

Efeitos do Treinamento Físico sobre o Miocárdio de Camundongos LDLr Knockout Ovariectomizadas: MMP-2 e -9, Colágeno I/III, Inflamação e Estresse Oxidativo

Effects of Physical Training on the Myocardium of Ovariectomized LDLr Knockout Mice: MMP 2/9, Collagen I/III, Inflammation and Oxidative Stress

Ledimar Brianezi,¹ Elisabete Ornelas,¹ Flávia de Sousa Gehrke,^{2,3,4} Fernando Luiz Affonso Fonseca,^{4,5} Beatriz da Costa Aguiar Alves,⁴ Luiz Vinicius de Alcantara Sousa,⁴ Jessica Souza,¹ Laura Beatriz Mesiano Maifrino¹

Laboratório de Estudos Morfoquantitativo e Imunohistoquímico, Universidade São Judas Tadeu,¹ São Paulo, SP – Brasil

Departamento de Farmácia, Universidade Paulista,² São Paulo, SP – Brasil

Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Hospital do Servidor Público Estadual,³ São Paulo, SP – Brasil

Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina do ABC,⁴ Santo André, SP – Brasil

Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo,⁵ Diadema, SP – Brasil

Resumo

Fundamento: O surgimento da doença cardíaca coronariana aumenta com a menopausa, inatividade física e dislipidemia. Sabe-se que o treinamento físico promove a melhora das funções cardiovasculares

Objetivo: Investigar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre o ventrículo esquerdo em camundongos LDL knockout ovariectomizadas.

Métodos: Trinta animais foram divididos em 6 grupos (n = 5): controle sedentário não ovariectomizado, controle sedentário ovariectomizado, controle treinado ovariectomizado, sedentário LDL-knockout não ovariectomizado, sedentário LDL-knockout ovariectomizado e treinado LDL-knockout ovariectomizado. Analisamos os parâmetros médios da densidade de volume de fibras colágenas tipo I e III, e metaloproteinases 2 e 9. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Resultados: Os resultados mostram que o protocolo de exercício proposto alterou o volume de fibras colágenas do tipo I e os parâmetros de remodelamento do colágeno (MMP-2), e ainda reduziu o parâmetro de estresse oxidativo do 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG).

Conclusão: O treinamento aeróbico de intensidade moderada age sobre o volume das fibras colágenas e sobre o remodelamento de colágeno, com redução do estresse oxidativo em ventrículos esquerdos de camundongos ovariectomizados LDLr Knockout. (Arq Bras Cardiol. 2020; 114(1):100-105)

Palavras-chave: Doença da Artéria Coronária; Exercício; Menopausa; Dislipidemia; Atividade Física; Colágeno; Estresse Oxidativo; Inflamação; Camundongos.

Abstract

Background: The emergence of coronary heart disease is increased with menopause, physical inactivity and with dyslipidemia. Physical training is known to promote the improvement of cardiovascular functions.

Objective: To investigate the effects of aerobic physical training on the left ventricle in ovariectomized LDL knockout mice.

Methods: Thirty animals were divided into 6 groups (n = 5): Sedentary non-ovariectomized control; Sedentary ovariectomized control; Trained ovariectomized control; Sedentary non-ovariectomized LDL-knockout, sedentary ovariectomized LDL-knockout and trained ovariectomized LDL-knockout. We analyzed the average parameters of apparent density of collagen fibers types I and III, and metalloproteinase type 2 and type 9, were considered significant $p < 0.05$.

Results: The results showed that the proposed exercise protocol altered the volume of type I collagen fibers, altered collagen remodeling parameters (MMP-2), and also reduced the 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8OHdG) oxidative stress parameter.

Conclusion: Moderate intensity aerobic training acts on collagen fiber volume, on collagen remodeling with the reduction of oxidative stress in the left ventricles of ovariectomized LDL-knockout mice. (Arq Bras Cardiol. 2020; 114(1):100-105)

Keywords: Coronary Artery Disease; Exercise; Menopause; Dyslipidemias; Motor Activity; Collagen; Oxidative Stress; Inflammation; Mice

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Flávia de Sousa Gehrke •

Universidade Paulista – Farmácia - R. Antônio Macedo, 505. CEP 03087-010, São Paulo, SP – Brasil

E-mail: flaviagehrke@hotmail.com

Artigo recebido em 04/09/2018, revisado em 30/01/2019, aceito em 10/03/2019

DOI: 10.5935/abc.20190223

Introdução

Durante o processo de envelhecimento, as mulheres na menopausa têm maior risco de desenvolver condições como dislipidemia, hipertensão, resistência à insulina e mudanças na composição corporal, uma vez que o estilo de vida e o sedentarismo estão associados a maior prevalência de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DC).^{1,2}

O processo de envelhecimento está associado ao aumento do estresse oxidativo, que dá origem a danos em várias macromoléculas celulares, em parte devido à diminuição da capacidade antioxidante, bem como à redução da capacidade de reparação, que acarretam o aumento da susceptibilidade à apoptose.^{3,4} Especialmente em mulheres na fase da menopausa, as alterações neuroendócrinas afetam a funcionalidade, a capacidade metabólica e a atividade antioxidante de vários órgãos, principalmente em decorrência da falta de estrogênio, que é considerado um antioxidante feminino, causando aumento adicional do estresse oxidativo.⁵

O metabolismo lipídico também é influenciado por alterações fisiológicas durante a menopausa, resultando em aumento do LDL e diminuição da HDL, o que contribui para o surgimento de doenças cardiovasculares.^{6,7} Em relação aos homens da mesma idade, as mulheres pós-menopáusicas apresentam maior risco de desenvolver doença cardíaca,^{8,9} que constitui uma das principais causas de morbidade e mortalidade neste estágio fisiológico.¹⁰

A atividade física regular alivia os efeitos do envelhecimento e da menopausa e melhora a aptidão aeróbica, além de manter o índice de peso corporal de gordura visceral, os níveis plasmáticos de lipídios, o aumento da sensibilidade à insulina, o aumento da sensibilidade barorreflexa, a melhora da função endotelial, o estresse de cisalhamento na parede vascular, resultando no aumento do fluxo sanguíneo e estimulando a liberação de óxido nítrico.¹¹⁻¹³ Esses fatores promovem uma melhor qualidade de vida relacionada à saúde, prolongam a sobrevivência e podem ser considerados padrões não farmacológicos essenciais para o tratamento dos efeitos da pós-menopausa e de outras condições fisiológicas e patológicas.^{14,15}

O objetivo deste estudo é analisar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre o ventrículo esquerdo de camundongos fêmeas ovariectomizadas selvagens e LDLr knockout, tendo como base os seguintes parâmetros: densidade de volume de fibras colágenas tipo I e III, expressão das metaloproteinases 2 e 9, além da expressão de COX 2 e 8-OHdG.

Métodos

Animais

Foram utilizados trinta camundongos fêmeas, com 10 meses de idade: 15 camundongos fêmeas geneticamente modificados, com nocaute do receptor de lipoproteínas de baixa densidade (LDLr Knockout), e 15 camundongos fêmeas selvagens (C57BL/6J), obtidos no biotério da Universidade de São Paulo. Os animais foram mantidos no biotério da USJT em temperatura (22-24 °C) e iluminação controlada (12 horas de luz e 12 horas de escuridão) recebendo alimentação comercial ((NUVILAB CR1, Nuvital Nutrients LTDA, Curitiba,

PR) e água "ad libitum". Os animais foram divididos em 6 grupos (n=5): controle sedentário não-ovariectomizado (CS), controle ovariectomizado sedentário (COS), controle ovariectomizado treinado (COT); LDLr Knockout não sedentário ovariectomizado (LDLr-S), LDLr Knockout ovariectomizado sedentário (LDLr-OS) e LDLr Knockout ovariectomizado treinado (LDLr-OT). Os animais foram categorizados por conveniência.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Judas Tadeu (CEP-Protocolo: 058/2007) e a pesquisa foi conduzida como indicado pelos Princípios de cuidados com animais de laboratório publicados pelos Institutos Nacionais de Saúde.

Ovariectomia

Aos nove meses de idade, os animais foram submetidos ao procedimento da ovariectomia. Eles foram anestesiados com uma solução de ketamina e xilazina (120:20 mg/Kg, im) e colocados em posição supina e uma pequena incisão foi feita no terço inferior da região abdominal, paralelamente à linha do corpo. Os ovários, os cornos uterinos e vasos sanguíneos foram localizados, seccionados e removidos. Em seguida, a musculatura e a pele foram suturadas. A confirmação da eficácia da ovariectomia foi determinada através da colpocitologia da secreção vaginal realizada durante quatro dias consecutivos. No último dia de análise, a eutanásia foi realizada nesses animais.¹⁶

Protocolo de Treinamento

Teste de treinamento máximo

Um teste de treinamento máximo foi realizado em todos os grupos no início e no final do programa de treinamento de exercícios. O teste consiste em colocar o animal em uma esteira ergométrica a 0,3 km/h por 3 minutos, e essa carga de trabalho era aumentada em 0,3 km/h a cada 3 minutos, até que o animal atingisse o esgotamento. O tempo do teste e a velocidade da última carga de trabalho foram observados e usados para determinar o valor médio da capacidade aeróbica de cada grupo.

Treinamento de exercícios

O treinamento de exercícios começou 7 dias depois da cirurgia de ovariectomia. Os grupos treinados foram submetidos a um protocolo de treinamento físico em uma esteira ergométrica com baixa intensidade moderada (≈50% a 70% de velocidade máxima) durante 1 hora por dia, 5 dias por semana, por 4 semanas, com aumento gradual da velocidade de 0,3 a 1,2 km/h. Os animais foram adaptados à esteira durante 10 minutos nos três dias que precederam o início dos treinamentos.

Eutanásia e preparação dos tecidos

No final do treinamento os animais foram sacrificados por decapitação. Uma toracotomia foi realizada, através da qual o coração e os átrios foram removidos, e os ventrículos

direito e esquerdo foram seccionados. Amostras do ventrículo esquerdo foram fixadas em formalina tamponada a 10% durante 24 horas. Em seguida, o tecido foi transferido para uma solução de álcool etílico 70%, desidratado em sequência crescente de etanol, diafanizados em xilóis e embebidos em parafina. Foram realizados cortes não seriados de 5µm de espessura, onde cada lâmina recebeu um total de 6 cortes. As lâminas foram coradas pela técnica de Picrosirius, para a análise das fibras colágenas I e III no ventrículo esquerdo e visualizadas através de microscopia de luz polarizada.

A densidade de volume das fibras colágenas I e III (Vv[fc]) expressa a fração do volume ocupado pelas fibras colágenas em relação ao volume total da imagem avaliada. Para essa análise, foi utilizado o sistema teste com um total de 475 pontos, que corresponde a 100% da imagem, usando o programa Image J. (versão 1.47 - National Institutes of Health; COLLINS, 2007).

Imunohistoquímica

Para as técnicas de imunohistoquímica, foram feitos cortes com espessura de 3 a 4 micrômetros, que foram montados em lâminas previamente silanizadas a 4%. Depois, as lâminas foram desparafinizadas, utilizando estufa a 57°C pernoite, sendo então imersas em banhos de xilol com duração de 30 minutos. Em seguida, elas foram hidratadas em álcool etílico nas concentrações decrescentes de 100%, 80% e 70%, cada qual com uma duração de 5 minutos e, depois, lavadas em água corrente. Na etapa seguinte, a recuperação antigênica foi realizada em banho-maria a 90°C. As lâminas foram colocadas em tampão citrato durante 30 minutos e, então, lavadas em água corrente. Foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com H₂O₂ por 15 minutos, seguindo-se as lavagens em água corrente e destilada e em PBS pH= 7,4. Para cada lâmina, foi utilizado um anticorpo específico (Tabela 1), após o que foram incubadas, em câmara úmida (overnight, a 4°C). O material foi então lavado com tampão PBS e incubado com anticorpo secundário biotilado por 30 minutos, lavado de novo com PBS e incubado com um anticorpo streptoavidina-peroxidase por outros 30 minutos. Um substrato cromogênico, solução DAB (3,3-Diaminobenzidina) na proporção de 1:1, foi utilizado, durante cinco minutos, em temperatura ambiente, para lavar o material com solução PBS e revelar a reação. Ao observar-se a formação de um precipitado castanho escuro, as lâminas foram colocadas em água corrente e, em seguida, contra-coradas com hematoxilina de Harris por 2 minutos. Depois disso, foram submetidas a 3 banhos de xilol para diafinizar e 2 banhos de álcool. As lâminas foram montadas com lamínulas e Entellan®.

Em todas as técnicas, observando-se a presença de um precipitado castanho escuro, a amostra foi visualizada utilizando-se microscópio de luz. A análise quantitativa das imagens foi realizada através do programa ImageLab 2000, por meio do qual foram selecionadas as marcações em marrom e contabilizadas a intensidade da imunexpressão, como demonstrado na figura 1.

Análise estatística

Valores absolutos e relativos foram utilizados para descrever as variáveis qualitativas. Para as análises quantitativas com

distribuição normal (Shapiro-Wilk > 0,05), utilizou-se média, desvio padrão, mínimo e máximo e, para as variáveis sem distribuição normal (Shapiro-Wil < 0,05), mediana e percentis. Para estudar as diferenças entre variáveis clínicas com os grupos, os testes de Kruskal-Wallis e Anova foram utilizados, complementados pelo teste de Dunn ou Bonferroni. Para todas as análises, um nível de confiança de 95% foi usado. Para a análise estatística, o programa STATA (versão 11.0) foi utilizado.

Resultados

Nossos dados mostraram redução significativa da densidade de volume de fibras colágenas do tipo I no grupo dislipidêmico ovariectomizados (LDLr-OS) (-51%). O grupo LDLr-OT apresentou uma diminuição de 100% quando comparado com o grupo COS e uma diferença significativa em relação aos grupos COT e LDLr-S. A tabela 2 mostra a associação das variáveis expressão de COX-2 e MMP 9 e densidade de volume de fibras colágenas tipo I, em relação aos grupos de animais estudados.

Em relação à expressão da metaloproteinase tipo 2, no grupo controle (CS), houve aumento significativo de 24% no grupo ovariectomizado (COS). Quando realizado o treinamento físico (COT), houve um aumento de 72% e, na presença de dislipidemia (LDL-S), o aumento foi de 92%. No grupo dislipidêmico (LDL-OS), com a ovariectomia, os valores caíram 27% em relação do grupo LDLr-S e 18% em relação ao grupo COT, mas os valores ainda permaneceram acima daqueles observados nos grupos controle (42% em relação ao grupo CS e 14% em relação ao grupo COS). Quando realizado o treinamento no grupo dislipidêmico ovariectomizado LDLr-OT, os resultados obtidos demonstraram um aumento de 15% na comparação com o grupo ovariectomizado sedentário LDLr-OS e uma diminuição de 15% em relação ao grupo LDLr-S. Quando comparados com o grupo controle, houve um aumento de 64% em relação ao grupo CS, de 32% em relação ao grupo COS e uma diminuição de 5% em relação ao grupo COT.

Quando os dados do estresse oxidativo foram analisados, em relação à expressão de 8OHdG, houve uma diminuição dos índices para o grupo controle (CS); diminuição de 33% no grupo submetido à ovariectomia (COT) e diminuição de 39% no grupo submetido ao treinamento. Com a presença de dislipidemia (LDL-S), houve uma diminuição de 51% em relação ao grupo CS, e no grupo dislipidêmico ovariectomizado (LDLrOS), houve diminuição de 85% em relação ao grupo CS, 78% no grupo COS, 76% em relação ao grupo COT e 70% em relação ao grupo LDLr-S.

Quando realizado o treinamento no grupo dislipidêmico ovariectomizado (LDLr-OT), os dados apresentaram um aumento de 152% em relação ao grupo LDLr-OS e uma diminuição nos grupos controle, com 63% para o grupo CS, 45% para o grupo COS e 40% para o grupo COT. Para os parâmetros relacionados à densidade de volume de fibras colágenas do tipo III, metaloproteinase 9 e inflamação (COX2), os valores obtidos para os grupos controles e dislipidêmicos não mostraram diferenças significativas em nenhum parâmetro (Tabela 3).

Tabela 1 – Anticorpos utilizados para detecção de proteínas

Anticorpo	Diluição	Marcação	Função	Fabricante
MMP2/72KDa	1:250	Citoplasma	Remodelamento do colágeno	sc-10736, Santa Cruz®
MMP9/KDa	1:300	Citoplasma	Remodelamento do colágeno	sc-6840, Santa Cruz®
COX 2	1:100	Citoplasma	Inflamação	sc-1745 P, Santa Cruz®
8-OHdG	1:100	Citoplasma	Estresse oxidativo	sc-66036, Santa Cruz®

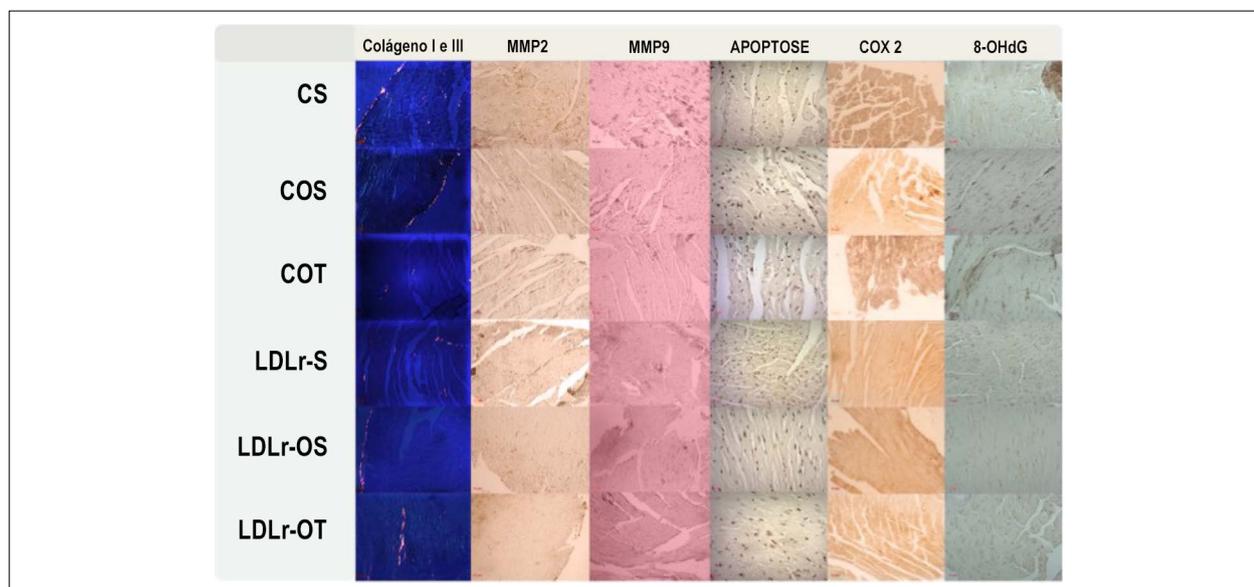


Figura 1 – Imunoexpressão de proteínas. CS: controle sedentário não-ovariectomizado; COS: controle ovariectomizado sedentário; COT: controle ovariectomizado treinado; LDLr-S: LDLr Knockout não sedentário ovariectomizado; LDLr-OS: LDLr Knockout ovariectomizado sedentário; LDLr-OT: LDLr Knockout ovariectomizado treinado.

Tabela 2 – Comparação da ciclo-oxigenase-2, densidade de volume das fibras colágenas I e metaloproteinase tipo 9, com os grupos estudados

Variáveis	CS	COS	COT	LDL-S	LDL-OS	LDL-OT	p*
COX-2	35,0 (23,9; 46,3)	46,5 (44,2; 79,7)	46,1 (31,3; 47,7)	47,7 (45,8; 63,1)	87,8 (42,5; 92,4)	49,4 (49,1; 50,9)	0,232
Vv [fc I]	0,21 (0,21; 0,43)	0,43 (0,21; 0,43)	-	-	0,21 (0,0; 0,41) ^{A,B,C}	0,0 (0,0; 0,21) ^{A,B,C}	< 0,001
MMP9	44,7 (40,1; 44,8)	40,9 (39,8; 45,6)	53,9 (48,6; 66,2)	53,0 (38,3; 58,1)	42,2 (27,3; 53,7)	64,1 (45,5; 93,9)	0,169

* Kruskal-Wallis. Dados expressos em mediana e percentis 25% e 75%. COX-2: ciclo-oxigenase-2; Vv [fc I]: densidade de volume das fibras de colágeno I; MMP 9: Metaloproteinase tipo 9; CS: controle não-ovariectomizado sedentário; COS: controle ovariectomizado sedentário; COT: controle ovariectomizado treinado; LDL-S: nocaute LDL ovariectomizado não sedentário; LDL-OS: nocaute sedentário ovariectomizado de LDL; LDL-OT: nocaute LDL ovariectomizado treinado. A: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo COS; B: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo TOC; C: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo LDL-S.

Discussão

A atividade física é reconhecida como importante tratamento não farmacológico para várias doenças e condições, inclusive para a dislipidemia e a menopausa. Estudos apontam que as fibras colágenas estão presentes no processo de remodelamento do miocárdio, que ocorre devido ao envelhecimento e a outros fatores.^{17,18}

Nossos dados mostram que, no miocárdio, a expressão das fibras colágenas de tipo III não apresentaram diferenças entre os grupos e parâmetros. Em relação ao colágeno

tipo I, a ovariectomia e o treinamento trouxeram uma diminuição dos níveis apresentados em relação ao grupo controle ovariectomizado sedentário. Resultados similares aos encontrados neste estudo verificaram a mesma variável em animais após um período de obesidade induzida por uma dieta rica em gordura insaturada.¹⁹ Curiosamente, os achados relatados neste artigo possuem resultados semelhantes apenas mediante à atividade física proposta. Outro estudo no qual o infarto agudo do miocárdio foi induzido em ratos, observou-se o aumento gradativo do colágeno tipos I e III no período de 4 semanas. A cinética do aumento do colágeno I/III, em

Tabela 3 – Comparação das variáveis Metaloproteinase tipo 2, Anti-8-Hydroxydeoxyguanosine e Densidade de Volume das fibras colágenas III (Vv [fc III]), com os grupos estudados

Variáveis	CS	COS	COT	LDL-S	LDL-OS	LDL-OT	p*
MMP 2	28,5 (4,0)	35,3 (9,1) ^A	49,0 (3,8) ^A	54,8 (52,0) ^A	40,5 (9,6) ^{A,B,C,D}	46,8 (31,0) ^{A,B,C,E}	< 0,001
8-OHDg	105,2 (7,6)	70,0 (10,8) ^A	64,9 (4,7) ^A	51,7 (0,5) ^A	15,3 (7,5) ^{A,B,C,D}	38,7 (8,4) ^{A,B,C,E}	< 0,001
Vv[fc III]	0,007 (0,037)	0,003 (0,024)	0,016 (0,067)	0,015 (0,057)	0,013 (0,062)	0,009 (0,043)	0,649

*ANOVA. Dados expressos em média e desvio padrão. A: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo CS; B: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo COS; C: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo TOC; D: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo LDL-S; E: diferença estatisticamente significativa entre o grupo estudado e o grupo LDL-OS. MMP2: Metaloproteinase tipo 2; 8OHDg: Anti-8-hidroxi-desoxi-guanosina; Vv [fc III]: densidade de volume das fibras de colágeno III; CS: controle não-ovariectomizado sedentário; COS: controle ovariectomizado sedentário; COT: controle ovariectomizado treinado; LDL-S: nocaute LDL ovariectomizado não sedentário; LDL-OS: nocaute sedimentar ovariectomizado de LDL; LDL-OT: nocaute LDL ovariectomizado treinado.

combinação com a diminuição das fibras elásticas na área infartada após o IAM, ofereceu evidências de que a função cardíaca prejudicada após o IAM foi decorrente da cura ou do processo de cicatrização pós-infarto, com aumento da rigidez e menor flexibilidade do coração.²⁰

Nossos resultados sugerem que o período de envelhecimento neste estudo parece não interferir no aumento da expressão de fibras colágenas apresentadas em outros estudos.^{21,22} Entretanto, quando os grupos LDLr-OT foram avaliados, houve nítida redução do volume das fibras colágenas tipo I. Essa verificação ocorreu quando da utilização do treinamento proposto (intensidade ou duração).^{23,24}

As metaloproteinases do tipo 2 e 9 também participam do processo de remodelamento do tecido cardíaco, e estão presentes em várias patologias, como as doenças inflamatórias e cardiovasculares, dentre outras lesões.²⁴⁻²⁹ A expressão da metaloproteinase tipo 9 não apresentou diferenças entre os grupos e parâmetros. Em relação à metaloproteinase tipo 2, um aumento foi observado no grupo controle, com a ovariectomia e com o treinamento físico, até mesmo na presença da dislipidemia. Esse processo explica o fato de os índices de colágeno não estarem elevados, porque a degradação do colágeno e da matriz extracelular é feita através da atuação das metaloproteinases.^{25,30-32} A elevação das MMPs em pacientes com dislipidemias, encontrada em alguns estudos, sugere a participação das mesmas no processo de degradação da matriz em placas ateroscleróticas e nas suas rupturas, que fazem com que o núcleo fique exposto.^{17,33} Além disso, as MMPs são preditoras independentes para a progressão de doença renal e estão associadas independentemente com o aumento do risco de mortalidade.³⁴

A expressão de COX2, neste estudo, não apresentou significância estatística, o que indica que, em todos os grupos e parâmetros, não houve mudanças para esses dados. Assim, nesse parâmetro escolhido para verificar a inflamação, não foram observadas mudanças, o que mostra que os fatores associados aos grupos não interferem nessa avaliação.

O envelhecimento, a menopausa e a dislipidemia são fatores que também causam o estresse oxidativo.³⁻⁵ Nesta pesquisa, o estresse oxidativo foi verificado através da expressão de 8OHDg, e a ovariectomia diminuiu os valores deste parâmetro nos grupos dislipidêmico e controle, o que diverge dos resultados

encontrados em outros estudos.^{5,35} Quando o treinamento físico foi realizado, os valores diminuíram no grupo controle mas, no grupo dislipidêmico, eles apresentaram um aumento. Curiosamente, esse marcador parece não estar associado aos grupos propostos neste modelo experimental.

Conclusão

Os dados desta pesquisa indicam que o exercício físico influenciou positivamente os grupos controle e dislipidêmico no parâmetro de densidade e volume de fibras colágenas do tipo I e o grupo controle em relação ao estresse oxidativo.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Brianezi L, Maifrino LBM; Obtenção de dados: Brianezi L, Ornelas E, Sousa LVA; Análise e interpretação dos dados: Brianezi L, Ornelas E, Gehrke FS, Fonseca FLA, Sousa LVA, Souza J, Maifrino LBM; Análise estatística: Brianezi L, Gehrke FS, Fonseca FLA, Souza J; Redação do manuscrito: Brianezi L, Ornelas E, Gehrke FS, Fonseca FLA, Alves BCA, Sousa LVA, Maifrino LBM; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Gehrke FS, Fonseca FLA, Alves BCA, Maifrino LBM.

Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Aprovação ética e consentimento informado

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de São Judas Tadeu sob o número de protocolo 058. Todos os procedimentos envolvidos nesse estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, atualizada em 2013.

Referências

- Zanesco A, Antunes E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: pharmacological approaches. *Pharmacol Ther.* 2007;114(3):307-17.
- Coylewright M, Reckelhoff JF, Ouyang P. Menopause and hypertension: an age-old debate. *Hypertension.* 2008;51(4):952-9.
- Humphreys V, Martin RM, Ratcliffe B, Duthie S, Wood S, Gunnell D, et al. Age-related increases in DNA repair and antioxidant protection: a comparison of the Boyd Orr Cohort of elderly subjects with a younger population sample. *Age Ageing.* 2007;36(5):521-6.
- Lee HC, Wei YH. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging. *Exp Biol Med (Maywood).* 2007; 232 (5): 592-606.
- David OJ, Ocwieja M, Meiser K, Emotte C, Jakab A, Wemer J, et al. Pharmacokinetics of fingolimod (FTY720) and a combined oral contraceptive coadministered in healthy women: drug-drug interaction study results. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2012;50(8):540-4.
- Gobal FA, Mehta JL. Management of dyslipidemia in the elderly population. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2010;4(6):375-83.
- Ammar T. Effects of aerobic exercise on blood pressure and lipids in overweight hypertensive postmenopausal women. *J Exerc Rehabil.* 2015;11(3):145-50.
- Perrella J, Berco M, Cecutti A, Gerulath A, Bhavnani BR. Potential role of the interaction between equine estrogens, low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL) in the prevention of coronary heart and neurodegenerative diseases in postmenopausal women. *Lipids Health Dis.* 2003 Jun 20;2:4.
- Irigoyen MC, Paulini J, Flores LJ, Flues K, Bertagnoli M, Moreira ED, et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. *Hypertension.* 2005;46(4):998-1003.
- Valença CN, Nascimento Filho JM, Germano RM. Mulher no climatério: reflexões sobre desejo sexual, beleza e feminilidade. *Saude Soc.* 2010;19(2):273-85.
- Mandarim-de-Lacerda CA, Pessanha MG. Stereology of the myocardium in embryos, fetuses and neonates of the rat. *Acta Anat (Basel).* 1995;154(4):261-6.
- Maifrino LBM, Araújo RC, Faccini CC, Liberti EA, Gama EF, Ribeiro AA, et al. Effect of exercise training on aging-induced changes in rat papillary muscle. *Arq Bras Cardiol.* 2009;92(5):356-60,373-7,387-92.
- Souza SB, Flues K, Paulini J, Mostarda C, Rodrigues B, Souza LE, et al. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. *Hypertension.* 2007;50(4):786-91.
- Silva AS, Zanesco A. Exercício físico, receptores β -adrenérgicos e resposta vascular. *J Vasc Bras.* 2010;9(2):47-56.
- Morvan E, Lima NE, Machi JF, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC, et al. Metabolic, hemodynamic and structural adjustments to low intensity exercise training in a metabolic syndrome model. *Cardiovasc Diabetol.* 2013 Jun 18;12:89.
- Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol.* 2002; 62(4A): 609-14.
- Biondo-Simões MLP, Alcantara EM, Dallagnol JC, Yoshizumi KO, Torres LFB, Borsato KS. Cicatrização de feridas: estudo comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora da angiotensina. *Rev Col Bras Cir.* 2006;33(2):74-8.
- Tampelini FS. Efeito do exercício físico aeróbico sobre os componentes fibroelástico e colágeno da aorta de ratos normotensos e hipertensos, sedentários e treinados aorta de ratos normotensos e hipertensos. [Internet]. [Citado em 2018 jan 12]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42131/tde-30052008-120037/pt-br.php> 10.11606/D.42.2008.tde-30052008-120037
- Silva DCT, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Campos DHS, Nascimento AF, Oliveira JSA et al. Influência do tempo de exposição à obesidade induzida por dieta hiperlipídica sobre os colágenos Tipo I e III miocárdico. *Arq Bras Cardiol.* 2014;102(2):157-64.
- Yu Y, Yin G, Bao S, Guo Z. Kinetic alterations of collagen and elastic fibres and their association with cardiac function in acute myocardial infarction. *Mol Med Rep.* 2018;17(3):3519-26.
- Camelliti P, Borg TK, Kohl P. Structural and functional characterization of cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res.* 2005;65(1):40-51.
- Masson S, Latinim R, Saliom M, Fiordaliso F. Cardiac fibrosis and aging. In: Razaque MS. *Fibrogenesis: Cellular and Molecular Basis.* New York:Kluwer Academic Publishers;2005.p.97-103.
- Thomas DP, McCormick RJ, Zimmerman SD, Vadlamudi RK, Gosselin LE. Aging- and training-induced alterations in collagen characteristics of rat left ventricle and papillary muscle. *Am J Physiol.* 1992;263(3 Pt 2):H778-83.
- Maifrino LBM, Araújo RC, Faccini CC, Liberti EA, Gama EF, Ribeiro AACM et al. Efeito do treinamento físico em alterações induzidas pelo envelhecimento no músculo papilar do rato. *Arq Bras Cardiol.* 2009;92(5):387-92.
- Polyakova V, Loeffler I, Hein S, Miyagawa S, Piotrowska I, Dammer S, et al. Fibrosis in endstage human heart failure: Severe changes in collagens metabolism and MMP/TIMP profiles. *Int J Cardiol.* 2011;151(1):18-33.
- Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiol Res.* 2006; 69:562-73
- Geurts N, Opendakker G, Van Den Steen P. Matrix Metalloproteinases as therapeutic targets in protozoan parasitic infections. *Pharmacol Ther.* 2012; 133(3):257-79.
- Kupai K, Szucs G, Cseh S, Hajdu I, Csonka C, Csont T, Ferdinandy P. Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zimography. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;61(2):205-9.
- Viegas KAS. Ação da angiotensina II no remodelamento da matriz extracelular perivascular em camundongos. Tese. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo; 2012.
- Wu SY, Yu YR, Cai Y, Jia LX, Wang X, Xiao CS, et al. Endogenous aldosterone is involved in vascular calcification in rat. *Exp Biol Med.* 2012; 237(1): 31-7.
- Parks WC, Mecham RP. *Extracellular matrix degradation.* New York: Springer; 2011.
- Nascimento DC, Durigan RCM, Tibana RA, Durigan JLQ, Navalta JW, Prestes J. The Response of Matrix Metalloproteinase-9 and -2 to Exercise. *Sports Med.* 2015; 45(2):269-78.
- Basalyga DM, Simionescu DT, Xiong W, Baxter BT, Starcher BC, Vyavahare NR. Elastin degradation and calcification in an abdominal aorta injury model: Role of matrix metalloproteinases. *Circulation.* 2004;110(22): 3480-7.
- Hsu T, Kuo K, Hung S, Huang PH, Chen JW, Tarng DC. Progression of kidney disease in non-diabetic patients with coronary artery disease: predictive role of circulating matrix metalloproteinase-2, -3, and -9. *PLoS One.* 2013;8(7):e70132.
- Dantas AP, Tostes RC, Forbes ZB, Costa SG, Nigro D, Carvalho MH. In vivo evidence for antioxidant potential of estrogen in microvessels of female spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 2002;39(2 Pt 2):405-11.



Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença de atribuição pelo Creative Commons