UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO NO TECIDO CARDÍACO:
Associação entre alterações estruturais e estresse oxidativo em ratos adultos submetidos à desnutrição proteica perinatal

Déborah Souza Carthagenes de Morais

RECIFE
2014

Déborah Souza Carthagenes de Morais

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO NO TECIDO CARDÍACO:
Associação entre alterações estruturais e estresse oxidativo em ratos adultos submetidos à desnutrição proteica perinatal

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde para obtenção do Grau de Mestre em Patologia, com orientação da professora Liriane Baratella Evêncio, e co-orientação da professora Cláudia Jacques Lagranha, da Universidade Federal de Pernambuco.

RECIFE
2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

M827e Morais, Déborah Souza Carthagenes de.
Efeito do treinamento físico moderado no tecido cardíaco: associação entre alterações estruturais e estresse oxidativo em ratos adultos submetidos à desnutrição proteica perinatal / Déborah Souza Carthagenes de Morais. – Recife: O autor, 2014.
44 f. : il. ; tab. ; 30 cm.

Orientadora: Liriane Baratella Evêncio.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2014.
Inclui referências.

1. Desnutrição proteica. 2. Coração. 3. Remodelação ventricular. 4. Estresse oxidativo. 5. Exercício. I. Evêncio, Liriane Baratella (Orientadora). II. Título.

616.07 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2014-117)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
Centro de Ciências da Saúde - UFPE
Av. Prof. Moraes Rego 1235 - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife – PE
Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo
Fone/Fax: (81) 2126.8529
http://www.ppgpatologiaufpe.com

Ata da 3ª Defesa de Dissertação de Mestrado do corrente ano, realizada no Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, no dia 26 fevereiro de 2014.

Aos vinte e seis do mês de fevereiro de dois mil e quatorze (26/02/2014), às dez horas, no auditório do Programa de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, em sessão pública, teve início a defesa de Dissertação intitulada **"*EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO NO TECIDO CARDÍACO: ASSOCIAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL.*"** da aluna **Déborah Souza Carthagenes de Morais**, que havia cumprido anteriormente todos os demais requisitos regimentais para a obtenção do grau de MESTRE em Patologia. A Banca Examinadora foi composta pelos Professores: WYLLA TATIANA FERREIRA E SILVA, do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco; MARIANA PINHEIRO FERNANDES, do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco; ARY GOMES FILHO, do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco. Depois de cumpridas as formalidades, a candidata foi convidada a discorrer sobre o conteúdo da Dissertação. Concluída a explanação, a candidata a foi arguida pela Banca Examinadora que, em seguida, reuniu-se para deliberar e conceder a mesma a menção (Aprovado/Reprovado) _____ da referida Dissertação. E, para constar, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, Secretária desta Pós-Graduação, e pelos membros da Banca Examinadora.

Recife, 26 de fevereiro de 2014.

_____

BANCA EXAMINADORA

Profª. Drª. Wylla Tatiana Ferreira e Silva _____

Profa. Dra. Mariana Pinheiro Fernandes_____

Prof. Dr. Ary Gomes Filho _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

R E I T O R

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE- REITOR

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Profª. Catarina de Oliveira Neves

COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Mário Ribeiro de Melo Júnior

VICE-COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Manuela Figueroa Lyra de Freitas

R E C I F E

2014

DEDICATÓRIA

A meus amados pais, **Vânia Olívia Souza de Morais e Paulo Afonso Carthagenes de Morais**, pelo amor incondicional, paciência e por sempre acreditarem em mim.

A meus queridos irmãos, **Paulo José Souza Carthagenes de Morais e Filipe Souza Carthagenes de Morais**, por todo incentivo, apoio e amor a mim dedicados. Se não fossem vocês jamais estaria onde estou.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por esta oportunidade que me foi dada de conquistar tantas coisas boas e importantes à minha evolução como pessoa.

A minha família (pais e irmãos), por todo carinho, paciência, amor e cuidado durante meus momentos de maior dificuldade.

A meu companheiro “de aventuras”, Wagner do Nascimento Santos, por seu carinho, e sua compreensão nos meus vários momentos de aperreio e frustração.

Às minhas orientadoras, Liriane Baratella e Cláudia Lagranha, pela confiança, seriedade e apoio. Isto também é resultado do trabalho de vocês.

À toda a equipe do laboratório do CAV, onde fui muito bem recebida e é um excelentíssimo e competente grupo. Em especial, quero agradecer a meus estagiários, Yuri e Luciana, e também aos que tive mais contato, Cris, Anderson, Reginaldo e Talita. A ajuda de vocês foi essencial para esse trabalho, tenho muito carinho por todos.

À Michelly, minha companheira de anos nessa empreitada experimental, temos muitas histórias para contar, principalmente sobre ratos.

À Diórginis (bité), por sua generosidade de me ensinar tanta coisa e pacientemente. Obrigada pela ajuda e pelas nossas conversas hilárias.

Aos meus amigos queridos, de colégio, universidade e de turma, pelo incentivo constante, por nunca deixarem de acreditar em mim e por todo carinho.

À Sueli Senna, por sua generosidade em ter partilhado sua pesquisa comigo, sem a sua ajuda não conseguiria contemplar totalmente os objetivos deste trabalho.

A todos que contribuíram de forma direta, ou indireta para a realização deste trabalho: professores (em especial, prof ª Paloma e Prof. Mário), técnicos de laboratório (Silvania e Francisco), estagiários e secretaria (em especial, Margarete).

À América Palmeira (Merquitcha), pelo incentivo e apoio. Se não fosse você, não teria nem tentado o mestrado.

À banca examinadora, pelas sugestões, correções e apoio. Muito obrigada por tudo.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar...”

(Chico Xavier)

RESUMO

Neste estudo foram analisados os efeitos do treinamento físico aeróbico moderado na estrutura e no balanço oxidativo do tecido cardíaco em ratos adultos submetidos à desnutrição proteica perinatal. Ratos machos da linhagem *Wistar* (n = 60) foram divididos em dois grupos: controle (C, n = 30 caseína 17%) e desnutrido (D, n = 30 caseína 8%), de acordo com a dieta oferecida à mãe durante a gestação e lactação. Após o período de desmame, todos os animais receberam dieta de biotério (*Labina*®). Aos 60 dias de vida, os dois grupos foram subdivididos de acordo com a realização do treinamento físico: Controle (C: caseína 17%, n=15); Desnutrido (D: caseína 8%, n= 16; Treinado (T: caseína 17%, n= 15) e Desnutrido Treinado (DT: caseína 8%, n= 14). O treinamento físico moderado foi realizado em esteira motorizada (8 semanas, 5 dias/semana, 60 min/dia e VO_2 max de 70%). Após o treinamento os animais foram sacrificados e o coração foi analisado para estudos dos parâmetros morfométricos e bioquímicos. Em relação ao peso absoluto (g) do coração dos animais nos diferentes grupos, foi observada diferença apenas do grupo DT, n= 7 (DT= 1,307± 0,082) em relação aos grupos C, n=7 (C= 1,137 ± 0,089) e D, n= 8 (D= 1,065±0,128), p<0,05. Não foi observada diferença significativa entre os grupos estudados, no que diz respeito ao peso relativo do coração. Os animais do grupo D (132,1±12,51) apresentaram menor área (μm^2) da célula cardíaca em relação ao C (203,3±28,67). Já os animais treinados (T=243,8±55,87 e DT=231,1±65,31) apresentaram maior área celular em comparação ao grupo D, p<0,05. Os animais submetidos à desnutrição perinatal apresentaram menores valores (mm) da parede do ventrículo esquerdo (VE) (D=1,770±0,178) quando comparados aos controles (C=2,255±0,175), p<0,05. Já nos grupos que realizaram o treinamento físico houve aumento significativo da espessura (mm) do VE (T=2,382±0,165 e DT=2,410±0,106) quando comparados ao grupo D, p<0,05. Houve redução na área (mm^2) de secção transversal do VE no grupo D (42,36±7,64) em relação ao C (53,10±3,51) e aumento da área do VE dos grupos T (50,84±4,37) e DT (54,48±5,53) em relação ao D, p<0,05. O treinamento físico aumentou significativamente a área da cavidade do VE (T= 11,07±1,345 e DT= 10,83±1,893) em relação aos demais grupos (C=8,177±1,396 e D=8,124±1,467), p<0,05. O treinamento físico moderado aumentou os níveis de lipoperoxidação (LPO) (nmol/mg de proteína) nos grupos T (6,63 ± 2,18) e D (6,43 ± 2,02) comparados ao C, (3,85 ± 1,26) e diminuiu o nível de LPO no grupo DT (3,76 ± 1,02) comparado ao D e ao T, p< 0,05. Os níveis (U/mg prot) de superóxido dismutase (SOD) mantiveram-se inalterados entre todos os grupos. A desnutrição proteica promoveu uma redução nos níveis (U/mg prot) de atividade da catalase (CAT) (D=0,53 ± 0,19) nos animais quando comparados aos controles (C=0,89 ± 0,23). O treinamento aumentou a atividade da CAT nos grupos T (1,32 ± 0,29) e DT (1,30 ± 0,12) em relação aos grupos C (0,89 ± 0,23) e D (0,53 ± 0,19), p <0,05. Os resultados apresentados sugerem que o treinamento físico moderado pode ser utilizado como uma forma de tratamento não farmacológico para combater os efeitos adversos decorrentes da desnutrição proteica perinatal.

Palavras-chave: Desnutrição proteica. Coração. Remodelação ventricular. Estresse oxidativo. Exercício.

ABSTRACT

In this study the effects of moderate aerobic exercise training on oxidative balance and structure of cardiac tissue in adult rats subjected to perinatal protein malnutrition were analyzed. *Wistar* male rats (n = 60) mice were divided into two groups: control (C, n = 30 casein 17%) and malnourished (D, n = 30 Casein 8%), according to the diet provided to the mother during pregnancy and lactation. After weaning, all animals received diet of the vivarium (Labina ®). At 60th day of life, the two groups were subdivided according to the achievement of physical training: Control (C: casein 17%, n = 15); Malnourished (D: 8% casein, n = 16; Trained (T: casein 17%, n = 15) and Malnourished Trained (DT: casein 8%, n = 14). Moderate physical training was performed on treadmill (8 weeks, 5 days / week, 60 min / day and 70% of VO_2 max). After training, the animals were sacrificed and the heart was analyzed for morphometric, and biochemical studies. Regarding the absolute weight (g) of the heart in different groups of animals, varied only the DT group, n = 7 (DT = 1,307 ± 0,082) compared to C, n = 7 (C = 1,137 ± 0,089) and D, n = 8 (D = 1,065 ± 0,128) groups, p <0,05. No significant difference was observed between groups, with regard to the relative weight of the heart. Animals in D group (132,1 ± 12,51) showed lower area (μm^2) of the cardiac cell in relation to C (203,3 ± 28,67). Trained animals (T = 243,8 ± 55,87 and 231,1 ± 65,31 = DT) showed greater cell area compared to group D, *p* <0,05. The animals subjected to perinatal malnutrition had lower values of the wall left ventricle (LV) (D = 1,770 ± 0,178) when compared to controls (C = 2,255 ± 0,175), *p* <0,05. In the groups that performed exercise training there was a significant increase in LV thickness (T = 2,382 ± 0,165 and DT = 2,410 ± 0,106) when compared to D group, *p* <0,05. Reduction has occurred in the area (mm^2) of the LV cross section in the D group (42,36 ± 7,64) compared to C (53,10 ± 3,51) and increased LV area in T (50.84 ± 4.37) and DT (54.48 ± 5.53) groups when compared to D, p <0,05. Exercise training significantly increased the area of the LV cavity (T = 11,07 ± 1,345 and DT = 1,893± 10,83) compared to the other groups (C = 8,177 ± 1,396 ± 8,124 and D = 1,467), *p* <0,05. Moderate physical training increased the levels (nmol / mg protein) of lipid peroxidation (LPO) in T (6,63 ± 2,18) and D (6,43 ± 2,02) groups compared to C (3,85 ± 1,26) and decreased the LPO level in DT (3,76 ± 1,02) compared to D and T groups, *p* <0,05. The superoxide dismutase (SOD) levels (U/mg prot) remained unaltered in all groups. Protein malnutrition promoted a decrease in the levels (U/mg prot) of CAT activity (D = 0,53 ± 0,19) when compared to control animals (C be used as a form of non-pharmacological treatment to combat the adverse effects from perinatal protein malnutrition.

Key-words: Protein malnutrition. Heart. Ventricular remodeling. Oxidative stress. Exercise.

SUMÁRIO

1.	Apresentação.....	07
2.	Introdução.....	08
3.	Referencial Teórico.....	10
3.1.	A patogênese cardíaca.....	10
3.2.	Desnutrição e Plasticidade durante o desenvolvimento.....	10
3.3.	Consequências da desnutrição no tecido cardíaco.....	12
3.4.	Estresse Oxidativo no Coração e Sistema Antioxidante.....	12
3.5.	Efeitos do treinamento físico no coração.....	14
4.	Objetivos.....	17
4.1.	Objetivo geral.....	17
4.2.	Objetivos específicos.....	17
5.	Material e métodos.....	18
5.1.	Área de estudo.....	18
5.2.	Modelo experimental.....	18
5.3.	Métodos de coleta.....	22
5.4.	Análise estatística.....	26
6.	Resultados.....	27
7.	Discussão.....	31
8.	Considerações finais.....	38
	Referências.....	39

1. APRESENTAÇÃO

Uma das atuais prioridades das políticas públicas mundiais para saúde refere-se ao combate às doenças crônico-degenerativas. Como enfoque, há o incentivo à alimentação adequada e mudanças no estilo de vida, como a prática regular de atividade física. Evidências epidemiológicas têm demonstrado que a deficiência nutricional em períodos precoces de crescimento pode elevar o risco de desenvolver obesidade e doenças associadas (hipertensão, diabetes tipo II, dislipidemias, hiperinsulinemia e outras doenças cardiovasculares) na idade adulta.

A desnutrição caracteriza um dos principais fatores não genéticos implicados na etiologia de doenças metabólicas. O mecanismo subjacente parece estar associado aos efeitos deletérios da desnutrição no período crítico do desenvolvimento. Sendo a desnutrição precoce uma realidade ainda evidente no Brasil, e especificamente no Nordeste, é possível que a incidência elevada de doenças cardiovasculares possa estar associada às carências nutricionais.

Sabendo que vários distúrbios cardiovasculares podem estar relacionados com alterações estruturais e no balanço oxidativo do tecido cardíaco, o entendimento dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes a tais enfermidades propicia subsídios para que estratégias de intervenção sejam melhor implementadas. O exercício físico regular está relacionado a diversas adaptações fisiológicas benéficas, dentre estas estão as que ocorrem no sistema cardiovascular. Indivíduos ativos possuem menor risco de desenvolver obesidade e cardiopatias. Além disso, as doenças crônico-degenerativas geram ônus aos serviços de saúde e à estrutura econômica em âmbito nacional e mundial.

Dessa maneira, a prática do exercício físico de forma regular, pode ser utilizada como medida terapêutica em doentes portadores de patologias cardíacas crônicas ou como medida preventiva evitando o desenvolvimento desses distúrbios. Assim, torna-se importante analisar a utilidade clínica do exercício físico e as potenciais adaptações cardíacas a ele associadas em organismos que foram submetidos a restrições nutricionais. Nesse sentido, este trabalho pretende analisar os efeitos do treinamento físico moderado sobre a morfologia e o balanço oxidativo do tecido cardíaco relacionados à desnutrição proteica perinatal.

2. INTRODUÇÃO

O coração é o primeiro órgão a concluir sua formação em vertebrados e tem um papel fundamental na distribuição de nutrientes e oxigênio para o embrião, atendendo às necessidades metabólicas do corpo em resposta às interferências do meio externo para manter a homeostase (BUCKINGHAM; MEILHAC; ZAFFRAN, 2005).

Durante o período crítico do desenvolvimento, fase de susceptibilidade em que ocorrem grande multiplicação e diferenciação celular e maturação de órgãos e sistemas (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002), o coração pode sofrer influências de fatores externos, como a restrição nutricional, e vir a apresentar modificações em sua estrutura e/ou função.

Em condições nutricionais normais, a absorção e utilização de nutrientes estão em equilíbrio, o que garante o adequado crescimento, maturação e divisão celular no organismo (ALVES; DÂMASO; DAL PAI, 2008). No caso da desnutrição, definida como o fornecimento insuficiente de energia e nutrientes, como por exemplo, a proteína de boa qualidade, há uma incapacidade para satisfazer os requisitos do corpo e assegurar seu crescimento, manutenção, e funções específicas (DE ONIS; MONTEIRO; CLUGSTON; 1993). Vários estudos associam a desnutrição proteica a uma série de efeitos deletérios durante o período crítico do desenvolvimento de órgãos e sistemas, como por exemplo, modificações estruturais, interferindo na proliferação celular do coração (CORSTIUS et al., 2005), no aumento da taxa de apoptose de cardiomiócitos (CHEEMA et al., 2005; TOSCANO et al., 2008) bem como reduzindo o diâmetro interno e a espessura da parede do ventrículo esquerdo (SARAIVA et al., 1992). Também podem ocorrer alterações bioquímicas e funcionais no sistema cardiovascular como aumento da concentração de hidroxiprolina (marcador de colágeno do miocárdio) e disfunção diastólica do miocárdio por aumento da rigidez passiva (FIORETTO et al., 2002). Além disso, a desnutrição intrauterina também está associada ao aumento do nível de estresse oxidativo sanguíneo (GUPTA et al., 2004).

O estresse oxidativo é a condição em que há estímulo exagerado na produção de moléculas denominadas espécies reativas de oxigênio (ERO's),

associado a uma falha ou deficiência das defesas antioxidantes (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Outras moléculas reativas também conhecidas são as chamadas Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN's), que incluem o óxido nítrico, dióxido de azoto, trióxido de diazoto e peroxinitrito, as quais são similarmente prejudiciais para o estado redox (redução-oxidação) das células quando produzidas em excesso (WANG e MICHAELIS, 2010).

Essas moléculas podem gerar danos a proteínas, lipídeos e ao DNA, provocando diversas alterações na função e consequentemente na morfologia celular e, portanto, tecidual (SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004). Nesse sentido, o aumento do estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese de diversas doenças cardiovasculares (PINHO et al*.,* 2010), já que o tecido cardíaco parece ser mais suscetível ao estresse oxidativo, devido à sua característica predominantemente aeróbia, apresentando elevadas taxas de consumo de oxigênio e produção de ERO's (ASCENSÃO et al*.*, 2003).

Por outro lado, a prática regular de exercícios físicos, tanto aeróbicos quanto anaeróbicos, leva a uma série de adaptações morfofisiológicas no coração como hipertrofia ventricular e aumento da dimensão interna do ventrículo esquerdo (OSBORNE et al*.,*1992; PELLICCIA; CULASSO; DI PAOLO, 1999) e aumento do volume diastólico final e do volume de ejeção sistólica (SCHARHAG et al., 2002). Além disso, estudos também têm investigado o impacto do exercício físico regular aeróbico na atenuação de biomarcadores de estresse oxidativo e/ou no aumento das defesas antioxidantes (FISHER-WELLMAN; BELL; BLOOMER; 2009).

Associado a outras estratégias, o exercício físico tem sido utilizado como medida preventiva e terapêutica em algumas áreas clínicas em geral, e na medicina cardiovascular em particular (ASCENSÃO et al., 2003). Contudo, os mecanismos associados às alterações morfológicas e ao incremento da eficácia dos sistemas antioxidantes após períodos de restrição proteica não se encontram, ainda, totalmente compreendidos. Uma vez que o tecido muscular cardíaco, quando sujeito a alguns estímulos de natureza crônica, parece sensível a um conjunto de adaptações, o papel do treinamento físico moderado aeróbio na estrutura cardíaca é um tópico de interesse a ser abordado.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A patogênese cardíaca

Em vertebrados, o coração é o primeiro órgão a se formar durante a embriogênese, desempenhando importante função na distribuição de nutrientes e oxigênio para o embrião (BUCKINGHAM; MEILHAC; ZAFFRAN, 2005).

Estudos indicam que a patogênese cardíaca pode iniciar-se ainda na vida uterina, mostrando que há associações entre as condições pré-natais e o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão, diabetes, obesidade e outras relacionadas ao sistema cardiovascular (BARKER, 2007; LUCAS, 1991). Cada sistema fisiológico possui um período crítico de desenvolvimento que varia de acordo com cada espécie (DOBBING e SANDS, 1985; MORGANE, MOKLER e GALLER, 2002). No coração, esse período se dá entre a terceira e quinta semanas de gestação em humanos (SADLER, 2000) e na segunda semana gestacional de camundongos e ratos (GARCIA-MARTINEZ E SCHOENWOLF, 1993; CARMO; PETERS; GUERRA, 2004). Nesse período, a exposição a situações de estresse, tais como variações de temperatura ambiental, mudança de altitude, presença de infecções, processo de envelhecimento, prática de atividade física e estado nutricional, exige do organismo uma série de adaptações, sobretudo do sistema cardiovascular, para manter seu equilíbrio interno (PENALOZA e ARIAS-STELLA, 2007; PORRELLO; WIDDOP e DELBRIDGE, 2008).

3.2. Desnutrição e Plasticidade durante o desenvolvimento

Uma alimentação adequada é imprescindível para que os seres vivos atinjam seu pleno potencial de crescimento, saúde, reprodução e longevidade (GIANINI; VIEIRA; MOREIRA, 2005). A desnutrição proteico-energética é a forma mais prevalente de distúrbio nutricional nos países em desenvolvimento, onde geralmente ocorre durante a lactação, gestação, e nos primeiros dois anos de vida, período de maior vulnerabilidade nutricional materna e da prole (DESAI et al., 1980). Dessa maneira, a má nutrição é um dos fatores não genéticos que mais interferem no

desenvolvimento normal dos órgãos e/ou tecidos (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002). A desnutrição continua sendo um dos problemas importantes de saúde pública, em razão das consequências desastrosas para o crescimento, desenvolvimento e até para a sobrevivência de crianças (COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008). No Brasil ainda persistem as formas mais severas da desnutrição, sendo este problema mais grave nas regiões Norte e Nordeste (COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008).

Os períodos de gestação, lactação e primeira infância (DOBBING E SANDS, 1985; MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002) são conhecidos como períodos críticos de desenvolvimento, fases de susceptibilidade em que ocorrem grande multiplicação, diferenciação celular e maturação de órgãos e sistemas, estando o organismo passível de sofrer influências de fatores externos, como a restrição nutricional, e vir a apresentar modificações bioquímicas e estruturais que podem repercutir na vida adulta (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002). Sendo assim, um ambiente intrauterino adverso, altera o meio metabólico e hormonal fetal, resultando em adaptações no desenvolvimento para assegurar a sua sobrevivência (VICKERS et al., 2000; GIUSSANI et al., 2012). Estas respostas adaptativas, concebidas para a sobrevivência fetal em um ambiente com substrato limitado, como a falta ou a deficiência de nutrientes, ao persistirem na vida pós-natal, podem levar a repercussões a curto e longo prazo, predispondo, dessa forma, o aparecimento e desenvolvimento de distúrbios metabólicos, cardiovasculares e endócrinos nesses indivíduos (VICKERS et al., 2000; BARKER, 2007).

Esse fenômeno biológico pelo qual um estímulo ou insulto, quando aplicado em fases críticas do desenvolvimento, podendo conduzir a alterações permanentes na estrutura e função dos tecidos, é conhecido como “plasticidade durante o desenvolvimento” ou “origem desenvolvimentista da saúde e da doença” (GLUCKMAN E HANSON, 2004).

3.3. Consequências da desnutrição no tecido cardíaco

Efeitos decorrentes da desnutrição perinatal e da plasticidade do coração são evidenciados em estudos epidemiológicos (SARAIVA et al., 1992) e experimentais (FIORETTO et al., 2002; CORSTIUS et al., 2005, TOSCANO et al., 2008). Um estudo eletrocardiográfico e ecocardiográfico em crianças gravemente desnutridas, mostrou diminuição do volume cardíaco caracterizado pela redução do diâmetro interno e da espessura da parede ventricular esquerda (SARAIVA et al., 1992). Ratos, cujas mães sofreram restrição proteica durante a gestação, apresentaram aumento da taxa de apoptose de cardiomiócitos, bem como, redução no número dessas células ao nascimento (CHEEMA et al., 2005; CORSTIUS et al., 2005, TOSCANO et al., 2008). No coração, a restrição nutricional também pode causar diminuição da fração de ejeção sistólica, do débito cardíaco, do fluxo coronariano e da contratilidade do miocárdio, além disso, da mesma forma, pode provocar o aumento da pós-carga cardíaca, e da suscetibilidade de ocorrer arritmias e lesão de isquemia/reperfusão (FOWDEN; GIUSSANI; FORHEAD, 2006). Além disso, estudos anteriores também mostraram que na desnutrição, há excesso de produção de intermediários reativos de oxigênio (O_2), como o ânion superóxido (O_2-), o radical hidroxila (OH), oxigênio singlet e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GHONE et al., 2013).

3.4. Estresse Oxidativo no Coração e Sistema Antioxidante

Estudos vêm propondo o envolvimento das mitocôndrias no período crítico de desenvolvimento, como alvo da origem desenvolvimentista da saúde e da doença (FRANCO et al., 2003; SIMMONS, SUPONITSKY-KROYTER, SELAK, 2005). Durante o metabolismo energético, elétrons de alta energia provenientes da oxidação de carboidratos, lipídios e outros substratos são transferidos para o O_2 através de um grande número de reações de oxirredução na cadeia transportadora de elétrons, que está relacionada à geração de ATP (CAMPOS, GOMES, FERRREIRA, 2013). Neste contexto, a desnutrição também induziria uma disfunção mitocondrial, levando a uma maior produção de moléculas denominadas espécies

reativas de oxigênio (ERO's). A formação das ERO's nem sempre é deletéria, como por exemplo, na defesa contra a infecção, onde a produção de espécies reativas tem a finalidade de destruir o micro-organismo (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; RADAK et al., 2013). Essas moléculas atuam, portanto, em vias de sinalização para a regulação do crescimento, diferenciação, sobrevivência e morte celular (LI et al., 2011). No sistema cardiovascular, por exemplo, a sinalização redox desempenha um papel-chave na regulação da função cardíaca e no tônus vascular (CAMPOS, GOMES, FERREIRA, 2013). Porém, se houver estímulo exagerado na produção dessas ERO's, bem como das ERN's, e a ele estiver associada uma falha ou deficiência da defesa antioxidante (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; GIUSSANI et al., 2012) ocorre, portanto, o estresse oxidativo (FRANCO et al., 2003; CAMPOS, GOMES, FERREIRA, 2013). O aumento do estresse oxidativo pode contribuir, então, para a patogênese de doenças cardiovasculares como, por exemplo, a insuficiência cardíaca crônica (PINHO et al., 2010; VON HAEHLING et al., 2010; TSUTSUI; KINUGAWA; MATSUSHIMA, 2011; SCHWARZ et al., 2013). Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação (LPO), ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular (SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004). No coração, essas moléculas também podem estar envolvidas no desenvolvimento e progressão da remodelação do miocárdio, levando então à insuficiência crônica do órgão devido aos mecanismos oxidativos (BERGAMINI et al., 2009; TSUTSUI; KINUGAWA; MATSUSHIMA, 2011). O tecido cardíaco, especificamente, parece ser mais suscetível ao estresse oxidativo, devido à sua característica predominantemente aeróbia, apresentando elevadas taxas de consumo de oxigênio e produção de ERO's por conta de seu elevado volume e densidade mitocondriais e igualmente elevado fluxo mitocondrial de oxigênio (O_2) (ASCENSÃO et al., 2003; SCHWARZ et al., 2013).

Há, porém, defesas antioxidantes nas nossas células que tem a função de inibir e/ou reduzir a ação deletéria das espécies reativas de oxigênio (KOURY, 2003). O sistema de defesa antioxidante está dividido em enzimático e não enzimático (SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004). O sistema enzimático inclui enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx) (SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004). Essas enzimas agem por meio de mecanismos

de prevenção, controlando a formação de ERO's (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004). Assim, as células aeróbias são protegidas da ação do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio, por exemplo, pela ação da SOD, uma metaloenzima que converte o radical superóxido em peróxido de hidrogênio, e pela ação da CAT, que converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular (LEITE e SARNI, 2003).

3.5. Efeitos do treinamento físico no coração

Quando o exercício físico é realizado de forma sistemática e com a intensidade do esforço controlada, passa a ser referido como treinamento físico, que a depender de sua intensidade pode ser classificado como leve, moderado e intenso (LEANDRO et al., 2007). Essa classificação toma como base a realização de alguns testes de esforço máximo para avaliar a concentração de lactato no sangue, o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), e/ou a frequência cardíaca máxima (FC_{max}) (LEANDRO et al., 2007). Assim, um exercício leve refere-se a um VO_{2max} de 20 a 50%, moderado a um VO_{2max} de 50 a 70% e intenso a um VO_{2max} acima de 80% proporcional as respectivas intensidades (LEANDRO et al., 2007).

A prática regular de exercícios físicos, tanto aeróbicos quanto de resistência, leva a uma série de adaptações morfofisiológicas no organismo (OSBORNE et al*.,* 1992) dentre elas, as referentes à função cardiovascular, para suprir a nova demanda metabólica durante a prática do treinamento físico (BRUM et al., 2004; AHMADIASL et al., 2012; HUANG et al., 2013). Um aumento no tamanho cardíaco é fundamental para a capacidade de gerar um maior volume sistólico (RAWLINS, BHAN, e SHARMA, 2009). Este tipo de adaptação induzido pelo exercício físico, denominado hipertrofia fisiológica, pode ser considerado como resposta compensatória a esta sobrecarga de volume crônica e é caracterizada por ser uma hipertrofia excêntrica (MIYACHI et al., 2009). Neste caso, novos sarcômeros são adicionados em série aos sarcômeros existentes, diferentemente da hipertrofia concêntrica, que resulta de uma sobrecarga de pressão, ocorrida em treinos de força, por exemplo, onde há adição de novos sarcômeros em paralelos e geralmente, redução da câmera cardíaca (MIHL, DASSEN e KUIPERS, 2008). Em

relação à morfologia cardíaca pode ser notado hipertrofia ventricular e aumento da dimensão interna do ventrículo esquerdo em atletas submetidos a programas de treinamento físico de alta intensidade (OSBORNE et al., 1992; PELLICCIA; CULASSO; DI PAOLO, 1999). Além disso, também é observado que o exercício físico regular, com intensidade leve a moderada, diminui a pressão arterial e a frequência cardíaca de repouso, aumenta a contratilidade miocárdica, o débito cardíaco (KEMMLER et al., 2009), o volume de ejeção sistólico e volume diastólico final (SCHARHAG et al., 2002; KEMMLER et al., 2009).

Outros estudos também têm investigado o papel do treinamento físico na atenuação de biomarcadores de estresse oxidativo e/ou no aumento das defesas antioxidantes (FISHER-WELLMAN; BELL; BLOOMER, 2009; AHMADIASL et al., 2012). De fato, o exercício moderado regular resulta em adaptações na capacidade antioxidante, as quais protegem as células contra os efeitos do estresse oxidativo, prevenindo danos celulares subsequentes (AGUILÓ et al., 2003). No coração, o exercício físico regular inibe a geração em excesso das ERO's, atuando, portanto, como fator de proteção cardíaco (OTANI, 2009).

Em humanos, um estudo realizado em bicicleta ergométrica, seguindo um protocolo de 12 semanas de treinamento físico moderado, mostrou uma tendência a diminuir o estresse oxidativo a partir da análise da peroxidação lipídica através dos níveis séricos de MDA (malondialdeído) (GOTO et al.,2003). A escassez de trabalhos com humanos que analisem a referida relação prende-se com a óbvia impossibilidade de obtenção de amostras de tecido cardíaco para análise dos indicadores de estresse oxidativo e de lesão oxidativa (ASCENSÃO et al., 2003). Já em animais submetidos a um protocolo de natação (VENDITTI e DI MEO, 1996) e a treinamento aeróbico em esteira (RICHTERS et al., 2011; BO et al., 2008) foi observada uma elevação uniforme da atividade de enzimas antioxidantes no tecido cardíaco, como conseqüência do programa de treinamento. Estes resultados sugerem que o exercício moderado realizado regularmente leva a um aumento das defesas antioxidantes do tecido cardíaco contra os danos das ERO's (VENDITTI e DI MEO, 1996).

O treinamento físico moderado pode provocar diminuição das espécies reativas de oxigênio (RADAK, CHUNG, GOTO, 2008) e, consequentemente,

contribuir para a melhora da capacidade oxidativa muscular e, em última instância, da capacidade física (BRUM et al., 2004). Sabendo-se que a desnutrição perinatal produz alterações morfofisiológicas no coração, podendo levar ao aparecimento tardio de doenças, e que o treinamento físico leva o tecido cardíaco a uma série de adaptações, o efeito modulador do treinamento físico moderado aeróbio na estrutura cardíaca em decorrência da desnutrição é um tópico interessante a se investigar.

4. OBJETIVOS

4.1. *Objetivo geral*

Analisar os efeitos do treinamento físico moderado sobre a morfologia e o balanço oxidativo do tecido cardíaco em ratos adultos que foram submetidos à dieta hipoproteica durante o período perinatal.

4.2. *Objetivos específicos*

Avaliar no tecido cardíaco dos animais adultos submetidos ou não à dieta hipoproteica perinatal e ao treinamento físico moderado:

- Peso absoluto e relativo do coração;
- Aspectos histométricos dos cardiomiócitos mensurando a área de secção transversal dos mesmos;
- Aspectos morfológicos do coração mensurando: espessura da parede, área de secção transversal e área da cavidade do ventrículo esquerdo;
- Níveis de peroxidação lipídica;
- Atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área de estudo

Esse trabalho foi realizado no Laboratório de Estudos em Nutrição e Instrumentação Biomédica (LENIB) do Departamento de Nutrição (DN) e no Laboratório de Bioquímica e Bioquímica do Exercício (CAV - Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão -UFPE).

5.2. Modelo experimental

Animais e Dieta

Foram utilizados ratos machos da linhagem *Wistar* provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, os quais foram mantidos em biotério de experimentação à temperatura de 22± 2°C, ciclo claro-escuro de 12/12 horas. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE sob os respectivos nº de protocolos: 23076.018163/2009-15 e 23076.016336/2012-58. Para o correto manuseio dos animais, os pesquisadores foram devidamente treinados e as normas de biossegurança e do biotério foram rigorosamente seguidas.

Para obtenção de neonatos, foram acasalados animais machos e fêmeas (proporção 1:2), com idade entre 90 e 120 dias. A gestação foi determinada pela técnica de esfregaço vaginal, que consiste na coleta da secreção vaginal para verificar a presença de espermatozoides (MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002). Uma vez detectado precocemente o estado de prenhez, as ratas foram acomodadas individualmente em gaiolas de polipropileno e inicialmente foram divididas em dois grupos de acordo com a dieta fornecida: controle (C, caseína a 17%) e desnutridas (D, caseína a 8%) (Tabela 1). Na lactação, as ratas continuaram recebendo dieta experimental conforme o grupo e após o desmame (21 dias de idade), os filhotes machos (C, n=30 e D, n=30) passaram a receber dieta equilibrada de biotério

(LABINA, Purina Brasil®: 74,5% de carboidratos, 23% de proteínas e 2,5% de lipídeos) (Tabela 2).

Tabela 1: Composição de dieta experimental isocalórica com diferentes teores de proteína (caseína).

	Quantidade*	
Ingredientes	8 %	17%
Caseína (85% de proteína)	94,12 g	200,0 g
Mix Vitamínico (AIN-93-VX)	10,0 g	10,0 g
Mix Mineral (AIN-93G-MX)	35,0 g	35,0 g
Celulose	50,0 g	50,0 g
Bitartarato de Colina	2,5 g	2,5 g
DL-Metionina	3,0 g	3,0 g
Óleo de Soja	70,0 ml	70,0 ml
Amido de Milho	503,4g	397,5g
Amido Dextrinizado	132,0 g	132,0 g
Sacarose	100,0 g	100,0 g
THBT (antioxidante de gordura)	0,014 g	0,014 g

*Quantidade para 1 kg de dieta formulados de acordo com a recomendação da AIN-93G para dietas de roedores (Reeves; Nielsen; Fahey, 1993).

Tabela 2: Composição da dieta LABINA (Purina Brasil) utilizada após o desmame

Ingredientes*	**Quantidade (g)**	**Calorias (Kcal)**
Proteína	23,0	92,0
Carboidratos	74,5	288,0
Gordura	2,5	22,5
Total	100,0	402,5

*Composição básica: milho, farelo de trigo, farelo de soja, farinha de carne, farelo de arroz cru, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, sal, pré-mix. Fonte: Purina Brasil.

Protocolo de Treinamento Físico

Aos 60 dias de idade, os ratos foram divididos em quatro grupos experimentais, de acordo com a realização do treinamento físico: a) grupo controle (C: sedentário, caseína 17%, n=15); b) grupo treinado (T: caseína 17%, treinamento físico, n=15); c) grupo desnutrido (D: sedentário, caseína 8%, n=16) e d) grupo desnutrido treinado (DT: caseína 8%, treinamento físico, n=14) (Figura 1).

Os animais treinados foram submetidos a um programa de treinamento físico moderado de acordo com o protocolo de LEANDRO et al. (2007), onde o exercício foi realizado durante 8 semanas, 5 dias/semana e 60 min/dia a 70% do VO_2max, em esteira motorizada EP-131/Insight Equipamentos Ltda. De acordo com o protocolo utilizado, a intensidade do treino foi aumentada progressivamente a cada semana até atingir 70% de VO_2max, sendo assim, mantida até o fim do programa de treinamento. Para isso foram manipulados a velocidade, a inclinação da esteira e o tempo de exercício (Tabela 3). O grupo não treinado permaneceu nas gaiolas e no mesmo ambiente dos animais treinados durante a realização do treinamento físico. Os animais dos diferentes grupos experimentais foram eutanaziados aproximadamente aos 123 dias de idade para a realização dos estudos propostos (Figura 2).

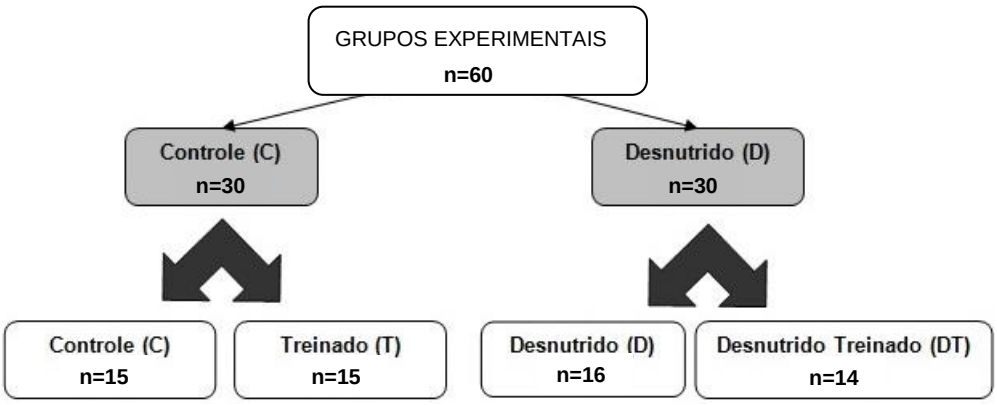


Figura 1: Formação dos grupos experimentais (n=60).

Tabela 3: Protocolo de treinamento físico de acordo com a velocidade, inclinação e duração de cada sessão das oito semanas de treinamento.

Semanas	Velocidade (km/h)	Inclinação (º)	Duração (min)
1ª Semana (Adaptação)	0,3	0	5
	0,4	0	5
	0,5	0	5
2ª Semana	0,3	0	5
	0,4	0	5
	0,5	0	10
	0,6	0	30
3ª Semana	0,4	0	5
	0,5	0	5
	0,6	0	10
	0,8	0	10
	0,9	0	30
4ª Semana	0,5	0	5
	0,5	0	5
	0,8	0	10
	0,9	0	10
	1,1	0	30
5ª Semana	0,5	0	5
	0,5	5	5
	0,8	5	10
	0,9	5	10
	1,1	5	30
6ª Semana	0,5	0	5
	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
7ª Semana	0,5	0	5
	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
8ª Semana	0,5	0	5
	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
	0,5	0	5

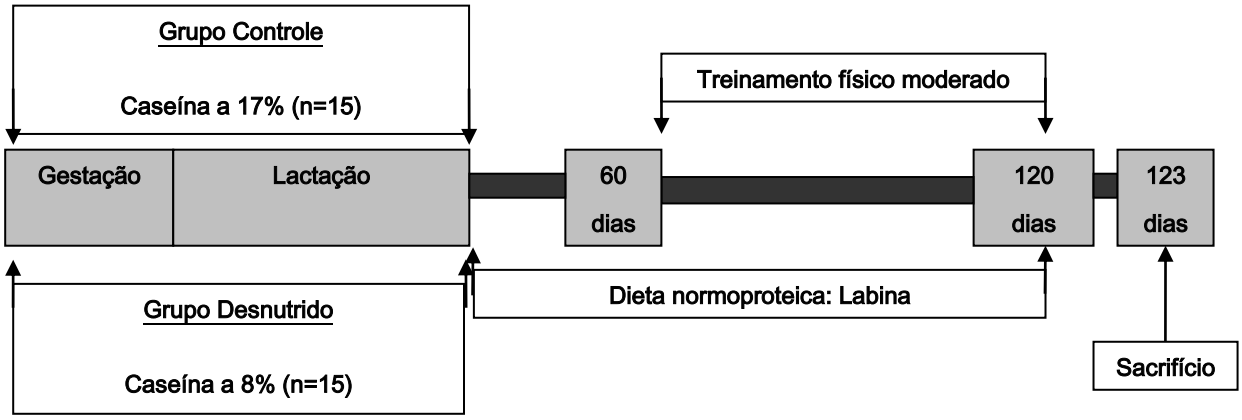


Figura 2: Desenho experimental representando a formação dos diferentes grupos (controle e desnutrido) quanto à manipulação da dieta e do treinamento físico, e o período em que foram sacrificados.

5.3. Métodos de coleta

Coleta dos tecidos para posteriores análises

Todos os animais foram sacrificados via decapitação através do uso de guilhotina e submetidos à remoção do tecido cardíaco *in toto* para as análises morfométricas e bioquímicas.

Avaliação alométrica

Foi realizada através da relação peso do coração (g) /peso do corpo (g): determinada pela divisão do peso do coração pelo peso do corpo do animal no dia do sacrifício (TOSCANO et al., 2008).

Processamento do material para estudo histológico

Após a retirada do tecido cardíaco, os órgãos separados para o estudo morfológico foram lavados com a solução fixadora (formaldeído a 10%) e posteriormente pesados em balança digital (marca AND, modelo HR-200, com sensibilidade até 0,1mg). Em seguida, foi feito um corte transversal no ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração a nível ventricular,

dividindo-se o coração em duas partes que logo em seguida foram, então, fixadas em formaldeído tamponado (fosfatos monobásico e dibásico de sódio) a 10%. Após a fixação, os fragmentos foram processados convencionalmente para microscopia de luz (MICHALANY, 1981) sendo desidratados em bateria crescente de etanol (80º a 100º) em banhos de 30 minutos, diafanizados em xilol, em banhos de 20 minutos e incluídos em parafina. Após a inclusão, foram realizados cortes histológicos transversais do coração, de maneira seriada, ao nível das cavidades ventriculares com espessura de 4 µm, obtidos em micrótomo Leica, RM 2125RT. Em seguida, foram corados em hematoxilina-eosina (HE), montados em Entellan, fotografados e observados em microscópio de luz.

Mensuração da área de secção transversal das células miocárdicas

Para mensuração da área da secção transversal dos cardiomiócitos foram capturadas imagens através de um sistema de captura do microscópio óptico Motic B1-220ASC (objetiva 100X), acoplado a um computador com programa de captação de imagens, Motic Images Plus 2.0. Para tal, foram utilizadas 30 secções transversais de células miocárdicas em cada animal (Figura 3), em campos diferentes obtidos ao acaso, sendo mensurada a área dos miócitos através da técnica de Toscano et al. (2008). Em seguida, foi utilizado o programa ImageJ 1.47t, para histometria.

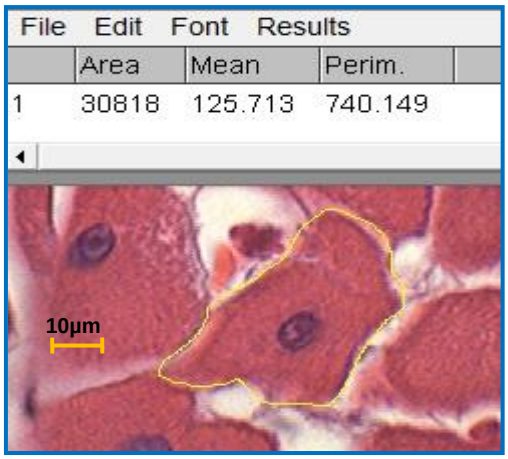


Figura 3. Ilustração da mensuração da área do cardiomiócito pelo programa *Image J 1.47t ®.*

Mensuração da espessura, da área de secção transversal e da área da cavidade do ventrículo esquerdo

As imagens dos cortes histológicos transversais do coração, selecionadas a partir do microscópio óptico, foram capturadas sob papel milimetrado através de um Scanner (marca HP, modelo C4700) acoplado a um computador. Para a mensuração das medidas do ventrículo esquerdo (Figuras 4 A, B,C) foi utilizado o software ImageJ (versão 1.47t for Windows).

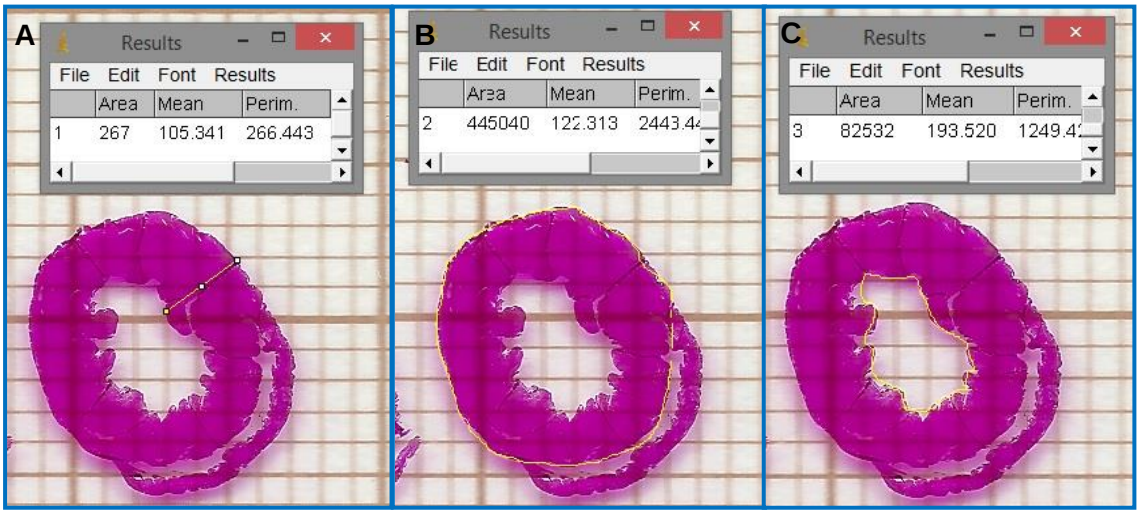


Figura 4. Ilustração do corte histológico transversal digitalizado para mensuração de: **A-** Espessura da parede do VE, **B-** Área de secção transversal do VE; **C-** Área da cavidade do VE pelo programa *ImageJ 1.47t ®.*

Preparo do homogeneizado do tecido cardíaco para utilização nas técnicas bioquímicas

Os tecidos coletados reservados para análise bioquímica foram inicialmente armazenados em freezer -80º C e posteriormente homogeneizados em tampão de extração (Tris base 100 mM, pH 7,5; EDTA 10 mM; ortovanadato de sódio 1 mM; aprotinina 10 ug/mL, PMSF 2 mM). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm, a 4° C, por 10 minutos e os sobrenadantes foram submetidos à quantificação de proteína (NASCIMENTO et al., 2014).

Dosagem de proteína

A concentração de proteína do tecido cardíaco foi determinada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). O princípio do método baseia-se na determinação da concentração da absorbância do complexo proteína-corante. Este complexo absorve em comprimento de onda de 595 nm. A absorbância é considerada diretamente proporcional à concentração de proteína na solução analisada, onde uma solução de BSA (albumina sérica bovina) a 1mg/mL foi utilizada como padrão.

Medida dos níveis de estresse oxidativo pela metodologia da Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege e Aust (1978), sendo uma técnica muito utilizada para avaliar a lipoperoxidação (LPO), pois o ácido tiobarbitúrico reage com os produtos da LPO, entre eles o malondialdeído e outros aldeídos. Onde coloca-se uma alíquota do homogenizado, de ácido tricloroacético a 10% e de Tris-HCl (10 mM, pH 7,4). O material foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, a 4ºC e foi acrescentado um volume de TBA (ácido tiobarbitúrico) igual ao volume do sobrenadante coletado. A mistura foi incubada por 15 minutos a 100ºC e em seguida resfriada. O TBA reage com os produtos da lipoperoxidação formando um composto de coloração rosada. Foi realizada a leitura da absorbância a 535nm, utilizando cubetas de quartzo. Os resultados foram expressos em nmoles de TBARS por mg de proteína.

Atividade enzimática:

a) Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da superóxido dismutase foi avaliada através do método da oxidação da adrenalina, a qual compete com a SOD podendo ser medida em espectrofotômetro a 480nm. Em uma cubeta de quartzo de 1mL, adicionou-se tampão carbonato (0,1M; pH 10,2), amostra e adrenalina (0,03mM). A absorbância

foi registrada por um período de aproximadamente 3 minutos. Os resultados foram expressos em unidade por mg de proteína (MISRA e FRIDOVICH, 1972).

b) Catalase

A atividade da catalase (CAT) é diretamente proporcional à taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio, sendo assim, a atividade da enzima foi medida através da avaliação do consumo de peróxido pelo decréscimo na absorção a 240 nm ([] máx do H_2O_2) de um meio de reação, contendo tampão fosfato (50mM; pH=7,4) e H_2O_2 (0,3µM) . Os resultados foram expressos em unidade por mg de proteína (AEBI, 1984).

5.4. Análise estatística

Os dados foram apresentados em média e desvio padrão (x ± DP). Para comparação dos dados foi utilizado o teste de análise de variância ANOVA *one way* seguido do teste de comparações múltiplas TUKEY. O nível de significância foi mantido em 5% ($p< 0,05$). Toda a análise estatística foi realizada utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 para Windows.

6. RESULTADOS

Peso do coração e relação alométrica:

Em relação ao peso absoluto (g) do coração dos animais nos diferentes grupos, foi observada diferença apenas do grupo Desnutrido Treinado, n= 7 (DT= 1,307± 0,082) em relação aos grupos Controle, n=7 (C= 1,137 ± 0,089) e Desnutrido, n= 8 (D= 1,065±0,128), p<0,05 (Figura 5A). Em contrapartida, não foi observada diferença significativa entre os grupos estudados, no que diz respeito ao peso relativo do coração (relação alométrica) (C = 0,0031 ± 0,0003; D = 0,0035 ± 0,00059; T = 0,0035 ± 0,00008; DT = 0,0035 ± 0,00013), p>0,05, na qual se leva em consideração a razão entre o peso do coração e o peso do animal no dia do sacrifício (Figura 5B).

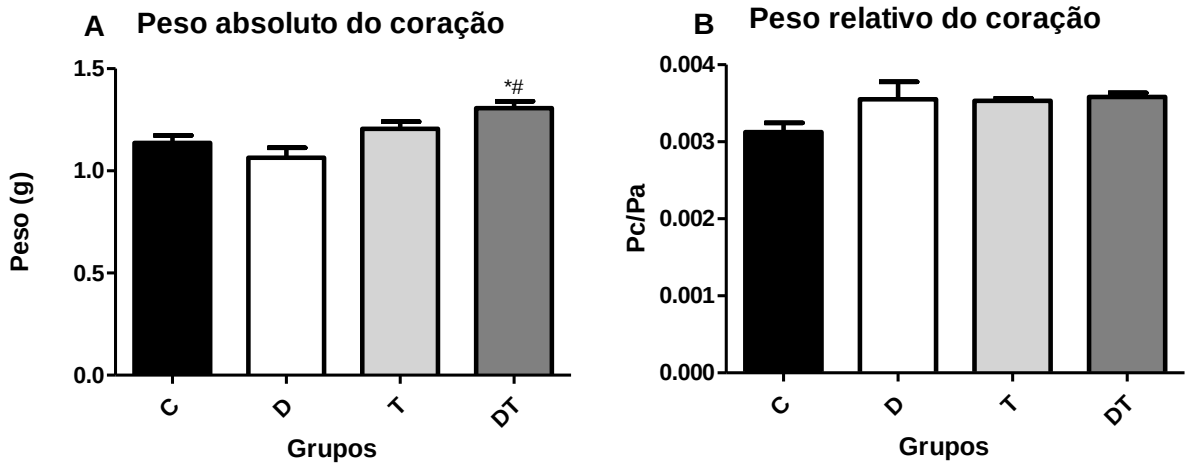


Figura 5. Efeitos da desnutrição precoce e do treinamento físico moderado sobre o peso absoluto (A) e relativo (B) do coração de ratos adultos. Grupos: Controle (C, n=7), Treinado (T, n=8), Desnutrido (D, n=8), e Desnutrido Treinado (DT, n=7). Pc= peso do coração, Pa= peso do animal. Os valores estão expressos em média ± DP. ANOVA one-way, seguido do teste de Tukey. * p<0,05 *vs* C e # p<0,05 *vs* Desnutrido.

Área de secção transversal das células miocárdicas

Os animais do grupo D apresentaram menor área (μm^2) da célula cardíaca (D=132,1±12,51) em relação ao C (203,3±28,67). Já os animais treinados (T=243,8±55,87 e DT=231,1±65,31) apresentaram maior área celular em comparação ao grupo D, p<0,05 (Figura 6).

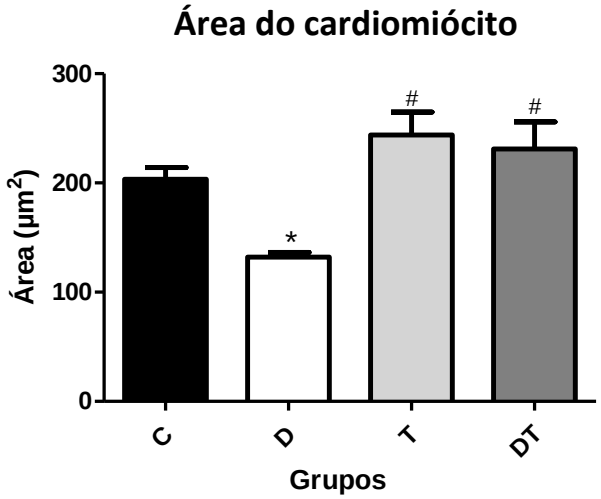


Figura 6. Efeitos da desnutrição precoce e do treinamento físico moderado sobre a área de secção transversal da célula cardíaca de ratos adultos. Grupos: Controle (C, n=7), Treinado (T, n=8), Desnutrido (D, n=8), e Desnutrido Treinado (DT, n=7). Os valores estão expressos em média ± DP. ANOVA one-way, seguido do teste de Tukey. * p<0,05 *vs* C e # p<0,05 *vs* Desnutrido.

Espessura, área de secção transversal e área da cavidade do ventrículo esquerdo

Em relação à espessura (mm) do ventrículo esquerdo (VE), os animais submetidos à desnutrição perinatal apresentaram menores valores da parede (D=1,770±0,178) quando comparados aos controles (C=2,255±0,175), p<0,05 (Figura 7A). Já nos grupos que realizaram o treinamento físico houve aumento significativo da espessura do VE (T=2,382±0,165 e DT=2,410±0,106) quando comparados ao grupo D, p<0,05. Resultado semelhante foi observado na área (mm^2) de secção transversal do VE. Onde houve redução no grupo D (42,36±7,64) em relação ao C (53,10±3,51) e aumento da área do VE dos grupos T (50,84±4,37) e DT (54,48±5,53) em relação ao D, p<0,05 (Figura 7B). O treinamento físico também aumentou significativamente a área da cavidade do VE (T= 11,07±1,345 e DT= 10,83±1,893) em relação aos demais grupos (C=8,177±1,396 e D=8,124±1,467), p<0,05 (Figura 7C).

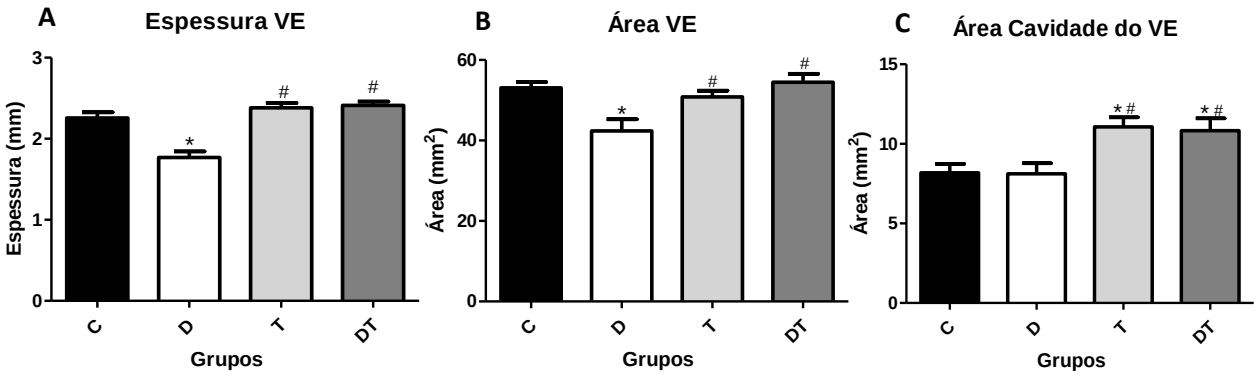


Figura 7. Efeitos da desnutrição precoce e do treinamento físico moderado sobre a espessura do VE (A), área de secção transversal do VE (B) e área de secção da cavidade do VE de ratos adultos (C). Grupos: Controle (C, n=7), Treinado (T, n=8), Desnutrido (D, n=8), e Desnutrido Treinado (DT, n=7). Os valores estão expressos em média ± DP. ANOVA one-way, seguido do teste de Tukey. * p<0,05 *vs* C e # p<0,05 *vs* Desnutrido.

Níveis de peroxidação lipídica:

A desnutrição perinatal assim como o treinamento físico moderado realizado na fase adulta aumentou os níveis de peroxidação lipídica (D = 6,43 ± 2,02 e T=6,63 ± 2,18) comparados ao C (3,85 ± 1,26) e diminuiu o nível de LPO no grupo DT (3,76 ± 1,02) comparado aos grupos D e T, *p*< 0,05 (Figura 8).

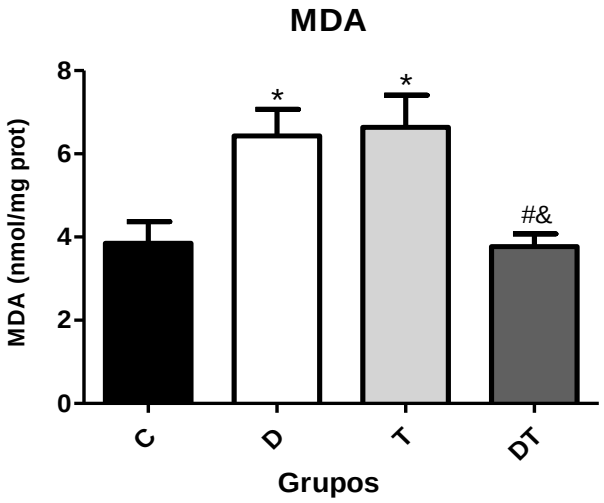


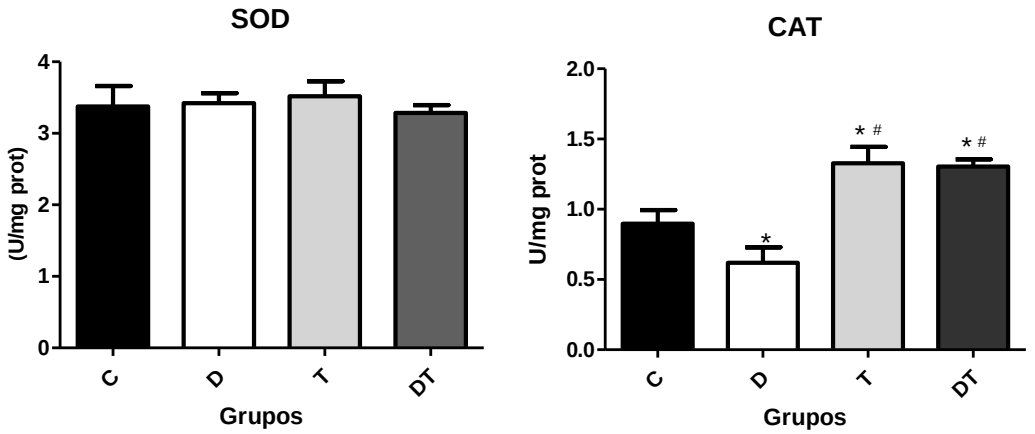
Figura 8. Efeitos da desnutrição precoce e do treinamento físico moderado sobre o nível de peroxidação lipídica de ratos adultos. Grupos: Controle (C,n=8), Desnutrido (D,n=8), Treinado (T,n=7), e Desnutrido Treinado (DT,n=8). Os valores estão expressos em média ± DP. ANOVA one-way, seguido do teste de Tukey.* *p*<0,05 *vs* Controle; # *p*<0,05 *vs* Desnutrido; & *p*<0,05 *vs* Treinado.

Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD):

Os níveis de SOD mantiveram-se inalterados entre todos os grupos (C= 3,25 ± 0,83; T= 3,52 ± 0,21; D=3,42 ± 0,14; DT=3,17 ± 0,22, *p* >0,05). O treinamento físico moderado não exerceu influência a ponto de demonstrar diferença estatisticamente significante entre os animais (Figura 9A).

Atividade da enzima catalase (CAT):

Por outro lado, a submissão à dieta hipoproteica no período crítico de desenvolvimento, mesmo após recuperação nutricional promoveu uma redução nos níveis de atividade da CAT (D=0,53 ± 0,19) dos animais quando comparados aos controles (C=0,89 ± 0,23). Porém, o treinamento aumentou a atividade da CAT nos grupos T (1,32 ± 0,29) e DT (1,30 ± 0,12) em relação aos grupos C (0,89 ± 0,23) e D (0,53 ± 0,19) *p* <0,05 (Figura 9B).



1. **Figura 9.** Efeitos de 8 semanas de treinamento físico moderado sobre atividade das enzimas antioxidantes Superóxido dismutase (A) e Catalase (B) em animais que foram submetidos à desnutrição proteica perinatal. Grupos: Controle (C,n=8), Desnutrido (D,n=8), Treinado (T,n=7) e Desnutrido Treinado (DT,n=8). Valores expressos em média ± DP. ANOVA one-way, seguido do teste de Tukey. * *p*<0,05 *vs* Controle. # *p*<0,05 *vs* Desnutrido.

7. DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi analisado o efeito do treinamento físico moderado e da restrição proteica perinatal no balanço oxidativo e na morfometria de alguns aspectos cardíacos em ratos adultos da linhagem *Wistar*.

Sabe-se clinicamente que entre as várias formas de desnutrição, a desnutrição proteico-calórica é a mais comum e é referida como desnutrição crônica (MUZI-FILHO et al., 2013). Estudos experimentais têm documentado exemplos de plasticidade durante o desenvolvimento, demonstrando que alterações na nutrição perinatal podem ter efeitos a longo prazo na descendência, que são relevantes para o possível desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GODFREY e BARKER, 2000).

Em nosso trabalho, quando medido o peso absoluto do coração dos animais nos diferentes grupos, foi observado aumento do peso nos animais treinados (T e DT). Porém essa diferença foi significativa apenas entre o grupo Desnutrido Treinado em relação aos grupos Controle e Desnutrido, mostrando que o treinamento físico resultou em um provável aumento significativo de massa cardíaca (hipertrofia) desses animais. Entretanto, não se pode dizer que houve uma recuperação da perda de peso do órgão causado pela carência nutricional em estágio precoce da vida, visto que não houve redução do peso do órgão nos animais desnutridos. Já a razão entre o peso do coração com o peso corporal (relação alométrica), realizado no dia do sacrifício, não apresentou diferença significativa entre os grupos, corroborando com experimentos anteriores (VENDITTI e DI MEO, 1996; CORSTIUS et al., 2005; GUN-SOO HAN, 2013), no qual houve redução e aumento do peso do coração proporcional ao peso corporal dos animais desnutridos e treinados, respectivamente. Ocorrendo então, um paralelismo entre o peso corporal e o peso do coração do animal (CORSTIUS et al., 2005).

A área de secção transversal dos cardiomiócitos foi utilizada como um indicador de tamanho da célula. O presente estudo encontrou redução (de 35%) da área dos cardiomiócitos dos animais do grupo desnutrido (D) quando comparados a dos animais do grupo controle (C), sugerindo uma hipotrofia dessas células devido à desnutrição imposta. Dados semelhantes foram demonstrados por Fioretto et al.

(2002), onde ratos que foram submetidos à desnutrição proteico-calórica perinatal também apresentaram diminuição da área de secção transversal de seus cardiomiócitos. Sendo associado a uma possível diminuição na síntese de componentes miofibrilares, e/ou um aumento no catabolismo proteico miofibriliar (FIORETTO et al., 2002). Já os animais submetidos ao treinamento físico (T e DT) apresentaram maior área (aumento de 84,5% e 75%, respectivamente) de secção transversal de suas células cardíacas quando comparada aos animais desnutridos. Isso significa que o treinamento de intensidade moderada foi capaz de reverter a inibição de crescimento celular provocada pela desnutrição, onde o aumento dos cardiomiócitos foi devido à síntese de novas proteínas contráteis e à adição de sarcômeros, aumentando assim a força contrátil por célula (WAKATSUKI, SCHLESSINGER, ELSON, 2004). Além disso, em estudo anterior, Sadoshima e Izumo (1997) constataram que tanto a sobrecarga de pressão no coração quanto o alongamento dos cardiomiócitos *in vitro* são capazes de ativar os sinais de crescimento, tais como o sistema renina-angiotensina, que levam à hipertrofia celular. Ou seja, a angiotensina II quando liberada em resposta ao estiramento ou aplicada diretamente às células, induz uma resposta hipertrófica dos cardiomiócitos (WAKATSUKI, SCHLESSINGER, ELSON, 2004). A hipertrofia, portanto, foi uma adaptação benéfica dos cardiomiócitos a um aumento do estresse, neste caso, sobrecarga de volume, na parede cardíaca causada pelo treinamento (WAKATSUKI, SCHLESSINGER e ELSON, 2004).

Em relação à espessura do ventrículo esquerdo (VE), em nosso trabalho, os animais submetidos à desnutrição perinatal apresentaram menores valores da parede quando comparados aos controles (diminuição de 21,5%). Já nos grupos que realizaram o treinamento físico houve aumento significativo da espessura do VE quando comparados ao grupo desnutrido (aumento de 34% do grupo T em relação ao D e de 36% do grupo DT em relação ao D).

O treinamento físico é associado a aumentos estatisticamente significativos nas dimensões cardíacas em comparação com indivíduos sedentários (RAWLINS, BHAN e SHARMA, 2009). Scharhag et al., 2002, observaram hipertrofia ventricular em atletas que praticavam exercícios aeróbicos, como corrida, ciclismo e natação; representando a hipertrofia, portanto, uma adaptação estrutural e funcional para o

exercício regular aeróbico, sendo fisiológica e um fenômeno bem documentado. Um aumento no tamanho cardíaco é fundamental para a capacidade de gerar um maior volume sistólico (RAWLINS, BHAN, e SHARMA, 2009). Este tipo de adaptação induzido pelo exercício físico, denominado hipertrofia fisiológica, pode ser considerado como resposta compensatória a esta sobrecarga de volume crônica e é caracterizada por ser uma hipertrofia excêntrica (MIYACHI et al., 2009). Por este meio, novos sarcômeros foram adicionados em série aos sarcômeros existentes. (MIHL; DASSEN; KUIPERS, 2008).

Resultado semelhante à espessura do VE foi observado na área de secção transversal do mesmo. Onde houve redução de 20,2% da área no grupo submetido à desnutrição e aumento de 20% no grupo T e de 28,6% da área do VE do grupo DT em relação ao grupo desnutrido. Sabe-se que a nível celular, tanto a desnutrição durante período perinatal quanto o treinamento físico moderado alteram as células cardíacas. A desnutrição reduz, consequentemente, a área do coração, mesmo após a recuperação nutricional, assim foi observado também por Toscano et al. (2008) em seus experimentos com ratos. O treinamento físico moderado, por sua vez, ao induzir a hipertrofia de células cardíacas, também contribui para o remodelamento cardíaco aumentando, neste caso, as dimensões do coração (PLUIM et al., 2000).

Foi observado um aumento de 35,3% da área da cavidade cardíaca do grupo T em relação ao grupo C e 36,3% em relação ao grupo D, assim como um aumento de 32,4% do grupo DT em relação ao grupo C e 33,3% em relação ao grupo D. O tamanho da cavidade ventricular esquerda é o discriminador mais importante entre hipertrofia ventricular esquerda (HVE) fisiológica e hipertrofia patológica. Quase todos os indivíduos com HVE fisiológica tem aumento concomitante da cavidade ventricular esquerda (RAWLINS, BHAN e SHARMA, 2009). Exercícios dinâmicos impõem uma carga de volume no ventrículo esquerdo (MIHL, DASSEN e KUIPERS, 2008), consequentemente, o coração precisa se adaptar à carga de volume e de pressão impostas, e para isso reage aumentando seu diâmetro interno e a espessura da parede ventricular esquerda (PLUIM et al., 2000), caracterizando uma hipertrofia excêntrica (MIHL, DASSEN e KUIPERS, 2008).

Em nossos resultados, observamos, portanto, uma hipertrofia fisiológica decorrente do treinamento físico crônico e de intensidade moderada, visto que todos

os animais treinados apresentaram aumento da cavidade proporcional ao aumento da área e espessura do VE.

Estudos anteriores mostraram que na desnutrição há excesso de produção de intermediários reativos de oxigênio, como o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH^-), oxigênio singlet e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GHONE et al., 2013). Além disso, a privação de proteína, realizada em experimentos com ratos, também demonstrou reduzir a eficiência do sistema de defesa celular antioxidante em órgãos como o coração, por exemplo (TOUYZ, 2000). O resultado deste desequilíbrio entre ERO's e sistema antioxidante é o que se chama de estresse oxidativo.

As defesas antioxidantes, responsáveis por restabelecer o equilíbrio permitem ao organismo tolerar o estresse oxidativo leve e moderado; a presença de desnutrição rompe este equilíbrio e provoca estresse grave, com alterações do metabolismo celular, lesão do DNA e dos transportadores de íons das membranas, elevação de cálcio e ferro ionizados e danos na membrana celular, causando modificações na sua fluidez, permeabilidade e integridade (peroxidação lipídica) (LEITE e SARNI, 2003).

A consequência mais estudada do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica, resultando na formação de vários produtos, entre eles o malondialdeído (MDA) (JAIN et al., 2008). Para a avaliação desse evento, o método mais frequentemente utilizado é a medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (LEITE E SARNI, 2003).

No presente trabalho foi observado que tanto a desnutrição quanto o treinamento físico moderado, agindo de maneira isolada, foram capazes de aumentar os níveis de peroxidação lipídica.

Argumenta-se pela teoria proposta por Golden e Ramdath (1987) que nas formas clínicas de desnutrição haveria desequilíbrio entre a produção de ERO's e sua eliminação. Esse desequilíbrio na eliminação poderia ser explicado pela diminuição das defesas antioxidantes, que ocorre durante a desnutrição (GOLDEN e RAMDAT, 1987), o que justificaria os maiores níveis de MDA no grupo dos animais desnutridos. Já em estudos envolvendo crianças de até 6 anos, que sofreram comprovadamente desnutrição proteico-calórico também apresentaram níveis

séricos de MDA significativamente maiores que as do grupo controle (JAIN et al., 2008; GHONE et al., 2013). Outro trabalho com humanos, ao estudar recém-nascidos PIG (pequenos para idade gestacional) desnutridos durantes período perinatal, também encontrou níveis de MDA significativamente mais elevados em comparação com os controles (GUPTA et al., 2004). Ao passo que a atividade de enzimas antioxidantes, como a catalase, foi significativamente mais baixa nesses mesmos recém-nascidos PIG.

Em contrapartida, o treinamento físico na fase adulta dos mesmos animais submetidos à desnutrição neste trabalho foi capaz de diminuir os níveis de peroxidação lipídica, resultado semelhante ao do trabalho de Filaire et al., (2009), onde animais submetidos a treinamento voluntário e restrição alimentar apresentaram menores níveis de MDA.

Em nosso trabalho, não foi observado alteração nos níveis de atividade da SOD em todos os grupos estudados, resultado este observado também por outros autores ao utilizar atividade física (FILAIRE et al., 2009; BAYOD et al., 2012) ou restrição alimentar (FRANCO et al., 2007).

A superóxido dismutase representa "a primeira linha" de enzimas antioxidantes, por ser responsável pela transformação do superóxido em peróxido de hidrogênio, que então pode ser clivado para H_2O por diversos sistemas de peróxido de hidrogênio, como a catalase, por exemplo (RICHTERS et al., 2011). O que pode justificar a inalteração dos níveis da enzima em nosso estudo, o que seria uma tentativa do sistema de defesa de poupar o coração dos efeitos do estresse oxidativo, aumentando o nível da SOD nos animais desnutridos. Neste caso, pode ser apropriado dizer que a atividade de SOD em ratos desnutridos pode refletir a exposição crônica e adaptação das células ao estresse oxidativo (AKINOLA, OGUNTIBEJU, ALABI, 2010).

Por outro lado, a atividade da CAT demonstrou redução no grupo D em relação ao grupo C. A desnutrição proteica leva consequentemente à deficiência de alguns aminoácidos que estão envolvidos na síntese de proteínas, incluindo as enzimas antioxidantes (FANG, YANG, WU, 2002), o que justificaria o fato da CAT atuar menos nos animais desnutridos. A CAT apresentou aumento nos grupos T e DT, em relação aos demais. Resultado semelhante foi observado no trabalho de

Husain e Hazelrigg (2002), onde animais adultos submetidos a treinamento moderado por 8 semanas em esteira, também apresentaram aumento da atividade da enzima catalase quando comparados aos seus respectivos controles. O que indica o condicionamento oxidativo do coração para se livrar do excesso de ERO's gerado durante o exercício (HUSAIN e HAZELRIGG, 2002).

Estes resultados sugerem que o exercício, quando realizado com intensidade moderada e regularmente, leva a um aumento das defesas do tecido cardíaco contra os danos das ERO's (VENDITTI e DI MEO, 1996). A elevação dos níveis de enzimas antioxidantes aumenta a capacidade antioxidante mitocondrial, sendo um mecanismo potencial para explicar porque o treinamento físico protege o coração contra os danos oxidativos e possíveis prejuízos funcionais (LEE et al., 2012).

Existem estudos que indicam que o estresse oxidativo cardíaco ocorre no miocárdio durante a progressão da remodelação cardíaca (RICHTERS et al., 2011; SCHWARZ et al., 2013), sendo um dos mecanismos a lipoperoxidação da membrana celular, o que pode levar à insuficiência crônica do órgão devido aos mecanismos oxidativos (BERGAMINI et al., 2009; TSUTSUI; KINUGAWA; MATSUSHIMA, 2011). Sabe-se ainda que situações de estresse, como uma desnutrição em períodos críticos ou atividade física quando realizada intensamente, podem induzir um aumento dos produtos da peroxidação lipídica do miocárdio (MDA e hidroperóxidos), suportando a hipótese de que aumenta o estresse oxidativo e este, por sua vez, induz lesões estruturais nos cardiomiócitos (VENDITTI e DI MEO, 1996), o que consequentemente resultará em alterações morfológicas do órgão como um todo. No entanto, o treinamento moderado regular resulta em adaptações na capacidade antioxidante, as quais protegem as células contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo, prevenindo danos celulares subsequentes (AGUILÓ et al., 2003). A prática regular de exercícios físicos leva a uma série de adaptações morfofisiológicas no organismo (OSBORNE et al., 1992), dentre elas, as referentes ao sistema cardiovascular, para suprir a nova demanda metabólica durante a prática da atividade física (BRUM *et al*, 2004; AHMADIASL et al., 2012). Diante do que foi exposto, pode-se observar o papel fundamental do treinamento físico de intensidade moderada no coração dos ratos em nosso estudo, visto que os mesmos

apresentaram alterações morfológicas benéficas simultaneamente às alterações bioquímicas que representaram uma maior atividade do sistema antioxidante no tecido cardíaco. O que nos leva a propor, que conjuntamente com outras estratégias, o exercício pode ser utilizado como medida preventiva e terapêutica, particularmente, na área da medicina cardiovascular (ASCENSÃO et al., 2003; RADAK; CHUNG; GOTO, 2008).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os resultados do presente trabalho demonstram que tanto a nutrição hipoproteica no período crítico de desenvolvimento quanto o treinamento físico moderado na fase adulta não foram capazes de promover alteração no peso do coração dos animais em relação ao peso corporal.
- A desnutrição provocou alterações histométricas e morfológicas no tecido cardíaco, isso pôde ser notado através da menor área da célula cardíaca, e consequentemente menor espessura da parede do ventrículo esquerdo e da área de secção transversal do coração. Além disso, a submissão a uma dieta hipoproteica também resultou em redução da atividade da enzima antioxidante catalase, e aumento dos níveis de peroxidação lipídica.
- Por outo lado, o treinamento físico moderado resultou em alterações benéficas, como aumento da área dos cardiomiócitos, seguido de hipertrofia ventricular fisiológica e aumento da cavidade do ventrículo esquerdo nos animais desnutridos. Além disso, observou-se também que nos animais desnutridos submetidos ao protocolo de treinamento houve redução dos níveis de MDA e aumento da atividade da enzima catalase. O que pode significar que o treinamento físico moderado na vida adulta pode reverter danos celulares no coração provenientes de um insulto precoce, como a desnutrição proteica no período crítico de desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase. In: Methods in Enzymology. Packer L, editor. **Florida: Academic Press**. v.6, p.105-121, 1984.

AGUILÓ, A. et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterolprofile in cyclists. **Journal of Nutritional Biochemistry.** v.14, p. 319–325, 2003.

AHMADIASL, N., NAJAFIPOUR, H., SOUFI, F.G., JAFARI, A. Effect of short- and long term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. **J Physiol Biochem.** v. 68, n. 1, p. 121-8, Nov 12, 2012.

AKINOLA, F. F., OGUNTIBEJU, O.O., ALABI, O.O. Effects of severe malnutrition on oxidative stress in Wistar rats. **Scientific Research and Essays**. v. 5. n. 10, p.1145-1149, May 18, 2010.

ALVES, A.P., DÂMASO, A.R., DAL PAI, V. The effects of prenatal and postnatal malnutrition on the morphology, differentiation, and metabolism of skeletal striated muscle tissue in rats. **J Pediatr** (Rio J). v. 84, n. 3, p. 264-271, 2008.

ASCENSÃO, A et al. Exercício e Stress Oxidativo Cardíaco. **Rev Port Cardiol.** v. 22, n. 5, p. 651-678, 2003.

BARKER, D. J. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, v.261, n.5, p.412-7, May, 2007.

BAYOD, S. et al. Long-term physical exercise induces changes in sirtuin 1 pathway and oxidative parameters in adult rat tissues. **Experimental Gerontology** v. 47, p.925-935, 2012.

BERGAMINI, C., CICOIRA, M., ROSSI, A., VASSANELLI, C. Oxidative stress and hyperuricaemia: pathophysiology, clinical relevance, and therapeutic implications in chronic heart failure. **Eur J Heart Fail**. v. 11, n. 5, p. 444-52, 2009.

BO et al. Regulation of mitochondrial uncoupling respiration during exercise in rat heart: role of reactive oxygen species (ROS) and uncoupling protein 2. Free Radic Biol Med. v. 44, n. 7, p. 1373-81, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities utilizing the principle of protein dye binding. **Anal Biochem***.* v. 72, p.248-54*.* 1976.

BRUM, P.C., FORJAZ, C. L.M., TINUCCI, T., NEGRÃO, C.E. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. **Rev. paul. Educ. Fís**., São Paulo, v.18, p.21-31, ago. 2004.

BUCKINGHAM, M.; S. MEILHAC; S. ZAFFRAN. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. **Nat Rev Genet**, v.6, n.11, Nov, p.826-35. 2005.

BUEGE, J.A., AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Meth Enzymol**. v.52, p.302-310, 1978.

CAMPOS, J. C., GOMES, K. M. S., FERREIRA, C. B. Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases. **Food and Chemical Toxicology**. v. 62, p. 107–119, 2013.

CARMO, J. C.; PETERS, V. M.; GUERRA, M. O. Cronologia do desenvolvimento embrionário e fetal de ratos, conforme a datação do início da prenhez. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução de Juiz de Fora- MG**, v. 23, p.5-16. 2004.

CHEEMA, K. K. et al. Prenatal exposure to maternal undernutrition induces adult cardiac dysfunction. **British Journal of Nutrition**, v. 93, p. 471–477, 2005.

CORSTIUS, H. B., et al. Effect of intrauterine growth restriction on the number of cardiomyocytes in rat hearts. **Pediatr Res**, v.57, n.6, Jun, p.796-800. 2005.

COUTINHO, J. G., GENTIL, P.C., TORAL, N. A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, Sup 2, p. 332-S340, 2008.

DE ONIS, M.; MONTEIRO, C.; CLUGSTON, G. The worldwide magnitude of protein energy malnutrition: An overview from the WHO global database on child growth. **World Health Organ**. v.71, p.703-712, 1993.

DESAI, I.D. et al. Foods habits and nutritional status of agricultural migrant workers in Southern Brazil. **Am J Clin Nutr,** v**.** 33, p. 702–704. 1980

DOBBING, J. SANDS, J. Cell size and cell number in tissue growth and development. An old hypothesis reconsidered. **Archives Françaises de Pédiatrie**, v.42, n.3, p.199-203, Mar, 1985.

FANG, Y., YANG, S., WU, G. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. **Nutrition**. v.18, p.872-879, 2002.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil.** v.43, n.1, p. 61-8, 1997.

FILAIRE, E. et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in rat: effect of food restriction and wheel running. **European Journal of Applied Physiology**. v.107, p.243-250, 2009.

FIORETTO, J. R., et al. Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.282, n.4, Apr, p.H1327-33. 2002.

FISHER-WELLMAN, K., BELL, H.K., BLOOMER, R.J..Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity.** v.2, n.1, p.43-51; January/February/March 2009.

FOWDEN, A. L.; GIUSSANI, D. A.; FORHEAD, A. J. Intrauterine Programming of Physiological Systems: Causes and Consequences**. Physiology,** v. 21, p. 29–37, 2006.

FRANCO et al. NADPH oxidase an enhanced superoxide generation in the intrauterine undernourished rats: involvement of the renin–angiotensin system. **Cardiovascular Research**. v. 59, p. 767–775, 2003.

GARCIA-MARTINEZ, V; SCHOENWOLF, G. C. Primitive-streak origin of the cardiovascular system in avian embryos. **Dev Biol.** v.59, n.2, Oct, p. 706-19, 1993.

GHONE, R. A. et al. A Study of Oxidative Stress Biomarkers and Effect of Oral Antioxidant Supplementation in Severe Acute Malnutrition. **Journal of Clinical and Diagnostic Research.** v.7, n.10, Oct, p.2146-2148. 2013.

GIANINI, N. M.; A. A. VIEIRA; M. E. MOREIRA. Evaluation of the nutritional status at 40 weeks corrected gestational age in a cohort of very low birth weight infants. **J Pediatr** (Rio J), v.81, n.1, Jan-Feb, p.34-40. 2005.

GLUCKMAN, P. D.; **HANSON**, M. A. Developmental origins of disease paradigm: A mechanistic and evolutionary perspective. **Pediatric Research**. v. 56, n. 3, p. 311-17, 2004.

GIUSSANI, D. A. et al. Developmental Programming of Cardiovascular Dysfunction by Prenatal Hypoxia and Oxidative Stress. **PLoS One.** v.7, n. 2, 2012.

GODFREY, K. M., BARKER, D. J. P. Fetal nutrition and adult disease **American Society for Clinical Nutrition.** v.71, p.2000. 711344S–52S (suppl), 2000.

GOLDEN, M. H. N., RAMDATH, D. Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor. **Proceedings ofthe Nutrition Society**. v.46, p.53-68, 1987.

GOTO, C. et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium dependent nitric oxide and oxidative stress. **Circulation**. v.108, n.5, p. 530-5, Jul 21, 2003.

GUPTA, P. et al. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. **BMC Pediatrics.** v.14, n.4, 2004.

HAN, G. Endurance Exercise Effects on Cardiac Hypertrophy in Mice. **Journal of Physical Therapy Science.** v. 25, 1525-1527, 2013.

HUANG, C. J. et al. Cardiovascular reactivity, stress, and physical activity. **Frontiers Physiology**. v. 7, n. 4, p. 314, Nov, 2013.

HUSAIN, K., HAZELRIGG, S. R. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: effect of regular exercise on the heart. **Biochimica et Biophysica Acta.** v. 1587, p. 75– 82, 2002.

JAIN, A. et al. Serum zinc and malondialdehyde concentrations and their relation to total antioxidant capacity in protein energy malnutrition. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. v.54, p.392-395, 2008.

KEMMLER, W. et al. Exercise decreases the risk of metabolic syndrome in elderly females. **Med Sci Sports Exerc**, v.41, n.2, Feb, p.297-305. 2009.

KOURY, J.C., DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev Nutr**. v. 16, n. 4, p. 433-41, 2003.

LEANDRO et al. A Program of Moderate Physical Training for Wistar Rats Based on Maximal Oxygen Consumption. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 21, n. 3, p. 751–756, 2007.

LEANDRO et al. Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte.** v. 13, n. 5, p.1-6, Set /Out, 2007.

LEE, Y. et al. Exercise Protects Cardiac Mitochondria against Ischemia–Reperfusion Injury. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. v.44, n.3, Mar., p. 397-405, 2012.

LEITE,H. P., e SARNI, R. S. Radicais livres, anti-oxidantes e nutrição. **Revista brasileira de nutrição clínica.** v.18, n.2, p.87-94. 2003.

LI, Z.Y., YANG, Y., MING, M., LIU, B. Mitochondrial ROS generation for regulation of autophagic pathways in cancer. **Biochem Biophys Res Commun**. v.414, n.1, p.5-8. 2011.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. **Ciba Found Symp**, v.156, p.38-50; discussion 50-5. 1991.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v.62, n.4A, Nov, p.609-14, 2002.

MICHALANY, J. Técnica histológica em anatomia patológica. 3. ed. São Paulo: EPU, 295p.1981.

MIHL, C., DASSEN, W.R.M., KUIPERS,H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. **Netherlands Heart Journal**,v. 16, n. 4, April, 2008.

MISRA, H.P., FRIDOVICH, I. The purification and properties of superoxide dismutase from Neurospora crassa. **J. Biol. Chem**. v.247, n.11, p. 3410-14, Jun,1972.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.;GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.26, n.4, p.471-83, 2002.

MIYACHI, M. et al. Exercise Training Alters Left Ventricular Geometry and Attenuates Heart Failure in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. **Hypertension**. v. 53, n. 4, p. 701-7, 2009.

MUZI-FILHO, H. et al. Undernutrition Affects Cell Survival, Oxidative Stress, Ca2+ Handling and Signaling Pathways in Vas Deferens, Crippling Reproductive Capacity, **Plos One.** v. 8, p.7, 2013.

NASCIMENTO, L. et al. The effect of maternal low-protein diet on the heart of adult-offspring: Role of mitochondria and oxidative stress**. Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**. Aceito para publicação, 2014.

OSBORNE, G.; WOLF, L.A.; BURGGRAF, G.W.; NORMAN, R. Relationships between cardiac dimensions, anthropometric characteristics and maximal aerobic power (VO2max) in young men. **International Journal of Sports Medicine**, v.13, n.3, Apr, p.219-24, 1992.

OTANI, H. The role of nitric oxide in myocardial repair and remodeling. **Antioxid Redox Signal.** v. 11, n. 8, p. 1913-28, 2009.

PELLICCIA, A.; CULASSO, F.; DI PAOLO,F.M.; Physiologic left ventricular cavity dilatation in elite athletes. **Annals Internal Medicine**, v.130, n.1, Jan 5, p.23-31, 1999.

PENALOZA, D. e J. ARIAS-STELLA. The heart and pulmonary circulation at high altitudes: healthy highlanders and chronic mountain sickness. **Circulation**, v.115, n.9, Mar 6, p.1132-46. 2007.

PINHO, R.A. et al. Coronary heart disease, physical exercise and oxidative stress. **Arq Bras Cardiol**. v.94, n. 4, p. 549-55, Apr, 2010.

PLUIM, B. M., A. H. et al. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation**, v.101, n.3, Jan 25, p.336-44. 2000.

PORRELLO, E. R., R. E. WIDDOP e L. M. DELBRIDGE. Early origins of cardiac hypertrophy: does cardiomyocyte attrition programme for pathological 'catch-up' growth of the heart? **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.35, n.11, Nov, p.1358-64. 2008.

RADAK, Z., CHUNG, H.Y., GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radic Biol Med**. v. 44, n. 2, p. 153-9. 2008.

RADAK, Z. et al. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. **Antioxid Redox Signal.** v. 18, p. 1208–1246, 2013.

RAWLINS, J., BHAN, A., SHARMA,S. Left ventricular hypertrophy in athletes. **European Journal of Echocardiography.** v**.** 10, p.350–356, 2009.

RICHTERS, L. et al. Exercise- induced adaptations of cardiac redox homeostasis and remodeling in heterozygous SOD2-knockout mice. **J Appl Physiol**. v. 111, n. 5, p. 1431-40, 2011.

SADLER, T. W. Susceptible periods during embryogenesis of the heart and endocrine glands. **Environ Health Perspect**, v.108 Suppl 3, Jun, p.555-61. 2000.

SADOSHIMA, J., IZUMO, S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. **Annual Review of Physiology**. v.59, p.551–571, 1997.

SARAIVA, L. R., et al. Kawasaki disease in Pernambuco, Brazil. Considerations on a case seen in a general hospital. **Arq Bras Cardiol**, v.58, n.1, Jan, p.43-6. 1992.

SCHARHAG, J. et al. Athlete’s Heart: right and left ventricular mass and function in male endurance athletes and untrained individuals determined by magnetic resonance imaging. **Journal of the American College of Cardiology**, v.40, n.10, Nov, p. 1856–63, 2002.

SCHNEIDER, C.D., OLIVEIRA, A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte.** v.10, n.10, p.308-13, Jul/Ago, 2004.

SCHWARZ, K. et al. The breathing heart - Mitochondrial respiratory chain dysfunction in cardiac disease. **International Journal of Cardiology.** v.171, n. 2, p. 134-43, 2013.

SIMMONS, R.A., SUPONITSKY-KROYTER, I., SELAK, M.A. Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to beta-cell failure. **J BiolChem**. v. 280, p. 28785-28791, 2005.

TOSCANO, A. E., et al. Do malnutrition and fluoxetine neonatal treatment program alterations in heart morphology? **Life Sci**, v.82, n.21-22, May 23, p.1131-6. 2008.

TOUYZ, R. M. Oxidative Stress and Vascular Damage in Hypertension. **Current Hypertension Reports.** v**.** 2, p.98–105, 2000.

TSUTSUI, H., KINUGAWUA, S, MATSUSHIMA, S. Oxidative stress and heart failure. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v. 301, n.6, p. 2181-90, 2011.

VENDITTI, P., DI MEO, S. Antioxidants, Tissue Damage, and Endurance in Trained and Untrained Young Male Rats. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v.331, n. 1, p. 63–68, July 1, 1996.

VICKERS, M. H. et al. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** v. 279, p. 83–87, 2000.

VON HAEHLING, et al. Elevated levels of asymmetric dimethylarginine in chronic heart failure:a pathophysiologic link between oxygen radical load and impaired vasodilator capacity and the therapeutic effect of allopurinol. **Clin Pharmacol Ther**. v. 88, n. 4, p. 506-12, 2010.

WAKATSUKI, T., SCHLESSINGER, J., ELSON, E.L. The biochemical response of the heart to hypertension and exercise. **Biochemical Sciences.** v.29, n.11, p. 609-617, 2004.

WANG, X., MICHAELIS, E. K. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. **Frontiers in Aging Neuroscience.** v. 2, n. 2, 2010.