



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Gabriel Negretti Guirado

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO
SOBRE VARIÁVEIS FUNCIONAIS,
MORFOLÓGICAS E MOLECULARES DO
CORAÇÃO DE RATOS IDOSOS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia em Clínica Médica – Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Adj. Dra. Marina Politi Okoshi
Coorientador: Prof. Adj. Dr. Katashi Okoshi

Botucatu
2014

Gabriel Negretti Guirado

Influência do Exercício Físico Sobre Variáveis Funcionais, Morfológicas e Moleculares do Coração de Ratos Idosos

**Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Fisiopatologia em Clínica
Médica – Ciências da Saúde.**

Orientadora: Profa. Adj. Dra. Marina Politi Okoshi

Coorientador: Prof Adj. Dr. Katashi Okoshi

Botucatu
2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Guirado, Gabriel Negretti.

Influência do exercício físico sobre variáveis funcionais, morfológicas e moleculares do coração de ratos idosos / Gabriel Negretti Guirado. - Botucatu, 2014

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Marina Politi Okoshi

Coorientador: Katashi Okoshi

Capes: 40000001

1. Miocárdio - Doenças. 2. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos. 3. Insuficiência cardíaca diastólica. 4. Coração - Doenças. 5. Ecocardiografia. 6. Envelhecimento.

Palavras-chave: Ecocardiografia; Envelhecimento; Exercício físico; Função miocárdica; Matriz colágena intersticial.

“Tudo aquilo que o homem ignora, não existe para ele. Por isso o universo de cada um, se resume ao tamanho do seu saber”.

Albert Einstein

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”.

Leonardo Da Vinci

Dedicatória

A meus pais, LOURDIVAL e IDENI,
minhas irmãs PRISCILA, LETÍCIA e
BEATRIZ, meus avós DORIVAL (in
memorian) e LOURDES, OCTAVIO (in
memorian) e AMÁLIA (in memorian).

Agradecimentos Especiais

A DEUS, o Grande Arquiteto do Universo, por Sua constante presença em minha vida e por tantas pessoas notáveis que colocou em meu caminho e possibilitaram a realização dessa conquista. Obrigado Senhor, por me dar força e tranquilidade para superar as dificuldades, mostrando sempre o melhor caminho a seguir.

A Profa. Adj. Dra. MARINA POLITI OKOSHI, pela competência na orientação, dedicação, paciência e amizade em todos os momentos. Obrigado por fazer do aprendizado não um trabalho, mas uma forma de contentamento. Agradeço pela imensa contribuição para o meu crescimento pessoal e profissional e por toda confiança depositada na realização desse trabalho. À senhora meu mais profundo respeito e eterna gratidão!

Aos meus avós DORIVAL (in memorian) e LOURDES, OCTÁVIO (in memorian) e AMÁLIA (in memorian), pessoas fundamentais para minha formação acadêmica e pessoal. Serei eternamente grato a tudo que fizeram por mim.

A meus pais LOURDIVAL e IDENI, primeiros a lançarem as sementes do respeito, educação e gratidão, sempre me ensinando os valores e os princípios que me conduzem. Sei que nunca poderei compensar nessa vida tudo que já fizeram e ainda fazem por mim, todo tempo, dedicação, esforços, sorrisos, abraços e amor dedicados. Palavras não são suficientes para expressar meus sentimentos por vocês, porém é algo que se pode sentir em meu olhar. Vocês são meus maiores exemplos de perseverança, dedicação, trabalho e Amor! Amo vocês!

As minhas irmãs, PRISCILA, LETÍCIA e BEATRIZ, que compreenderam minha ausência e sempre me receberam com muito amor nas minhas idas a JOSÉ BONIFÁCIO e PIRACICABA. Vocês fazem minha vida melhor. Amo Vocês!

A minha namorada, MARIANA, pela compreensão nos momentos de ausência, pelo incentivo nos momentos de dificuldades e por todo amor e carinho ao longos de todos esses anos. Te amo!

Agradecimentos

À minha FAMÍLIA, pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos da minha vida.

Ao Prof. Adj. Dr. KATASHI OKOSHI, pela Coorientação, realização das avaliações ecocardiográficas, valiosas contribuições e por todos os ensinamentos transmitidos em várias etapas deste trabalho.

A Profa. Titular Dra. BEATRIZ B. MATSUBARA, pelo incentivo, respeito e profissionalismo em todos os momentos de convivência. À senhora, meus sinceros agradecimentos e profunda admiração.

Ao Prof. Dr. LUIS S. MATSUBARA pela prontidão e paciência no esclarecimento de minhas dúvidas.

Ao Prof. Titular Dr. ANTÔNIO CARLOS CICOGNA pela convivência e ensinamentos transmitidos durante realização do estudo funcional do coração. Muito obrigado por disponibilizar tantas oportunidades de aprendizado.

A Profa. Dra. PAULA S. A. GAIOLA e Dra. SILMEIA G. Z. BAZAN, pelas importantes sugestões e correções no exame de qualificação.

Aos FUNCIONÁRIOS DA SEÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO, em especial a querida amiga REGINA CÉLIA, pelo profissionalismo e eficiência em suas atividades profissionais.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, ALEXANDRE L. LOUREIRO, ANA MARIA MENGUE, BRUNO JOSÉ FAJOLLI, ELISÂNGELA A. SILVA, LAURA A. CÂMARA, RENATO B. PEREIRA, MARIO A. DALLAQUA, pela atenção, simpatia e prontidão com que sempre me ajudaram.

Aos FUNCIONÁRIOS DA SEÇÃO TÉCNICA DE REABILITAÇÃO por todos esses anos de convívio e troca de experiências e em especial à SANDRA P. VOLPI, por permitir e incentivar o crescimento profissional em todos os seus funcionários.

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa Experimental de Clínica Médica, JOSÉ CARLOS, CORINA, ELENIZE, CAMILA, MÁRIO, ROGÉRIO, DE LALLA, ÂNGELO, JOSÉ APARECIDO, SUELI CLARA, DENISE, VITOR, MARTA, SANDRA, pela colaboração, convivência e apoio.

Aos FUNCIONÁRIOS DA ENFERMARIA DE CIRURGIA CARDÍACA E TORÁCICA, pelo agradável convívio nas manhãs de trabalho, por toda cooperação e compreensão em meus momentos de ausência para que esse estudo pudesse ser realizado.

Aos amigos de laboratório, ALINE, CAMILA BONOMO, DANI GUIZONI, DANI TOMAZ, MARCELO, PAULA, RICARDO e SILVIO. Muito obrigado pelo apoio e todo auxílio na realização deste trabalho.

Aos amigos e companheiros incansáveis DJON, CAMILA MORENO, CAMILA GIMENES, RODRIGO GIMENES e LUANA PAGAN, que sempre colaboraram prontamente para realização deste trabalho.

A TODAS AS PESSOAS que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização dessa tese, sem as quais a tarefa teria sido mais difícil e, certamente, o trabalho menos completo.

Sumário

Resumo	1
Abstract	4
Introdução	7
Objetivo	12
Material e Métodos.....	14
Resultados	23
Discussão	41
Conclusão	49
Referências	51

Resumo

O envelhecimento é acompanhado por alterações estruturais e fisiológicas em vários órgãos e sistemas. No coração, as alterações mais frequentemente observadas são o aumento da matriz colágena intersticial e a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo. Atualmente, ainda não está definido se essas alterações são parte natural do processo de envelhecimento ou se são decorrentes ou moduladas por modificações comportamentais como o sedentarismo. Embora os programas de treinamento físico sejam, atualmente, parte integrante das recomendações para prevenção de doenças e reabilitação cardiovascular, seus efeitos na estrutura e função cardíaca de idosos ainda não estão completamente definidos. Adicionalmente, há poucos estudos sobre os mecanismos envolvidos nos efeitos do exercício físico regular sobre a função cardíaca. **Objetivo:** Avaliar os efeitos do exercício físico aeróbio regular sobre a capacidade funcional, a função cardíaca e miocárdica e a matriz colágena intersticial de ratos idosos. **Métodos:** Ratos Wistar machos foram divididos em três grupos: 1) jovem sedentário (W6, n=24); 2) idoso sedentário (W21-Sed, n=25); e 3) idoso exercitado (W21-Ex, n=20). O exercício físico foi realizado em esteira rolante por 12 semanas. A avaliação *in vivo* do coração foi realizada por ecocardiograma. A função miocárdica *in vitro* foi analisada em preparações de músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo (VE). Em tecido do VE, foram avaliadas a concentração de colágeno total e solúvel, por espectrofotometria, e a expressão proteica dos colágenos tipo I e III e da lisil oxidase por Western blot. Análise estatística: ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn, e teste *t* de Student. **Resultados:** Ao final do experimento, o peso corporal foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6. As variáveis anatômicas não diferiram entre os grupos. Antes do treinamento, a capacidade funcional dos grupos idosos foi semelhante. Ao final do experimento, o grupo W21-Ex apresentou maior tempo de permanência na esteira e maior distância percorrida que os grupos W21-Sed e W6. O grupo W21-Sed teve pior desempenho que o W6. A espessura diastólica da parede posterior do VE e do septo interventricular e a espessura relativa do VE foram maiores nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e não diferiram entre os grupos idosos. A onda E foi menor nos ratos idosos que no jovem. À ecoDopplercardiografia, a relação E/E' foi menor no grupo W21-Ex que no W21-

Sed (esta análise não foi realizada no grupo W6). Nas preparações com músculo papilar isolado, a tensão desenvolvida máxima foi maior no grupo W21-Sed que no W6; o grupo W21-Ex apresentou valores intermediários, não diferindo estatisticamente dos grupos W6 e W21-Sed. O tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e não diferiu entre os animais idosos. Essas alterações se mantiveram após estímulo inotrópico positivo. A concentração de colágeno total foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e não diferiu entre os animais idosos; o colágeno solúvel foi semelhante entre os grupos. A expressão de colágeno 3 foi maior no grupo W21-Sed que no W6; o grupo W21-Ex apresentou valores intermediários não diferindo dos demais grupos. O colágeno tipo I não diferiu entre os grupos. **Conclusão:** O exercício físico aeróbio regular melhora a capacidade funcional, a função diastólica do ventrículo esquerdo e atenua o acúmulo de colágeno tipo 3 no miocárdio de ratos idosos.

Palavras Chaves: envelhecimento; função miocárdica; matriz colágena intersticial; exercício físico; ecocardiografia.

Abstract

Structural and physiological changes occur in several organs and tissues during aging. In the heart, increase in interstitial collagen matrix and left ventricular diastolic dysfunction are the most frequent alterations. Whether these changes are part of aging process or induced or modulated by a sedentary life style is not established. Although physical training programs have been recommended to diseases prevention and cardiovascular rehabilitation, their effects on cardiac structures and function are not completely clear. Furthermore, there are few studies on the mechanisms involved in the beneficial effects of prolonged exercise on cardiac function. **Purpose:** To evaluate the effects of regular aerobic physical exercise on functional capacity, cardiac and myocardial function, and interstitial collagen matrix of aging rats. **Methods:** Male Wistar rats were assigned into three groups: 1) sedentary young (W6, n=24); 2) sedentary old (W21-Sed, n=25); and 3) exercised old (W21-Ex, n=20). Physical exercise was performed in treadmill for 12 weeks. *In vivo* cardiac evaluation was performed by echocardiography. Myocardial function was assessed in left ventricular (LV) papillary muscle preparation. In LV tissue, total and solubel collagen concentration was evaluated by spectrophotometry. Protein expression of tipo I and III collagen and lysyl oxidase was analyzed by Western blot. Statistical analysis: ANOVA and Bonferroni or Kruskal-Wallis and Dunn, and Student *t* test. **Results:** At the end of the experiment, body weight was greater in W21-Sed and W21-Ex groups than W6. Anatomical variables did not differ between groups. Before training, functional capacity did not differ between aged groups. At the end of experiment, W21-Ex group present higher distance and time in treadmill than W21-Sed e W6. W21-Sed group had worse physical capacity than W6. Thickness of LV diastolic posterior wall and interventricular septum and relative wall thickness were greater in W21-Sed and W21-Ex than W6 and did not difer between aged groups. E wave was lower in both aged groups than W6. In echoDopplercardiography, E/E' ratio was lower in the W21-Ex than W21-Sed group (this analyse was not performed in the W6 group). In isolated papillary muscle, developed tension was higher in W21-Sed than W6; in the W21-Ex group, values did not differ from W6 and W21-Sed groups. Time to peak tension was higher in W21-Sed and W21-Ex than W6 and did not differ between

aged groups. These alterations remained after positive inotropic stimulation. Total collagen concentration was higher in W21-Sed and W21-Ex than W6 and did not differ between aged groups. Soluble collagen did not differ between groups. Type III collagen expression was higher in W21-Sed than W6; the W21-Ex group presented intermediary values that did not differ from W21-Sed and W6 groups. Type I collagen was similar between groups. **Conclusion:** Regular physical aerobic training improves functional capacity and left ventricular diastolic function and attenuates type III collagen myocardial accumulation in aged rats.

Key Words: aging, myocardial function; interstitial collagen matrix; physical exercise; echocardiography.

Introdução

Com a melhora das condições de vida da população e a disponibilidade de tratamento para várias doenças, houve aumento global da expectativa de vida, com a consequente elevação do número de pessoas idosas na população. Segundo a Organização Mundial da Saúde, no ano 2000, havia no mundo 600 milhões de pessoas com idade maior ou igual a 60 anos. Até 2025, esse número deverá dobrar e, em 2050, atingir a cifra de dois bilhões de idosos ¹.

Nos Estados Unidos, no ano de 2010, o número de americanos com idade maior ou igual a 75 anos era de 18,6 milhões de pessoas, correspondendo a aproximadamente 6% da população ². As previsões sugerem que estes números devam dobrar até o ano de 2050 ¹⁻⁴.

No Brasil, a população de pessoas de 60 anos ou mais aumentou aproximadamente 45% entre 1991 e 2000 ¹ e a expectativa de vida foi elevada de 64 anos em 1985 para 69 anos em 2000 ³.

O número de pessoas com 60 anos ou mais apresentou aumento de 700 mil pessoas, entre 2008 e 2009, o que representou crescimento de 3,3% da população idosa, contrastando com aumento de 1% no total da população residente no país. Em 2004, o número de idosos correspondia a 9,7% da população brasileira, passando para 11,3% em 2009 ⁵. As estimativas indicam que o país chegará ao ano de 2030 com população acima de 65 anos correspondendo a aproximadamente 13,4% da população total ^{6, 7}.

O processo de envelhecimento é acompanhado por alterações fisiológicas e pelo aparecimento de doenças crônico-degenerativas ^{4,8}. No sistema cardiovascular de idosos aparentemente saudáveis, são observadas modificações na estrutura e função de vasos sanguíneos e do coração. Entre as alterações estruturais cardíacas, destaca-se a redução do número de miócitos relacionada à ocorrência de apoptose e necrose celular ⁹. Como ocorre crescimento do tamanho dos miócitos remanescentes ¹⁰, pode ocorrer aumento na espessura da parede do ventrículo esquerdo (VE) ¹¹. Entretanto, os resultados referentes à massa do VE permanecem controversos. Em estudo de Framingham, não foi observada associação significativa entre envelhecimento e massa do VE avaliada por ecocardiografia ¹². Entretanto, quando a massa ventricular foi avaliada por ressonância magnética, foi verificada redução da massa do VE com o

envelhecimento ^{13, 14}. Também foram descritos aumento focal do tecido colágeno e alteração de suas propriedades físicas ^{10, 11}, o que pode causar aumento progressivo da rigidez ventricular e comprometer a função diastólica ¹⁴⁻¹⁶.

De fato, entre as alterações funcionais associadas ao processo de envelhecimento, as mais evidentes relacionam-se à função diastólica do ventrículo esquerdo ^{11, 14}. O aumento da massa do ventrículo esquerdo e do tecido colágeno miocárdico promove redução da complacência do miocárdio e da câmara ventricular e aumento da rigidez ventricular ^{10, 13, 14}. Provavelmente em decorrência desses fatores, ocorre diminuição progressiva do pico da velocidade de fluxo na fase de enchimento diastólico rápido do ventrículo esquerdo (onda E transmitral) ¹⁷ e aumento no tempo de desaceleração da onda E ¹⁸. A alteração das propriedades diastólicas do VE pode levar ao aparecimento da síndrome clínica de insuficiência cardíaca diastólica, mais comumente observada em idosos ¹⁹.

Em relação à função sistólica, os dados de literatura são mais discordantes do que para a função diastólica. Alguns autores descreveram que a fração de ejeção mantém-se preservada com o envelhecimento ^{20, 21}. Por outro lado, em estudos por ressonância magnética, foi observado que indivíduos idosos apresentam discreto aumento da fração de ejeção do VE decorrente de diminuição dos volumes sistólico e diastólico final quando comparados a indivíduos jovens ^{13, 22}.

Em estudos experimentais, foi verificado ainda que o envelhecimento é acompanhado por alterações cardíacas moleculares e bioquímicas intracelulares que caracterizam-se, principalmente, por alterações nas proteínas que regulam o trânsito intracelular de cálcio e nas isoformas das cadeias pesadas de miosina, redução na atividade da enzima Ca^{2+} -ATPase da miosina, na função do retículo sarcoplasmático e na resposta contrátil ao estímulo beta-adrenérgico, e elevação da atividade miocárdica do sistema renina angiotensina ^{8, 9, 17}.

Atualmente, ainda há controvérsias se as alterações da função diastólica são parte natural do processo de envelhecimento per se, ou se são decorrentes ou influenciadas por condições patológicas ou por modificações comportamentais como, por exemplo, o sedentarismo ²³. Embora os programas de treinamento físico sejam, atualmente, parte integrante das recomendações para

prevenção de doenças e reabilitação cardiovascular ²⁴⁻²⁶, seus efeitos na estrutura e função cardíaca de idosos ainda não estão completamente definidos ²⁷⁻²⁹.

Gates et al. ²⁸ analisaram homens saudáveis jovens, de meia idade e idosos, sedentários ou envolvidos em atividades físicas recreacionais ou em vigoroso treino aeróbio competitivo. Os autores observaram que as alterações na estrutura e na função diastólica do ventrículo esquerdo associadas ao envelhecimento não foram modificadas pelo treinamento físico recreacional ou competitivo. Por outro lado, em oposição a esses resultados, há fortes evidências que a prática duradoura de exercícios físicos intensos preserva ou atenua as alterações das propriedades diastólicas do ventrículo esquerdo decorrentes do envelhecimento ^{30, 31}. Atletas competitivos idosos que exercitaram por período médio de 37 anos apresentaram aumento do diâmetro diastólico e da massa do ventrículo esquerdo quando comparados a homens sedentários da mesma faixa etária. Apesar do aumento da massa miocárdica, os atletas apresentaram melhora da função diastólica do ventrículo esquerdo avaliada por Doppler tissular quando comparados a idosos sedentários ³². Esses achados puderam ser confirmados por Arbab-Zadeh et al. ³³ em cuidadoso trabalho combinando avaliação hemodinâmica invasiva e estudo ecocardiográfico. Os autores observaram que atletas idosos, envolvidos em competições de longa distância por pelo menos 10 anos, tiveram complacência ventricular maior que a de idosos sedentários e semelhante à de jovens sedentários. Trabalhos realizados antes do advento da ecocardiografia com Doppler tissular também sugeriram que a prática duradoura de exercícios está associada a preservação das propriedades diastólicas do ventrículo esquerdo durante o envelhecimento ^{30, 34, 35}.

Em estudos experimentais, poucos autores avaliaram o efeito da prática de exercício físico regular e por tempo prolongado nas alterações cardíacas decorrentes do envelhecimento. Brenner et al. ¹⁸ verificaram que ratos idosos sedentários apresentaram disfunção diastólica. Entretanto, quando submetidos a 12 semanas de exercícios aeróbios regulares, os ratos idosos apresentaram função diastólica semelhante à de adultos jovens. Em protocolo semelhante, Choi et al. ³⁶ também observaram atenuação da disfunção diastólica em ratos idosos treinados. Além disso, os autores verificaram que o treinamento físico foi associado a melhora

da função sistólica quando comparada à de animais idosos sedentários. Por outro lado, ratos que se exercitaram voluntariamente durante 16 meses tiveram estrutura e função cardíaca semelhante à de animais sedentários ³⁷. Os estudos acima sugerem que pelo menos parte das alterações cardíacas funcionais observadas com a idade podem ser reversíveis com a prática de exercício físicos e, portanto, não são intrínsecas ao processo de envelhecimento. É importante ressaltar que não identificamos estudos que avaliaram especificamente os efeitos do exercício físico sobre a função miocárdica durante o envelhecimento.

Os mecanismos pelos quais o exercício físico resulta em preservação da função cardíaca durante o envelhecimento ainda não estão completamente definidos. Marfino et al. ³⁸ demonstraram que o treinamento físico reduz alterações cardíacas habitualmente associadas ao envelhecimento como fibrose, perda de miócitos, hipertrofia dos miócitos remanescentes e redução do número de capilares. Em ratos idosos treinados, a melhora da função cardíaca foi associada a preservação das características bioquímicas da matriz colágena miocárdica ³⁶. Especificamente, o exercício físico regular preveniu aumento do colágeno miocárdico, reduziu cross-link do colágeno e atenuou a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo que ocorre com o envelhecimento ³⁶. Em ratos espontaneamente hipertensos jovens, foi observado que o treinamento aeróbio regular induz melhora na performance cardíaca associada a aumento na expressão gênica da SERCA2, redução na atividade da calcineurina e diminuição de apoptose miocitária e da expressão gênica do fator atrial natriurético ³⁹.

Em resumo, há poucos estudos na literatura sobre os mecanismos envolvidos nos efeitos do exercício físico regular sobre a função cardíaca de ratos idosos. Como o processo de envelhecimento é associado a disfunção cardíaca e fibrose miocárdica, neste estudo testaremos a hipótese que a melhora da função cardíaca induzida pelo exercício físico regular está associada a preservação das propriedades qualitativas e quantitativas da matriz colágena intersticial.

Objetivo

Avaliar os efeitos do exercício físico aeróbio regular sobre a função cardíaca e miocárdica e a matriz colágena intersticial de ratos idosos.

Material e Métodos

Animais e constituição dos grupos

Foram utilizados 69 ratos Wistar machos, com peso corporal de aproximadamente 350 g, provenientes do Biotério Central do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP.

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP (protocolo nº CEEA 855-2010).

Os animais foram divididos em três grupos experimentais:

- Grupo jovem (W6, n= 24 animais), composto por ratos com seis meses de idade. O grupo foi utilizado como controle para caracterização das alterações cardíacas associadas ao envelhecimento;
- Grupo idoso sedentário (W21-Sed, n= 25), composto por ratos idosos, que iniciaram o experimento com 18 meses de idade e que não realizaram exercício físico regularmente;
- Grupo idoso exercitado (W21-Ex, n= 20), composto por ratos idosos, que iniciaram o experimento com 18 meses de idade e que foram submetidos ao protocolo de treinamento físico durante 12 semanas.

Os animais foram alojados em gaiolas (dois ratos por gaiola) e mantidos em ambiente com temperatura controlada ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo invertido (ciclos 12/12 horas claro/escuro). Os ratos receberam água e ração comercial *ad libitum*.

Anteriormente ao início do protocolo, os animais foram submetidos a período de familiarização com a esteira, caminhando ou correndo 10 m/min, 10 min/dia, durante cinco dias, em esteira rolante (AVS esteira para ratos) contendo oito baias individuais (Figura 1).

A duração das sessões e a velocidade da esteira foram progressivamente aumentadas durante o período de treinamento como descrito abaixo:

- semana 1: 10 min, 10 m/min;
- semana 2: 15 min: 10 m/min;
- semana 3: 15 min: 15 m/min;

- semana 4: 20 min: 15 m/min;
- semana 5: 25 min: 15 m/min;
- semana 6 a 12: 30 min, 15m/min.

O treinamento foi aplicado uma vez ao dia e cinco dias por semana. De acordo com dados publicados anteriormente, essa intensidade de treinamento corresponde a aproximadamente 70%-85% do consumo máximo de oxigênio ⁴⁰.

Os animais do grupo W18-Sed foram colocados para caminhar em velocidade 10 m/min, 1-2 vezes/semana durante as 12 semanas para manter familiarização com a esteira e com os procedimentos de manipulação animal. Todos os ratos permaneceram no mesmo local em que o treinamento físico foi realizado; dessa forma, os três grupos experimentais foram expostos a condições ambientais semelhantes.

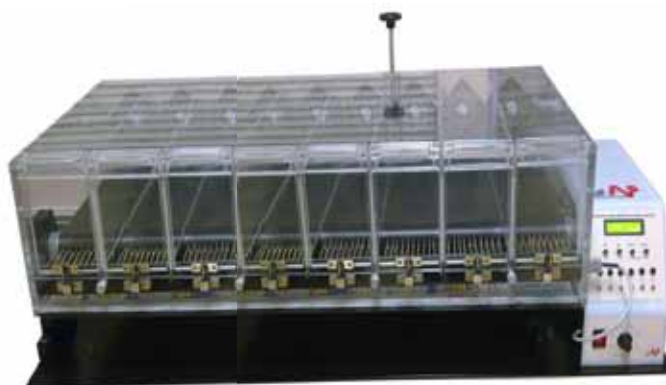


Figura 1. Esteira rolante (*AVS esteira para ratos*)

Capacidade máxima de exercício

No início e ao final do período experimental, os animais foram submetidos a realização de teste de caminhada/corrida em esteira para mensuração da capacidade máxima de exercício. O protocolo para avaliação foi iniciado com caminhada à velocidade de 10 m/min durante cinco minutos, seguido de aumentos da velocidade de 2 m/min a cada 2 minutos até a exaustão ³⁶. Os ratos foram considerados exaustos quando não mais estiveram aptos a permanecerem caminhando mesmo após estímulos ¹⁸.

Estudo ecocardiográfico

O ecocardiograma foi realizado no início e no final do período experimental para os grupos W21-Sed e W21-Ex. No grupo W6, foi realizado apenas no início do experimento. Os ratos foram submetidos à anestesia com cloridrato de cetamina (50 mg/kg, i.p.) e cloridrato de xilidino (1 mg/kg, i.p.). Após tricotomia da região anterior do tórax, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo para a realização do exame. Foi utilizado o equipamento modelo HDI-5000 da Philips, equipado com transdutor eletrônico multifrequencial de 5-12 MHz. Para avaliar as medidas estruturais do coração foram obtidas imagens em modo monodimensional (modo-M) orientado pelas imagens em modo bidimensional, estando o transdutor em posição paraesternal, eixo menor. A avaliação do ventrículo esquerdo (VE) foi realizada posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral no nível dos músculos papilares⁴¹⁻⁴³. As imagens da aorta e do átrio esquerdo foram obtidas posicionando o cursor do modo-M ao nível do plano da valva aórtica. As imagens obtidas no modo-M foram registradas em impressora modelo UP-895 da Sony Co.

Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas, manualmente, com o auxílio de um paquímetro (Mitutoyo, Japan). As seguintes estruturas foram medidas: diâmetros diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do VE; espessuras diastólica (EDPP) e sistólica (ESPP) da parede posterior do VE; espessuras diastólica (EDSIV) e sistólica (ESSIV) do septo interventricular; diâmetro da aorta (AO) e do átrio esquerdo (AE); e espessura relativa do ventrículo esquerdo (Esp. Rel. VE), calculada segundo a fórmula: $\text{Esp. Rel. VE} = 2 \times \text{EDPP} / \text{DDVE}$. A massa do VE (MVE) foi calculada pela fórmula $[(\text{DDVE} + \text{EDPP} + \text{EDSIV})^3 - (\text{DDVE})^3] \times 1,04$, onde 1,04 representa a densidade específica do miocárdio⁴⁴. O índice de MVE (IMVE) foi calculado normalizando a MVE para o peso corporal.

A função sistólica do VE foi avaliada pelos seguintes índices: 1) porcentagem de encurtamento endocárdico ($\% \Delta \text{ endo}$) = $[(\text{DDVE} - \text{DSVE}) / \text{DDVE}]$; 2) fração de ejeção (FE) = $[(\text{DDVE}^3 - \text{DSVE}^3) / \text{DDVE}^3]$; 3) velocidade de encurtamento da parede posterior (VEPP), que é a tangente máxima do movimento sistólico da parede posterior do VE. A função diastólica do VE foi avaliada pelos

seguintes índices: 1) razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; 2) tempo de desaceleração da onda E (TDE); 3) tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV). O índice de performance miocárdica Tei, que avalia conjuntamente as funções sistólica e diastólica do VE, foi calculado pela seguinte equação: $(TCI + TRIV)/TEJ$, onde TCI e TEJ indicam tempo de contração isovolumétrica e tempo de ejeção, respectivamente.

No final do período experimental, o estudo ecocardiográfico foi complementado pela avaliação por Doppler tissular dos deslocamentos sistólico (S'), diastólico inicial (E') e tardio (A') do anel mitral (média aritmética das velocidades de deslocamento das paredes lateral e septal), e pela razão entre as ondas E e E' (E/E') e E' e A' (E'/A').

Estudo do músculo papilar isolado

A função miocárdica foi analisada por meio de preparações com músculos papilares isolados do VE. O desempenho mecânico do músculo papilar foi realizado dentro de 48 horas após a realização do ecocardiograma, de acordo com a técnica utilizada rotineiramente em nosso laboratório ⁴⁵⁻⁴⁷. Após anestesia com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.), os animais foram submetidos a toracotomia mediana, o coração foi rapidamente removido e colocado em solução de Krebs-Henseleit à temperatura de 28° C, previamente oxigenada (10 min) com 95% de oxigênio (O₂) e 5% de dióxido de carbono (CO₂). A composição da solução de Krebs-Henseleit, em milimoles por litro, é: 118,5 NaCl; 4,69 KCl; 2,52 CaCl₂; 1,16 MgSO₄; 1,18 KH₂PO₄; 5,50 glicose e 25,88 NaHCO₃. Após dissecação, o VE foi dividido em duas partes, cada uma contendo o seu músculo papilar e em seguida, dissecado numa placa de vidro contendo solução descrita acima. Os músculos papilares, após terem as suas extremidades presas aos anéis de aço inoxidável, foram transferidos para câmara de vidro contendo solução de Krebs-Henseleit, com pH entre 7,38 a 7,42, constantemente oxigenada com 95% de O₂ e 5% de CO₂ e mantida à temperatura de 28° C, graças ao uso de banho circulante. Os músculos papilares foram mantidos em posição vertical na câmara de vidro, a extremidade inferior dos

anéis foi ligada a fios de aço inoxidável de 0,31 mm de diâmetro, conectado a transdutor de força (Kyowa 120T-20B) e a extremidade superior conectado a fio de aço, preso à extremidade do braço longo de uma alavanca isotônica. Sobre essa extremidade havia um micrômetro que, controlando a extensão dos movimentos da alavanca, permitiu ajustar o comprimento do músculo na fase de relaxamento muscular. O estiramento inicial da fibra cardíaca foi realizado com carga de pequeno peso (pré-carga) suspensa na extremidade do braço curto da alavanca, que é acoplado a transdutor de comprimento (Hewlett Packard, modelo 7 DCDT-050). Os músculos papilares foram estimulados 12 vezes por minuto por meio de eletrodos de platina tipo agulha (E8 - Grass), acoplados a estimulador elétrico programado para liberar estímulos em onda quadrada de 5 mili-segundos (ms), com voltagem de estímulo de 12 a 15 volts, correspondendo a voltagem aproximadamente 10% acima do mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo. Após período de estabilização de 60 min., foi calculado o comprimento do músculo no qual a tensão desenvolvida é máxima, denominado de L_{max} . O registro das variáveis, em contração isométrica, foi iniciado após verificar-se que o músculo papilar permaneceu estável nesse tipo de contração durante 15 minutos. Os índices de contração avaliados foram: tensão desenvolvida máxima (TD, g/mm²); tempo para atingir o pico de tensão desenvolvida (TPT, ms) e derivada positiva máxima de tensão desenvolvida (+dT/dt, g/mm²/s). O relaxamento muscular foi avaliado pela derivada negativa máxima da tensão desenvolvida (-dT/dt) e pela tensão de repouso (TR, g/mm²). Após registro da contração isométrica basal, o comprimento do músculo foi reduzido para 90% de L_{max} e foram registradas contrações isométricas nos comprimentos musculares equivalentes a 90, 92, 94, 96, 98 e 100% de L_{max} . O estudo funcional *in vitro* foi complementado por manobras que aumentam a contratilidade miocárdica, com a finalidade de avaliar a reserva contrátil ⁴⁸. Após o período de estabilização, foi realizada a manobra de pós-pausa, a qual consiste em permitir que o músculo fique em repouso durante 10, 30 e 60 segundos, e a primeira contração após esse período foi analisada. Após 5 minutos, a solução nutriente de Krebs-Henseleit foi trocada para outra solução contendo 0,625 mM de cálcio. Após período de 10 minutos para estabilização, foi aumentada a concentração extracelular de cálcio

para 1,25 e 2,5 mM e registradas as contrações. Após essa manobra, o músculo foi colocado em solução com 1,25 mM de cálcio e deixado estabilizar por 10 minutos antes de dar início à adição de isoproterenol (agonista beta-adrenérgico) nas concentrações de 10^{-8} , 10^{-7} e 10^{-6} mM, respeitando-se intervalo de 10 minutos para estabilização antes do registro das contrações. As contrações isométricas foram registradas por meio de sistema de aquisição de dados computadorizado (AcqKnowledge® MP100, Biopac Systems Inc., Santa Barbara, CA, USA) e o comprimento do músculo (L_{max}) foi mensurado com auxílio de catetômetro Gartner (Gartner Scientific Corporation, Chicago, USA). Ao final do experimento, a porção muscular entre os anéis de aço foi removida, submetida à secagem com papel filtro e posteriormente pesada para cálculo da área seccional do músculo papilar (peso / comprimento do músculo).

Variáveis anatômicas

O grau de hipertrofia ventricular foi avaliado pelos pesos dos ventrículos direito e esquerdo em valores absolutos e normalizados pelo peso corporal dos animais. Após a retirada do coração do tórax, os átrios foram separados e os pulmões e fragmento do fígado foram coletados para determinação da relação peso úmido/peso seco desses órgãos.

Western blotting

A expressão proteica do colágeno tipo I (col1a1) e tipo III (col3a1) e da lisil oxidase-1 (LOX1) foi avaliada por Western blot ⁴⁹⁻⁵¹. As amostras das proteínas foram diluídas em tampão Laemmli (Tris-HCL 240mM, SDS, 0,8%, glicerol 40%, azul de bromofenol 0,02% e β -mercaptoetanol 200mM) e separadas por eletroforese utilizando sistema Mini-Protean 3 Electrophoresis Cell (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). A corrida eletroforética foi realizada em gel bifásico, de empilhamento (Tris-HCL 240mM pH 6,8, poliacrilamida 30%, APS e Temed) e de resolução (Tris-HCL 240mM pH 8,8, poliacrilamida 30%, APS e Temed), na concentração de 6 a 10%, dependente do peso molecular da proteína analisada. A

corrida eletroforética foi efetuada a 120V (Power Pac HC 3.0A, Bio-Rad, Hercules, CA, USA), aproximadamente 3 horas, com tampão de corrida (Tris 0,25M, glicina 192 mM e SDS 1%). Em seguida, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose em sistema Mini-Trans Blot (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) utilizando-se tampão de transferência (Tris 25 mM, glicina 192 mM, metanol 20% e SDS 0,1%). Os sítios inespecíficos de ligação do anticorpo primário à membrana foram bloqueados mediante incubação com solução a 0,5% de leite em pó desnatado, dissolvido em tampão TBS-T pH 7,4 (Tris-HCl 20mM, NaCl 137mM e detergente Tween 20 0,1%) por 120 minutos à temperatura ambiente sob constante agitação. Em seguida, a membrana foi lavada três vezes em solução basal (Tris 1M pH2,8, NaCl 5M e Tween 20) e incubada com o anticorpo primário diluído na solução bloqueadora, sob agitação constante por 12 h. Após a incubação com o anticorpo primário, a membrana foi incubada com o anticorpo secundário em solução bloqueadora por 2 h. A seguir, a imuno-deteção foi realizada por meio do método de quimioluminescência de acordo com as instruções do fabricante (Enhancer Chemi-Luminescence, Amersham Biosciences, NJ-USA). As membranas de nitrocelulose foram expostas a filmes radiográficos X-Omat AR (Eastman Kodak Co., USA), nos tempos padronizados para cada proteína estudada. As análises quantitativas dos blots foram realizadas pelo programa *Scion Image* (Scion Corporation, Frederick, Maryland, EUA). Os resultados foram normalizados para aqueles obtidos com a proteína GAPDH (6C5 sc-32233, Santa Cruz Biotechnology).

Os anticorpos anti-coll1a1 (sc8784-r), anti-GAPDH (sc-32233) e os anticorpos secundários anti-mouse (sc-2005) e anti-rabbit (sc-2004) foram adquiridos da Santa Cruz Biotechnology Inc. (California, USA); os anticorpos anti-coll3a1 (ab6310) e anti-LOX1 (ab60178) foram adquiridos da Abcam (Cambridge, UK).

Avaliação colorimétrica do tecido colágeno

Para avaliação do colágeno total e solúvel do tecido cardíaco foram utilizados dois ensaios colorimétricos. A análise do colágeno solúvel foi realizada com extração do tecido por ácido acético e pepsina utilizando-se o método de coloração por Sirius red e leitura por espectrofotometria a 540 nm. A análise do colágeno total foi realizada por hidrólise ácida mediante adição de HCl 6N em cada um dos tubos da amostra e, posteriormente, foi adicionado a solução cloramina T/P-dimetilamina-benzaldeído para obtenção da cor, e a leitura foi realizada por espectrofotometria a 570 nm.

Análise estatística

Os resultados estão expressos como média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. Para as comparações entre os grupos foi utilizada a técnica da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste post hoc de Bonferroni para os dados com distribuição paramétrica ou ANOVA "on ranks" seguido do teste Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn para dados com distribuição não paramétrica. As variáveis obtidas ao ecoDopplercardiograma, nos grupos W21-Sed e W21-Ex, foram comparadas por teste *t* de Student não pareado ou pelo teste de Mann-Whitney. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas ao nível de significância de 5%.

Resultados

Durante o período experimental, não houve perda de animais por óbito. No grupo W21-Ex, dois ratos não se adaptaram ao exercício na esteira e, portanto, foram excluídos do experimento.

O peso corporal final foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 (Tabela 1). O peso corporal inicial não diferiu estatisticamente entre os grupos W21-Sed e W21-Ex (Tabela 2). As variáveis anatômicas estão apresentadas na Tabela 1. O peso do ventrículo direito normalizado pelo peso corporal foi menor nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6. A relação peso úmido/peso seco do ventrículo esquerdo foi menor no grupo W21-Ex que nos outros grupos. As demais variáveis não diferiram entre os grupos.

Avaliação Ecocardiográfica

As Tabelas 2 e 3 apresentam as variáveis cardíacas obtidas por ecocardiograma no início do período experimental, para os grupos W21-Sed e W21-Ex. A avaliação foi realizada para assegurar homogeneidade entre os grupos antes do período de treinamento. O índice Tei foi significativamente maior no grupo W21-Ex que no grupo W21-Sed. Todas as demais variáveis analisadas não diferiram entre os grupos.

As Tabelas 4 e 5 apresentam as variáveis cardíacas obtidas por ecocardiograma no final do período experimental para os três grupos estudados. O diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo normalizado pelo peso corporal foi menor nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e as espessuras diastólicas da parede posterior do ventrículo esquerdo e do septo interventricular foram maiores nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e não diferiram entre os grupos sedentário e exercitado. Em relação à avaliação funcional do ventrículo esquerdo, a onda E foi menor em ambos os grupos W21 que no W6. As demais variáveis cardíacas estruturais e funcionais do ventrículo esquerdo não diferiram entre os grupos. Na Tabela 6, estão apresentados os resultados obtidos à avaliação por ecoDopplercardiografia nos grupos W21-Sed e W21-Ex ao final do período experimental. Observa-se que o grupo W21-Ex apresentou aumento das ondas E'

lateral e da E' média (que é o valor médio entre E' lateral e E' septal) e da relação E'/A' e redução da relação E/E' em comparação ao grupo W21.

Estudo funcional do músculo papilar

Os resultados obtidos no estudo funcional do músculo papilar na condição basal estão apresentados na Tabela 7. A tensão desenvolvida máxima (TD) foi maior no grupo W21-Sed que no W6; o grupo W21-Ex apresentou valores intermediários, não diferindo estatisticamente dos grupos W6 e W21-Sed. O tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida (TPT) foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e não diferiu entre os animais idosos. As demais variáveis não apresentaram diferença significativa entre os grupos.

Os resultados obtidos após as manobras inotrópicas positivas estão expressos nas Tabelas 8 a 10. Nas três contrações pós-pausa, a TD e o TPT foram maiores no grupo W21-Sed que no W6. No grupo W21-Ex, a TD foi maior que no W6 apenas na contração pós-pausa de 30"; o TPT foi maior que no W6 em todas as contrações. Não foram identificadas diferenças entre os grupos W21-Sed e W21-ex.

Após alterações da concentração extracelular de cálcio, o TPT foi maior no W21-Sed que no W6 em todas as concentrações extracelulares de cálcio e maior no W21-Ex que no W6 nas duas concentrações menores de cálcio, de 0,625 mM e de 1,25 mM. A tensão de repouso (TR) foi maior no grupo W21-Sed que no W6 nas concentrações de 0,625 mM e de 1,25 mM de cálcio. Não detectamos diferenças estatisticamente significantes entre os grupos W21-Sed e W21-Ex.

Após adição de isoproterenol à solução nutriente, o TPT foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 nas três concentrações estudadas. A TR foi maior no W21-Sed que no W6 nas três concentrações de isoproterenol e maior no grupo W21-Ex que no W6 apenas na concentração de 10^{-6} M de isoproterenol. Os grupos W21-Sed e W21-Ex não diferiram entre si.

Na Tabela 11, estão expressas as variáveis funcionais do músculo papilar obtidas em comprimentos musculares de repouso equivalentes a 90, 92, 94, 96, 98 e 100 de L_{max} . O TPT foi maior no grupo W21-Sed que no W6 em todos

os comprimentos avaliados. O grupo W21-Ex apresentou comportamento intermediário, não diferindo estatisticamente dos grupos W6 e W21-Sed para essa variável. A TR foi menor no grupo W21-Sed que nos grupos W6 e W21-Ex no comprimento de repouso correspondente a 90% de Lmax.

Avaliação do tecido colágeno

A concentração de colágeno solúvel não diferiu significativamente entre os grupos. A concentração do colágeno total foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6 e não diferiu entre os animais idosos treinados e sedentários (Tabela 12).

À análise por Western blot, a concentração de colágeno 1 não diferiu entre os grupos. A concentração de colágeno 3 foi maior no grupo W21-Sed que no W6; o grupo W21-Ex não diferiu estatisticamente dos demais grupos (Tabela 13).

Teste de Esforço

Ao teste de esforço realizado em esteira no momento inicial, o tempo de permanência na esteira e a distância percorrida não diferiram entre os grupos W21-Sed e W21-Ex. Ao final do período experimental, o grupo W21-Sed apresentou menor capacidade funcional que o grupo W6 e o grupo W21-Ex apresentou maior tempo de permanência na esteira e maior distância percorrida que os grupos W6 e W21-Sed (Figuras 2 e 3).

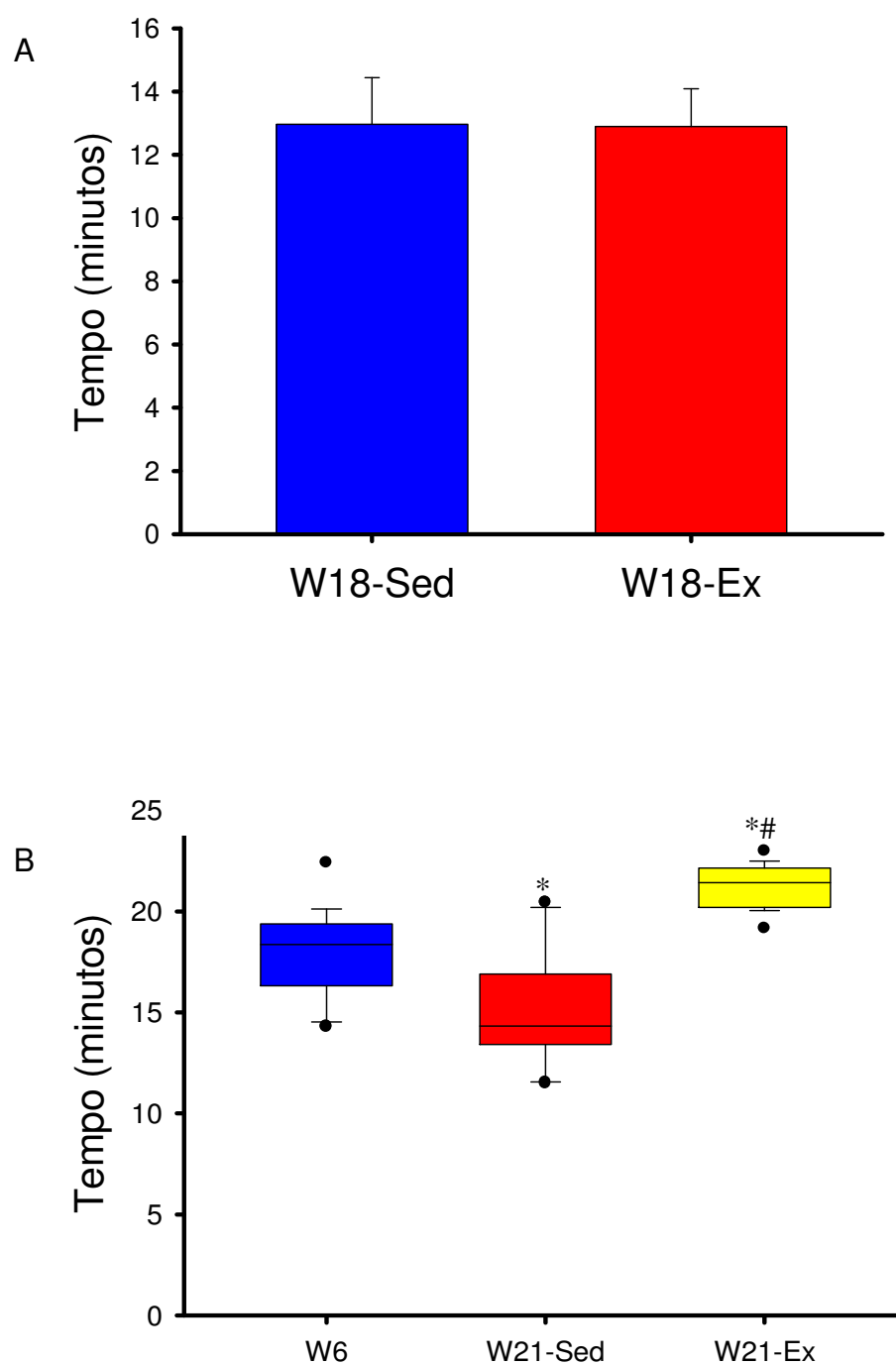


Figura 2. Teste de esforço realizado no início (A) e final (B) do período experimental mostrando o tempo de permanência na esteira. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs W6; # $p < 0,05$ vs W21-Sed.

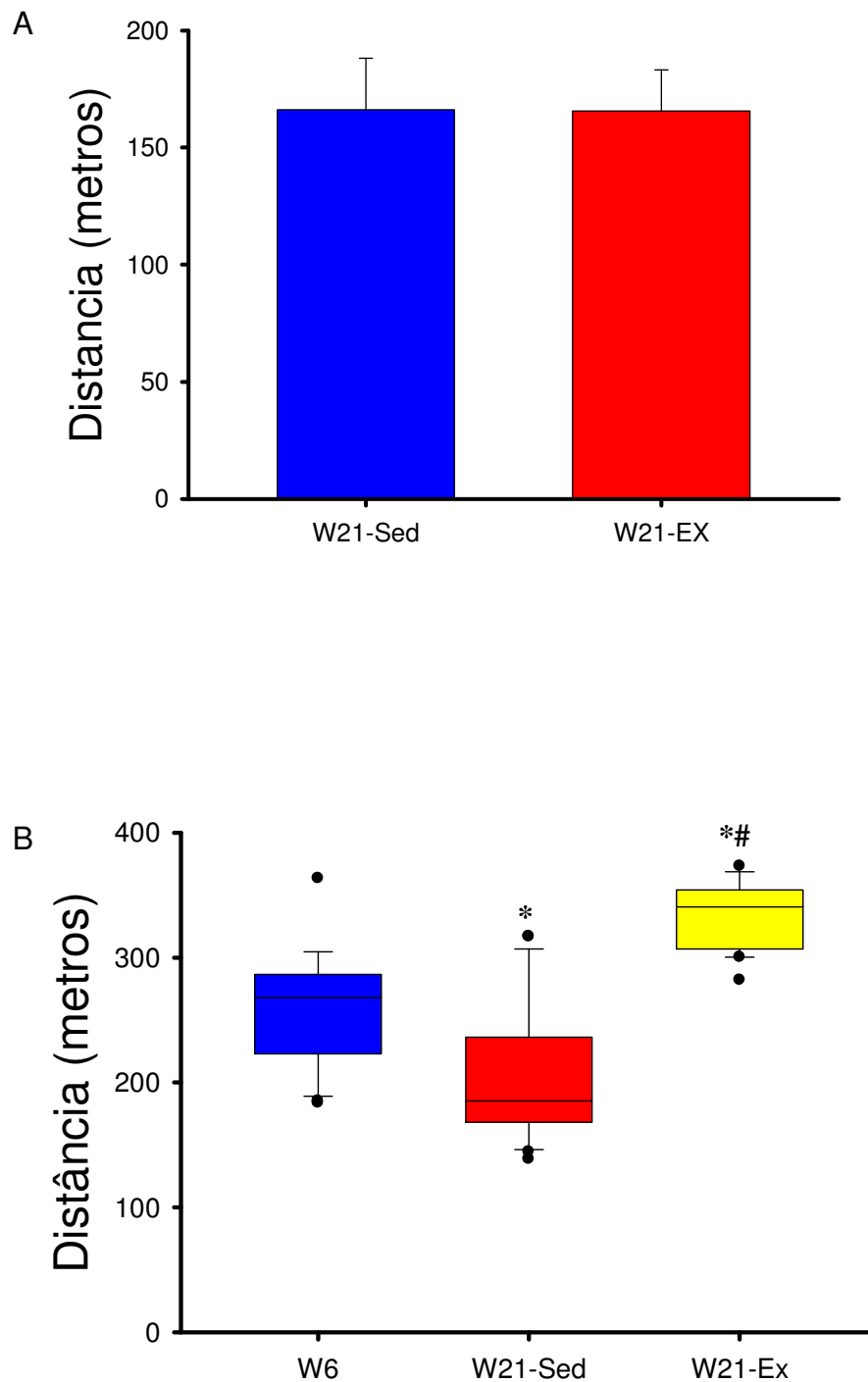


Figura 3. Teste de esforço realizado no início (A) e final (B) do período experimental mostrando a distância percorrida na esteira. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados. ANOVA e Bonferroni; * $p < 0,05$ vs W6; # $p < 0,05$ vs W21-Sed.

Tabela 1. Variáveis anatômicas

Variável	W6 (n= 22)	W21-Sed (n=24)	W21-Ex (n=20)
PC (g)	497 ± 85	555 ± 58*	533 ± 79*
VE (g)	0,88 (0,80 - 0,91)	0,88 (0,84 - 0,92)	0,88 (0,84 - 0,91)
VE/PC (g/kg)	1,81 (1,52 - 1,96)	1,65 (1,52 - 1,79)	1,72 (1,64 - 1,85)
VD (g)	0,28 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,04
VD/PC (g/kg)	0,59 (0,49-0,66)	0,39 (0,36-0,42)*	0,44 (0,36-0,56)*
Átrios (g)	0,10 (0,09 - 0,11)	0,10 (0,09 - 0,10)	0,09 (0,08 - 0,11)
Átrios/PC (g/kg)	0,22 (0,17- 0,26)	0,17 (0,16-0,19)	0,17 (0,16-0,21)
VE úmido/seco	4,10 (4,04 -4,20)	4,06 (3,93 - 4,28)	3,67 (3,12 - 4,02)*#
VD úmido/seco	4,25 ± 0,10	4,30 ± 0,16	4,20 ± 0,54
Átrios úmido/seco	4,77 ± 0,30	4,71 ± 0,65	4,81 ± 0,70
Pulmão úmido/seco	4,73 ± 0,58	5,23 ± 0,41	5,42 ± 0,89
Fígado úmido/seco	3,15 ± 0,15	3,25 ± 0,22	3,12 ± 0,13

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; PC: peso corporal; VE: peso do ventrículo esquerdo; VD: peso do ventrículo direito. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6; # p < 0,05 vs W21-Sed.

Tabela 2. Variáveis estruturais cardíacas obtidas por ecocardiograma no início do período experimental

Variável	W21-Sed (n=24)	W21-Ex (n=20)
PC (g)	582 ± 73	567 ± 73
FC (bpm)	268 ± 60	252 ± 44
DDVE (mm)	8,19 ± 0,80	8,29 ± 0,64
DDVE/PC (mm/kg)	14,29 ± 2,29	14,78 ± 1,61
DSVE (mm)	3,79 ± 0,75	3,89 ± 0,58
EDPP (mm)	1,48 ± 0,07	1,50 ± 0,07
EDSIV (mm)	1,48 ± 0,07	1,51 ± 0,06
AO (mm)	4,20 (4,15 ± 4,40)	4,30 (4,20 ± 4,40)
AE (mm)	5,69 ± 0,66	6,03 ± 0,47
AE/AO	1,35 ± 0,15	1,41 ± 0,13
AE/PC (mm/kg)	9,93 ± 1,77	10,69 ± 1,62
MVE (g)	0,89 ± 0,16	0,92 ± 0,14
IMVE (g/kg)	1,53 ± 0,35	1,61 ± 0,23
Esp. Rel VE	0,359 ± 0,034	0,361 ± 0,026

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; PC: peso corporal; FC: frequência cardíaca; bpm: batimentos por minuto; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE); DSVE: diâmetro sistólico do VE; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do VE; EDSIV: espessura diastólica do septo interventricular; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo; MVE: massa do VE; IMVE: índice de massa do VE; Esp. Rel. VE: espessura relativa do ventrículo esquerdo. Teste *t* de Student ou teste de Mann-Whitney.

Tabela 3. Variáveis funcionais do ventrículo esquerdo obtidas por ecocardiograma no início do período experimental

Variável	W21-Sed (n=24)	W21-Ex (n=20)
%Δ endo	53,5 ± 5,40	53,2 ± 5,38
FE	0,90 ± 0,04	0,89 ± 0,04
VEPP (mm/s)	40,9 ± 4,70	38,7 ± 3,59
Onda E (cm/s)	65,6 ± 9,12	71,95 ± 9,64
Onda A (cm/s)	50,0 ± 14,38	49,5 ± 14,45
E/A	1,42 ± 0,43	1,55 ± 0,39
TDE (ms)	44,1 ± 5,94	43,0 ± 6,36
TRIV (ms)	30,0 (26,0 - 30,0)	30,0 (26,0 - 33,0)
TRIVn (ms)	62,57 ± 7,95	62,3 ± 10,20
Tei	0,54 ± 0,07	0,54 ± 0,05

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; %Δ endo: porcentagem de encurtamento endocárdico; FE: fração de ejeção; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; E/A: razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; TDE: tempo de desaceleração da onda E; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico; TRIVn: TRIV normalizado pela frequência cardíaca; Tei: índice de performance miocárdica. Teste *t* de Student ou teste de Mann-Whitney.

Tabela 4. Variáveis estruturais do ventrículo esquerdo obtidas por ecocardiograma no final do período experimental

Variável	W6 (n=21)	W21-Sed (n=19)	W21-Ex (n=18)
FC (bpm)	278 (244 – 308)	258 (231 – 303)	280 (248 – 309)
PC (g)	497 ± 85	555 ± 58*	533 ± 79*
DDVE (mm)	8,50 ± 0,57	8,43 ± 0,74	8,35 ± 0,61
DDVE/PC (mm/kg)	17,57 ± 2,38	15,32 ± 1,77*	15,88 ± 1,75*
DSVE (mm)	3,93 ± 0,63	4,19 ± 0,90	4,05 ± 0,62
EDPP (mm)	1,43 (1,39 - 1,47)	1,50 (1,47 - 1,51)*	1,48 (1,47 - 1,51) *
EDSIV (mm)	1,43 (1,39 - 1,48)	1,50 (1,50 - 1,53)*	1,51 (1,48 - 1,54) *
AO (mm)	4,20 ± 0,27	4,30 ± 0,24	4,37 ± 0,28
AE (mm)	5,89 ± 0,72	6,13 ± 0,66	5,95 ± 0,57
AE/AO	1,40 ± 0,14	1,43 ± 0,15	1,39 ± 0,11
AE/PC (mm/kg)	12,14 ± 1,91	11,19 ± 1,89	11,40 ± 1,76
MVE (g)	0,89 ± 0,14	0,99 ± 0,23	0,88 ± 0,24
IMVE (g/kg)	1,83 ± 0,24	1,74 ± 0,28	1,76 ± 0,25
Esp. Rel. VE	0,338 ± 0,0205	0,366 ± 0,0296*	0,360 ± 0,0284*

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; FC: frequência cardíaca; bpm: batimentos por minuto; PC: peso corporal; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE); DSVE: diâmetro sistólico do VE; EDPP: espessura diastólica da parede posterior do VE; EDSIV: espessura diastólica do septo interventricular; ERelVE: espessura relativa do VE; AO: diâmetro da aorta; AE: diâmetro do átrio esquerdo; MVE: massa do VE; IMVE: índice de massa do VE; Esp. Rel. VE: espessura relativa do ventrículo esquerdo. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 5. Variáveis funcionais do ventrículo esquerdo obtidas por ecocardiograma no final do período experimental

Variável	W6 (n=21)	W21-Sed (n=19)	W21-Ex (n=18)
%Δ endo	54,7 ± 6,76	50,4 ± 7,92	51,9 ± 4,65
FE	0,91 (0,86 ± 0,92)	0,88 (0,84 ± 0,91)	0,89 (0,87 ± 0,91)
VEPP (mm/s)	54,7 ± 6,76	50,4 ± 7,92	51,9 ± 4,65
Onda E (cm/s)	80,6 ± 8,40	69,5 ± 8,91*	66,8 ± 8,93*
Onda A (cm/s)	58,0 (43,8 ± 73,8)	54,0 (36,0 ± 64,5)	55,0 (43,5 ± 69,3)
E/A	1,50 ± 0,48	1,39 ± 0,35	1,24 ± 0,32
TDE (ms)	46,6 ± 4,99	47,1 ± 7,34	47,3 ± 6,65
TRIV (ms)	27,0 (27,0 ± 30,0)	30,0 (26,0 ± 32,3)	28,0 (26,0 ± 31,0)
Tei	0,52 (0,45 - 0,57)	0,50 (0,48 - 0,54)	0,513 (0,45 - 0,58)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; %Δ endo: porcentagem de encurtamento endocárdico; FE: fração de ejeção; VEPP: velocidade de encurtamento da parede posterior; E/A: razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral; TDE: tempo de desaceleração da onda E mitral; TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico; Tei: índice de performance miocárdica. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 6. Variáveis funcionais do ventrículo esquerdo obtidas por ecoDopplercardiograma ao final do período experimental

Variável	W21-Sed (n=21)	W21-Ex (n=19)
A' Lateral	5,00 (3,50 - 6,00)	4,0 (3,50 - 4,75)
A' Septal	4,40 ± 1,18	3,58 ± 1,00
A' Média	4,55 ± 1,11	3,90 ± 0,86
E' Lateral	4,50 (4,00 - 4,50)	5,00 (0,25 - 5,25)*
E' Septal	4,00 (3,50 - 5,00)	4,50 (3,75 - 5,00)
E' Média	4,00 (3,75 - 4,50)	4,63 (4,13 - 5,13)*
E/E'	16,3 (14,6 - 19,1)	13,6 (13,0 - 16,4)*
S Lateral	3,50 (3,50 - 4,00)	3,50 (3,50 - 3,75)
S Septal	3,50 (3,00 - 3,88)	3,50 (3,00 - 3,75)
S Média	3,57 ± 0,43	3,54 ± 0,46
E'/A'	0,97 ± 0,26	1,20 ± 0,21*

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; A' lateral: onda diastólica tardia do anel mitral lateral; A' septal: onda diastólica tardia do anel mitral septal; E' lateral: onda diastólica inicial do anel mitral lateral; E' septal: onda diastólica inicial do anel mitral septal; S lateral: onda sistólica do anel mitral lateral; S septal: onda sistólica do anel mitral septal. Teste *t* de Student ou teste de Mann-Whitney; * $p < 0,05$.

Tabela 7. Variáveis funcionais do músculo isolado obtidas em contrações isométricas na condição basal

Variável	W6 (n=21)	W21-Sed (n=19)	W21-Ex (n=18)
AS	1,00 ± 0,24	1,15 ± 0,21	1,14 ± 0,26
TD (g/mm ²)	5,69 ± 1,42	6,90 ± 1,27*	6,57 ± 1,25
TPT (ms)	160 (160 – 180)	180 (165 – 190)*	200 (180 – 200) *
+dT/dt (g/mm ² /s)	64,6 ± 14,4	72,1 ± 14,9	64,7 ± 14,2
-dT/dt (g/mm ² /s)	26,2 ± 6,18	27,8 ± 4,90	25,8 ± 6,68
TR (g/mm ²)	0,58 (0,30 – 1,01)	0,72 (0,64 – 1,04)	0,70 (0,66 – 0,83)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; TD: tensão desenvolvida máxima; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de queda da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 8. Variáveis funcionais do músculo papilar isolado obtidas em contrações isométricas após pausas de 10, 30 e 60 segundos

	Tempo	TD (g/mm ²)	TPT (ms)	+dT/dt (g/mm ² /s)	-dT/dt (g/mm ² /s)	TR (g/mm ²)
W6 (n=21)	PP 10"	6,48±1,57	170 (160 – 180)	72,9±15,5	27,7±6,72	0,57 (0,40–1,00)
	PP 30"	6,41±1,98	169 ± 13,72	73,3±21,1	26,8±7,72	0,55 (0,36–0,90)
	PP 60"	6,98±1,75	170 (160 – 180)	79,3±17,3	29,3±7,56	0,53 (0,39–1,00)
W21-Sed (n=19)	PP 10"	7,71±1,39*	200 (180 – 200)*	81,0±17,0	28,4±5,29	0,76 (0,64–1,03)
	PP 30"	8,18±1,42*	199 ± 18,22*	84,6±15,7	28,2±5,70	0,75 (0,60–1,02)
	PP 60"	8,00±1,65*	180 (180 – 200)*	81,0±19,4	29,6±7,94	0,65 (0,58–0,80)
W21-Ex (n=18)	PP 10"	7,41±1,47	200 (200 – 220)*	72,9±16,9	26,7±6,75	0,70 (0,66–0,79)
	PP 30"	7,90±1,60*	200 ± 25,7*	80,0±17,5	28,2±5,96	0,67 (0,63–0,92)
	PP 60"	8,00±1,65	200 (180 – 200)*	86,7±16,1	29,0±5,28	0,71 (0,58–0,95)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; PP: contração pós-pausa; TD: tensão desenvolvida máxima; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de queda da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 9. Variáveis funcionais do músculo papilar isolado obtidas em contrações isométricas após elevação da concentração extracelular de cálcio (Ca^{2+})

	Ca^{2+} (mM)	TD (g/mm ²)	TPT (ms)	+dT/dt (g/mm ² /s)	-dT/dt (g/mm ² /s)	TR (g/mm ²)
W6 (n=21)	0,625	4,54 ± 1,36	160 (160 - 160)	50,89 ± 14,21	22,68 ± 6,34	0,44 (0,37 - 0,70)
	1,25	6,19 ± 1,58	160 (160 - 160)	72,36 ± 16,09	29,69 ± 7,71	0,43 (0,32 - 0,70)
	2,5	6,55 ± 1,64	160 (160 - 160)	78,55 ± 16,79	29,83 ± 7,45	0,44 (0,35 - 0,79)
W21-Sed (n=19)	0,625	5,12 ± 1,05	180 (180 - 200)*	51,89 ± 11,24	23,19 ± 5,64	0,69 (0,54 - 0,86)*
	1,25	6,89 ± 1,19	180 (180 - 180)*	74,17 ± 12,48	30,16 ± 6,37	0,65 (0,54 - 0,83)*
	2,5	7,70 ± 1,41	180 (165 - 180)*	88,13 ± 16,31	32,54 ± 6,32	0,62 (0,57 - 0,80)
W21-Ex (n=18)	0,625	4,65 ± 1,06	180 (160 - 200)*	46,60 ± 11,38	21,84 ± 5,91	0,63 (0,54 - 0,79)
	1,25	6,63 ± 1,43	180 (180 - 200)*	66,06 ± 15,66	28,14 ± 6,80	0,59 (0,51 - 0,73)
	2,5	7,46 ± 1,59	180 (180 - 200)	80,54 ± 18,44	31,33 ± 7,95	0,57 (0,49 - 0,71)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; TD: tensão desenvolvida máxima; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de queda da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 10. Variáveis funcionais do músculo papilar isolado obtidas em contrações isométricas após adição de isoproterenol (ISO) à solução nutriente

	ISO (mM)	TD (g/mm ²)	TPT (ms)	+dT/dt (g/mm ² /s)	-dT/dt (g/mm ² /s)	TR (g/mm ²)
W6 (n=21)	10 ⁻⁸	5,86 ± 1,62	160 (140 - 160)	69,8 ± 16,9	30,6 ± 7,07	0,40 (0,26 - 0,66)
	10 ⁻⁷	5,86 ± 1,62	140 (140 - 140)	77,8 ± 17,2	77,8 ± 17,2	0,45 (0,35 - 0,71)
	10 ⁻⁶	6,06 ± 1,45	140 (130 - 140)	83,1 ± 16,4	44,3 ± 10,7	0,36 (0,24 - 0,57)
W21-Sed (n=19)	10 ⁻⁸	6,41 ± 1,20	180 (160 - 180)*	71,2 ± 13,2	30,2 ± 7,63	0,60 (0,54 - 0,80)*
	10 ⁻⁷	6,41 ± 1,20	160 (160 - 160)*	82,8 ± 14,5	82,8 ± 14,5	0,59 (0,51 - 0,75)*
	10 ⁻⁶	6,97 ± 1,24	160 (140 - 160)*	86,9 ± 19,7	44,4 ± 10,3	0,58 (0,47 - 0,70)*
W21-Ex (n=18)	10 ⁻⁸	6,22 ± 1,37	180 (180 - 200)*	64,7 ± 14,8	27,6 ± 6,66	0,60 (0,52 - 0,68)
	10 ⁻⁷	6,22 ± 1,37	160 (160 - 180)*	74,7 ± 18,3	74,7 ± 18,3	0,60 (0,49 - 0,62)
	10 ⁻⁶	6,55 ± 1,54	150 (140 - 160)*	77,7 ± 19,7	40,9 ± 12,0	0,59 (0,48 - 0,63)*

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; TD: tensão desenvolvida máxima; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de queda da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 11. Variáveis funcionais do músculo isolado obtidas em contrações isométricas em diferentes comprimentos de repouso.

	comprimento	TD (g/mm ²)	TPT (ms)	+dT/dt (g/mm ² /s)	-dT/dt (g/mm ² /s)	TR (g/mm ²)
W 6 (n=20)	90	3,57± 0,72	140 (140-160)	43,8±10,9	21,6±5,06	0,08 (0,05-0,11)
	92	4,32± 0,95	160 (150-160)	51,0±10,6	24,1±4,93	0,84±0,07
	94	5,02±1,10	160 (160-160)	57,6±11,1	26,3±5,20	0,11 (0,06-0,25)
	96	5,50± 1,13	160 (150-160)	62,0±11,7	27,5±5,53	0,23±0,14
	98	5,93± 1,23	160 (160-160)	67,1±12,2	26,8 (23,7–32,2)	0,33 (0,24-0,60)
W21-Sed (n=19)	90	3,57± 0,80	160 (160-180)*	38,7±12,4	18,0±5,10	0,04 (0,01-0,06)*
	92	4,38± 1,09	180 (160-180)*	47,0±13,3	20,8±5,04	0,10 ± 0,09
	94	5,06± 1,10	180 (165-195)*	52,7±13,9	23,0±4,97	0,14 (0,08 - 0,31)
	96	5,64± 1,06	180 (160-200)*	57,9±12,7	24,7±4,69	0,32 ± 0,17
	98	6,02± 0,82	180 (160-200)*	62,6±13,3	24,5 (22,8-28,6)	0,47 (0,38-0,62)
W21-Ex (n=18)	90	3,63± 0,97	180 (160-180)	40,4±12,6	18,8±5,15	0,10 (0,06-0,19)#
	92	4,39± 1,30	180 (160-180)	47,2±12,5	21,7±4,84	0,20±0,2
	94	5,09± 1,23	180 (180-195)	53,7±12,4	24,6±4,98	0,29 (0,10–0,32)
	96	5,71± 1,24	180 (180-180)	59,6±12,7	26,7±5,17	0,37±0,29
	98	6,29± 1,19	180 (180-200)	64,5±13,1	27,0 (24,3-31,4)	0,53 (0,38-0,74)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; comprimento: comprimento do músculo expresso em porcentagem de Lmax; TD: tensão desenvolvida máxima; TPT: tempo para atingir o pico da tensão desenvolvida; +dT/dt: velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida; -dT/dt: velocidade máxima de queda da tensão desenvolvida; TR: tensão de repouso. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6; # p<0,05 vs W21-Sed.

Tabela 12. Dosagem do colágeno

Variável	W6 (n= 10)	W21-Sed (n= 10)	W21-Ex (n= 10)
Colágeno total (µg/mg)	7,54 ± 1,80	10,1 ± 1,86*	10,6 ± 1,12*
Colágeno solúvel (µg/mg)	1,60 (1,58 - 1,63)	1,65 (1,61 - 1,71)	1,64 (1,59 - 1,65)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados. ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Tabela 13. Dosagem do colágeno por Western blot

Variável	W6 (n=8)	W21-Sed (n=8)	W21-Ex (n=8)
Colágeno 1 (ua)	1,00 (0,95 - 1,18)	1,25 (1,12 – 1,36)	1,16 (0,95 – 1,37)
Colágeno 3 (ua)	1,00 (0,92 - 1,07)	1,36 (1,09 – 1,83)*	1,21 (1,07 – 1,29)

Valores expressos em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25% e 75%. W6: ratos jovens; W21-Sed: ratos idosos sedentários; W21-Ex: ratos idosos exercitados; ua: unidades arbitrárias; ANOVA e Bonferroni ou Kruskal-Wallis e Dunn; * p < 0,05 vs W6.

Discussão

Neste estudo avaliamos os efeitos do exercício físico aeróbio regular sobre a capacidade funcional, a função cardíaca e miocárdica, e a matriz colágena intersticial de ratos Wistar idosos.

O processo de envelhecimento é caracterizado por alterações em diversos órgãos e tecidos ^{9, 52, 53}. No sistema cardiovascular de idosos aparentemente saudáveis, são observadas alterações na estrutura e função do coração, como já referido, e dos vasos sanguíneos. Nos vasos, as alterações são caracterizadas por espessamento progressivo da camada íntima, aumento na deposição de tecido colágeno e fragmentação da elastina na camada média ⁵⁴. Essas anormalidades são acompanhadas por dilatação luminal e redução na complacência ou distensibilidade, com aumento da rigidez arterial e alteração da função endotelial ⁵⁴. Em consequência às alterações vasculares, frequentemente se observa em idosos elevação da pressão arterial sistólica e redução da pressão diastólica, com aumento da pressão de pulso, que está relacionado ao risco para desenvolver doença cardiovascular ⁵⁵. As alterações vasculares decorrentes do envelhecimento podem ser agravadas por condições patológicas concomitantes como a hipertensão arterial sistêmica, e pelo sedentarismo, que acometem a maioria dos idosos ^{56, 57}. Acredita-se que as alterações cardiovasculares associadas ao processo de envelhecimento possam ser atenuadas pela prática regular de atividades físicas ⁵⁸.

Além de potencialmente modular a função cardiovascular, o exercício físico regular melhora o controle de fatores de risco para desenvolver doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral, como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, obesidade e diabetes mellitus tipo 2 ⁵⁹⁻⁶¹. Adicionalmente, previne perda de massa óssea; alivia estresse mental, ansiedade e depressão; melhora a qualidade do sono, a auto-imagem e a confiança; e auxilia na preservação da independência física ²⁶.

Atualmente, diferentes sociedades científicas recomendam a prática regular de atividades para auxiliar na prevenção e controle de doenças crônicas, independentemente da faixa etária ^{3, 25, 60, 62}. Em termos de benefícios cardiovasculares, tem havido preferência pelo exercício aeróbio realizado de forma rítmica e utilizando grandes grupos musculares em sua execução, tais como

caminhar ou andar de bicicleta ²⁶. Esse tipo de atividade está associado a aumento da capacidade física e a maior grau de independência em idosos ²⁶.

No presente estudo, o protocolo de exercício físico foi realizado em esteira rolante com velocidade digitalmente programada. A esteira rolante tem sido comumente utilizada para investigar adaptações fisiológicas induzidas pelo exercício físico ⁶³⁻⁶⁶. O exercício em esteira proporciona maior resposta metabólica do organismo do que a natação que, em ratos, é caracterizada por baixa atividade ou mesmo inatividade das patas traseiras ^{67, 68}. Além disso, o exercício em esteira com intensidade controlada induz os maiores e mais consistentes efeitos cardiovasculares e na capacidade funcional decorrentes do treinamento físico ^{26, 69, 70}.

Neste estudo, antes do treinamento, os grupos sedentário e exercitado apresentaram capacidade física semelhante. Ao final do período experimental, o grupo W21-Ex apresentou maior tempo de permanência na esteira e maior distância percorrida que os grupos W6 e W21-Sed, o que mostra melhora na capacidade funcional. Os resultados estão de acordo com estudos prévios que também evidenciaram melhora na capacidade física após período de exercício ^{18, 36, 71-73}. Entretanto, alguns autores observaram que ratos idosos treinados apresentaram capacidade funcional semelhante e não superior à de animais jovens sedentários ^{18, 36}. É possível que o resultado de nosso estudo seja decorrente do fato dos ratos idosos não estarem ainda em fase avançada de envelhecimento.

A melhora da capacidade funcional pode ser decorrente de alterações induzidas pela atividade física regular em vários órgãos e tecidos, entre os quais se destacam coração e vasos, pulmões e musculatura esquelética. Neste estudo avaliamos se o aumento da capacidade funcional poderia estar relacionado a melhora da função cardíaca e/ou miocárdica.

As estruturas cardíacas e a função do ventrículo esquerdo foram avaliadas por ecocardiograma transtorácico, método não invasivo, de custo relativamente baixo, que fornece informações importantes sobre as estruturas e função do coração ⁴¹. Antes do período de exercício, não observamos diferenças entre os grupos W21-Sed e W21-Ex nas estruturas cardíacas ou função do

ventrículo esquerdo. A avaliação ecocardiográfica inicial foi importante para assegurar a homogeneidade entre os grupos sedentário e treinado.

Ao final do período experimental, o grupo W21-Sed apresentou aumento da espessura diastólica da parede posterior e do septo ventricular e da espessura relativa do ventrículo esquerdo em comparação ao grupo W6. Esses resultados estão de acordo com estudos em humanos que mostram que o envelhecimento está associado a aumento da espessura das paredes do ventrículo esquerdo ¹¹. Como os diâmetros da cavidade do ventrículo esquerdo, tanto sistólico como diastólico, não se alteraram, a espessura relativa do ventrículo esquerdo foi aumentada, o que caracteriza, na ausência de aumento da massa do ventrículo esquerdo, a presença de remodelamento cardíaco concêntrico. Em relação à função ventricular, o grupo W21-Sed apresentou redução significativa da onda E. Apesar da preservação da relação E/A, é provável que o grupo W21-Sed apresentasse discreta alteração da função ventricular diastólica. Portanto, à avaliação ecocardiográfica, podemos concluir que os ratos idosos sedentários apresentaram remodelação concêntrica do ventrículo esquerdo com discreto grau de disfunção ventricular diastólica.

Ao ecocardiograma convencional, não identificamos diferenças entre os grupos W21-Sed e W21-Ex. O grupo W21-Ex apresentou as mesmas diferenças que o W21-Sed em relação ao W6. Ao final do período de treinamento, adquirimos em nosso laboratório ecoDopplercardiógrafo com transdutor para uso em pequenos animais. Neste momento do estudo, o grupo de animais jovens já havia sido sacrificados. Assim, tivemos a oportunidade de realizar o exame apenas nos ratos idosos. Observamos que o grupo W21-Ex apresentou aumento das ondas E' Lateral e E' média e da relação E'/A', com redução da relação E/E'. À avaliação da função sistólica, por meio das ondas S, não detectamos diferenças entre os grupos. Atualmente, o índice E/E' é considerado importante marcador de função diastólica em humanos ⁷⁴. Quanto mais alto seu valor, pior a função diastólica. Portanto, apesar da falta de resultados para o grupo W6, a redução do índice E/E' no grupo W21-Ex permite levantar a hipótese que a prática prolongada de exercício físico durante o envelhecimento resulte em melhora da função diastólica do ventrículo esquerdo. Em humanos, a interpretação do significado de alterações na relação

E'/A' é controversa. Em estudo prévio com indivíduos acima de 60 anos, a maioria com hipertensão arterial controlada, observamos que o treinamento físico aeróbio e resistido por seis meses melhorou a capacidade funcional e a força muscular sem, no entanto, alterar a função cardíaca sistólica ou diastólica ⁷⁵.

A função ventricular avaliada in vivo é influenciada por diversas condições tais como variabilidade da frequência cardíaca e das condições neuro-humorais e da carga a que o ventrículo esquerdo está submetido no momento da avaliação ⁷⁶. Assim, considera-se que, em condições experimentais, a função miocárdica possa ser mais precisamente avaliada pelo estudo funcional de músculos papilares isolados do ventrículo esquerdo ⁷⁷. Nessas preparações, é possível controlar a frequência de estímulos, a pré-carga e a pós-carga, e avaliar os efeitos de estímulos inotrópicos pela adição de fármacos à solução nutriente dos músculos isolados ⁷⁷. Por essas razões, a função miocárdica foi avaliada em preparações com músculos papilares isolados do ventrículo esquerdo.

Em condições basais, o grupo W21-Sed apresentou maior tensão desenvolvida máxima que o W6. No grupo W21-Ex, os valores da tensão desenvolvida máxima não diferiram daqueles observados nos grupos W21-Sed e W6. O tempo para o pico da tensão desenvolvida foi maior nos grupos W21-Sed e W21-Ex que no W6. Alentecimento da contração miocárdica pode ser observado em corações hipertrofiados e com o envelhecimento e está associado a aumento da isoforma lenta da miosina e a alterações no trânsito intracelular de cálcio ^{78, 79}. Melhora da função sistólica com o envelhecimento foi descrita em indivíduos idosos, que apresentaram maior fração de ejeção do que voluntários jovens ^{13, 22}. Nestes estudos, a melhora da fração de ejeção foi atribuída a redução dos volumes sistólico e diastólico do ventrículo esquerdo ^{13, 22}. Entretanto, como observamos melhora da função sistólica em músculo papilar isolado, essa alteração não pode ser atribuída somente a variações de tamanho da câmara ventricular. Os mecanismos responsáveis por essa alteração decorrente do envelhecimento não estão esclarecidos. Como o grupo exercitado teve comportamento intermediário, não diferindo estatisticamente dos grupos W21-Sed e W6, podemos concluir que o exercício físico atenuou aumento da função sistólica do miocárdio com o envelhecimento. A avaliação com estímulos inotrópicos possibilita avaliar a reserva

contrátil e identificar discretas alterações nas fases de contração e relaxamento que poderiam não ser evidenciadas na condição basal. Após estímulos inotrópicos, os grupos idosos mantiveram os valores do tempo para o pico da tensão desenvolvida maiores que o grupo W6. A tensão desenvolvida manteve-se maior no W21-Sed que no W6 nas contrações pós-pausa. O grupo W21-Ex apresentou tensão desenvolvida maior que o W6 apenas na contração pós-pausa de 30 segundos.

Os mecanismos responsáveis pela alteração da função cardíaca associada ao envelhecimento ainda não estão completamente esclarecidos ^{11, 23}. Há fortes evidências que alterações da matriz colágena intersticial tenham importante papel na disfunção diastólica do ventrículo esquerdo.

O colágeno é formado por um grupo de proteínas com repetidas sequências de aminoácidos que formam um tecido de sustentação. O tecido colágeno possui papel importante na resistência dos tecidos a distensão excessiva, conferindo rigidez e, ao mesmo tempo, limitando a extensibilidade. A matriz colágena intersticial apresenta papel multifuncional que é de fundamental importância na manutenção da função cardíaca, pois circunda e dá suporte aos miócitos cardíacos e à microcirculação coronariana, coordena a transmissão de força gerada pelos miócitos à câmara ventricular, determina as propriedades de relaxamento miocárdio, rigidez diastólica, tamanho ventricular e manutenção da espessura, além de evitar formação de rupturas na parede cardíaca ⁸⁰⁻⁸³. Entretanto, excessivo acúmulo de colágeno está associado a piora da função cardíaca, tanto da fase de contração como de relaxamento ^{11, 84}.

Embora existam ao menos 28 tipos diferentes de colágeno, os tipos I e III são os componentes predominantes da matriz extracelular cardíaca ⁸⁵. O colágeno tipo I é a proteína mais abundante do corpo humano e possui maior capacidade de resistir a tração ⁸³. O tipo III é a segunda proteína mais comum e possui resistência considerada ideal para manter a integridade estrutural e a distensibilidade tecidual ⁸³. As propriedades mecânicas do coração podem ser moduladas não somente pela quantidade de colágeno no miocárdio, mas também pelo tipo de colágeno no miocárdio. Tecido miocárdico contendo colágeno predominantemente do tipo I é mais rígido do que o tecido composto por maior concentração de fibras do tipo III ⁸⁶⁻⁸⁸. Além disso, como degradação do colágeno

tipo I é mais difícil de ocorrer do que do tipo III, as intervenções para reduzir fibrose miocárdica habitualmente têm efeito sobre o colágeno tipo III.

Durante o processo de envelhecimento ocorrem alterações qualitativas e quantitativas no tecido colágeno. O miocárdio humano envelhecido é caracterizado por aumento na proporção de colágeno intersticial. Além de alteração quantitativa na matriz intersticial, ocorre também aumento no grau de ligações cruzadas do colágeno miocárdico por aumento na concentração de colágeno insolúvel ^{89, 90}.

Neste estudo observamos aumento na concentração total de colágeno nos animais idosos sedentários e treinados e aumento na expressão do colágeno tipo 3 no grupo W21-Sed em relação ao W6. Os animais do grupo W21-Ex apresentaram valores intermediários na expressão do colágeno tipo 3 não diferindo estatisticamente dos demais grupos. O aumento na concentração do colágeno total nos grupos W21-Sed e W21-Ex pode ter contribuído para o alentecimento da contração do músculo papilar observado nestes grupos. Além disso, a atenuação do aumento no colágeno tipo 3 com o exercício físico pode ter colaborado para a melhora da função diastólica observada ao ecoDopplercardiograma.

Aumento da concentração de colágeno total no ventrículo esquerdo de ratos idosos foi observado previamente por outros autores ^{11, 91}. Em ratos mais idosos, pode-se observar também aumento da deposição do colágeno tipo I no ventrículo esquerdo de ratos sedentários ¹¹. Em ratos com idade mais avançada, de 25 a 31 meses, a prática de exercícios aeróbios atenuou o acúmulo de colágeno na matriz extracelular ^{11, 92}. Também em ratos com 25 meses, o exercício físico aeróbio protegeu contra declínio na função sistólica e aumento na rigidez miocárdica e no grau de ligação cruzada do colágeno relacionados ao envelhecimento ³⁶. Provavelmente, a diferença entre esses resultados e os nossos se devem à diferença de idade dos ratos no momento da avaliação final.

Em resumo, o envelhecimento está associado a redução da capacidade funcional, remodelação cardíaca concêntrica, disfunção diastólica leve e aumento no tempo de contração miocárdica, da tensão desenvolvida e da tensão de repouso. As alterações funcionais são acompanhadas por acúmulo de colágeno total e aumento da expressão do colágeno tipo 3. A prática regular e prolongada de exercícios aeróbios melhora a capacidade funcional, a função diastólica do ventrículo esquerdo e atenua o acúmulo de colágeno tipo 3.

CONCLUSÃO

O exercício físico aeróbio regular melhora a capacidade funcional e a função diastólica do ventrículo esquerdo e atenua o acúmulo de colágeno tipo 3 no miocárdio de ratos idosos.

Referências

1. Jacob Filho W, Monaco T. A geriatria do século XXI. In: Lopes AC, ed. *Tratado de clínica médica*. São Paulo. Editora Roca; 2006:4248-4254.
2. Bureau UC. Statistical abstract of the us: 2012. 2014;acess: 25/06/2014.
3. Fleg JL, Forman DE, Berra K, Vera Bittner V, Blumenthal JA, Chen MA, Cheng W, Kitzman DW, Maurer MS, Rich MW, Shen WK, Williams MA, Zieman SJ. Secondary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease in older adults. A scientific statement from American heart association. *Circulation*. 2013;128:2422-2446.
4. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones D, 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, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Turner MB. On behalf of the American Heart Association statistics committee and stroke statistics subcommittee. Heart disease and stroke statistics - 2012 update: A report the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125:e12-e230.
5. PNAD. PNAD: Indicadores do período de 2004 a 2009.
6. IBGE. Projeção população. 2014.
7. Albanesi Filho FM. O que vem ocorrendo com a insuficiência cardíaca no Brasil? *Arq Bras Cardiol*. 2005;85:155-156.
8. Rengo G, Parisi V, Femminella GD, Pagano G, Lucia C, Cannavo A, Liccardo D, Giallauria F, Scala O, Zincarelli C, Filard PP, Ferrara N, Leosco D. Molecular aspects of the cardioprotective effect of exercise in the elderly. *Aging Clin Exp Res*. 2013;25:487-497.
9. Minaker KL. Common clinical sequelae of aging. In: Goldman L, Schafer AI, eds. *Goldman's Cecil medicine*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012:104-110.

10. Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: Major shareholders in cardiovascular disease enterprises. Part III: Cellular and molecular clues to heart and arterial aging. *Circulation*. 2003;105:490-497.
11. Kawk HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez DA, Lawler JM. Exercise training reduces fibrosis and matrix metalloproteinase dysregulation in the aging rat heart. *Faseb J*. 2011;25:1106-1117.
12. Danneberg AL, Levy D, Garrison RJ. Impact of age on echocardiographic left ventricular mass in a healthy population (the Framingham study). *Am J Cardiol*. 1989;2:191-198.
13. Fiechter M, Fuchs TA, Gebhand C, Stehil J, Klaeser B, Stahli BE, Manka R, Manes C, Tanner FC, Gaemperli O, Kaufmann PA. Age related normal structure and functional ventricular values in cardiac function assessed by magnetic resonance. *BMC Med Imaging*. 2013;13:1-6.
14. Cheng S, Fernandes VR, Bluemke DA, McClelland RL, Kronmal RA, Lima JA. Age related left ventricular remodeling and associated risk for cardiovascular outcomes: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;2:191-198.
15. Biermaacka A, Frangogiannis NG. Aging and cardiac fibrosis. *Aging Dis*. 2011;2:158-173.
16. Bonnema DD, Webb CS, Pennington WR, Stroud RE, Leornardi AE, Clark LL, McClure CD, Finklea L, Spinale FG, Zile MR. Effects of age on plasma matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs). *J Card Fail*. 2007;13:530-540.
17. Zile MR, Brutsaert DL. New cocepts in diastolyc dysfunction and diastolic heart failure: Part I. Diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation*. 2002;105:1387-1393.
18. Brenner DA, Apstein CS, Saupe KW. Exercise training attenuates age-associated diastolic dysfunction in rats. *Circulation*. 2001;104:221-226.

19. O'Mahony MS, Sim MFV, Ho SF, Stewart JA, Buchalter M. Diastolic heart failure in older people. *Age Ageing* 2003;32:519-524.
20. Ruan Q, Nagueh SF. Effect of age on left ventricular systolic function in humans: A study of systolic isovolumic acceleration rate. *Exp Physiol*. 2005;90:527-534.
21. Kaku K, Takeuchi M, Otani K, Sugeng L, Nakai H, Haruki N, Yoshitani H, Watanabe N, Yoshida K, Otsuji Y. Age- and gender-dependency of left ventricular geometry assessed with real-time three-dimensional transthoracic echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2011;24:541-547.
22. Nikitin NP, Loh PH, de Silva R, Witte KK, Lukaschuk EI, Parker A, Farnsworth TA, Alamgir FM, Clark AL, Cleland JG. Left ventricular morphology, global and longitudinal function in normal older individuals: A cardiac magnetic resonance study. *Int J Cardiol*. 2006:76-83.
23. Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: Major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: The aging heart in health: links to heart disease. *Circulation*. 2003;107:346-354.
24. Mezzani A, Hamm LF, Jones AJ, McBride PE, Moholdt T, Stone JA, Urhausen A, Williams MA. 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. *Eur J Prev Cardiol*. 2013;20:442-467.
25. Eckel RH, Jakicic JM, Ard JD, Miller NH, Hubbard VS, Nonas CA, de Jesus JM, Sacks FM, Lee IM, Smith Jr SC, Lichtenstein AH, Svetkey LP, Loria CM, Wadden TW, Millen B, Yanovski SZ. 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:2960-2984.

26. Mellett LH, Bousquet G. Cardiology patient page. Heart-healthy exercise. *Circulation*. 2013;127:e571-e572.
27. Yu C-M, L.S-W L, Lam M-F, Siu DC-W, Miu RK-M, Lau C-P. Effect of a cardiac rehabilitation program on left ventricular diastolic function and its relationship to exercise capacity in patients with coronary heart disease: Experience from a randomized, controlled study. *Am Heart J* 2004;147:12-18.
28. Gates PE, Tanaka H, Graves J, Seals DR. Left ventricular structure and diastolic function with human ageing. Relation to habitual exercise and arterial stiffness. *Eur Heart J*. 2003;24:2213-2220.
29. Nottin S, Nguyen LD, Terbah M, Obert P. Long-term endurance training does not prevent the age-related decrease in left ventricular relaxation properties. *Acta Physiol Scand*. 2004;181:209-215.
30. Levy WC, Cerqueira MD, Abrass IB, Schwartz RS, Stratton JR. Endurance exercise training augments diastolic filling at rest and during exercise in healthy young and older men. *Circulation*. 1993;88:116-126.
31. Prasad A, Popovic ZB, Arbab-Zadeh A, Fu Q, Palmer D, Dijk E, Greenberg NL, Garcia MJ, Thomas JD, Levine BD. The effects of aging and physical activity on doppler measures of diastolic function. *Am J Cardiol*. 2007;99:1629-1636.
32. Galetta F, Franzoni F, Femia FR, Bartolomucci F, Carpi A, Santoro G. Left ventricular diastolic function and carotid artery wall in elderly athletes and sedentary controls. *Biomed Pharmacother*. 2004;58:437-442.
33. Arbab-Zadeh A, Dijk E, Prasad A, Fu Q, Torres P, Zhang R, Thomas JD, Palmer D, Levine BD. Effect of aging and physical activity on left ventricular compliance. *Circulation*. 2004;110:1799-1805.
34. Douglas PS, O'Toole M. Aging and physical activity determine cardiac structure and function in the older athlete. *J Appl Physiol*. 1992;72:1969-1973.

35. Forman DE, Manning WJ, Hauser R, Gervino EV, Evans WJ, Wei JY. Enhanced left ventricular diastolic filling associated with long-term endurance training. *J Gerontol.* 1992;47:M56-M58.
36. Choi SY, Chang HJ, Choi S, Kim K, Cho YC, Youn TJ, Chung WY, Chae IH, Choi DJ, Kim HS, Oh BH, Kim MH. Long term exercise training attenuates age-related diastolic dysfunction: Association of myocardial collagen cross-linking. *J Korean Med Sci.* 2009;24:32-39.
37. Schultz RL, Swallow JG, Waters RP, Kuzman JA, Redetzke RA, Said S, Escobar GM, Gerdes AM. Effects of excessive long-term exercise on cardiac function and myocyte remodeling in hypertensive heart failure rats. *Hypertension.* 2007;50:410-416.
38. Marfino LBM, Araujo RC, Faccini CC, Liberti EA, Gama EF, A.A.C.M. R, Souza RR. Effect of exercise training on age-induced changes in rat papillary muscle. *Arq Bras Cardiol.* 2009;92:356-360.
39. Garcarena CD, Pinilla OA, Nolly MB, Laguens RP, Escudero EM, Cingolani HE, Ennis IL. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat. Conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension.* 2009;53:708-714.
40. Lawler JM, Powers SK, Hammeren J, Martin AD. Oxygen cost of treadmill running in 24-month-old fischer-344 rats. *Med Sci Sports Exerc.* 1993;25:1259-1264.
41. Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LA, Oliveira SAJ, Campos DH, Lima AR, Damatto RL, Cezar MD, Bonomo C, Guizoni DM, Padovani CR, Cicogna AC, Okoshi MP. Echocardiographic detection of congestive heart failure in postinfarction rats. *J Appl Physiol.* 2011;111:543-551.
42. Damatto RL, Martinez PF, Lima AR, Cezar MD, Campos DH, Oliveira SAJ, Guizoni DM, Bonomo C, Nakatani BT, Dal Pai Silva M, Carvalho RF, Okoshi K, Okoshi MP. Heart failure-induced skeletal myopathy in spontaneously hypertensive rats. *Int J Cardiol.* 2013;167:698-703.

43. Rosa CM, Xavier NP, Campos DH, Fernandes AA, Cezar MD, Martinez PF, Cicogna AC, Gimenes C, Gimenes R, Okoshi MP, Okoshi K. Diabetes mellitus activated fetal gene program and intensifies cardiac remodeling and oxidative stress in aged spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:152.
44. Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation*. 1994;89:345-354.
45. Cezar MD, Damatto RL, Martinez PF, Lima AR, Campos DH, Rosa CM, Guizoni DM, Bonomo C, Cicogna AC, Gimenes R, Pagan LU, Okoshi MP, Okoshi K. Aldosterone blockade reduces mortality without changing cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Cell Physiol Biochem*. 2013;32:1275-1287.
46. Okoshi MP, Okoshi K, Pai VD, Pai-Silva MD, Matsubara LS, Cicogna AC. Mechanical, biochemical, and morphological changes in the heart from chronic food restricted rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001;79:754-760.
47. Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Aragon FF, Okoshi MP. Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. *Am J Med Sci*. 2000;320:244-248.
48. Gut AL, Okoshi MP, Padovani CR, Aragon FF, Cicogna AC. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to calcium cycling and beta-adrenergic system changes. *Nutr Res*. 2003;23:911-919.
49. Okoshi K, Nakayama M, Yan X, Okoshi MP, Schuldt AJT, Marchionni MA, Lorell BH. Neuregulins regulate cardiac parasympathetic activity. Muscarinic modulation of beta-adrenergic activity in myocytes from mice with neuregulin-1 gene deletion. *Circulation*. 2004;110:713-717.
50. Okoshi MP, Yan X, Okoshi K, Nakayama M, Schuldt AJT, O'Connell T, Simpson PC, Lorell BH. Aldosterone directly stimulates cardiac myocyte hypertrophy. *J Card Fail*. 2004;10:511-518.
51. Lima AR, Martinez PF, Okoshi K, Guizoni DM, Zornoff LA, Campos DH, Oliveira SAJ, Bonomo C, Pai-Silva MD, Okoshi MP. Myostatin and follistatin expression

- in skeletal muscles of rats with chronic heart failure. *Int J Exp Path.* 2010;91:54-62.
52. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: Major shareholders in cardiovascular disease enterprises. Part I: Aging arteries: A "set up" for vascular disease. *Circulation.* 2003;107:139-146.
53. Ellison GM, Waring CD, Vicinanza D, Torella D. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart.* 2012;98:5-10.
54. Lloyd-Jones D, M., Evans JC, Levy D. Hypertension in adults across the age spectrum: current outcomes and control in the community. *JAMA.* 2005;294:466-472.
55. Lakatta EG. Age-associated cardiovascular changes in health: Impact on cardiovascular disease in older persons. *Heart Fail Rev.* 2002;7:24-49.
56. Baster T, Baster-Brooks C. Exercise and hypertension. *Aust Family Phys.* 2005;34:419-424.
57. Franklin SS, Khan SA, Wong ND. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham heart study. *Circulation.* 1999;100:354-360.
58. Vaitkevicius PV, Fleg JL, Engel JH, O'Connor FC, Wright JG, Lakatta LE, Yin FC, Lakatta EG. Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation.* 1993;88:1456-1462.
59. Whelton SP, Chin A, Xin X, He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med.* 2002;136:493-503.
60. Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, Arena R, Balady GJ, Bittner VA, Coke LA, Fleg JL, Forman DE, Gerber TC, Gulati M, Madan K, Rhodes J, Thompson PD, Williams, MA. Exercise standards for testing and training: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2013;128:873-934.

61. Wasserman D, Zinman B. Fuel homeostasis. In: Ruderman N, Devlin JT, eds. *The health professional's guide to diabetes and exercise*. Alexandria, VA: American Diabetes Association; 1995:29-47.
62. Nelson ME, Rejeski WJ, Blair SN, Duncan PW, Judge JO, King AC, Macera CA, Castaneda-Sceppa C. Physical activity and public health in older adults: Recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*. 2007;116:1094-1105.
63. Apple FS, Billadello JJ. Expression of creatine kinase m and b mRNAs in treadmill trained rat skeletal muscle. *Life Sci*. 1994;55:585-592.
64. Locke M, Noble EG, Tanguary RM, Field MR. Activation of heat-shock transcription factor in rat heart after heat shock and exercise. *Am J Physiol*. 1995;268:c1387-c1394.
65. Zhou Q, Dohm GL. Treadmill running increases phosphatidylinositol 3-kinase activity in rat skeletal muscle. *Biochem and Biophys Res Commun*. 1997;236:647-650.
66. Arida RM, Scorza CA, Silva AV, Scorza FA, Cavaleiro EP. Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neurosci Lett*. 2004;364:135-138.
67. Kaplan ML, Cheslow Y, Vikstrom K, Malhotra A, Geenen D, L., Nakouzi A. Cardiac adaptations to chronic exercise in mice. *Am J Physiol*. 1994;273:H1167-1173.
68. Liu J, Yeo HC, Overvik-Douk E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW. Chronically and acutely exercised rats: Biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol* 2000;89:21-28.
69. Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity controlled treadmill in rats: Vo2max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280:H1301-1310.

70. Kemi OJ, Loennechen JP, Wisløff U, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in mice: Cardiac and muscle hypertrophy. *J Appl Physiol.* 2002;93:1301-1309.
71. Pahor M, Blair SN, Espeland M, Fielding R, Gill TM, Guralnik JM, Hadley EC, King AC, Kritchevsky SB, Maraldi C, Miller ME, Newman AB, Rejeski WJ, Romashkan S, Studenski S. Effects of a physical activity intervention on measures of physical performance: Results of the lifestyle interventions and independence for elders pilot (life-p) study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61:1157-1165.
72. Groban L, Jobe H, Lin M, Houle T, Kitzman DA, Sonntag W. Effects of short-term treadmill exercise training or growth hormone supplementation on diastolic function and exercise tolerance in old rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2008;63:911-920.
73. Davis B, Moriguchi T, Sumpio B. Optimizing cardiovascular benefits of exercise: A review of rodent models. *Int J Angiol.* 2013;22:13-22.
74. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelista A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009;22:107-133.
75. Guirado GN, Damatto RL, Matsubara BB, Roscani MG, Fusco DR, Cicchetto LAF, Seki MM, Teixeira AS, Valle AP, Okoshi K, Okoshi MP. Combined exercise training in asymptomatic elderly with controlled hypertension: Effects on functional capacity and cardiac diastolic function. *Med Sci Monit.* 2012;18:CR461-465.
76. Opie LH. Mechanisms of cardiac contraction and relaxation. In: Libby P, Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, eds. *Braunwald's heart disease. A textbook of cardiovascular medicine.* Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008:509-539.
77. Okoshi MP, Cicogna AC. Avaliação do comportamento mecânico do coração por meio de músculos papilares isolados. Análise crítica do método. *Arq Bras Cardiol.* 1994;62:357-360.

78. Bhatnagar GM, Walford GD, Beard ES, Humphreys S, Lakatta EG. Atpase activity and force production in myofibrils and twitch characteristics in intact muscle from neonatal, adult, and senescent rat myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 1984;16:203-218.
79. Opie LH, Hasenfuss G. Mechanisms of cardiac contraction and relaxation. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E, eds. *Braunwald's heart disease. A textbook of cardiovascular medicine.* Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012:459-486.
80. Factor SM, Robinson TF, Dominitz R, Cho S. Alterations of the myocardial skeletal framework in acute myocardial infarction with and without ventricular rupture. *Am. J Cardiovasc Pathol.* 1986;1:91-97.
81. Robinson TF, Factor SM, Sonnenblick EH. The heart as suction pump. *Sci Am.* 1986;254:84-91.
82. Weber KT, Janicki JS, Shroff SG. Collagen compartment remodeling in the pressure overloaded left ventricle. *J Appl Cardiol.* 1988;1:37-46.
83. Gaash WH, LeWinter MM. *Left ventricular diastolic dysfunction and heart failure.* Pennsylvania: Lea & Febiger; 1994.
84. Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OHL. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation.* 1995;91:161-170.
85. Fan D, Takawale A, Lee J, Kassiri Z. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2012;5:5-15.
86. Brower GL, Gardner JD, Forman MF, Murray DB, Voloshenyuk T, Levick SP, Janicki JS. The relationship between myocardial extracellular matrix remodeling and ventricular function. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006;30:604-610.
87. López B, Querejeta R, González A, Beaumont J, Larman M, Díez J. Impact of treatment on myocardial lysyl oxidase expression and collagen cross-linking in patients with heart failure. *Hypertension.* 2009;53:236-242.

88. Lopez B, Gonzalez A, Hermida N, Valencia F, de Teresa E, Diez J. Role of lysyl oxidase in myocardial fibrosis: From basic science to clinical aspects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299:H1-H9.
89. Weber KT. Cardiac interstitium in health and disease: The fibrillar collagen network. *J Am Coll Cardiol*. 1989;13:1637-1652.
90. Anversa P, Puntillo E, Nikitin P, Olivetti G, Capasso JM, Sonnenblick EH. Effects of age on mechanical and structural properties of myocardium of fischer 344 rats. *Am J Physiol*. 1989;256:H1440-1449.
91. Eghbali M, Eghbali M, Robinson TF, Seifter S, Blumenfeld OO. Collagen accumulation in heart ventricles as a function of growth and aging. *Cardiovasc Res*. 1989;23:723-729.
92. Thomas DP, Zimmerman SD, Hansen TR, Martin DT, McCormick RJ. Collagen gene expression in rat left ventricle: Interactive effect exercise training. *J. Appl. Physiol*. 2000;89:1462-1468.