

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

2022

Efeito da privação dos hormônios ovarianos sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca em ratas espontaneamente hipertensas – papel do treinamento físico aeróbio



PPGRDF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
REABILITAÇÃO E DESEMPENHO FUNCIONAL
FMRP-USP



Juan Carlos Sánchez-Delgado
Tese de doutorado

JUAN CARLOS SÁNCHEZ-DELGADO

Efeito da privação dos hormônios ovarianos sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca em ratas espontaneamente hipertensas – papel do treinamento físico aeróbio

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional como pré-requisito para a obtenção do título de doutor.

Área de concentração: Fisioterapia

Orientador: Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

“Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)”.

Ribeirão Preto/2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Sánchez-Delgado, Juan Carlos

Efeito da privação dos hormônios ovarianos sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca em ratas espontaneamente hipertensas – papel do treinamento físico aeróbio. Ribeirão Preto, 2022.

51 p. :il. ; 30cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Programa de Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional.

Orientador: Souza, Hugo Celso Dutra.

1. Hipertensão. 2. Hormônios ovarianos. 3. Treinamento físico. 4. Adaptações cardiovasculares.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Juan Carlos Sánchez-Delgado

Efeito da privação dos hormônios ovarianos sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca em ratas espontaneamente hipertensas – papel do treinamento físico aeróbio. Ribeirão Preto, 2022.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Pós-Graduação em Reabilitação e Desempenho Funcional, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em: 09/03/2023

Banca Examinadora

Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

- Orientador -

Prof. Dr. Evandro José Cesarino.

Instituição: FCFRP-USP

Assinatura: _____

Prof. Dr. Marcus Vinícius Simões.

Instituição: FMRP-USP

Assinatura: _____

Prof. Dra. Aparecida Maria Catai.

Instituição: UFSCar

Assinatura: _____

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

DEDICATORIA

Dedico esse trabalho às minhas queridas princesas
Juanita, Sofía e Claudia.

DEDICATORIA

Ao fechar este ciclo da minha vida, quero aproveitar para agradecer:

À minha esposa e às minhas filhas, pelo apoio permanente e exemplo de coragem, vocês tem sido o combustível fornecido pelo céu para poder avançar.

Aos meus pais, por aquilo que já fizeram e ainda fazem por mim de maneira incondicional, seus atos de amor para comigo são incomensuráveis.

Ao professor Hugo, pela grande oportunidade de enxergar mais de perto a fisiologia cardiovascular, pela gentileza de me ajudar a abrir as portas do Brasil para mim e à minha família, foi um tempo proveitoso e inesquecível para nós.

Aos meus colegas do laboratório, pela constante colaboração, vocês foram fundamentais na minha adaptação aos processos acadêmicos e burocráticos. Alias, como esquecer suas ajudas com o idioma e revisão de meus escritos, muitíssimo obrigado.

À Minha avó Ângela, assim como meus tios José e Miguel, a quem não voltarei a ver fisicamente, mas tenho a tranquilidade de lhes ter agradecido em vida pelos seus ensinamentos.

Por fim, este tempo de formação doutoral tem sido uma oportunidade para continuar amadurecendo, por isso quero expressar minha profunda gratidão para todos aqueles que com suas palavras e ações ajudaram a moldar este ser humano, cada um de vocês me confirmaram que, Deus, meu Pai celestial, está entre aqueles que me ajudaram e ajudarão.

RESUMO

Sánchez-Delgado, J.C. **Efeito da privação dos hormônios ovarianos sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca em ratas espontaneamente hipertensas – papel do treinamento físico aeróbico.** 52 p. Tese (Doutorado). – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Introdução: A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada por perturbações no equilíbrio autonômico cardíaco que podem resultar em modificações na morfologia e funcionalidade cardíaca. A redução na contratilidade cardíaca e na reatividade do leito coronariano também estão presentes, no entanto essas características foram observadas, principalmente, em estudos experimentais com animais machos. Nós suspeitamos que em fêmeas, a HAS possa promover distintos efeitos sobre a contratilidade cardíaca e reatividade do leito coronariano quando os hormônios ovarianos são considerados. Por sua vez, o tratamento por meio da prática regular de exercícios físicos resulta em benefícios autonômicos, morfológicos e funcionais cardiovasculares comprovados. No entanto, pouco sabemos sobre os seus efeitos sobre a contratilidade cardíaca e reatividade do leito coronariano quanto aplicado na presença ou não dos hormônios ovarianos. Nesse caso, nós investigamos em ratas espontaneamente hipertensas (*Spontaneously Hypertensive Rats - SHR*), com e sem a função ovariana preservada, os efeitos da hipertensão sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca, bem como o papel terapêutico do treinamento físico aeróbico sobre esses parâmetros em ambas as condições. **Métodos:** Para tanto, 64 SHR fêmeas foram distribuídas em dois grandes grupos: grupo de ratas ovariectomizadas com 38 semanas de vida (grupos OVX; N=32) e grupo de ratas submetidas à cirurgia sham, também com 38 semanas (grupos SHAM; N=32). Cada grande grupo foi subdividido em 2 grupos menores (N=16); grupo de ratas sedentárias; e grupo de ratas treinadas por meio da natação em sessões diárias de 45 min. O treinamento físico foi realizado entre a 40^a e 54^a semanas. Os protocolos experimentais consistiram na avaliação hemodinâmica da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) por meio da pletismografia de cauda; duplo bloqueio farmacológico de receptores autonômicos cardíacos; e avaliação da reatividade do leito coronariano e da pressão ventricular esquerda (PSV) utilizando a técnica de Langendorff em coração isolado. **Resultados:** Ambos os grupos treinados, SHAM e OVX, apresentaram redução da PA quando comparados aos grupos não treinados (127 ± 7 e 146 ± 5 vs. 167 ± 5 e 171 ± 5 mmHg, respectivamente). Os grupos treinados também apresentaram aumento da influência vagal e/ou redução da influência simpática na determinação da FC basal. A reatividade do leito coronariano não foi diferente entre os grupos, entretanto somente o grupo SHAM treinado apresentou aumento da contratilidade ventricular esquerda (PSV), $dP/dT_{\text{máx}}$ e dP/dT_{min} em relação ao grupo SHAM não treinado e aos grupos OVX. A administração de dobutamina e salbutamol resultou em maiores valores da PSV nos grupos SHAM treinado e grupos OVX em relação ao grupo SHAM não treinado. **Discussão e Conclusões:** Nossos achados mostram que ovariectomia afeta o balanço autonômico cardíaco, mas não influencia na reatividade do leito coronariano e na contratilidade cardíaca fluxo-dependente. Entretanto, aumenta a resposta contrátil à administração de dobutamina e salbutamol. Por sua vez, o treinamento físico reduziu a influência autonômica simpática no balanço autonômico cardíaco, e aumentou a capacidade contrátil cardíaca, entretanto esses efeitos não parecem ocorrer em SHR ovariectomizadas. Por fim, nosso estudo confirma um papel determinante dos hormônios ovarianos na contratilidade cardíaca, bem como o papel do exercício físico aeróbico nesse processo. Os mecanismos pelos quais os hormônios ovarianos ou a falta deles interferem na contratilidade cardíaca deverão ser elucidados em futuros estudos. **Palavras-chave:** hipertensão; hormônios ovarianos; treinamento físico; adaptações cardiovasculares.

ABSTRACT

Sánchez-Delgado, J.C. **Effect of ovarian hormone deprivation on coronary bed reactivity and cardiac contractility in spontaneously hypertensive rats – role of aerobic physical training.** 52 p. Thesis (Ph.D) – Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Introduction: Systemic arterial hypertension (SAH) is characterized by disturbances in cardiac autonomic balance that can result in changes in cardiac morphology and functionality. Decreased cardiac contractility and coronary bed reactivity are also present. These characteristics were mainly observed in experimental studies with male animals. We suspect that in females, SAH may promote different effects on cardiac contractility and coronary bed reactivity when ovarian hormones are considered. Treatment through the regular practice of physical exercises results in proven autonomic, morphological, and functional cardiovascular benefits. However, little is known about its effects on cardiac contractility and reactivity of the coronary bed when applied in the presence or absence of ovarian hormones. We suspect the results could be quite different. In this case, we investigated in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR), with and without preserved ovarian function, the effects of hypertension on the reactivity of the coronary bed and cardiac contractility, as well as the therapeutic role of aerobic physical training on these parameters in both conditions. **Methods:** For this purpose, 64 female SHR were divided into two large groups: a group of ovariectomized rats at 38 weeks of age (OVX group; N=32) and a group of rats submitted to sham surgery, also at 38 weeks of age (SHAM groups; N=32). Each large group was subdivided into 2 smaller groups (N=16); group of sedentary rats; and a group of rats trained through swimming in daily sessions of 45 min. Physical training was performed between the 40th and 54th weeks. The experimental protocols consisted of the hemodynamic assessment of arterial pressure (AP) and heart rate (HR) through tail plethysmography; double blockade of cardiac autonomic receptors with methylatropine and propranolol; assessment of coronary bed reactivity and left ventricular contractility through increased flow and administration of dobutamine and salbutamol using the Langendorff technique in an isolated heart. **Results:** Both trained groups, SHAM and OVX, presented BP reduction when compared to untrained groups (127 ± 7 and 146 ± 5 vs. 167 ± 5 and 171 ± 5 mmHg, respectively). The trained groups also showed increased vagal influence and/or reduced sympathetic influence in determining baseline HR. Coronary bed reactivity was not different between the groups, however the trained SHAM group showed an increase in systolic ventricular systolic pressure (PSV), dP/dTmax and dP/dTmin in relation to the OVX groups. Dobutamine administration resulted in higher PSV values in the trained groups compared to the SHAM group. In turn, the administration of albuterol resulted in higher PSV values in the OVX groups compared to the untrained SHAM group. **Discussion and Conclusions:** Our findings show that ovariectomy affects cardiac autonomic balance, but does not influence coronary bed reactivity and flow-dependent cardiac contractility. However, it increases the contractile response to the administration of dobutamine and salbutamol. In turn, physical training reduced the sympathetic autonomic influence on the cardiac autonomic balance, and increased the cardiac contractile capacity, however these effects do not seem to occur in ovariectomized SHR. Finally, our study confirms a determining role of ovarian hormones in the regulation of cardiac contractility, as well as the role of aerobic physical exercise in this process. The mechanisms by which ovarian hormones or the lack of them interfere with cardiac contractility should be elucidated in future studies.

Keywords: hypertension; ovarian hormones; physical training; cardiovascular adaptations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do protocolo de avaliação do balanço tônico autonômico cardíaco.	24
Figura 2. Representação do aparelho de Langendorff de fluxo constante.....	25
Figura 3. Representação da avaliação da reatividade do leito coronariano pelo aumento do fluxo basal (0%-100%).....	26
Figura 4. Representação da avaliação da sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos, utilizando doses crescentes in bolus (0,5 a 50 nmoles de dobutamina; 1 a 100 nmoles de salbutamol), de forma alternada e com intervalos de 3 minutos entre elas.....	27
Figura 5. Evolução da pressão arterial média (PAM) em todos os grupos estudados.....	32
Figura 6. Respostas da frequência cardíaca absoluta (A) e normalizada (B) à atropina ou propranolol nos grupos SHAM, SHAM treinado, ovariectomizado (OVX) e ovariectomizado treinado. Os valores estão expressos em médias \pm E.P.M. bpm, batimentos por minuto; Δ , variação. ^a P < 0,05 vs. SHAM sedentário; ^b P < 0,05 vs. SHAM treinado; ^c P < 0,05 vs. OVX sedentário.....	35
Figura 7. Pressão de perfusão coronariana (A), pressão sistólica ventricular esquerda (B), dP/dT(max) (C) e dP/dT(min) (D) ao aumento do fluxo coronariano nos grupos SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Todos os valores estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). ^a p < 0.05 vs. SHAM sedentário; ^b p < 0.05 vs. SHAM treinado; ^c p < 0.05 vs. OVX sedentário	37
Figura 8. Pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) após administração de dobutamina (A) e salbutamol (B) nos grupos SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Os gráficos (C) e (D) representam a resposta máxima obtida para dobutamina (50 nmol) e salbutamol (100 nmol). Todos os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média. ^a p < 0.05 vs. SHAM sedentário; ^b p < 0.05 vs. SHAM treinado; ^c p < 0.05 vs. OVX sedentário.	39
Figura 9. Variações em Δ da Frequência cardíaca obtida em corações isolados (técnica de Langendorff) após doses múltiplas e sequenciais de dobutamina (A) e salbutamol (B) em grupos de ratos SHR SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Todos os valores estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). ^a p < 0.05 vs. SHAM sedentário; ^b p < 0.05 vs. SHAM treinado; ^c p < 0.05 vs. OVX sedentário.	40

Figura 10. Duplo produto (FC x PSVE) após administração de dobutamina (A) e salbutamol (B) nos grupos SHR SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Todos os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média. ^a p < 0.05 vs. SHAM sedentário; ^b p < 0.05 vs. SHAM treinado; ^c p < 0.05 vs. OVX sedentário.41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Protocolo do treinamento físico submetido nas ratas espontaneamente hipertensas (SHR).	21
Tabela 2. Parâmetros antropométricos obtidos em todos os grupos estudados.	29
Tabela 3. Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca 24 horas após canulação da artéria femoral.....	31
Tabela 4. Parâmetros hemodinâmicos e valores da frequência cardíaca obtidos antes e após o bloqueio farmacológico de receptores autonômicos cardíacos com metilatropina e propranolol.	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\beta 1$	Receptor beta-adrenérgico tipo 1
$\beta 2$	Receptor beta-adrenérgico tipo 2
Bpm	Batimento por minuto
DCVs	Doença cardiovasculares
dP/dT _{máx}	Velocidade máxima de contração do ventrículo esquerdo
dP/dT _{min}	Velocidade máxima de relaxamento do ventrículo esquerdo
EPM	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
FCi	Frequência cardíaca intrínseca
G	Gramma
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IM	Intramuscular
i.p.	Intraperitoneal
kg	Quilograma
Mg	Miligramma
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mmHg	Milímetro de mercúrio
Mmol	Milimol
OVX	Ovariectomia
PAP	Pressão arterial pulsátil
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PSVE	Pressão sistólica do ventrículo Esquerdo
SHR	Spontaneously Hypertensive Rats
UI	Unidades Internacionais
VE	Ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Estrogênios e hipertensão arterial.....	15
1.2. Menopausa e tratamentos	16
1.2.1. Tratamentos através da terapia de reposição hormonal.....	16
1.2.2. Exercício físico.....	18
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivos Gerais	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Animais e grupos experimentais	20
3.2. Procedimentos	20
3.2.1. Cirurgia para retirada dos ovários	20
3.2.2. Treinamento físico aeróbio	21
3.3. Protocolos Experimentais	22
3.3.1. Evolução dos parâmetros hemodinâmicos - pletismografia de cauda.....	22
3.3.2. Registro da pressão arterial e frequência cardíaca	23
3.3.3. Avaliação do balanço simpato-vagal cardíaco e determinação da frequência intrínseca de marcapasso em animais acordados.....	23
3.3.4. Estudo da Função Cardíaca Isolada – Técnica de Langendorff	24
3.4. Análise Estatística	27
4. RESULTADOS	28
4.1. Parâmetros antropométricos.....	28
4.2. Parâmetros hemodinâmicos.....	30
4.3. Evolução da pressão arterial média.....	32
4.4. Bloqueio dos receptores autonômicos cardíacos.....	33
4.5. Reatividade do leito coronariano e contratilidade do ventrículo esquerdo induzidos pelo aumento escalonado do fluxo.....	36
4.6. Pressão ventricular esquerda, frequência cardíaca, duplo produto em resposta à administração de dobutamina e salbutamol.....	38
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÃO	46
7. REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios ovarianos, mas principalmente os estrogênios, exercem importante papel na regulação cardiovascular, atuando em diferentes processos fisiológicos, como na regulação autonômica, morfologia e funcionalidade cardíaca. Conhecidos como “hormônios protetores do sistema cardiovascular”, ganharam notoriedade e importância nas últimas décadas, principalmente por meio de estudos que mostraram que mulheres na pós-menopausa, em comparação com mulheres antes da menopausa, apresentariam maiores riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs), representando a principal causa de morte nessa população (MOSCA et al., 2006; GHOLIZADEH; DAVIDSON, 2007).

De fato, evidências epidemiológicas sugerem que as alterações hormonais desse período, em particular o declínio estrogênico, seriam os fatores primários responsáveis pelo aumento do risco de DCVs (GORDON et al., 1978; KANNEL et al., 1976; UTIAN, 1989; LA VECCHIA et al., 1987; VAN DER GRAAF; DE KLEIJN; SCHOUW, 1997). Sendo assim, os prejuízos na função cardíaca resultando em redução da capacidade de bombeamento do coração está associada, principalmente, à disfunção diastólica do ventrículo esquerdo (DDVE), caracterizada por alterações mecânicas e funcionais presentes durante o relaxamento e/ou enchimento ventricular. Este, geralmente, é um estado pré-patológico, em que o coração tenta se adaptar às alterações impostas por um relaxamento anormal ou aumento da rigidez do ventrículo esquerdo, muitas vezes decorrente do aumento da fibrose cardíaca (FELIX et al., 2015), sobrecarregando o átrio esquerdo com o intuito de manter o volume apropriado de sangue, mantendo, pelo menos por hora, um débito cardíaco satisfatório (ZHAO et al., 2014). Tal condição é hoje reconhecida como uma fase precursora da insuficiência cardíaca e tem sido associada à sensível redução nos níveis de estrogênios circulantes (BROZENA, 2003).

Nesse sentido, evidências sugerem que a falência hormonal ovariana que resulta na menopausa contribui para o desenvolvimento da hipertensão arterial sistêmica (HAS) e hipertrofia cardíaca, acarretando a disfunção diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo (REGITZ-ZAGROSEK; LEHMKUHL; WEICKERT, 2006; REDFIELD et al., 2003; FELIX et al., 2019). Corroborando com esses achados, estudos demonstraram que esses hormônios são responsáveis por atenuar o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca causada por sobrecarga pressórica (VAN EICKELS et al., 2001; BABIKER et al., 2004). Nessa linha, foi observado que a deficiência estrogênica em ratas pode promover redução da função cardíaca (HAINES; HARVEY; LEINWAND, 2012) e redução da contratilidade miocárdica em longo prazo (PAIGEL et al., 2011; TEZINI et al., 2013; FELIX et al., 2019), evidenciando a importância do estrogênio na manutenção da eficiência do trabalho cardíaco.

Levando em consideração a parte estrutural do coração, um estudo recente demonstrou que o tratamento com reposição estrogênica atenuava a disfunção diastólica e o remodelamento cardíaco, observados pelo aumento do colágeno perivascular no coração de ratas ovariectomizadas (JESSUP et al., 2013). Além deste, outros estudos observaram ainda que a deficiência estrogênica promoveria aumento no número de sarcômeros em paralelo (BERNARDO et al., 2010), resultando em hipertrofia patológica concêntrica e aumento da fibrose (PEDRAM et al., 2010; CABANELAS et al., 2012; FELIX et al., 2015). Esses achados parecem evoluir para a redução da eficiência do coração em sua função como bomba, seja através da diminuição da contratilidade ou aumento da rigidez, promovendo em longo prazo o desenvolvimento do quadro de insuficiência cardíaca (ZHAO et al., 2014). Entretanto, os danos cardiovasculares da privação dos hormônios ovarianos associados à presença prévia da HAS necessitam ser melhor investigados.

1.1 Estrogênios e hipertensão arterial

Considerada um fator de risco independente, linear e contínuo para DCVs, a hipertensão é uma doença multifatorial e multicausal de grande prevalência. Estima-se que até o ano 2025 haja um aumento de 60% na sua prevalência, atingindo cerca de 1,5 bilhão de pessoas em todo o mundo (KEARNEY, 2005).

Ainda que sua etiologia seja em grande parte desconhecida, existe uma importante ligação genética com a manifestação dos altos valores de pressão arterial (PA) (DICKSON & SIGMUND, 2006). Além disso, a incidência de HAS é maior em sedentários e pessoas que apresentam sobrepeso (KAHN; ZOLA; JUNI; VINIK, 2008), além, é claro, em indivíduos que fazem uso excessivo de sal ou álcool (WHELTON et al., 2002), demonstrando uma íntima relação dos hábitos de vida no desenvolvimento e instalação da doença.

Uma importante complicação dessa doença que tem sido muito estudada e com importantes avanços, é disfunção autonômica. Embora a PA seja regulada por diferentes mecanismos fisiológicos, o sistema nervoso autonômico é considerado o seu mais importante mecanismo regulador. Dessa forma, uma disfunção nesse sistema pode ser um importante fator causal da HAS. Sabe-se que o aumento dos níveis pressóricos está relacionado a um predomínio do tônus simpático cardíaco sobre o tônus vagal (HUSAIN, 2003; DOGRU et al., 2010), acompanhado por uma diminuição da sensibilidade barorreflexa (ČELOVSKÁ et al., 2010). Associado a essas observações, é frequente encontrar na literatura estudos que correlacionaram a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a modulação autonômica, e os

resultados quase sempre mostram maiores valores dos índices representativos da modulação autonômica simpática em indivíduos hipertensos (COZZA et al., 2012; PHILBOIS et al., 2021). Nesse caso, a disfunção autonômica por si só é um fator preponderante para o agravamento da hipertensão (PRAKASH et al., 2005).

Com relação aos hormônios ovarianos, estudos mostraram que os valores de PA são mais baixos em mulheres até o climatério, quando comparadas aos homens de idade semelhante (CHENG et al., 2012; TADDEI, 2009; DUTRA et al., 2013). Além disso, nesse período, as mulheres apresentam menor prevalência de HAS (MARIC-BILKAN; GILBERT; RYAN, 2014). Um estudo realizado entre 1988 e 2004 fez um levantamento na população adulta americana e mostrou que as mulheres em todas as idades, independente de raça e etnia, apresentavam menor prevalência de hipertensão comparada com os homens (CUTLER, et al., 2008). Embora esses estudos tivessem como foco a falência da função hormonal ovariana após a menopausa, é de conhecimento que tal período é compartilhado com diversas alterações advindas do processo de envelhecimento que podem de certa forma, influenciar diretamente ou indiretamente nos resultados observados. Assim, um estudo realizado com mulheres que tiveram menopausa precoce através da retirada cirúrgica dos ovários por diferentes causas, mostrou a relação dos estrogênios com os níveis da PA, comprovando a importância dos hormônios ovarianos na regulação e controle da PA (KHARAZMI; FALLAH; LUOTO, 2007). Entretanto, esses estudos abordaram o papel dos estrogênios como precursores da hipertensão após a menopausa, principalmente relacionando a falência ovariana fisiológica crônica ao desenvolvimento da hipertensão durante o processo de envelhecimento. Sendo assim, até o momento não temos um conhecimento preciso dos prejuízos hemodinâmicos, morfológicos e funcionais cardíacos decorrentes da privação dos hormônios ovarianos quando a HAS precede, ou seja, quando a falência ovariana não é a responsável pela elevação da PA, o que pode trazer prejuízos ainda mais graves, evidenciando a importância dos estrogênios nesse processo, bem como os efeitos das diferentes abordagens de tratamento.

1.2 Menopausa e tratamentos

1.2.1 Tratamento através da terapia de reposição hormonal

Em princípio, a terapia de reposição hormonal, com suplementação exógena dos hormônios sexuais femininos (estrogênio e/ou progestogênio), seria a conduta de escolha para

atenuar os riscos das DCVs, assim como para abrandar a sintomatologia decorrente da menopausa. Porém, nos últimos anos, a terapêutica hormonal tem passado por dúvidas e incertezas em consequência de diversas publicações relacionadas ao seu uso e, desta forma, torna-se importante analisar as vantagens e desvantagens dessa terapia, uma vez que surge de tempos em tempos, algum estudo contraditório a esse respeito.

A influência benéfica da terapia hormonal na pós menopausa sobre comorbidades cardiovasculares vem sendo amplamente discutida. Estudos observacionais mostraram redução de até 50% no risco para DCVs em mulheres após a menopausa usuárias de terapia hormonal (BUSH et al., 1987; The writing group for the PEPITRIAL, 1995; GRODSTEIN et al., 1997; HARMAN et al., 2005). Adicionalmente, diversos estudos também já apontaram uma influência benéfica da terapia hormonal sobre o controle autonômico, com melhora na VFC e na SBR, ambas associadas à redução do drive autonômico simpático e, consequentemente, da PA (LIU; KUO; YANG, 2003; HUIKURI et al., 1996; EL-MAS; ABDEL-RAHMAN, 2009). No entanto, esses efeitos autonômicos favoráveis da terapia de reposição hormonal têm sido contestados (CHRIST et al., 2002; DIAS et al., 2010), sendo também refutados por grandes ensaios clínicos (HULLEY et al., 1998; ROSSOUW et al., 2002).

O estudo HERS (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study), publicado em 1998, constituiu-se de um ensaio clínico randomizado, controlado com placebo, que testou a eficácia da associação de estrogênios conjugados (0,625mg) e acetato de medroxiprogesterona (2,5mg) na prevenção de novos eventos em pacientes com coronariopatia prévia. Os resultados mostraram um aumento em eventos coronarianos e tromboembolismo venoso no primeiro ano de seguimento após o infarto agudo do miocárdio (HULLEY et al., 1998). Adicionalmente, em 2002 foi publicado o estudo WHI (Women's Health Initiative), um ensaio prospectivo de prevenção primária de DCVs, no qual as participantes tinham em média 63,3 anos e receberam o mesmo esquema hormonal do estudo HERS. Os resultados indicaram uma incidência superior de eventos cardiovasculares em mulheres que fizeram uso de terapia hormonal em comparação ao grupo placebo (ROSSOUW et al., 2002).

No entanto, é importante destacar que estes estudos sofreram críticas quanto a dois aspectos, a saber: a seleção de pacientes, que incluiu mulheres com idade em média uma década superior àquela em que normalmente a terapia hormonal é recomendada, e a utilização nos dois estudos de um esquema de terapia hormonal, via de administração e doses fixas (BOARDMAN et al., 2015; CAGNACCI; VENIER, 2019; MANSON et al., 2013; WINDLER et al., 2007). De qualquer forma, esses achados tiveram forte impacto sobre as

prescrições de terapia hormonal, fazendo com que seu uso fosse reconsiderado e que novas formas de terapia fossem buscadas.

1.2.2 Exercício Físico

Nesse caso, a prescrição e aplicação da terapêutica baseada na prática regular de exercícios físicos apresenta importantes resultados sobre diversos parâmetros cardiovasculares, inclusive hemodinâmicos, morfofuncionais e autonômicos, atuando como principal terapia não farmacológica para o tratamento da HAS. Estudos mostraram que o treinamento físico aeróbio promove adaptações benéficas cardiovasculares em longo prazo (MANFREDINI et al., 2008; CORNELISSEM et al., 2009; CORNELISSEN; FAGARD, 2005; ROSSI et al., 2009; MAIDA et al., 2017; SÁNCHEZ et al., 2023a; SÁNCHEZ et al., 2023b). Entre elas, a diminuição da frequência cardíaca (FC) de repouso (HUSAIN, 2003; ANGELIS et al, 2004; NIEBAUER et al, 2003; MEDEIROS et al, 2004), aumento no tônus vagal e concomitante diminuição do tônus simpático foram observadas, além do aumento nos níveis de liberação e biodisponibilidade do óxido nítrico, um importante agente vasodilatador, comprovando a influência desse tipo de atividade na melhora do controle autonômico e tratamento da HA (KURU et al, 2002; ANGELIS et al, 2004; SOUZA et al., 2008; ROSSI et al. 2009; LEHNEN et al., 2011; TEZINI et al., 2013). Essas adaptações dependem da intensidade, da duração e da frequência do treinamento (FORJAZ et al., 1998; SANT`ANA et al., 2010). Entretanto, estudos referentes à morfologia, funcionalidade e contratilidade cardíaca ainda são incipientes (FELIX et al., 2018 e 2019). Dessa forma, a realização periódica de exercícios físicos tem sido utilizada como prevenção e terapia anti-hipertensiva, inclusive em mulheres antes e após a menopausa, atenuando os valores de PA e reduzindo os efeitos dos fatores de risco para doenças cardiovasculares. Contudo, as ações dos hormônios ovarianos, bem como os mecanismos envolvidos nesse processo, ainda não são conclusivas, mas sugerem um potencial efeito desses hormônios não somente na regulação autonômica e vascular, mas também na morfologia e funcionalidade cardíaca.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral:

Investigar em ratas espontaneamente hipertensas, as implicações da privação dos hormônios ovarianos sobre parâmetros hemodinâmicos, autonômicos e da contratilidade cardíaca, bem como o papel terapêutico do treinamento físico aeróbio sobre esses parâmetros.

2.2 Específicos

Comparar os valores da pressão sanguínea arterial e FC, com e sem a função ovariana preservada, bem como os efeitos do treinamento físico aeróbio.

Investigar as implicações da ovariectomia, associada ou não ao treinamento físico aeróbio, sobre o tônus autonômico cardíaco.

Avaliar a reatividade do leito coronariano e a contratilidade do ventrículo esquerdo ao aumento do fluxo, com e sem a função ovariana preservada.

Comparar as consequências da ovariectomia sobre a resposta contrátil do ventrículo esquerdo à administração de agonistas β -adrenérgicos, dobutamina e salbutamol.

Averiguar as consequências do treinamento físico aeróbio sobre a reatividade do leito coronariano e contratilidade cardíaca em ratas sham e ovariectomizadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e grupos experimentais

Foram estudadas ratas espontaneamente hipertensas (Spontaneously Hypertensive Rats – SHR), com 38 semanas de vida, distribuídas em dois grandes grupos; grupo de ratas ovariectomizadas com 30 semanas de vida (grupos OVX; N=32) e grupo de ratas submetidas à cirurgia sham, também com 30 semanas de vida (grupos SHAM; N=32). Cada grande grupo foi subdividido em 2 grupos menores (N=16); grupo de ratas não treinadas; e grupo de ratas treinadas por meio da natação em sessões diárias de 45 min. Os animais foram mantidos durante o período experimental no biotério setorial do Laboratório do Departamento de Ciências da Saúde, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo, onde permaneceram em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas à temperatura de 21 ± 1 °C e livre acesso à água e comida (Nuvilab CR-1, Nuvital, Colombo, PR, Brasil)..

3.2 Procedimentos

3.2.1 Cirurgia para retirada dos ovários

Na 38^a semana de vida e após um período de 12 horas de jejum, as ratas foram submetidas à ovariectomia bilateral sob anestesia de quetamina e xilazina (80 mg/kg and 10 mg/kg, i.p., respectivamente). A ovariectomia consistiu em incisões cutâneas nos flancos bilateralmente, acessando a cavidade abdominal. Após localização, os ovários foram retirados por meio de uma ligadura na extremidade distal da trompa uterina. A trompa uterina foi recolocada no interior da cavidade abdominal e as camadas musculares e cutâneas foram suturadas isoladamente.

Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam injeção de antibiótico intramuscular (40000 U/kg Penicilina G procaina IM) para prevenir infecção, e anti-inflamatório não-esteroidal flunixin meglumine (Banamine) subcutâneo (2,5 mg/kg) para analgesia no pós-operatório. Nas duas semanas subsequentes à realização da OVX, as ratas permaneceram em gaiolas individuais para adequada recuperação pós-cirúrgica. Em seguida, as ratas foram alocadas em grupos de 5 por caixa (60 x 50 x 22 cm, Insight Ltda, Brasil) e permaneceram por mais 14 semanas, seguindo o protocolo específico de cada grupo (não treinado e treinado).

Durante as últimas 4 semanas (50^a e 54^a), o esfregaço vaginal foi coletado 3 vezes por semana em todas as ratas, seguindo o procedimento descrito por Marcondes et al. (2002). Esse procedimento permitiu determinar a fase do ciclo estral por meio da análise diária do tipo de

células que descamam do epitélio vaginal. Dessa forma, após a coleta, o fluido vaginal era colocado em lâminas de vidro e analisado por meio de microscopia óptica (40x). A ausência do ciclo estral foi confirmada pela permanente fase diestro, caracterizada por um infiltrado leucocitário, sem células epiteliais, consequência da ação da progesterona, bem como das baixas concentrações de estradiol.

3.2.2 Treinamento físico aeróbio

O treinamento físico aeróbio consistiu em sessões diárias de natação realizadas em um aquário de vidro (100 cm comprimento x 80 cm largura x 80 cm altura), que permitiu o treinamento de 6 animais simultaneamente. O aquário era preenchido com aquecida ($28-30 \pm 2^\circ\text{C}$) até a altura de 50 cm ($0,40 \text{ m}^3$ de volume), e a mesma era substituída a cada grupo de treinamento.

O programa de treinamento foi realizado em duas etapas distintas, com uma duração total de 14 semanas (da 40^a a 54^a semana de idade). A primeira etapa consistiu em 6 semanas de adaptação crescente ao meio aquático, iniciando com 5 minutos na primeira semana, e com aumentos graduais semanais de 5 minutos até completar 30 minutos diários (5x/semana). A segunda etapa consistiu em 8 semanas, com sessões de treinamento de 45 minutos de duração, com a frequência semanal também de 5 vezes (Tabela 1).

Tabela 1: Protocolo do treinamento físico submetido nas ratas espontaneamente hipertensas (SHR).

Semana de treinamento	Duração das sessões (minutos)				
1 ^a	5	5	5	5	5
2 ^a	10	10	10	10	10
3 ^a	15	15	15	15	15
4 ^a	20	20	20	20	20
5 ^a	25	25	25	25	25
6 ^a	30	30	30	30	30
7 ^a	45	45	45	45	45
8 ^a	45	45	45	45	45
9 ^a	45	45	45	45	45
10 ^a	45	45	45	45	45

11 ^a	45	45	45	45	45
12 ^a	45	45	45	45	45
13 ^a	45	45	45	45	45
14 ^a	45	45	45	45	45

Tabela 1: Protocolo do treinamento físico submetido nas ratas espontaneamente hipertensas (SHR). Evolução do volume de treinamento com duração de 14 semanas, com início na 40^a semana de vida, por meio da natação em aquário de vidro contendo 80 cm de altura, 80 cm de largura e 100 cm de comprimento (0,64 m³ de volume).

Para a avaliação da intensidade do treinamento físico foi coletado sangue da veia caudal dos animais na 4^a, 8^a e 12^a semanas de treinamento, antes e imediatamente após as sessões de treinamento físico aeróbio, para posterior avaliação da concentração de lactato sanguíneo (Accutrend® Plus, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). O nível esperado de lactato era de 5,5 a 6 mmol/L, conforme determinado previamente (Gobatto et al., 2001). Se estes níveis de lactato não eram atingidos, a intensidade do treinamento físico era aumentada utilizando uma cinta de velcro impermeável contendo chumbo, variando de 2% a 6% do peso corporal do animal, a qual era fixada no tórax do animal (GOBATTO et al., 2001).

3.3 Protocolos Experimentais

3.3.1 Evolução dos parâmetros hemodinâmicos - Pletismografia de Cauda

Todos os grupos tiveram a evolução da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) registradas através da pletismografia de cauda utilizando o sistema CODA®, *Kent Scientific Corporation*. Este é um sistema de registro indireto de PA em que os ratos são acondicionados em um tubo cilíndrico de acrílico, no qual são aquecidos e ventilados de maneira adequada para a realização das medidas de PA.

Assim, os ratos eram acoplados na região proximal de sua cauda um manguito de borracha que possui a função de insuflar e desinflar automaticamente em intervalos fixos de 15 segundos. Próximo ao manguito era acoplado um transdutor de pulso (sensor) que captou os sinais que eram enviados e registrados em sistema de computador. Todos os animais passaram por um período de adaptação ao experimento através de 3 medidas que não foram consideradas. Em seguida, 12 novas medidas eram realizadas, e assim, a PA foi considerada como a média de no mínimo dez medidas. Este procedimento foi realizado com o objetivo de

confirmar a hipertensão arterial em todos os ratos, além de garantir que os grupos possuíam médias de PA semelhantes antes de iniciarem qualquer protocolo.

A pletismografia de cauda também foi utilizada para o acompanhamento da evolução da PA em todos os grupos experimentais. Os grupos foram acompanhados desde a 38ª semana, antes da cirurgia para ovariectomia, até a 54ª semana de vida, por meio de cinco medidas (38ª, 42ª, 46ª, 50ª e 54ª semanas de vida) (Figura 1).

3.3.2 Registro da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

No 1º dia após a 54ª semana, os animais foram anestesiados com ketamina 80 mg/kg e xilazina 10 mg/kg para implante de cânulas de polietileno (PE-50 fundido a uma extensão PE-10; Intramedic, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA) na artéria e veia femorais (esquerda) para posterior registro da PA e administração de drogas, respectivamente. As cânulas foram exteriorizadas na região dorsal, através do tecido subcutâneo. Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam injeção de antibiótico intramuscular (40000 U/kg Penicilina G procaina IM) para prevenir infecção, e anti-inflamatório não-esteroidal, flunixin meglumine (Banamine) subcutâneo (2.5 mg/kg), para analgesia no pós-operatório. Por fim, os animais foram alojados em caixas individuais por 24 horas para a recuperação pós-cirúrgica.

Vinte e quatro horas após o procedimento cirúrgico de canulação, a pressão arterial pulsátil (PAP) foi registrada por meio de um sistema digital de aquisição de sinais biológicos, composto por um transdutor de pressão (MLT844, ADInstruments, Bella Vista, Australia) e um amplificador de sinais (FE117, ADInstruments, Bella Vista, Australia) acoplado a um sistema de aquisição computadorizado (ADInstruments, Austrália - PowerLab 8/30). O sinal de PA foi adquirido usando frequência de amostragem de 2 KHz. A FC e a PAM foram inferidas a partir da PAP por meio de um software (PowerLab – Chart7 – ADInstruments, Austrália). Por intermédio desse registro, foi realizado o protocolo experimental para avaliação das respostas da FC ao duplo bloqueio autonômico farmacológico. Ao final do protocolo, os animais foram sacrificados por sobredose de anestésico administrado por via endovenosa.

3.3.3 Avaliação do balanço simpato-vagal cardíaco e determinação da frequência intrínseca de marcapasso em animais lacordados.

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o balanço simpato/vagal cardíaco nos diferentes grupos e suas eventuais alterações. Foram administradas as drogas, metilatropina e propranolol, para bloquear os respectivos receptores cardíacos dos

componentes autonômicos parassimpático (vago) e simpático. Os diferentes grupos experimentais foram estudados por meio de dois procedimentos distintos:

1º). Após 30 minutos de adaptação era registrado 10 minutos da PAP para estabelecer os valores basais da FC oriundos dos intervalos de pulso (IP) sistólicos. Logo em seguida, a metilatropina (4mg/kg, *i.v.*, Sigma Aldrich, EUA) era administrada e a FC registrada por 15 minutos com a finalidade de se obter a influência tônica do vago sobre a determinação da FC basal. Após os 15 minutos, o cloridrato de propranolol (5mg/kg, *i.v.*, Sigma Aldrich, EUA) era administrado e a FC registrada por mais 15 minutos para se determinar a frequência cardíaca intrínseca (FCi).

2º) 24 horas após, no mesmo animal, foram administrados os bloqueadores autonômicos na ordem inversa, ou seja, propranolol seguido de metilatropina, com o objetivo de se calcular a influência tônica do componente autonômico simpático na determinação da FC basal e de se obter a FCi (Figura 1).

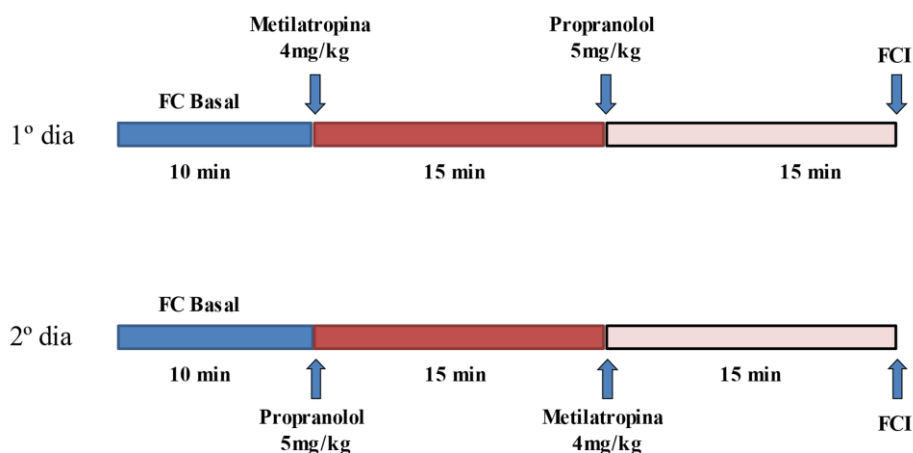


Figura 1 – Representação esquemática do protocolo de avaliação do balanço tônico autonômico cardíaco.

3.3.4 Estudo da Função Cardíaca Isolada – Técnica de Langendorff

Os animais foram anestesiados com quetamina e xilazina (80 mg/kg e 10 mg/kg, *i.p.*, respectivamente) e heparinizados (5000 UI/kg). Após decapitação (< 2 minutos), os corações foram inseridos no sistema de Langendorff por meio da canulação da aorta ascendente (Figura

2) e o leito coronariano perfundido a fluxo constante ajustado pelo peso do coração do animal (8ml/g), com solução de Krebs-Henseleit com pH 7,4 contendo (mM/L): NaCl 118,4, KCl 4,7, CaCl₂ 2,5, MgSO₄·H₂O 1,2, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1,2, glicose 11,2, piruvato 2,0 diluídos em água ultrapura. A solução foi aerada com uma combinação de 95% de O₂ e 5% de CO₂ e mantida em 37°C (SKRZYPIEC-SPRING et al., 2007).

A pressão de perfusão coronariana foi obtida por meio de um transdutor acoplado à cânula inserida na aorta, enquanto à pressão intraventricular por meio da implantação de um balão de látex no interior do ventrículo esquerdo, também acoplado a um transdutor de pressão (Figura 2). Os valores de frequência cardíaca, velocidade máxima de contração (dP/dT_{máx}) e de relaxamento (dP/dT_{mín}) do ventrículo esquerdo foram obtidos por meio da derivação dos valores da pressão intraventricular. Ambos os transdutores de pressão (MLT844, ADInstruments, Bella Vista, Australia) estavam acoplados a um sistema de registro composto por pré-amplificadores e amplificadores de sinais biológicos (ADInstruments, Bella Vista, Austrália), e os registros da pressão de perfusão coronariana e das variáveis de função ventricular esquerda foram realizados através de um software (PowerLab, Chart8; ADInstruments, Bella Vista, Australia).

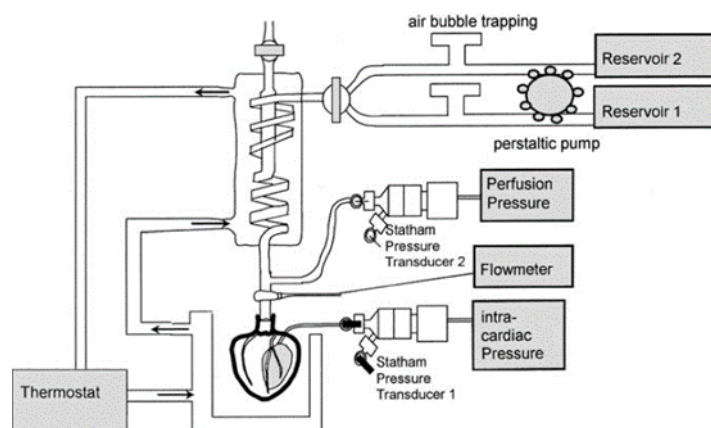


Figura 2 – Representação do aparelho de Langendorff de fluxo constante. Dhein, S. The Langendorff Heart. 2006.

O protocolo experimental teve duração média de 1 hora. Após canulação da aorta, o coração foi perfundido (8ml/g) por cinco minutos contínuos para estabilização da pressão de perfusão coronariana. Após o período de estabilização, foi realizada uma incisão no átrio esquerdo para inserção do balão de látex (fabricado com preservativo não lubrificado) no interior do ventrículo ipsilateral. O balão foi manualmente inflado com água por meio de uma mangueira acoplada a uma seringa até que a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

atingisse um valor entre 2 e 10 mmHg, pré-carga não fisiológica que foi mantida durante todo o experimento.

Após 10 minutos de estabilização com balão inserido no ventrículo, foi iniciada a avaliação da reatividade do leito coronariano por meio do aumento do fluxo basal. Nesse caso, o fluxo basal foi progressivamente aumentado em intervalos de 3 minutos em 20%, 40%, 60%, 80% e 100% (Figura 3). Os valores de perfusão coronariana, pressão intraventricular esquerda, frequência cardíaca, velocidade máxima de contração (dP/dT_{\max}) e velocidade máxima de relaxamento (dP/dT_{\min}) do ventricular esquerdo foram obtidos durante todo o experimento.

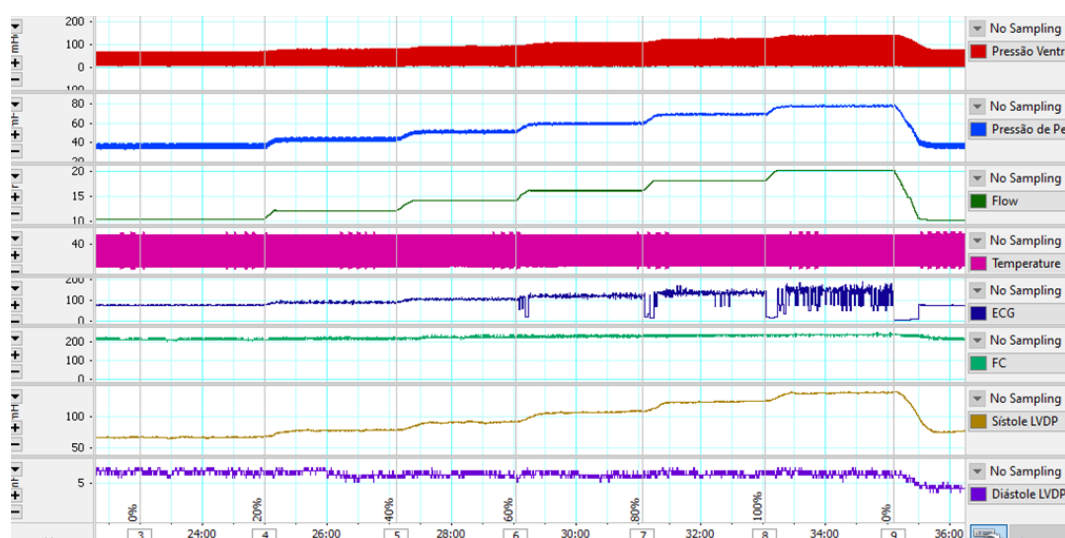


Figura 3 – Representação da avaliação da reatividade do leito coronariano pelo aumento do fluxo basal (0%-100%).

Após a avaliação da reatividade do leito coronariano, o fluxo basal foi reestabelecido (8ml/g) e um intervalo de dez minutos foi realizado para estabilização dos parâmetros avaliados. Após o intervalo, foi realizada a avaliação da sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos, utilizando a curva dose-resposta cardíaca e a resposta máxima à pressão intraventricular obtida pela administração de dobutamina (agonista β_1 -adrenérgico) e salbutamol (agonista β_2 -adrenérgico). Foram administradas doses crescentes in bolus (0,5, 1, 2, 5, 10, 20 e 50 nmol de dobutamina; 2, 5, 10, 20, 50 e 100 nmol de salbutamol), de forma alternada e com intervalos de 3 minutos entre elas (Figura 4).

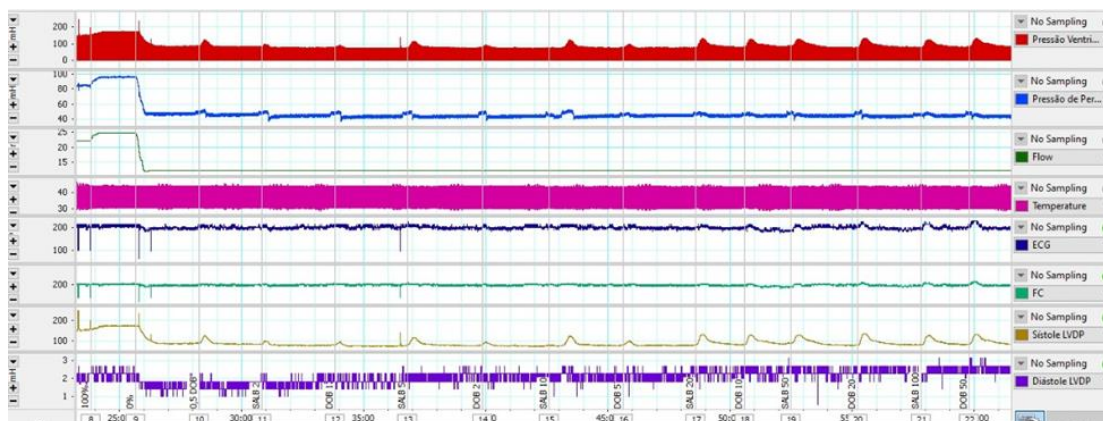


Figura 4 – Representação da avaliação da sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos, utilizando doses crescentes in bolus (0,5 a 50 nmoles de dobutamina; 1 a 100 nmoles de salbutamol), de forma alternada e com intervalos de 3 minutos entre elas.

3.4 Análise Estatística

Os resultados estão apresentados como média \pm EPM. O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi aplicado para analisar a normalidade da distribuição, enquanto a análise da variância foi realizada por meio do teste de *Levene*. As comparações intergrupos foram avaliadas por meio de análise linear de efeitos mistos ajustados (ANOVA two way), sendo a ovariectomia considerada o Fator 1, e treinamento físico o Fator 2, seguido do teste Student-Newman-Keuls para as comparações intragrupos. Caso alguns dos resultados não se encontrassem na curva de normalidade e variância, utilizamos a análise de variância ranqueada (ANOVA OnRanks) com o pós-teste de Kruskal-Wallis. Por fim, as comparações das curvas de reatividade vascular e contratilidade cardíaca foram analisadas usando um modelo multivariado de medidas repetidas. Os resultados foram considerados com diferença estatística quando o valor de *P* foi menor que 0,05. Todos os testes estatísticos foram realizados com o software SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA).

4 RESULTADOS

4.1 Parâmetros antropométricos.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros antropométricos de todos os grupos estudados. Todos os grupos apresentaram peso corporal semelhante no início do protocolo (38^a semana de vida). Entretanto, ao final do protocolo experimental, ou seja, na 54^a semana de vida, os grupos ovariectomizados apresentaram maiores valores do peso corporal em relação aos grupos SHAM ($p < 0,001$). Por outro lado, não houve diferenças em relação ao peso cardíaco e o peso cardíaco relativo entre os grupos.

Tabela 2: Parâmetros antropométricos obtidos em todos os grupos estudados.

	SHAM		OVX		Fator Ovariectomia		Fator Treinamento		Interação	
	Não-treinado (N= 08)	Treinado (N= 08)	Não-treinado (N= 08)	Treinado (N= 08)	F _(DF)	P	F _(DF)	P	F _(DF)	P
<i>Parâmetros Antropométricos</i>										
Peso inicial, g	206 ± 6	212 ± 5	204 ± 3	205 ± 6	F _{(1,47):0.82}	NS	F _{(2,47):0.48}	NS	F _{(2,47):0.16}	NS
Peso final, g	217 ± 7	227 ± 5	241 ± 8 ^a	251 ± 6 ^{a,b}	F _{(2,47): 15.86}	<0.001	F _{(1,47):2.08}	NS	F _{(2,47):0.28}	NS
Peso cardíaco, g	1.51 ± 0.07	1.56 ± 0.06	1.68 ± 0.12	1.67 ± 0.02	F _{(1,47):3.18}	NS	F _{(1,47):0.07}	NS	F _{(2,47):0.17}	NS
Peso cardíaco relativo, mg/g	6.98 ± 0.33	6.90 ± 0.31	6.92 ± 0.47	6.65 ± 0.15	F _{(2,47):0.23}	NS	F _{(1,47):0.27}	NS	F _{(2,47):0.07}	NS

Os valores estão expressos em médias ± E.P.M. A análise de variância Two-way avaliou os efeitos da ovariectomia e do treinamento físico aeróbio, enquanto as comparações intergrupos foram realizadas por meio do método de comparações múltiplas pareadas de Student-Newman-Keuls. OVX, ovariectomizado; F, fator; d.f., graus de liberdade; g, grama; mg, miligrama. ^a P < 0,05 em relação ao grupo SHAM não-treinado; ^b P < 0,05 em relação ao grupo SHAM treinado; ^c P < 0,05 em relação ao grupo OVX não-treinado.

4.2 Parâmetros hemodinâmicos.

A Tabela 3, apresenta os valores dos parâmetros hemodinâmicos basais obtidos 24h após a canulação da artéria femoral na 54^a semana de vida em todos os grupos experimentais. O grupo OVX não treinado apresentou uma pequena redução da FC basal, porém significativa, em relação ao grupo SHAM não treinado. Por sua vez, os grupos treinados, SHAM e OVX, apresentaram menores valores da FC em relação aos seus respectivos grupos não treinados, e quando comparados não diferiram. Em relação aos valores da PA, os resultados mostram que o treinamento físico aeróbio reduziu em ambos os grupos, SHAM e OVX, a PAM, a PAS e a PAD. Quando os grupos treinados foram comparados, o grupo SHAM apresentou menores valores da PAD e PAM.

Tabela 3: Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca 24 horas após canulação da artéria femoral.

	SHAM		OVX		Fator Ovariectomia		Fator Treinamento		Interação	
	Não-treinado (N= 08)	Treinado (N= 08)	Não-treinado (N= 08)	Treinado (N= 08)	F _(DF)	P	F _(DF)	P	F _(DF)	P
<i>Parâmetros hemodinâmicos</i>										
FC basal, bpm	408 ± 3	341 ± 2 ^a	398 ± 3 ^{a,b}	334 ± 3 ^{a,c}	F _(2,47) :6.63	0.016	F _(1,47) :219.06	<0.001	F _(2,47) :0.15	NS
PAS, mmHg	192 ± 5	149 ± 8 ^a	195 ± 3 ^b	166 ± 5 ^{a,c}	F _(2,47) :3.16	NS	F _(1,47) :44.66	<0.001	F _(1,47) :1.75	NS
PAD, mmHg	149 ± 6	114 ± 6 ^a	155 ± 8 ^b	134 ± 5 ^{a,b,c}	F _(2,47) :4.25	0.049	F _(1,47) :20.75	<0.001	F _(2,47) :1.17	NS
PAM, mmHg	167 ± 5	127 ± 7 ^a	171 ± 5 ^b	146 ± 5 ^{a,b,c}	F _(2,47) :4.37	0.046	F _(1,47) :32.56	<0.001	F _(2,47) :1.56	NS

Os valores estão expressos em médias ± E.P.M. A análise de variância Two-way avaliou os efeitos da ovariectomia e do treinamento físico aeróbio. OVX, ovariectomizado; F, fator; d.f., graus de liberdade; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PAM, pressão arterial média; mmHg, milímetros de mercúrio. ^a P < 0,05 em relação ao grupo SHAM não-treinado; ^b P < 0,05 em relação ao grupo SHAM treinado; ^c P < 0,05 em relação ao grupo OVX não-treinado.

4.3 Evolução da pressão arterial

A Figura 5 apresenta os resultados da avaliação sequencial da pressão arterial média (PAM), obtida por meio da pletismografia de cauda realizada em 5 momentos durante o protocolo experimental de 14 semanas, enquanto a Tabela 3 apresenta os valores da pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) obtidas 24h após a canulação da artéria femoral. A Figura 2 mostra que 24h antes da cirurgia para retirada dos ovários ou cirurgia SHAM, ocorrida na 38ª semana de vida, todos os grupos experimentais apresentavam valores semelhantes da PAM. A ovariectomia não afetou a evolução da PAM. Por sua vez, os grupos treinados, SHAM e OVX, apresentaram redução linear da PAM. Por sua vez, a Tabela 3 também mostra que os grupos treinados apresentaram menores valores dos parâmetros da PA. Quando comparados, o grupo SHAM treinado apresentou os menores valores na PAD e PAM.

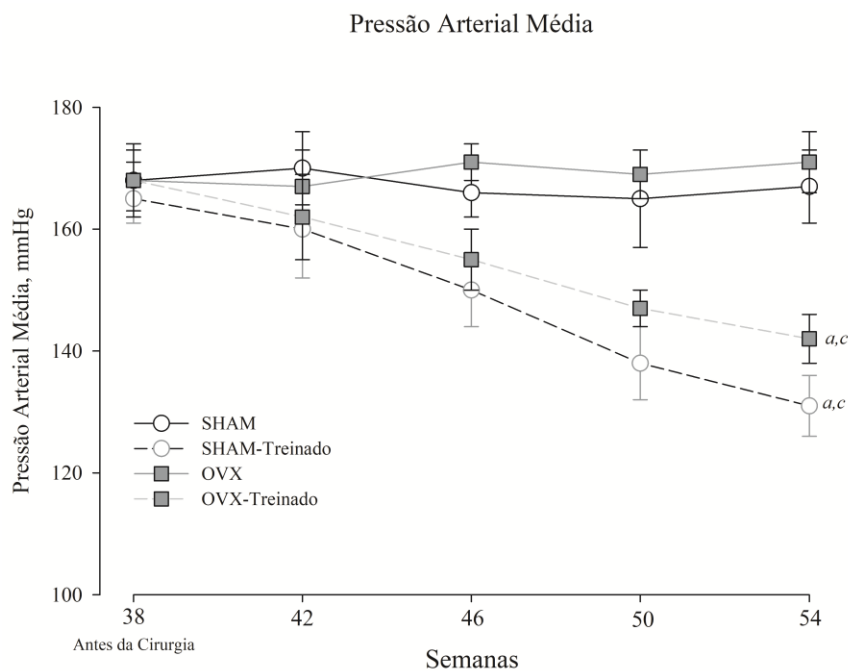


Figura 5: Evolução da pressão arterial média (PAM) em todos os grupos estudados. Ambos os grupos treinados apresentaram significativa redução temporal da PAM em decorrência do treinamento físico aeróbio quando comparados aos grupos não treinados.

4.4 Bloqueio dos receptores autonômicos cardíacos

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos após o bloqueio dos receptores muscarínicos e β -adrenérgicos cardíacos com metilatropina e propranolol, respectivamente. Os resultados mostram que tanto o treinamento físico aeróbio quanto a ovariectomia proporcionaram menores valores da FC após a administração de metilatropina, assim como redução mais proeminente da FC após a administração de propranolol. No entanto, os grupos treinados apresentaram elevações menos acentuadas da FC após a administração de metilatropina e reduções mais acentuadas da FC após a administração de propranolol. A Tabela 3 também mostra que o treinamento físico, assim como a ovariectomia, proporcionaram menores valores da FCi. Ademais, os grupos treinados apresentaram os menores valores.

Por sua vez, a Figura 6 apresenta as respostas da FC em deltas (Figura 6A) e valores percentuais (Figura 6B) após a administração de metilatropina e propranolol indicando o balanço autonômico cardíaco. Os resultados mostraram que ambos os grupos treinados apresentaram um predomínio vagal no balanço autonômico cardíaco, enquanto os grupos não treinados apresentaram um predomínio simpático no balanço autonômico cardíaco.

Tabela 4: Parâmetros hemodinâmicos e valores da frequência cardíaca obtidos antes e após o bloqueio farmacológico de receptores autonômicos cardíacos com metilatropina e propranolol.

	SHAM		OVX		Fator Ovariectomia		Fator Treinamento		Interação	
	Não-treinado (N= 08)	Treinado (N= 08)	Não-treinado (N= 08)	Treinado (N= 08)	F _(DF)	P	F _(DF)	P	F _(DF)	P
Bloqueio dos receptores cardíacos										
FC basal, bpm	408 ± 3	341 ± 2 ^a	398 ± 3 ^{a,b}	334 ± 3 ^{a,c}	F _(2,47) :6.63	0.016	F _(1,47) :219.06	<0.001	F _(2,47) :0.15	NS
FC após metilatropina, bpm	457 ± 5	422 ± 7 ^a	428 ± 3 ^a	395 ± 5 ^{a,b,c}	F _(2,47) : 31.13	<0.001	F _(1,47) : 44.73	<0.001	F _(2,47) : 0.01	NS
FC after propranolol, bpm	327 ± 4	306 ± 3 ^a	320 ± 5 ^b	301 ± 4 ^{a,c}	F _(2,47) :2.18	NS	F _(1,47) :22.61	<0.001	F _(2,47) :0.11	NS
FC intrínseca, bpm	349 ± 3	325 ± 3 ^a	332 ± 4 ^a	316 ± 2 ^{a,b,c}	F _(2,47) :20.43	<0.001	F _(1,47) :44.70	<0.001	F _(2,47) :1.83	NS

Os valores estão expressos em médias ± E.P.M. A análise de variância Two-way avaliou os efeitos da ovariectomia e do treinamento físico aeróbio. OVX, ovariectomizado; F, fator; d.f., graus de liberdade; FC, frequência cardíaca; bpm, batimentos por minuto. ^a P < 0,05 em relação ao grupo SHAM não-treinado; ^b P < 0,05 em relação ao grupo SHAM treinado; ^c P < 0,05 em relação ao grupo OVX não-treinado.

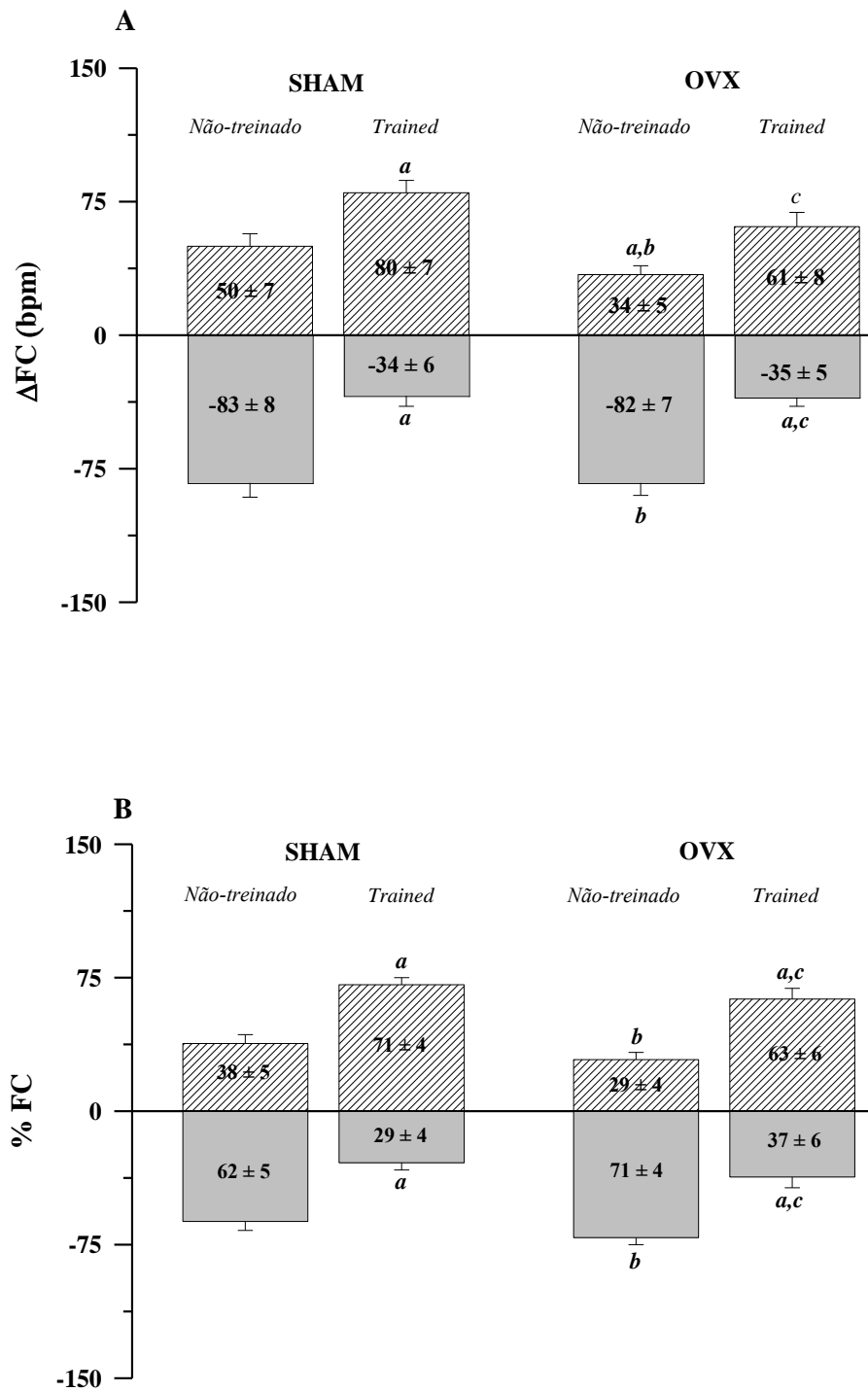


Figura 6: Respostas da frequência cardíaca absoluta (A) e normalizada (B) à atropina (valores positivos) ou propranolol (valores negativos) nos grupos SHAM, SHAM treinado, ovariectomizado (OVX) e ovariectomizado treinado. Os valores estão expressos em médias ± E.P.M. bpm, batimentos por minuto; Δ, variação. ^a P < 0,05 vs. SHAM sedentário; ^b P < 0,05 vs. SHAM treinado; ^c P < 0,05 vs. OVX sedentário.

4.5 Reatividade do leito coronariano e contratilidade do ventrículo esquerdo induzidos pelo aumento escalonado do fluxo.

A Figura 7 apresenta os resultados da pressão de perfusão coronariana (figura 7A), da pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) (figura 7B), e os valores de $dP/dT_{\text{máx}}$ (figura 7C) e $dP/dT_{\text{mín}}$ (figura 7D) ao aumento do fluxo coronariano. A pressão de perfusão coronariana foi semelhante entre todos os grupos. No entanto, apesar dessa semelhança, o grupo SHAM treinado apresentou maiores valores da pressão ventricular esquerda em relação aos demais grupos, e maiores valores da $dP/dT_{\text{máx}}$ e $dP/dT_{\text{mín}}$ em relação aos grupos ovariectomizados.

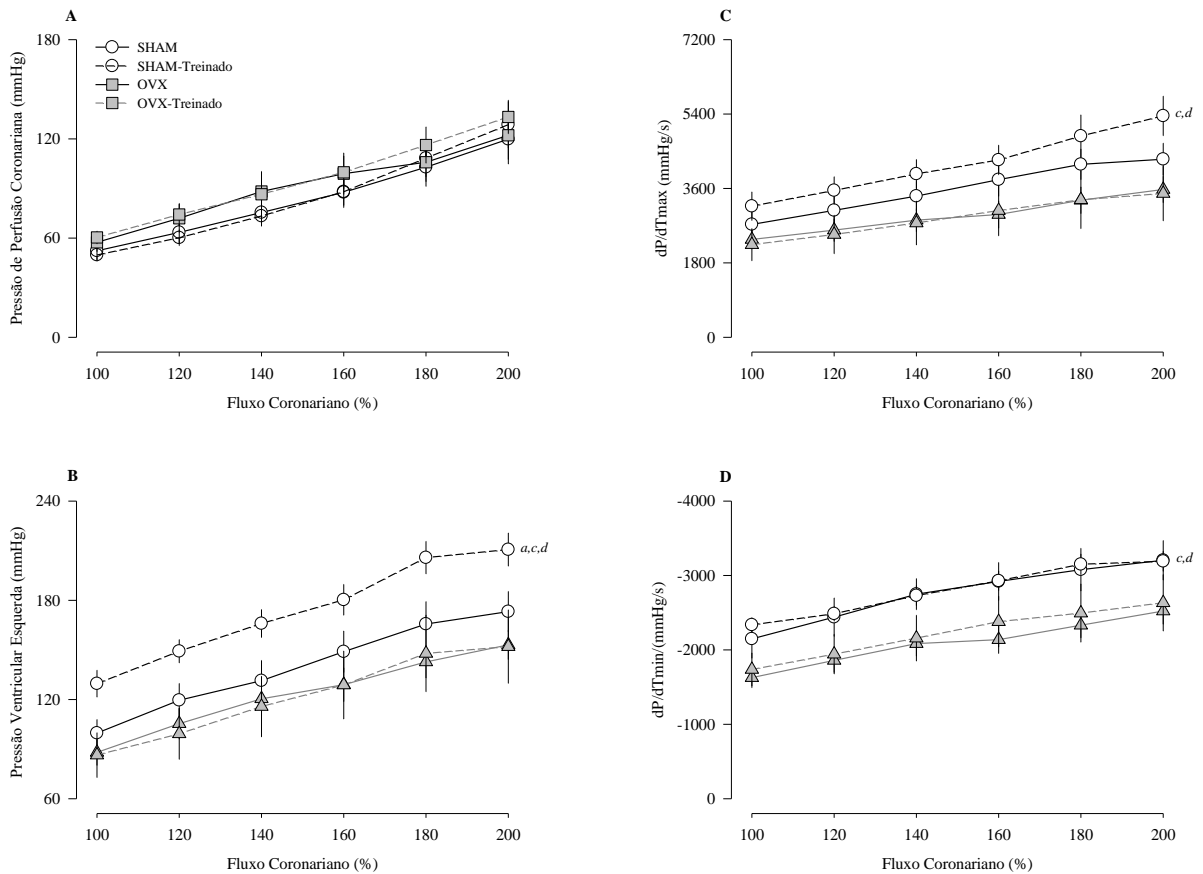


Figura 7: Pressão de perfusão coronariana (A), pressão sistólica ventricular esquerda (B), $dP/dT(\max)$ (C) e $dP/dT(\min)$ (D) ao aumento do fluxo coronariano nos grupos SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Todos os valores estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). ^a $p < 0.05$ vs. SHAM sedentário; ^b $p < 0.05$ vs. SHAM treinado; ^c $p < 0.05$ vs. OVX sedentário.

4.6 Pressão ventricular esquerda, frequência cardíaca e duplo produto em resposta à administração de dobutamina e salbutamol.

A figura 8 apresenta as curvas dose-resposta da pressão ventricular esquerda (Δ) após a administração de doses crescentes de dobutamina (Figura 8A) e salbutamol (Figura 8B). Os grupos treinados, SHAM e OVX, apresentaram maiores valores da pressão ventricular esquerda após a administração de dobutamina, principalmente na maior dose (Figura 8C). Após a administração de salbutamol, se evidenciaram maiores valores de pressão ventricular nos grupos OVX.

A figura 9 exibe os valores de FC (variações em Δ) nos corações isolados após administração de dobutamina (Figura 9A) e salbutamol (Figura 9B). O grupo SHAM treinado apresentou maiores valores de FC quando comparado aos demais grupos. Em relação ao salbutamol, não houve diferenças significativas entre os grupos estudados.

Por sua vez, a Figura 10 apresenta os resultados do duplo produto (FC x PVSE). Os resultados demonstraram que o grupo OVX não treinado apresentou os menores valores após a administração de dobutamina (Figura 10A) e salbutamol (Figura 10B) em relação aos demais grupos. Também mostra que o grupo SHAM treinado apresentou maiores valores quando comparado ao grupo SHAM não treinado após a administração de dobutamina (Figura 10A).

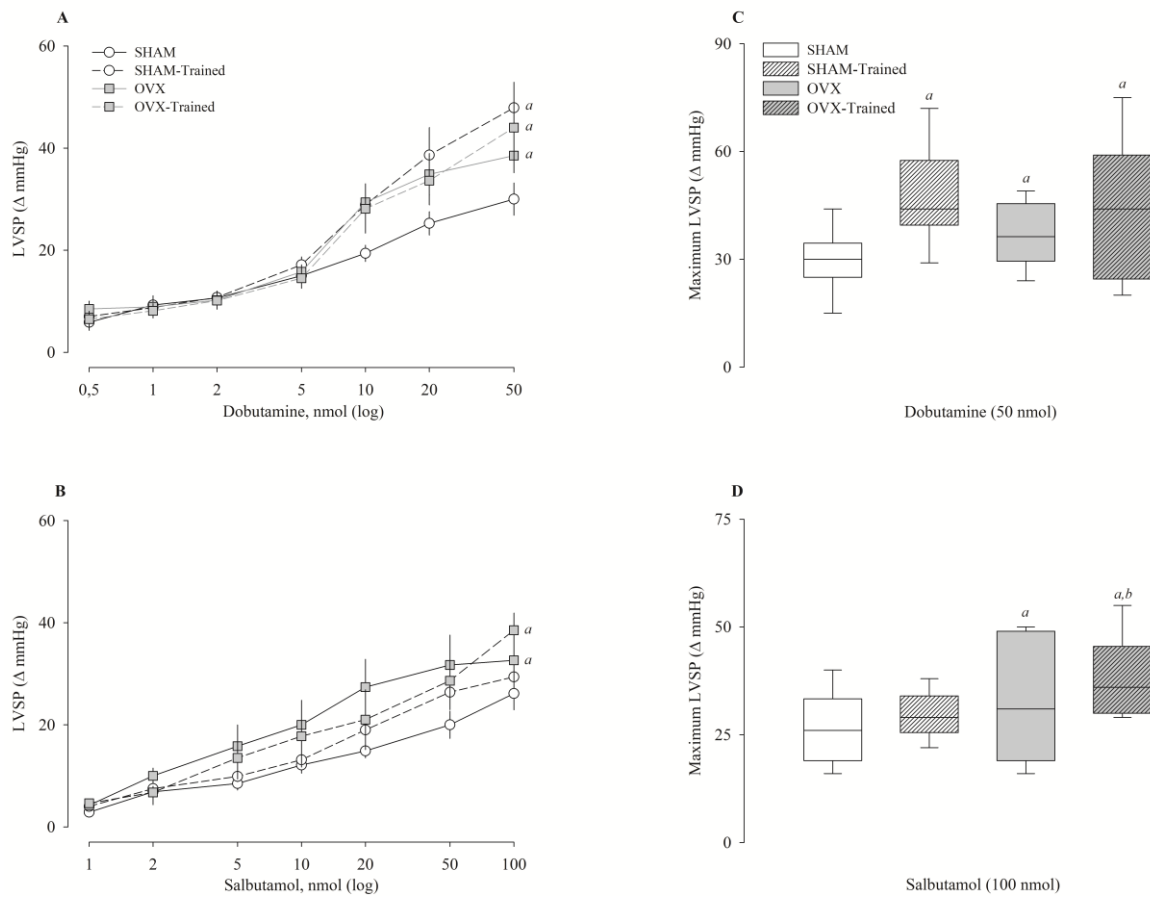


Figura 8: Pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE) após administração de dobutamina (A) e salbutamol (B) nos grupos SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Os gráficos C e D representam a resposta máxima obtida para dobutamina (50 nmol) e salbutamol (100 nmol). Os valores são expressos em delta (Δ).mmHg. Todos os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média. ^a $p < 0.05$ vs. SHAM sedentário; ^b $p < 0.05$ vs. SHAM treinado; ^c $p < 0.05$ vs. OVX sedentário.

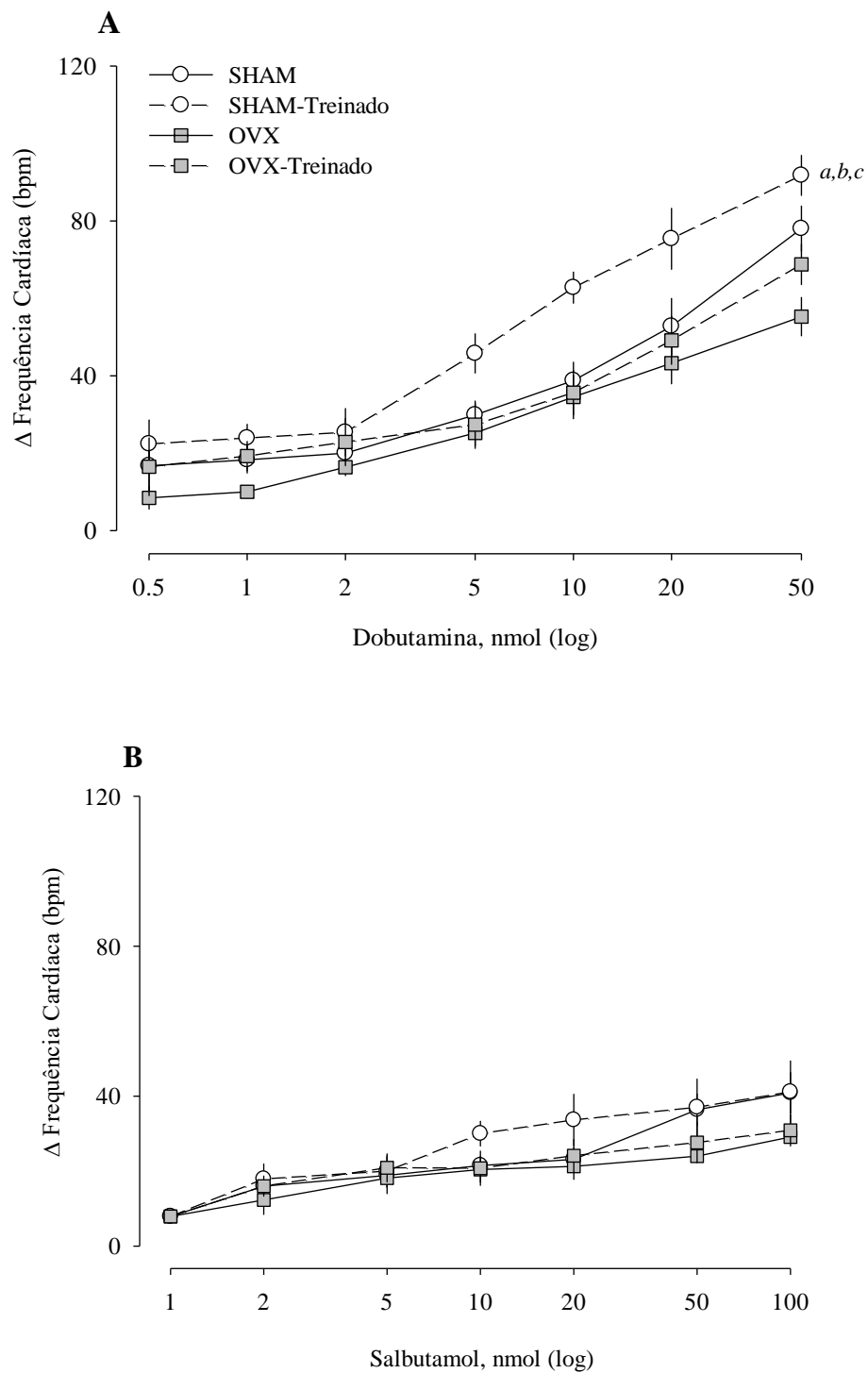


Figura 9. Variações em Δ da Frequência cardíaca obtida em corações isolados (técnica de Langendorff) após doses múltiplas e sequenciais de dobutamina (A) e salbutamol (B) em grupos de ratos SHR SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Todos os valores estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). ^a $p < 0.05$ vs. SHAM sedentário; ^b $p < 0.05$ vs. SHAM treinado; ^c $p < 0.05$ vs. OVX sedentário.

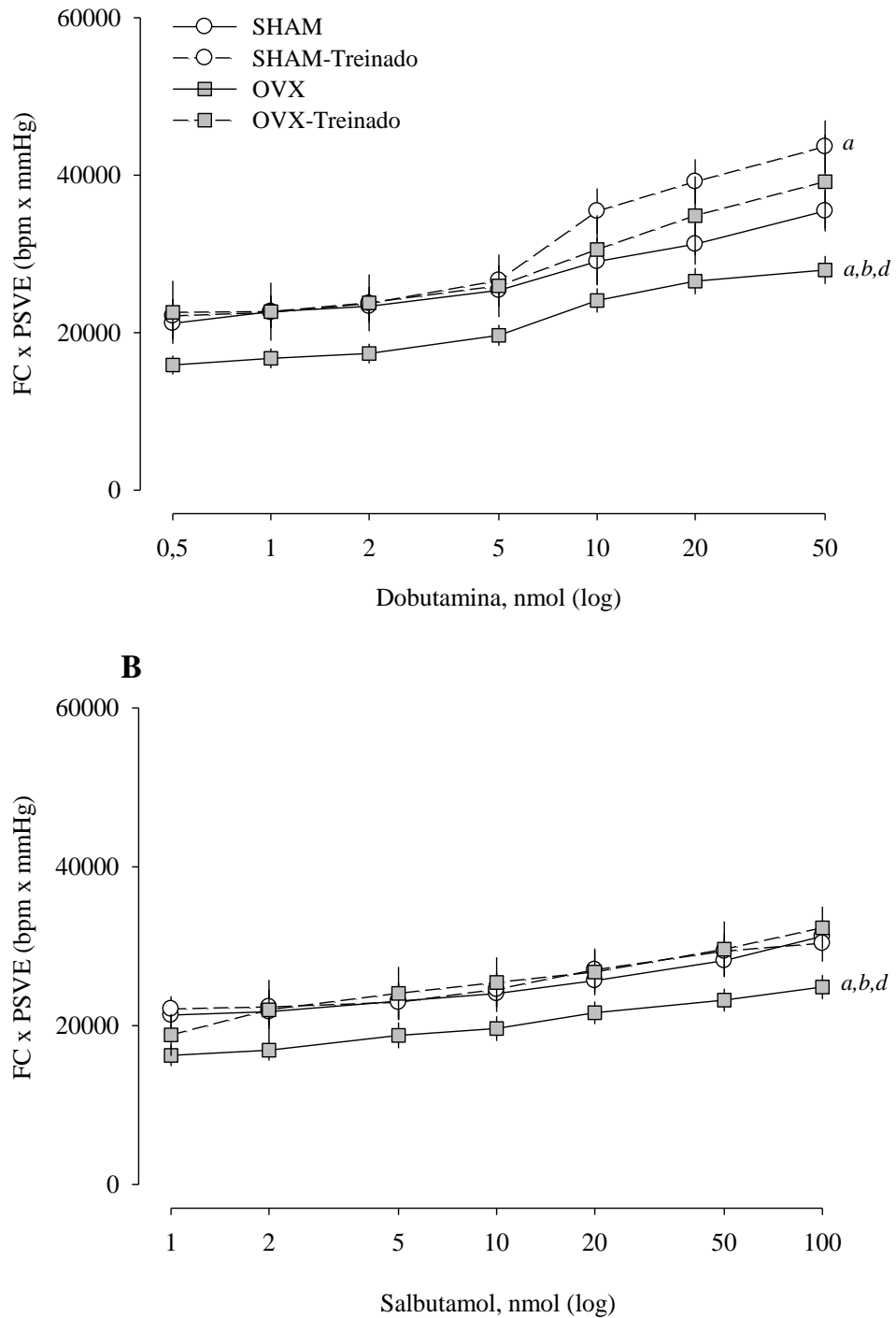


Figura 10: Duplo produto (FC x PSVE) após administração de dobutamina (A) e salbutamol (B) nos grupos SHR SHAM e ovariectomizados (OVX), sedentários e treinados. Todos os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média. ^a $p < 0.05$ vs. SHAM sedentário; ^b $p < 0.05$ vs. SHAM treinado; ^c $p < 0.05$ vs. OVX sedentário.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a privação dos hormônios ovarianos em ratas hipertensas promove aumento do peso corporal, reduz a FC basal e FC intrínseca de marcapasso, entretanto aumenta a influência simpática na determinação da FC basal. A ovariectomia não afetou a reatividade vascular do leito coronariano, no entanto aumentou a contratilidade do ventrículo esquerdo à administração de dobutamina e salbutamol. Por sua vez, o treinamento físico reduziu a PA, a FC basal e a FC intrínseca de marcapasso. Também proporcionou a inversão do balanço autonômico tônico cardíaco favorecendo o componente autonômico vagal independentemente da privação ou não dos hormônios ovarianos. Assim como a ovariectomia, o treinamento físico não afetou a reatividade do leito coronariano, mas proporcionou o aumento na contratilidade do ventrículo esquerdo evidenciada pelo aumento na pressão ventricular esquerda.

Privação dos hormônios ovarianos e parâmetros antropométricos – Papel do treinamento físico aeróbio

Como esperado, os valores de massa corporal dos animais SHR submetidos à retirada dos ovários, estão em consonância com os resultados apresentados em trabalhos efetuados com modelos de animais jovens, onde a privação hormonal ovariana foi realizada precocemente (FELIX et al., 2015; MACDONALD et al., 2017; YEH et al. 2021). Esse acontecimento é justificado pela correlação existente entre os baixos níveis de estrogênio com a diminuição do consumo de energia (LITWAK et al., 2014), a hipertrofia de adipócitos pré-existentes (ABELES et al., 2012), assim como com o acúmulo de gordura no fígado, fenômeno associado ao aumento das vias de síntese de lipídios e diminuição das vias de oxidação da gordura hepática (PAQUETTE et al., 2008; PAQUETTE et al., 2009). Ainda, é importante destacar que esses achados são confirmados também por estudos clínicos onde a ausência de estrogênio tem um efeito significativo no ganho de massa corporal (LIZCANO; GUZMÁN, 2014). Por sua vez, o treinamento físico aeróbio não modificou o peso corporal. Esses resultados estão de acordo com os dados obtidos em outros estudos que utilizaram protocolo de treinamento físico de baixa intensidade (HORTA et al., 2005; MARQUES et al., 2006).

Parâmetros hemodinâmicos

Em relação aos parâmetros hemodinâmicos, não houveram diferenças significativas na pressão arterial entre os animais ovariectomizados e SHAM sedentários. Tal resultado destoa do tradicionalmente reportado na literatura, uma vez que a queda da função ovariana tem sido associada com aumento dos valores pressóricos cardíacos (HINOJOSA-LABORDE et al., 2004; SOUZA et al., 2013). No entanto, uma porção desses estudos não descrevem incrementos da pressão arterial após privação hormonal ovariana (DIAS DA SILVA et al., 2009; DIAS et al., 2010) e outros evidenciam diminuição de seus valores quando a ovariectomia é realizada após interrupção do ciclo estral (10 a 12 meses) ou aos 9 meses, como foi executado neste estudo (LERMAN et al., 2019; RAM; COSTA, 2018; MURTHY; RAM, 2014).

Ainda sobre a PA, o tema privação dos hormônios ovarianos e o aumento da mesma tem sido alvo de debate, uma vez que não está claro se esse aumento da PA é uma resposta decorrente unicamente da redução da ação hormonal ou se envolve outros fatores mais preponderantes, como o envelhecimento (TIKHONOFF et al. 2019). Estudos clínicos longitudinais mostram que a PA não é afetada pela menopausa quando os resultados são ajustados pelos principais fatores de confusão, como a idade e obesidade (CASIGLIA et al. 1996; de KAT et al. 2017; TIKHONOFF et al. 2019).

Por outro lado, o treinamento físico aeróbio durante 14 semanas reduziu sensivelmente a PA em ambos os grupos, SHAM e OVX. A causa desta redução parece envolver diversos mecanismos, como a diminuição da resistência vascular periférica; atenuação da atividade simpática vascular e da sínteses de citocinas pró-inflamatórias; melhorias no mecanismo anti-inflamatório pró-mediada pelo núcleo paraventricular, assim como na função endotelial, caracterizada pelo aumento da síntese de óxido nítrico e redução das espécies reativas de oxigênio (CORNELISSEN; FAGARD, 2005; GRINDLER; SANTORO, 2015; HEGDE; LOAIZA-BETANCUR et al., 2021; SOLOMON, 2015; JIA et al. 2014; ROSSI et al., 2022. SHIMOJO et al., 2018).

Sobre a menor redução da PAD e PAM na 54ª semana de vida do grupo OVX treinado, é importante levar em consideração que os principais mecanismos responsáveis pelo aumento da pressão arterial em ratos SHR são os altos níveis de endotelina, de ácido hidroieicosatetraenoico (20 HETE) e a ativação arterial simpática renal (RAM et al. 2018; LERMAN et al., 2019), fatores que podem ser potencializados pela privação dos hormônios ovarianos. Dessa forma, levanta-se a hipótese que a privação estrogênica por longo período nesses animais, seja uma das razões da atenuação do efeito hipotensor do treinamento aeróbio.

Contudo, há necessidade de maiores investigações em relação a esse fenômeno (TIKHONOFF et al., 2019).

Efeitos sobre o controle autonômico cardiovascular

Com relação ao controle autonômico cardiovascular, os resultados do presente estudo sugerem que o exercício físico pode aumentar a influência do componente autonômico vagal e reduzir a dependência do componente autonômico simpático independentemente da privação hormonal ovariana, como visto em outros estudos, onde o treinamento físico aeróbio proporcionou o aumento do predomínio vagal em animais normotensos (BARBOSA et al., 2013; FELIX et al. 2015; LEMOS et al., 2018; ROSSI et al., 2022; SILVEIRA et al., 2011; TEZINI et al., 2009; TEZINI et al., 2013). A causa dessa maior predominância autonômica vagal parece envolver adaptações induzidas pelo treinamento físico aeróbio em sítios centrais de controle cardiovascular, como núcleos hipotalâmicos, a exemplo dos núcleos paraventricular e supra-óptico, e núcleos localizados no tronco cerebral, como o núcleo do trato solitário e a medula rostral ventrolateral. Essas adaptações tendem a reduzir o drive autonômico simpático para o coração, sendo esta hipótese a mais descrita na literatura afim de justificar tal efeito (DICARLO et al. 2002; MICHELINI; STERN, 2009; ZHENG et al., 2005). De fato, os achados referentes ao controle autonômico cardíaco fortalecem a hipótese de que a privação dos hormônios ovarianos pode promover efeitos deletérios ao controle autonômico cardíaco. Nesse caso, é possível que mesmo os animais que não são ovariectomizados, mas tenham a menopausa fisiológica com o envelhecimento, passem por alterações ovarianas caracterizadas pela produção de andrógenos, hormônio que tem se relacionado com o aumento do componente simpático na pós menopausa (MARANON et al., 2015; NOHARA et al., 2013). É importante salientar que tais mecanismos ainda são incertos e necessitam de maior investigação.

Por fim, o efeito deletério da privação dos hormônios ovarianos sobre a regulação autonômica cardiovascular já foi abordado em diversos estudos, bem como os benefícios induzidos pelo treinamento físico, principalmente sobre o controle autonômico cardíaco (JURCA et al., 2004; IRIGOYEN et al., 2005; TEZINI et al., 2009; FLORES et al., 2010). No presente estudo, observamos que a privação dos hormônios ovarianos prejudica ainda mais o balanço autonômico cardíaco já alterado pela hipertensão, aumentando a dependência do drive simpático cardíaco. Esse achado não é novo e já havíamos observado em estudos anteriores do nosso laboratório. Entretanto, até o momento, nenhum estudo avaliou ou

comparou as consequências autonômicas cardíacas da privação dos hormônios ovarianos associadas à contratilidade cardíaca e reatividade do leito coronariano que de certa forma pode interferir nessa resposta autonômica.

Reatividade do leito coronariano e contratilidade ventricular esquerda

Nesse caso, nosso estudo mostrou que a privação dos hormônios ovarianos por si só não afetou a reatividade do leito coronariano fluxo-dependente. No entanto, a contratilidade cardíaca, avaliada por meio da pressão intraventricular esquerda, parece ser afetada. Isso ficou evidente quando aplicamos o treinamento físico aeróbio nas SHR ovariectomizadas. Nesse caso, enquanto o grupo SHAM apresentou aumentos na pressão ventricular esquerda fluxo-dependente, o grupo OVX treinado não diferiu do seu respectivo grupo não treinado. É como se o treinamento físico aeróbio não causasse qualquer efeito sobre a eficiência da contratilidade ventricular em ratas hipertensas ovariectomizadas. Isso é interessante porque essa resposta não se repetiu quando a dobutamina e o salbutamol foram administrados. Nesse caso, o grupo OVX não treinado apresentou maiores respostas na pressão ventricular esquerda quando comparado com o grupo SHAM não treinado. Esses resultados sugerem uma maior participação do componente autonômico simpático quando os hormônios ovarianos não estão presentes. No entanto, a causa desse achado ainda é incerta e mais estudos deverão ser realizados, inclusive a quantificação dos receptores adrenérgicos cardíacos que provavelmente devem estar alterados, assim como em ratos machos hipertensos (VIEIRA et al., 2022).

Ainda no que concerne à avaliação das propriedades mecânicas ao aumento fluxo-dependente em coração isolado, foi evidenciado que os animais do grupo SHAM treinado apresentaram valores de pressão sistólica e contratilidade do ventrículo esquerdo (dP/dT máx; dP/dT min) superiores aos dos demais grupos. Considerando o anteriormente descrito, é possível inferir que o treinamento físico aeróbio promoveu uma melhor adaptação do ventrículo esquerdo, o que permite maior espectro de força e velocidade de contração, assim como de relaxamento, proporcionando ajuste efetivo a estímulos externos ou ao aumento da demanda metabólica. Entre os possíveis mecanismos que promovem essa adaptação estão, o aumento da expressão de proteínas reguladoras dos processos de captação e recaptação de cálcio intracelular (RyR2; SERCA2a; PLB; trocador Na⁺/Ca²⁺), o favorecimento da biogênese mitocondrial e dos bloqueios das vias apoptóticas cardíacas (CARNEIRO et al 2014; HUANG et al. 2012; LIN et al. 2019; LOCATELLI et al. 2016; YOSHIZAKI et al. 2019).

A análise da sensibilidade dos β -receptores cardíacos, revelou que o exercício físico aeróbio otimizou a suas respostas à administração de dobutamina, cenário este retratado por uma maior pressão sistólica do ventrículo esquerdo, FC e duplo produto. Resultado este, que vai ao encontro aos apresentados por outros autores os quais indicaram que o treinamento aeróbio pode aumentar a sensibilidade desses receptores ao diminuir especificamente os níveis de proteína G cardíaca (GRK2), substância que prejudica seus processos de sinalização e responsividade (FELIX et al. 2015; LEOSCO et al. 2007; LEOSCO et al. 2013; MACDONNELL et al. 2005). Dito isto, o exercício se apresenta como uma ferramenta importante para prevenir prejuízos no sistema adrenérgico cardíaco, o qual é comumente acompanhado de processos de remodelamento ventricular que podem progredir a insuficiência cardíaca (BELL et al. 2004; LEOSCO et al. 2013).

Por fim, as melhorias evidenciadas no funcionamento dos β 1-receptores adrenérgicos, assim como nas propriedades mecânicas do músculo cardíaco dos animais treinados, sugerem que essas adaptações condicionam melhores valores de duplo produto após administração de doses mais elevadas de dobutamina no grupo SHAM treinado. Levando em conta que o duplo produto se relaciona estreitamente com a função ventricular e o consumo de oxigênio no miocárdio, é possível inferir que o exercício aeróbio promove uma adaptação do coração aos estímulos simpaticomiméticos. Contrariamente, o grupo de animais ovariectomizados e sedentários mostraram os menores valores de duplo produto, o qual pode indicar dificuldade do coração para se responder efetivamente aos diferentes níveis de estímulos inotrópicos provocados pelas doses crescentes de dobutamina, resposta que ao ser reproduzida no contexto de uma prova de esforço em humanos é considerada um fator preditor de mortalidade cardiovascular (DOMKA-JOPEK et al., 2018; SADRZADEH et al. 2008; YAZDANI et al. 2020).

6 CONCLUSÃO:

O treinamento aeróbio aplicado em SHR sham e submetidas à privação dos hormônios ovarianos reduziu a PA, aumentou a influência tônica vagal cardíaca e/ou diminuiu a influência simpática, e promoveu uma melhor adaptação do coração aos estímulos simpaticomiméticos. Tais achados sugerem que este tratamento deve ser considerado ainda para atenuar o risco cardiovascular derivado principalmente do aumento no drive simpático e dos prejuízos no sistema adrenérgico cardíaco decorrentes da hipertensão, o envelhecimento, o sedentarismo, assim como da privação estrogênica natural ou tardia, que no presente estudo

induz aumento da massa corporal, alterações autonômicas e menor efetividade no trabalho cardíaco. Por fim, é importante destacar algumas limitações como tivessem permitido complementar nossas conclusões, entre elas, a falta de análises morfológicas, histológicas, quantificação dos receptores adrenérgicos cardíacos, assim como de níveis de catecolaminas plasmáticas que deverão ser consideradas em estudos futuros.

7. REFERÊNCIAS

- ABELES, E. DAS G. et al. Estrogen therapy attenuates adiposity markers in spontaneously hypertensive rats. **Metabolism**, v. 61, n. 8, p. 1100–1107, ago. 2012.
- BABIKER, F. A. et al. 17β -Estradiol Antagonizes Cardiomyocyte Hypertrophy by Autocrine/Paracrine Stimulation of a Guanylyl Cyclase A Receptor-Cyclic Guanosine Monophosphate-Dependent Protein Kinase Pathway. **Circulation**, v. 109, n. 2, p. 269–276, 20 jan. 2004.
- BARBOSA, N.O. et al. Exercise training improves cardiovascular autonomic activity and attenuates renal damage in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Sports Science & Medicine**, v. 12, n. 1, p. 52-9. 1 Mar. 2013.
- BELL, D. et al. Temporal characteristics of cardiomyocyte hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. **Cardiovascular Pathology**, v. 13, n. 2, p. 71–78, mar. 2004.
- BERNARDO, B. C. et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 128, n. 1, p. 191–227, out. 2010.
- BOARDMAN, H. M. et al. Hormone therapy for preventing cardiovascular disease in post-menopausal women. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 10 mar. 2015.
- BUSH, T. L. et al. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: results from the Lipid Research Clinics Program Follow-up Study. **Circulation**, v. 75, n. 6, p. 1102–1109, jun. 1987.
- CABANELAS, L. A. et al. Morfologia dos cardiomiócitos e quantificação do colágeno no miocárdio de ratas tratadas com isoflavonas ou estrogênios. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 34, n. 10, p. 447–452, out. 2012.
- CAGNACCI, A.; VENIER, M. The Controversial History of Hormone Replacement Therapy. **Medicina**, v. 55, n. 9, 18 set. 2019.
- CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Effect of exercise training on Ca^{2+} release units of left ventricular myocytes of spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 11, p. 960–965, 29 ago. 2014.
- CASIGLIA, E. et al. Lack of influence of menopause on blood pressure and cardiovascular risk profile: a 16-year longitudinal study concerning a cohort of 568 women. **Journal of Hypertension**, v. 14, n. 6, p. 729–736, jun. 1996.
- ČELOVSKÁ, D. et al. The Significance of Baroreflex Sensitivity in Hypertensive Subjects with Stroke. **Physiological Research**, p. 537–543, 2010.

- CHENG, S. et al. Blood Pressure Tracking Over the Adult Life Course. **Hypertension**, v. 60, n. 6, p. 1393–1399, dez. 2012.
- CHRIST, M. et al. Hormone replacement in postmenopausal women: impact of progestogens on autonomic tone and blood pressure regulation. **Menopause**, v. 9, n. 2, p. 127–136, mar. 2002.
- CORNELISSENV. A.; FAGARD, R. H. Effects of Endurance Training on Blood Pressure, Blood Pressure–Regulating Mechanisms, and Cardiovascular Risk Factors. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 667–675, out. 2005.
- CORNELISSEN, V. A. et al. Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. **Journal of Human Hypertension**, v. 24, n. 3, p. 175–182, 25 jun. 2009.
- COZZA, I. C. et al. Physical exercise improves cardiac autonomic modulation in hypertensive patients independently of angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment. **Hypertension Research**, v. 35, n. 1, p. 82–87, 29 set. 2011.
- CUTLER, J. A. et al. Trends in Hypertension Prevalence, Awareness, Treatment, and Control Rates in United States Adults Between 1988–1994 and 1999–2004. **Hypertension**, v. 52, n. 5, p. 818–827, nov. 2008.
- DE ANGELIS, K. et al. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 6, p. 2174–2178, jun. 2004.
- DE KAT, A. C. et al. Unraveling the associations of age and menopause with cardiovascular risk factors in a large population-based study. **BMC Medicine**, v. 15, n. 1, 4 jan. 2017.
- DHEIN, S. The Langendorff Heart. **Practical Methods in Cardiovascular Research**. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. p. 155–172.
- DIAS, D. P. M. et al. Ovariectomy does not affect the cardiac sympathovagal balance of female SHR but estradiol does. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 10, p. 969–975, out. 2010.
- DIAS DA SILVA, V. J. et al. Heart rate and arterial pressure variability and baroreflex sensitivity in ovariectomized spontaneously hypertensive rats. **Life Sciences**, v. 84, n. 21-22, p. 719–724, maio 2009.
- DICKSON, M. E.; SIGMUND, C. D. Genetic Basis of Hypertension. **Hypertension**, v. 48, n. 1, p. 14–20, jul. 2006.
- DICARLO, S. E. et al. Daily exercise normalizes the number of diaphorase (NOS) positive neurons in the hypothalamus of hypertensive rats. **Brain Research**, v. 955, n. 1-2, p. 153–160, nov. 2002.

- DOĞRU, M.T. et al. Differences in autonomic activity in individuals with optimal, normal, and high-normal blood pressure levels. **Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi**, v.38, n.3, p. 182-188, 2010.
- DOMKA-JOPEK, E. et al. The Importance of the Double Product in the Six-Minute Walk Test to Predict Myocardial Function. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–9, 4 jul. 2018.
- DUTRA, S. G. V. et al. Cardiac Autonomic Modulation Is Determined by Gender and Is Independent of Aerobic Physical Capacity in Healthy Subjects. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, p. e77092, 3 out. 2013.
- VAN EICKELS, M. et al. 17beta-estradiol attenuates the development of pressure-overload hypertrophy. **Circulation**, v. 104, n. 12, p. 1419–1423, 18 set. 2001.
- EL-MAS, M. M.; ABDEL-RAHMAN, A. A. Longitudinal assessment of the effects of oestrogen on blood pressure and cardiovascular autonomic activity in female rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, n. 10, p. 1002–1009, out. 2009.
- ESLER, M. Sympathetic nervous system and insulin resistance: from obesity to diabetes. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n. 11, p. S304–S309, nov. 2001.
- FELIX, A. C. S. et al. Aerobic physical training increases contractile response and reduces cardiac fibrosis in rats subjected to early ovarian hormone deprivation. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 10, p. 1276–1285, 15 maio 2015.
- FELIX, A. C. S. et al. Early ovarian hormone deprivation increases cardiac contractility in old female rats—Role of physical training. **Autonomic Neuroscience**, v. 218, p. 1–9, maio 2019.
- FORJAZ, C. L. DE M. et al. A duração do exercício determina a magnitude e a duração da hipotensão pós-exercício. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, n. 2, p. 99–104, fev. 1998.
- GHOLIZADEH, L.; DAVIDSON, P. More Similarities Than Differences: An International Comparison of CVD Mortality and Risk Factors in Women. **Health Care for Women International**, v. 29, n. 1, p. 3–22, 28 dez. 2007.
- GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 130, n. 1, p. 21–27, ago. 2001.
- GORDON, T. et al. Menopause and Coronary Heart Disease. **Annals of Internal Medicine**, v. 89, n. 2, p. 157, 1 ago. 1978.
- GRINDLER, N. M.; SANTORO, N. F. Menopause and exercise. **Menopause**, v. 22, n. 12, p. 1351–1358, dez. 2015.

- GRODSTEIN, F. et al. Postmenopausal Hormone Therapy and Mortality. **New England Journal of Medicine**, v. 336, n. 25, p. 1769–1776, 19 jun. 1997.
- HARMAN, S. et al. KEEPS: The Kronos Early Estrogen Prevention Study. **Climacteric**, v. 8, n. 1, p. 3–12, mar. 2005.
- HAINES, C. D.; HARVEY, P. A.; LEINWAND, L. A. Estrogens mediate cardiac hypertrophy in a stimulus-dependent manner. **Endocrinology**, v. 153, n. 9, p. 4480–4490, 1 set. 2012.
- HEGDE, S. M.; SOLOMON, S. D. Influence of Physical Activity on Hypertension and Cardiac Structure and Function. **Current Hypertension Reports**, v. 17, n. 10, 2015.
- HINOJOSA-LABORDE, C. et al. Ovariectomy Augments Hypertension in Aging Female Dahl Salt-Sensitive Rats. **Hypertension**, v. 44, n. 4, p. 405–409, out. 2004.
- HUANG, C.-Y. et al. Anti-apoptotic and pro-survival effects of exercise training on hypertensive hearts. **Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 5, p. 883–891, 1 mar. 2012.
- HUIKURI, H. V. et al. Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects. **Circulation**, v. 94, n. 2, p. 122–125, 15 jul. 1996.
- HULLEY, S. Randomized Trial of Estrogen Plus Progestin for Secondary Prevention of Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. **JAMA**, v. 280, n. 7, p. 605, 19 ago. 1998.
- HUSAIN, K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. **Pathophysiology**, v. 10, n. 1, p. 47–56, dez. 2003.
- JESSUP, M.; BROZENA, S. Heart Failure. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 20, p. 2007–2018, 15 maio 2003.
- JESSUP, J. A. et al. Estrogen therapy, independent of timing, improves cardiac structure and function in oophorectomized mRen2.Lewis rats. **Menopause**, v. 20, n. 8, p. 860–868, ago. 2013.
- JIA, L.-L. et al. Exercise Training Attenuates Hypertension and Cardiac Hypertrophy by Modulating Neurotransmitters and Cytokines in Hypothalamic Paraventricular Nucleus. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e85481, 17 jan. 2014.
- KHAN, N. A. et al. The 2008 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: Part 2 – therapy. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 24, n. 6, p. 465–475, jun. 2008.
- KANNEL, W. B. Menopause and Risk of Cardiovascular Disease. **Annals of Internal Medicine**, v. 85, n. 4, p. 447, 1 out. 1976.

- KEARNEY, P. M. et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **The Lancet**, v. 365, n. 9455, p. 217–223, jan. 2005.
- KHARAZMI, E.; FALLAH, M.; LUOTO, R. Cardiovascular diseases attributable to hysterectomy: a population-based study. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 86, n. 12, p. 1476–1483, jan. 2007.
- KURU, O. et al. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. **European Journal of Applied Physiology**, v. 87, n. 2, p. 134–140, 1 jun. 2002.
- LA VECCHIA, C. et al. Menstrual and reproductive factors and the risk of myocardial infarction in women under fifty-five years of age. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 157, n. 5, p. 1108–1112, nov. 1987.
- LEHNEN, A. M. et al. Exercise-stimulated GLUT4 Expression is Similar in Normotensive and Hypertensive Rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 43, n. 04, p. 231–235, 17 fev. 2011.
- LEMOS, M. DE P. et al. Exercise Training Attenuates Sympathetic Activity and Improves Morphometry of Splenic Arterioles in Spontaneously Hipertensive Rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 3, p. 263-269. 2018.
- LEOSCO, D. et al. Effects of exercise training on cardiovascular adrenergic system. **Frontiers in Physiology**, v. 4, p. 348, 28 Nov. 2013.
- LEOSCO, D. et al. Exercise training and β -blocker treatment ameliorate age-dependent impairment of β -adrenergic receptor signaling and enhance cardiac responsiveness to adrenergic stimulation. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 293, n. 3, p. H1596–H1603, set. 2007.
- LERMAN, L. O. et al. Animal Models of Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Hypertension**, v. 73, n. 6, jun. 2019.
- LIN, Y.-Y. et al. Antiapoptotic and mitochondrial biogenetic effects of exercise training on ovariectomized hypertensive rat hearts. **Journal of Applied Physiology**, v. 126, n. 6, p. 1661–1672, 1 jun. 2019.
- LITWAK, S. A. et al. Estradiol Prevents Fat Accumulation and Overcomes Leptin Resistance in Female High-Fat Diet Mice. **Endocrinology**, v. 155, n. 11, p. 4447–4460, 1 nov. 2014.
- LIU, C. C.; KUO, T. B. J.; YANG, C. C. H. Effects of estrogen on gender-related autonomic differences in humans. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, n. 5, p. H2188–H2193, nov. 2003.
- LIZCANO, F.; GUZMÁN, G. Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

- LOAIZA-BETANCUR, A. F. et al. The effect of exercise training on blood pressure in menopause and postmenopausal women: A systematic review of randomized controlled trials. **Maturitas**, v. 149, p. 40–55, jul. 2021.
- LOCATELLI, J. et al. Swim training attenuates the adverse remodeling of LV structural and mechanical properties in the early compensated phase of hypertension. **Life Sciences**, v. 187, p. 42–49, out. 2017.
- MAIDA, K. D. et al. Physical training associated with Enalapril but not to Losartan, results in better cardiovascular autonomic effects. **Autonomic Neuroscience**, v. 203, p. 33–40, mar. 2017.
- MANFREDINI, F. et al. Sport Therapy for Hypertension: Why, how, and how Much? **Angiology**, v. 60, n. 2, p. 207–216, 15 set. 2008.
- MANSON, J. E. et al. Menopausal hormone therapy and health outcomes during the intervention and extended poststopping phases of the Women’s Health Initiative randomized trials. **JAMA**, v. 310, n. 13, p. 1353–68, 2013.
- MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4A, p. 609–614, 1 nov. 2002.
- MARIC-BILKAN, C.; GILBERT, E. L.; RYAN, M. J. Impact of ovarian function on cardiovascular health in women: focus on hypertension. **International Journal of Women’s Health**, p. 131, jan. 2014.
- MACDONALD, T. L. et al. Estradiol does not directly regulate adipose lipolysis. **Adipocyte**, v. 6, n. 2, p. 76–86, 27 jan. 2017.
- MACDONNELL, S. M. et al. Improved Myocardial β -Adrenergic Responsiveness and Signaling With Exercise Training in Hypertension. **Circulation**, v. 111, n. 25, p. 3420–3428, 28 jun. 2005.
- MARANON, R. et al. Roles for the sympathetic nervous system, renal nerves, and CNS melanocortin-4 receptor in the elevated blood pressure in hyperandrogenemic female rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 308, n. 8, p. R708–R713, 15 abr. 2015.
- MARQUES, C. M. M. et al. Exercise training attenuates cardiovascular adverse remodeling in adult ovariectomized spontaneously hypertensive rats. **Menopause**, v. 13, n. 1, p. 87–95, jan. 2006.

- MICHELINI, L. C.; STERN, J. E. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. **Experimental Physiology**, v. 94, n. 9, p. 947–960, 14 ago. 2009.
- MOSCA, L. et al. Waist Circumference Predicts Cardiometabolic and Global Framingham Risk among Women Screened during National Woman's Heart Day. **Journal of Women's Health**, v. 15, n. 1, p. 24–34, jan. 2006.
- MURTHY, M.; RAM, J. L. Invertebrates as model organisms for research on aging biology. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 59, n. sup1, p. 1–4, 9 dez. 2014.
- NOHARA, K. et al. Developmental androgen excess programs sympathetic tone and adipose tissue dysfunction and predisposes to a cardiometabolic syndrome in female mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 304, n. 12, p. E1321–E1330, 15 jun. 2013.
- PAIGEL, A. S. et al. Myocardial contractility is preserved early but reduced late after ovariectomy in young female rats. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 9, n. 1, 23 abr. 2011.
- PAQUETTE, A. et al. Effects of ovariectomy on PPAR α , SREBP-1c, and SCD-1 gene expression in the rat liver. **Menopause**, v. 15, n. 6, p. 1169–1175, dez. 2008.
- PAQUETTE, A. et al. Fatty Acid Oxidation is Decreased in the Liver of Ovariectomized Rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 41, n. 07, p. 511–515, 24 fev. 2009.
- PEDRAM, A. et al. Estrogen Receptor- β Prevents Cardiac Fibrosis. **Molecular Endocrinology**, v. 24, n. 11, p. 2152–2165, 1 nov. 2010.
- PHILBOIS, S. V. et al. Important differences between hypertensive middle-aged women and men in cardiovascular autonomic control—a critical appraisal. **Biology of Sex Differences**, v. 12, n. 1, 11 jan. 2021.
- PRAKASH, E. S.; SETHURAMAN, K. R.; NARAYAN, S. K. Cardiovascular autonomic regulation in subjects with normal blood pressure, high-normal blood pressure and recent-onset hypertension. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 32, n. 5-6, p. 488–494, maio 2005.
- RAM, J.L.; COSTA, A.J. Invertebrates as Model Organisms for Research on Aging Biology. In *Conn's Handbook of Models for Human Aging*; Academic Press: London, UK, 2018; pp. 445–452.
- REDFIELD, M. M. et al. Burden of Systolic and Diastolic Ventricular Dysfunction in the Community. **JAMA**, v. 289, n. 2, p. 194, 8 jan. 2003.

- REGITZ-ZAGROSEK, V.; LEHMKUHL, E.; WEICKERT, M. O. Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. **Clinical Research in Cardiology**, v. 95, n. 3, p. 136–147, 30 jan. 2006.
- ROSSI, B. R. O. et al. O exercício físico atenua o déficit autonômico cardíaco induzido pelo bloqueio da síntese do óxido nítrico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, n. 1, p. 31–38, jan. 2009.
- ROSSI, B. R. O. et al. Role of aerobic physical training on cardiac autonomic and morphophysiological dysfunction in hypertensive rats subjected to ovarian hormone deprivation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 55, 2022.
- ROSSOUW, J.E. et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. **JAMA**. v. 288(3), p. 321-333, 2002.
- SÁNCHEZ-DELGADO, J. C. et al. Combined effect of physical exercise and hormone replacement therapy on cardiovascular and metabolic health in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 56, 2023.
- SÁNCHEZ-DELGADO, J. C. et al. Physical Exercise Effects on Cardiovascular Autonomic Modulation in Postmenopausal Women—A Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 2207, 26 jan. 2023.
- SADRZADEH, R.A.H. et al. Prognostic value of double product reserve. **European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 15, n. 5, p. 541–547, out. 2008.
- SHIMOJO, G. L. et al. Combined Aerobic and Resistance Exercise Training Improve Hypertension Associated With Menopause. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 29 out. 2018.
- SILVEIRA, L. C. R. et al. Comparison of the effects of aerobic and resistance training on cardiac autonomic adaptations in ovariectomized rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 162, n. 1-2, p. 35–41, jul. 2011.
- SKRZYPIEC-SPRING, M. et al. Isolated heart perfusion according to Langendorff—Still viable in the new millennium. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 55, n. 2, p. 113–126, mar. 2007.
- SOUZA, H. Autonomic Cardiovascular Damage during Post-menopause: the Role of Physical Training. **Aging and Disease**, v. 4, n. 6, p. 320–328, 1 dez. 2013.
- TADDEI, S. Blood pressure through aging and menopause. **Climacteric**, v. 12, n. sup1, p. 36–40, jan. 2009.

TEZINI, G. C. S. V. et al. Ageing is the main determinant of haemodynamics and autonomic cardiac changes observed in post-menopausal female rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 174, n. 1-2, p. 36–41, mar. 2013.

TEZINI, G. C. S. V. et al. The effect of ovariectomy on cardiac autonomic control in rats submitted to aerobic physical training. **Autonomic Neuroscience**, v. 143, n. 1-2, p. 5–11, dez. 2008.

THE WRITING GROUP FOR THE PEPI TRIAL. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. **JAMA**, v. 203(3), p. 199-208, 1995.

TIKHONOFF, V. et al. The uncertain effect of menopause on blood pressure. **Journal of Human Hypertension**, v. 33, n. 6, p. 421–428, 21 mar. 2019.

UTIAN, W. H. Biosynthesis and physiologic effects of estrogen and pathophysiologic effects of estrogen deficiency: A review. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 161, n. 6, p. 1828–1831, dez. 1989.

VAN DER GRAAF, Y.; DE KLEIJN, M. J. J.; SCHOUW, Y. T. VAN DER. Menopause and cardiovascular disease. **Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology**, v. 18, n. 2, p. 113–120, jan. 1997.

WHELTON, P. K. Primary Prevention of Hypertension Clinical and Public Health Advisory From the National High Blood Pressure Education Program. **JAMA**, v. 288, n. 15, p. 1882, 16 out. 2002.

WINDLER, E. et al. Hormone replacement therapy and risk for coronary heart disease. **Maturitas**, v. 57, n. 3, p. 239–246, jul. 2007.

YAZDANI, B. et al. Association of double product and pulse pressure with cardiovascular and all-cause mortality in the LURIC study. **Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 22, n. 12, p. 2332–2342, 1 dez. 2020.

YEH, J.-H. et al. Effects of Dietary Fatty Acid Composition on Lipid Metabolism and Body Fat Accumulation in Ovariectomized Rats. **Nutrients**, v. 13, n. 6, p. 2022, 11 jun. 2021.

YOSHIZAKI, A. et al. Swimming Training Improves Myocardial Mechanics, Prevents Fibrosis, and Alters Expression of Ca²⁺ Handling Proteins in Older Rats. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 73, n. 4, p. 468–474, 15 dez. 2017.999

ZHAO, Z. et al. Role of estrogen in diastolic dysfunction. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 306, n. 5, p. H628–H640, 1 mar. 2014.

ZHENG, H. et al. Exercise training improves endogenous nitric oxide mechanisms within the paraventricular nucleus in rats with heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 5, p. H2332–H2341, maio 2005.