic mice. *J Card Fail*, v.3, n.2, p.117-124, 1997.

KUBOTA, T.; McTIERNAN, C.F.; FRYE, C.S.; SLAWSON, S.E.; KORETSKY, A.P.; DEMETRIS, A.J.; FELDMAN, A.M. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res*, v.81, p.627-635, 1997.

KUBOTA, T.; McTIERNAN, C.F.; FRYE, C.S.; SLAWSON, S.E.; LEMSTER, B.H.; KORETSKY, A.P.; DEMETRIS, A.J.; FELDMAN, A.M. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res*, v.81, p.627-635, 1997.

KUBOTA, T.; MIYAGISHIMA, M.; FRYE, C.S.; ALBER, S.M.; BOUNOUTAS, G.S.; KADOKAMI, T.; WATKINS, S.C.; McTIERNAN, C.F.; FELDMAN, A.M. Overexpression of tumor necrosis factor-alpha activates both anti- and pro-apoptotic pathways in the myocardium. *J Mol Cell Cardiol*, v.33, n.7, p.1331-1344, 2001.

KUMAR, A.; TAKADA, Y.; BORIEK, A.M.; AGGARWAL, B.B. Nuclear factor- κ B: its role in health and disease. *J Mol Med*, v.82, p.434-448, 2004.

KUMAR, C.T.; REDDY, V.K.; PRASAD, M.; THYAGARAJU, K.; REDDANNA, P. Dietary supplementation of vitamin E protects heart tissue from exercise-induced oxidant stress. *Mol Cell Biochem*, v.111, p.109-115, 1992.

KUPATT, C.; HABAZETTL, H.; GOEDECKE, A.; WOLF, D.A.; ZAHLER, S.; BOEKSTEGERS, P.; KELLY, R.A.; BECKER, B.F. Tumor necrosis factor-alpha contributes to ischemia- and reperfusion-induced endothelial activation in isolated hearts. *Circ Res*, v.84, p.392-400, 1999.

KUPATT, C.; WICHELS, R.; DEISS, M.; MOLNAR, A.; LEBHERZ, C.; RAAKE, P.; von DEGENFELD, G.; HAHNEL, D.; BOEKSTEGERS, P. Retroinfusion of NF κ B decoy oligonucleotide extends cardioprotection achieved by CD18 inhibition in a preclinical study of myocardial ischemia and retroinfusion in pigs. *Gene Ther*, v.9, n.8, p.518-526, 2002.

LAHAM, R.J.; LI, J.; TOFUKUJI, M.; POST, M.; SIMONS, M.; SELLKE, F.W. Spatial heterogeneity in VEGF-induced vasodilation: VEGF dilates microvessels but not epicardial and systemic arteries and veins. *Ann Vasc Surg*, v.17, p.245-252, 2003.

LAUFS, U.; WERNER, N.; LINK, A.; ENDRES, M.; WASSMANN, S.; JURGENS, K.; MICHE, E.; BOHM, M.; NICKENIG, G. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*, v.109, p.220-226, 2004.

LEE, C.H.; CHAWLA, A.; URBIZTONDO, N.; LIAO, D.; BOISVERT, W.A.; EVANS, R.M.; CURTISS, L.K. Transcriptional repression of atherogenic inflammation: modulation by PPAR δ . *Science*, v.302, p.453-457, 2003. Published online 11 September 2003 (10.1126/science.1087344)

LENARDO, M.J.; BALTIMORE, D. NF- κ B: a pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control. *Cell*, v.58, p.227-229, 1989.

LENNON, S.L.; QUINDRY, J.C.; HAMILTON, K.L.; FRENCH, J.P.; HUGHES, J.; MEHTA, J.L.; POWERS, S.K. Elevated MnSOD is not required for exercise-induced cardioprotection against myocardial stunning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.287, n.2, p.H975-980, 2004.

LI, A.C.; GLASS, C.K. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nat Med*, v.8, n.11, p.1235-1242, 2002.

LI, J.; BROWN, L.F.; HIBBERD, M.G.; GROSSMAN, J.D.; MORGAN, J.P.; SIMONS, M. VEGF, flk-1, and flt-1 expression in a rat myocardial infarction model of angiogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.270, p.H1803-H1811, 1996.

LI, Q.; VERMA, I.M. NF- κ B regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol*. v.2, p.725-734, 2002.

LIU, Z.G.; HSU, H.; GOEDDEL, D.V., KARIN, M. Dissection of TNF receptor 1 effector function: JNK activation is not linked to apoptosis while NF- κ B activation prevents cell death. *Cell*. v.87, p.565-576, 1996.

LOPASCHUK, G.D.; BELKE, D.D.; GAMBLE, J.; ITOI, I.; SCHÖNEKESS, B.O. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochim Biophys Acta*, v.1213; p.263-276, 1994.

LOPEZ, J.J.; LAHAM, R.J.; STAMLER, A.; PEARLMAN, J.D.; BUNTING, S.; KAPLAN, A.; CARROZZA, J.P.; SELLKE, F.W.; SIMONS, M. VEGF administration in chronic myocardial ischemia in pigs. *Cardiovasc Res*, v.40, p.272-281, 1998.

LYGATE, C.A.; HULBERT, K.; MONFARED, M.; COLE, M.A.; CLARKE, K.; NEUBAUER, S. The PPARgamma-activator rosiglitazone does not alter remodeling but increases mortality in rats post-myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. v.58, p.632-637, 2003.

MA, G.; AI-SHABRAWAY, M.; JOHNSON, J.A.; DATAR, R.; TAWFIK, H.E.; GUO, D.; CALDWELL, R.B.; CALDWELL, R.W. Protection against myocardial ischemia/reperfusion injury by short-term diabetes: enhancement of CEGF formation, capillary density and activation of cell survival signaling. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, v.373, n.6, p.415-427, 2006.

MAEKAWA, N.; WADA, H.; KANDA, T.; NIWA, T.; YAMADA, Y.; SAITO, K.; FUJIWARA, H.; SEKIKAWA, K.; SEISHIMA, M. Improved myocardial ischemia/reperfusion injury in mice lacking tumor necrosis factor-alpha. *J Am Coll Cardiol*, v.39, p.1229-1235, 2002.

MANN, D.L. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. *Annu Rev Physiol*, v.65, p.81-101, 2003.

MANSON, J.E.; GREENLAND, P.; LACROIX, A.Z.; STEFANIK, M.L.; MOUTON, C.P.; OBERMAN, A.; PERRI, M.G.; SHEPS, D.S.; PETTINGER, M.B.; SISCOVICK, D.S. Walking compared with vigorous exercise for the prevention of cardiovascular events in women. *N Eng J Med*, v.347, p.716-725, 2002.

MATSUSHIMA, S.; IDE, T.; YAMATO, M.; MATSUSAKA, H.; HATTORI, F.; IKEUCHI, M.; KUBOTA, T.; SUNAGAWA, K.; HASEGAWA, Y.; KURIHARA, T.; OIKAWA, S.; KINUGAWA, S.; TSUTSUI, H. Overexpression of mitochondrial peroxiredoxin-3 prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. *Circulation*, v.113, p.1779-1786, 2006.

McELROY, C.L.; GISSEN, A.S.; FISHBEIN, M.C. Exercise induced reduction in myocardial infarct size after coronary artery occlusion in the rat. *Circulation*, v.57, p.958-962, 1978.

McKAY, R.G.; PFEFFER, M.A.; PASTERNAK, R.C.; MARKIS, J.E.; COME, P.C.; NAKAO, S.; ALDERMAN, J.D.; FERGUSON, J.J.; SAFIAN, R.D.; GROSSMAN, W. Left ventricular remodeling following myocardial infarction: a corollary to infarct expansion. *Circulation*, v.74, p.693-702, 1986.

MEIER, B.; RADEKE, H.H.; SELLE, S.; YOUNES, M.; SIES, H.; RESCH, K.; HABERMEHL, G.G. Human fibroblasts release reactive oxygen species in response to interleukin-1 or tumour necrosis factor-alpha. *Biochem J*, v.263, p.539-545, 1989.

MEIGS, J.B.; D'AGOSTINO, R.B., SR; WILSON, P.W.; CUPPLES, L.A.; NATHAN, D.M.; SINGER, D.E. Risk variable clustering in the insulin resistance syndrome. The Framingham Offspring Study. *Diabetes*, v.46, p.1594-1600, 1997.

MENON, S.D.; QIN, S.; GUY, G.R.; TAN, Y.H. Differential induction of nuclear NF- κ B by protein phosphatase inhibitors in primary and transformed human cells: requirement for both oxidation and phosphorylation in nuclear translocation. *J Biol Chem*, v.268, p.26805-26812, 1993.

MERCURIO, F.; MURRAY, B.W.; SHEVCHENKO BENNETT, B.L.A.; YOUNG, D.B.; LI, J.W.; PASCUAL, G.; MOTIWALA, A.; ZHU, H.; MANN, M.; MANNING, A.M. I κ B kinase (IKK)-associated protein 1, a common component of the heterogeneous IKK complex. *Mol Cell Biol* 19: 1526-1538, 1999.

MICHEAU, O.; TSCHOPP, J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*, v.114, n.2, p.181-190, 2003.

MIYACHI, M.; YAZAWA, H.; FURUKAWA, M.; TSUBOI, K.; OHTAKE, M.; NISHIZAWA, T.; HASHIMOTO, K.; YOKOI, T.; KOJIMA, T.; MURATE, T.; YOKOTA, M.; MUROHARA, T.; KOIKE, Y.; NAGATA, K. Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Hypertension*, v.53, p.701-707, 2009.

MORISHITA, R.; SUGIMOTO, T.; AOKI, M.; KIDA, I.; TOMITA, N.; MORIGUCHI, A.; MAEDA, K.; SAWA, Y.; KANEDA, Y.; HIGAKI, J.; OGIHARA, T. In vivo transfection of cis element "decoy" against nuclear factor- κ B binding site prevents myocardial infarction. *Nat Med*, v.3, p.894-899, 1997.

MOURKIOTI, F.; KRATSIOS, P.; LUEDDE, T.; SONG, Y.H.; DELAFONTAINE, P.; ADAMI, R.; PARENTE, V.; BOTTINELLI, R.; PASPARAKIS, M.; ROSENTHAL, N. Targeted ablation of IKK2 improves skeletal muscle strength, maintains mass, and promotes regeneration. *J Clin Invest*, v.116, p.2945-2954, 2006.

MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N.; SUGIYAMA, S. Differential adaptation to endurance training between heart and gastrocnemius muscle mitochondria in rats. *Biochem Mol Biol Int*, v.36, p.285-290, 1995.

NAGATA, K.; OBATA, K.; XU, J.; ICHIHARA, S.; NODA, A.; KIMATA, H.; KATO, T.; IZAWA, H.; MUROHARA, T.; YOKOTA, M. Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and failure in low-aldosterone hypertensive rats. *Hypertension*, v.47, p.656-664, 2006.

NARRAVULA, S.; COLGAN, S.P. Hypoxia-inducible factor 1-mediated inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor alpha expression during hypoxia. *J Immunol*, v.166, p.7543-7548, 2001.

NATOLI, G.; COSTANZO, A.; IANNI, A.; TEMPLETON, D.J.; WOODGETT, J.R.; BALSANO, C.; LEVRERO, M. Activation of SAPK/JNK by TNF receptor 1 through a noncytotoxic TRAF2-dependent pathway. *Science*, v.275, p.200-203, 1997.

NELSON, S.K.; WONG, G.H.; McCORD, J.M. Leukemia inhibitory factor and tumor necrosis factor induce manganese superoxide dismutase and protect rabbit hearts from reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*, v.27, p.223-229, 1995.

ONO, K.; MATSUMORI, A.; SHIOI, T.; FURUKAWA, Y.; SASAYAMA, S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. *Circulation*, v.98, n.2, p.149-156, 1998.

OPIE, L.H. *The Heart: Physiology and Metabolism*. New York: Raven; 1991.

PAGANI, F.D.; BAKER, L.S.; HSI, C.; KNOX, M.; FINK, M.P.; VISNER, M.S. Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor- α in conscious dogs. *J Clin Invest*, v.90, p.389-398, 1992.

PALJOJOKI, E.; SARASTE, A.; ERIKSSON, A.; PULKKI, K.; KALLAJOKI, M.; VOIPIO-PULKKI, L.M.; TIKKANEN, I. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Am J Physiol*, v.280, p.H2726-H2731, 2001.

PATE, R.R.; PRATT, M.; BLAIR, S.N.; HASKELL, W.L.; MACERA, C.A.; BOUCHARD, C.; BUCHNER, D.; ETTINGER, W.; HEATH, G.W.; KING, A.C.; *et al*. Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA*, v.273, p.402-407, 1995.

PENG, J.; GURANTZ, D.; TRAN, V.; COWLING, R.T.; GREENBERG, B.H. Tumor necrosis factor-alpha-induced AT1 receptor upregulation enhances angiotensin II-mediated cardiac fibroblast responses that favor fibrosis. *Circ Res*, v.91, p.1119-1126, 2002.

PETTE, D.; STARON, R.S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech*, v.50, p.500-509, 2000.

PETTE, D.; STARON, R.S. The molecular diversity of mammalian muscle fibers. *News Physiol Sci*, v.8, p.153-7, 1993.

PFEFFER, M.A.; BRAUNWALD, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation*, v.81, p.1161-1172, 1990.

PIEPOLI, M.F.; DAVOS, C.; FRANCIS, D.P.; COATS, A.J. Exercise training metaanalysis of trials in patients with chronic heart failure (ExTraMATCH). *BMJ*, v.328, p.189-95, 2004.

PINA, I.L.; DAOUD, S. Exercise and heart failure. *Minerva Cardioangiol*, v.52, p.537-546, 2004.

PIÑA, L.L.; APSTEIN, C.S.; BALADY, G.J.; BELARDINELLI, R.; CHAITMAN, B.R.; DUSCHA, B.D.; FLETCHER, B.J.; FLEG, J.L.; MYERS, J.N.; SULLIVAN, M.J.; AMERICAN HEART ASSOCIATION COMMITTEE ON EXERCISE, REHABILITATION, AND PREVENTION. Exercise and heart failure — a statement from the American Heart Association Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention. *Circulation*, v.107, p.1210-1225, 2003.

PINKUS, R.; WIENER, L.M.; DANIEL, V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-kB, and glutathione S-transferase gene expression. *J Biol Chem*. v.271, p.13422-13429, 1996.

PLUTZKY, J. Medicine. PPARs as therapeutic targets: reverse cardiology? *Science*, v.302, p.406-407, 2003.

PLUTZKY, J. Peroxisome proliferator-activated receptors in endothelial cell biology. *Curr Opin Lipidol*, v.12, p.511-518, 2001.

POWERS, S.K.; LENNON, S.L.; QUINDRY, J.; MEHTA, J.L. Exercise and cardioprotection. *Curr Opin Cardiol*, v.17, n.5, p.495-502, 2002.

POWERS, S.K.; QUINDRY, J.; HAMILTON, K. Aging, exercise, and cardioprotection. *Ann N Y Acad Sci*, v.1019, p.462-470, 2004 .

POWERS, S.K.; QUINDRY, J.C.; KAVAZIS, A.N. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*, v.44, p.193-201, 2008.

PUIGSERVER, P.; SPIEGELMAN, B.M. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocr Rev*, v.24, p.78-90, 2003.

PURCELL, N.H.; TANG, G.; YU, C.; MERCURIO, F.; DiDONATO, J.A.; LIN, A. Activation of NF- κ B is required for hypertrophic growth of primary rat neonatal ventricular cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.98, p.6668-6673, 2001.

QUINDRY, J.; FRENCH, J.; HAMILTON, K.; LEE, Y.; MEHTA, J.L.; POWERS, S. Exercise training provides cardioprotection against ischemia-reperfusion induced apoptosis in young and old animals. *Exp Gerontol*, v.40, n.5, p.416-425, 2005.

RADEKE, H.H.; MEIER, B.; TOPLEY, N.; FLOGE, J.; HABERMEHL, G.G.; RESCH, K. Interleukin 1-alpha and tumor necrosis factor-alpha induce oxygen radical production in mesangial cells. *Kidney Int*, v.37, p.767-775, 1990.

RAKUSAN, K.; FLANAGAN, M.F.; GEVA, T.; SOUTHERN, J.; Van PRAAGH, R. Morphometry of human coronary capillaries during normal growth and the effect of age in left ventricular pressure-overload hypertrophy. *Circulation*, v.86, p.38-46, 1992.

REHMAN, J.; LI, J.; PARVATHANENI, L.; KARLSSON, G.; PANCHAL, V.R.; TEMM, C.J.; MAHENTHIRAN, J.; MARCH, K.L. Exercise acutely increases circulating endothelial progenitor cells and monocyte-/macrophage-derived angiogenic cells. *J Am Coll Cardiol*, v.43, p.2314-2318, 2004.

SALO, D.C.; DONOVAN, C.M.; DAVIES, K.J. HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise. *Free Radic Biol Med*, v.11, p.239-246, 1991.

SANDVIK, L.; ERIKSSON, J.; THAULOW, E.; ERIKSSON, G.; MUNDAL, R.; RODAHL, K. Physical fitness as a predictor of mortality among healthy, middle-aged Norwegian men. *N Eng J Med*, v.328, p.533-537, 1993.

SARASTE, A.; PULKKI, K.; KALLAJOKI, M.; HENRIKSEN, K.; PARVINEN, M.; VOIPIO PULKKI, L.M. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation*, v.95, p.320-323, 1997.

SATO, K.; WU, T.; LAHAM, R.J.; JOHNSON, R.B.; DOUGLAS, P.; LI, J.; SELLKE, F.W.; BUNTING, S.; SIMONS, M.; POST, M.J. Efficacy of intracoronary or intravenous VEGF165 in a pig model of chronic myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol*, v.37, p.616-623, 2001.

SAWA, Y.; MORISHITA, R.; SUZUKI, K.; KAGISAKI, K.; KANEDA, Y.; MAEDA, K.; KADOBA, K.; MATSUDA, H. A novel strategy for myocardial protection using in vivo transfection of cis element 'decoy' against NF κ B binding site: evidence for a role of NF κ B in ischemia - reperfusion injury. *Circulation*, v.96, n.9 Suppl., p.II-280-284, 1997.

SCHENK, H.; KLEIN, M.; ERDBRUGGER, W.; DROGE, W.; SCHULZE-OSTHOFF, K. Distinct effects of thioredoxin and antioxidants on the activation of transcription factor NF- κ B and AP-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.91, p.1672-1676, 1994.

SCHULTZ, R.L.; SWALLOW, J.G.; WATERS, R.P.; KUZMAN, J.A.; REDETZKE, R.A.; SAID, S.; de ESCOBAR, G.M.; GERDES, A.M. Effects of excessive long-term exercise on cardiac function and myocyte remodeling in hypertensive heart failure rats. *Hypertension*, v.50, p.410-416, 2007.

SEMB, H.; PETERSON, J.; TAVERNIER, J.; OLIVECRONA, T. Multiple effects of tumor necrosis factor on lipoprotein lipase in vivo. *J Biol Chem*, v.262, p.8390-8394, 1987.

SHA, W.C.; LIOU, H.C.; TUOMANEN, E.I.; BALTIMORE, D. Targeted disruption of the p50 subunit of NF- κ B leads to multifocal defects in immune responses. *Cell*, v.80, n.2, p.321-330, 1995.

SHEPARD, R.J.; BALADY, G.J. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation*, v.99, p.963-972, 1999.

SHIOJIMA, I.; SATO, K.; IZUMIYA, Y.; SCHIEKOFER, S.; ITO, M.; LIAO, R.; COLUCCI, W.S.; WALSH, K. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J Clin Invest*, v.115, p.2108-2118, 2005.

SHIOJIMA, I.; WALSH, K. Regulation of cardiac growth and coronary angiogenesis by the Akt/PKB signaling pathway. *Genes Dev*, v.20, p.3347-3365, 2006.

SHIPP, J.C.; OPIE, L.H.; CHALLONER, D. Fatty acid and glucose metabolism in the perfused heart. *Nature*, v.189, p.1018-1019, 1961.

SIU, P.M.; BRYNER, R.W.; MARTYN, J.K.; ALWAY, S.E. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *FASEB J*, v.18, n.10, p.1150-1152, 2004.

SIVASUBRAMANIAN, N.; COKER, M.L.; KURRELMAYER, K.M.; MacLELLAN, W.R.; DeMAYO, F.J.; SPINALE, F.G.; MANN, D.L. Left ventricular remodeling in transgenic mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. *Circulation*, v.104, n.7, p.826-831, 2001.

STAAL, F.J.; ROEDERE, M.; HERZENBERG, L.A.; HERZENBERG, L.A. Intracellular thiols regulate activation of nuclear factor κ B and transcription of human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.87, p.9943-9947, 1990.

STAMLER, J.; WENTWORTH, D.; NEATON, J.D. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA*, v.256, p.2823-2828, 1986.

STANCOVSKI, I.; BALTIMORE, D. NF- κ B activation: the I κ B kinase revealed? *Cell*, v.91, p.299-302, 1997.

STANLEY, W.C.; CHANDLER, M.P. Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions. *Heart Fail Rev*, v.7, p.115-130, 2002.

STARNES, J.W.; BARNES, B.D.; OLSEN, ME. Exercise training decreases rat heart mitochondria free radical generation but does not prevent Ca²⁺-induced dysfunction. *J Appl Physiol*, v.102, p.1793-1798, 2007.

STEG, P.G.; BHATT, D.L.; WILSON, P.W.; D'AGOSTINO, R. Sr, OHMAN, E.M.; RÖTHER, J.; LIAU, C.S.; HIRSCH, A.T.; MAS, J.L.; IKEDA, Y.; PENCINA, M.J.; GOTO, S.; REACH REGISTRY INVESTIGATORS. One-year cardiovascular event rates in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*, v.297, p.1197-1206, 2007.

STEWART, K.J. Exercise training and the cardiovascular consequences of type 2 diabetes and hypertension: plausible mechanisms for improving cardiovascular health. *JAMA*, v.288, p.1622-1631, 2002.

STEWART, K.J. Role of exercise training on cardiovascular disease in persons who have type 2 diabetes and hypertension. *Cardiol Clin*, v.22, n.4, p.569-586, 2004.

STUEWE, S.R.; GWIRTZ, P.A.; AGARWAL, N.; MALLETT, R.T. Exercise training enhances glycolytic and oxidative enzymes in canine ventricular myocardium. *J Mol Cell Cardiol*, v.32, p.903-913, 2000.

SUDA, T.; NAGATA, S. Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis. *J Exp Med*, v.179, n.3, p.873-879, 1994.

SUFFREDINI, A.F.; FROMM, R.E.; PARKER, M.M.; BRENNER, M.; KOVACS, J.A.; WESLEY, R.A.; PARRILLO, J.E: The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med*, v.321, p.280-287, 1989.

SUGA, H. Ventricular energetics. *Physiol Rev*, v.70, p.247-277, 1990.

SUGANO, M.; TSUCHIDA, K.; MAKINO, N. High-density lipoproteins protect endothelial cells from tumor necrosis factor- α induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, v.272, p.872-876, 2000.

TAEGETMEYER, H. Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications. *Curr Prob Cardiol*, v.19, p.59-113, 1994.

TAKEMURA, G.; FUJIWARA, H. Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction. *Pharmacol Ther*, v.104, p.1-16, 2004.

TAO, W.; DOUGHERTY, R.; JOHNSTON, P.; PICKETT, W. Recombinant bovine GM-CSF primes superoxide production but not degranulation induced by recombinant bovine interleukin-1 β in bovine neutrophils. *J Leukoc Biol*, v.53, p.679-684, 1993.

TERBLANCHE, S.E.; GOHIL, K.; PACKER, L.; HENDERSON, S.; BROOKS, G.A. The effects of endurance training and exhaustive exercise on mitochondrial enzymes in tissues of the rat (*Rattus norvegicus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, v.128, p.889-896, 2001.

THURBERG, B.L.; COLLINS, T. The nuclear factor- κ B/inhibitor of κ B autoregulatory system and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, v.9, p.387-396, 1998.

TOYOTA, E.; WARLTIER, D.C.; BROCK, T.; RITMAN, E.; KOLZ, C.; O'MALLEY, P.; ROCIC, P.; FOCARDI, M.; CHILIAN, W.M. Vascular endothelial growth factor is required for coronary collateral growth in the rat. *Circulation*, v.112, p.2108-2113, 2005.

TRIPP, M.E. Developmental cardiac metabolism in health and disease. *Pediatr Cardiol*, v.10, p.150-158, 1989.

van EMPEL, V.P.; De WINDT, L.J. Myocyte hypertrophy and apoptosis: a balancing act. *Cardiovasc Res*, v.63, n.3, p.487-99, 2004.

VENTURA-CLAPIER, R.; KUZNETSOV, A.; VEKSLER, V.; BOEHM, E.; ANFLOUS, K. Functional coupling of creatine kinases in muscles: species and tissue specificity. *Mol Cell Biochem*, v.184, p.231-247, 1998.

VERMA, I.M.; STEVENSON, J.K.; SVHWARZ, E.M.; Van-ANTWERP, D.; MIYAMOTO, S. Rel/NF- κ B/I κ B family. *Gene Dev*. v.9, p.2723-2735, 1995.

VONA, M.; ROSSI, A.; CAPODAGLIO, P.; RIZZO, S.; SERVI, P.; De MARCHI, M.; COBELLI, F. Impact of physical training and detraining on endotheliumdependent vasodilation in patients with recent acute myocardial infarction. *Am Heart J*, v.147, p.1039-1046, 2004.

WAGNER, A.; SIMON, C.; EVANS, A.; FERRIERES, J.; MONTAYE, M.; DUCIMETIERE, P.; ARVEILER, D. Physical activity and coronary event incidence in Northern Ireland and France: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation*, v.105, n.19, p.2247-2252, 2002.

WANNAMETHEE, S.G.; LOWE, G.D.; WHINCUP, P.H.; RUMLEY, A.; WALKER, M.; LENNON, L. Physical activity and hemostatic and inflammatory variables in elderly men. *Circulation*, v.105, p.1785-1790, 2002.

WATANABE, K.; FUJII, H.; TAKAHASHI, T.; KODAMA, M.; AIZAWA, Y.; OHTA, Y.; ONO, T.; HASEGAWA, G.; NAITO, M.; NAKAJIMA, T.; KAMIJO, Y.; GONZALEZ, F.J.; AOYAMA, T. Constitutive regulation of cardiac fatty acid metabolism through peroxisome proliferator-activated receptor alpha associated with age-dependent cardiac toxicity. *J Biol Chem*, v.275, n.29, p.22293-22299, 2000.

WISNECKI, J.A.; GERTZ, E.Q.; NEESE, R.A.; MAYR, M. Myocardial metabolism of free fatty acids: Studies with ¹⁴C labelled substrates in humans. *J Clin Invest*, v.79, p.359-366, 1987.

WU, G.; LUO, J.; RANA, J.S.; LAHAM, R.; SELLKE, F.W.; LI, J. Involvement of COX-2 in VEGF-induced angiogenesis via P38 and JNK pathways in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res*, v.69, p.512-519, 2006.

WU, G.; RANA, J.S.; WYKRZYKOWSKA, J.; DU, Z, KE, Q.; KANG, P.; LI, J.; LAHAM, R.J. Exercise-induced expression of VEGF and salvation of myocardium in the early stage of myocardial infarction *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.296, p.H389-H395, 2009.

YOKOYAMA, T.; NAKANO, M.; BEDNARCZYK, J.L.; McINTYRE, B.W.; ENTMAN, M.; MANN, D.L. Tumor necrosis factor-alpha provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. *Circulation*. v.95, p.1247-1252, 1997.

YOUNG, M.E.; LAWS, F.A.; GOODWIN, G.W.; TAEGTMEYER, H. Reactivation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha is associated with contractile dysfunction in hypertrophied rat heart. *J Biol Chem*. v.276, p.44390-44395, 2001.

YUN, Z.; MAECKER, H.L.; JOHNSON, R.S.; GIACCIA, A.J. Inhibition of PPAR gamma 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stra13: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. *Dev Cell*, v.2, p.331-341, 2002.

YUSUF, S.; HAWKEN, S.; OUNPUU, S.; DANS, T.; AVEZUM, A.; LANAS, F.; McQUEEN, M.; BUDAJ, A.; PAIS, P.; VARIGOS, J.; LISHENG, L.; INTERHEART STUDY INVESTIGATORS. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*, v.364, p.937-952, 2004.

ZANDI, E.; CHEN, Y.; KARIN M. Direct phosphorylation of I κ B by IKK α and IKK β : discrimination between free and NF- κ B-bound substrate. *Science*, v.281, p.1360-1363, 1998.

ZIADA, A.M.; HASSAN, M.O.; TAHLILKAR, K.I.; INUWA, I.M. Long-term exercise raining and angiotensin-converting enzyme inhibition differentially enhance myocardial capillarization in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*. v.23, p.1233-1240, 2005.

ANEXOS

Anexo 1 – Cópia do documento Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 18 de março de 2005.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco
Presidente da CPG/FCF/USP

Anexo 2 – Parecer do Comitê de Ética Institucional



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 3 de outubro de 2008.
CEP 0341/08

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) EDUARDO CARVALHO DE ARRUDA VEIGA
Co-Investigadores: Ednei Luiz Antonio, Paulo Ferreira Tucci (orientador)
Disciplina/Departamento: Fisiologia Cardiovascular e Respiratória/Fisiologia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref. Projeto de pesquisa intitulado: **"Repercussões estruturais e funcionais da isquemia miocárdica transitória e definitiva em ratos que se submetem previamente a treinamento físico por natação"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Experimental, categoria C - estudo crônico.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Não se aplica.

OBJETIVOS: Analisar as repercussões da oclusão coronária definitiva e temporária - tardiamente aliviada- na estrutura e função do miocárdio de ratos que se submetem previamente a exercício físico por natação..

RESUMO: Estudo com 200 ratos Wistar. Anestésico- cetamina. Analgésico: xilazina. Eutanásia: overdose de anestésico. Serão constituídos 6 grupos: 1- sedentário controle - animais que permanecerão sedentários por 8 semanas e serão submetidos aos mesmos procedimentos da cirurgia do infarto, mas sem a ligação da artéria coronária. 2- Sedentário infartado - animais sedentários por 8 semanas e submetidos à cirurgia do infarto. 3- sedentário infartado reperfundido - animais sedentários por 8 semanas e submetidos à oclusão coronária seguida de reperfusão duas horas após. 4- exercício controle - animais que irão praticar 8 semanas de treinamento e submetidos à falsa cirurgia. 5- exercício infartado - animais que irão praticar 8 semanas de treinamento e que serão submetidos à cirurgia do infarto. 6- exercício infartado reperfundido - animais que irão praticar semanas de treinamento e que serão submetidos à oclusão coronária seguida de reperfusão duas horas após. Os ratos serão treinados em natação e após 8 semanas de treinamento, seguido de cirurgia experimental de infarto do miocárdio, os animais permanecerão 4 semanas sem treinamento para então serem submetidos às avaliações por ecocardiografia, estudo hemodinâmico, ação mecânica de músculo papilar, histometria e análises de biologia molecular, sendo sacrificados após 13 semanas do começo do protocolo..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: A literatura relata os efeitos do exercício físico na evolução posterior da cardiopatia resultante da oclusão da artéria coronária. No entanto, há trabalhos indicativos de que o exercício físico praticado antes de isquemias seguidas precocemente de reperfusão é benéfico para preservação da função miocárdica. Este trabalho visa analisar a influência do exercício físico praticado previamente à oclusão coronária na evolução posterior da estrutura e da função miocárdica..



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos a serem realizados, estando o projeto inserido na linha de pesquisa do orientador.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo. - R\$ 3011,35.

CRONOGRAMA: 50 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 28/9/2009 e 28/9/2010.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

Anexo 3 – Currículo Lattes



Marília Harumi Higuchi dos Santos

possui graduação em MEDICINA pela Faculdade de Medicina da USP (2004).
(Texto gerado automaticamente pela aplicação CVLattes)

Última atualização do currículo em 30/06/2009

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/5242363904055286>



Certificado
pelo autor em
30/06/09

Links para
Outras Bases:
[SciELO - artigos em texto completo](#)

Dados pessoais

Nome Marília Harumi Higuchi dos Santos
Nome em citações bibliográficas SANTOS, M. H. H.
Sexo Feminino

Formação acadêmica/Titulação

2005 Doutorado em andamento em Farmácia (Análises Clínicas) (Conceito CAPES 6).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Sarcopenia, *Orientador:* Raul Cavalcante Maranhão.

1999 - 2004 Graduação em MEDICINA.
Faculdade de Medicina da USP, FMUSP, Brasil.

Formação complementar

2005 - 2005 Extensão universitária em Clinical Observership Program.
Spaulding Rehabilitation Hospital - Harvard Medical School.

2005 - 2005 Extensão universitária em Estágio de Observação em Fisioterapia.
Associação de Assistência à Criança Deficiente de São Paulo.

2005 - 2005 Da Macroscopia à Biologia Molecular.
Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da FMUSP.

2005 - 2005 An Integrated Approach to CV Risk Factors.
The Academy for Healthcare Education.

2004 - 2004 CLERKSHIP - INPATIENT INTERNAL MEDICINE.
Mayo Clinic - Rochester, MN.

2004 - 2004 Estagio Pratico em Unidade de Terapia Intensiva.
Centro de Estudos e Pesquisas do Hospital Sirio Libanes.

2003 - 2003 Curso: Educação Continuada em Medicina Intensiva.
Centro de Estudos e Pesquisas do Hospital Sirio Libanes.

2002 - 2002 Extensão universitária em Liga do GAMIA.
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo.

2001 - 2001 Extensão universitária em Liga da Insuficiência Cardíaca.
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo.

2001 - 2001 Dislipidemias.
Congresso Médico Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade de.

2001 - 2001 I Curso de Obstetria e Fisiologia.
Centro de Estudos da Maternidade Escola de Vila Nova Cachoeirinha..

Atuação profissional

Áreas de atuação

Idiomas	
Inglês	Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.
Prêmios e títulos	
2005	Prêmio ABC de publicação científica - Área: aterotrombose/aterosclerose, Sociedade Brasileira de Cardiologia - Revista Arquivos Brasileiros de Cardiologia.
2004	Prêmio Decourt de Iniciação Científica em Cardiologia 2004 Menção Honrosa., Instituto do Coração (InCor - HCFMUSP).
2003	ACC - YOUNG INVESTIGATORS AWARDS COMPETITION - Honorable Mention, American College of Cardiology.
2002	MELHORES TEMAS-LIVRES DO CONGRESSO - 2º colocado, Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC).
2000	PRÊMIO DIRCEU PFUHLL NEVES JOVEM ACADÊMICO - Menção Honrosa, VII Encontro Internacional de Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva.
Produção em C, T & A	
Produção bibliográfica	
Artigos completos publicados em periódicos	
1.	Higuchi, M. L. ; SANTOS, M. H. H. ; ROGERIO, A. ; KAWAKAMI, J. T. ; BEZERRA, H. G. ; CANZIAN, M. . A role for archaeal organisms in development of atherosclerotic vulnerable plaques and myxoid matrices.. Clinics (São Paulo), v. 61, p. 473-478, 2006.
2.	Higuchi, M. L. ; GOIS, J. M. ; Reis, M. M. ; SANTOS, M. H. H. ; DIAMENT, J. ; Ramires, J.A.F. ; Oliveira, S.A. . Co-infection ratios versus inflammation, growth factors and progression of early atheromas.. APMIS. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, v. 114, p. 338-344, 2006.
3.	Pierri, H. ; SANTOS, M. H. H. ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Rodrigues, G. H. ; Nussbacher, A. . Density of Chlamydia pneumoniae is increased in fibrotic and calcified areas of degenerative aortic stenosis. International Journal of Cardiology, v. 108, p. 43-47, 2006.
4.	★ SANTOS, M. H. H. ; Pierri, H. ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Nussbacher, A. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Chlamydia pneumoniae e Mycoplasma pneumoniae nos Nódulos de Calcificação de Valva Aórtica. Arq Bras Cardiol, v. 84, n. 6, p. 443-448, 2005.
5.	Pierri, H. ; SANTOS, M. H. H. ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Nussbacher, A. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Density of Chlamydia pneumoniae is increased in fibrotic and calcified areas of degenerative aortic stenosis.. Int J Cardiol, v. May, n. 27, 2005.
6.	★ Higuchi, M. L. ; Pierri, H. ; SANTOS, M. H. H. ; Sesso, A. ; Timenetski, J. ; Strunz, C.M.C. ; Fukasawa, S. ; Sambiase, N. V. ; Reis, M. M. ; Ramires, J.A.F. . Complexes of Mycoplasma pneumoniae and C Reactive Protein in Elderly Atherosclerotic Sera. Immunology, Italy, v. 887587, p. 89-93, 2004.
7.	Pierri, H. ; SANTOS, M. H. H. ; Wajngarten, M. . Capítulo: Estenose Aórtica no Idoso. Estenose Aórtica.. Rev Soc Cardiol Estado de Sao Paulo, Sao Paulo, v. 13, n. 3, p. 352-357, 2003.
8.	Higuchi, M. L. ; SANTOS, M. H. H. ; Demarchi, L. . Capítulo: Etiopatogenia: Aspectos Relevantes. Estenose Aórtica.. Rev Soc Cardiol Estado de Sao Paulo, Sao Paulo, v. 13, n. 3, p. 305-311, 2003.
9.	SANTOS, M. H. H. ; Prado, I. B. ; Lopasso, F. P. ; Iriya, K. ; Laudanna, A. A. . Cholestasis in a murine experimental model: lesions include hepatocyte ischemic necrosis.. Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo, v. 58, n. 1, p. 27-32, 2003.
10.	Higuchi, M. L. ; SANTOS, M. H. H. ; Pierri, H. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in calcified nodules of aortic stenotic valves.. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, v. 44, n. 4, p. 209-212, 2002.
Capítulos de livros publicados	
1.	SANTOS, M. H. H. ; FRONTERA, W. R. ; LARSON, G. . Skeletal Muscle in Older People. In: Timothy L. Kauffman; John O. Barr; Michael L. Moran. (Org.). Geriatric Rehabilitation Manual. 2nd edition. 2nd ed. : Elsevier, 2007, v. , p. -.
2.	Pierri, H. ; Rossi, E. J. ; SANTOS, M. H. H. . CAPÍTULO 35 VALVOPATIAS. In: Freitas EV; Py L; Néri AL; Cançado FAX; Gorzoni ML; Rocha SM.. (Org.). TRATADO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, v. , p. -.
Resumos publicados em anais de congressos	
1.	SANTOS, M. H. H. . Previous exercise training is associated with lower local levels of apoptosis and inflammatory markers after myocardial infarction in rats. In: EuroPrevent Congress 2008, 2008, Paris. European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, 2008. v. S.

2. SANTOS, M. H. H. ; IKEGAMI, R. ; Reis, M. M. ; FAGUNDES, R. ; Higuchi, M. L. . A New Therapeutic Proposal For Lipid Lowering Treatment: Association of Transialidase and Anti-Oxidant Elements. An Experimental Study in Rabbits. In: DALM - Drugs Affecting Lipid Metabolism, 2007, New York. Journal of Clinical Lipidology. New York : Elsevier, 2007. v. 1. p. 474-474.
3. ★ Higuchi, M. L. ; Pierri, H ; SANTOS, M. H. H. ; Timenetski, J ; Strunz, C.M.C ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Partículas de Mycoplasma pneumoniae e proteína C reativa detectadas à microscopia eletrônica podem ser novos marcadores de risco de aterosclerose em idosos.. In: 59º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2004, Rio de Janeiro. Arq Bras Cardiol, 2004. v. 83.
4. ★ SANTOS, M. H. H. ; Higuchi, M. L. ; Pierri, H ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in Aortic Stenosis of the Elderly: A Comparison With Noncalcified Valves. In: American College of Cardiology 2003 - 52nd Annual Scientific Session. Young Investigators Awards Competition - Category: Physiology, Pharmacology and Pathology, 2003, Chicago. JACC, 2003.
5. SANTOS, M. H. H. ; Higuchi, M. L. ; Pierri, H ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in Aortic Stenosis of the Elderly: A Comparison With Noncalcified Valves.. In: VII Simpósio Internacional SOCESP/SBC., 2003, Chicago. Arq Bras Cardiol, 2003.
6. SANTOS, M. H. H. ; Pierri, H ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Chlamydia Pneumoniae and Aortic Valve Stenosis. A Comparative Study with non-Calcified Valves. In: XIVth World Congress of Cardiology, 2002, Sydney. JACC, 2002. v. 39. p. 294-294.
7. SANTOS, M. H. H. ; Pierri, H ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Calcified Valves, Atherosclerosis and Mycoplasma. In: XIVth World Congress of Cardiology, 2002, Sydney. J Am Coll Cardiol, 2002. v. 39. p. 294-294.
8. ★ Pierri, H ; SANTOS, M. H. H. ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Demarchi, L. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Mycoplasma Pneumoniae in Calcified Aortic Valves. In: American College of Cardiology - 51st Annual Scientific Session, 2002, Atlanta. J Am Coll Cardiol, 2002. v. 39. p. 146-146.
9. SANTOS, M. H. H. ; Pierri, H ; Higuchi, M. L. ; Palomino, S. ; Sambiase, N. V. ; Ramires, J.A.F. ; Wajngarten, M. . Mycoplasma pneumoniae e Chlamydia pneumoniae nos Nódulos de Calcificação da Estenose da Valva Aórtica. In: 57º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2002, Sao Paulo. Arq Bras Cardiol, 2002.

Eventos

Participação em eventos

1. EuroPrevent Congress 2008.Previous exercise training is associated with lower local levels of apoptosis and inflammatory markers after myocardial infarction in rats. 2008. (Congresso).
2. European Congress of Cardiology.Exercise attenuates Beta-adrenergic-induced TNF-alfa expression and induces PPAR gama proliferation. 2007. (Congresso).
3. European Congress of Cardiology.Cardioprotector effect of the exercise training against myocardial dysfunction induced by isoproterenol. 2007. (Congresso).
4. European Congress of Cardiology.Physical exercise prevents left ventricular hypertrophy and myocardial injury caused by isoproterenol. 2007. (Congresso).
5. DALM - Drugs Affecting Lipid Metabolism.A NEW LIPID LOWERING DRUG FOR ATHEROSCLEROSIS TREATMENT: ASSOCIATION BETWEEN TRANSIALIDASE AND PLANT EXTRACTS. 2007. (Congresso).
6. ISPRM 2005 - 3rd World Congress of the ISPRM. 2005. (Congresso).
7. 59º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia.Partículas de Mycoplasma pneumoniae e proteína C reativa detectadas à microscopia eletrônica podem ser novos marcadores de risco de aterosclerose em idosos.. 2004. (Congresso).
8. American College of Cardiology 2003 - 52nd Annual Scientific Session. Young Investigators Awards Competition - Category: Physiology, Pharmacology and Pathology.Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in Aortic Stenosis of the Elderly: A Comparison With Noncalcified Valves.. 2003. (Congresso).
9. VII Simpósio Internacional SOCESP/SBC. Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in Aortic Stenosis of the Elderly: A Comparison With Noncalcified Valves. 2003. (Simpósio).
10. 57º Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia.Mycoplasma pneumoniae e Chlamydia pneumoniae nos Nódulos de Calcificação da Estenose da Valva Aórtica. 2002. (Congresso).
11. XIVth World Congress of Cardiology.Chlamydia Pneumoniae and Aortic Valve Stenosis. A Comparative Study with non-Calcified Valves. 2002. (Congresso).
12. XIVth World Congress of Cardiology.Calcified Valves, Atherosclerosis and Mycoplasma. 2002. (Congresso).
13. 51st Annual Scientific Session of the American College of Cardiology.Mycoplasma Pneumoniae in Calcified Aortic Valves. 2002. (Congresso).

Anexo 4 – Ficha do aluno

Ficha do Aluno

Página 1 de 2

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 3110008/1 - Marília Harumi Higuchi dos Santos

Email: mhhsantos@usp.br
Data de Nascimento: 04/10/1979
Cédula de Identidade: RG - 20.988.928-1 - SP
Local de Nascimento: Estado de São Paulo
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Médico - Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2004

Curso: Doutorado Direto
Programa: Farmácia (Análises Clínicas)
Área: Análises Clínicas
Data de Matrícula: 12/07/2005
Início da Contagem de Prazo: 12/07/2005
Data Limite: 09/11/2009
Orientador: Prof(a). Dr(a). Raul Cavalcante Maranhão - 12/07/2005 até o presente. E-Mail: ramaran@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 12/07/2005
Prorrogação: 120 dias
Período de 12/07/2009 a 09/11/2009

Prazo Máximo para Aprovação no Exame de Qualificação: 09/05/2009 (verifique em sua CPG se ela possui um prazo anterior)

Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 18/12/2008

Data do Depósito do Trabalho:

Título do Trabalho:

Data Máxima para Aprovação da Banca:

Data de Aprovação da Banca:

Data Máxima para Defesa:

Data da Defesa:

Resultado da Defesa:

Histórico de Ocorrências: Ingressou no Doutorado Direto em 12/07/2005
Prorrogação em 01/07/2009

Situação Atual: Prorrogação em 01/07/2009

Impresso em: 04/11/09 08:39:31

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 3110008/1 - Marília Harumi Higuchi dos Santos

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBF5773 1/1	Modelagem Molecular no Planejamento de Fármacos	08/10/2005	07/12/2005	90	0	0.0	-	N	Matrícula cancelada
Crédito Externo	Endotélio (1)	15/05/2006	03/07/2006	-	6	100.0	T	-	-
FBFS716 5/1	Tuberculose: Métodos Laboratoriais Clássicos e de Biologia Molecular na Detecção, Identificação e no Estudo de resistência de Mycobacterium spp Patogênicos	07/11/2006	28/11/2006	90	6	100.0	A	N	Concluída
MCP5838 1/3	Exercício Físico na Fisiopatologia Cardiovascular (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	02/03/2007	29/03/2007	60	4	90.0	A	N	Concluída
MCM5861 1/1	Prática de Laboratório II (Western Blot) (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	05/03/2007	18/03/2007	60	0	0.0	-	N	Pré matrícula indeferida
BMH5766 1/1	Terapia Gênica - Conceitos Básicos e Aplicados	06/03/2007	02/04/2007	60	4	87.5	A	N	Concluída
FBFS793 3/1	Seminários em Análises Clínicas	14/03/2007	27/06/2007	30	2	100.0	A	N	Concluída
MCP5804 2/2	Estudo Crítico da Etiopatogenia dos Distúrbios Respiratórios do Sono (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	19/03/2007	25/03/2007	15	1	100.0	A	N	Concluída
MCM5864 1/1	Prática de Laboratório V (Imunofluorescência) (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	19/03/2007	01/04/2007	60	0	0.0	-	N	Pré matrícula indeferida
FBA5729 2/2	Nutrição e Metabolismo na Atividade Física	04/04/2007	08/05/2007	75	5	100.0	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	25	25	28
Atividades Programadas:			
Seminários:			

Ficha do Aluno

Página 2 de 2

Estágios:			
Total:	25	25	28

Créditos Atribuídos à Tese: 187

Observações:

1) Disciplina(s) cursada(s) na(o) Universidade Federal de São Paulo. Atribuição de créditos aprovada pela Comissão de Pós-Graduação, em Sessão de 23/03/2007.

Conceito a partir de 02/01/1997:
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Situação Atual: Prorrogação em 01/07/2009

Impresso em: 04/11/09 08:38:31