Cesar Cavinato Cal Abad

Efeitos do treinamento físico contínuo ou intervalado em um modelo experimental de dislipidemia e isquemia miocárdica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia.
Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia Costa Irigoyen

São Paulo
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Abad, Cesar Cavinato Cal

Efeitos do treinamento físico contínuo ou intervalado em um modelo experimental de dislipidemia e isquemia miocárdica / Cesar Cavinato Cal Abad. -- São Paulo, 2013.

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

Orientadora: Maria Claudia Costa Irigoyen.

Descritores: 1. Educação física e treinamento 2.Infarto do miocárdio/fisiopatologia 3.Camundongos *knockout*/genética 4.Dislipidemias/metabolismo 5.Isquemia miocárdica 6.Esforço físico 7.Modelos animais de doença 8.Doenças cardiovasculares/prevenção & controle 9.Exercício

USP/FM/DBD-109/13

DEDICATÓRIA

À Deus
pelo dom da vida que é
a maior viagem de todas.

À minha família;
Avós, Pais, Irmã, Primos e Tios.

À minha Esposa,
Sem seu amor e apoio seria impossível

Ao Guilherme e à Mirela,
pelo simples presente de ser pai de vocês.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe pelo exemplo, amor incondicional por minha vida e pelo esforço imensurável para moldar meu caráter e educar a mim e minha irmã com valores morais.

A meu pai por ensinar que a vida não precisa ser tão séria, mas que cada escolha traz uma consequência.

À minha esposa e filhos pela compreensão nos momentos em que precisei me ausentar de vocês.

A todos os meus Professores pela influência positiva na escolha da profissão e pela inspiração em seguir a carreira de Docente e Pesquisador. Em especial ao Wilson Padula, Ciro Bonati, Fernando Roberto de Oliveira, Jorge Perrout, Aylton Figueira Júnior, Luis Carlos de Oliveira, Hairton Cabral, Sergio Maroneze, Georgios Hatzidakis e Nestor Públio.

Ao colega de turma da graduação e amigo Luis Roberto Pontes pelo incentivo e pela paciência e fé por minha vida.

À Patrícia Martins Franciulli por abrir me apresentar ao Laboratório do Movimento Humano da USJT e aos colegas Juliana, Marcelo, Márcio, Koike, Iris, Nathalia, Janaina e Michelle pelo convívio antes do início deste projeto. Aos docentes Profa. Dra. Kátia De Angelis e Prof. Dr. Rogério Wichi pela recepção, encorajamento, conselhos e auxílio até que este projeto se tornasse realidade.

À Profa. Dra. Maria Claudia Irigoyen pelo acolhimento, pelo aceite de orientação deste projeto, pela oportunidade de convívio e aprendizado diário, pelo exemplo e inspiração profissionais e pela paciência que sempre teve comigo.

Aos colegas do laboratório Georgia, Karin,Aline, Janaina, Cristiane, Luciana, Bruno, Ivana, Raquel, Paula, Janaina, Michelle, Fernando, Jacqueline, Oscar, João, Katia, Mariana, Suelen, Mariana, Silvia, Fabio, Mazzucato, Alexandre, Natália que compartilharam parte de seu tempo e conhecimento me ensinando tudo que eu precisava. Em especial pelo Diego e Raquel pela ajuda no ecocardiograma e à Pamella pelo apoio na histoquímica e no comprometimento com o projeto até a confecção final da tese.

A Profa. Hanna Karin Moreira Antunes da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM) e seus orientandos Helton de Sá, Sara Quaglia e Murilo Dáttilo pela amizade, colaboração, apoio e disponibilização do espaço para a realização da técnica de histoquímica. A energia positiva EPMista fez a diferença nos resultados!

Aos funcionários da Divisão de Experimentação Animal: Ailton João Bezerra, Anderson de Oliveira Brisquilhari, Annelise Casagrande da Silva, Dario Ribeiro, Edna Aparecida Diniz Paulo, Eduardo Alves Campos, Elenie França Lucas, Hugo Rodrigues Silva Paz, Liliane Moreira Ruiz, Monica Nunes Bizerra, Natalia Aparecida Nepomuceno, Nelson Correia Junior, Pedro Noiri Brisquilhari, Richard Barbosa da Silva, Simone Vaz Fernandes; Suelen Cristina Russafa, Sueli da Silva, Vicente Ribeiro do Nascimento pelo excelente e amigável convívio que mantivemos durante a execução deste trabalho.

À técnica em Pesquisa, Isabel Lameirinhas pelo excelente auxílio e apoio quanto aos quesitos burocráticos, pedidos de material de consumo, preenchimento de formulários e prestação de contas.

Aos técnicos do laboratório. Roberto, pela recepção desde a minha chegada ao Laboratório, ao Maikon por toda ajuda durante os registros hemodinâmicos e pelo convívio ao longo desta jornada e ao Mestre de todos, Sr. Edson Dias Moreira pela história de vida, inspiração e exemplo profissional na forma de conduzir seus experimentos do laboratório. Para o bem da Ciência, ainda bem que a música não lhe rendeu nada....

Ao técnico, Márcio Chaves da Histologia do Laboratório de Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do InCor-HCFMUSP pela ajuda e ensinamento compartilhado para o preparo das lâminas para imunohistoquímica.

Ao grande amigo Ademir Manoel do Nascimento (Dudu) pelo suporte e esforço descomunal feito por ele durante toda a execução deste projeto. Você é o cara!

Ao Mirailton Alves dos Santos (Marcelinho) pela ajuda nos momentos finais da tese.

Ao Leandro Ezequiel de Souza, que sem o talento divino de suas mãos este projeto não existiria. Parabéns pela forma brilhante como conduz suas cirurgias!

Ao AMIGO/IRMÃO Cristiano Teixeira Mostarda pelo conhecimento compartilhado na elaboração deste trabalho e pela oportunidade de deixar-me absorver parte de sua imensa sabedoria.

Aos amigos de Núcleo de Alto Rendimento do Grupo Pão de Açúcar (NAR/GPA) Salo, Ronaldo, Capuano e Michel por acompanharem e compartilharem os momentos felizes e de agonia durante a confecção da tese.

Um agradecimento especial ao Diretor Técnico do Núcleo de Alto Rendimento do Grupo Pão de Açúcar (NAR/GPA) Irineu Loturco Filho e à Gerente Administrativa

Dafani Dáfani de Figueiredo Loturco pela paciência, compreensão e incentivo incondicional para que este projeto fosse finalizado.

Aos diretores da UNIBAN-Anhanguera: Prof. Nélio e Julio por me concederem o afastamento para que a conclusão deste trabalho fosse possível.

A Profa. Dra. Flavia Liba, Coordenadora do Curso de Educação Física da UNIBAN-Anhanguera, pela compreensão e socorro profissional na hora em que mais precisei.

Aos docentes e pesquisadores do LIM-10 (Laboratório de Lípides da Faculdade de Medicina) que, compartilhando suas experiências, me permitiram pegar alguns atalhos. Em especial à Fernanda pela paciência e domínio nas análises laboratoriais das lípides e ao Prof. Dr. Sergio Catanozi pela excelência na coleta de material e pelo exemplo de pessoa e profissional no trato com a Ciência.

À Profa. Dra. Silvia Lacchini e suas alunas Thais e Juliana do Laboratório de Disfunções Metabólicas do Departamento de Anatomia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, em especial à Cintia Taniguti pelo árduo trabalho em me ensinar a fazer a imunohistoquímica.

Às secretárias do Programa de Pós Graduação da Cardiologia do Instituto do Coração da Universidade de São Paulo Juliana Lattari Sobrinho, Tatiane Lago dos Santos e Neusa Neusa Rodrigues Dini.

Aos docentes e pesquisadores do Programa de Pós Graduação da Cardiologia do Instituto do Coração da Universidade de São Paulo que me proporcionaram, além do conhecimento, inspiração para trilhar minha carreira. O conhecimento absorvido pelo convívio com você é maior do que qualquer Título.

Às Bibliotecárias Valéria Vilhena e Suely Campos Cardoso pela na elaboração do “Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias” que nos auxilia demasiadamente a confeccionar o documento e também pela paciência, excelência, cuidado na forma de nos tratar e, é claro, pelo brilhantismo na forma como elaboraram a ficha catalográfica do presente material.

Ao CnPq pelo apoio financeiro durante a execução deste trabalho.

Aos meus alunos e ex-alunos que, mesmo sem imaginarem, colaboram para o meu crescimento obrigando-me a aprender a cada aula ministrada.

A todos aqueles que mesmo não estando citados aqui fizeram ou fazem parte da minha vida acadêmica e torcem ou contribuem para o meu progresso pessoal e profissional.

Só estamos começando...

EPÍGRAFE

Além de ser sábio, o mestre também ensinou conhecimento ao povo. Ele escutou, examinou e colecionou muitos provérbios. Procurou também encontrar as palavras certas, e o que ele escreveu era reto e verdadeiro.

As palavras dos sábios são como aguilhões, a coleção dos seus ditos como pregos bem fixados, provenientes do único Pastor. Cuidado, meu filho; nada acrescente a eles.

Não há limite para a produção de livros, e estudar demais deixa exausto o corpo.

Agora que já se ouviu tudo, aqui está a conclusão:

Tema a Deus e obedeça aos seus mandamentos, porque isso é o essencial para o homem. Pois Deus trará a julgamento tudo o que foi feito, inclusive tudo o que está escondido, seja bom, seja mau.

Eclesiástes 12:9-14

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

- Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)*

- Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.* Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

- Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus.*

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Estilo de vida e Doenças Cardiovasculares	4
2.2 Aterosclerose	5
2.3 Infarto do Miocárdio	6
2.4 Utilização de Experimentação Animal	7
2.5 Treinamento Físico e Infarto do Miocárdio	9
3. JUSTIFICATIVA	12
4. OBJETIVOS	13
5. MATERIAIS E MÉTODOS	14
5.1 Animais	14
5.2 Grupos Experimentais	15
5.3 Sequência Experimental	15
5.4 Peso Corporal	17
5.5 Infarto do miocárdio	17

5.6 Ecocardiograma 18

5.7 Adaptação à esteira e teste máximo 19

5.8 Prescrição do treino 20

5.9 Canulação 21

5.10 Registro hemodinâmico 22

5.11 Avaliação da modulação autonômica 23

5.11.1 Variabilidade da frequência cardíaca 23

5.11.2 Variabilidade da pressão arterial 23

5.12 Determinação das concentrações sanguíneas de lipídeos circulantes 24

5.13 Eutanásia 24

5.14 Determinação do Fenótipo, Área de Secção Transversa (AST) e Razão Capilar-Fibra do Músculo Esquelético Sóleo. 24

6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO 27

7. RESULTADOS 28

7.1 Parte I – Diferença entre WT e LDL 28

7.1.1Avaliações metabólicas 28

7.1.2 Teste de Esforço 32

7.1.3 Avaliações Ecocardiográficas 33

7.1.4 Avaliações Hemodinâmicas 34

7.1.5 Avaliações Autonômicas 35

7.1.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca 35

7.1.5.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice alfa 38

7.1.6 Avaliação das Fibras Musculares 39

7.2 -Parte II – Efeito do IM nos grupos WT e LDL. 41

7.2.1 Avaliações metabólicas 41

7.2.2 Teste de Esforço. 42

7.2.3 Avaliações Ecocardiográficas 44

7.2.4 Avaliações hemodinâmicas 46

7.2.5 Avaliações Autonômicas 47

7.2.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca 47

7.2.5.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice alfa 48

7.2.6 Avaliação das Fibras Musculares 52

7.3 Parte III – Efeito do treinamento contínuo ou intervalado nos grupos WT e LDL infartados 54

7.3.1 Avaliações metabólicas 54

7.3.2 Teste de Esforço 55

7.3.3 Avaliação Ecocardiográfica 56

7.3.4 Avaliação Hemodinâmica 57

7.3.5 Avaliação Autonômica 59

7.3.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca 59

7.3.5.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice Alfa 62

7.3.6 Avaliação das Fibras Musculares 64

7.3.7 Avaliações Metabólicas 66

7.3.8 Teste de Esforço 69

7.3.9 Avaliação ecocardiográfica 70

7.3.10 Avaliação Hemodinâmica 71

7.3.11 Avaliação Autonômica 72

7.3.11.1. Variabilidade da Frequência Cardíaca 72

7.3.11.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice Alfa 74

7.3.12 Avaliação das Fibras Musculares 75

8 **DISCUSSÃO** 77

8.1 - PARTE I – Efeitos do knockout do receptor LDL 77

8.2 PARTE II – Efeitos do infarto do miocárdio 80

8.3 PARTE III – Efeitos do treinamento físico contínuo ou intervalado no infarto do miocárdio 84

9 CONCLUSÃO 92

10. REFERÊNCIAS 93

RESUMO

Abad CCC. Efeitos do treinamento físico contínuo ou intervalado em um modelo experimental de dislipidemia e isquemia miocárdica [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

O infarto do miocárdio (IM) é a doença cardiovascular que mais causa morte e invalidez em todo o mundo. O uso de animais experimentais tem auxiliado a compreender melhor a fisiopatologia e as formas de tratamento do IM. Sabendo que as dislipidemias estão associadas com o IM e que o treinamento físico pode ser prescrito para prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, no presente trabalho, investigamos os efeitos de dois tipos de treinamentos físicos em um modelo experimental de dislipidemia e isquemia miocárdica. Camundongos selvagens (WT) e *knockout* para o receptor LDL (LDL-/-) foram divididos em oito grupos: a) LDLr-/- sedentário (LDL-S); b) LDLr-/- infartado sedentário (LDL-IM-S); c) LDLr-/- infartado submetido a treinamento contínuo (LDL-IM-C); d) LDLr-/- infartado submetido a treinamento intervalado (LDL-IM-I); e) WT sedentário (WT-S); f) WT infartado sedentário (WT-IM-S); g) WT infartado submetido a treinamento contínuo (WT-IM-C); h) WT infartado submetido a treinamento intervalado (WT-IM-I). Após 60 dias da ligadura da artéria coronária descendente, o treino contínuo constou de corrida a 60% do máximo e o intervalado de 8 tiros de 4min a 80% do máximo e recuperação de 4min a 40% do máximo. Nos animais WT infartados, ambos os treinamentos aumentaram a tolerância ao esforço e provocaram diminuição do balanço simpato-vagal e aumento do índice alfa em magnitudes semelhantes. O treinamento intervalado reduziu o número de fibras do tipo II em relação aos grupos WT-S e WT-IM-C, bem como reduziu a quantidade de fibras do tipo II-X em relação aos WT-S. A área de secção transversa das fibras do tipo I foi maior no grupo WT-IM-I do que no WT-IM-S e WT-S. A razão capilar/fibra foi maior nos animais do grupo WT-I do que no WT-S. A fração de ejeção e a fração de encurtamento foi menor no grupo LDL-IM-I em relação aos demais, mas sem diferenças entre os grupos WT-S, WT-IM-C e WT-IM-I. Nos animais LDL-/-, o LDL foi maior e o VLDL menor no grupo LDL-IM-C em relação aos demais. O HDLtg(%) foi superior no LDL-C em relação ao LDL-S. O HDLc (mg e %) do LDL-IM-I foi maior que o do grupo LDL-IM-C, sendo que o HDLc (mg) do LDL-IM-I foi, ainda maior do que o grupo LDL-S. O triglicérides total foi menor no grupo LDL-IM-C do que no LDL-S. Somente o grupo LDL-IM-I diminuiu a FC de repouso em relação ao grupo LDL-IM-S. A PA diastólica foi menor no grupo LDL-IM-S em relação ao LDL-S, enquanto que o grupo LDL-IM-I apresentou PA diastólica maior do que o grupo LDL-IM-C. A variância do intervalo de pulso foi maior no grupo LDL-S somente em relação ao grupo LDL-IM-I. Em conjunto nossos resultados demonstraram que os animais LDL possuem diferenças funcionais e fisiológicas importantes em relação ao WT, especialmente na morfologia muscular, na hemodinâmica e no controle autonômico. Que o IM acarretou prejuízos em ambas as linhagens investigadas e que os dois tipos de TF atenuaram semelhantemente esses prejuízos em grande parte das variáveis analisadas.

Descritores: Educação física e treinamento; Infarto do miocárdio/fisiopatologia; Camundongos *knockout*/genética; Dislipidemias/metabolismo; Isquemia miocárdica; Esforço físico; Modelos animais de doença; Doenças cardiovasculares/prevenção & controle; Exercício.

ABSTRACT

Abad CCC. Effects of continuous or interval physical training on an experimental model of dyslipidemia and myocardial ischemia [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2013.

Myocardial infarction (MI) is a major cause of death and disability worldwide. The use of experimental animals has supported to better understand the pathophysiology and treatment forms of myocardial infarction (MI). Knowing that the dyslipidemia associated with IM and that physical training can be prescribed for prevention and treatment of cardiovascular diseases, the present study investigated the effects of two types of physical training on an experimental model of dyslipidemia and myocardial ischemia. Wild mice (WT) and LDL receptor knockout (LDL-/-) were divided into eight groups: a) LDLr-/- sedentary (LDL-S), b) LDLr-/- myocardium infarction sedentary (LDL-MI-S), c) LDLr-/- myocardium infarction submitted to continuous training (LDL-MI-C), d) LDLr-/- myocardium infarction submitted to interval training (LDL-MI-I), e) sedentary WT (WT-S); f) WT myocardium infarction sedentary (WT-MI-S); g) WT myocardium infarction submitted to continuous training (WT-MI-C), h) WT myocardium infarction submitted to interval training (WT-IM-I). After 60 days of descending coronary artery ligation, the continuous training consisted of running at 60% of maximum, while the interval training consisted of eight sprints of 4 min at 80% of maximum and a 4 min recovery at 40% of maximum. In infarcted WT animals, both training programs increased exercise tolerance and promoted decrease of sympathetic-vagal balance and increase of alpha index in similar magnitudes. Nevertheless, the interval training reduced the number of type II fibers in infarcted WT animals compared to WT-S and WT-MI-C groups, as well as reduced the amount of fiber type II-X compared to WT-S. The cross-sectional area of the fiber type I was higher in the WT-MI-I animals than in WT-MI-S and S-WT groups. The reason capillary/fiber was higher in group WT-I than in the WT-S. Ejection fraction and shortening fraction were lower in LDL-MI-I compared to the others, but with no differences among the WT-S, WT-IMI-C and WT-MI-I groups. About the LDL-/- animals, the LDL was higher and VLDL was lower in the group LDL-MI-C in relation to the others. The HDLtg (%) was higher in LDL-C compared to LDL-S. The HDLc (mg and %) of LDL-MI-I was higher than the LDL-MI-C group, and the HDLc (mg) of LDL-MI-I was even higher than LDL-S group. The total triglycerides was lower in LDL- MI-C than in LDL-S animals. Only in LDL-MI-I group the resting HR was decreased in comparison to LDL-MI-S. The diastolic blood pressure was lower in LDL-MI-S in relation to LDL-S, while the LDL-MI-I group presented a higher diastolic BP than the LDL-MI-C group. The pulse interval variance was greater in LDL-S than in LDL-MI-I only. In conclusion, our results demonstrate that LDL animals have important functional and physiological differences compared to WT, especially in relation to muscle morphology, hemodynamic and autonomic cardiovascular control. Furthermore, MI leads to damage in both investigated strains and the two types of physical training attenuate similarly the impairment of most of the analyzed variables.

Descriptors: Physical education and training; Myocardial infarction/physiopathology; Mice, knockout/genética; Dyslipidemias/metabolism; Myocardial ischemia; Physical exertion; Disease models, animal; Cardiovascular diseases/prevention & control; Exercise.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças de hábitos provocados pela vida moderna promoveu o sedentarismo e desde os trabalhos pioneiros de Morris e Crawford (1958) verifica-se associação entre inatividade física e doenças crônico degenerativas não transmissíveis (DCDNT).

Entre todas as DCDNT a dislipidemia merece atenção, pois tanto de forma isolada quanto associada a outros fatores de risco ela está fortemente associada com as doenças cardiovasculares (DCVs) e acarreta enormes prejuízos socioeconômicos (SIDNEY et al., 2013).

O infarto do miocárdio (IM) é a DCVs que mais causa invalidez e mortes em todo o mundo (THYGESEN et al., 2012) e a maioria ocorre em consequência da aterosclerose que por sua vez tem como fatores de risco tabagismo, diabetes, hipertensão e dislipidemia (CANTO et al., 2012).

A atividade física tem se mostrado efetiva na prevenção das DCDNT, mas até a década de 1950 não se acreditava que o treinamento físico (TF) pudesse ser benéfico para pacientes com DCVs. Somente a partir da década de 70 que a comunidade médica reconheceu seus benefícios e o TF passou a fazer parte dos programas de reabilitação cardíaca (GUIRAUD et al., 2012).

Em um programa de reabilitação cardíaca, a prescrição de TF deve ser feita individualmente a partir de uma avaliação médica e deve conter exercícios aeróbicos, de fortalecimento muscular e de flexibilidade (ARAÚJO et al., 2004).

Tradicionalmente, recomenda-se exercícios aeróbicos, com movimentos realizados por grandes grupamentos musculares, que sejam feitos de forma dinâmica, em baixa ou moderada intensidade e sem bloqueio da ventilação (WILLIAMS et al., 2007; GIADA et al., 2008).

Segundo o Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM, 1998) um programa efetivo de TF depende da combinação ótima de seus componentes dos quais destacam-se: tipo; intensidade; duração; frequência e progressão.

Pelo fato de a possibilidade de combinação dos componentes do TF ser praticamente infinita, a prescrição ótima de TF para as DCVs é uma tarefa quase impossível (BARBOUR & MILLER, 2008; MAC DONALD & CURRIE, 2009; Vainionpaa et al., 2007). Além disso, ainda existe a necessidade de se investigar potenciais riscos e reais benefícios de cada uma das combinações possíveis do TF (CHICCO, 2008)

Recentemente, um estudo bastante elegante analisou o risco de evento cardiovascular após TF de alta e moderada intensidade e verificou risco baixo para ambas as modalidades (ROGNMO et al., 2012).

Além do estudo supra citado, algumas meta-análises e ensaios clínicos controlados randomizados também têm apontado o TF de alta intensidade como uma forma efetiva de reabilitação cardiovascular (TAYLOR et al., 2004; MUNK et al., 2009; STOYLEN et al., 2012).

Estudos com experimentação animal também têm descrito efeitos benéficos do TF de alta intensidade em cardiomiócitos (KEMI et al., 2005; WISLOFF et al., 2001; ERICSSON et al., 2010), contudo, ainda há uma lacuna na literatura sobre o efeito do

TF de alta intensidade em outras variáveis fisiológicas, especialmente em outros modelos de DCVs como, por exemplo, dislipidemia e infarto do miocárdio (IM).

O presente trabalho foi realizado considerando que a dislipidemia é o maior fator de risco para desenvolvimento de doença arterial coronariana (DAC); que a DAC é a causa mais prevalente de IM e que o efeito de diferentes tipos de TF aplicados em um modelo experimental de dislipidemia e IM é pouco explorado na literatura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estilo de vida e Doenças Cardiovasculares

No início do século XIX a maioria das mortes ocorria por infecções e o crescimento populacional era baixo. Com a melhora de saneamento básico e o desenvolvimento de vacinas, a mortalidade caiu e a expectativa de vida da população é cada vez maior (OKRAINEC et al. 2004).

Contudo, devido ao aumento populacional, a transição demográfica, o desenvolvimento tecnológico e a mudanças dos hábitos da população, a prevalência das doenças hipocinéticas aumentou drasticamente nos últimos anos (LEE et al., 2012).

Entre as doenças hipocinéticas que mais crescem a obesidade, o diabetes, a hipertensão e a dislipidemia merecem destaque, pois são importantes fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs) (LESSA, 2001; PEARTE et al., 2006; PEARTE, 2006; MURRAY & LOPES 1997; ROGER et al. 2012; HEIDENREICH et al. 2011).

A DAC se destaca entre todas as DCVs, pois dados recentes da Organização Mundial de Saúde mostram que ela matou cerca de 7,3 milhões de pessoas só em 2008 (MENDIS, 2011). No Brasil a DAC foi responsável por mais de 100.000 óbitos em 2011 e é a causa mais comum de isquemia do miocárdio (LABARTHE et al., 2012)

2.2 Aterosclerose

A aterosclerose é uma doença crônica de origem multifatorial e relacionada à respostas inflamatórias que ocorrem em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima das artérias. A formação da placa aterosclerótica inicia-se com lesão do endotélio devido a diversos fatores de risco como elevação de lipoproteínas aterogênicas (LDL, IDL, VLDL, remanescentes de quilomícrons), hipertensão arterial ou tabagismo. Como consequência da disfunção endotelial há o aumento da permeabilidade da íntima às lipoproteínas plasmáticas que favorecem sua retenção no subendotelio. Retidas, as partículas de LDL sofrem oxidação e tornam-se imunogênicas (SPOSITO et al., 2007).

Quanto maior a quantidade de lipoproteínas no plasma, maior será concentração destas lipoproteínas na parede arterial iniciando o processo-chave da aterogênese. Com a LDL oxidada, surgirão moléculas de adesão leucocitárias na superfície endotelial que atrairão monócitos e linfócitos para a parede arterial. Induzidos por proteínas quimiotáticas, os monócitos se diferenciarão em macrófagos no espaço subendotelial para captar as LDL oxidadas. A partir daí ocorrerá a formação de células espumosas que são as principais responsáveis pelas lesões macroscópicas da aterosclerose (HANSSON, 2005).

Mediadores da inflamação estimularão a migração e proliferação das células musculares lisas da camada média arterial que produzirão citocinas, fatores de crescimento e , matriz extracelular originando a capa fibrosa da placa aterosclerótica que poderá se romper. Este processo, também conhecido por aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose e pode ter como

consequência final a síndrome coronária aguda manifestando-se como isquemia silenciosa, angina instável ou infarto do miocárdio (IM) (HAMM et al. 2011).

2.3 Infarto do Miocárdio

O IM é a maior causa de morte e invalidez em todo o mundo e apresenta graves riscos para a ocorrência de outros eventos cadiovasculares (THYGESEN et al., 2012; ANAND et al., 2008).

Quando não fatal (morte súbita) o IM pode afetar não somente o sistema cardiovascular, mas também todos os outros sistemas do corpo como renal, hemostático, endócrino, imunológico, inflamatório, músculo esquelético e autonômico (PIEPOLI et al., 2011).

KLEIGER et al. (1987) demonstraram que o risco relativo de morte 5,3 vezes maior em pacientes infartados com variabilidade da frequência cardíaca (HRV) de 50ms quando comparado com pacientes com HRV de 100ms.

LA ROVERE et al. (1998) também demonstraram que não somente a redução da HRV (SDNN $\leq$70 ms), mas também uma redução na sensibilidade barorreflexa [BRS $\leq$ 3.0 (ms.mm Hg-1)] poderia apresentar risco de mortalidade cardíaca de 3,2 e 2,8 vezes, respectivamente.

Devido às variadas complicações e ao enorme impacto para a saúde pública que o IM acarreta, torna-se essencial compreender sua fisiopatologia, pois a partir destas informações se torna mais fácil traçar estratégias de prevenção, tratamento e controle desta doença.

Nos últimos 30 anos, estudos experimentais têm contribuído não somente para o desenvolvimento de estratégias farmacológicas e não farmacológicas para o tratamento do IM, mas também tem auxiliado a desvendar alguns dos mecanismos responsáveis pelos prejuízos funcionais causados pelo IM.

2.4 Utilização de Experimentação Animal

Em nosso laboratório, contatou-se que o IM promoveu desensibilização barorreflexa, redução da modulação parassimpática cardíaca e aumento da modulação simpática cardiovascular (MOSTARDA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2013). Vale

Entre os diferentes modelos experimentais utilizados para compreensão das DCVs, incluindo o IM, os que mais se destacam são aqueles que passam por manipulação dietética, por intervenção cirúrgica e os geneticamente modificados.

Um destes modelos é o camundongo *knockout* para o receptor LDL (LDL-/-) que foi desenvolvido por Ishibashi et al. (1993) cuja ausência do receptor LDL nesses animais impede a absorção hepática de colesterol e os torna hipercolesterolêmicos. (BESLER et al., 2012; Van CRAEYVELD et al., 2012; PERMAN et al., 2011). Deste modo, sabendo que a dislipidemia é um importante fator de risco para desenvolvimento de aterosclerose; que a aterosclerose é fator de risco para a DAC e que a DAC está fortemente associada com desenvolvimento de DCVs ele pode ser um bom modelo para auxiliar na compreensão da relação existente entre dislipidemia, aterosclerose, DAC e IM (FUSTER et al., 2012).

Outro modelo bastante utilizado na literatura é a cirurgia de ligadura da artéria coronária descendente à qual provoca os efeitos deletérios da isquemia (JOHNS et al., 1954; MANN et al., 1988; KLOCKE et al., 2007; GAO et al., 2000). O evento isquêmico ativa processos de sinalização inflamatórios que podem culminar em disfunção cardíaca (VINCENT et al., 2013).

Retenção de líquido com formação de edemas pulmonares, cardíacos e hepáticos são bastante comuns em pacientes pós-infarto do miocárdio e ocorrem graças às alterações do sistema renina angiotensina aldosterona e outros sistemas neuro-humorais (De SMET et al., 2003.

O depósito de fibras de colágeno tipo I e tipo III advindas do processo de cicatrização do miocárdio em conjunto com as alterações do transiente de cálcio, da via beta-adrenérgica, das proteínas contráteis, da apoptose celular levam à hipertrofia cardíaca excêntrica patológica aumentam o peso do coração, geram remodelamento ventricular e disfunção ventricular (VILAHUR et al., 2011).

Após o IM, cronicamente o aumento do estresse oxidativo em conjunto com a disfunção endotelial e com a rarefação capilar, contribuem negativamente para o processo de degeneração muscular e aumenta a intolerância ao esforço provenientes do IM (RUSH et al., 2005)

O tratamento do IM depende do diagnóstico, do estágio da doença e dos sinais e sintomas de cada paciente. A partir do diagnóstico poderão ser feitas intervenções cirúrgicas ou não cirúrgicas às quais poderão estar ou não associadas ao tratamento farmacológico (ARONOW WS., 2007).

Uma estratégia não farmacológica amplamente utilizada para reabilitação de pacientes com IM é a prática de TF. Com ele, é possível não apenas impedir ou reverter os efeitos deletérios do IM, mas também controlar outros fatores de risco para DCVs como, por exemplo, a dislipidemia.

2.5 Treinamento Físico e Infarto do Miocárdio

Apesar de os primeiros estudos (MORRIS et al., 1953) que verificaram associação entre sedentarismo e prevalência de DCVs datarem o final da década de 50 o TF só se consolidou na reabilitação cardíaca no início da década de 80 depois dos achados de LEE et al. (1979), CONN et al.,(1982), SULLIVAN et al. (1988) e COATS et al. (1990) que verificaram efeitos benéficos do TF em pacientes cardiopatas.

Devido as evidências de melhora na qualidade de vida, redução do índice de internação, diminuição da mortalidade, melhora da função dos linfócitos, da capacidade funcional, da redução da miopatia esquelética, recuperação do balanço autonômico, do perfil neurohumoral e redução das re-hospitalizações,CHUNG et al., 2011; TABET et al. 2009; BELARDINELLI et al. 1999; EMTER et al. 2005; BATISTA et al., 2008; NUNES et al. 2008), atualmente o TF tem sido recomendado pelas principais instituições relacionadas ao tratamento e prevenção das DCVs (PIEPOLI et al. 2011; DICKSTEIN et al. 2008; WILLIAMS et al., 2007; ROGNMO et al. 2004; WARBURTON et al., 2005; LIBONATI et al. 2005; AMUNDSEN et al. 2008;WESTHEIM e RISBERG 2008; NILSSON et al. 2008).

O TF também é capaz de proporcionar modificações favoráveis em diferentes sistemas corporais tanto em humanos quanto em animais que apresentam DCVs.

Estudos de nosso laboratório demonstram que o TF pode atenuar os prejuízos causados pelo IM, pois melhora a modulação autonômica cardiovascular, aprimora a função cardíaca, aumenta a tolerância ao esforço e reduz a mortalidade (JORGE et al.,2011; RODRIGUES et al., 2012; BARBOZA et al., 2012). De modo geral, a prescrição de TF recomendada nos programas de reabilitação cardíaca envolve atividades predominantemente aeróbicas, realizadas com grandes grupos musculares, em intensidade leve a moderada, duração de moderada a longa e pelo menos três vezes na semana (EACPR - European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Committee for Science Guidelines, 2010; MEZZANI et al., 2012).

Contudo, sabendo que a aderência também é um problema para pacientes em programas de reabilitação cardíaca, estudos mais recentes têm demonstrado que o TF realizado com menor duração e maior intensidade apresenta benefícios superiores ao TF tradicional (MAIORANA, 2012 ; MOHOLDT, et al., 2012; WISLØFF, et al., 2007). Além disso, ao contrário do que se esperava o TF de alta intensidade tem se mostrado tão seguro quanto o TF tradicional (ROGNMO, et al., 2012).

Apesar de os achados na literatura mostrarem efeitos positivos do TF na reabilitação cardíaca, sua prescrição ainda é bastante questionada já que não há consenso sobre a combinação ideal dos princípios que regem a prescrição de exercícios para estes pacientes. Isso porque o TF depende de fatores como tipo (dinâmico ou estático), intensidade (leve, moderado ou intenso), frequência (uma a sete vezes por semana), duração (curta, média ou longa), volume, densidade, meios (local) e métodos (contínuo, descontínuo, intervalado, fart-lack, crescente ou decrescente) e, portanto, a prescrição ótima de TF para as DCVs é uma tarefa quase impossível (BARBOUR e MILLER, 2008; MACDONALD e CURRIE, 2009; VAINIONPÄÄ et al., 2007).

Pelo exposto, a literatura ainda não apresenta consenso sobre qual seria o tipo, a intensidade, a duração, a frequência e o intervalo ótimos para a obtenção dos melhores benefícios associados ao baixo risco de acometimento cardíaco durante o TF de pacientes infartados ou com outras DCVs.

3. JUSTIFICATIVA

A partir de nossa revisão literária fica evidente que os animais LDL-/- apresentam diferenças quanto ao perfil lipídico em relação ao *wild type* selvagem C57Bl/6J (WT). Além disso, sabendo que os LDL-/- possuem dislipidemia, eles podem apresentar sinais e sintomas diferenciados dos WT quando submetidos à cirurgia de ligadura da artéria coronária descendente. Por fim, sabendo que o TF pode ser uma ferramenta não farmacológica para prevenção e tratamento de dislipidemias e do IM, investigar seus efeitos em um modelo experimental de dislipidemia e isquemia miocárdica podem auxiliar tanto na compreensão da fisiopatologia do IM quanto no papel do TF como estratégia não medicamentosa de tratamento.

4. OBJETIVOS

1 - Analisar massa corpórea, tolerância ao esforço, respostas hemodinâmicas, modulação autonômica cardiovascular, função cardíaca, perfil lipídico e morfologia do músculo esquelético de camundongos *wild type* selvagens C57BL/6J (WT) e *knockouts* para o receptor LDL (LDLr-/-);

2 – Verificar os efeitos provocados pelo IM em camundongos LDLr-/- e WT;

3 – Verificar o efeito do treinamento físico contínuo ou intervalado em camundongos infartados *wild type* selvagens C57BL/6J (WT) e *knockouts* para o receptor LDL (LDLr-/-).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (www.cobea.org.br), sendo o projeto referente a esta tese de doutorado aprovado pela comissão de ética CAPPesq da diretoria clínica do Hospital das Clínicas em 12 de Novembro de 2009 (Protocolo 0944/09).

5.1 Animais

Utilizamos camundongos machos da linhagem C57/BL6 (WT) e *knockout* para receptor LDL (-/-).

Os animais WT foram provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e as matrizes dos camundongos LDLr-/- (ISHIBASHI et al., 1993, foram adquiridas comercialmente do Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine, EUA) e gentilmente fornecidas pelo Laboratório de Lípides (LIM-10) da Faculdade de Medicina da USP.

Os animais de ambas as linhagens foram mantidos no Biotério do Laboratório da Divisão de Experimentação Animal do Instituto do Coração (InCor-FMUSP) com temperatura controlada entre 22 ± 2ºC, em ciclo claro-escuro 12:12 horas, recebendo água e ração comercial “ad libitum”.

5.2 Grupos Experimentais

Foram estabelecidos oito grupos experimentais, quatro com animais C57/BL6 (WT) e quatro com a linhagem LDL-/-, sendo eles:

a) WT sedentário (WT-S)

b) WT infartado sedentário (WT-IM-S)

c) WT infartado submetidos a treinamento contínuo (WT-IM-C)

d) WT infartado submetidos a treinamento intervalado (WT-IM-I)

e) LDLr-/- sedentário (LDL-S).

f) LDLr-/- infartado sedentário (LDL-IM-S)

g) LDLr-/- infartado submetidos a treinamento contínuo (LDL-IM-C)

h) LDLr-/- infartado submetidos a treinamento intervalado (LDL-IM-I)

5.3 Sequência Experimental

A fase experimental iniciou-se quando os animais completaram 8 semanas de idade (dia 1 do seguimento) com peso inicial entre 25 e 30 gramas. A partir de então, os animais foram divididos em 8 grupos para início dos experimentos descritos abaixo (Tabela1).

Tabela 1. Seqüência experimental realizada no estudo.

Evento	Dia
Infarto do miocárdio	1
Ecocardiograma	60
Adaptação à esteira	63 a 66
Teste de Esforço Máximo	67
Teste Tempo Limite e Prescrição do Treinamento	69
Início do Protocolo de Treinamento	70
Reavaliação para ajuste de carga	95
Término do treino	123
Ecocardiograma	124
Canulação	125
Avaliações hemodinâmicas e autonômicas	129
Determinação das concentrações sanguíneas de lipídeos circulantes	131
Eutanásia e preparação dos tecidos	131

5.4 Peso Corporal

A medida de peso corporal foi realizada semanalmente sempre todas as segundas-feiras pela manhã.

5.5 Infarto do miocárdio

Para a realização do infarto do miocárdio, os animais foram anestesiados com ketamina (0,05 mg/100g, via IP) e xilazina (0,025 mg/100g, via i.p.), intubados e colocados em ventilação mecânica. Após toracotomia no 3º espaço intercostal esquerdo foi induzido o infarto do miocárdio pela ligadura da artéria coronária esquerda com um fio prolene 7-0 (Figura 1). Para analgesia dos animais foi ministrada 0,5mg/kg de morfina subcutânea imediatamente após a cirurgia e nas 24, 48 e 72 horas subseqüentes (MINAMI et. al., 2009).

A realização bem-sucedida do infarto foi verificada pela observação do desenvolvimento de uma cor pálida no miocárdio distal logo após a ligadura (GAO et al., 2000)

A mortalidade após o procedimento cirúrgico foi de aproximadamente 15%.

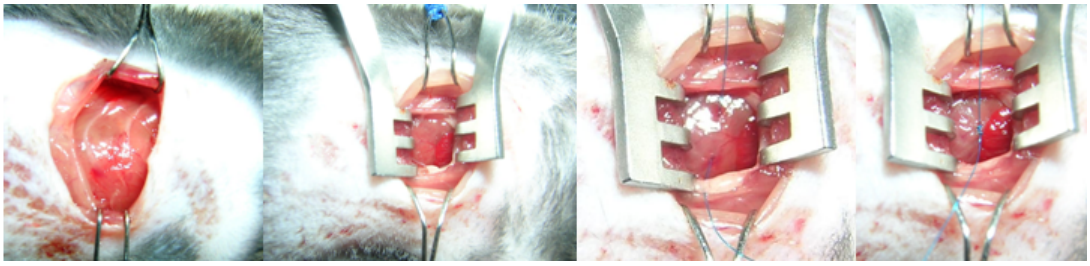

Figura 1: Indução do infarto agudo do miocárdio por ligadura da artéria coronária esquerda.

5.6 Ecocardiograma

Os exames foram realizados por um único observador e em cada exame foi coletado um total de cinco medidas para cada variável, sendo calculados posteriormente média e desvio padrão da média dessas medidas. O exame foi realizado com os animais anestesiados com sevoflurano (0,5- 2% por l/min de O_2) e após a sedação os animais foram colocados em decúbito dorsal, em uma mesa cirúrgica apropriada para o posicionamento do transdutor no hemitórax esquerdo do animal.

Foi utilizado o equipamento SEQUOIA 512 (ACUSON Corporation, Mountain View, CA), com transdutor de 14 MHz e as imagens foram feitas a uma freqüência de 14,0 MHz, para otimização da resolução. Para registro das imagens foi utilizado gel de transmissão para ultra-som de viscosidade média/alta (General Imaging Gel, ATL. Reedsville, USA). As imagens foram armazenadas em mídia de DVD para posterior análise.

A função sistólica foi avaliada pela fração de encurtamento (FS%) e ejeção (FE%) pelo método Simpson modificado que se mostra mais fidedigno em corações infartados. Este procedimento feito tanto na diástole como na sístole e os respectivos volumes (diastólico e sistólico) foram obtidos para o cálculo da fração de ejeção: FE = (volume diastólico final – volume sistólico final / volume diastólico final) x 100%.

A região de infarto foi delimitada de acordo com a cinética das paredes do miocárdio, avaliadas pelas janelas ecocardiográficas longitudinal paraesternal direita, transversal (ao nível dos músculos papilares) e apical (2 e 4 câmaras). Regiões hipocinéticas (espessamento sistólico abaixo do normal), acinéticas (ausência de espessamento durante a sístole) e discinéticas (movimentação paradoxal durante a

sístole) foram consideradas como infartadas. A área de infarto foi delimitada pela razão destas regiões com a área total das paredes miocárdicas do VE conforme recomendação de Moisés et al., (2000), que demonstraram altíssima sensibilidade e especificidade para a delimitação da área de infarto do miocárdio em ratos e 100% de confiabilidade em comparação a estudos anatomopatológicos.

Todas as medidas seguiram as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (REEVES et. al., 2007).

O exame ecocardiográfico foi realizado 24 horas após a cirurgia, 60 dias após a cirurgia (pré-treino) e 120 dias após a cirurgia (pós-treinamento).

No procedimento de ecocardiograma, a mortalidade foi de aproximadamente de 20 % e os animais que apresentaram a FE inferior a 25% foram excluídos do protocolo.

5.7 Adaptação à esteira e teste máximo

Os animais foram adaptados à esteira ergométrica por 3 dias consecutivos com corrida contínua de 10 min a 0,03km.h^{-1} sem inclinação da esteira. 72 horas após período de adaptação os animais iniciaram o teste progressivo por estágio com a esteira em 0º, velocidade inicial de 0,03km.h^{-1} e incrementos de 0,03km.h^{-1} a cada 3 min até exaustão. O critério utilizado para a determinação da exaustão do animal e interrupção do teste foi o momento em que o mesmo não foi mais capaz de correr na raia da esteira mediante o incremento de velocidade (HEEREN et. al. 2009; FERREIRA et. al. 2010).

5.8 Prescrição do treino

A partir dos resultados do teste máximo e do teste de tempo limite foram prescritos os protocolos de treino. Um deles constou de carga constante a 60% da velocidade máxima e outro de 8 tiros a 80% da velocidade máxima com duração de 4min e com recuperação a 40% da velocidade máxima também com duração de 4 min (Figura 2). Com objetivo de manter a mesma carga média de treino, mesma distância percorrida e mesmo gasto calórico, ambos os protocolos iniciaram com duração total de 20 min e progrediram para 60 min.

O protocolo de treino teve duração de 8 semanas, mas na quarta semana havia reavaliação do teste máximo e do tempo limite para os devidos ajustes de carga e nova prescrição de treino.

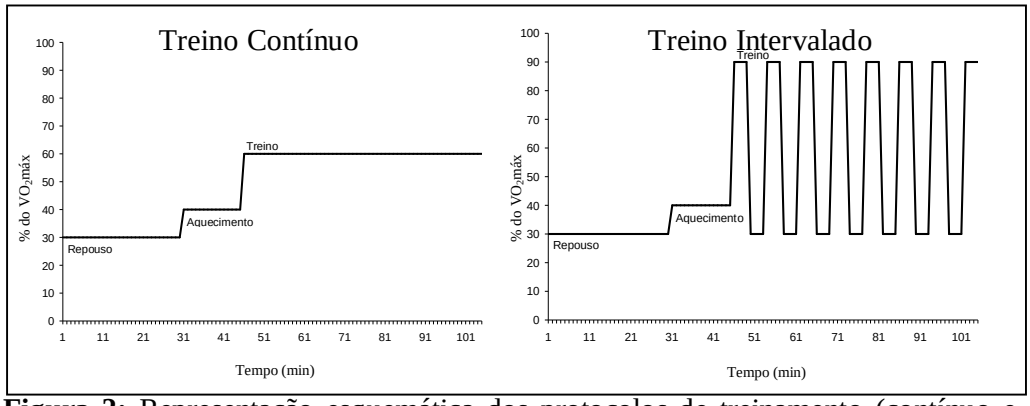

Figura 2: Representação esquemática dos protocolos de treinamento (contínuo e intervaldo) em relação à carga do consumo máximo de oxigênio.

5.9 Canulação

Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina e xylazina e mantidos em mesa cirúrgica aquecida (37º C) para colocação de cânulas na artéria carótida e na veia jugular para registro da pressão arterial e da freqüência cardíaca e para a injeção de drogas, respectivamente. Os camundongos anestesiados foram colocados em decúbito dorsal e utilizando-se de procedimentos assépticos e lupa cirúrgica (*surgical microscope* – DFV – M90), foi realizada uma incisão mediana na região cervical para separação da musculatura pré-traqueal para localização da veia jugular e da artéria carótida (Figura 3A). A partir daí foram implantadas cânulas de Tygon (0,05 mm de diâmetro interno), com 3,0 cm de comprimento, soldadas a um segmento de Cloreto de Polivinila (0,05 mm de diâmetro interno), com 4,0 cm de comprimento e preenchidas com solução fisiológica heparinizada (20 Ul/ml) (Figura 3B e C). A extremidade de cloreto de polivinila foi introduzida e fixada no vaso e a extremidade de Tygon foi exteriorizada no dorso do animal na região cervical e fixada com fio de polipropileno (6-0) na pele (Figura 2D).

A mortalidade dos animais após este procedimento foi de aproximadamente 5%.

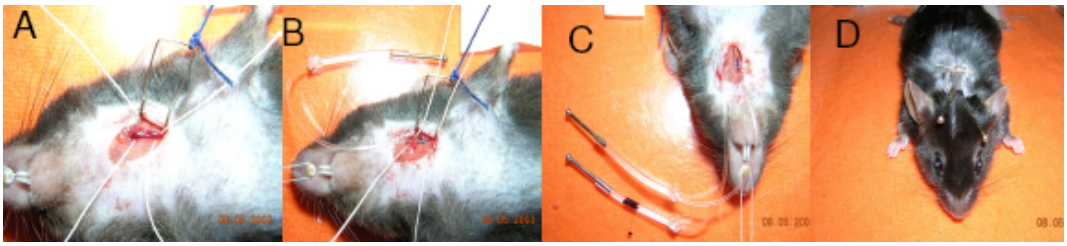

Figura 3. Exemplificação de canulação da artéria carótida e veia jugular.(A= localização da veia jugular e a artéria carótida; B e C= implantação das cânulas; D= exteriorização dorsal das cânulas).

5.10 Registro hemodinâmico

A pressão arterial e a frequência cardíaca em repouso foram registradas por pelo menos 20 minutos com o animal acordado e com livre movimentação após o mesmo ter estabilizado sua atividade exploratória. Tais medidas ocorreram pelo menos 48 horas depois dos procedimentos cirúrgicos descritos acima. A cânula arterial foi conectada a um tubo de polietileno (PE-100) e este a um transdutor eletromagnético (Statham, modelo P23Dd) que, por sua vez, foi conectado a um amplificador (General Purpose Amplifier, Stemtech, Inc., USA). O sinal analógico do pulso de pressão arterial foi convertido para digital por uma placa de conversão analógico-digital de 10 bits (CODAS, Dataq Instruments, USA) e em seguida, foi registrado batimento-a-batimento com uma freqüência de amostragem de 4000 Hz por canal pelo programa Windaq® (DataQ Instruments, Inc., Ohio, USA). Os dados digitalizados foram processados e posteriormente analisados por uma rotina pré-programada (MATLAB 6.0, Mathworks

Inc, Natick, MA) e transferidos para o Excel (Microsoft Co.; USA) conforme estudos prévios de nosso laboratório (SOARES, et al., 2004)

5.11 Avaliação da modulação autonômica

5.11.1 Variabilidade da frequência cardíaca

A partir dos registros do intervalo de pulso obtidos pelo pico de pressão arterial sistólica de cada batimento obteve-se o tacograma. Para essa análise foram utilizados registros estáveis de, no mínimo, 5 minutos com uma frequência de amostragem de 4.000 Hz. Também dois componentes foram obtidos na análise espectral: baixa freqüência (LF, 0,10-1,00 Hz) e alta freqüência (HF, 1,00 a 5,00 Hz). Os dados foram expressos em unidades normalizadas (n.u.) e o componente LF foi usado como índice da modulação simpática e o componente HF foi usado como um índice da modulação parassimpática. A relação entre LF/HF foi utilizada como indicador do balanço simpato-vagal (TASK FORCE, 1996).

5.11.2 Variabilidade da pressão arterial

A partir do registro basal dos animais acordados foi possível utilizar a ferramenta de análise tempo-freqüência da variabilidade da pressão arterial sistólica. No domínio do tempo a variabilidade da pressão arterial sistólica foi quantificada pela média do desvio padrão.

A análise no domínio da freqüência ocorreu pela decomposição do sistograma pela Transformada Rápida de Fourier e após esse ajuste matemático foi obtida a potência absoluta da banda de baixa freqüência (LF, 1 - 5 Hz) (TASK FORCE, 1996).

5.12 Determinação das concentrações sanguíneas de lipídeos circulantes

Os kits enzimáticos colorimétricos para a determinação de triglicérides (TG) e colesterol total (CT) foram obtidos da Labtest do Brasil.

O perfil das lipoproteínas (LP) plasmáticas (LP de muito baixa densidade – VLDL; LP de baixa densidade – LDL; LP de alta densidade – HDL) foi determinado por cromatografia líquida para determinação rápida de proteínas (FPLC - *fast protein liquid chromatography*). Alíquotas de plasma (100 μL) foram injetadas em coluna de superose 6 HR 10/30 (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia). O plasma foi eluído em fluxo constante de 0,5 $mL.min^{-1}$, com tampão Tris (Tris 10 mM, NaCl 150mM, EDTA 1 mM e NaN3 0,03%), pH 7,4 sendo coletadas as frações de LP para determinação do conteúdo de CT e TG (ROCCO, et al., 2011)

5.13 Eutanásia

Após o término do protocolo experimental, os animais foram anestesiados com ketamina (0,05 mg/100g, via IP) e xilazina (0,025 mg/100g, via i.p.) e posteriormente submetidos à perfusão com solução fisiológica 0,9%.

5.14 Determinação do Fenótipo, Área de Secção Transversa (AST) e Razão Capilar-Fibra do Músculo Esquelético Sóleo.

Para a avaliação dos diferentes tipos de fibras musculares e capilarização no músculo sóleo, foi realizada por meio da técnica de histoquímica para miosina ATPase

após pré-tratamento no pH 10.3. Os músculos foram extraídos cuidadosamente e colocados pela região tendinosa em uma mistura de Tissue-Tek® com goma para manter o tecido na posição correta pré-congelamento, em seguida, os tecidos foram mergulhados em isopentano resfriado, um crioprotetor que evita artefatos nas amostras. Posteriormente foram congelados em nitrogênio líquido, onde foram mantidos até que os cortes (espessura 10 µm) fossem realizados. Após os cortes serem processados no pH 10,3, a captura das imagens para avaliar tipagem e área de secção transversa dos diferentes tipos de fibras foi realizada com magnificação de 200x e objetiva de 20x (Fig.4). A capilarização foi realizada em magnificação de 400x objetiva de 40x (Fig.4). O registro das imagens foi realizado em computador acoplado a um sistema de vídeo por meio de um programa de captura e análise de imagens (Leica Qwin, Bensheim-Alemanha). Para análise das fibras e capilarização foi utilizado o programa Image pro-plus Demo e considerado a partir do máximo de números de campos contados para cada animal (HAMALAINEM & PETTE, 1993

Na Tabela 2 e Figura 4, podemos observar destacado na cor branca as fibras do tipo I, pretas tipo IIA, na escala de cinza escuro as fibras intermediárias e os capilares indicados pelas setas.

A análise da AST foi realizada através do programa Axio Vision Rel 4.6 e em média foram analisadas 50 fibras por animal dos tipos I e IIA (Figura 5).

Tabela 2. Classificação dos diferentes subtipos de fibras musculares na escala de coloração atribuída para cada tipo de fibra no pH 10.3.

FIBRAS	Ph 10.3
I	
IIA	
Intermediária	
Capilar	

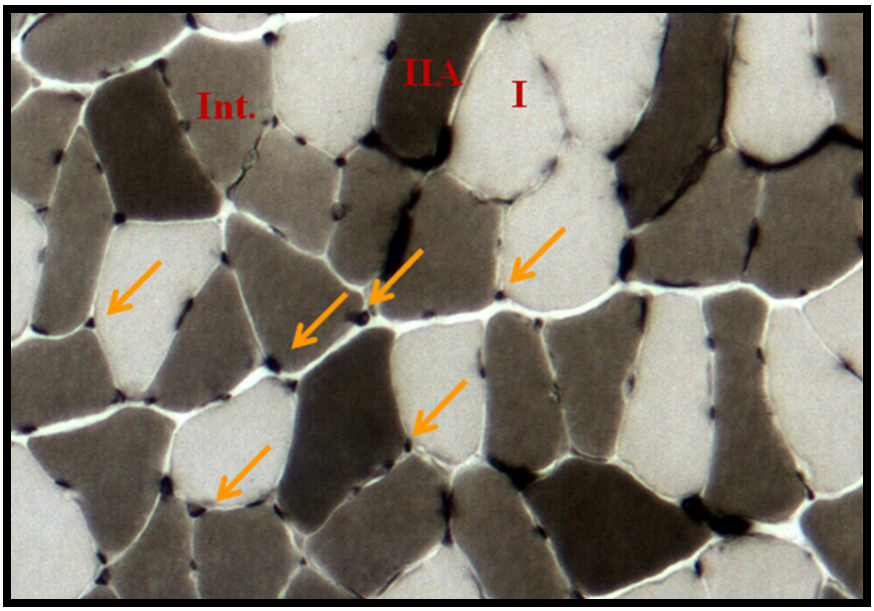

Figura 4. Exemplo de corte histólogioco transversal do músculo sóleo corado através da reação miosina ATPase, preincubado no pH 10.3. As setas indicam os vasos sanuíneos. I= Fibra tipo I (oxidativa); Int = fibra de transição; IIA = fibra tipo IIA (glicolítica).

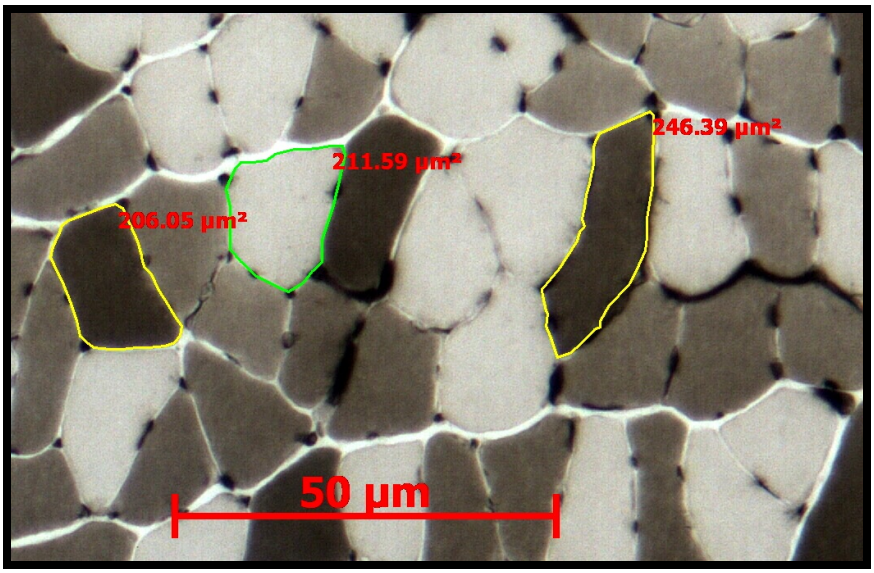

Figura 5. Representação esquemática da análise de AST dos diferentes tipos de fibras. Contorno verde feito na fibra tipo I; contorno amarelo feito na fibra tipo II. A régua representa a escala de 50µm e os números correspondem à área de cada respectiva fibra avaliadas em μm^2.

6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados foram expressos em média ± erro padrão da média (X ± EPM).

Para comparar variáveis mensuradas mais de uma vez ao longo do protocolo utilizamos a ANOVA para medidas repetidas. Para comparar os animais LDL-/- e WT utilizamos o Test *t* não-pareado de *Student*. Para verificar o efeito do IM e do TF utilizamos a análise de variância a dois fatores (ANOVA *two-way*) com *post-hoc* de *Tukey*. Em todas as circunstâncias erro alfa adotado foi de 5% ($P \leq 0,05$).

7. RESULTADOS

O presente trabalho teve por objetivo descrever a caracterização do modelo de hipercolesterolemia em relação ao *wild type* C57Bl/6J. Adicionalmente avaliamos o efeito do infarto do miocárdio nestas duas linhagens e por fim investigamos o efeito de dois tipos de treinamento físico na massa corpórea, tolerância ao esforço, respostas hemodinâmicas, modulação autonômica cardiovascular, função cardíaca, perfil lipídico e morfologia do músculo esquelético de camundongos *wild type* selvagens C57BL/6J (WT) e *knockouts* para o receptor LDL (LDLr-/-).

PARTE I – Efeitos do *knockout* do receptor LDL

7.1 Parte I – Diferença entre WT e LDL

7.1.1Avaliações metabólicas

Os animais iniciaram o protocolo experimental sem diferenças significantes na massa corporal (WT-S: 29±0,6 e LDL-S: 26±0,6g). Ao final da 8ª semana o grupo WT aumentou significantemente a massa corporal (WT-S: 30±0,6g) enquanto que o grupo LDL-S não apresentou aumento significante (LDL-S: 25±0,6g) em relação à sua massa corpórea na fase inicial. Ao fazer a comparação entre os grupos na fase final do protocolo, os animais LDL-S tiveram diminuição de massa corporal comparado ao grupo WT-S (Figura 6).

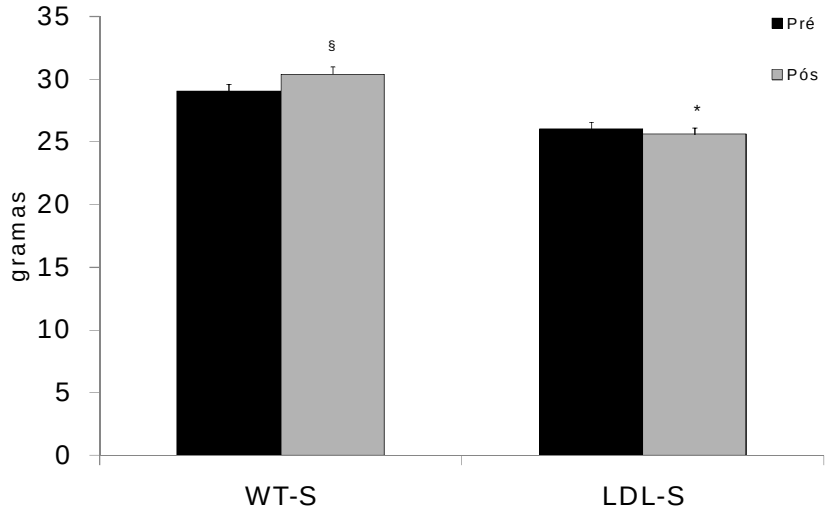

Figura 6. Massa corporal no início (pré) e ao final (pós) do protocolo dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S, § p<0,05 vs. pré.

As concentrações sanguíneas de colesterol total expressas em mg foram menores no grupo WT-S (101±3mg) em relação ao grupo LDL-S (344±11mg). O mesmo ocorreu para as concentrações de colesterol nas partículas de lipoproteínas. O WT-S apresentou VLDLc (3±0,2 mg) menor que o grupos LDL-S (53±4 mg) (Figura 7).

O LDLc do grupo WT-S (14±0,3 mg) foi menor comparado ao grupo LDL-S (178±8 mg) e o HDL do grupo WT-S (84±2 mg) foi menor que o do LDL-S (113±4 mg).

O colesterol expresso em percentual também foi inferior nos animais WT-S em relação aos LDL-S para o VLDLc% (0,7±0,02 vs. 15,3±0,97) e para o LDLc% (8,5±0,26 vs. 51,6±0,96), assim como foi maior para o HDLc% (92,2±2,8 vs. 33,1±1,7)

O valor total de triglicérides no grupo LDL-S (152±6 mg) foi maior em comparação ao grupo WT-S (77±3 mg). Com exceção do HDL-tg, expresso em valores

absolutos (mg), não houve diferença significante entre o grupo WT-S (5±0,4 mg) e LDL-S (5±0,5 mg)

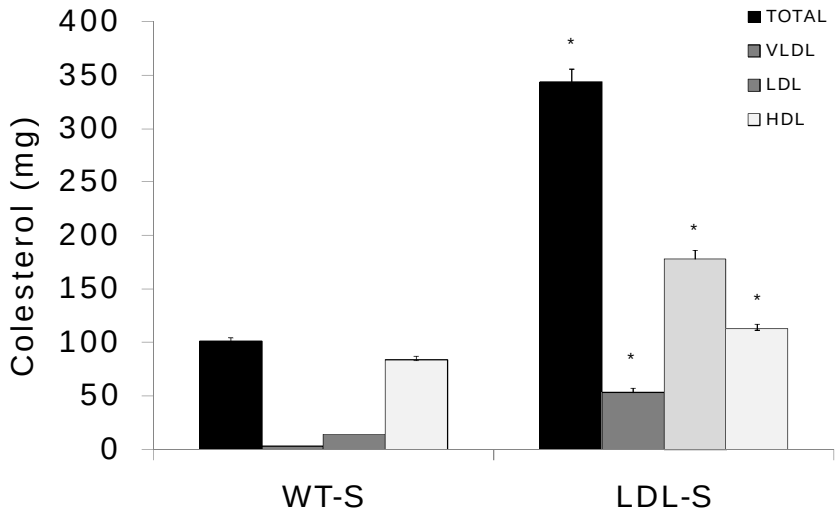

Figura 7. Concentração sanguínea de colesterol dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

Assim, o LDL-S (94±5 mg) apresentou maiores valores de VLDLtg comparado ao grupo WT-S (61±4 mg). Na partícula de LDLtg o grupo LDL-S (52±1 mg) teve aumento de triglicérides em relação ao grupo WT-S (10±1 mg). Os triglicérides expressos em percentual também foram inferiores nos animais WT-S em relação aos animais LDL-S (VLDLtg%: 80±2 vs. 62±1; LDLtg%=:13±2 vs. 35±1; HDLc% : 7±0,4 vs. 3±0,3 respectivamente) (Figuras 8 e 9).

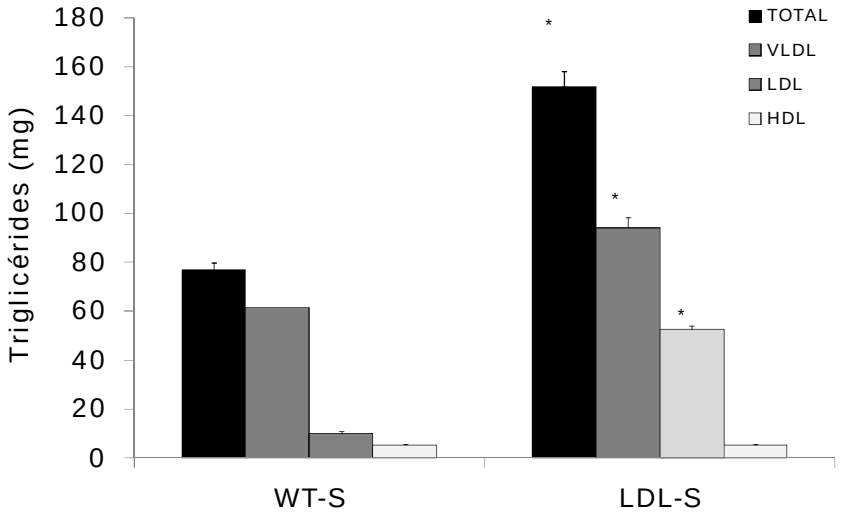

Figura 8. Frações de triglicérides nas lipoproteínas dos animais wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

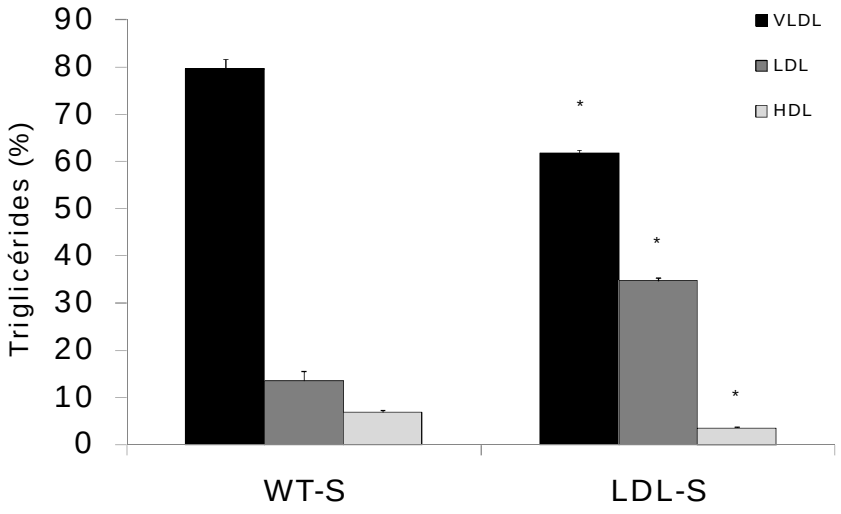

Figura 9. Concentração sanguínea de triglicérides dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

7.1.2 Teste de Esforço

A tolerância ao esforço não apresentou diferença significante intragrupo (pré vs. pós) e nem entre os grupos WT-S em relação ao LDL-S nos respectivos momentos. O grupo WT-S apresentou tolerância ao esforço de 860±18s no início do protocolo e 840±34s no final. No grupo LDL-S a tolerância ao esforço inicial foi de 845±18s vs. 824±23 da fase final (Figura 10).

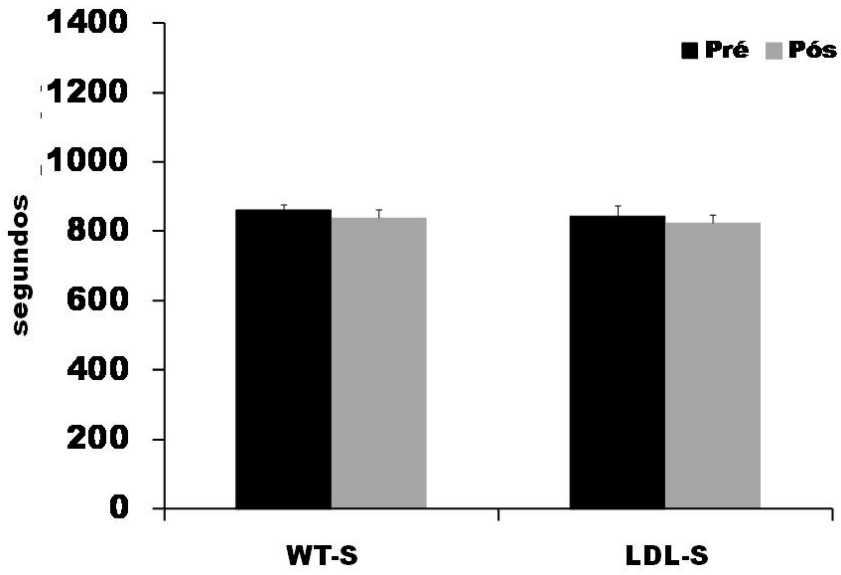

Figura 10. Tempo atingindo no teste de esforço máximo no início (pré) e ao final (pós) do protocolo dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S).

7.1.3 Avaliações Ecocardiográficas

Não observamos nenhuma diferença entre os grupos em relação à fração de encurtamento (WT-S: 31±1,9 e LDL-S: 27±0,1%) (Figura 11) e em relação à fração de ejeção (WT-S: 59±9,0 e LDL-S: 55±0,1 %).

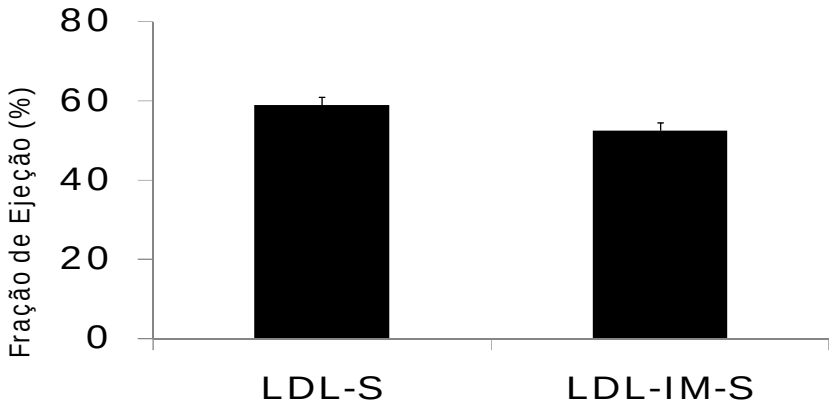

Figura 11. Fração de ejeção dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S).

7.1.4 Avaliações Hemodinâmicas

O grupo LDL-S apresentou maiores valores de pressão arterial sistólica, diastólica e média em relação ao grupo WT-S. Além disso, os grupos apresentaram valores semelhantes em relação à freqüência cardíaca (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros hemodinâmicos dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S).

	WT-S	**LDL-S**
PAS (mmHg)	119±2	127±2*
PAD (mmHg)	78±2	93±1*
PAM (mmHg)	87±4	105±7*
FC (bpm)	554±9	545±18

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). * p< 0,05 vs. WT-S.

7.1.5 Avaliações Autonômicas

7.1.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca

O grupo LDL-S apresentou menor variância do intervalo de pulso comparado ao grupo WT-S (Figura 12, Tabela 4).

Os grupos foram semelhantes em relação aos valores absolutos das bandas de baixa (LF) e de alta (HF) frequência do intervalo de pulso. Entretanto, quando analisamos os valores normalizados, o grupo LDL-S apresentou redução do HF e aumento do LF comparado ao grupo WT-S. Além disso, o balanço simpato/vagal (Figura 13) foi maior no grupo LDL-S quando comparado ao grupo WT-S (Tabela 4).

Tabela 4. Variabilidade da freqüência cardíaca dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário.

	WT-S	**LDL-S**
VAR IP (ms^2)	58±4	44±4*
LF (ms^2)	8±2	12±3
HF (ms^2)	22±5	19±5
%LF (n.u.)	31±2	41±2*
%HF (n.u.)	69±2	59±2*
LF/HF	0,5±0,05	0,7±0,06*

Valores representando média ± erro padrão. Variância do Intervalo IP (VAR IP), baixa freqüência (LF), alta freqüência (HF) e balanço simpato/vagal (LF/HF) * $p< 0,05$ vs. WT-S.

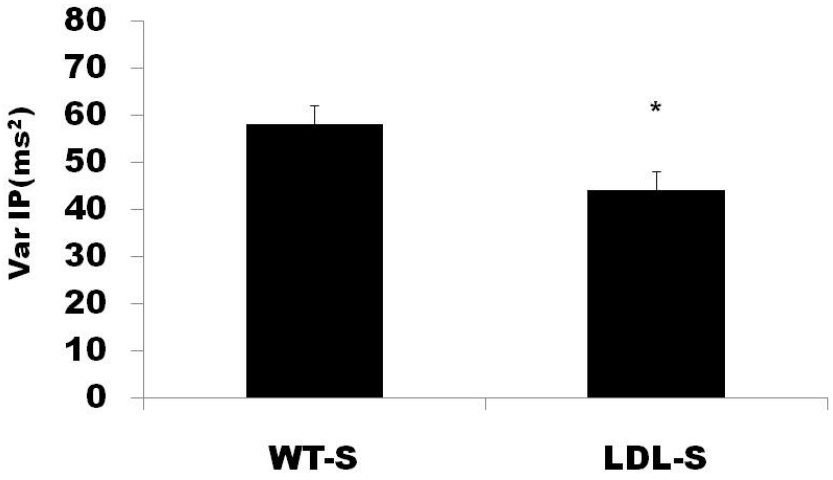

Figura 12. Variância do intervalo de pulso dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

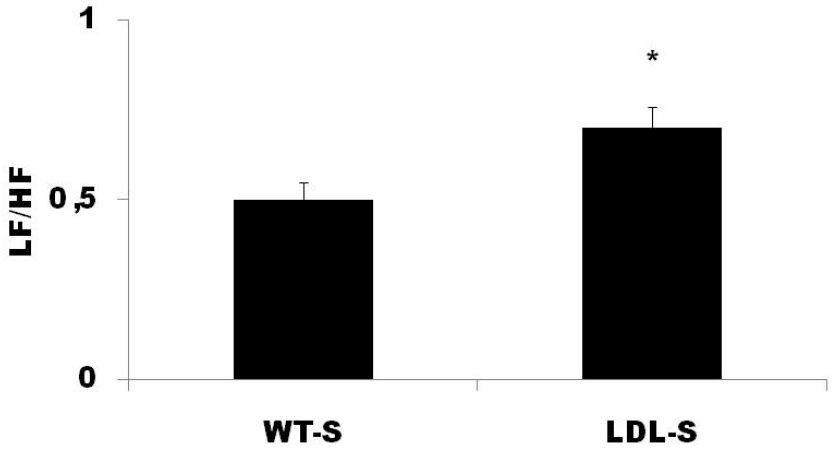

Figura 13. Balanço simpato/vagal dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

7.1.5.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice alfa

O grupo LDL-S apresentou maiores valores de variância da PAS, além de apresentar maiores valores da banda de baixa freqüência (LF) da PAS quando comparado ao grupo WT-S. Além disso, o grupo LDL-S teve uma diminuição do índice alfa, representativo da sensibilidade barorreflexa espontânea, em relação ao grupo WT-S (Tabela 5).

Tabela 5. Variabilidade da pressão arterial sistólica e índice alfa dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S).

	WT-S	**LDL-S**
VAR PAS ($mmHg^2$)	12±4	32±10*
LF ($mmHg^2$)	3±0,9	5±0,3*
Índice alfa (ms/mmHg)	1,7±0.2	1,3±0.2*

Valores representando média ± erro padrão. Variância da pressão arterial sistólica (VAR PAS) e baixa freqüência da pressão arterial sistólica (LF). * $p < 0,05$ vs. WT-S.

7.1.6 Avaliação das Fibras Musculares

O grupo LDL-S apresentou menor distribuição de fibras do tipo I (37%) e maior distribuição de fibras do tipo II (59%) quando comparado ao grupo WT-S (Tipo I: 61% e tipo II: 34%). Além disso, não houve diferença significante em relação à distribuição de fibras tipo X (WT-S: 4±3 e LDL-S: 3±1 %) (Figura 14).

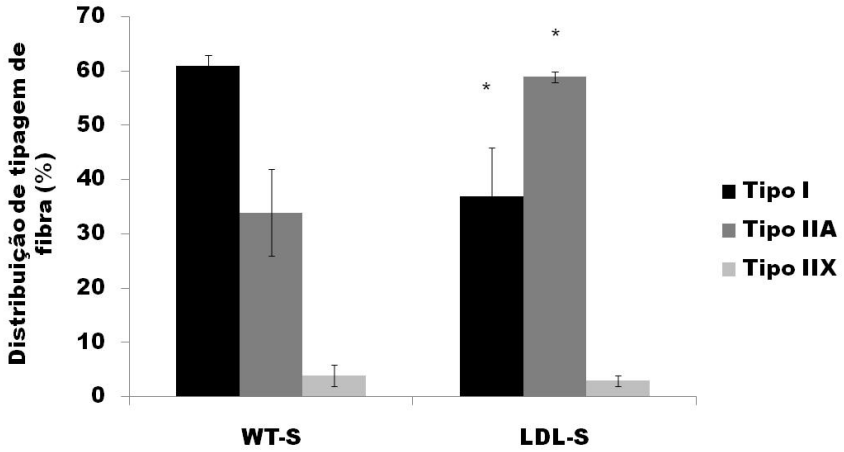

Figura 14. Distribuição de tipagem de fibras dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

A área de secção transversa das fibras do tipo I foi semelhante entre os grupos (WT-S: 230±8 e LDL-S: 247±10 μm^2). Em relação à área de secção transversa das

fibras do tipo II, observamos uma diminuição no grupo LDL-S (208±3 μm^2) em comparação ao grupo WT-S (245±3 μm^2) (Figura 15).

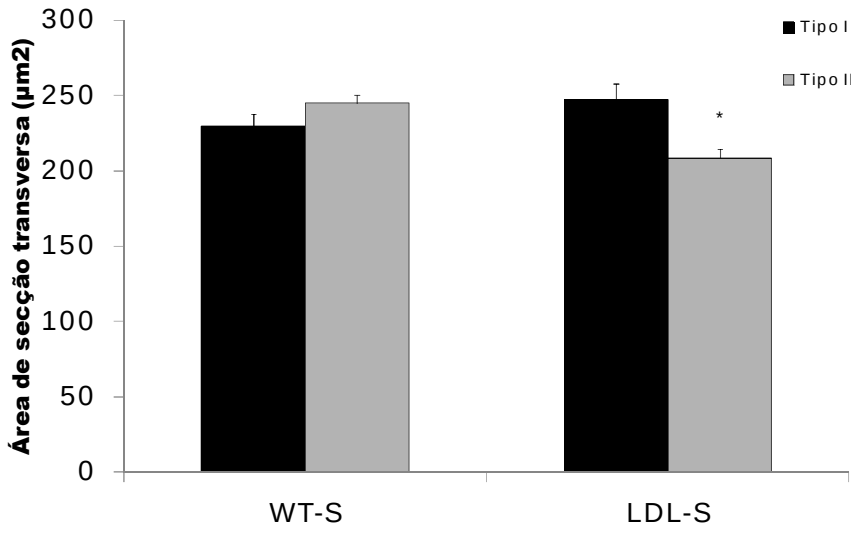

Figura 15. Área de secção transversa das fibras do tipo I e do tipo II dos grupos wild type sedentário (WT-S) e LDL sedentário (LDL-S). * p< 0,05 vs. WT-S.

Não houve diferença entre os grupos para razão capilar fibra (WT-S: 2±0,1 e LDL-S: 1±0,2).

7.2 -Parte II – Efeito do IM nos grupos WT e LDL.

7.2.1 Avaliações metabólicas

Assim como na Parte 1 de nossos resultados, somente o grupo WT não infartado apresentou aumento significante da massa corporal ao longo do protocolo (29±0,6g pré vs. 30±0,6g pós). O grupo WT infartado iniciou com 28±0,4g e terminou com 30±0,4g. O grupo LDL não infartado apresentou 26±0,6g no início e 25±0,6g no fim do protocolo e o grupo LDL infartado apresentou valores de 27±0,5g no início e 28±0,6g no final.

Os grupos WT e LDL infartados e não infartados iniciaram o protocolo experimental sem diferenças significantes entre eles.

Comparando os grupos WT com e sem infarto no final do protocolo, não foram observadas diferenças significantes entre eles e o mesmo aconteceu na comparação entre os grupos LDL com e sem infarto. Contudo grupo LDL não infartado apresentou massa corporal reduzida (25±0,6g) em relação ao grupo WT infartado (30±0,4g) e também em relação ao não infartado (30±0,6g).

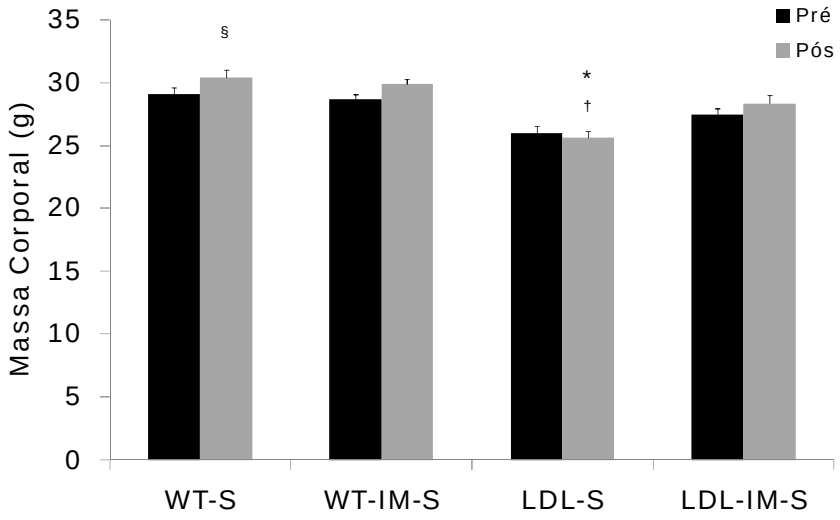

Figura 16: Massa corporal dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. *p < 0,05 vs. WT-S, † p<0,05 vs. WT-IM-S; §p<0,05 vs. WT-S pré.

7.2.2 Teste de Esforço.

A Figura 17 mostra a tolerância ao esforço dos grupos WT e LDL infartados e não infartados nos momentos pré e pós protocolo de treinamento.

Ao comparar os diferentes momentos intragrupo somente os animais infartados apresentaram queda de rendimento. Contudo, enquanto a queda de 13% no momento pós-treinamento não foi significante no WT-IM-S, no grupo LDL-IM-S a redução de 681±28s para 561±23s foi significante.

Comparando os grupos WT e LDL no momento pré-treinamento, verificamos que ambos os grupos infartados apresentaram redução da tolerância ao esforço em relação

aos grupos não infartados. O grupo WT infartado apresentou tolerância ao esforço de 616±27s e o LDL infartado de 681±28s enquanto que o grupo WT não infartado apresentou tolerância ao esforço de 860±18s.

O grupo LDL sem infarto também apresentou tolerância ao esforço superior (845±18,10s) aos grupos infartados (LDL-IM-S: 681±28s e WT-IM-S: 616±27s).

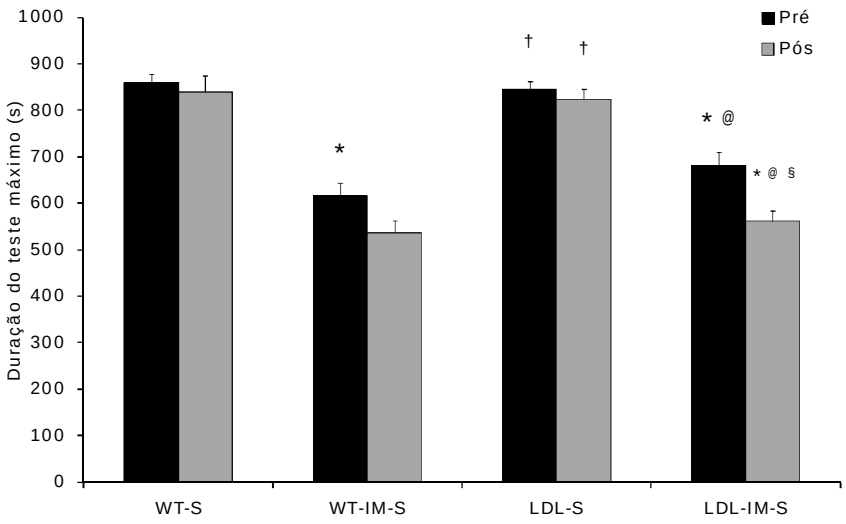

Figura 17. Capacidade física no início (pré) e ao final (pós) do protocolo dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S; @ p<0,05 vs. WT-IM-S; † p<0,05 vs. WT-IM-S; §p<0,05 vs. WT-S pré.

7.2.3 Avaliações Ecocardiográficas

Ambos os grupos iniciaram o protocolo com tamanho de infarto entre 30 e 50%. A função cardíaca analisada pelo ecocardiograma nos mostra que os grupos infartados apresentaram redução da fração de encurtamento (WT-IM-S: 22±2% e LDL-IM-S: 21±2%) em relação ao WT não infartado (31±2%) (Figura 18). Apesar de o grupo LDL infartado apresentar redução em relação ao LDL não infartado (21±2 vs. 26±1%, respectivamente) esta redução não foi significante. O grupo LDL-S apesar de apresentar valores inferiores em relação ao WT-S esta diferença também não foi significante.

A fração de ejeção apresentou comportamento semelhante à fração de encurtamento de modo que os grupos infartados (WT-IM-S: 44±3% e LDL-IM-S:39±5%) apresentaram valores significantemente reduzidos em relação ao WT sem infarto (59±3%). Como já visto na parte 1 deste trabalho, os grupos WT-S e LDL-S (55±1%) não apresentaram diferenças significantes (Figura 19).

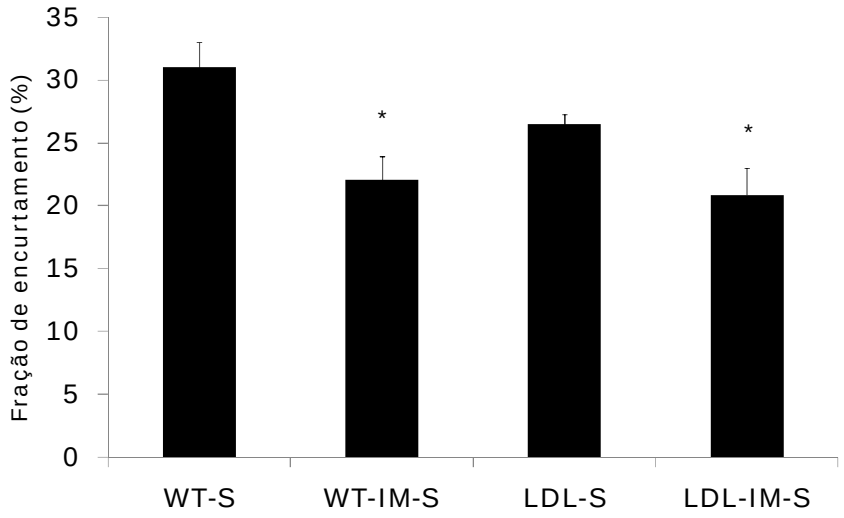

Figura 18: Fração de encurtamento dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S.

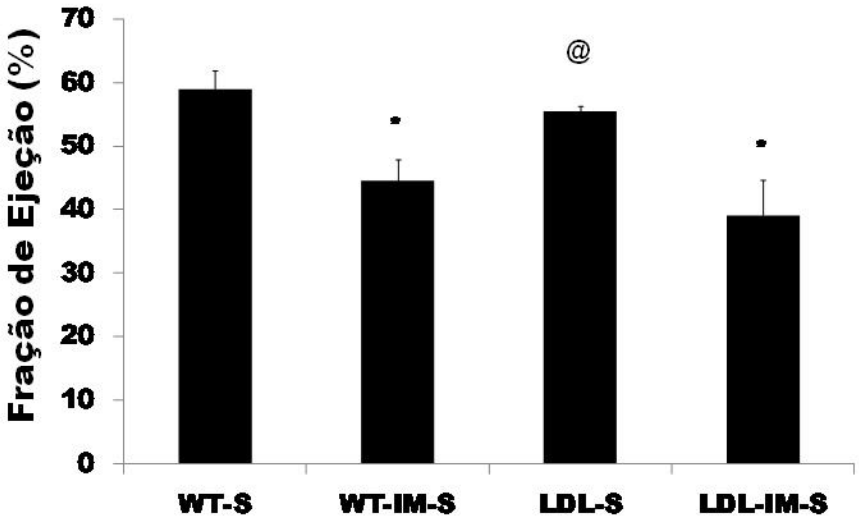

Figura 19: Fração de ejeção dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. wild type. * p< 0,05 vs. WT-S, @ p<0,05 vs. WT-IM-S.

Conforme demonstrado na Figura 20, o tamanho do infarto não foi diferente entre os grupos WT (29±4%) e LDL (20±5%) infartados.

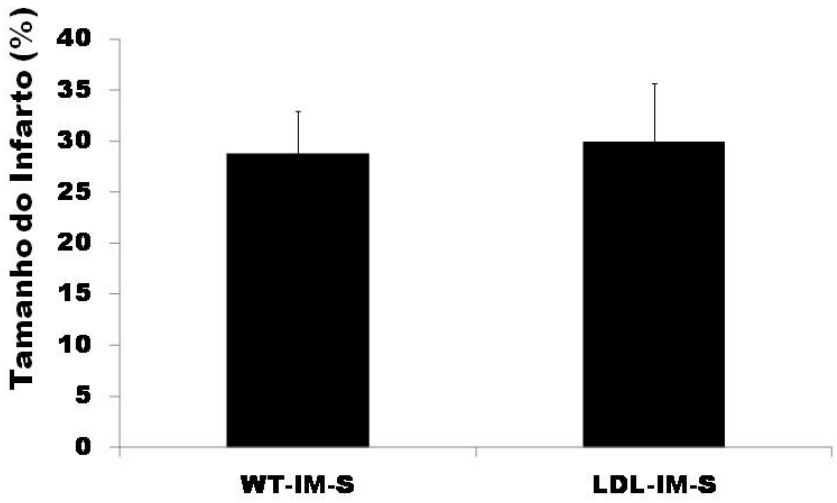

Figura 20: Tamanho do infarto dos grupos wild type infartado sedentário (WT-IM-S) e LDL infartado sedentário.

7.2.4 Avaliações hemodinâmicas

O infarto provocou diminuição da PAS e da PAD tanto no grupo WT quanto no LDL. Os animais LDL com ou sem infarto também apresentaram maiores valores pressóricos em relação aos seus respectivos controles do grupo WT. A FC não sofreu alteração com o IM em nenhum dos grupos (Tabela 6).

Tabela 6. Parâmetros hemodinâmicos dos grupos wild type (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário.

	WT-S	**WT-IM-S**	**LDL-S**	**LDL-IM-S**
PAS (mmHg)	119±2	107±3*	127±2†	122±2†
PAD (mmHg)	78±2	66±3*	93±1*†	81±3†@
PAM (mmHg)	87±5	82±2	105±1*†	95±2
FC (bpm)	554±9	545±8	545±18	551±14

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). * p< 0,05 vs. WT-S, † p<0,05 vs. WT-IM-S, @ p<0,05 vs. LDL-S.

7.2.5 Avaliações Autonômicas

7.2.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca

O infarto provocou diminuição da variância total to intervalo IP nos grupos WT e LDL (Figura 21). No perfil autonômico cardíaco, verificamos que o infarto provocou alterações semelhantes tanto no grupo WT quanto no LDL. Enquanto o componente LF

absoluto não apresentou diferenças, o componente HF absoluto foi menor nos animais WT e LDL infartados em relação aos grupos não-infartados. Ao normalizarmos esses parâmetros, observamos diminuição da porcentagem de HF em ambos os grupos infartados bem como aumento da porcentagem de LF e, consequentemente, do balanço autonômico para o coração após o infarto (Figura 22) (Tabela 7).

Tabela 7. Variabilidade da Frequência Cardíaca dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário.

	WT-S	**WT-IM-S**	**LDL-S**	**LDL-IM-S**
VAR IP (ms^2)	58±4	34±8*	44±4	20±5*@
LF (ms^2)	8±2	8±2	12±3	11±2
HF (ms^2)	22±5	4±1*	19±5	8±3
%LF (n.u.)	31±2	56±7*	41±2	61±5*@
%HF (n.u.)	69±2	44±7*	59±2	39±5*@
LF/HF	0,5±0,05	1,7±0,5*	0,7±0,06	1,7±0,3*

Valores representando média ± erro padrão. Variância do Intervalo IP (VAR IP), baixa freqüência (LF), alta freqüência (HF), balanço simpato/vagal (LF/HF). * $p< 0,05$ vs. WT-S, † $p<0,05$ vs. WT-IM-S, @ $p<0,05$ vs. LDL-S.

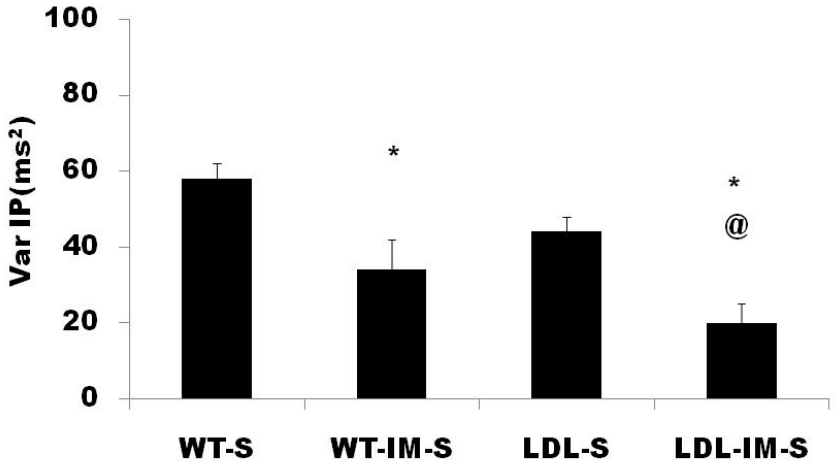

Figura 21. Variância do intervalo de pulso dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S, @ p<0,05 vs. LDL-S.

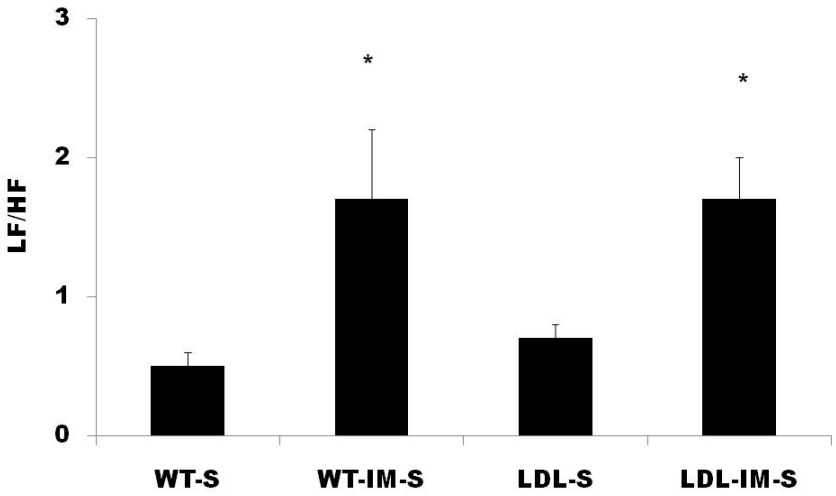

Figura 22. Balanço simpato/vagal dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S.

7.2.5.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice alfa

A variabilidade da PAS (Figura 23) foi maior no grupo LDL infartado do que no WT. O índice alfa, por sua vez, foi menor no grupo WT infartado em relação ao WT, enquanto o grupo LDL+IM também apresentou índice alfa (Figura 24) reduzido em relação ao grupo WT. Não houve diferença entre os grupos para o LF da PAS (Tabela 8).

Tabela 8. Variabilidade Pressão Arterial e índice alfa dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário.

	WT-S	**WT-IM-S**	**LDL-S**	**LDL-IM-S**
VAR PAS ($mmHg^2$)	12±1	18±5	32±10	40±11*
LF ($mmHg^2$)	3±0,5	6±0,9	5±0,3	8±1,0
Índice alfa (ms/mmHg)	1,7±0,1	0,9±0,1*	1,3±0,1	0,9±0,1*

Valores representando média ± erro padrão. Variância da pressão arterial sistólica (VAR PAS) e baixa freqüência da pressão arterial sistólica (LF). * $p < 0,05$ vs. WT-S.

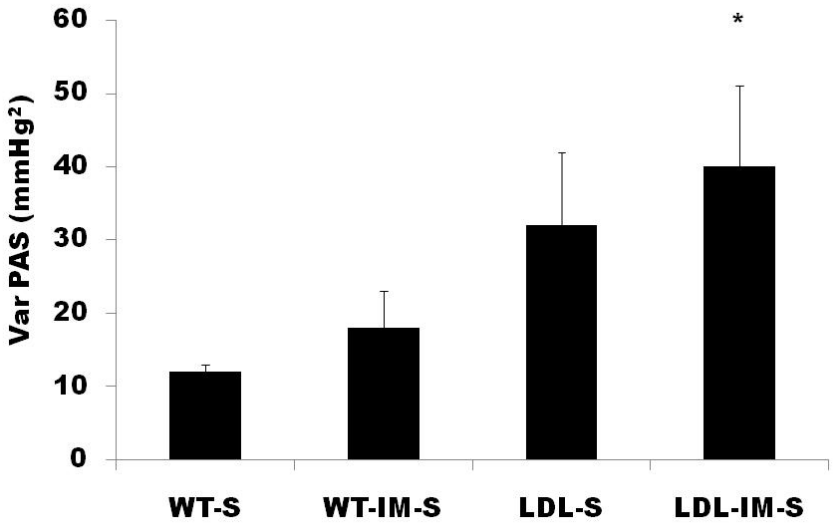

Figura 23. Variância da pressão arterial sistólica dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p<0,05 vs. WT-S.

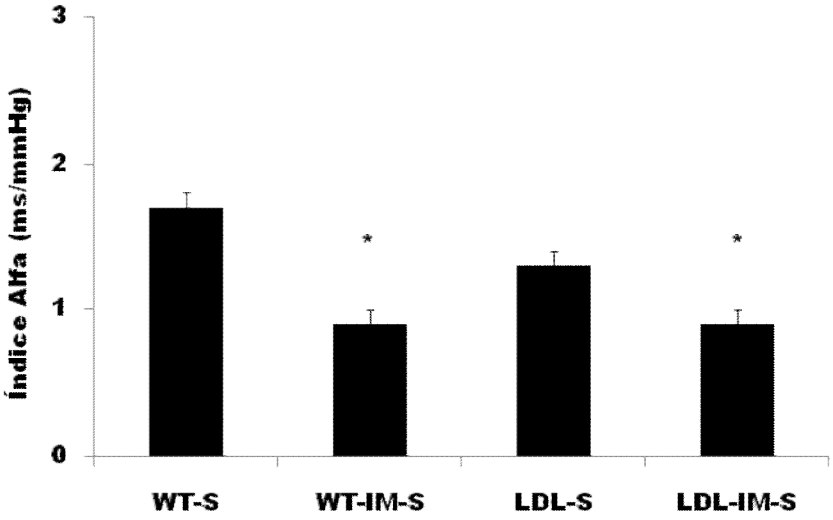

Figura 24. Índice alfa dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S.

7.2.6 Avaliação das Fibras Musculares

A avaliação morfométrica do músculo esquelético evidenciou que o infarto provocou redução das fibras do tipo I e aumento das fibras do tipo II nos animais WT. Nos LDL, o infarto não provocou alterações significativas nos tipos de fibra, no entanto, os grupos LDL, tanto infartados quanto não infartados, apresentaram menor contagem de fibras do tipo I e maior contagem de fibras do tipo II que os animais WT (Figura 25).

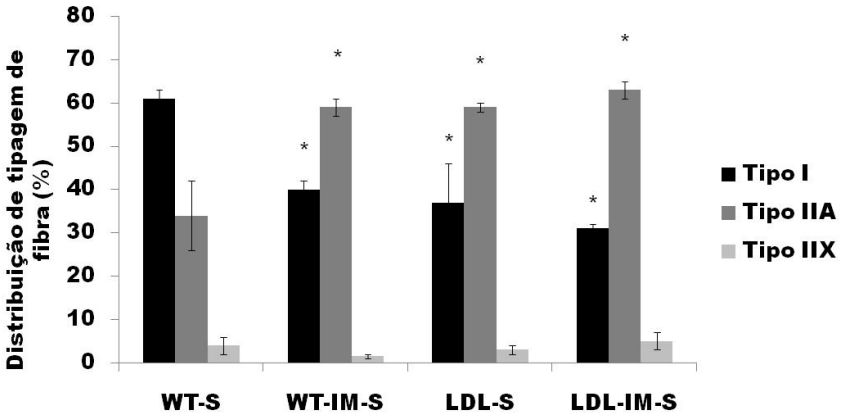

Figura 25. Distribuição de tipagem de fibras dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S.

A área de secção transversa das fibras do tipo I foi menor no grupo LDL+IM do que no LDL, enquanto a área de secção transversa das fibras do tipo II foi menor no grupo WT+IM do que no WT (Figura 25).

A razão capilar/fibra foi menor no grupo LDL-IM-S (1,1±0,1) comparado ao grupo WT-S (1,9±0,1). Os demais grupos não apresentaram diferenças significantes (WT-IM-S: 1,6±0,1 e LDL-S: 1,4±0,2) (Figura 26).

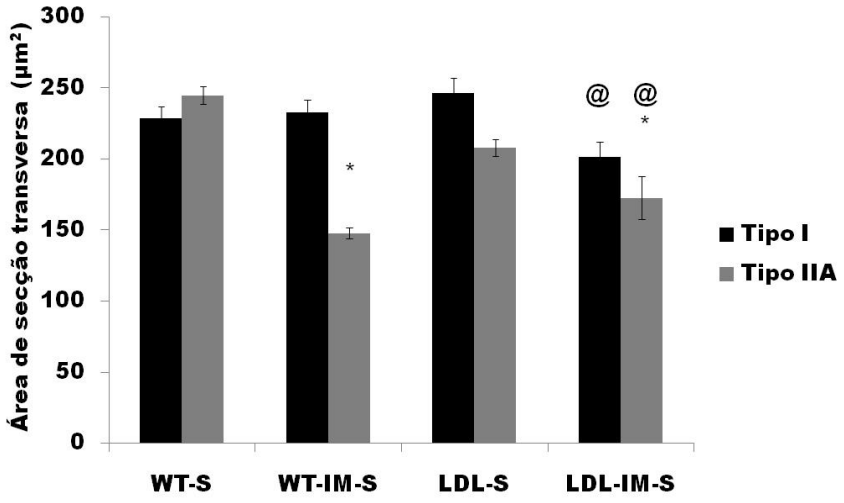

Figura 26. Área de secção transversa dos grupos wild type (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), LDL sedentário (LDL-S) e LDL infartado sedentário. * p< 0,05 vs. WT-S; @ p<0,05 vs. WT-IM-S.

7.3 Parte III – Efeito do treinamento contínuo ou intervalado nos grupos WT e LDL infartados

7.3.1 Avaliações metabólicas

Nas comparações entre os grupos WT sedentários, WT infartados e WT infartados e treinados em dois protocolos distintos (contínuo ou intervalado), verificamos que o grupo intervalado apresentou massa corporal inicial menor que o grupo não-infartado. Na semana final, o grupo intervalado também apresentou massa corporal menor que o não-infartado e o sedentário. Não houve diferença entre os diferentes protocolos de treinamento (Figura 27).

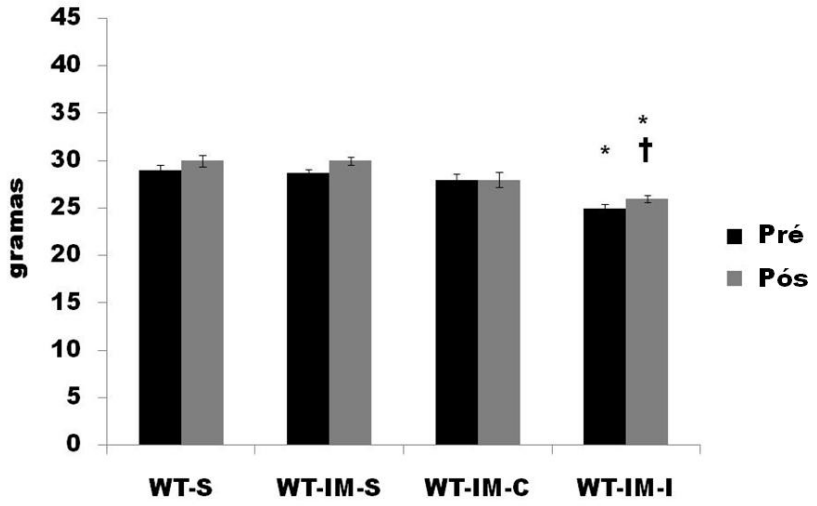

Figura 27. Massa corporal inicial (pré) e final (pós) dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento

contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). *p<0,05 vs. WT-S; † p<0,05 vs. WT-IM-S.

7.3.2 Teste de Esforço

Os resultados do teste de esforço máximo demonstraram que inicialmente (semana 1) os animais infartados partiram de valores inferiores aos não infartados. No entanto, os animais infartados que treinaram, independentemente do protocolo, apresentaram valores de tempo no teste de esforço máximo maiores que o sedentários ao final das 8 semanas (Figura 28).

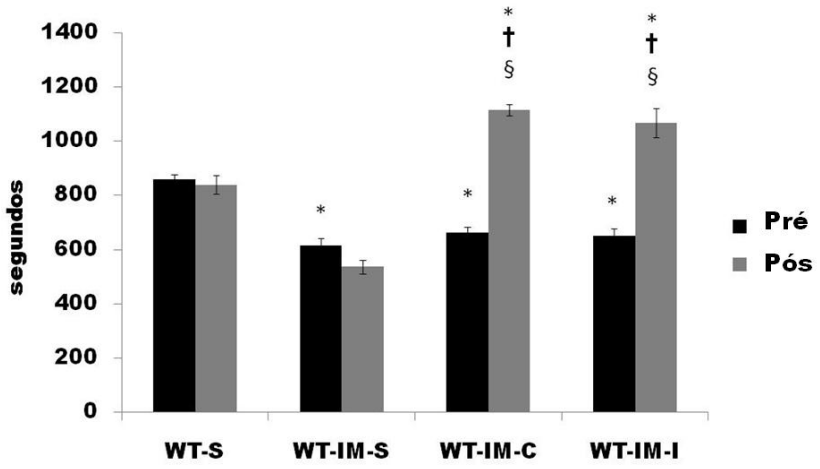

Figura 28. Tempo atingido no teste de esforço inicial e final dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) **e** wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). *p<0,05 vs. WT-S; †p<0,05 vs. WT-IM-S; §p<0,05 vs. inicial.

7.3.3 Avaliação Ecocardiográfica

A fração de ejeção (Figura 29) e a fração de encurtamento (Figura 30), avaliadas pelo ecocardiograma, apresentaram redução de seus valores nos grupos infartados em relação ao não-infartado, sem modificações pelo treinamento físico.

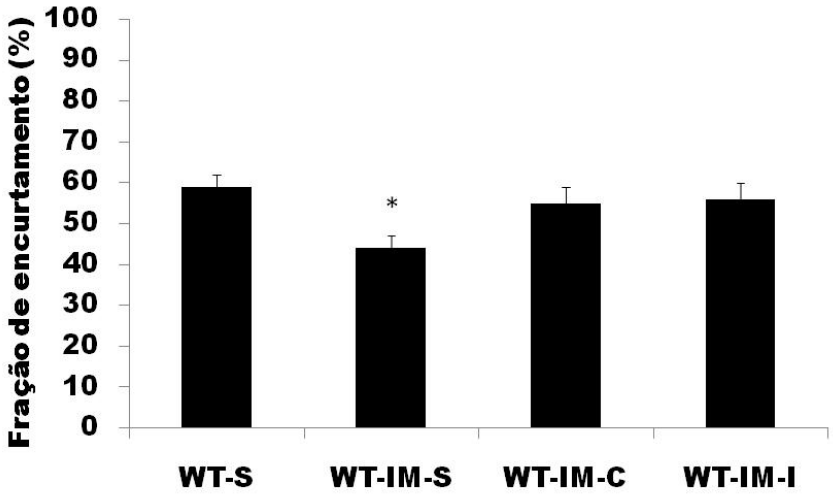

Figura 29. Fração de encurtamento (%) dos grupos wild type (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * p< 0,05 vs. WT-S.

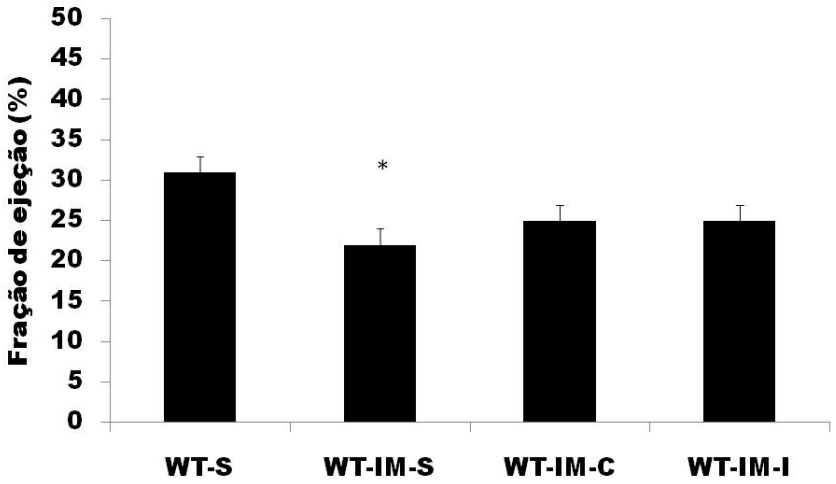

Figura 30. Fração de ejeção dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * p< 0,05 vs. WT-S.

7.3.4 Avaliação Hemodinâmica

A PAS e a PAD foram menores no grupo WT+IM-S após treinamento intervalado em relação aos demais. Somente o treinamento intervalado provocou bradicardia de repouso em relação aos demais grupos (Tabela 9).

Tabela 9. Parâmetros hemodinâmicos dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) **e** wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I).

	WT-S	**WT-IM-S**	**WT-IM-C**	**WT-IM-I**
PAS (mmHg)	119±2	107±3*	113±3†	118±4†
PAD (mmHg)	78±2	66±3*	80±3†	85±3†
PAM (mmHg)	87±5	82±2	91±3	96±4
FC (bpm)	554±9	545±8	532±9	484±25*†#

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). * $p< 0,05$ vs. WT-S, † $p<0,05$ vs. WT-IM-S, # $p<0,05$ vs. WT-IM-C**.**

7.3.5 Avaliação Autonômica

7.3.5.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca

Nenhum dos protocolos de treinamento provocou alterações na variância total do intervalo de pulso (Figura 31). Neste último, somente o infarto per se provocou uma redução quando comparado ao grupo não-infartado, conforme já descrito em capítulo anterior. Enquanto o infarto provocou um desequilíbrio autonômico conforme apresentado anteriormente, tanto o treinamento contínuo quanto o intervalado provocaram diminuição do componente LF normalizado e aumento do componente HF normalizado, todos em magnitudes semelhantes nos animais infartados WT em relação aos sedentários. Consequentemente, o balanço autonômico também foi reduzido após ambos os treinamentos nestes animais (Figura 32) (Tabela 10).

Tabela 10. Variabilidade da frequência cardíaca dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I).

	WT-S	**WT-IM-S**	**WT-IM-C**	**WT-IM-I**
VAR IP (ms^2)	58±4	34±8*	46±5	54±6
LF (ms^2)	8±2	8±2	6±1†	8±0,4
HF (ms^2)	22±5	4±1*	10±2†	19±1,5†
%LF (n.u.)	31±2	56±7*	38±1	30±2
%HF (n.u.)	69±2	44±7*	62±1	70±2
LF/HF	0,5±0,1	1,7±0,5*	0,6±0,03†	0,4±0,03†

Valores representando média ± erro padrão. Variância do Intervalo IP (VAR IP), baixa freqüência (LF), alta freqüência (HF) e balanço simpato/vagal (LF/HF). * $p< 0,05$ vs. WT-S, † $p<0,05$ vs. WT-IM-S.

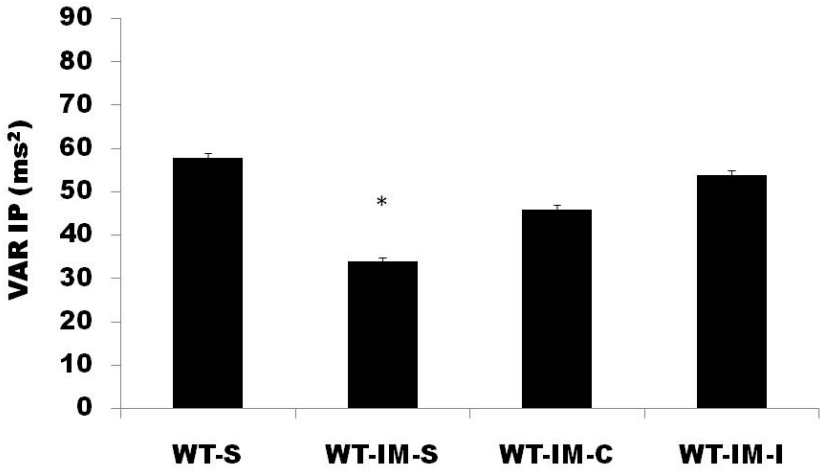

Figura 31. Variância do intervalo de pulso dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * p< 0,05 vs. WT-S.

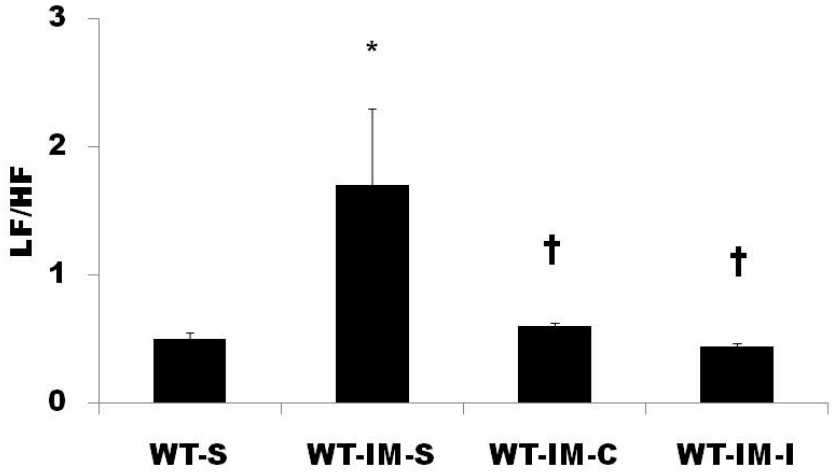

Figura 32. Balanço simpato-vagal dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * p< 0,05 vs. WT-S; †p<0,05 vs. WT-IM-S.

7.3.5.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice Alfa

Nenhum dos protocolos de treinamento provocou alterações na variabilidade da PAS (Figura 33) e no componente LF da PAS. Tanto o treinamento contínuo quanto o intervalado provocaram aumento do índice alfa, todos em magnitudes semelhantes, nos animais infartados WT em relação aos sedentários (Figura 334 (Tabela 11).

Tabela 11. Variabilidade da pressão arterial sistólica e índice alfa dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I).

	WT-S	**WT-IM-S**	**WT-IM-C**	**WT-IM-I**
VAR PAS ($mmHg^2$)	12±1	18±5	17±3	9±2
LF ($mmHg^2$)	3±0,5	6±0,9	4±1	3±0,4
Índice alfa (ms/mmHg)	1,7±0,1	0,9±0,1*	1,5±0,2†	1,5±0,2†

Valores representando média ± erro padrão. Variância da pressão arterial sistólica (VAR PAS) e baixa frequência da pressão arterial sistólica (LF). * $p< 0,05$ vs. WT-S, † $p<0,05$ vs. WT-IM-S.

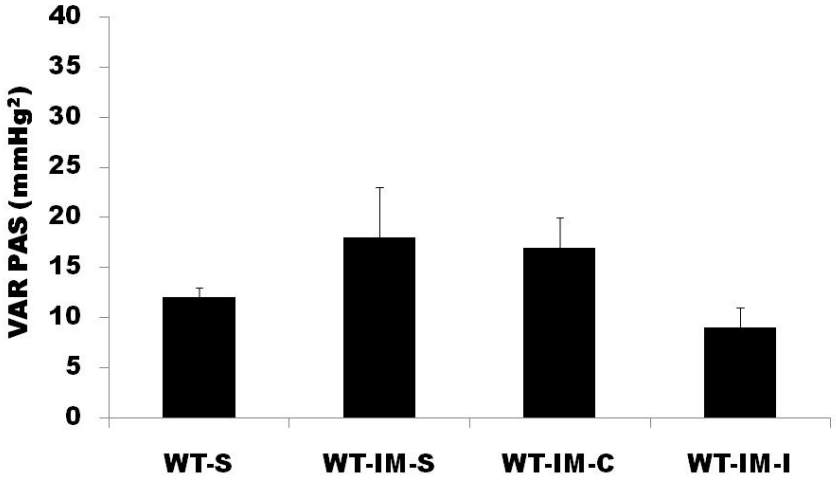

Figura 33. Variância da pressão arterial sistólica dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I).

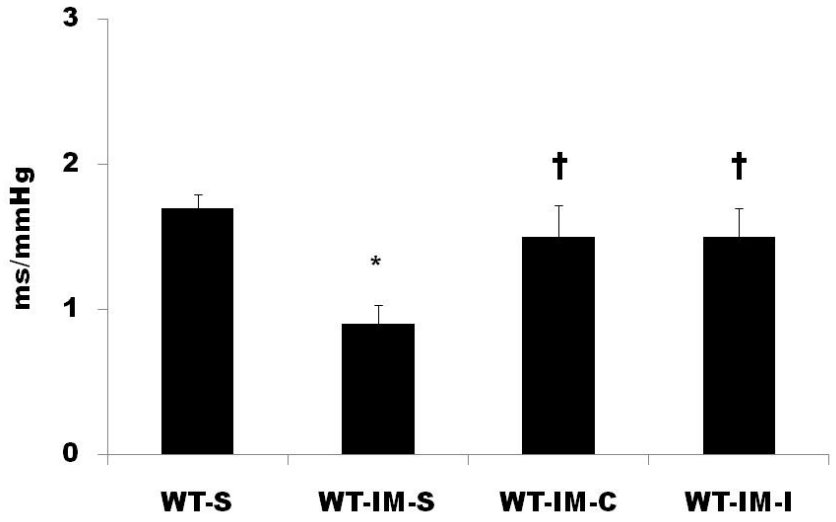

Figura 34. Índice alfa dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * $p < 0,05$ vs. WT-S; †$p<0,05$ vs. WT-IM-S.

7.3.6 Avaliação das Fibras Musculares

Na avaliação dos tipos de fibra muscular esquelética, foi observado que o infarto diminuiu a quantidade de fibras do tipo I, sem modificações neste parâmetro após o treinamento físico. Porém, o treinamento intervalado reduziu o número de fibras do tipo IIA em relação aos grupos sedentário e treinamento contínuo, bem como reduziu a quantidade de fibras do tipo IIX em relação aos sedentários e não-infartado (Figura 35).

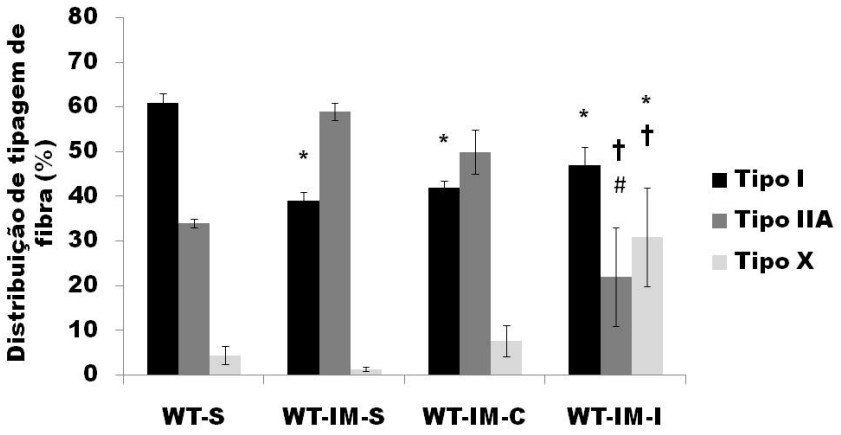

Figura 35. Distribuição de tipagem das fibras dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * p< 0,05 vs. WT-S, † vs. WT-IM-S, # vs. WT-IM-C.

A área de secção transversa das fibras do tipo I foi maior no grupo intervalado que no sedentário e no grupo sem infarto. Já a área de secção transversa das fibras do

tipo II foi maior menor no grupo intervalado em relação ao contínuo e sedentário, enquanto que o grupo treinamento contínuo foi menor que o sedentário (Figura 36).

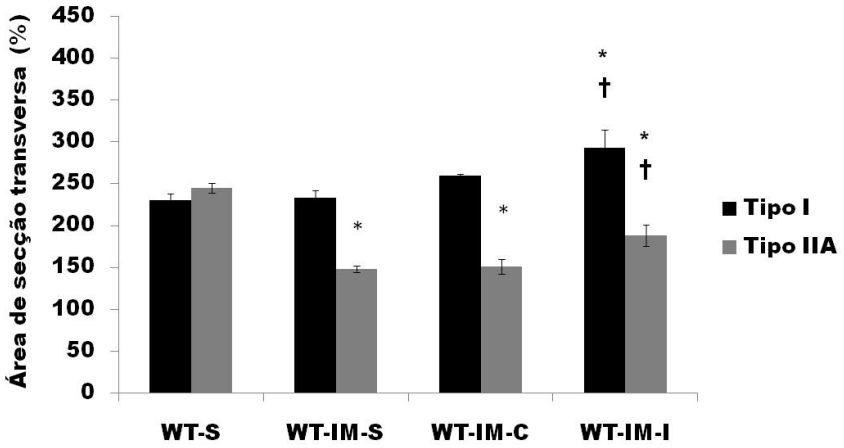

Figura 36. Área de secção transversa das fibras do tipo I dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I). * p< 0,05 vs. WT-S, † vs. WT-IM-S.

A razão capilar/fibra foi maior nos animais do grupo intervalado do que nos sedentários (WT-S: 1,8±0,1, WT-IM-S: 1,6±0,1, WT-IM-C: 2,1±0,1 e WT-IM-I: 2,3±0,2).

Efeitos do treinamento físico nos animais LDL *knockout* infartados

7.3.7 Avaliações Metabólicas

Dentre os animais LDL, a massa corporal inicial foi semelhante entre todos os grupos e, ao final das 8 semanas, o grupo intervalado apresentou peso menor que os infartados sedentários (Figura 37).

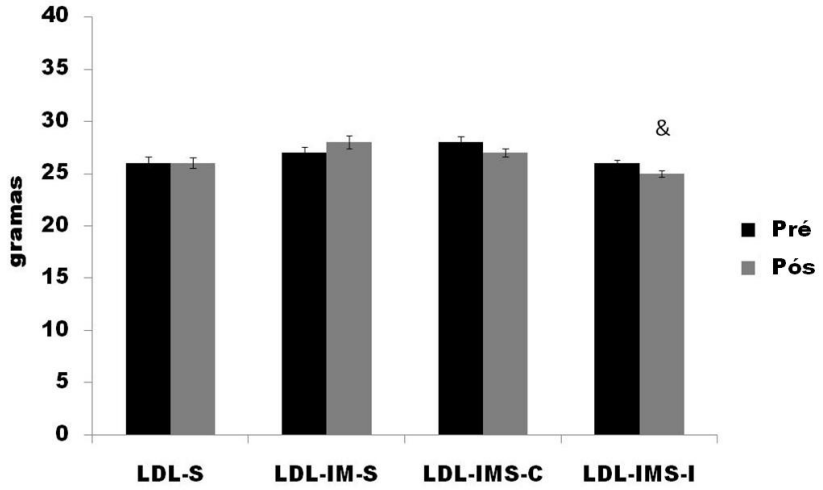

Figura 37. Massa corporal inicial (pré) e final (pós) dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I) & $p<0,05$ vs. LDL-IM-S.

O perfil lipídico nos grupos LDL, mostrou valores maiores de LDL e menores de VLDL no grupo contínuo em relação aos demais grupos.

Para o HDLtg (%), verificou-se que o grupo contínuo apresentou valores maiores em comparação aos não-infartados, o HDLc (mg e %) do grupo intervalado foi significativamente maior que o do grupo contínuo, sendo que o HDLc (mg) do intervalado foi, ainda, maior do que o grupo sedentário.

O total de triglicérides foi menor no grupo contínuo do que nos grupos não-infartado e sedentário (Tabela 12).

Tabela 12. Perfil lipídico dos grupos wild type sedentário (WT-S), wild type infartado sedentário (WT-IM-S), wild type infartado + treinamento contínuo (WT-IM-C) e wild type infartado + treinamento intervalado (WT-IM-I).

	LDL-S	**LDL-IM-S**	**LDL-IM-C**	**LDL-IM-I**
VLDLc%	15±1	15±1	5±1@&	12±1¥
LDLc%	51±1	50±1	65±1	50±1¥
HDLc%	33±2	35±1	30±1	37±1¥
TOTALc (mg)	344±12	348±7	352±13	380±19
VLDLc (mg)	53±4	51±3	19±2	48±3¥
LDLc (mg)	178±8	175±5	228±9@&	190±11
HDLc (mg)	113±4	121±4	150±7	142±8@¥
VLDLtg%	62±1	61±1	37±3@&	55±3¥
LDLtg%	35±1	34±1	55±3@&	39±2¥
HDLtg%	3±0,3	5±1	7±1	5±1@
TOTALtg (mg)	152±6	161±2	128±6@&	147±8
VLDLtg (mg)	94±5	98±1	47±4@&	82±7¥
LDLtg (mg)	52±2	54±2	70±5@&	57±4¥
HDLtg (mg)	5±5,5	5±0,9	10±2,2	8±1,0

Valores representando média ± erro padrão. @ p< 0,05 vs. LDL-S, & p<0,05 vs. LDL-IM-S; ¥p<0,05 vs. LDL-IM-C.

7.3.8 Teste de Esforço

No teste de esforço máximo, foi observado que os grupos infartados, inicialmente, apresentaram menor desempenho que o grupo não-infartado. Após as 8 semanas de treinamento, tanto o grupo contínuo quanto intervalado apresentaram melhor desempenho no teste comparados aos animais mantidos sedentários (Figura 38).

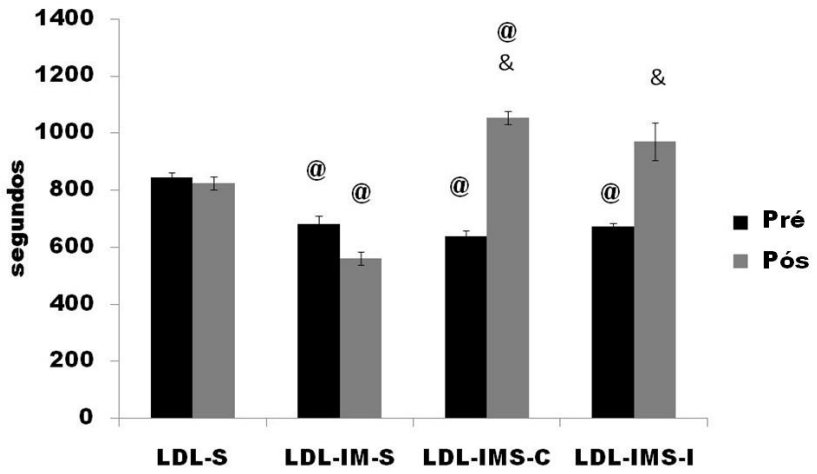

Figura 38. Tempo atingido no teste de esforço inicial e final dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I). @ p< 0,05 vs LDL-S, & vs. LDL-IM-S.

7.3.9 Avaliação ecocardiográfica

A fração de encurtamento avaliada pelo ecocardiograma apresentou redução de seus valores nos grupos infartados em relação ao não-infartado, sem modificações pelo treinamento físico (Figura 39). A fração de ejeção, embora tenha sido reduzida no grupo WT-IM-S em relação aos demais, não apresentou significância (Figuras 40).

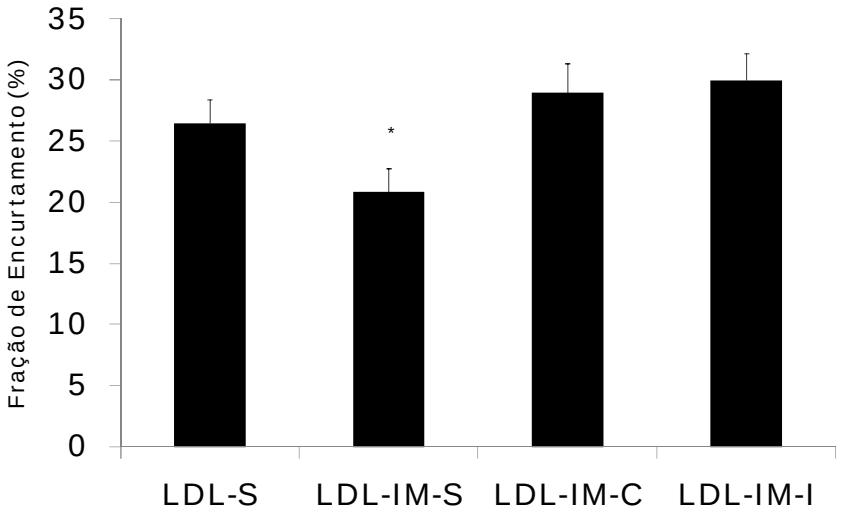

Figura 39. Fração de encurtamento dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I). * p< 0,05 vs LDL-S.

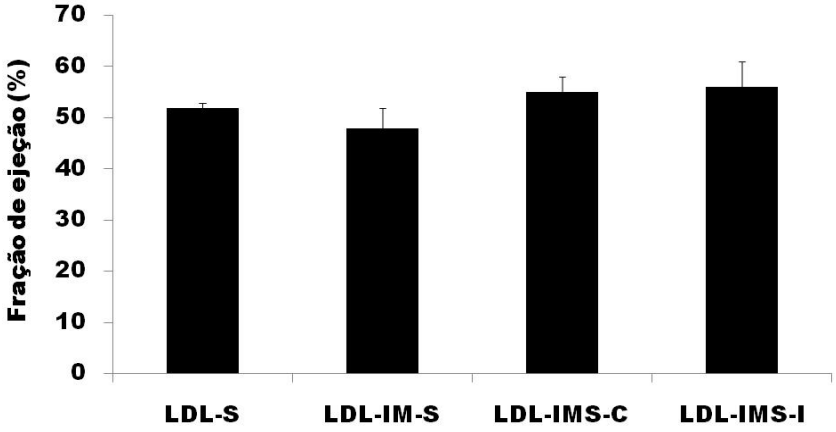

Figura 40. Fração de ejeção dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I).

7.3.10 Avaliação Hemodinâmica

A PA diastólica foi menor no grupo infartado sedentário em relação ao não-infartado, enquanto que o grupo intervalado apresentou PA diastólica maior do que o grupo contínuo. Somente o grupo intervalado diminuiu a FC de repouso em relação aos grupos sedentários (Tabela 13).

Tabela 13. Parâmetros hemodinâmicos dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I).

	LDL-S	**LDL-IM-S**	**LDL-IMS-C**	**LDL-IMS-I**
PAS (mmHg)	127±2	122±2	124±1	126±1
PAD (mmHg)	93±1	81±3@	83±2	97±3¥
PAM (mmHg)	105±1	95±2	97±1	106±2
FC (bpm)	545±18	551±14	520±13	480±22@&

Valores representando média ± erro padrão. Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). * p< 0,05 vs WT-S, & p<0,05 vs. LDL-IM-C.

7.3.11 Avaliação Autonômica

7.3.11.1. Variabilidade da Frequência Cardíaca

A variância total do intervalo de pulso foi maior que o grupo sedentário somente para o grupo intervalado (Tabela 14). Os componentes LF e HF absolutos para o coração não foram diferentes entre os grupos. Entretanto, o componente LF normalizado foi reduzido e o HF normalizado foi aumentado pelo treinamento

intervalado em relação ao grupo sedentário (Tabela 14). O balanço autonômico mostrou-se reduzido no grupo não-infartado em relação ao infartado sedentário e o grupo intervalado apresentou balanço autonômico menor do que o grupo sedentário.

Tabela 14: Variabilidade da freqüência cardíaca dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I).

	LDL-S	**LDL-IM-S**	**LDL-IM-C**	**LDL-IM-I**
VAR IP (ms^2)	44±4	20±5	43±6	55±9&
LF (ms^2)	12±3	11±2	16±4	14±6
HF (ms^2)	19±5	8±3	15±4	13±4
%LF (n.u.)	41±2	61±5	50±4	38±7&
%HF (n.u.)	59±2	39±5	50±4	62±7&
LF/HF	0,7±0,06	1,7±0,35@	1,1±0,16	0,9±0,22&

Valores representando média ± erro padrão. Variância do Intervalo IP (VAR IP), baixa freqüência (LF), alta freqüência (HF), balanço simpato/vagal (LF/HF). @ $p< 0,05$ vs LDL-S, & $p<0,05$ vs. LDL-IM-S.

7.3.11.2 Variabilidade da Pressão Arterial e Índice Alfa

A variabilidade da PAS e o componente LF da PAS não sofreram qualquer alteração. O índice alfa também não apresentou valores diferentes entre os grupos (Tabela 15).

Tabela 15: Variabilidade da pressão arterial dos grupos e índice alfa dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I).

	LDL-S	**LDL-IM-S**	**LDL-IM-C**	**LDL-IM-I**
VAR PAS (mmHg2)	32±10	40±11	12±4	13±6
LF (mmHg2)	5±0,5	8±1,0	2±0,3	2±0,5
ALFA LF (ms/mmHg)	1±0,1	1±0,1	2±0,4	2±0,5

Valores representando média ± erro padrão. Variância da pressão arterial sistólica (PAS) e banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica (LF).

7.3.12 Avaliação das Fibras Musculares

A análise morfométrica do músculo esquelético não evidenciou diferenças nos tipos de fibras (Figura 41) e nem em relação à razão capilar/fibra nos animais LDL.

Somente a área de secção transversa das fibras do tipo I foi aumentada após o treinamento intervalado em relação ao grupo sedentário (Tabela 16).

Tabela 16. Porcentagem por tipo de fibra, razão capilar/fibra e área de secção transversa dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I).

	LDL-S	**LDL-IM-S**	**LDL-IM-C**	**LDL-IM-I**
TIPO I (%)	37±5	31±1	38±3	36±2
TIPO IIA (%)	59±4	63±2	60±3	61±2
TIPO X (%)	3±1	5±2	2±1	2±1
AST T I (%)	247±10	203±10	258±15	286±18&
AST IIA (%)	208±6	173±15	176±2	185±5

Valores representando média ± erro padrão. & $p<0,05$ vs. LDL-IM-S.

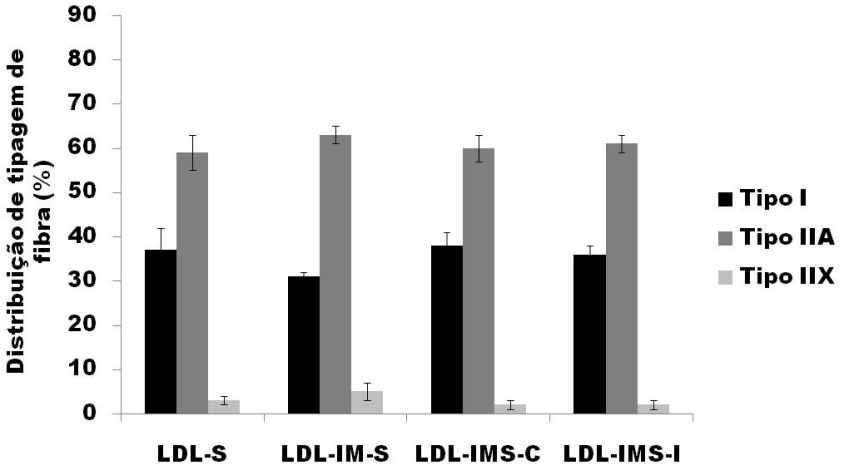

Figura 41. Distribuição de tipagem de fibras dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I).

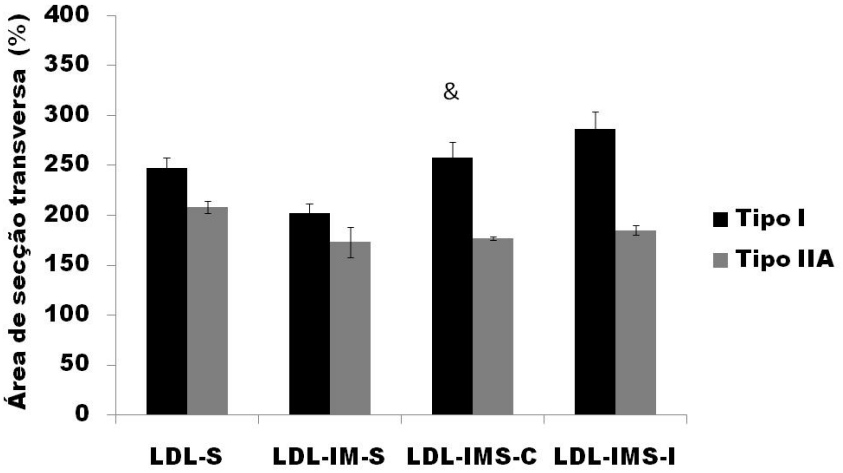

Figura 41. Área de secção transversa dos grupos LDL sedentário (LDL-S), LDL infartado sedentário (LDL-IM-S), LDL infartado + treinamento contínuo (LDL-IM-C**) e** LDL infartado + treinamento intervalado (LDL-IM-I). & p<0,05 vs. LDL-IM-S.

8 **DISCUSSÃO**

Embora a criação do modelo experimental de hipercolesterolemia utilizado no presente trabalho tenha ocorrido no início da década de 90, a literatura ainda é escassa quanto a sua caracterização. O presente trabalho procurou descrever funcional e fisiologicamente o modelo de hipercolesterolemia LDL-/- em relação aos animais WT. Adicionalmente analisamos os efeitos do infarto nestas duas linhagens e, por fim, verificamos os efeitos de dois tipos de TF na massa corporal, no perfil lipídico, na tolerância ao esforço, na função sistólica, nas variáveis hemodinâmicas, autonômicas e morfológicas do músculo sóleo.

8.1 - PARTE I – Efeitos do *knockout* do receptor LDL

Nossos resultados mostraram diferenças importantes entre os animais LDL-S quando comparados ao WT-S. Quanto à massa corporal, considerando que ambos os grupos iniciaram o experimento com mesma massa corpórea, era de se esperar que eles apresentassem o mesmo comportamento. Contudo, após os 120 dias de protocolo o grupo WT-S apresentou maior ganho de massa corporal. Esse achado sugere que as concentrações elevadas de colesterol e triglicérides encontradas nos animais LDL-S, possivelmente, alterem a regulação da fome e saciedade já que importantes vias deste mecanismo são dependentes do metabolismo de lípides (FANTINO 2011).

Embora não significante, observamos valores inferiores da função sistólica nos animais LDL-S em relação ao WT-S com concomitante aumento da pressão arterial, aumento da modulação simpática cardiovascular, redução da modulação parassimpática cardíaca e diferenças na expressão fenotípica das fibras tipo I e tipo II.

Assumindo que os grupos WT e LDL inicialmente possuíam apenas as concentrações sanguíneas de colesterol e triglicérides como discrepância entre eles, seria possível hipotetizar que a hipercolesterolemia seria o desencadeador ou a percussora das demais alterações.

Em um estudo com humanos Christensen (1999) sugeriram que o sistema nervoso autônomo seria o fator de maior influência da VFC e os lipídeos plasmáticos, contudo, para Palatini et al. (2006), os mecanismos de associação entre a concentração de lipídeos plasmáticos, hipertensão arterial e atividade simpática ainda não estão totalmente elucidados.

Evangelho et. al (2011) descreveram pela primeira vez a associação entre a concentração plasmática de colesterol e a modulação autonômica de camundongos LDL-/-. Os autores sugerem que a magnitude da concentração do colesterol seria o fator determinante da modulação simpática cardíaca e vascular, contudo não notaram diferença de pressão arterial, mesmo com animais apresentando disfunção barorreflexa.

Assim como no presente trabalho, Campos et. al (2008) encontraram diferenças importantes na sensibilidade barorreflexa e na pressão arterial de animais LDL em relação aos controles. O mesmo foi observado por Trieu e Uchun (1998) que encontraram hipertensão arterial em animais LDL-/- quando comparados a camundongos transgênicos para expressão de APO-A e aos WT.

Um dos possíveis mecanismos que podem explicar a disfunção barorreflexa e autonômica é o estresse oxidativo. Stroes et. al. (1995) demonstraram que a hipercolesterolemia, está fortemente associada com deficiência de óxido nítrico (NO) pela diminuição da biodisponibilidade e da atividade de NO sintase (NOS) e,

consequentemente, da vasodilatação dependente do endotélio. Sob estas condições haveria queda da sensibilidade barorreflexa, aumento da atividade simpática e elevação dos níveis pressóricos para manutenção de fluxo local.

Outros estudos também já demonstraram associação entre hipercolesterolemia, estresse oxidativo, redução da sensibilidade barorreflexa (CHOWDHARY et al., 2000; TRAVAGLI e GILLIS, 1994; PEHLIVANIDIS et al. 2001).

É sabido que o aumento da atividade simpática periférica também pode prejudicar a estrutura e a função do músculo esquelético. Neste caso, a hiperatividade simpática observada no grupo LDL pode ter sido a responsável pelas alterações encontradas na diferença de distribuição fenotípica das fibras tipo I e tipo II.

Até onde sabemos este é o primeiro estudo que descreveu a distribuição fenotípica das fibras musculares em camundongos LDL-/-. Entretanto, outros estudos experimentais verificaram mudanças semelhantes às encontradas por nós, tanto em ratos hiperlipidêmicos (Nagatomo et al., 2009) quanto em camundongos com insuficiência cardíaca provocada por hiperatividade simpática (BACURAU et al., 2009).

Apesar das alterações musculares encontradas entre o grupo WT e LDL, não encontramos diferenças significantes na tolerância ao esforço entre o grupo WT e LDL nas condições pré e pós. Esta falta de diferença pode ser explicada por mecanismos compensatórios metabólicos. Neste aspecto, ainda não existe consenso na literatura sobre o papel da dislipidemia no desempenho físico, pois enquanto Maxwell et al. (2009) verificaram declínio da capacidade física em animais com hipercolesterolemia, Stapleton et al. (2007) sugerem que com o desenvolvimento da hipercolesterolemia,

pode ativar mecanismos compensatórios no músculo esquelético preservando a capacidade funcional.

8.2 PARTE II – Efeitos do infarto do miocárdio

Neste protocolo, nosso objetivo foi avaliar os efeitos do infarto do miocárdio, induzido pela ligadura da artéria coronária, nos animais controle e LDL. Verificamos inicialmente que o infarto não provocou alterações no ganho de peso corporal e aquelas observadas quando comparamos os animais WT e LDL para esta variável foram discutidas no capítulo anterior.

Já a tolerância ao esforço sofreu importante redução nos grupos infartados. Bigi et al. (2001) demonstraram uma reduzida capacidade de esforço, de consumo máximo de oxigênio e uma correlação positiva entre a queda do consumo máximo de oxigênio e o limiar anaeróbico em pacientes após evento isquêmico. Embora a área de infarto tenha sido semelhante, os animais LDL tiveram redução maior neste parâmetro em relação aos normocolesterolêmicos. Essa redução era esperada, uma vez que o infarto provoca diminuição da função ventricular e, cronicamente, leva à insuficiência cardíaca. (RODRIGUES ET. AL. 2011).

Em pacientes com disfunção ventricular, a intolerância ao esforço é uma manifestação clínica bastante comum que se correlaciona com o grau de disfunção cardíaca e a severidade da doença (NEGRÃO E MIDDLEKAUFF, 2008). De fato, no presente estudo, observamos que tanto a fração de ejeção quanto a fração de encurtamento foram menores nos grupos WT e LDL infartados em relação aos não infartados.

A magnitude dessas alterações da função ventricular foi semelhante nos animais WT e LDL infartados e contrapõem estudos prévios que relatam função ventricular piorada em animais com hipercolesterolemia após IM (Van CRAEYVELD et al., 2012)

Portanto, a maior redução na tolerância ao esforço, neste caso, não pode ser atribuída às alterações cardíacas.

Sabe-se também que o infarto do miocárdio provoca adaptações crônicas não só do músculo cardíaco como também do músculo esquelético. Alterações mitocondriais que reduzem a capacidade oxidativa muscular esquelética podem ter efeito considerável na intolerância ao esforço (ROYER et al., 2007) . Rolim et al. (2006) demonstraram que 5 semanas de oclusão coronariana em ratos provocaram redução no consumo máximo de oxigênio e no débito cardíaco, o que limita o transporte de oxigênio para a musculatura esquelética promovendo um desbalanço entre a oferta e a necessidade de oxigênio diante dos incrementos do teste de esforço máximo. Além disso, mudanças no tipo de fibra muscular (do tipo I para o tipo II) e a redução da massa muscular, além da reduzida vasodilatação periférica, podem contribuir para o decréscimo da capacidade de esforço em indivíduos com insuficiência cardíaca (NEGRÃO e MIDDLEKAUFF, 2008).

Em nosso estudo, corroborando achados da literatura, verificamos uma diminuição das fibras musculares esqueléticas do tipo I e aumento das fibras do tipo II nos animais infartados, tanto WT quanto LDL. Vale ressaltar que os animais LDL já apresentavam um padrão de fibras musculares diferente dos animais WT, com predomínio das fibras do tipo II. Diferente dos animais WT, o infarto nos LDL provocou diminuição da razão capilar/fibra na musculatuta esquelética, o que pode representar uma menor capacidade de distribuição de fluxo sanguíneo para a musculatura ativa. Em paralelo, os animais LDL infartados apresentaram diminuição das áreas de secção transversa tanto das fibras do tipo I quanto das fibras do tipo II quando comparados ao LDL não infartado, enquanto o grupo WT apresentou diminuição da área de secção transversa em relação ao WT sem infarto somente para as

fibras do tipo II. Dessa forma, nossos resultados sugerem que a intolerância ao esforço verificada nos animais LDL pode ser determinada mais por alterações da musculatura esquelética e do que do coração. Alterações cardíacas poderiam determinar uma hipótese inicial para o maior prejuízo do grupo LDL, já que estes animais, por apresentaram hipercolestrolemia severa precoce, possuem maior risco de formação de placas ateroscleróticas, caracterizando a doença coronariana (WANG et al., 1998)

Já é conhecido que o IM esta associado a hipotensão, tanto em humanos (Grassi& Mancia, 1994) quanto em animais de experimentação. Mill et al. (1997) observaram hipotensão em ratos avaliados com 30 dias de IM, sendo esta também observada por Koike et al. (1996) com 8 dias pós-IM.

De Angelis et al. 2001 demonstraram reduzida PA e FC em animais com 8 semanas de IM. Por outro lado, existem estudos que mostram que ratos submetidos ao IM, não apresentam hipotensão e bradicardia 7 e 15 dias apos o procedimento cirúrgico, mantendo-se em níveis próximos a normalidade (Mill et al., 1997).

Essa hipotensão arterial poderia ser atribuída a algum grau de comprometimento do coração isquêmico, com consequente redução do debito cardíaco e/ou a redução da atividade simpática periférica sobre os vasos de resistência. Vale lembrar que a atividade simpática periférica pode ser regulada diferencialmente em diversos territórios, obedecendo a regulação de vários fatores neuro-humorais ajustados local ou sistemicamente, por meio de reflexos comandados por diferentes receptores (HUANG et al., 2009)

A FC também não sofreu alteração estatística nos animais infartados em relação aos não infartados e corrobora com achados de (TSUTSUMI et al., (2008) que não encontraram diferenças significantes na FC em camundongos com insuficiência cardíaca induzida por IM pela mesma cirurgia realizada po nós no presente estudo.

Lacerda, 2000 verificaram quadro de taquicardia em ratos com apenas um dia de IM (LACERDA, 2000). O mesmo trabalho mostrou que a taquicardia pode ser substituída pela bradicardia em 7 dias após o IM e que essa bradicardia pode representar um mecanismo de ajuste frente ao miocárdio lesado, com redução da demanda metabólica e aumento do tempo de enchimento diastólico, levando à maior distensão do ventrículo esquerdo com consequente aumento da força de contração. Essas adaptações hemodinâmicas e autonômicas do coração infartado levam a um estado de maior risco de sofrer complicações como arritmias e morte súbita (BALDO et al. (2012)

Evidenciou-se que a disautonomia por hiperatividade adrenérgica, poderia estar acompanhada de hipoatividade vagal, expressa por redução da variabilidade do intervalo RR e da sensibilidade do barorreflexo (MOSER et al., 1994). A partir de sua associação com morte súbita (WOLF et al., 1978) e da publicação de evidências experimentais (BILLMAN et al., 1982) e clínicas (KLEIGER et al., 1984) do seu valor prognóstico, a hipoatividade vagal passou a ser considerada um fator de risco independente para morte súbita no período pós-infarto (LEVY et al., 1994). De fato, verificamos que os animais infartados apresentaram diminuição do componente de alta freqüência (HF) em relação aos não infartados. Adicionalmente, o componente de baixa freqüência foi aumentado nos grupos infartados, caracterizando a hiperatividade simpática pós-infarto do miocárdio, como aumento do balanço autonômico (Mostarda et al 2010).

Outro parâmetro autonômico também merece destaque. O controle barorreflexo da circulação é um dos mais importantes mecanismos de controle momento a momento da pressão arterial. De fato, o controle da variabilidade da pressão arterial e da frequência cardíaca pelo barorreflexo é a chave para a homeostase fisiológica. Isso é demonstrado clinicamente em estudos que mostraram que o prejuízo da função

barorreflexa é um fator de risco independente para morte súbita em pacientes pós-infarto do miocárdio (LA ROVERE et al., 1998). O prejuízo da habilidade para adequadamente regular a FC durante mudanças na PA tem sido atribuído a algumas alterações na atividade cardíaca parassimpática (RONDON et al., 2006). No presente estudo, observamos importante diminuição da variabilidade do intervalo de pulso e do índice alfa após o infarto em ambos os grupos, WT e LDL, caracterizando uma importante disfunção autonômica. No entanto, o grupo LDL infartado apresentou, ainda, aumento da variabilidade da pressão arterial, o que não foi visto no grupo WT infartado. Alterações na variabilidade da PA inferem uma perfusão inadequada dos órgãos e é indicativo de maior lesão de órgãos alvo (MIAO e SU, 2006). Neste caso, considerando o estado de hipercolesterolemia severa e precoce destes animais Ishibashi et. al. (1993) é de se esperar uma consequente doença arterial cardíaca e periférica, com formação de placas em diferentes leitos arteriais, o que dificulta a perfusão adequada e leva a alterações das respostas vasculares dos diferentes leitos arteriais. Assim, enquanto o grupo normocolesterolêmico infartado apresenta prejuízos hemodinâmicos, autonômicos e da musculatura esquelética trivialmente caracterizados na literatura, o grupo LDL após o infarto, apresenta prejuízo adicional da musculatura esquelética e do controle autonômico da circulação.

8.3 PARTE III – Efeitos do treinamento físico contínuo ou intervalado no infarto do miocárdio

Nesta última parte do estudo, comparamos os efeitos do treinamento físico aeróbico contínuo *versus* intervalado em diferentes variáveis após o infarto do miocárdio em animais WT e LDL.

O peso corporal após o treinamento intervalado, tanto nos WT quanto nos LDL infartados, foi menor do que nos infartados sedentários. Isso demonstra que este treinamento foi mais eficaz na redução de peso corporal do que o treinamento contínuo. Deste modo, considerando que ambos os treinamentos possuíam mesma média de intensidade e duração e, em teoria, o mesmo trabalho e, portanto, o mesmo gasto calórico, é provável que a explicação para tal redução também esteja no fato de o exercício intenso modular de forma diferenciada os mecanismos de fome e saciedade. Apesar de esta ser uma hipótese interessante, vale destacar que a literatura ainda não descrevu claramente os mecanismos relacionados entre diferentes práticas de treinamento e o balanço calórico. (GORDON et al., 2006; Da MOTA e ZANESCO et al., (2007).

Para o perfil lipídico, estudado somente nos animais LDL, também observamos efeitos do treinamento físico. Estudos anteriores demonstram que animais LDL Knockout apresentam elevada concentração de colesterol e triglicérides sanguíneos quando submetidos a uma dieta normal ou hiper-lipídica (JANSSEN et al., 2000). Assim, é relevante enfatizarmos que as alterações verificadas no perfil lipídico dos animais LDL justificam a utilização dos mesmos para como um modelo experimental de dislipidemia. Dados anteriores do nosso laboratório ainda não publicados demonstram que camundongos LDL, sob dieta normal, apresentam valores de colesterol similares a humanos com hipercolesterolemia. De fato, nossos resultados no presente projeto mostram valores de colesterol total em torno de 250 mg/dL no grupo LDL sedentário ao final do protocolo. Esses valores de colesterol estão próximos dos valores

reconhecidos como prejudiciais para saúde humana, e podem induzir danos nas paredes do leito arterial do animal com características semelhantes às verificadas nas artérias de humanos (OHASHI ET AL., 2003).

Em concordância com o esperado, ambos os protocolos de treinamento induziram aumento na capacidade física em relação aos sedentários tanto no grupo WT quanto no LDL. Como já demonstrado anteriormente por Rodrigues et al. (2007), a velocidade máxima atingida no teste de esforço máximo apresenta importante correlação positiva (r= 0,83) com o VO2 máx. em ratos. Desta forma, quanto maior a velocidade atingida no teste de esforço máximo, maior será o VO2 de cada animal e conseqüentemente maior será a capacidade física. Estudos anteriores do nosso laboratório já tinham demonstrado a efetividade do treinamento contínuo em camundongos machos (De ANGELIS et al., 2004). Nesse sentido, podemos afirmar que tanto o treinamento contínuo quanto o intervalado foram eficazes em aumentar a capacidade física nos animais normo e nos hipercolesterolêmicos.

Diversas adaptações cardíacas, autonômicas e periféricas respondem por esta melhora na capacidade física. Embora o treinamento aeróbico, tanto contínuo como intervalado, seja conhecido por melhorar o desempenho cardíaco, com adaptações morfológicas e funcionais (MORAES-SILVA et al., 2013), no presente estudo, não encontramos diferenças nem na fração de ejeção e nem na fração de encurtamento após o treinamento físico em nenhum dos grupos, WT ou LDL. Descartada a função cardíaca, observamos que algumas melhoras em parâmetros do controle autonômico cardiovascular podem ter tido papel primordial na melhora do desempenho.

Nos animais WT treinados, tanto no protocolo contínuo quanto no intervalado, houve aumento do componente de alta freqüência (parassimpático), com conseqüente melhora do balanço autonômico e aumento do índice alfa, marcador do barorreflexo

espontâneo. Moraes-Silva et al. (2010) demonstraram que a integridade do reflexo barorreceptor é fundamental para que o treinamento físico aeróbio promova adaptações benéficas nos sistemas cardiovascular e autonômico. Como o infarto induziu prejuízo na função autonômica e o treinamento físico promoveu uma melhora destes parâmetros, podemos inferir que um melhor controle autonômico da circulação, seja durante o exercício ou mesmo no repouso, auxiliou na melhora do desempenho frente ao teste de esforço máximo. Nos LDL, também observamos melhora no perfil autonômico, com predominância do aumento da modulação vagal e aumento da variabilidade do intervalo de pulso. No entanto, embora não tenha sido observada diferença no índice alfa, não podemos descartar a hipótese de melhora da sensibilidade barorreflexa com o treinamento físico nestes animais. O índice alfa, por ser uma medida indireta do barorreflexo espontâneo, e por serem os animais LDL um grupo já com prejuízo neste parâmetro (CAMPOS et al. 2008) pode não ter sido o método mais sensível para detectar tais mudanças. No entanto, Heeren et al. (2009) demonstraram que o treinamento físico em fêmeas LDL ooforectomizadas induziu melhora na sensibilidade barorreflexa avaliada por infusão de drogas vasoativas. Dessa forma, similarmente à explicação dada aos animais WT, podemos sugerir que uma melhora no barorreflexo também poderia explicar o melhor desempenho destes animais no teste de esforço máximo (VORLUNI e VOLIANITIS 2010).

De fato, descrições prévias de que a sensibilidade da via aferente barorreflexa aumenta significativamente com o treinamento físico, podem ser consideradas como um dos mecanismos responsáveis pelas adaptações neurogênicas induzidas pelo treinamento físico (BRUM et al., 2000, KRIEGER et. al. 1999). Com a melhora da via aferente barorreceptora, maior a frequência de descarga dos aferentes e, portanto, maior o número de informações recebidas pelo sistema nervoso central. Esses achados

justificam um melhor controle da PA, com aumento da variabilidade da FC e diminuição da variabilidade da PA, nessa situação. Resultados similares foram encontrados em pacientes hipertensos treinados (LATERZA et al., 2007), dando suporte à ideia de que as adaptações barorreflexas do treinamento físico induzem redução da atividade simpática e aumento da modulação vagal para o coração, o que também está relacionado à bradicardia de repouso (KRIEGER et al., 1999).

De Angelis et. al (2004) também verificaram melhora dos parâmetros autonômicos com a pratica de exercício aeróbio em camundongos WT treinados em relação aos seus controles.

Os grupos WT e LDL do protocolo intervalado apresentaram diminuição da FC de repouso em relação a seus pares sedentários, provavelmente associado ao aumento da modulação vagal, e a melhora na modulação simpática após o período de treinamento físico. Esta melhora da modulação cardíaca pós treinamento pode também estar associada ao aumento da variância do intervalo de pulso, verificado no grupo LDL, já que o aumento da VFC está relacionada a uma resposta neural de aumento da atividade do sistema nervoso parassimpático (TASK FORCE, 1996).

Como já descrito anteriormente, na avaliação dos tipos de fibra muscular esquelética, foi observado que o infarto diminuiu a quantidade de fibras do tipo I, sem modificações neste parâmetro após o treinamento físico. Esse achado corrobora com estudos prévios que indicam aumento da distribuição de fibras tipo II em ratos com insuficiência cardíaca (SIMONINI et al. 1996).

O treinamento intervalado reduziu o número de fibras do tipo II em relação aos grupos sedentário e treinamento contínuo, bem como reduziu a quantidade de fibras do tipo II-X em relação aos sedentários e não infartados. Uma justificativa para esta diferença encontrada entre os grupos treinados pode estar relacionada ao grupo

muscular que nós analisamos, pois sabendo que as adaptações morfofuncionais esqueléticas são específicas aos estímulos, e que alguns grupos musculares possuem distribuição de fibras diferenciadas, é possível que o treino contínuo e o treino intervalado tenham gerado adaptações em músculos com sensibilidade específica ao tipo de treino realizado. Um estudo que investigou o efeito de 10 semanas de treino intenso em ratas, não relatou qualquer alteração no músculo sóleo. Houve maior hipertrofia no músculo vasto lateral, enquanto que o percentual de fibras tipo I (contração lenta) foi maior no plantar e no vasto lateral profundo (LUGINBUHL et al., 1984) O mesmo pode ter ocorrido na razão capilar fibra, pois mudanças adaptativas vasculares também podem variar de acordo com o tipo de treinamento realizado. Segundo Laughlin et al. (2008) o controle vascular ocorre tanto no músculo gastrocnêmio quanto no sóleo, porém, o aumento das arteríolas e da densidade capilar ocorre com maior prevalência no músculo gastrocnêmio e os ajustes são em magnitudes superiores no treino intenso em relação ao moderado. Talvez por isso o grupo intervalado tenha apresentado razão capilar fibra superior ao grupo não infartado, enquanto que o grupo contínuo não apresentou a mesma superioridade.

Em estudo recente, Moreira et al. (2013) não verificaram alterações nas adaptações músculo esqueléticas quando compararam ratos infartados submetidos a um protocolo de treino intenso com outro protocolo de treino intervalado, contudo, semelhantemente aos nosso achados, ambos os grupos treinados foram melhores do que os não treinados.

Haram et. al. (2009) verificaram efeitos superiores do treinamento intenso na melhora metabólica, hemodinâmica, da capacidade física, na síntese de NO e na redução de risco cardiovascular em ratos com síndrome metabólica quando estes foram comparados ao grupo que realizou treinamento moderado contínuo.

Wisloff et al. (2007) demonstraram efeitos superiores do treinamento intervalado de alta intensidade na função cardíaca, muscular e na capacidade física em pacientes com insuficiência cardíaca quando comparados ao grupo com insuficiência cardíaca que praticou treinamento moderado contínuo.

Vale ressaltar que parte das adaptações decorrentes do treinamento físico dependem de processos moleculares de sinalização e que este também parece ser dependente to tipo de treinamento físico realizado. Neste aspecto, no presente estudo parte das semelhanças encontradas na magnitude dos efeitos do treino contínuo e do intervalado podem ser explicadas pelo menos em parte pelo modo como o treino intervalado foi aplicado. É sabido que as vias de sinalização para síntese proteica para hipertrofia muscular são diferentes das vias para síntese de proteínas metabólicas. Neste sentido, embora o estímulo tenha ocorrido a 80% da velocidade máxima, o intervalo de recuperação com a mesma duração a uma carga de 40% pode ter induzido adaptações denominadas de concorrentes (WILSON et al., 2012) e mesmo que o treino intenso produzisse respostas adaptativas específicas para esta tarefa, a recuperação pode ter atenuado este efeito aproximando os resultados entre os grupos intervalado e contínuo.

Enquanto nos WT a única alteração hemodinâmica foi na FC, nos LDL, verificamos alterações também da pressão arterial. Conforme já discutido anteriormente, o infarto induziu hipotensão em ambos as linhagens. Entretanto, o treinamento intervalado provocou um aumento da pressão arterial diastólica, fazendo com que esta retornasse a valores similares ao grupo não infartado. É conhecido que o treinamento físico pode reverter a hipotensão e a bradicardia de ratos diabéticos (De ANGELIS et al., 2000), provavelmente devido a uma melhora nas células de marcapasso cardíaco. Embora não tenhamos estudado esta variável no presente estudo, é possível que uma melhora na função diastólica, já que a sistólica não apresentou

mudanças, responda por esta normalização da PA nos LDL após treinamento intervalado.

Diferente dos animais WT, o treinamento físico quase não provocou alterações no perfil muscular esquelético dos LDL, exceto pelo aumento da área de secção transversa das fibras do tipo pelo treinamento intervalado. A ausência de maiores alterações na musculatura esquelética pode ser justificada pelo fato de os LDL já apresentarem importantes adaptações nos músculos esqueléticos, conforme discutido no capítulo anterior. Dessa forma, é possível que nenhum dos treinamentos, nos protocolos adotados por este estudo, seja capaz de reverter um padrão que já é geneticamente estabelecido, uma vez que o modelo estudado apresenta uma hipercolesterolemia de origem genética. No entanto, vale ressaltar que o aumento da área de secção transversa das fibras do tipo I pelo treinamento intervalado indica um benefício frente ao padrão com predominância de fibras tipo II observado nos LDL. Ou então, pelo fato da distribuição de fibra tipo I ser reduzida, as poucas fibras que não mudaram a expressão de fenótipo hipertrofiam como um efeito compensatório. Contudo, levando em conta que não foi nosso objetivo investigar as vias de sinalização de síntese e degradação proteica, estudos futuros com os animais LDL poderiam elucidar melhor estas respostas.

9 CONCLUSÃO

Os camundongos LDL apresentaram alterações metabólicas, hemodinâmicas, autonômicas e musculares prejudicadas em relação ao WT. O IM ocasionou prejuízos adicionais em ambas as linhagens e em magnitudes semelhantes, especialmente nas variáveis hemodinâmicas, na função sistólica e na função autonômica. O treinamento físico aeróbio, realizado de forma contínua ou intervalada, reverteu parte dos prejuízos causados pelo infarto em magnitudes semelhantes em ambos os grupos, com exceção do peso corporal e das concentrações sanguíneas das lipoproteínas. Portanto, o treinamento físico é eficaz em diminuir o risco cardiovascular nos modelos experimentais estudados e tem maior importância para o grupo LDL, uma vez que este apresenta fatores de risco adicionais em relação ao WT. Estudos adicionais poderão investigar não somente os mecanismos que justificam as diferenças encontradas entre as duas linhagens, mas também os efeitos de outros tipos de treinamento físico para prevenção e tratamento de fatores de risco e de doenças cardiovasculares.

10. REFERÊNCIAS

ACSM Position Stand on The Recommended Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory and Muscular Fitness, and Flexibility in Adults. Med. Sci. Sports Exerc. 1998; 30(6): 975-991.

Anand SS, Islam S, Rosengren A, Franzosi MG, Steyn K, Yusufali AH, Keltai M, Diaz R, Rangarajan S, Yusuf S. INTERHEART Investigators. Risk factors for myocardial infarction in women and men: insights from the INTERHEART study.Eur Heart J. 2008 Apr;29(7):932-40.

Araújo CG, Carvalho Td, Castro CL, Costa RV, Moraes RS, Oliveira Filho JA, Guimarães JI. Standardization of equipment and technics for supervised cardiovascular rehabilitation. Arq Bras Cardiol. 2004 Nov;83(5):448-52.

Aronow WS. Treatment after myocardial infarction. Compr Ther. 2007 Spring;33(1):39-47.

Bacurau AV, Jardim MA, Ferreira JC, Bechara LR, Bueno CR Jr, Alba-Loureiro TC, Negrao CE, Casarini DE, Curi R, Ramires PR, Moriscot AS, Brum PC. Sympathetic hyperactivity differentially affects skeletal muscle mass in developing heart failure: role of exercise training. J Appl Physiol. 2009 May;106(5):1631-40.

Baldo MP, Teixeira AK, Rodrigues SL, Mill JG. Acute arrhythmogenesis after myocardial infarction in normotensive rats: influence of high salt intake. Food Chem Toxicol. 2012 Mar;50(3-4):473-7.

Barbour, K.A., Miller, N.H. 2008. Adherence to exercise training in heart failure: a review. Heart failure reviews 13, 81-89.

Barboza CA, Rocha LY, Mostarda CT, Figueroa D, Caperuto EC, De Angelis K, Irigoyen MC, Rodrigues B. Ventricular and autonomic benefits of exercise training persist after detraining in infarcted rats. Eur J Appl Physiol. 2012 Oct 30.)

Besler C, Lüscher TF, Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of High-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease. EMBO Mol Med. 2012 Apr;4(4):251-68.;

Brum PC, Da Silva GJ, Moreira ED, Ida F, Negrão CE, Krieger EM. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. Hypertension. 2000 Dec;36(6):1018-22.

Campos C, Bertagnolli M, Evangelho J, Tusset C, Belló-Klein A, Irigoyen MC, Rigatto K. Baroreflex sensitivity and oxidative stress in the LDL receptor knockout mice. Exp Toxicol Pathol. 2008 Aug;60(4-5):329-35.

Canto JG, Kiefe CI, Rogers WJ, Peterson ED, Frederick PD, French WJ, Gibson CM, Pollack CV Jr, Ornato JP, Zalenski RJ, Penney J, Tiefenbrunn AJ, Greenland P. NRMI Investigators. Atherosclerotic risk factors and their association with hospital mortality among patients with first myocardial infarction (from the National Registry of Myocardial Infarction. Am J Cardiol. 2012 Nov 1;110(9):1256-61.

Chicco AJ. Exercise training in prevention and rehabilitation: which training mode is best? Minerva Cardioangiol. 2008 Oct;56(5):557-70.

Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, Ross HF, Coote JH, Townend JN. Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. Hypertension 2000;36:264–9

Christensen JH, Toft E, Christensen MS, Schmidt EB. Heart rate variability and plasma lipids in men with and without ischaemic heart disease. Atherosclerosis. 1999 Jul;145(1):181-6.

Chung, C.J., Schulze, P.C. 2011. Exercise as a nonpharmacologic intervention in patients with heart failure. The Physician and sportsmedicine 39, 37-43.

Coats AJ, Adamopoulos S, Meyer TE, Conway J, Sleight P. Effects of physical training in chronic heart failure. Lancet. 1990;335(8681):63-6.

Conn EH, Williams RS, Wallace AG Exercise responses before and after physical conditioning in patients with severely depressed left ventricular function. Am J Cardiol. 1982;49(2):296-300.

da Mota GR, Zanesco A. Leptin, ghrelin, and physical exercise]. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2007 Feb;51(1):25-33.

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

De Angelis K, Wichi RB, Jesus WR, Moreira ED, Morris M, Krieger EM, Irigoyen MC. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. J Appl Physiol. 2004 Jun;96(6):2174-8.

De Angelis KL, Oliveira AR, Dall'Ago P, Peixoto LR, Gadonski G, Lacchini S, Fernandes TG, Irigoyen MC. Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. Braz J Med Biol Res. 2000 Jun;33(6):635-41.

De Smet HR, Menadue MF, Oliver JR, Phillips PA. Increased thirst and vasopressin secretion after myocardial infarction in rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003 Nov;285(5):R1203-11.).

Ericsson M, Andersson KB, Amundsen BH, Torp SH, Sjaastad I, Christensen G, Sejersted OM, Ellingsen Ø. High-intensity exercise training in mice with cardiomyocyte-specific disruption of Serca2. J Appl Physiol. 2010 May;108(5):1311-20.

European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation Committee for Science Guidelines; EACPR, Corrà U, Piepoli MF, Carré F, Heuschmann P, Hoffmann U, Verschuren M, Halcox J; Document Reviewers, Giannuzzi P, Saner H, Wood D, Piepoli MF, Corrà U, Benzer W, Bjarnason-Wehrens B, Dendale P, Gaita D, McGee H, Mendes M, Niebauer J, Zwisler AD, Schmid JP. Secondary prevention through cardiac rehabilitation: physical activity counselling and exercise training: key components of the position paper from the Cardiac Rehabilitation Section of the European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. Eur Heart J. 2010 Aug;31(16):1967-74;

Evangelho JS, Casali KR, Campos C, De Angelis K, Veiga AB, Rigatto K. Hypercholesterolemia magnitude increases sympathetic modulation and coagulation in LDLr knockout mice. Auton Neurosci. 2011 Jan 20;159(1-2):98-103.

Fantino M. Role of lipids in the control of food intake.

Ferreira JC, Bacurau AV, Bueno CR Jr, Cunha TC, Tanaka LY, Jardim MA, Ramires PR, Brum PC. Aerobic exercise training improves Ca2+ handling and redox status of skeletal muscle in mice. Exp Biol Med (Maywood). 2010 Apr;235(4):497-505.

Fuster JJ, Castillo AI, Zaragoza C, Ibáñez B, Andrés V. Animal models of atherosclerosis. Prog Mol Biol Transl Sci. 2012;105:1-23.)

Gao XM, Dart AM, Dewar E, Jennings G, Du XJ. Serial echocardiographic assessment of left ventricular dimensions and function after myocardial infarction in mice. Cardiovasc Res. 2000 Jan 14;45(2):330-8.)

Giada F, Biffi A, Agostoni P, Anedda A, Belardinelli R, Carlon R, Carù B, D'Andrea L, Delise P, De Francesco A, Fattirolli F, Guglielmi R, Guiducci U, Pelliccia A, Penco M, Perticone F, Thiene G, Vona M, Zeppilli P; Joint Italian Societies' Task Force on Sports Cardiology.Exercise prescription for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: part I. J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2008 May;9(5):529-44.

Gordon ME, McKeever KH, Bokman S, Betros CL, Manso-Filho H, Liburt N, Streltsova J. Interval exercise alters feed intake as well as leptin and ghrelin concentrations in standardbred mares. Equine Vet J Suppl. 2006 Aug;(36):596-605.

Guiraud T, Nigam A, Gremeaux V, Meyer P, Juneau M, Bosquet L. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. Sports Med. 2012 Jul 1;42(7):587-605.

Hämäläinen N, Pette D.The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID, and IIA in skeletal muscles of mouse, rat, and rabbit. J Histochem Cytochem. 1993 May;41(5):733-43.

Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, Caso P, Dudek D, Gielen S, Huber K, Ohman M, Petrie MC, Sonntag F, Uva MS, Storey RF, Wijns W, Zahger D; ESC Committee for Practice Guidelines, Bax JJ, Auricchio A, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Poldermans D, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S; Document Reviewers, Windecker S, Achenbach S, Badimon L, Bertrand M, Bøtker HE, Collet JP, Crea F, Danchin N, Falk E, Goudevenos J, Gulba D, Hambrecht R, Herrmann J, Kastrati A, Kjeldsen K, Kristensen SD, Lancellotti P, Mehilli J, Merkely B, Montalescot G, Neumann FJ, Neyses L, Perk J, Roffi M, Romeo F, Ruda M, Swahn E, Valgimigli M, Vrints CJ, Widimsky P. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2011 Dec;32(23):2999-3054.

Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. The New England journal of medicine. 2005; 352(16):1685–1695.

Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, Gilligan LJ, Koch LG, Britton SL, Najjar SM, Wisløff U. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovasc Res. 2009 Mar 1;81(4):723-32.

Heeren MV, De Sousa LE, Mostarda C, Moreira E, Machert H, Rigatto KV, Wichi RB, Irigoyen MC, De Angelis K. Exercise improves cardiovascular control in a model of dislipidemia and menopause. Maturitas. 2009 Feb 20;62(2):200-4.

Heidenreich PA, Trogdon JG, Khavjou OA, Butler J, Dracup K, Ezekowitz MD, Finkelstein EA, Hong Y, Johnston SC, Khera A, Lloyd-Jones DM, Nelson SA, Nichol G, Orenstein D, Wilson PW, Woo YJ; American Heart Association Advocacy Coordinating Committee; Stroke Council; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Arteriosclerosis; Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiopulmonary; Critical Care; Perioperative and Resuscitation; Council on Cardiovascular Nursing; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. Circulation. 2011 Mar 1;123(8):933-44.

Huang BS, Leenen FH. The brain renin-angiotensin-aldosterone system: a major mechanism for sympathetic hyperactivity and left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction. Curr Heart Fail Rep. 2009 Jun;6(2):81-8.

Ishibashi S, Brown MS, Goldstein JL, Gerard RD, Hammer RE, Herz J. Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. J Clin Invest. 1993 Aug;92(2):883-93.).

Johns TN, Olson BJ., Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. Ann Surg. 1954 Nov;140(5):675-82.;

Jorge L, Rodrigues B, Rosa KT, Malfitano C, Loureiro TC, Medeiros A, Curi R, Brum PC, Lacchini S, Montano N, De Angelis K, Irigoyen MC. Cardiac and peripheral adjustments induced by early exercise training intervention were associated with autonomic improvement in infarcted rats: role in functional capacity and mortality. Eur Heart J. 2011 Apr;32(7):904-12.;

Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, Ellingsen Ø. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. Cardiovasc Res. 2005 Jul 1;67(1):161-72.

Kleiger RE, Miller JP, Bigger JT Jr, Moss AJ. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. Am J Cardiol. 1987 Feb 1;59(4):256-62.

Klocke R, Tian W, Kuhlmann MT, Nikol S. Surgical animal models of heart failure related to coronary heart disease. Cardiovasc Res. 2007 Apr 1;74(1):29-38.;

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

Krieger EM, Brum PC, Negrão CE State-of-the-Art lecture: influence of exercise training on neurogenic control of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 1999 Oct;34(4 Pt 2):720-3.

La Rovere MT, Bigger JT Jr, Marcus FI, Mortara A, Schwartz PJ. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. Lancet. 1998 Feb 14;351(9101):478-84.)

Labarthe, D.R., Dunbar, S.B. 2012. Global cardiovascular health promotion and disease prevention: 2011 and beyond. Circulation 125, 2667-2676.

Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, Krieger EM, Negrão CE, Rondon MU. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. Hypertension. 2007 Jun;49(6):1298-306.

Laughlin MH, Roseguini B. Mechanisms for exercise training-induced increases in skeletal muscle blood flow capacity: differences with interval sprint training versus aerobic endurance training. J Physiol Pharmacol. 2008 Dec;59 Suppl 7:71-88.

Lee AP, Ice R, Blessey R, Sanmarco ME. Long-term effects of physical training on coronary patients with impaired ventricular function. Circulation. 1979 Dec;60(7):1519-26.

Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT; Lancet Physical Activity Series Working Group. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. Lancet. 2012 Jul 21;380(9838):219-29.

Lessa I. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica e da IC no Brasil. Rev Bras de Hipertensão. 2001;8(4):383-92.

Luginbuhl AJ, Dudley GA, Staron RS. Fiber type changes in rat skeletal muscle after intense interval training. Histochemistry. 1984;81(1):55-8.

MacDonald MJ, Currie KD. Interval exercise is a path to good health, but how much, how often and for whom? Clin Sci (Lond). 2009 Feb;116(4):315-6.

Maiorana A. Interval training confers greater gains than continuous training in people with heart failure. J Physiother. 2012;58(3):199.; Moholdt T, Aamot IL, Granøien I,

Mann DL, Foale RA, Gillam LD, Schoenfeld D, Newell J, Weyman AE. Early natural history of regional left ventricular dysfunction after experimental myocardial infarction. Am Heart J. 1988 Mar;115(3):538-46.

Maxwell AJ, Niebauer J, Lin PS, Tsao PS, Bernstein D, Cooke JP. Hypercholesterolemia impairs exercise capacity in mice. Vasc Med. 2009 Aug;14(3):249-57.

Mendis S, Thygesen K, Kuulasmaa K, Giampaoli S, Mähönen M, Ngu Blackett K, Lisheng L; Writing group on behalf of the participating experts of the WHO consultation for revision of WHO definition of myocardial infarction. World Health Organization definition of myocardial infarction: 2008-09 revision. Int J Epidemiol. 2011 Feb;40(1):139-46. doi: 10.1093/ije/dyq165. Epub 2010 Oct 5.

Mezzani A, Hamm LF, Jones AM, McBride PE, Moholdt T, Stone JA, Urhausen A, Williams MA; European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation; American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; Canadian Association of Cardiac Rehabilitation. Aerobic exercise intensity assessment and prescription in cardiac rehabilitation: a joint position

statement of the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation, and the Canadian Association of Cardiac Rehabilitation. J Cardiopulm Rehabil Prev. 2012 Nov-Dec;32(6):327-50.)

Miao CY, Xie HH, Zhan LS, Su DF. Blood pressure variability is more important than blood pressure level in determination of end-organ damage in rats. J Hypertens. 2006 Jun;24(6):1125-35.

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

Minami K, Hasegawa M, Ito H, Nakamura A, Tomii T, Matsumoto M, Orita S, Matsushima S, Miyoshi T, Masuno K, Torii M, Koike K, Shimada S, Kanemasa T, Kihara T, Narita M, Suzuki T, Kato A. Morphine, oxycodone, and fentanyl exhibit different analgesic profiles in mouse pain models. J Pharmacol Sci. 2009 Sep;111(1):60-72.

Moraes-Silva IC, Mostarda CT, Moreira ED, Silva KA, Dos Santos F, De Angelis K, Farah VD, Irigoyen MC.Preventive role of exercise training in autonomic, hemodynamic and metabolic parameters in rats under high risk of metabolic syndrome development. J Appl Physiol. 2013 Jan 17. [Epub ahead of print].

Moreira JB, Bechara LR, Bozi LH, Jannig PR, Monteiro AW, Dourado PM, Wisloff U, Brum PC. High- versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. J Appl Physiol. 2013 Feb 21. [Epub ahead of print].

Morris JN, Crawford MD. Coronary Heart Disease and Physical Activity of WorkBr Med J. 1958;2:1485-96

Morris JN, Heady JA, Raffle PAB, Roberts CG, Parks JW. Coronary heart-disease and physical activity of work. Lancet. 1953;ii:1053–1057,1111–1120.)

Mostarda C , Rodrigues B, Vane M, Moreira ED, Rosa KT, Moraes-Silva IC, Lacchini S, Casarini DE, De Angelis K, Irigoyen MC. Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodelling and mortality. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010 Apr;37(4):447-52.;

Munk PS, Staal EM, Butt N, Isaksen K, Larsen AI. High-intensity interval training may reduce in-stent restenosis following percutaneous coronary intervention with stent implantation A randomized controlled trial evaluating the relationship to endothelial function and inflammation. Am Heart J. 2009 Nov;158(5):734-41.

Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet. 1997 May 17;349(9063):1436-42.

Okrainec K, Banerjee DK, Eisenberg MJ. Coronary artery disease in the developing world. Am Heart J. 2004 Jul;148(1):7-15

Palatini P, Longo D, Zaetta V, Perkovic D, Garbelotto R, Pessina AC. Evolution of blood pressure and cholesterol in stage 1 hypertension: role of autonomic nervous system activity. J Hypertens. 2006 Jul;24(7):1375-81.

Pearte, C.A., Furberg, C.D., O'Meara, E.S., Psaty, B.M., Kuller, L., Powe, N.R., Manolio, T. Characteristics and baseline clinical predictors of future fatal versus

nonfatal coronary heart disease events in older adults: the Cardiovascular Health Study. Circulation. 2006.113, 2177-2185.

Perman JC, Boström P, Lindbom M, Lidberg U, StÅhlman M, Hägg D, Lindskog H, Scharin Täng M, Omerovic E, Mattsson Hultén L, Jeppsson A, Petursson P, Herlitz J, Olivecrona G, Strickland DK, Ekroos K, Olofsson SO, Borén J. The VLDL receptor promotes lipotoxicity and increases mortality in mice following an acute myocardial infarction. J Clin Invest. 2011 Jul;121(7):2625-40.)

Piepoli, M.F., Conraads, V., Corra, U., Dickstein, K., Francis, D.P., Jaarsma, T., McMurray, J., Pieske, B., Piotrowicz, E., Schmid, J.P., Anker, S.D., Solal, A.C., Filippatos, G.S., Hoes, A.W., Gielen, S., Giannuzzi, P., Ponikowski, P.P. 2011. Exercise training in heart failure: from theory to practice. A consensus document of the Heart Failure Association and the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. European journal of heart failure 13, 347-357.

Rocco DD, Okuda LS, Pinto RS, Ferreira FD, Kubo SK, Nakandakare ER, Quintão EC, Catanozi S, Passarelli M. Aerobic exercise improves reverse cholesterol transport in cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. Lipids. 2011 Jul;46(7):617-25).

Rodrigues B, Figueroa DM, Fang J, Rosa KT, Llesuy S, De Angelis K, Irigoyen MC. Short-term diabetes attenuates left ventricular dysfunction and mortality rates after myocardial infarction in rodents. Clinics (Sao Paulo). 2011;66(8):1437-42.

Rodrigues B, Jorge L, Mostarda CT, Rosa KT, Medeiros A, Malfitano C, de Souza AL Jr, Viegas KA, Lacchini S, Curi R, Brum PC, De Angelis K, Irigoyen MC. Aerobic exercise training delays cardiac dysfunction and improves autonomic control of

circulation in diabetic rats undergoing myocardial infarction. J Card Fail. 2012 Sep;18(9):734-44;

Rodrigues B, Mostarda CT, Jorge L, Barboza CA, Grans CF, De Angelis K, Irigoyen MC. Impact of myocardial infarction on cardiac autonomic function in diabetic rats. J Diabetes Complications. 2013 Jan-Feb;27(1):16-22.).

Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2012 Jan 3;125(1):e2-e220.

Rognmo Ø, Moholdt T, Bakken H, Hole T, Mølstad P, Myhr NE, Grimsmo J, Wisløff U. Cardiovascular risk of high- versus moderate-intensity aerobic exercise in coronary heart disease patients. Circulation. 2012 Sep 18;126(12):1436-40.).

Rush JW, Green HJ, Maclean DA, Code LM. Oxidative stress and nitric oxide synthase in skeletal muscles of rats with post-infarction, compensated chronic heart failure. Acta Physiol Scand. 2005 Nov;185(3):211-8.

Schwenke DO, Tokudome T, Kishimoto I, Horio T, Cragg PA, Shirai M, Kangawa K. One dose of ghrelin prevents the acute and sustained increase in cardiac

sympathetic tone after myocardial infarction. Endocrinology. 2012 May;153(5):2436-43.

Sidney S, Rosamond WD, Howard VJ, Luepker RV. The "heart disease and stroke statistics--2013 update" and the need for a national cardiovascular surveillance system. National Forum for Heart Disease and Stroke Prevention. Circulation, 2013. 1;127(1):21-3.

Simonini A, Long CS, Dudley GA, Yue P, McElhinny J, Massie BM. Heart failure in rats causes changes in skeletal muscle morphology and gene expression that are not explained by reduced activity. Circulation research 79: 128-713 136, 1996.

Soares, P.P., Nobrega A.C., Ushizima, M.R., Irigoyen, M.C.. Cholinergic stimulation with pyridostigmine increases heart rate variability and baroreflex sensitivity in rats. Auton. Neurosci., 113 (2004), pp. 24–31.).

Sposito, A.C., Caramelli, B., Fonseca, F.A., Bertolami, M.C., Afiune Neto, A., Souza, A.D., Lottenberg, A.M., Chacra, A.P., Faludi, A.A., Loures-Vale, A.A., Carvalho, A.C., Duncan, B., Gelonese, B., Polanczyk, C., Rodrigues Sobrinho, C.R., Scherr, C., Karla, C., Armaganijan, D., Moriguchi, E., Saraiva, F., Pichetti, G., Xavier, H.T., Chaves, H., Borges, J.L., Diament, J., Guimaraes, J.I., Nicolau, J.C., dos Santos, J.E., de Lima, J.J., Vieira, J.L., Novazzi, J.P., Faria Neto, J.R., Torres, K.P., Pinto Lde, A., Bricarello, L., Bodanese, L.C., Introcaso, L., Malachias, M.V., Izar, M.C., Magalhaes, M.E., Schmidt, M.I., Scartezini, M., Nobre, M., Foppa, M., Forti, N.A., Berwanger, O., Gebara, O.C., Coelho, O.R., Maranhao, R.C., dos Santos Filho, R.D., Costa, R.P., Barreto, S., Kaiser, S., Ihara, S., Carvalho, T., Martinez, T.L., Relvas, W.G., Salgado, W. 2007. [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia

and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. Arquivos brasileiros de cardiologia 88 Suppl 1, 2-19.

Stapleton PA, Goodwill AG, James ME, Frisbee JC. Altered mechanisms of endothelium-dependent dilation in skeletal muscle arterioles with genetic hypercholesterolemia. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2007 Sep;293(3):R1110-9.

Støylen A, Conraads V, Halle M, Linke A, Prescott E, Ellingsen Ø. Controlled study of myocardial recovery after interval training in heart failure: SMARTEX-HF--rationale and design. Eur J Prev Cardiol. 2012 Aug;19(4):813-21.

Stroes ES, Koomans HA, de Bruin TW, Rabelink TJ. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients off and on lipid-lowering medication. Lancet 1995;346:467–71.

Sullivan MJ, Higginbotham MB, Cobb FR. Exercise training in patients with severe left ventricular dysfunction. Hemodynamic and metabolic effects. Circulation. 1988;78(3):506-15.

Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology.Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Circulation. 1996 Mar 1;93(5):1043-65.

Taylor RS, Brown A, Ebrahim S, et al. Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Med. 2004 May 15; 116 (10): 682-92.

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Universal Definition of Myocardial. Third universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J. 2012. Oct;33(20):2551-67.

Trieu VN, Uckun FM. Male-associated hypertension in LDL-R deficient mice.Biochem Biophys Res Commun. 1998 Jun 18;247(2):277-9.

Tsutsumi T, Ide T, Yamato M, Kudou W, Andou M, Hirooka Y, Utsumi H, Tsutsui H, Sunagawa K. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction. Cardiovasc Res. 2008 Mar 1;77(4):713-21.

Vainionpaa, A., Korpelainen, R., Kaikkonen, H., Knip, M., Leppaluoto, J., Jamsa, T. 2007. Effect of impact exercise on physical performance and cardiovascular risk factors. Medicine and science in sports and exercise 39, 756-763.

Van Craeyveld E, Jacobs F, Gordts SC, De Geest B. Low-density lipoprotein receptor gene transfer in hypercholesterolemic mice improves cardiac function after myocardial infarction. Gene Ther. 2012 Aug;19(8):860-71.;

Vilahur G, Juan-Babot O, Peña E, Oñate B, Casaní L, Badimon L. Molecular and cellular mechanisms involved in cardiac remodeling after acute myocardial infarction. J Mol Cell Cardiol. 2011 Mar;50(3):522-33.

Vincent A, Lattuca B, Merlet N, Sportouch-Dukhan C, Barrere-Lemaire S. New insights in research about acute ischemic myocardial injury and inflammation. Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem. 2013 Mar 1;12(1):47-54.

Vorluni L, Volianitis S. Interaction of cardiac and muscle mechanical afferents on baroreflex control of the sinus node during dynamic exercise. Scand J Med Sci Sports. 2010 Jun;20(3):434-40.

Wang TD, Wu CC, Chen WJ, Lee CM, Chen MF, Liau CS, et al. Dyslipidemias have a detrimental effect on left ventricular systolic function in patients with a first acute myocardial infarction. Am J Cardiol. 1998;81:531–537.

Williams MA, Haskell WL, Ades PA, Amsterdam EA, Bittner V, Franklin BA, Gulanick M, Laing ST, Stewart KJ. American Heart Association Council on Clinical Cardiology; American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism.Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Circulation. 2007 Jul 31;116(5):572-84. Epub 2007 Jul 16.

Wilson JM, Marin PJ, Rhea MR, Wilson SM, Loenneke JP, Anderson JC Concurrent training: a meta-analysis examining interference of aerobic and resistance exercises. J Strength Cond Res. 2012 Aug;26(8):2293-307.)

Wisløff U, Loennechen JP, Falck G, Beisvag V, Currie S, Smith G, Ellingsen O. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. Cardiovasc Res. 2001 Jun;50(3):495-508.

Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognmo Ø, Haram PM, Tjønna AE, Helgerud J, Slørdahl SA, Lee SJ, Videm V, Bye A, Smith GL, Najjar SM, Ellingsen Ø, Skjaerpe T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training

versus moderate continuous training inheart failure patients: a randomized study. Circulation. 2007 Jun 19;115(24):3086-94.

Yuan MJ, Huang CX, Tang YH, Wang X, Huang H, Chen YJ, Wang T. A novel peptide ghrelin inhibits neural remodeling after myocardial infarction in rats. Eur J Pharmacol. 2009 Sep 15;618(1-3):52-7.

"O fim das coisas é melhor do que o seu início,

e o paciente é melhor que o orgulhoso."

Eclesiástes 7:8