

MARINA DE PAIVA LEMOS

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ADMINISTRAÇÃO DE
DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA) E TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO SOBRE PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E CONTROLE
AUTÔNOMICO CARDIOVASCULAR EM RATOS *WISTAR***

UBERABA

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

Marina de Paiva Lemos

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ADMINISTRAÇÃO DE
DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA) E TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO SOBRE PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E CONTROLE
AUTÔNOMICO CARDIOVASCULAR EM RATOS *W1STAR***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, área de concentração “Educação Física, Esporte e Saúde” (Linha de pesquisa: Exercício físico, Ajustes e Adaptações Neuromusculares, Cardiorrespiratórias e Endócrino-metabólicas), da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Dr. Octávio Barbosa Neto

UBERABA

2017

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

L578a Lemos, Marina de Paiva
Associação entre administração de dehidroepiandrosterona (DHEA) e
treinamento físico aeróbio sobre parâmetros hemodinâmicos e controle auto-
nômico cardiovascular em ratos *wistar*/ Marina de Paiva Lemos. -- 2017.
75 f. : il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Educação Física) -- Universidade Federal do
Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017

Orientador: Prof. Dr. Octávio Barbosa Neto

1. Educação física e treinamento. 2. Doenças cardiovasculares. 3. Frequên-
cardíaca. 4. Sulfato de desidroepiandrosterona. 5. Barorreflexo. I. Barbosa
Neto, Octávio. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 613.71

**ASSOCIAÇÃO ENTRE ADMINISTRAÇÃO DE
DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA) E TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO SOBRE PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E CONTROLE
AUTONÔMICO CARDIOVASCULAR EM RATOS Wistar**

Marina de Paiva Lemos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, área de concentração “Educação Física, Esporte e Saúde” (Linha de pesquisa: Exercício físico, Ajustes e Adaptações Neuromusculares, Cardiorrespiratórias e Endócrino-metabólicas), da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Aprovada em 29 de Março de 2017

Banca Examinadora:

Dr. Octávio Barbosa Neto – Orientador
Universidade Federal do Triângulo Mineiro/ UFTM

Dra. Rosangela Soares Chriguer
Universidade Federal de São Paulo/ UNIFESP

Dr. Tony de Paiva Paulino
Universidade Federal do Triângulo Mineiro/ UFTM

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, por ser minha fortaleza, autor do meu destino e socorro presente nas horas de angústia.

Ao professor **Dr. Octávio Barbosa Neto**, que por meio de seus conhecimentos me orientou com paciência e compreensão. Agradeço, por confiar este estudo em minhas mãos e por auxiliar no meu crescimento científico e pessoal.

Ao **professor Dr. Valdo José Dias da Silva**, por ceder o laboratório de Fisiologia para que eu pudesse executar a pesquisa experimental. Aos **técnicos do laboratório** de Fisiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro-UFTM pela competência profissional e a disposição em ajudar.

Aos demais colaboradores desse projeto: **Vanessa e Izabela**, que dedicaram seu tempo e esforço para ajudar ao longo dos experimentos. Sem a ajuda de vocês, esse trabalho dificilmente chegaria ao fim. O meu sincero muito obrigada!

A **todos os professores** do programa de pós-graduação em Educação Física da UFTM, pelo compartilhamento do conhecimento que muito ajudou no meu crescimento.

A **CAPES**, pela concessão da bolsa de mestrado, que foi essencial para o desenvolvimento do trabalho.

A minha **mãe Delma Cristina de Paiva Lemos**, meu **pai José Maria Lemos Júnior** e minha **irmã Fernanda de Paiva Lemos**, por serem meus exemplos de solidariedade e companheirismo. Obrigada por me ensinar o verdadeiro valor da vida, por compreenderem a minha ausência e apoiarem minhas decisões. Eu amo vocês incondicionalmente!

As minhas **amizades antigas**, que mesmo que distantes fisicamente se mostraram presente, me apoiando e me incentivando a querer chegar ao fim. Amizades verdadeiras é aquela que nem o tempo e a distância conseguem enfraquecer.

A todos meu **familiares e amigos** que contribuíram direta ou indiretamente durante essa jornada, que torceram, vibraram e recarregaram minhas energias para eu pudesse chegar até o fim.

A todos vocês meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Dehidroepiandrosterona (DHEA) e seu éster sulfatado (DHEAS) diminuem suas concentrações séricas com a idade e estudos expuseram uma forte associação entre estas concentrações e a ocorrência de doenças cardiovasculares. O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação entre administração crônica da DHEA com a função autonômica cardiovascular e sua interação com o treinamento físico em ratos *Wistar*. Para execução do trabalho, 32 ratos (± 18 semanas de idade) foram submetidos ou não a administração de DHEA, como também participação ou não em um protocolo de natação por oito semanas consecutivas resultando em quatro grupos experimentais: grupo controle sedentário (GCS, n =8), grupo controle treinado (GCT, n=8), grupo DHEA sedentário (GDS, n =8) e grupo DHEA treinado (GDT, n =8). Pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC), variabilidade da FC (VFC) e variabilidade da PA sistólica (VPAS) e diastólica (VPAD) no domínio do tempo e da frequência foram registrados em condições basais. Em seguida, foi realizado o teste de sensibilidade barorreflexa e tônus autonômico cardíaco. Além disso, foram medidas concentrações de óxido nítrico (NO) e pesagem do músculo cardíaco, como também da gordura epididimal, retroperitoneal e visceral. Nos resultados, encontramos um menor ganho de massa corporal no GDS e menores valores de gordura epididimal, retroperitoneal e visceral em relação aos outros grupos ($p < 0,05$). A VFC foi maior no GDS em comparação ao GCS, associado a valores de HF normalizados maiores ($p < 0,05$). A VPA foi menor no GDS em comparação aos demais grupos, associado a valores de LF reduzidos ($p < 0,05$). Além disso, efeito simpático (ES) foi menor no GDS em relação aos GCS e GCT ($p < 0,05$). Concentrações de NO cardíaco foram maiores no GDS em relação ao GDT ($p < 0,05$). Dessa forma, concluímos que a administração crônica DHEA isolada está relacionada com a melhora da função cardíaca, desencadeando uma redução da FC e um incremento da atividade parassimpática cardíaca e diminuição da variância da VPA, entretanto, o treinamento físico combinado com a administração não foi capaz de potencializar esses efeitos.

Palavras-chave: Dehidroepiandrosterona. Sensibilidade Barorreflexa. Modulação Autonômica Cardiovascular. Variabilidade da Frequência Cardíaca. Treinamento Físico.

ABSTRACT

Dehydroepiandrosterone (DHEA) and its sulfated ester (DHEAS) decrease serum concentrations with age and studies have shown a strong association between these concentrations and the occurrence of cardiovascular diseases. The aim of the present study was to evaluate the association between chronic administration of DHEA with cardiovascular autonomic function and its interaction with physical training in Wistar rats. To perform the work, 32 rats (\pm 18 weeks of age) underwent or not DHEA administration, as well as participation or not in a swimming protocol for eight consecutive weeks resulting in four experimental groups: sedentary control group (GCS, n = 8), trained control group (GCT, n = 8), sedentary DHEA group (GDS, n = 8) and trained DHEA group (GDT, n = 8). Blood pressure (BP), heart rate (HR), HR variability (HRV), and systolic (DBPV) and diastolic (DBPV) variability in time and frequency were recorded at baseline. Then, the baroreflex sensitivity and cardiac autonomic tonus test were performed. In addition, concentrations of nitric oxide (NO) and cardiac muscle weights, as well as epididymal, retroperitoneal and visceral fat were measured. In the results, we found a lower body mass gain in GDS and lower values of epididymal, retroperitoneal and visceral fat in relation to the other groups ($p < 0.05$). HRV was higher in GDS compared to GCS, associated with higher normalized HF values ($p < 0.05$). VBP was lower in GDS compared to the other groups, associated with reduced LF values ($p < 0.05$). In addition, sympathetic effect (ES) was lower in GDS than in GCS and GCT ($p < 0.05$). Concentrations of cardiac NO were higher in GDS than in GDT ($p < 0.05$). Thus, we conclude that the chronic administration of DHEA alone is related to the improvement of the cardiac function, triggering a reduction in HR and an increase in cardiac parasympathetic activity and a decrease in VBP variance, however, physical training combined with administration was not able to potentiate these effects.

Keywords: Dehydroepiandrosterone. Baroreflex Sensitivity. Cardiovascular Autonomic Modulation. Heart Rate Variability. Exercise Training.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Análise linear da variabilidade da frequência cardíaca	25
2	Esquemática da distribuição dos grupos	30
3	Caixa de alojamento dos animais	31
4	Desenho experimental	33
5	Método de administração da DHEA	34
6	Tanque utilizado para protocolo de treinamento aeróbio	35
7	Peso (carga) utilizado no protocolo de treinamento	37
8	Cirurgia de canulação da veia e artéria femoral	39
9	Laboratório de registro	40
10	Protocolo de teste da sensibilidade barorreflexa cardíaca	41
11	Protocolo de teste de tônus autonômico cardíaco	42
12	Massa corporal semanal	46
13	Massa corporal final e Índice de Lee	47
14	Gordura epididimal, retroperitoneal e visceral	48
15	Gordura relativa epididimal, retroperitoneal e visceral	49
16	Efeito simpático	54
17	Efeito vagal	54
18	Tônus autonômico cardíaco e FIMC	55
19	Sensibilidade barorreflexa	56
20	Concentração de óxido nítrico	56
21	Peso absoluto cardíaco, átrio, ventrículo esquerdo e ventrículo direito	57
22	Peso relativo cardíaco, átrio, ventrículo esquerdo e ventrículo direito	58
23	Correlação entre FC e a variância da VFC.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Delineamento do protocolo de treinamento	36
2	Valores basais de FC, PAS, PAD e PAM	50
3	Valores de VFC no domínio do tempo e da frequência	52
4	Valores da VPAS e VPAD no DT e DF	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
Akt	Proteína Quinase B
AR	Modelos Autoregressivos
ATRO	Sulfato de Atropina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetros
Coa	Coenzima A
COI	Comitê Olímpico Internacional
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
DAC	Doença arterial coronariana
dB	Decibéis
DCV	Doenças Cardiovasculares
DF	Domínio da Frequência
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEAS	Sulfato de Dehidroepiandrosterona
DHT	5 α -di-hidrotestosterona
DT	Domínio do Tempo
EPI	Epinefrina
EPM	Erro Padrão da Média
ES	Efeito simpático
ET-1	Endotelina 1
EV	Efeito vagal
FC	Frequência Cardíaca
FDA	Administração de alimentos e drogas
FEN	Fenilefrina
FFT	<i>Fast Fourier Transform</i> (Transformação Rápida de Fourier)
FIMC	Frequência Intrínseca de Marcapasso Cardíaco
GCS	Grupo Controle Sedentário
GCT	Grupo Controle Treinado
GDS	Grupo DHEA Sedentário
GDT	Grupo DHEA Treinado
GLUT-4	Transportador de Glicose Tipo 4
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> (Lipoproteínas de alta densidade)
HF	<i>High-frequency</i> (Componente de alta frequência)
HFnu	<i>High-frequency</i> (Componente de alta frequência) normalizado
H3PO4	Ácido Fosfórico
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1
IP	Intervalo de Pulso
iRR	Intervalo R-R

kg	Quilograma
L	Litro (s)
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i> (Lipoproteínas de baixa densidade)
LF	<i>Low-frequency</i> (Componente de baixa frequência)
LFnu	<i>Low-frequency</i> (Componente de baixa frequência) normalizado
MAPK	Proteínas-quinases ativadas por mitógenos
mg	Miligrama
ml	Mililitro
μM	Micrômetro
mmHg	Milímetro de Mercúrio
ms	Milissegundos
n	Número
NaNO ₂	Nitrito de Sódio
NE	Norepinefrina
nm	Nanômetro
NO	<i>Nitric Oxide</i> (Óxido nítrico)
NPS	Nitroprussiato de Sódio
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PI3K	fosfoinositídeo 3-quinase
PRP	Cloridrato de Propranolol
qps	Quadros por segundo
rpm	Rotação por minuto
SCV	Sistema Cardiovascular
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SOD	Superóxido Dismutase
SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
t	Tempo
TS	Tônus simpático
TV	Tônus vagal
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VLF	<i>Very Low-frequency</i> (Componente de muito baixa frequência)
VPA	Variabilidade da Pressão Arterial
VPAD	Variabilidade da Pressão Arterial Diastólica
VPAS	Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica
°C	Graus Celsius

Sumário

1.INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1.OBJETIVO GERAL	15
2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 DEHIDROEPIANDROSTERONA E SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA	15
3.2 SUPLEMENTAÇÃO DE DHEA.....	19
3.3 VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA	22
3.4 MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDÍACA E TREINAMENTO FÍSICO	27
4. HIPÓTESE	29
5. MÉTODOS	29
5.1. SELEÇÃO DOS ANIMAIS	30
5.2. DESENHO EXPERIMENTAL.....	31
5.3 ADMINISTRAÇÃO DE DHEA	33
5.4. PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO	34
5.5. MASSA CORPÓREA E ÍNDICE DE LEE	37
5.6. PROTOCOLOS DE REGISTRO.....	38
5.6.1. 1º etapa do registro: Avaliação de Parâmetros Hemodinâmicos	39
5.6.2. 2º etapa do registro: Sensibilidade barorreflexa cardíaca.....	40
5.6.3. 3º etapa do registro: Tônus autonômico cardíaco.....	41
5.7. VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO ARTERIAL ..	42
5.8. EUTANÁSIA E COLETA DE TECIDOS.....	43
5.8.1. Massa cardíaca	44
5.8.2. Tecido adiposo visceral, epididimal e retroperitoneal.....	44
5.8.3. Músculo sóleo	44
5.9. CONCENTRAÇÃO DE NITRITO: ÓXIDO NÍTRICO.....	45
5.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
6. RESULTADOS	46
7. DISCUSSÃO	59
8. CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	67
ANEXO I	77

1.INTRODUÇÃO

Dehidroepiandrosterona (DHEA) e seu metabólito ativo, Sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHEAS) são hormônios sintetizados primeiramente pelas glândulas suprarrenais, mais precisamente na zona reticular e são regulados pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (MORALES, et al, 1994; LOIS, et al, 2014).

O pico de produção da DHEA é próximo aos 20 anos de idade e diminui gradativamente com a idade, de modo que na oitava década de vida atinge valores próximos a 20% comparado ao pico de produção (BAULIEU, et al., 2000). Portanto, níveis séricos de DHEA e DHEAS tem se mostrado ser inversamente relacionados com a idade (FERRARI, et al., 2001; YEN, 2001; SAMARAS, et al., 2013) o que gerou interesse público e científico em relação a esse hormônio.

Grande parte das pesquisas, tem a hipótese de que a queda dos níveis de DHEAS no envelhecimento, pode desempenhar um papel substancial no dano de muitas funções fisiológicas e contribuir para o desenvolvimento de várias doenças, incluindo eventos cardiovasculares de forma independente de outros fatores de risco (PAGE, et al., 2008; JIMÉNEZ, et al., 2013; ALLAMEH, et al., 2016). Outras sugerem que baixos níveis séricos do DHEAS é um fator preditor de mortalidade por doenças cardiovasculares (OHLSSON, et al., 2010; SANDERS, et al., 2010 SHUFELT, et al., 2010). Contudo, alguns estudos mostraram resultados conflitantes na área cardiovascular (KIECHL, et al., 2000; HARING, et al., 2013; SHOJAIE, et al., 2015).

Devido ao fato de diversas mídias sociais, bem como sites não especializados, exaltarem expressivamente os benefícios da suplementação com DHEA, muitas pessoas estão recorrendo a sua suplementação, entretanto até o momento poucos são os estudos que demonstram efeitos benéficos claramente relatados com sua suplementação e ainda pouco se sabe a respeito dos efeitos adversos e, portanto, esse assunto ainda é controverso e novos estudos ainda devem ser realizados (BOVENBERG, VAN UUM, HERMUS, 2005; WEBB, GEOGHEGAN, PROUGH, 2006; MANNIC, et al., 2015; ZHOU, et al., 2015).

Apesar de ainda escassa a literatura, a suplementação da DHEA tem se tornado assunto de grande interesse na área científica e vêm sendo amplamente estudada tanto em modelos animais, quanto em humanos. Alguns dados científicos demonstram resultados

positivos da suplementação em vários âmbitos, tais como, melhora da sensibilidade a insulina (VERAS, et al., 2014), na composição corporal (JANKOWSKI, et al., 2011), na função imunológica (LICHTER, et al., 2014) e nos parâmetros antioxidantes (YIN, et al., 2015). Além disso, foram evidenciados efeitos positivos para modular a função cardíaca (HAYASHI, et al, 2000; ALWARDT, et al, 2005; JACOB, et al, 2009), entretanto até o presente momento não existe uma explicação efetiva dos seus mecanismos de ação e fisiologia. (STÁRKA; DUSKOVÁ; HILL, 2015; ZHOU, et al, 2015).

Quando se adiciona o efeito da suplementação com DHEA ao treinamento físico aeróbico, a literatura se mostra restrita e conflitante. Estudos apontam uma melhora significativa na composição corporal (BOUDOU, et al, 2001; SATO, et al., 2012), entretanto, contrário a esses resultados, estudiosos demonstraram nenhum efeito sobre esse parâmetro (IGWEBUIKE, et al., 2008; CHEN, et al., 2016) quando analisado em idades, concentrações e/ou protocolos diferentes.

O treinamento físico, principalmente exercício aeróbico, é conhecido por minimizar a morbidade e a mortalidade cardiovascular, podendo modificar o equilíbrio autonômico (TASK FORCE, 1996; SHIN, et al., 1997; MARTINS-PINGE, 2011; EARNEST, BLAIR, CHURCH, 2012), entretanto, até onde sabemos, nenhum estudo foi encontrado associando os efeitos da administração da DHEA com o treinamento físico na função autonômica cardíaca.

A análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é uma metodologia alternativa amplamente utilizada para estimar o funcionamento do sistema nervoso autônomo (SNA), além disso, permite reconhecer a magnitude das adaptações autonômicas cardiovasculares frente a diversas situações, dentre elas, os efeitos da prática regular e crônica de exercícios físicos (BRUNETTO, et al., 2005).

Pesquisa recente ainda não publicada por nosso grupo de estudo, mostrou uma correlação forte e positiva entre os níveis de DHEAS e a VFC, ou seja, quanto menor o perfil hormonal do DHEAS, menor a VFC com a idade avançada, assim acreditamos que esse hormônio pode estar associado ao funcionamento do sistema autônomo. Porém, não é possível afirmar que essa associação seja de causa-efeito e qual a contribuição do treinamento físico, juntamente com a suplementação da DHEA no controle autonômico cardiovascular.

Portanto, pesquisas avaliando o efeito da suplementação com DHEA sobre o controle autonômico cardiovascular, se mostra de grande relevância, visto que é pouco

explorado na literatura e correlaciona o nível hormonal com possível risco de eventos cardiovasculares.

2 OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação entre administração crônica da DHEA com a função autonômica cardiovascular e sua interação com o treinamento físico em ratos *Wistar*.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar em ratos *Wistar* os efeitos da administração crônica da DHEA e do treinamento físico sobre:

- Massa corpórea e Índice de Lee;
- Tecido adiposo branco;
- Parâmetros basais da frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA);
- Variabilidade FC e da PA por métodos lineares;
- Sensibilidade barorreflexa;
- Tônus autonômico cardíaco;
- Peso Cardíaco absoluto e relativo;
- Peso de ventrículo esquerdo e direito absolutos e relativos;
- Peso atrial absoluto e relativo;
- Concentração de óxido nítrico cardíaco.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DEHIDROEPIANDROSTERONA E SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA

DHEA e seu metabólito ativo DHEAS são hormônios endógenos sintetizados a partir do colesterol e excretado principalmente pelas glândulas adrenais, mais precisamente na zona reticular e são regulados pelo hormônio ACTH, sendo este secretado pela adeno-hipofise (MORALES, et al, 1994; LOIS, et al, 2014). DHEA converte em DHEAS mediada pela enzima sulfotransferase, produzida na própria adrenal. DHEA e DHEAS são convertidos em androgênios potentes e/ou estrogênios em tecidos periféricos (YEN, 2001; SAAD; MACIEL; MENDONÇA, 2007).

DHEA é produzido pelas glândulas adrenais, porém, em seres humanos é retomado por vários tecidos, incluindo o cérebro, fígado, rim e gônadas, onde o mesmo é metabolizado em androstenediona, testosterona, estrogênio e estradiol. Estudo sugere que mais de 30% do andrógeno total em homens e mais de 90% de estrogênio em mulheres pós-menopausa são derivados da conversão periférica de DHEAS e DHEA (WEBB, GEOGHEGAN, PROUGH, 2006).

A quantidade de DHEA e DHEAS que o corpo produz ultrapassa os demais esteroides. Em contraste a DHEA, DHEAS tem uma meia-vida longa (entre 10 a 20 horas) promovendo assim uma circulação estável deste hormônio, além disto devido a sua lenta eliminação metabólica, DHEAS não apresenta variações no ritmo diurno (LOIS, et al., 2014).

Concentrações de DHEA e DHEAS declinam após o nascimento e permanecem baixos até os primeiros cinco anos de vida. Próximo aos vinte anos de vida, esses hormônios aumentam e chegam aos seus valores máximos, apresentando diferença entre os sexos, sendo a concentração sanguínea maior em pessoas do sexo masculino. A partir da quarta década de vida, os níveis séricos de DHEA e DHEAS diminuem progressivamente com a idade, de modo que na menopausa o nível de DHEA diminuiu por 60% do pico de produção, e na oitavada década de vida o mesmo se encontra em 80-90% menor comparado ao pico de produção (BAULIEU, et al., 2000).

Apesar de ainda escassas as pesquisas sobre a fisiopatologia correlacionada com o declínio da DHEA e DHEAS, uma possível explicação seria a diminuição de atividade enzimática, sendo responsável pela diminuição progressiva de DHEA e DHEAS, com o avanço da idade (LOIS, et al., 2014), embora outro mecanismo, tal como a redução da massa de zona reticular também tem sido proposto para explicar tal diminuição (FERRARI, et al., 2001).

Ao contrário dos glicocorticoides e mineralocorticoides da família dos esteroides suprarrenais, cujas as concentrações plasmáticas permanecem relativamente

altas com o envelhecimento, níveis de DHEA e DHEAS apresentam um comportamento diferente. Esse fato resultou em especulações de que as concentrações plasmáticas de DHEA poderiam funcionar como um marcador do envelhecimento biológico e da suscetibilidade para algumas doenças (MCARDLE, KATCH, KATCH, 2014).

As implicações a respeito do declínio da DHEA ainda não estão totalmente esclarecidas (CAPPOLA, et al., 2006), porém uma série de estudos surgiram revelando uma correlação inversa entre as concentrações do hormônio e a ocorrência de várias disfunções, tais como doenças cardiovasculares (DCV) (POSOVÁ-DUTOIT, SULCOVÁ, STÁRKA, 2000; THIJIS, et al., 2003; PAGE, et al., 2008; CAPPOLA, et al., 2009; BOXER, et al., 2010; OHLSSON, et al., 2010; SHUFELT, et al., 2010; JIMÉNEZ, et al., 2013; ALLAMEH, et al., 2016), diabetes (COLEMAN, LEITER, SCHIWIZER, 1982; VERAS, et al., 2014) e osteoporose (MARTEL, et al., 1998).

Barrett-Connor, Khaw, Yen (1986), mostraram que a concentração de DHEAS é independente e inversamente relacionada com a mortalidade relacionada a DCV em homens com idade acima de 50 anos. Feldman, et al. (1998), demonstraram associação entre baixas concentrações de DHEAS e a ocorrência de eventos cardiovasculares de forma independente dos outros fatores de risco.

Após revisões bibliográficas, autores concluíram que em homens, uma redução das concentrações de DHEAS estão associados com doenças coronarianas, entretanto os efeitos da administração de DHEA para benefícios do sistema cardiovasculares (SCV) ainda não estão claros (THIJIS, et al., 2003), porém o número de adeptos a suplementação com este hormônio cresce a cada dia (CHEN, et al., 2016).

Page, et al. (2008), realizaram um estudo com o propósito de encontrar relação entre concentrações plasmáticas da DHEA e DHEAS com infarto do miocárdio em mulheres. Após analisar amostras sanguíneas de mulheres de 43 a 69 anos, eles observaram uma relação positiva entre concentrações de DHEA e seu éster sulfatado com o risco de subsequente infarto do miocárdio, predominantemente em mulheres pós-menopausa. Shufelt, et al. (2010), também desenvolveram um estudo com mulheres pós-menopausa e afirmaram que concentrações mais baixas de DHEAS estão correlacionados com maior risco de DCV e mortalidade por qualquer causa e ainda destacam a relevância dos resultados encontrados, para que novas pesquisas investiguem as possíveis vias mecanicistas, até hoje obscuras.

Com o objetivo de avaliar a relação entre níveis sérios de androgênios e doenças arterial coronariana na população Iraniana, pesquisadores analisaram amostras de sangue

de um total de 135 indivíduos e encontraram uma forte e significativa relação entre doenças arterial coronariana (DAC) e níveis séricos de testosterona e DHEAS (ALLAMEH, et al., 2016).

Ohlsson, et al. (2010), executaram estudo epidemiológico com 2644 idosos e demonstraram que baixas concentrações séricas de DHEAS podem predizer morte por todas as causas de DCV, independente dos tradicionais fatores de risco para DCV. Sanders, et al. (2010), concluíram em seu estudo que mudanças DHEAS são contínuas com a idade, é afetada pelo sexo e está associada com DCV. Entretanto, um estudo publicado recentemente, demonstrou uma relação contrária, entre os níveis de DHEA e infarto prematuro do miocárdio, contradizendo as demais pesquisas. (SHOJAIE, et al., 2015). Shojaie, et al. (2015), através de um estudo comparativo e transversal, com 100 pessoas apresentaram que níveis mais altos de DHEAS no soro estão associadas com infarto prematuro do miocárdio (sendo este considerado infartos antes dos 50 anos de idade).

Pelo fato de uma gama de dados epidemiológicos demonstrarem correlação entre níveis séricos da DHEA e DHEAS com ocorrência de eventos cardiovasculares, surgiram investigações com o intuito de explicar a relação dos hormônios em questão, com o SCV. Um interessante estudo, investigou a relação entre níveis plasmáticos de DHEAS com a função endotelial em mulheres pós-menopausa com fatores de risco coronário. Os resultados mostraram uma relação com níveis baixos de DHEAS e disfunção endotelial, através de uma correlação positiva entre nível de DHEAS e percentual de dilatação fluxo mediada da artéria braquial. Esta correlação foi independente de outros fatores de risco, tais como idade, pressão arterial (PA), colesterol total, colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL), sugerindo um efeito protetor da DHEA sobre o endotélio (AKISHITA, et al., 2008).

Especula-se uma ampla perspectiva de suplementação com DHEA para prevenção e tratamento da aterosclerose. Pesquisadores acreditam que a DHEA poderia ter um papel protetor contra aterosclerose através da ação inflamatória mediadora. López-Marure, et al. (2007), avaliou o efeito sobre várias moléculas envolvidas na resposta inflamatória. Os resultados sugeriram que DHEA inibe a expressão de moléculas envolvidas no processo inflamatório em células endoteliais ativas como LDL oxidadas, tal como produção de espécies reativas de oxigênio e moléculas de adesão intracelular-1.

Embora a literatura tenha evidenciado um papel relevante da DHEA contra a aterosclerose, o assunto DHEAS e aterosclerose se mostra controverso. Estudo objetivou

determinar se DHEAS associasse com o desenvolvimento de aterosclerose. A associação entre níveis de andrógenos com aterosclerose aórtica foi investigada em 1032 homens e mulheres não fumantes com idade de 55 anos ou mais. A aterosclerose foi avaliada por detecção de radiografia de depósitos calcificados na aorta abdominal, no entanto, nenhuma associação clara entre os níveis de DHEAS e a presença de aterosclerose aórtica grave foi encontrada em ambos os sexos (HAK, et al., 2002).

Por conseguinte, mecanismos que expressem a função biológica da DHEA e seu éster sulfatado com o SCV, ainda não estão amplamente elucidados na literatura e novas pesquisas devem ser realizadas para explicar possíveis mecanismos.

3.2 SUPLEMENTAÇÃO DE DHEA

O aumento na utilização da DHEA sintética pelos entusiastas do exercício (CHEN, et al., 2016) e pela população em geral tem gerado preocupação acerca da sua segurança e eficácia entre estudiosos da medicina do esporte e a comunidade médica em geral (MCARDLE, KATCH, KATCH, 2014).

Companhias farmacêuticas sintetizam a DHEA a partir de substâncias químicas encontradas nos feijões-soja e nas batatas selvagens. Atualmente DHEA está disponível sem receita médica e regulamentado pela *Food and Drug Administration* (FDA). No entanto, isso nem sempre foi aceito. A DHEA foi primeiramente comercializada a fim de perda de peso, e em 1985 a FDA proibiu sua venda. DHEA ainda é proibida pelo Comitê Olímpico Internacional (COI), entretanto, desde a Lei de Educação e Saúde do suplemento dietético 1994, DHEA tem sido novamente disponível e comercializada para a população em geral (WEBB, GEOGHEGAN, PROUGH, 2006).

A DHEA pode ser comprada prontamente através de lojas de suplementos alimentares, clubes e *internet* em forma de cápsulas ou tabletes. DHEA vem sendo consumida tanto por homens e mulheres sem regulamentação e sem monitorização, com doses diárias que variam de 5 a 10 mg e pode chegar até 2.000mg (MCARDLE, KATCH, KATCH, 2014).

Suplementação da DHEA tem sido estudada tanto em animal de experimentação (ALWARDT, et al., 2005; IWASAKI, et al., 2005; JACOB, et al., 2009; YIN, et al., 2015), quanto em humanos (VON MUHLEN, et al., 2008; WEISS, et al., 2012). Alguns estudos vêm demonstrando resultados benéficos da suplementação em diversos aspectos,

tais como, melhora nos parâmetros antioxidantes (YIN, et al., 2015), na função imunológica (LICHTE, et al., 2014), da sensibilidade a insulina (JANH, et al., 2010; VERAS, et al., 2014), na densidade mineral óssea (VON MUHLEN, et al., 2008) e na composição corporal (JANKOWSKI, et al., 2011). Além disso, pesquisas demonstraram efeitos positivos da suplementação para modular a função cardíaca (HAYASHI, et al., 2000; ALWARDT, et al., 2005; JACOB, et al., 2009). Embora doses fisiológicas apropriadas não estejam bem definidas e sejam diferentes em homens e mulheres, muitos estudos clínicos foram realizados com 50 mg / dia para mulheres e 100 mg / dia para homens (WEBB, GEOGHEGAN, PROUGH, 2006).

Objetivando estudar o efeito da suplementação do DHEAS na função cardíaca em ratas jovens e idosas. Um tratamento de 60 dias com DHEA exógena a uma dose de 0,1 mg/ml na água de animais foi realizado. Analisaram os efeitos sobre a função diastólica do ventrículo esquerdo e a composição da matriz extracelular do miocárdio. Pode-se concluir que a suplementação foi capaz de reverter a rigidez e a fibrose que acompanha o envelhecimento, com um paradoxal aumento da rigidez ventriculares em ratas jovens (ALWARDT, et al., 2005).

Iwasaki, et al. (2005), demonstraram através da administração de DHEA exógena, que o hormônio foi capaz de atenuar diretamente e significativamente a síntese de colágeno tipo I ao nível de transcrição in vivo e in vitro em fibroblastos cardíacos em ratos. DHEA previne a disfunção do ventrículo direito em modelo animal, impedindo alteração de cardiomiócitos (LA ROQUE, et al., 2012).

A DHEA pode estar também envolvida na modulação do estresse oxidativo. Após administrar dez mg/kg durante cinco meses em ratos *Wistar*, observou-se um aumento na expressão da proteína quinase B (Akt) no miocárdio e uma diminuição da superóxido dismutase (SOD) tanto em ratos jovens, quanto idosos (JACOB, et al., 2009).

DHEA tem demonstrado ter um efeito antiaterosclerótico em modelos animais (GORDON, BUSH, WISMAN 1988; ARAD, et al., 1989), embora o mecanismo de ação ainda não esteja claro. Hayashi, et al. (2000), após realizarem estudo com coelhos, concluíram que 50% do efeito antiaterosclerótico da DHEA foi alcançado através da conversão da DHEA em estrogênio, assim como o óxido nítrico (NO) pode desempenhar um papel no efeito antiaterosclerótico da DHEA e 17 β -estradiol.

No que tange a suplementação da DHEA aliado ao treinamento físico, a literatura ainda é restrita e os resultados são conflitantes, o que demonstra a necessidade

de mais estudos nesta perspectiva. Além disso, até onde sabemos nenhuma investigação correlacionou treinamento físico, administração da DHEA e efeitos no SCV.

Villareal e Holloszy (2006), realizaram estudo com idosos de ambos os sexos, envolvendo suplementação de 50 mg/dia com DHEA com treinamento de força por quatro meses. Os resultados demonstram aumento nas concentrações hormonais DHEAS, testosterona, estradiol e Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1 (IGF-1), como também da massa muscular. Esse achado sugere efeitos positivos de DHEA exógena sobre a massa muscular. Resultado semelhante foi encontrado em estudo com idosos frágeis, com suplementação da DHEA e treinamento aeróbio, onde a suplementação aliada ao treinamento gerou um aumento significativo da força muscular (KENNY, et al., 2010).

Estudos realizados com roedores obesos alimentados diariamente com suplementos da DHEA, juntamente executando um protocolo de exercício na esteira por seis semanas, indicou uma atenuação nos níveis séricos de insulina e glicose, além disso um aumento na sinalização da translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4), demonstrando um efeito benéfico no controle da glicose em jejum devido a regulação da via de sinalização GLUT4. Concentrações musculares de DHEA e 5 α -dihidrotestosterona (DHT), foram maiores e estreitamente correlacionados com o índice de verificação quantitativa da sensibilidade à insulina (SATO, et al., 2011; SATO, et al., 2012).

Após 12 semanas de intervenção com treinamento de *endurance* e resistido aliado a suplementação com DHEA (50 mg/dia), ocorreu melhora significativa na composição corporal, na sensibilidade à insulina e uma redução das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no grupo treinando placebo, entretanto, a administração da DHEA não proporcionou nenhum efeito adicional nos parâmetros avaliados (IGWEBUIKE, et al., 2008).

Recentemente, pesquisadores demonstraram que a suplementação isolada com DHEA gerou um aumento significativo da massa corporal de ratos, como também aumento da massa muscular e níveis de testosterona, entretendo, quando aliado ao protocolo de treinamento, ocorreu uma diminuição da massa corporal e do nível de testosterona quando comparado com o a administração da DHEA isolada o que demonstra que o treinamento pode inibir a absorção da DHEA ou a síntese de testosterona (CHEN, et al., 2016).

Estudiosos objetivaram avaliar o efeito da ingestão a curto prazo de 50 mg de DHEA em homens jovens sobre os hormônios esteroides séricos e o efeito de oito semanas de suplementação (150 mg/dia) sobre as adaptações ao treinamento de força. A suplementação a curto prazo resultou em um imediato aumento nas concentrações séricas de androstenediona, porém nenhum efeito sobre concentrações de testosterona e estrogênio. Além do mais, a suplementação a longo prazo elevou níveis séricos de androsterona, mas não exerceu nenhum efeito sobre hormônios anabólicos, lipídios séricos, a força muscular e a massa corporal magra em comparação com o placebo (BROWN, et al., 1999).

Resultados semelhantes foram encontrados, indicando que pequenas doses de DHEA não aprimoram a força muscular, nem modificam as áreas em corte transversal do músculo e da gordura, nem facilita adaptações ao treinamento de força (PERCHERON, et al., 2003; DAYAL, et al., 2005).

Novos anúncios apresentam a DHEA como um "super hormônio" que faz aumentar a testosterona e preserva a juventude. Páginas na *internet* exaltam expressivamente os benefícios da suplementação com DHEA, entretanto pouco são os estudos que marcam efeitos benéficos claramente relatados com a suplementação e ainda pouco se sabe a respeito dos efeitos adversos e, portanto, esse assunto ainda é controverso e novas pesquisas ainda devem ser realizadas a fim de esclarecer os mecanismos envolvidos (BOVENBERG, VAN UUM, HERMUS, 2005; WEBB, GEOGHEGAN, PROUGH, 2006; MCARDLE; KATCH; KATCH, 2014; MANNIC, et al., 2015; ZHOU, et al., 2015).

Até onde sabemos, não existe nenhum estudo que demonstrou o efeito da administração do hormônio DHEA sobre a função autonômica cardíaca de ratos, bem como o mesmo aliado a um protocolo de treinamento físico aeróbio.

3.3 VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

O SCV consiste em uma conexão contínua do coração (bomba contrátil) e vasos sanguíneos e tem como função transportar e distribuir substâncias essenciais aos tecidos e remover produtos originados do metabolismo (POWERS, HOWLEY, 2009; MCARDLE, KATCH, KATCH, 2013).

Todas as ações que têm por objetivo a preservação da homeostasia, em grande parte, são controladas pelo SNA, o qual oferece inervação aferente e eferente para os órgãos e vísceras, na forma de terminações simpáticas e parassimpáticas (AUBERT, SEPS, BECKERS, 2003). Prolongamentos eferentes parassimpático e simpático, atuam sobre o nó sinusal, modulando a função cardíaca e adaptando-a à demanda tecidual (PASCHOAL, PETRELUZZI, GONÇALVES, 2002).

A influência do Sistema nervoso simpático (SNS) frente ao SCV é que, quando estimulado libera as catecolaminas epinefrina (EPI) e norepinefrina (NE). A estimulação dos receptores adrenérgicos β -1 atua sobre as fibras musculares aumentando a permeabilidade aos íons cálcio e sódio. No nó sinusal, o aumento da permeabilidade sódio-cálcio torna o potencial de repouso mais positivo, provocando aumento do potencial de membrana durante a diástole em direção ao limiar de autoexcitação, acelerando o processo e, portanto, aumentando a FC (GUYTON, HALL, 2011).

Além disso, o aumento da permeabilidade aos íons cálcio é responsável pelo aumento da força de contração do miocárdio de forma a aumentar a quantidade de sangue bombeada pelo coração a cada batimento, já que o cálcio desempenha o papel na excitação e nos processos contráteis das miofibrilas (GUYTON, HALL, 2011).

O sistema nervoso parassimpático (SNP), por seu lado, quando estimulado, libera seu neurotransmissor acetilcolina (Ach) pelas terminações vagais, isso faz com que aumente a permeabilidade da membrana aos íons de potássio, permitindo um vazamento desses íons para fora das fibras condutoras de maneira mais acelerada. Isso provoca uma hiperpolarização (aumento da negatividade no interior da célula), que torna os tecidos menos excitáveis. A hiperpolarização no nó sinusal retarda o ritmo de descarga e torna mais lenta a FC (bradicardia) (GUYTON, HALL, 2011; MCARDLE, KATCH, KATCH, 2013).

De fato, o SNA desempenha um papel fundamental na regulação dos processos fisiológicos do organismo humano, porém, essa constante interferência do SNA sobre os batimentos cardíacos é dependente de informações que partem central ou periféricamente, refletindo sensíveis modificações dos sistemas respiratório, barorreceptores, quimioceptores, sistema vasomotor, sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e sistema termorregulador. Tais alterações, relacionam-se diretamente com maior ou menor ativação simpática ou vagal sobre o coração, obtendo reflexos temporais sobre os intervalos interbatimentos (PASCHOAL, PETRELUZZI, GONÇALVES, 2002).

Para avaliação da função autonômica cardiovascular, existem várias técnicas, dentre elas podemos citar a medida de catecolaminas circulantes, teste da função barorreflexa, arritmia sinusal respiratória, etc. Entretanto, em sua grande maioria são invasivas e de complexa execução no contexto clínico (CASTRO, NÓBREGA, ARAÚJO, 1992). Em contrapartida, dentre as técnicas utilizada, o uso da VFC tem emergido tanto em pesquisas, quanto clinicamente, como uma medida simples e não-invasiva, com baixo custo e alta reprodutibilidade dos impulsos autonômicos, representando um dos mais promissores marcadores quantitativos do balanço autonômico (TASK FORCE, 1996; VANDERLEI, et al., 2009).

O fenômeno VFC, tornou-se um termo aceito para descrever as oscilações dos intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos (intervalo R-R), pelos quais estão relacionados à influência do SNA sobre o nó sinusal. A VFC pode ser utilizada para avaliação da modulação autonômica em situações de vigília e sono, diferentes posições corporais, durante e após o exercício físico, como também em condições patológicas (VANDERLEI, et al., 2009).

Oscilações na FC são esperadas, de maneira que refletem a capacidade de adaptação do sistema diante de diferentes estímulos. Por conseguinte, uma elevada VFC indica um aspecto positivo, de alta adaptação do sistema autonômico, enquanto uma baixa VFC é definida como característica nociva e, quando associada às DCV, representa um prognóstico clínico comprometido independente da morbi-mortalidade cardiovascular (MOSER, et al., 1994; REIS, et al., 1998; CAMBRI, et al., 2008; VANDERLEI, et al., 2009; HILLEBRAND, et al., 2013).

Diferentemente da VFC, a Variabilidade da pressão arterial (VPA) representa as oscilações que ocorrem nos índices pressóricos. Contraria a VFC, quanto maior a VPA, pior o prognóstico, uma vez que a VPA aumentada representa uma perturbação do controle da PA, dado que o ideal é que níveis tensionais se mantenham o mais próximo da taxa de normalidade (SOARES, NÓBREGA, 2005).

Mais recentemente, para a análise do SNA cardiovascular, métodos computadorizados específicos têm sido desenvolvidos, com os quais, tem por objetivo quantificar a variabilidade natural presente nos valores dos ciclos cardíacos normais. Assim, possível quantificação das flutuações dos ciclos cardíacos permite, de forma indireta, uma avaliação do perfil autonômico cardíaco (SILVA, JANUÁRIO, 2005).

Normalmente, dois métodos são utilizados para avaliação da VFC, índices obtidos por meio de métodos lineares, no domínio do tempo e da frequência e métodos não-lineares (RIBEIRO, MORAES, 2005).

Métodos lineares são divididos em dois tipos: análise no domínio do tempo (DT), realizada por meio de índices estatísticos (tais como, desvio padrão ou variância) e geométricos, extraídos das variações temporais dos ciclos, e análise no domínio da frequência (DF) que define e separa por meio de análise espectral, os diversos componentes oscilatórios em frequência e amplitudes (VANDERLEI, et al., 2009), como ilustra a **figura 1**.

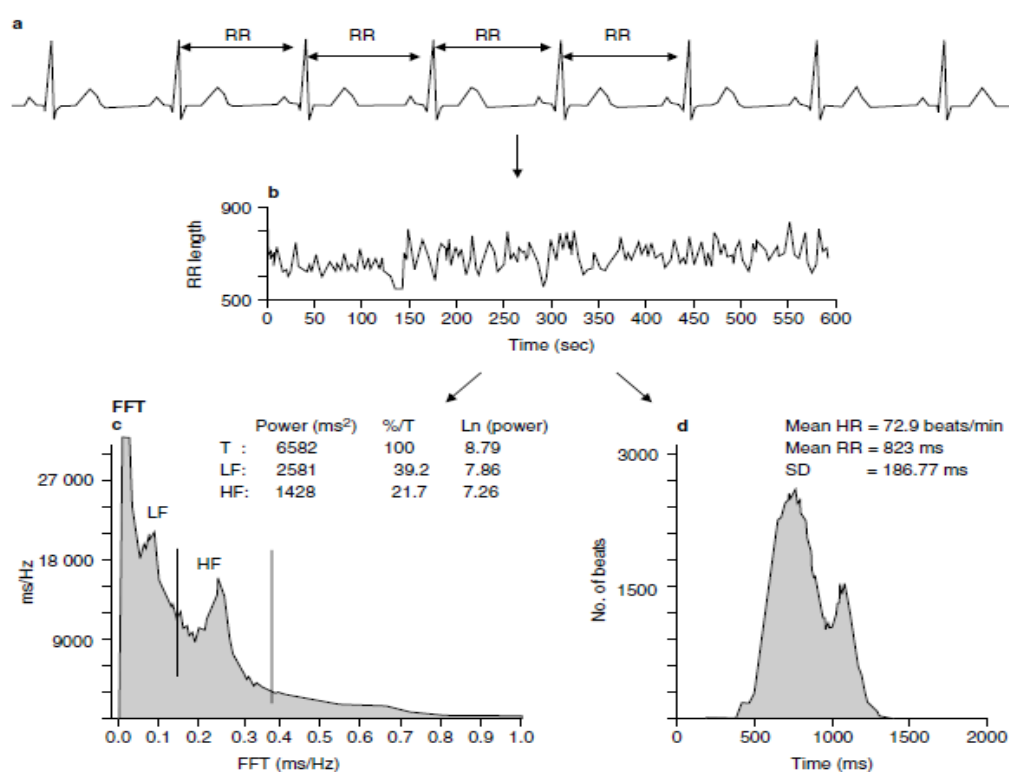


Figura 1- Análise da variabilidade da frequência cardíaca. (a) Cálculo dos intervalos RR consecutivos no eletrocardiograma, (b) resultado de um tacograma, que pode ser analisando tanto no domínio da frequência (c) e/ou no domínio do tempo (d). Análise espectral (c) e o histograma (d) são resultados de 24 horas de gravação com Holter. O histograma mostra dois picos: um em torno de 1100ms, o que corresponde a frequência cardíaca média durante a noite, e o outro é em torno de 750ms, que corresponde a frequência cardíaca média durante o dia. **FFT** = transformação rápida de Fourier; **HF** = banda de alta frequência; **LF** = banda de baixa frequência; **Ln** = logaritmo natural; **T** = total. (Adaptado de AUBERT, SEPS e BECKERS, 2003).

Task Force (1996), considera as medidas no DT, como o método mais simples para análise da VFC, por meio do qual são obtidos índices de um registro contínuo de

eletrocardiograma, determinando desta maneira a dispersão da duração dos intervalos entre os batimentos, expressa resultados em milissegundos (ms). O autor expressa a importância da duração do registro para comparação entre estudos e coloca como apropriado, gravações com tempo mínimo de cinco minutos para gravações de curto prazo e 24 horas para gravações de longo prazo, e além disso para possíveis análises lineares são necessários no mínimo 256 intervalos RR (iRR) (MARÃES, 2010).

Os inúmeros índices recomendados para mensuração da VFC no DT podem ser derivados de cálculos aritméticos, estatísticos ou geométricos. Métodos estatísticos podem derivar direto dos iRR, já métodos geométricos convertem uma série de iRR em um gráfico para posteriormente calcular a distribuição de densidade das diferenças entre os iRR, sendo o índice triangular e a plotagem de Lorez (ou Plot de Poincaré) os mais conhecidos (TASK FORCE, 1996).

Medidas do DF, o qual realiza-se a análise da densidade de potência espectral, fornecendo informações básicas sobre cada faixa de potência, distribuindo em função da frequência (TASK FORCE, 1996). Dentre os procedimentos disponíveis, destaca-se o da transformação rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform* - FFT), o qual permite a obtenção da densidade espectral de potência (MARÃES, 2010) e o modelo auto regressivo. Análise espectral consiste na decomposição da FC em seus componentes causadores, apresentando-os de acordo com as diferentes amplitudes e frequências com que alteram a FC. Esta análise é o método no DF mais utilizado, tendo se tornado valioso instrumento na avaliação do SCV (RIBEIRO, MORAES, 2005).

Para cada componente espectral é decomposto uma faixa de frequência pré-determinada (componentes oscilatórios fundamentais), associada à atuação de cada um dos componentes do SNA. Segundo Vanderlei, et al. (2009), a análise decompõe a VFC em componentes oscilatórios fundamentais e seus respectivos valores de frequência em ratos (amostra do presente estudo) são:

- a) Componente de alta frequência (*High-frequency* - HF): com variação entre 0,75 e 2,5 Hz; expressam a influência dos ciclos respiratórios e a atuação do nervo vago sobre o coração exclusivamente;
- b) Componente de baixa frequência (*Low-frequency* - LF): com variação entre 0,25 e 0,75 Hz; associado a ação conjunta dos componentes vagal e simpático, porém predominantemente ao componente simpático;

c) Componente de muito baixa frequência (*Very Low-frequency* – VLF): variação entre 0,01 e 0,25 Hz; com explicação fisiológica ainda não bem estabelecida, mas há indícios de relação com o SRAA, ao tônus vasomotor periférico e à termorregulação.

A razão LF/HF refere-se as alterações absolutas e relativas entre componentes simpáticos e parassimpáticos do SNA, pelo qual caracteriza o balanço simpato-vagal sobre o coração. Quanto mais elevada a relação, maior é a atuação simpática, o que indica um mau prognóstico (VANDERLEI, et al., 2009).

Em estudo das bandas de frequência acata-se que o SNP, através do seu efeito colinérgico, seja o grande responsável pela variabilidade dos ciclos P-P. Aliado a esta declaração, está a afirmativa em que drogas que produzem redução dos efeitos vagais, como exemplo, drogas anti-muscarínicas, como atropina, reduzem de forma notória e significativas as flutuações dos ciclos cardíacos, em contraste as que aumentam os reflexos vagais, como beta bloqueadores, como propranolol, produzem efeito contrário (DE ANGELIS, SANTOS, IRIGOYEN, 2004).

Para obtenção dos índices espectrais, diversos *softwares* vêm sendo desenvolvidos, com o propósito de construir um sinal denominado tacograma, gráfico este que expressa a variação dos iRR em função do tempo. Este sinal é processado por algoritmos matemáticos, como a FFT ou modelos autoregressivos (AR) e, por fim, se obtém estimativa das potências espectrais. A partir de então, é possível identificar o perfil autonômico (VANDERLEI, et al., 2009).

Outra forma de se analisar a VFC é através do método não linear. A teoria do sistema não linear tem sido progressivamente aplicada para explicar e prever comportamento dos fenômenos biológicos. Dentre métodos não lineares, estão: expoente de Hurst, função de correlação, análise de flutuações depuradas de tendência e o expoente de Lyapunov (VANDERLEI, et al., 2009). O presente estudo utilizou o método linear da análise da VFC e da VPA.

3.4 MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA E TREINAMENTO FÍSICO

A maioria dos dados disponíveis sobre os efeitos do treinamento físico sobre a função autonômica cardíaca é derivada de estudos da VFC. Embora a aplicação clínica

da VFC esteja associada principalmente a avaliação da progressão de doenças cardiovasculares, estudos vêm demonstrando a sua aplicabilidade as adaptações ao treinamento físico (DONG, 2016).

Pesquisas relatam que a VFC tende a sofrer redução com o envelhecimento e com o estilo de vida sedentário, e está relacionada com a maior probabilidade de incidência de eventos cardiovasculares (BONNEMEIER, et al., 2003; ACHARYA, et al., 2004; LAITINEN, et al., 2004; PASCHOAL, et al., 2006; JANDACKOVA, et al., 2016; PARASHAR, et al., 2016). Em contraste a isso, o exercício físico realizado de forma regular gera um aumento da VFC presumivelmente ao aumento do tônus vagal, diminuição da atividade simpática e/ou diminuição da frequência intrínseca de marcapasso cardíaca (FIMC) (SHIN, et al., 1997; MARTINELLI, et al., 2005; MARTINS-PINGE, 2011; EARNEST, BLAIR, CHURCH, 2012).

Nesse sentido, alguns autores analisaram os efeitos da mudança do estilo de vida sedentário, através da efetuação de programas de exercício físico, na tentativa de amenizar os riscos provenientes de uma baixa VFC (BRUN, et al., 2000; MONAHAN, et al., 2000; CATAI, et al., 2002; PASCHOAL, POLESSI, SIMIONI, 2008; SOUZA e TEZINI, 2013). Mediante a realização de um protocolo de treinamento aeróbio, com duração de seis meses, em mulheres pós-menopausa, foi demonstrado que o treinamento de baixa a moderada intensidade aumenta a atividade parassimpática, levando a uma melhora significativa na VFC (EARNEST, BLAIR, CHURCH, 2012). Além disso, resultado de uma revisão bibliográfica propõe como benefício do treinamento aeróbio, a redução na atividade do SNS. Por outro lado, uma inatividade física sugere um aumento da atividade simpática, contribuindo para o aumento da incidência de DCV associadas a um estilo sedentário (MARTINS-PINGE, 2011). Uma meta-análise envolvendo 105 grupos de estudos e 3936 participantes, evidenciou que intervenções através de protocolos de treinamento aeróbio, são capazes de diminuir a PA através de uma redução da resistência vascular, em que o SNS e o SRAA parecem estar envolvidos e concomitantemente na gênese de eventos cardiovasculares (CORNELISSEN e FAGARD, 2005).

Sabendo que a sensibilidade barorreflexa é afetada com a idade e com o estilo de vida sedentário têm-se demonstrado que o exercício aeróbio de moderada intensidade foi capaz de atenuar a diminuição da sensibilidade barorreflexa e ainda restaurar parcialmente a sua perda em homens idosos previamente sedentários (MONAHAN, et al., 2000). Brum e seus colaboradores (2000), após realizar um protocolo de treinamento

aeróbico em esteira, por 12 semanas em ratos normotensos e hipertensos, constataram um aumento da sensibilidade do barorreceptor aórtico em normotensos e hipertensos, resultando em uma regulação da PA mais eficiente pelos barorreflexos.

Objetivando investigar os efeitos de um programa de treinamento de força sobre a modulação autonômica cardíaca, Lopes e seus colaboradores (2007), utilizaram uma amostra de 32 voluntários do sexo masculino (entre jovens e idosos), onde foram submetidos a um protocolo de força com duração de 12 semanas. No final do protocolo, pode-se concluir que os indivíduos idosos apresentaram uma diminuição da VFC e que o treinamento aplicado não foi capaz de amenizar essa queda de forma significativa. Da mesma forma, Forte, De Vito, Figura (2003), avaliaram os efeitos de treinamento resistido em mulheres idosas e não encontraram modificações em relação a modulação autonômica.

Por fim, através de resultados evidenciados na literatura, pode-se concluir que o treinamento aeróbico se mostrou eficaz no aumento da VFC através do aumento do tônus parassimpático aliado a uma queda do simpático. Por outro lado, o treinamento de força parece não promover efeitos significativos em relação a modulação autonômica exercida sobre o nó sinusal.

4. HIPÓTESE

Administração crônica de DHEA desencadeará aumento na VFC, observada pelo incremento da atividade parassimpática cardíaca, sendo que o treinamento físico aeróbico potencializará esse efeito.

5. MÉTODOS

A proposta para a execução do presente estudo foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), sob o número de protocolo 357/2016 (Anexo 1). Todos os procedimentos experimentais seguiram as normas internacionais de uso e manutenção de animais em laboratório (National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals) (*INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES (US). COMMITTEE ON CARE;*

USE OF LABORATORY ANIMALS; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (US). DIVISION OF RESEARCH RESOURCES, 1985).

5.1. SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Para execução do estudo, foram utilizados trinta e dois ratos da linhagem *Wistar*, (18 ± 1 semanas de idade). Os animais envolvidos no estudo foram provenientes de uma mesma linhagem do biotério de Animais de Laboratório Criação e Comércio (Anilab) de Paulina-SP. Os animais foram alocados aleatoriamente, pareados por idade e peso, em quatro grupos experimentais de acordo com o tratamento que receberam: controle sedentário (GCS, $n = 8$), controle treinado (GCT, $n = 8$), sedentário com administração de DHEA (GDS, $n = 8$) e treinado com administração de DHEA (GDT, $n = 8$), esquematizados na Figura 2.

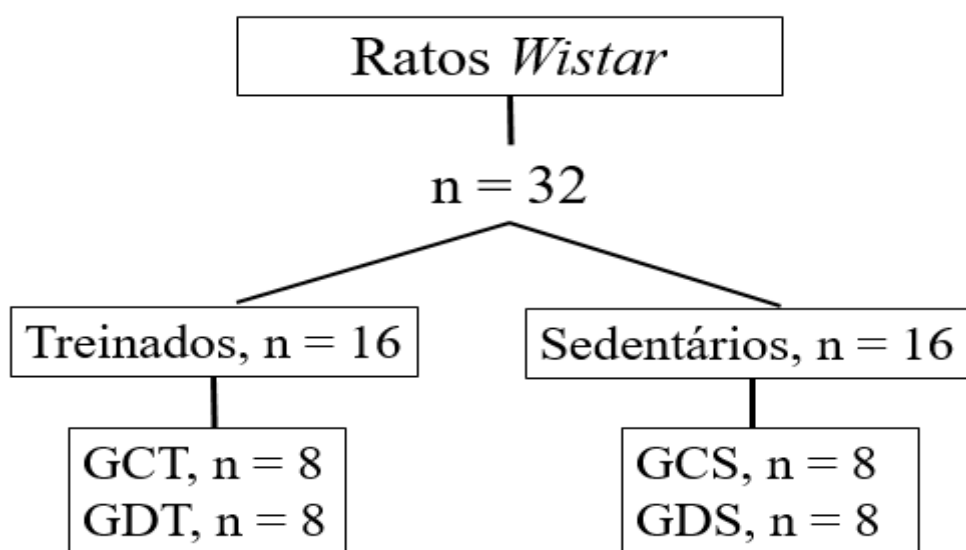


Figura 2- Esquematização da distribuição dos grupos. n = número de animais que compõe a amostra; GCT = controle treinado; GDT = DHEA treinado; GCS = controle sedentário; GDS = DHEA sedentário. Fonte: Autor (2016).

As condições ambientais do biotério da Fisiologia da UFTM, foram mantidas durante todo processo experimental seguindo o Manual ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica elaborado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (CONCEA, 2016). Foi mantida a temperatura de 20-23°C, umidade relativa de 40-70%, nível de ruído 0,1 a 65dB e

luminosidade, reproduzindo o ciclo claro e escuro a cada 12 horas. Os animais tiveram livre acesso a água e ração *ad libitum* (Nuvilab CR1, Nuvital Nutrientes Ltda, Curitiba, PR) de composição aproximada de Proteína bruta 22,0%, Umidade 12,5%, Extrato etéreo 4,5%, Matéria Mineral 10,0%, Matéria fibrosa 8,0%, Cálcio 1,4% e Fósforo 0,8%.

Os animais permaneceram em caixas coletivas com até quatro animais por caixa. As caixas são constituídas por polipropileno autoclavável, inquebrável e resistente a ácidos, com dimensão 41X34X16 cm, com tampa (grade) em arame perfilado de ferro com tratamento em aço inox (*Asis 304*), com Eletropolimento. As mesmas são providas de bebedouro e comedouro embutido em V, com laterais triangulares fixas, divisórias basculantes formando o comedouro, separando-o do bebedouro (Figura 3A e 3B).

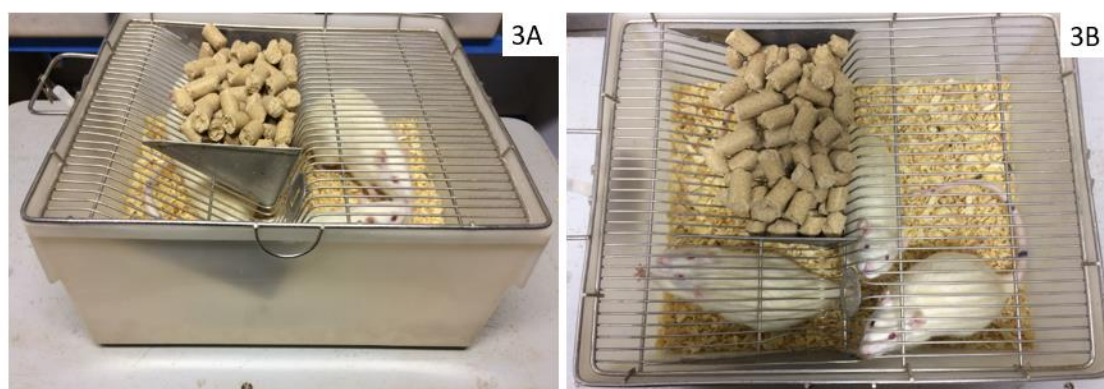


Figura 3 - Caixas de alojamento dos animais. 3A: vista lateral da caixa. 3B: vista superior da caixa. Fonte: Autor (2016).

Para a transferência de uma caixa para outra, bem como para a pesagem dos animais, os ratos foram manuseados de forma tranquila, suspendendo o animal com a mão atrás das patas dianteiras e da cabeça, pelo meio do corpo. Esta técnica foi adotada a fim de evitar o estresse do animal e possível agressividade e intolerância a manipulações experimentais (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

5.2. DESENHO EXPERIMENTAL

O presente estudo é considerado uma pesquisa básica, experimental, exploratória e explicativa, que tem como objetivo explicar, analisar e avaliar os fatores que determinam ou contribuem para a ocorrência dos fenômenos (SOUZA, et al., 2013).

DHEA foi administrada por um período de oito semanas todos os dias nos grupos GDS e GDT, no período matutino. Foi administrada uma dose de 20 mg/kg da massa

corporal do animal. DHEA foi dissolvida em óleo de sésamo (0,5 ml) e administrada pelo método de gavagem. Os grupos controle receberam a mesma quantidade do veículo (óleo de sésamo) pelo mesmo período de tempo.

Para alguns grupos, parte da pesquisa consistiu em uma aplicação de um protocolo de treinamento em meio líquido de oito semanas consecutivas (mesmo período de administração da DHEA), no período vespertino. Entretanto antes do protocolo experimental os animais dos grupos GCT e GDT passaram por um processo de adaptação ao meio líquido por duas semanas antecedentes ao protocolo de treinamento físico propriamente dito.

Animais dos grupos sedentários (GCS e GDS) foram colocados no tanque com baixa profundidade, duas vezes por semana, por 10 minutos, durante todo o tempo de protocolo de natação (oito semanas) a fim de evitar alterações fisiológicas decorrentes das alterações causadas pelo estresse aquático.

Vinte e quatro horas após a última sessão do protocolo de treinamento físico, todos os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para canulação. Cateteres de polietileno foram introduzidos na artéria femoral para registro de PA e outro na veia femoral para infusão das drogas. Após canulação, os cateteres foram exteriorizados para região dorsal dos animais e fixados. Após recuperação da cirurgia (24 horas) foi realizado um registro contínuo da PA pulsátil por 30 minutos para obtenção dos valores basais da PA e FC, para posteriormente serem utilizados na análise da VFC. Logo após a análise basal da FC e PA, foi realizado o teste da sensibilidade barorreflexa, por meio da avaliação das respostas bradicárdicas e taquicárdicas reflexas, desencadeados por administração de fármacos fenilefrina (FEN) e nitroprussiato de sódio (NPS). Em sequência, foi realizado a terceira etapa do registro, onde o sulfato de atropina (ATRO) e cloridrato de propanolol (PRP) foram administrado, tal procedimento permitiu quantificar os efeitos simpático (ES) e vagal (EV) cardíaco.

Por fim, logo após a realização dos protocolos experimentais, os animais foram eutanasiados. Após a eutanásia foi realizada a excisão de tecidos como coração, gordura epididimal e retroperitoneal, como também músculo soleo, para posteriores análises.

A Figura 4 ilustra por representação esquemática todos os procedimentos da pesquisa.

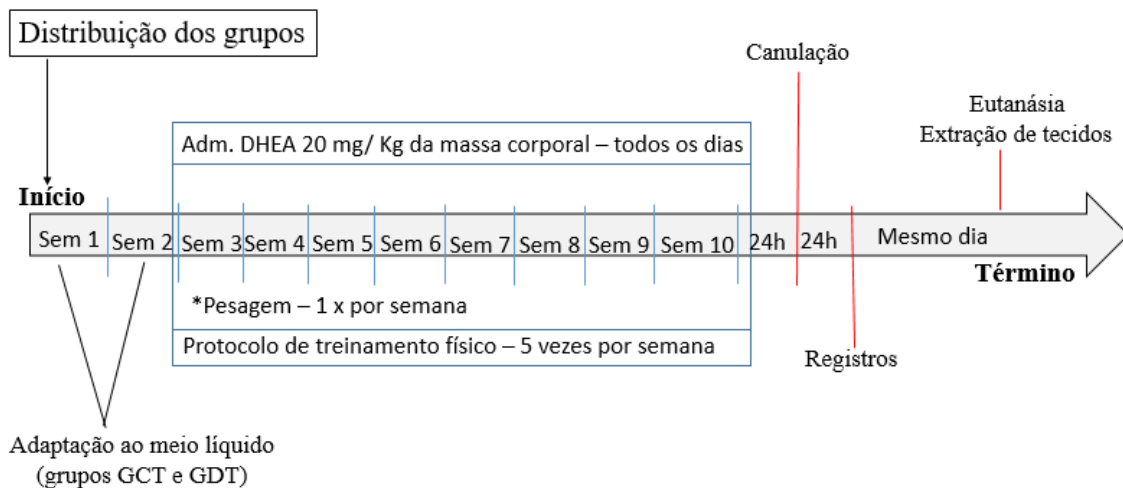


Figura 4 – Desenho experimental. Adm = Administração; Sem = semana; h = horas; GCT = controle treinado; GDT = DHEA treinado. Fonte: Autor (2016).

5.3 ADMINISTRAÇÃO DE DHEA

No método gavagem, o animal é manualmente contido, sendo a imobilização da cabeça essencial nesse procedimento. Após imobilização, a substância é introduzida na cavidade oral ou no aparelho digestório através de um tubo esofágico. Na presente pesquisa, foi utilizado um tubo flexível (ou agulha) e curvado com a ponta arredondada, para evitar danos ao esôfago. A agulha de aço inox a ser utilizada (*BD-12*), contém 1,2mm de diâmetro da cânula com esfera de 2,3mm, raio de 40mm e comprimento de 54 mm.

A agulha era cuidadosamente introduzida na cavidade oral, através da boca e da faringe para o esôfago e a substância era administrada lentamente (Figura 5A e 5B). Os roedores comem e bebem muitas vezes ao dia. Por esse motivo, dificilmente estão com o estômago vazio. Como a distensão máxima do estômago é no final do período escuro e a quantidade mínima, no final do período claro, pequenos volumes devem ser administrados no início do período claro (ANDERSEN, et al., 2004).

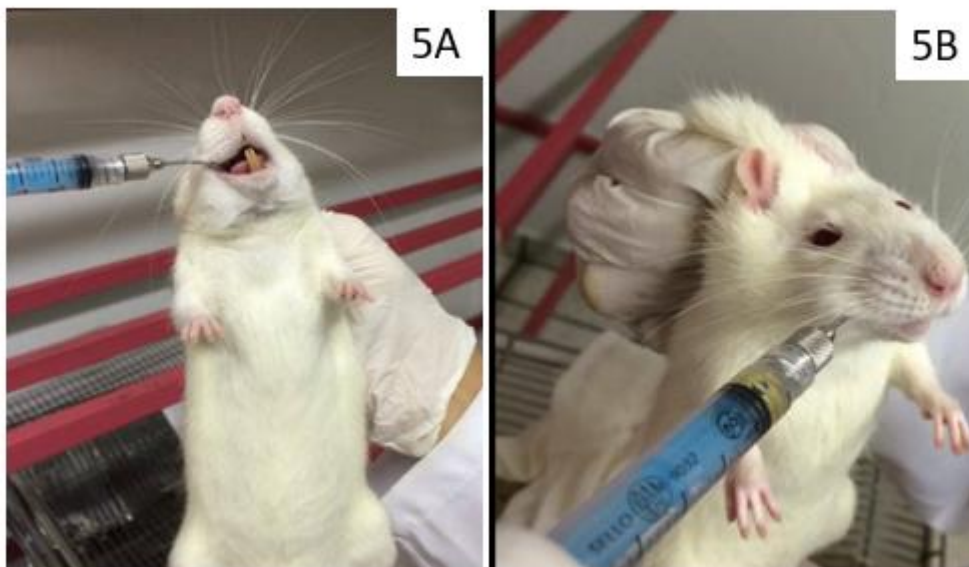


Figura 5 – Método de administração da DHEA; 5A e 5B: método de administração por gavagem. Fonte: Autor (2016).

No presente estudo, DHEA foi administrada todos os dias da semana, durante oito semanas nos grupos GDS e GDT. Foi utilizada uma dose de 20mg/kg de massa corporal de DHEA (PARK e OMI, 2014; YIN, et al., 2015). DHEA foi dissolvido em óleo de sésamo (0,5 ml) e administrado pelo método de gavagem, no período matutino (07h30min às 08h00min) em uma única dose. Os grupos controle (GCS e GCT) receberam a mesma quantidade do veículo (óleo de sésamo), durante oito semanas, todos os dias, para que sejam submetidos ao estresse da técnica, sem causar efeitos fisiológicos. A massa corpórea dos animais foi averiguada toda semana durante o experimento e com isso adequamos a quantidade de DHEA administrado.

5.4. PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO

Os animais dos grupos treinados (GCT e GDT) foram submetidos a sessões de treinamento físico de natação em uma frequência de cinco vezes por semana em dias consecutivos durante oito semanas consecutivas, entretanto o período total protocolo de treinamento foi de dez semanas, devido a utilização de duas semanas antecedentes ao protocolo de treinamento para o processo de adaptação dos animais.

O protocolo de natação foi executado em um tanque de vidro, cujas dimensões correspondem a 100 cm x 50 cm x 60 cm, contendo água aquecida em $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ a uma

profundidade de 40 cm, suficiente para evitar que os animais apoiem a cauda no fundo do mesmo. (Figura 6A e 6B). Durante as sessões de treinamento, cada animal foi colocado em subáreas individuais para evitar estresse e afogamento decorrentes do acúmulo de animais em um mesmo local. O treinamento físico foi realizado sempre no mesmo período do dia, evitando interferência de mudanças no ciclo para os animais.



Figura 6 - Treinamento; 6A: imagem do tanque de vidro utilizado para realização do protocolo; 6B: Imagem dos animais executando o protocolo de natação. Fonte: Autor (2016).

Antes de iniciar o protocolo de treinamento físico, foi realizado um processo de adaptação ao meio líquido, que constituiu em colocar os animais na água a uma temperatura de $30\pm 1^{\circ}\text{C}$, com uma profundidade de 10 cm, por um período de duas semanas, cinco dias por semana, por trinta minutos, com a finalidade de reduzir um possível estresse dos animais ao realizar exercício físico no meio líquido (Adaptado LEITE e ROMBALDI, 2015).

Nas subseqüentes oito semanas, o tempo de treinamento foi progressivo na primeira semana, como mecanismo de adaptação, iniciando com 10 minutos no primeiro dia, finalizando ao quinto dia com 50 minutos. A partir da segunda semana, o tempo permaneceu fixo, sendo de 60 minutos cada sessão, sendo que esse delineamento pode ser observado na Tabela 1.

A partir da segunda semana de treinamento, foi imposta uma sobrecarga de intensidade (peso na cauda) calculada de acordo com a massa corporal inicial dos animais. A sobrecarga foi imposta de forma progressiva, iniciando com 1% da massa corporal e aumentando gradativamente para 5% da massa corporal (tabela 1). Para ajuste da intensidade relativa, os animais foram pesados em uma balança (Filizola) no primeiro dia de cada semana. Esse protocolo de natação foi previamente caracterizado de baixa a moderada intensidade e longa duração, capaz de otimizar a capacidade oxidativa

muscular (LANCHA JÚNIOR, 1991; MEDEIROS, et al., 2000; MEDEIROS, et al., 2004).

Tabela 1 - Delineamento do protocolo de treinamento. Duração da sessão em minutos e carga de treino (%) durante as oito semanas do protocolo de treinamento físico. min = minutos; % = percentual de sobrecarga da massa corporal (Adaptado LANCHA JÚNIOR, 1991).

Semanas								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Segunda-feira	10 min	60 min 1%	60 min 2%	60 min 3%	60 min 4%	60 min 5%	60 min 5%	60 min 5%
Terça-feira	20 min	60 min 1%	60 min 2%	60 min 3%	60 min 4%	60 min 5%	60 min 5%	60 min 5%
Quarta-feira	30 min	60 min 1%	60 min 2%	60 min 3%	60 min 4%	60 min 5%	60 min 5%	60 min 5%
Quinta-feira	40 min	60 min 1%	60 min 2%	60 min 3%	60 min 4%	60 min 5%	60 min 5%	60 min 5%
Sexta-feira	50 min	60 min 1%	60 min 2%	60 min 3%	60 min 4%	60 min 5%	60 min 5%	60 min 5%

O peso foi confeccionado manualmente pela equipe de pesquisadores envolvidos no estudo, e consistiu no agrupamento de chumbos de pesos variados, envoltos em um pequeno saco plástico atado a um elástico de borracha que, posteriormente, foram pesados em uma balança de precisão para atestar o uso adequado da sobrecarga (Figura 7). Os pesos foram posicionados no terço proximal da cauda dos animais, evitando-se que fiquem apertados a ponto de cessar o fluxo sanguíneo local, ou que causassem incômodo ao animal. Ao início de cada semana foi realizada nova pesagem para readequação das cargas, quando necessário.



Figura 7- Imagem de exemplificação da confecção do peso (carga) utilizada no protocolo de treinamento físico. Fonte: Autor (2016).

Os animais dos grupos sedentários (GCS e GDS) foram levados ao laboratório e colocados no tanque com água de baixa profundidade (10 centímetros de imersão) a uma temperatura de $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos, duas vezes por semana, durante as oito semanas do protocolo de natação, para efetivar o efeito do treinamento físico nos grupos treinados e evitar possíveis alterações fisiológicas decorrentes das alterações causadas pelo estresse hídrico. (Adaptado MEDEIROS, et al., 2004).

Ratos são homotérmicos, ou seja, controlam a temperatura corporal, independente da variação térmica do ambiente, variando sua taxa metabólica (ANDERSEN, et al., 2004). Variações bruscas de temperatura podem causar estresse e alterar a taxa metabólica, por esse motivo, após cada sessão de treinamento aquático, os animais foram secados individualmente com toalhas de papel para remover o excesso de água e, em seguida, permaneceram em uma caixa fechada com uma lâmpada de 40 watts por cinco minutos para otimizar a secagem e evitar assim o estresse térmico. Após a secagem, foram realocados em suas respectivas caixas.

5.5. MASSA CORPÓREA E ÍNDICE DE LEE

Os animais foram pesados semanalmente (mesmo dia da semana e mesmo horário). Antes de iniciarmos o protocolo, a amostra foi pesada para serem alocados em

seus respectivos grupos. Após o início do protocolo experimental foi realizada a mensuração da massa corporal a fim de ajuste da carga de treinamento, como também de administração do hormônio DHEA. Além disso, uma outra pesagem foi realizada na data que antecedeu a eutanásia. Para a mensuração da massa corporal, foi utilizada uma balança (marca *Filizola*), com capacidade máxima de 2kg e mínima de 5g. O comprimento nasoanal foi realizado ao final do experimento, após anestesia do animal, com as medidas registradas através de uma fita métrica.

Índice de Lee é utilizado como forma acurada e rápida para determinar obesidade em ratos. O Índice de Lee, foi calculado, ao final do experimento, a partir da relação entre a massa corporal e comprimento nasoanal do animal [massa corporal ^{1/3} (g) / comprimento nasoanal (cm) x 10]. Para valor igual ou inferior a 30 g/cm os animais foram classificados com eutróficos, entretanto, valor superior a 30 g/cm foram classificados como obesos (CAMPOS, et al., 2008; RESENDE, et al., 2016).

5.6. PROTOCOLOS DE REGISTRO

Ao termino da oitava semana do protocolo de treinamento físico, 24 horas após a última sessão de natação, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para canulação. Os animais foram anestesiados com Tribromoetanol (250 mg/kg i.p). Após confirmação de que o animal estivesse sob efeito da anestesia, o mesmo foi posicionado em uma mesa apropriada e fixado em decúbito dorsal para o início da cirurgia.

Foi realizada a tricotomia e abertura do campo cirúrgico, para exposição da artéria e da veia femoral a serem canuladas (Figura 8A). Após dissecação do local e isolamento dos valos, cateteres de polietileno PE-10 fundido a uma extensão de PE-50; *Clay Adams™ Brand, PolyethyleneTubing, Becton Dickinson, Sparks*) foram introduzidos na artéria femoral para registro de PA e outro na veia femoral, para posterior infusão de drogas (Figura 8B e 8C). Após canulação, os cateteres foram exteriorizados através do tecido subcutâneo para região dorsal dos animais e fixados com suturas (Figura 8D), e os mesmos permaneceram 24 horas em caixas individuais para recuperação pós-operatória (DIAS DA SILVA, et al., 2009).

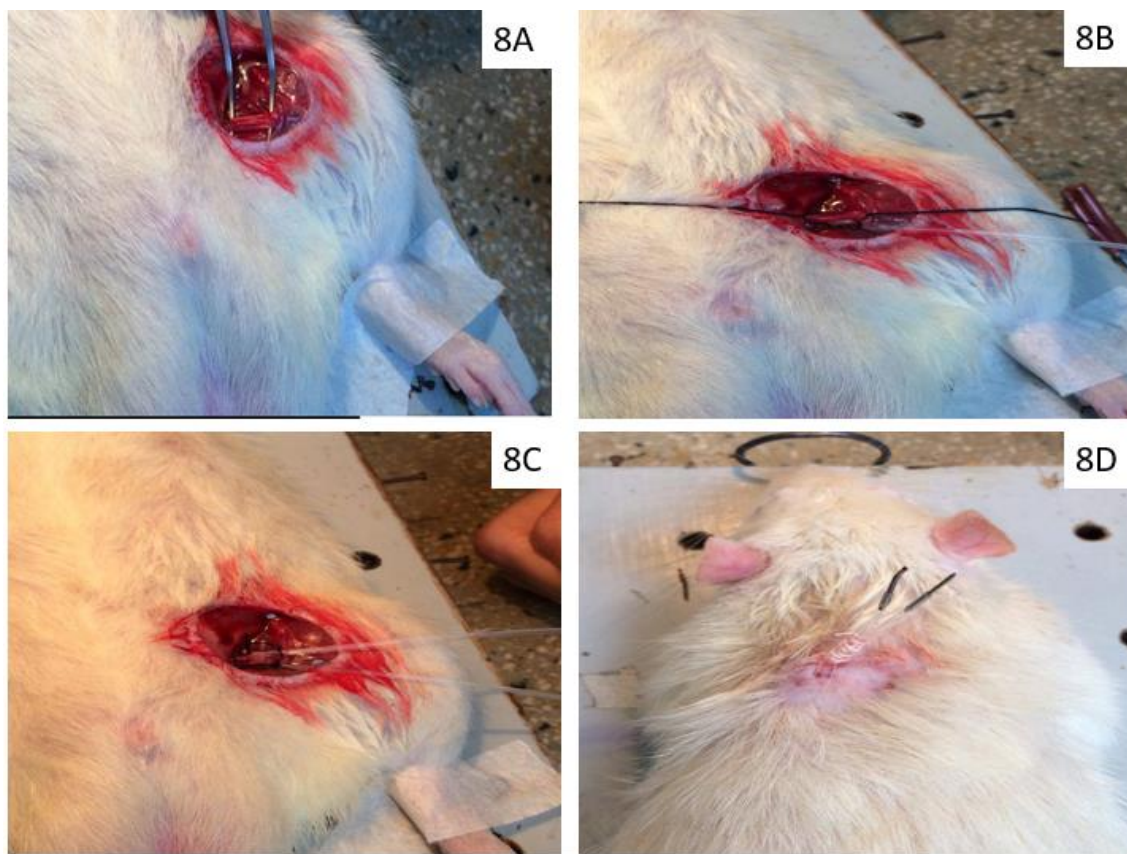


Figura 8 - Canulação; 8A: visualização da abertura do campo cirúrgica para exposição da veia e artéria femoral; 8B: veia pós-canulação e destaque da artéria a ser canulada; 8C: veia e artéria pós-canulação; 8D: visão final com cânulas no dorso do animal. Fonte: Autor (2017).

O registro foi realizado de maneira contínua, com intervalos de aplicação entre os fármacos, detalhados por etapas nas próximas sessões e descritos a seguir.

1ª Etapa. Foram realizados registros contínuos da PA pulsátil por 30 minutos para obtenção dos valores basais da PAS, PAD, FC e variabilidade cardiovascular.

2º Etapa. Foram realizados registros da PA pulsátil sob o efeito da aplicação endovenosa de FEN e NPS para verificação do controle da sensibilidade barorreflexa.

3ª Etapa. Foram realizados registros da PA pulsátil sob o efeito da aplicação endovenosa de ATR e PRP para avaliação do tônus autonômico cardíaco e FIMC e índice simpato-vagal.

5.6.1. 1º etapa do registro: Avaliação de Parâmetros Hemodinâmicos

Após 24 horas de recuperação cirúrgica, o cateter arterial foi conectado a um transdutor de PA (*Statham P23Gb, Hato Rey, PR*) e a um amplificador de sinais (*Model*

8805A, *Hewlett-Packard*, USA), onde o sinal foi convertido por uma placa análogo-digital (com frequência de amostragem – 1000 Hz) e em sequência transferido a um sistema computadorizado de aquisição de dados (*Aqdados*, *Lynx Tec. Eletron. SA*, São Paulo, Brasil) e posteriormente armazenado no computador (Figura 9A e 9B).

Os animais permaneceram em uma sala com temperatura de 27°C e sem ruídos. Após o posicionamento do animal e conexão ao equipamento, os mesmos passaram por um período de adaptação de 15 minutos e em seguida após a adequação da captação do sinal, iniciou o registro contínuo da PA de pulsátil por 30 minutos para obtenção dos valores basais de PA e FC, que foram utilizados posteriormente para análise da VFC e VPA no DT e no DF (DIAS DA SILVA, et al., 2009).

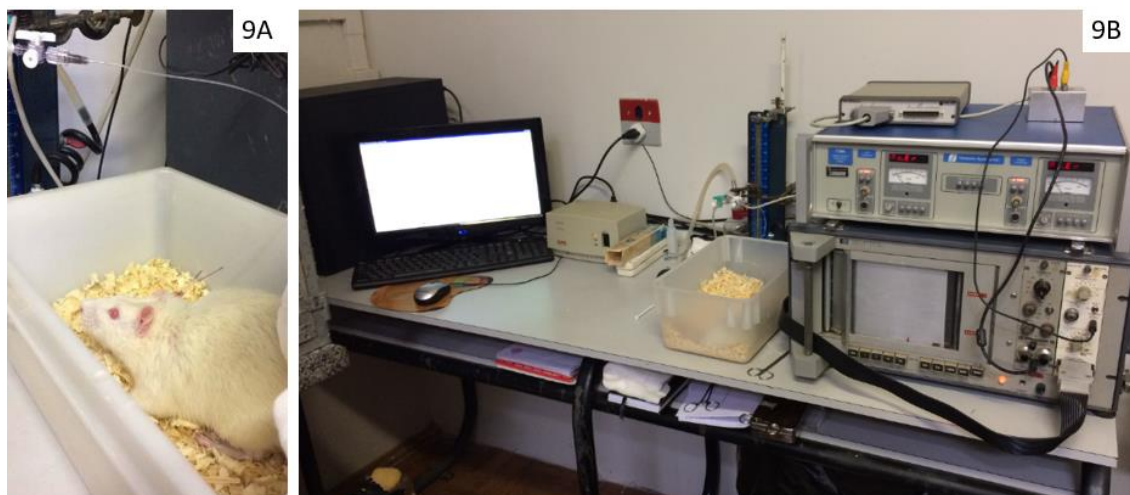


Figura 9 - Laboratório de registro. 9A: Conexão do cateter arterial ao equipamento; 9B: instalação e conexão do equipamento para registro dos parâmetros hemodinâmicos. Fonte: Autor (2017).

5.6.2. 2º etapa do registro: Sensibilidade barorreflexa cardíaca

A segunda etapa do registro foi realizada continuamente ao término do protocolo de registro basal da PA e FC. O teste da sensibilidade barorreflexa foi realizado em todos os animais por meio da avaliação das respostas bradicárdicas e taquicárdicas reflexas, geradas por elevações e reduções da PA. Para isso, foram administradas aleatoriamente, doses endovenosas de FEN (20- 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) e NPS 80- 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$) em concentrações diferentes pelo cateter da veia femoral exteriorizado no dorso dos animais, ambos no volume de 100 ml/kg para cada dose. O intervalo entre cada dose foi de 5 minutos para se registrar as elevações e reduções de PA (Figura 10) (DIAS DA SILVA, et al., 2009).

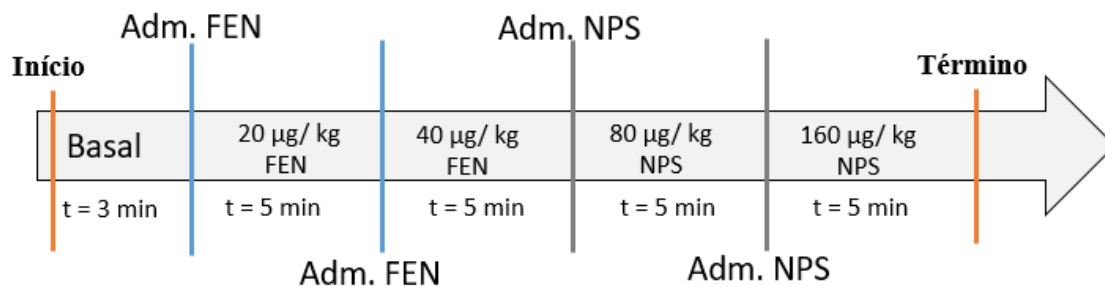


Figura 10 – Representação esquemática do protocolo de teste da sensibilidade barorreflexa cardíaca. min = minutos; t = tempo; Adm = Administração; FEN = Fenilefrina; NPS = Nitropussiato de Sódio; ug/kg = micrograma por quilo de massa corporal. Fonte: Autor (2016).

As magnitudes da bradicardia e taquicardia reflexa induzidas, respectivamente pelas respostas pressóricas da FEN (agonista do receptor $\alpha 1$ -adrenérgico) ou depressora do NPS (vasodilatador), foram calculadas através do método sequencial (FAZAN, et al., 2011; SIMÕES, et al., 2016). Rampas progressivas ou decrescentes da PA sistólica (PAS) e intervalo de pulso (IP) foram automaticamente detectadas a partir de séries de batimento-a-batimento a partir do período basal de gravação. Sequências definidas por rampas de quatro valores de PAS, com alterações paralelas de IP que mostraram coeficientes lineares mais altos que 0,8. Finalmente, a sensibilidade barorreflexa foi calculada como a inclinação (ms/mmHg) das linhas de regressão linear entra a PA e IP subsequentes (FAZAN, et al., 2011)

5.6.3. 3º etapa do registro: Tônus autonômico cardíaco

Após o protocolo de avaliação da sensibilidade barorreflexa cardíaca, foi realizada a terceira etapa, onde foi administrado por via intravenosa um antagonista do receptor muscarínico colinérgico, a ATRO na concentração de 5 mg/kg, a fim de bloquear a ação parassimpática sobre o coração. 10 minutos depois, administraremos um β - bloqueador, PROP, com o propósito de bloquear a atividade simpática no coração, na concentração de 4 mg/kg um registro de mais 10 minutos foi executado. O volume máximo foi de 1,0 ml por injeção. Ambas drogas foram administradas no cateter femoral exteriorizado no dorso do animal (Figura 11). Importante ressaltar que a resposta da FC a essas drogas

tem o seu pico por volta de três a cinco minutos após a administração endovenosa (MACHI, et al., 2016).

Em metade dos animais, para cada grupo experimental, a ordem de bloqueio autonômico foi invertida permitindo a avaliação da frequência intrínseca de marcapasso cardíaco (FIMC), bem como a quantificação do tônus simpático (TS) e vagal (TV) cardíaco e o índice simpato-vagal (ISV). No protocolo incluindo PROP/ ATRO a sequência foi considerada TV, enquanto a resposta do protocolo ATRO/PROP a sequência foi considerada TS. O TS foi determinado com a diferença entre a FC máxima após a injeção de ATRO e FIMC, já o TV foi medido através da diferença entre a FC mais baixa após a injeção de PROP e a FIMC (SANCHES, et al., 2009; SHIMOJO, et al., 2015; MACHI, et al., 2016).

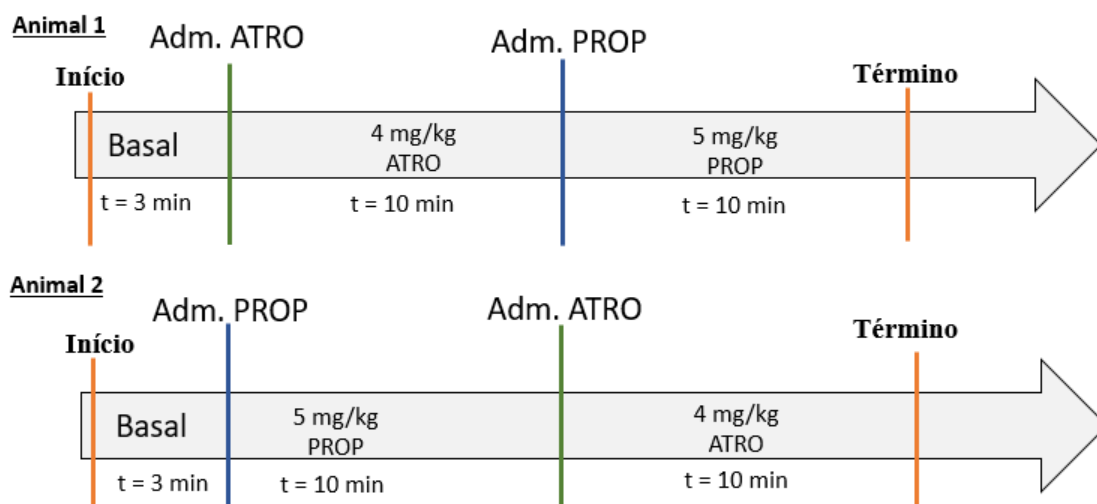


Figura 11 – Representação esquemática do protocolo de teste de tônus autonômico cardíaco. min = minutos; t = tempo; ATRO = Sulfato de Atropina; PROP = Cloridrato de propranolol; mg/kg = miligrama por quilo de massa corporal. Fonte: autor (2016).

5.7. VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO ARTERIAL

O sinal de PA, continuamente registrado ao longo do protocolo, foi processado por *software* específico (PRE 24), gerando séries temporais batimento-a-batimento de IP, PAS e PA diastólica (PAD). A variância dos valores de IP, PAS e PAD dentro do período basal será tomada como um índice de variabilidade no DT.

A variabilidade do IP, PAS e PAD foram também avaliadas no DF, empregando-se o método de análise espectral auto regressivo (AR) (MALLIANI, 1991; TASK FORCE, 1996). Séries temporais de IP, PAS e PAD, coletadas durante os 30 minutos basais, foram divididas em segmentos seriados de 300 batimento, sendo que todo segmento sucessivo sobrepunha em 50% (100 batimentos) ao segmento anterior (método de Welch). Usando segmentos estacionários das séries temporais, parâmetros autoregressivos foram estimados através do método de Levinson-Durbin e a ordem do modelo foi selecionada de acordo com o critério de Akaike. Este procedimento permite uma automática quantificação do centro de frequência e potência de cada componente oscilatório presente na série temporal.

Em seguida, sobre cada segmento estacionário individual de 300 batimentos, a decomposição espectral foi realizada mediante uso do software adequado (LA24). Este procedimento permite automaticamente quantificar a frequência central e a potência de cada componente espectral relevante em unidades absolutas, bem como em unidades normalizadas.

O procedimento de normalização, aplicado à variabilidade do IP e a VPAS e VPAD, foi realizado pela divisão da potência do componente de baixa frequência (low frequency – LF; 0,25-0,75 Hz) ou de alta frequência (high frequency – HF; 0,75 –2,50 Hz) pela potência espectral total, da qual se subtrai a potência da banda de muito baixa frequência (very low frequency – VLF, 0,01-0,25 Hz), multiplicando-se o resultado por 100 (MALLIANI, 1991; TASK FORCE, 1996). Os parâmetros espectrais obtidos para cada segmento estacionário individual de 300 batimentos foram medidos e valores médios resultantes para os 30 minutos basais foram estabelecidos para cada animal.

5.8. EUTANÁSIA E COLETA DE TECIDOS

Após o término dos protocolos experimentais, todos os animais foram eutanasiados com uma dose suprafisiológica de anestésico thiopental sódico (100 mg/kg) seguindo as orientações do “Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais – Conceitos e Procedimentos Recomendados”, criado pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2013). Após a eutanásia dos animais, tecidos foram excisados lavados em solução fisiológica (0,9%) e pesados, tais como o coração (para estudo da massa cardíaca e análise de óxido nítrico), tecido adiposo epididimal e

retroperitoneal (para quantificação de tecido gorduroso) e músculo sóleo (para análise de óxido nítrico).

5.8.1. Massa cardíaca

Após a eutanásia dos animais, os corações foram excisados, lavados em soro fisiológico e pesados, em seguida tiveram suas câmaras separadas da seguinte forma: átrios direito e esquerdo juntos, ventrículos direito e esquerdo, separadamente. Desta forma, foi calculada as razões massa do coração inteiro/massa corporal, massa dos átrios/massa corporal e massa dos ventrículos direito e esquerdo/peso corporal, para estimar a ocorrência de hipertrofia cardíaca com o treinamento físico (MEDEIROS, et al., 2000). Após pesagem, parte do tecido cardíaco foi armazenado e congelado a -80°C para avaliação de concentração de NO.

5.8.2. Tecido adiposo visceral, epididimal e retroperitoneal

A gordura visceral possui alta correlação com o desenvolvimento de doenças e em ratos, pois a mesma é composta principalmente pelos depósitos epididimal e retroperitoneal (MAUER, HARRIS, BARTNESS, 2001). Na presente pesquisa, coletamos a gordura epididimal e retroperitoneal, para mensuração da massa (g) dos tecidos. Consideramos gordura visceral a somatória da gordura epididimal com a retroperitoneal. Os tecidos foram lavados com soro fisiológico, secados e pesados em uma balança de alta precisão para quantificação do tecido adiposo branco.

5.8.3. Músculo sóleo

O músculo sóleo dos animais foram recolhidos, lavados com soro fisiológico (0,9% p/v), secados e pesados. Após a pesagem foram congelados a -80°C para determinação de NO através da dosagem de nitrito.

5.9. CONCENTRAÇÃO DE NITRITO: ÓXIDO NÍTRICO

Para dosagem da concentração de nitrito como forma de inferência de uma variação da função endotelial, o músculo sóleo (porções branca e vermelha) e o coração serão utilizados para fornecer um parâmetro diretamente ligado a *performance* obtida com o treinamento de *endurance*. Serão realizadas análises nos animais e em cada animal serão realizadas três medidas.

Para a dosagem de NO foi realizado a Reação de Griess como descrito por Sá-Nunes e colaboradores, 2007, na qual é feita a quantificação de nitrito no sobrenadante do homogenato de tecido como parâmetro indireto da produção de NO. Para tanto 50µl do sobrenadante do homogenato de tecido, foi então distribuído em placas de 96 poços e seguida da adição de 50µl da solução de revelação na diluição de 1:1 das soluções A e B (A: 1 % sulfamilamida em 5% de ácido fosfórico (H₃PO₄) e B: 0,1% NEED). Para a quantificação de NO, a absorbância foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 554nm. Os resultados foram calculados a partir de uma curva-padrão nitrito de sódio (NaNO₂) e expressos em µM.

5.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média± erro padrão da média (EPM). Teste de Shapiro-Wilks foi empregado para a avaliação da normalidade de distribuição e homogeneidade da variância das amostras. Para análise da massa corporal semanal foi aplicado o teste ANOVA two-way para medidas repetidas. Para as outras variáveis, em se tratando de dados paramétricos, os grupos foram comparados por análise de variância para dois fatores (ANOVA two-way), seguido do pós-teste de Tukey. Para dados não paramétricos os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney. Para análise de associação entre o Variância da VFC e FC foi utilizado o teste de correlação de Pearson. As diferenças entre as comparações efetuadas foram consideradas estatisticamente significativas quando a probabilidade estatística foi menor que 5% ($p < 0,05$). As análises

foram conduzidas utilizando-se o *software SigmaStat® 2.03 (JandelScientific Software; SPSS, Chicago, IL)*.

6. RESULTADOS

Analisando os dados obtidos na presente pesquisa, é possível observar que ao início do protocolo experimental todos os animais utilizados não apresentaram diferenças significativas quanto a massa corporal, demonstrando desta forma a homogeneidade entre os grupos. Por outro lado, ao final das oito semanas, os animais do GDS apresentaram uma inibição do ganho de massa corporal ($403,75 \pm 5,96\text{g}$) quando comparado aos demais grupos ($445,63 \pm 13,44\text{g}$ em GCS; $433,13 \pm 8,07\text{g}$ em GCT e $453,13 \pm 7,25\text{g}$ em GDT; $p < 0,05$). O GDS ($408,13 \pm 3,77\text{g}$) diferiu-se significativamente com o GDT ($436,25 \pm 6,18\text{g}$) e do GCS ($416,88 \pm 6,19\text{g}$; $p < 0,05$) a partir da quarta semana e com o grupo controle treinando ($405,00 \pm 3,54\text{g}$ em GDS; $420,63 \pm 7,04\text{g}$ em GCT; $p < 0,05$) a partir da quinta semana de protocolo (Figura 12).

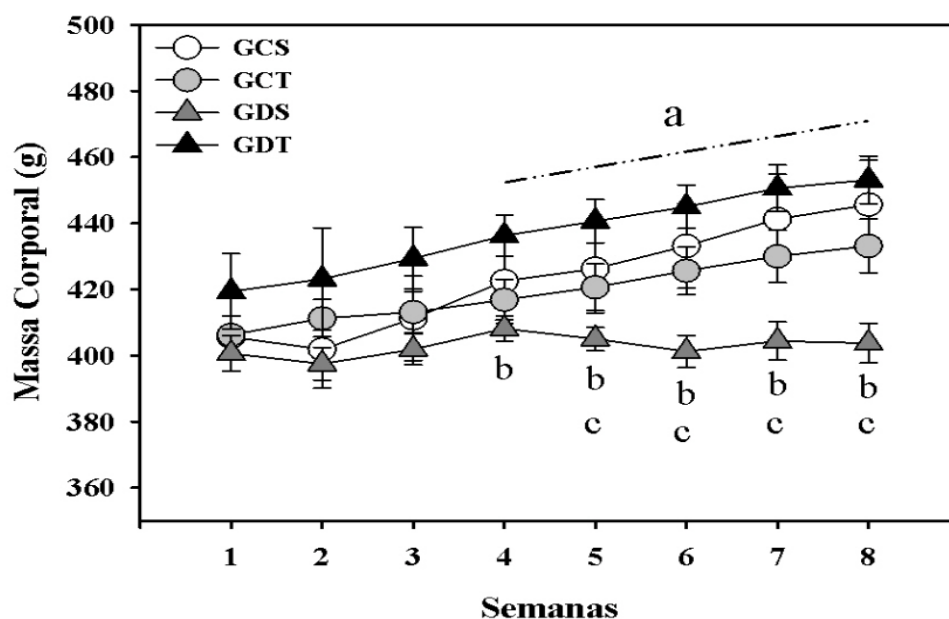


Figura 12 – Valores de média (\pm EPM) da massa corporal semanal das oito semanas. GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p < 0,05$ vs. GDT; ^b $p < 0,05$ vs. GCS; ^c $p < 0,05$ vs. GCT.

Na figura 13A podemos observar que ao final das oito semanas, os animais do GDS ($403,75 \pm 5,96\text{g}$) apresentaram um menor ganho de massa corporal quando comparado aos demais grupos ($445,63 \pm 13,44\text{g}$ em GCS; $433,13 \pm 8,07\text{g}$ em GCT;

453,13±7,25g em GDT; $p < 0,05$). Em relação ao Índice de Lee, utilizado para estimar obesidade em ratos, encontramos um menor valor entre os grupos treinados (52,43±1,86g/cm em GCT; 50,43±0,708g/cm) quando confrontados aos seus respectivos grupos sedentários (56,91±1,54 g/cm em GCS; 57,49±0,83 g/cm em GDS; $p < 0,05$) (figura 13B), porém de acordo com a classificação de Lee, todos os grupos foram classificados como obesos (> 30 g/cm).

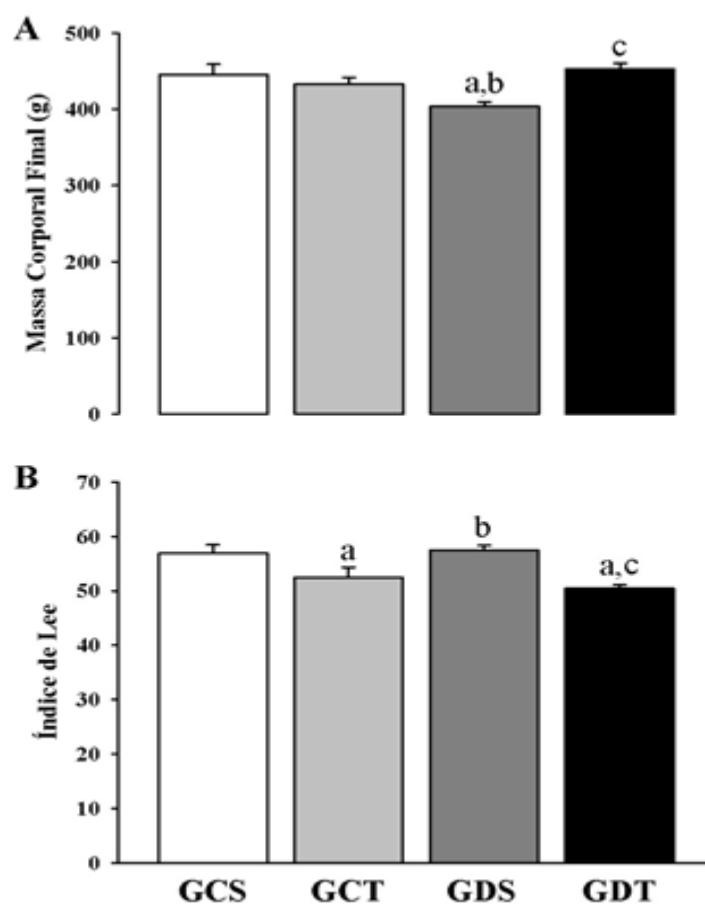


Figura 13 - Valores de média (\pm EPM) da massa corporal final (A) e do Índice de Lee (B). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p < 0,05$ vs. GCS; ^b $p < 0,05$ vs. GCT; ^c $p < 0,05$ vs. GDS; ^d $p < 0,05$ vs. GDT.

Entretanto, podemos evidenciar na Figura 14A que os animais do GDS apresentaram menores valores de gordura epididimal (1,93±0,05g) em comparação aos outros grupos (2,36±0,07g em GDT; 3,12±0,07g em GCS e 2,86±0,07g em GCT; $p < 0,05$). Observou-se também que os animais GDT apresentaram menores valores de gordura epididimal comparados aos animais do GCS e GCT ($p < 0,05$). Em adição, constatou-se que o GCT apresentou menor gordura epididimal em relação ao GCS ($p < 0,05$).

Os valores de gordura retroperitoneal se apresentaram de forma similar aos da gordura epididimal. O GDS ($4,47 \pm 0,10$ g) demonstrou menores valores de gordura retroperitoneal quando comparado aos demais grupos ($5,60 \pm 0,7$ g em GDT; $7,42 \pm 0,24$ g em GCS e $6,68 \pm 0,07$ g em GCT; $p < 0,05$). Além disso, o GDT apresentou menores valores de gordura retroperitoneal comparado aos animais dos grupos controles ($p < 0,05$). Constatou-se também que o GCT apresentou menor gordura retroperitoneal em relação ao seu respectivo grupo sedentário ($p < 0,05$) (Figura 14B).

Os resultados analisados da gordura visceral, foram semelhantes aos encontrados nos demais tipos de gorduras ($6,4 \pm 0,14$ g em GDS; $7,96 \pm 0,7$ g em GDT; $10,54 \pm 0,3$ g em GCS e $9,51 \pm 0,07$ g em GCT; $p < 0,05$), onde podemos observar através da Figura 14C.

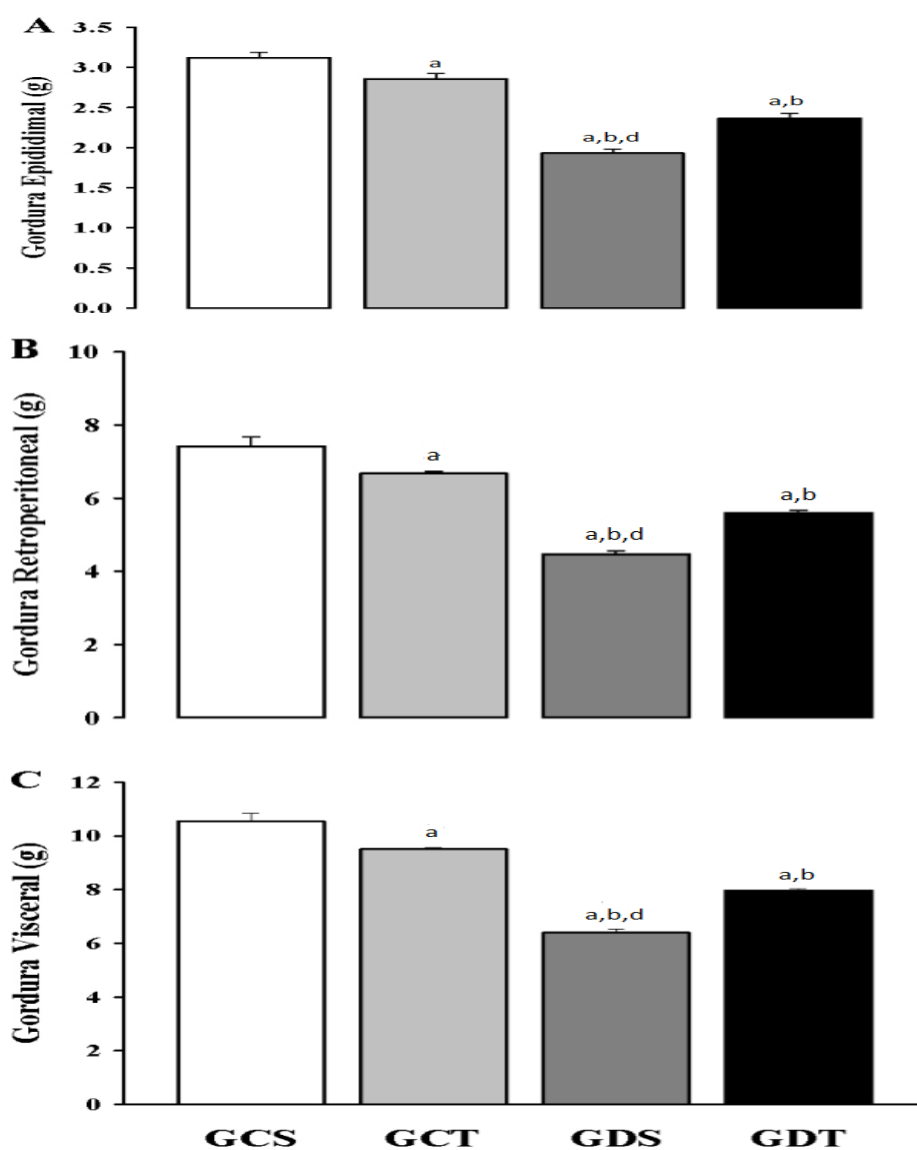


Figura 14 - Valores de média (\pm EPM) da gordura epididimal (A), da retroperitoneal (B) e da visceral (C). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p < 0,05$ vs. GCS; ^b $p < 0,05$ vs. GCT; ^d $p < 0,05$ vs. GDT.

Quando corrigimos os valores de gordura epididimal com a massa corporal, os resultados se mantiveram semelhantes aos encontrados nos valores da gordura absoluta ($0,02\pm 0,01$ g em GCS; $0,01\pm 0,01$ g em GCT; $0,00\pm 0,00$ g em GDS; $0,00\pm 0,01$ g em GDT, $p<0,05$) (Figura 15A), bem como a gordura relativa retroperitoneal ($0,02\pm 0,00$ g em GCS; $0,01\pm 0,01$ g em GCT; $0,00\pm 0,00$ g em GDS e $0,00\pm 0,00$ g em GDT; $p<0,05$) (Figura 15B) e gordura relativa visceral ($0,02\pm 0,00$ g em GCS; $0,02\pm$ g em GCT; $0,01\pm 0,00$ g em GDS e $0,01\pm 0,00$ g em GDT; $p<0,05$) (Figura 15C).

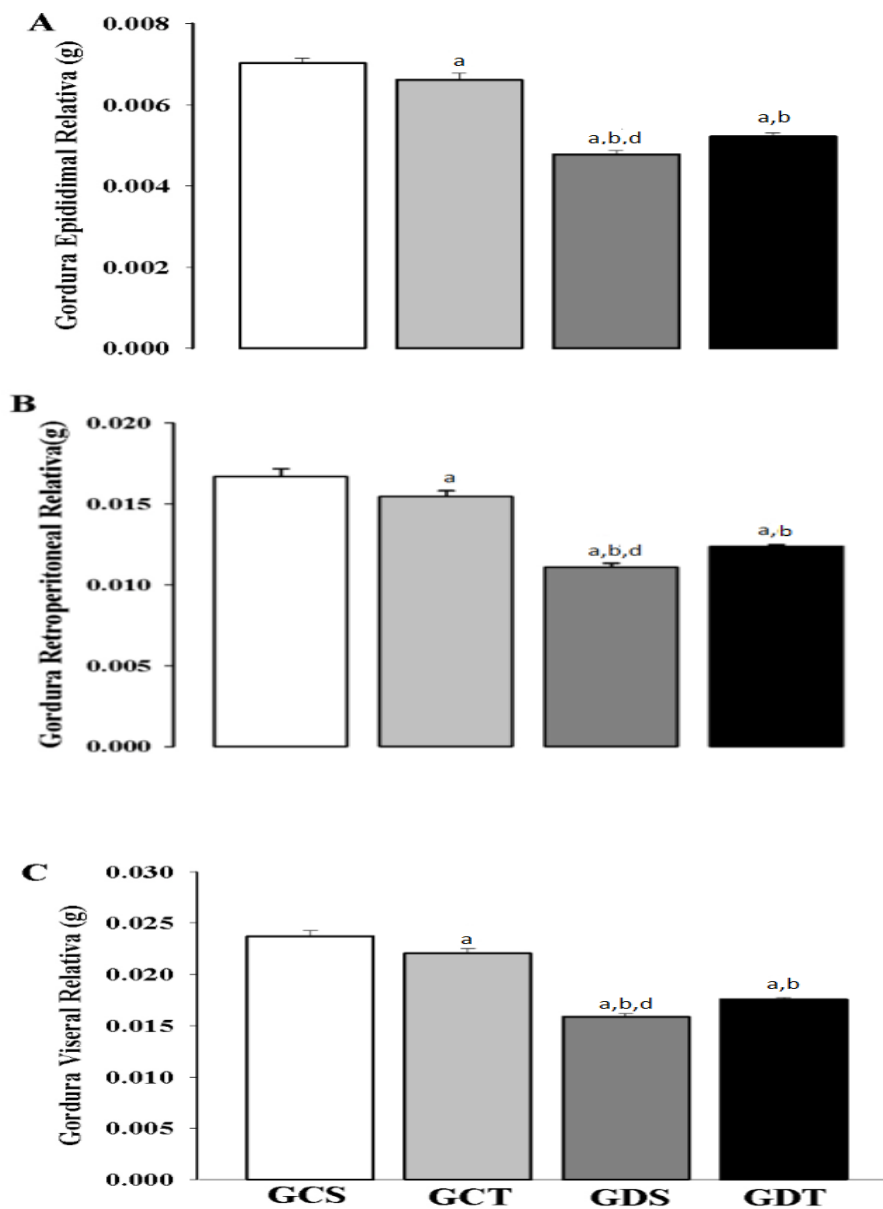


Figura 15 - Valores de média (\pm EPM) da gordura relativa epididimal (A), da retroperitoneal (B) e da visceral (C). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p<0,05$ vs. GCS; ^b $p<0,05$ vs. GCT; ^d $p<0,05$ vs. GDT.

Os registros hemodinâmicos basais fornecem dados capazes de traçar o perfil da FC e da PA de repouso dos animais e podem ser evidenciados na Tabela 2. A FC basal do GDS, apresentou-se reduzida ($322,7 \pm 7,0$ bpm) em relação ao GCS ($362,7 \pm 10,0$ bpm; $p < 0,05$). Além disso, o GCT apresentou uma maior bradicardia ($284,7 \pm 8,0$ bpm) de repouso quando comparado aos demais grupos (em GDS; $322,7 \pm 7,0$ bpm $332,0 \pm 7,6$ bpm em GDT e $362,7 \pm 10,0$ bpm em GCS; $p < 0,05$).

Em se tratando dos níveis pressóricos, pode-se observar não houve diferença no comportamento da PAS entre os grupos estudados. Entretanto, a PAD dos grupos que receberam DHEA por um período de oito semanas foram significativamente maiores ($105,9 \pm 3,9$ mmHg em GDS; $104,1 \pm 2,6$ mmHg em GDT) em relação ao GCS ($78,2 \pm 3,5$ mmHg; $p < 0,05$). Resultados similares foram constatados na PAM, cujo os valores foram maiores nos grupos DHEA ($111,8 \pm 4,8$ mmHg em GDS; $112,8 \pm 2,4$ mmHg em GDT) em relação ao GCS ($91,2 \pm 2,6$ mmHg), além disso a PAM do GDT foi maior em relação ao GCT ($99,3 \pm 6,8$ mmHg; $p < 0,05$).

Tabela 2 – Parâmetros hemodinâmicos basais dos animais dos grupos controle sedentário (GCS), controle treinado (GCT), DHEA sedentário (GDS) e DHEA treinado (GDT).

	GCS (n=08)	GCT (n=08)	GDS (n=08)	GDT (n=08)
FC (bpm)	$362,7 \pm 10,0$	$284,7 \pm 8,0^a$	$322,7 \pm 7,0^{a,b}$	$332,0 \pm 7,6^b$
PAS (mmHg)	$117,1 \pm 3,1$	$116,4 \pm 6,1$	$123,7 \pm 7,3$	$130,2 \pm 3,2$
PAD (mmHg)	$78,2 \pm 3,5$	$90,7 \pm 7,4$	$105,9 \pm 3,9^a$	$104,1 \pm 2,6^a$
PAM (mmHg)	$91,2 \pm 2,6$	$99,3 \pm 6,8$	$111,8 \pm 4,8^a$	$112,8 \pm 2,4^{a,b}$

Dados apresentados como média \pm (epm). FC = frequência cardíaca, PAS = pressão arterial sistólica, PAD = pressão arterial diastólica e PAM = pressão arterial média. ^a $p < 0,05$ vs. GCS; ^b $p < 0,05$ vs. GCT.

A Tabela 3 refere-se aos valores médios da VFC em repouso no DT e no DF. Nota-se que o IP do GCT foi maior ($211,85 \pm 5,75$ ms) em relação aos demais grupos ($186,57 \pm 4,25$ ms em GDS; $181,36 \pm 4,12$ ms em GDT e $166,29 \pm 4,57$ ms em GCS; $p < 0,05$).

Além disso, o GDT e GDS obtiveram maiores valores de IP quando comparado ao GCS ($p < 0,05$). Verificamos também que os grupos treinados apresentaram uma maior variância da VFC ($54,46 \pm 8,29 \text{ms}^2$ em GDT; $50,57 \pm 3,10 \text{ms}^2$ em GCT) com uma diferença significativa em relação aos seus respectivos grupos sedentários ($39,13 \pm 5,93 \text{ms}^2$ em GDS; $36,36 \pm 5,09 \text{ms}^2$ em GCS; $p < 0,05$).

Através da análise do DF, traçamos o perfil da modulação dos sistemas simpáticos e parassimpáticos, decompostos em espectros de frequência. No que tange a atuação simpática, representada pelo componente da banda de LF, os grupos treinados tiveram uma menor modulação ($5,11 \pm 1,15 \text{ms}^2$ em GDT; $10,00 \pm 2,36 \text{ms}^2$ em GCT) em relação aos grupos sedentários ($17,67 \pm 5,08 \text{ms}^2$ em GDS; $20,09 \pm 2,29 \text{ms}^2$ em GCS; $p < 0,05$). Resultados estes que se mantiveram quando analisamos os valores normalizados do componente LF (LFnu), no qual os grupos treinados mostraram menores valores ($18,64 \pm 2,10 \text{ms}^2$ em GDT; $19,62 \pm 2,02 \text{ms}^2$ em GCT) quando comparados aos seus respectivos grupos sedentários ($26,31 \pm 3,57 \text{ms}^2$ em GDS; $31,37 \pm 3,01 \text{ms}^2$ em GCS, $p < 0,05$).

Em contrapartida, podemos evidenciar que a influência vagal, representada pelo HF, não se diferiu entre os grupos ($p = 0,065$). Entretanto, quando analisamos o HF normalizado (HFnu), o GDS apresentou maiores valores ($73,69 \pm 3,57 \text{ms}^2$) em relação ao GCS ($41,43 \pm 2,69 \text{ms}^2$; $p < 0,05$). O HFnu nos grupos treinados mostrou-se maior ($80,52 \pm 1,93 \text{ms}^2$ em GDT; $84,10 \pm 3,39 \text{ms}^2$ em GCT; $p < 0,05$) em relação a GCS ($p < 0,05$). Quanto ao VLF, que há indícios de relação com o SRAA e à termorregulação os grupos não se diferiram entre si.

Para estabelecer as alterações absolutas e relativas entre componentes simpáticos e vagais, a fim de caracterizar o balanço autonômico sobre o coração, calculamos a relação LF/HF. Após o cálculo, verificamos que o GDS apresentou menor índice ($0,75 \pm 0,15$), com uma diferença significativa ao ser comparado com o GCS ($1,71 \pm 0,64$; $p < 0,05$). Ademais, os grupos treinados apresentaram menor relação LF/HF ($0,20 \pm 0,05$ em GDT; $0,28 \pm 0,08$ em GCT), comparado aos grupos sedentários ($p < 0,05$).

Tabela 3 – Valores das médias (\pm EPM) dos componentes da VFC no domínio do tempo e da frequência nos animais do grupo controle sedentário (GCS), controle treinado (GCT), DHEA sedentário (GDS) e DHEA treinado (GDT).

	GCS	GCT	GDS	GDT
IP (ms)	166,29 \pm 4,57	211,85 \pm 5,75 ^a	186,57 \pm 4,25 ^{a,b}	181,36 \pm 4,12 ^{a,b}
Variância (ms ²)	36,36 \pm 5,09	50,57 \pm 3,10 ^a	39,13 \pm 5,93 ^b	54,46 \pm 8,29 ^{a,c}
VLF (ms ²)	26,34 \pm 7,61	21,91 \pm 2,62	25,93 \pm 2,38	30,26 \pm 5,37
LF (ms ²)	20,09 \pm 2,29	10,00 \pm 2,36 ^a	17,67 \pm 5,08 ^b	5,11 \pm 1,15 ^{a,c}
LFnu (%)	31,37 \pm 3,01	19,62 \pm 2,02 ^a	26,31 \pm 3,57 ^b	18,64 \pm 2,10 ^{a,c}
HF (ms ²)	20,84 \pm 4,35	40,69 \pm 3,79	26,79 \pm 9,15	28,75 \pm 3,43
HFnu (%)	41,43 \pm 2,69	84,10 \pm 3,39 ^a	73,69 \pm 3,57 ^a	80,52 \pm 1,93 ^a
Relação LF/HF	1,71 \pm 0,64	0,28 \pm 0,08 ^a	0,75 \pm 0,15 ^{a,b}	0,20 \pm 0,05 ^{a,c}

Dados expressos como média \pm EPM. IP = intervalo de pulso; VLF = banda de muito baixa frequência “very low frequency”; LF = banda de baixa frequência “low frequency”; HF = banda de alta frequência “high frequency”; nu = unidades normalizadas. ^a p<0,05 vs. GCS; ^b p<0,05 vs. GCT; ^c p<0,05 vs. GDS.

A tabela 4 apresenta resultados da variabilidade da PAS e PAD. Podemos evidenciar que o GDS (12,62 \pm 3,51mmHg²) possui menores valores de variância da PAS em relação aos demais grupos (19,62 \pm 5,75mmHg² em GDT; 25,56 \pm 2,95mmHg² em GCS; 23,08 \pm 2,07mmHg²; p<0,05). Não houve diferença quanto aos valores da banda LF entre os grupos, tampouco dos seus valores normalizados (LFnu) na VPAS, bem como no componente VLF.

Em relação a VPAD, o GDS apresentou menor variância (9,70 \pm 2,46ms²) em relação aos demais grupos (20,68 \pm 5,28mmHg² em GDT; 19,78 \pm 2,52mmHg² em GCS; 18,08 \pm 3,60mmHg² em GCT; p<0,05). Outrossim, o GDS apresentou menor valor médio de LF (3,58 \pm 0,96mmHg²) comparado com os demais grupos (8,59 \pm 2,50mmHg² em GDT; 7,62 \pm 1,30mmHg² em GCS; 6,20 \pm 0,76mmHg² em GCT; p<0,05). No entanto, quando analisamos os valores de LFnu não encontramos diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 4 – Valores das médias (\pm EPM) dos componentes da VPAS (Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica) e VPAD (Variabilidade da Pressão Arterial Diastólica) no domínio do tempo e da frequência nos animais do grupo controle sedentário (GCS), controle treinado (GCT), DHEA sedentário (GDS) e DHEA treinado (GDT).

	GCS	GCT	GDS	GDT
VPAS				
Variância (mmHg ²)	25,56 \pm 2,95	23,08 \pm 2,07	12,62 \pm 3,51 ^{a,b}	19,62 \pm 5,75 ^c
VLF (mmHg ²)	13,45 \pm 1,79	11,34 \pm 1,30	5,69 \pm 1,84	9,00 \pm 2,99
LF (mmHg ²)	8,91 \pm 1,01	5,92 \pm 1,00	5,23 \pm 1,51	8,42 \pm 2,43
LFnu (%)	70,35 \pm 3,13	71,07 \pm 5,20	74,02 \pm 3,55	78,69 \pm 0,99
VPAD				
Variância (mmHg ²)	19,78 \pm 2,52	18,08 \pm 3,60	9,70 \pm 2,46 ^{a,b}	20,68 \pm 5,28 ^c
VLF (mmHg ²)	10,64 \pm 1,40	9,02 \pm 2,15	5,04 \pm 1,46	9,36 \pm 2,37
LF (mmHg ²)	7,62 \pm 1,30	6,20 \pm 0,76	3,58 \pm 0,96 ^{a,b}	8,59 \pm 2,50 ^c
LFnu (%)	79,40 \pm 3,74	71,03 \pm 4,80	76,00 \pm 4,58	77,34 \pm 1,93

Dados expressos como média \pm EPM. VLF = banda de muito baixa frequência “very low frequency”; LF = banda de baixa frequência “low frequency”; HF = banda de alta frequência “high frequency”; nu = unidades normalizadas. ^a p<0,05 vs. GCS; ^b p<0,05 vs. GCT; ^c p<0,05 vs. GDS

A Figura 16 ilustra o efeito direto do bloqueio simples de cada sistema do controle autonômico cardíaco. Ao administrarmos PROP intravenosa, bloqueamos a ação do SNS, de modo que seja possível segregar a ação deste sistema sobre a FC. Após analisarmos a FC antes e após a infusão de PROP, avaliamos o ES. Verificamos um menor ES no GDS (-15,22 \pm 3,72bpm) quando confrontados aos respectivos grupos controle (-30,70 \pm 3,55bpm em GCS; -30,06 \pm 2,04bpm; p<0,05). Já na Figura 17, demonstra o bloqueio simples do SNS após infusão de ATRO. Desta maneira, após analisarmos a FC antes e após a droga, avaliamos o EV sobre o coração. Não houve diferença significativa entre os grupos nessa variável.

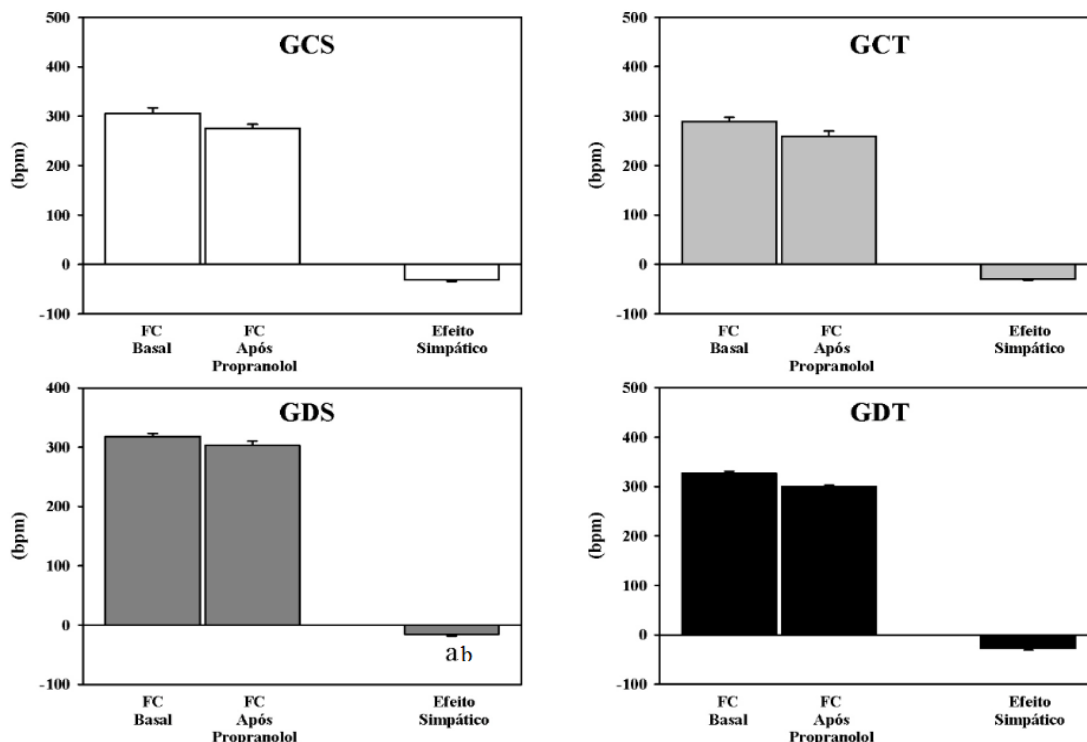


Figura 16 - Valores de média (\pm EPM) do efeito simpático. GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado; FC = frequência cardíaca. a $p < 0,05$ vs. GCS; b $p < 0,05$ vs. GCT

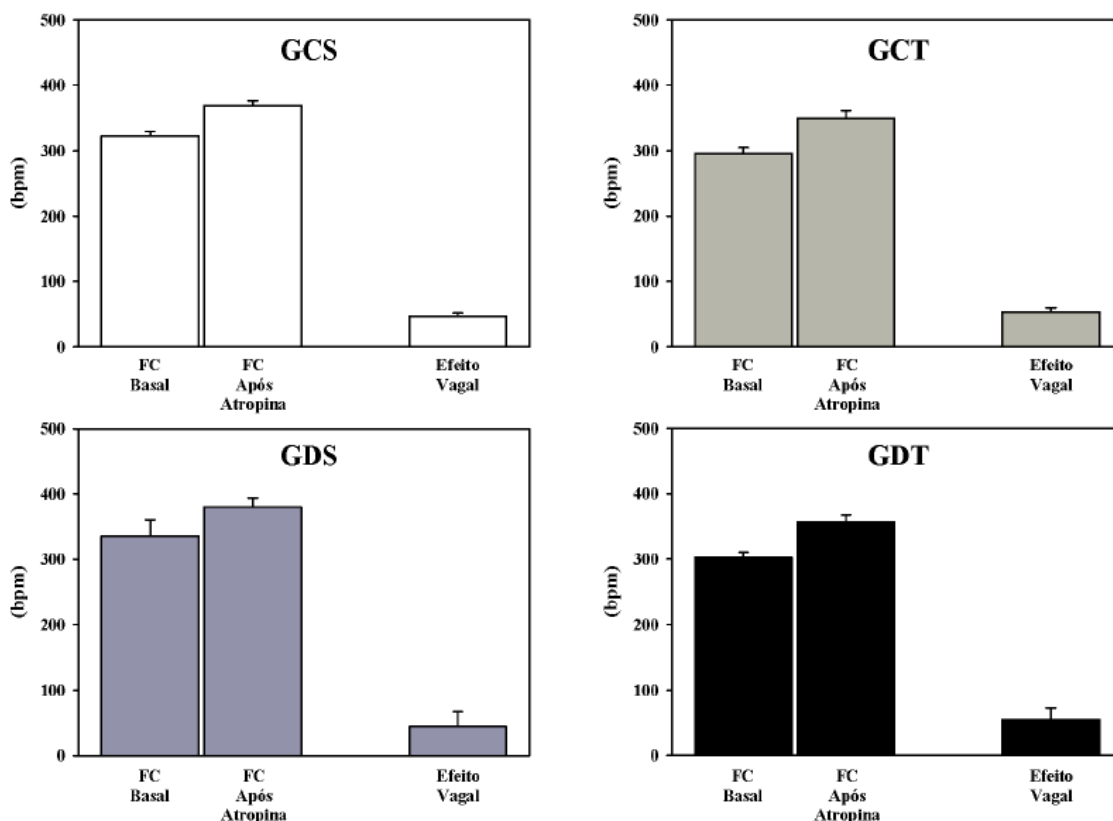


Figura 17 - Valores de média (\pm EPM) do efeito vagal. GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado; FC = Frequência cardíaca.

A FIMC está representada na figura 18, juntamente com o TS e TV. A FIMC não apresentou diferença entre os grupos. Já o TV no GCT apresentou maior valor ($-70 \pm 14,49 \text{ bpm}$) comparado aos grupos GDS e GDT ($-32,41 \pm 12,39 \text{ bpm}$ em GDS e $-32,85 \pm 15,31 \text{ bpm}$; $p < 0,05$), demonstrando um aumento da ação parassimpática sobre o coração. O GCS demonstrou um maior TV ($-52,11 \pm 1,58 \text{ bpm}$) em relação aos grupos DHEA ($p < 0,05$). O GDS demonstrou um maior TS ($32,41 \pm 12,39 \text{ bpm}$) em relação ao GCS ($34,55 \pm 2,90 \text{ bpm}$; $p < 0,05$) e ao GDT ($26,02 \pm 3,02 \text{ bpm}$; $p < 0,05$).

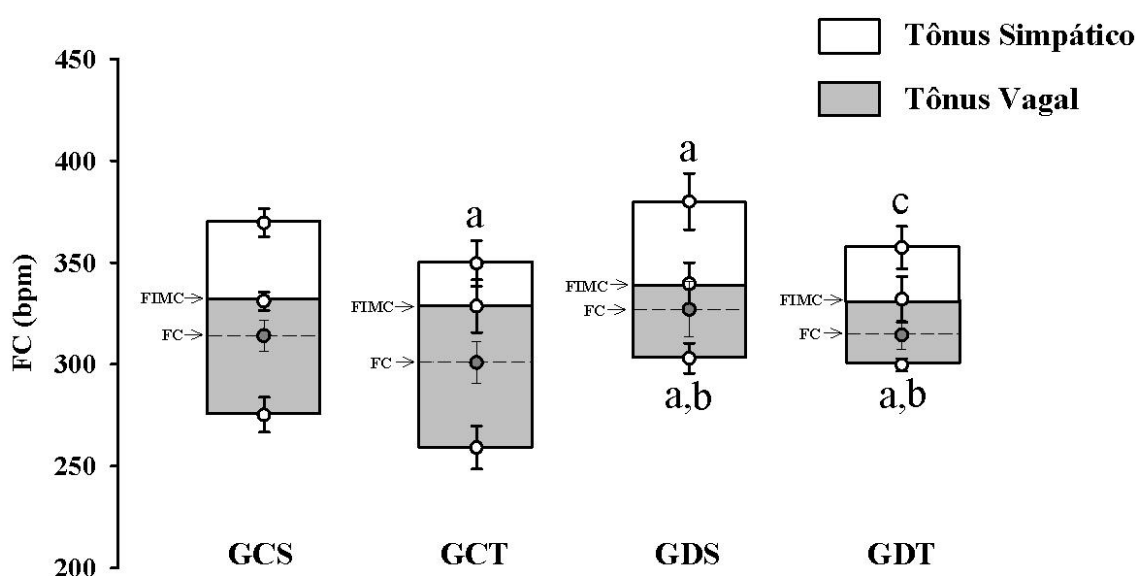


Figura 18 - Valores de média (\pm EPM) do tônus autonômico cardíaco e frequência intrínseca de marcapasso cardíaco. GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado; FC = Frequência cardíaca. ^a $p < 0,05$ vs. GCS; ^b $p < 0,05$ vs. GCT; ^c $p < 0,05$ vs. GDS.

A sensibilidade barorreflexa foi avaliada por meio de respostas bradicárdicas e taquicárdicas reflexas, geradas por elevações e reduções da PA nas diferentes doses de FEN e NPS. Os valores de taquicardia e bradicardia reflexa estão ilustradas na Figura 19. Não houve diferença considerável entre os grupos, independente da dose dos fármacos utilizados (19A e 19B) e da somatória das dosagens (19C).

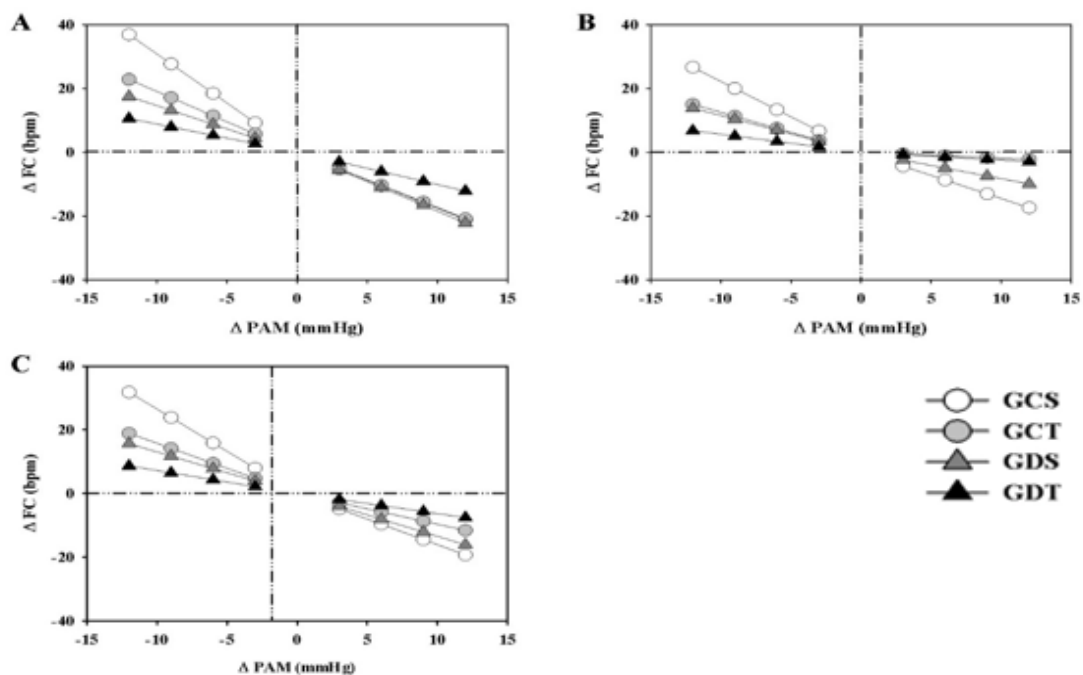


Figura 19 - Valores de média (\pm EPM) das respostas bradicárdicas e taquicárdicas das doses de FEN (20 μ g/Kg e NPS (80 μ g/Kg) (A) das respostas bradicárdicas e taquicárdicas das doses de FEN (40 μ g/Kg) e NPS (160 μ g/Kg) (B) e da somatória das respostas (C). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado.

Podemos evidenciar na Figura 20B, que o GDS teve valores de concentração de NO cardíaco significativamente maiores quando relacionado ao GDT. Além disso, o GDT obteve valores menores quando relacionado ao GCS. Já em relação a dosagem de concentrações de NO no músculo sóleo, não encontramos diferenças significativas entre os grupos (figura 20A).

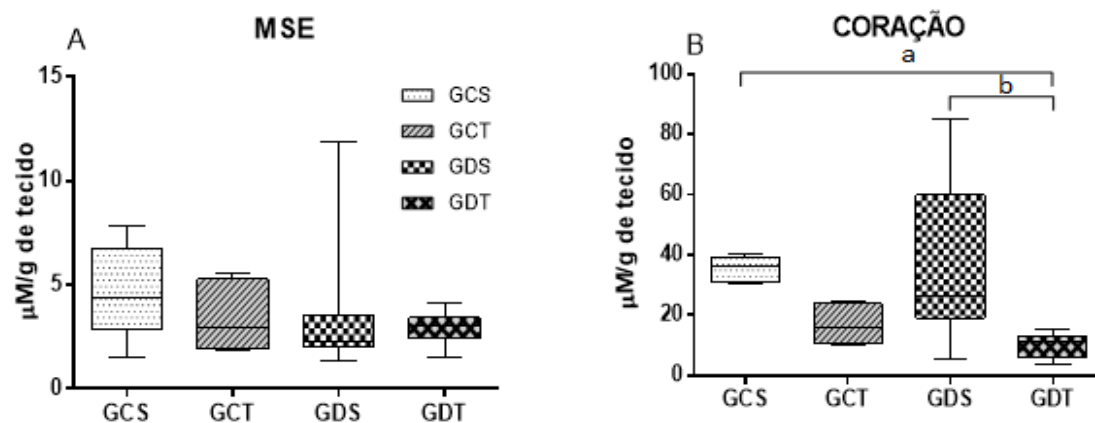


Figura 20 - Valores de mediana (\pm EPM) dos níveis de produção de óxido nítrico no músculo sóleo esquerdo (MSE) (A) e no coração (B). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p < 0,05$ vs. GCS; ^b $p < 0,05$ vs. GDS

Para estimar a hipertrofia cardíaca o coração foi excisado, lavado e posteriormente pesado. A figura 21A, refere-se a massa cardíaca absoluta, onde podemos observar um maior valor dos grupos treinados ($1,62\pm 0,04$ g em GDT; $1,53\pm 0,05$ g em GCT), quando confrontados aos grupos sedentários ($1,21\pm 0,03$ g em GDS; $1,33\pm 0,05$ g em GCS; $p<0,05$). Além disso, a massa cardíaca do GCS, foi maior quando comparada ao GDS ($p<0,05$). Valores dos átrios dos GDT ($0,11\pm 0,00$ g) e GCT ($0,11\pm 0,00$ g), foram significativamente maiores em relação aos grupos sedentários ($0,08\pm 0,00$ g em GDS; $0,09\pm 0,01$ g; $p<0,05$) (Figura 21B).

Em relação a massa ventricular esquerda, podemos evidenciar maior peso do VE nos grupos treinados ($0,99\pm 0,02$ g em GDT; $0,95\pm 0,03$ g em GCT) em relação aos sedentários ($0,66\pm 0,02$ g em GDS; $0,73\pm 0,03$ g em GCS; $p<0,05$). Além disso, o GDS apresentou menor peso do VE quando comparado ao GCS ($p<0,05$) (Figura 21C). Em adição, o grupo treinado DHEA apresentou maior peso do VD ($0,52\pm 0,03$ g) em relação ao seu respectivo grupo sedentário ($0,47\pm 0,01$ g em GDS; $p<0,05$). Já o GCS demonstrou maior peso do VD ($0,51\pm 0,01$ g) quando comparado ao GCT ($0,47\pm 0,02$ g; $p<0,05$) (Figura 21D).

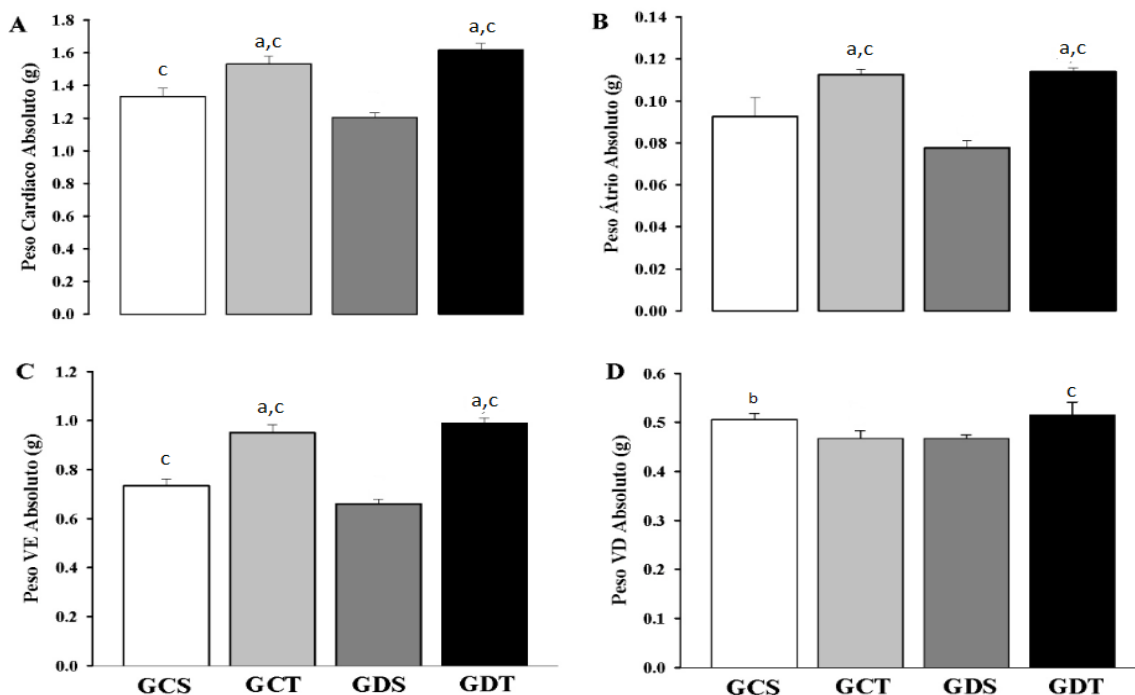


Figura 21 - Valores de média (\pm EPM) do peso do coração absoluto (A), do peso do átrio absoluto (B) e do peso do ventrículo esquerdo (VE) absoluto (C) e do peso do ventrículo direito (VD) absoluto (D). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p<0,05$ vs. GCS; ^b $p<0,05$ vs. GCT; ^c $p<0,05$ vs. GDS.

Podemos observar na Figura 22A que quando realizamos a correção da massa cardíaca absoluta com a massa corporal os grupos treinados demonstraram valores elevados de massa cardíaca relativa ($0,0035\pm 0,00004g$ em GDT; $0,00353\pm 0,00005g$ em GCT) quando confrontados com os grupos sedentários ($0,0029\pm 0,00005g$ em GDS; $0,0029\pm 0,00003g$ em GCS; $p<0,05$), assim como a massa relativa dos átrios, os GDT ($0,00025\pm 0,00g$) e GCT ($0,00026\pm 0,00g$), foram maiores em relação aos grupos sedentários ($0,00019\pm 0,00001g$ em GDS; $0,00021\pm 0,00001g$ em GCS; $p<0,05$)(Figura 22B).

Evidenciamos, através da figura 22C, que o peso relativo do VE relativa foi maior nos grupos treinados ($0,00218\pm 0,00004g$ em GDT; $0,00219\pm 0,00004g$ em GCT) em relação aos grupos sedentários ($0,00163\pm 0,00004g$ em GDS; $0,00165\pm 0,00003g$ em GCS; $p<0,05$). Em contrapartida, o peso relativo do VD não se diferiu entre os grupos (Figura 22D).

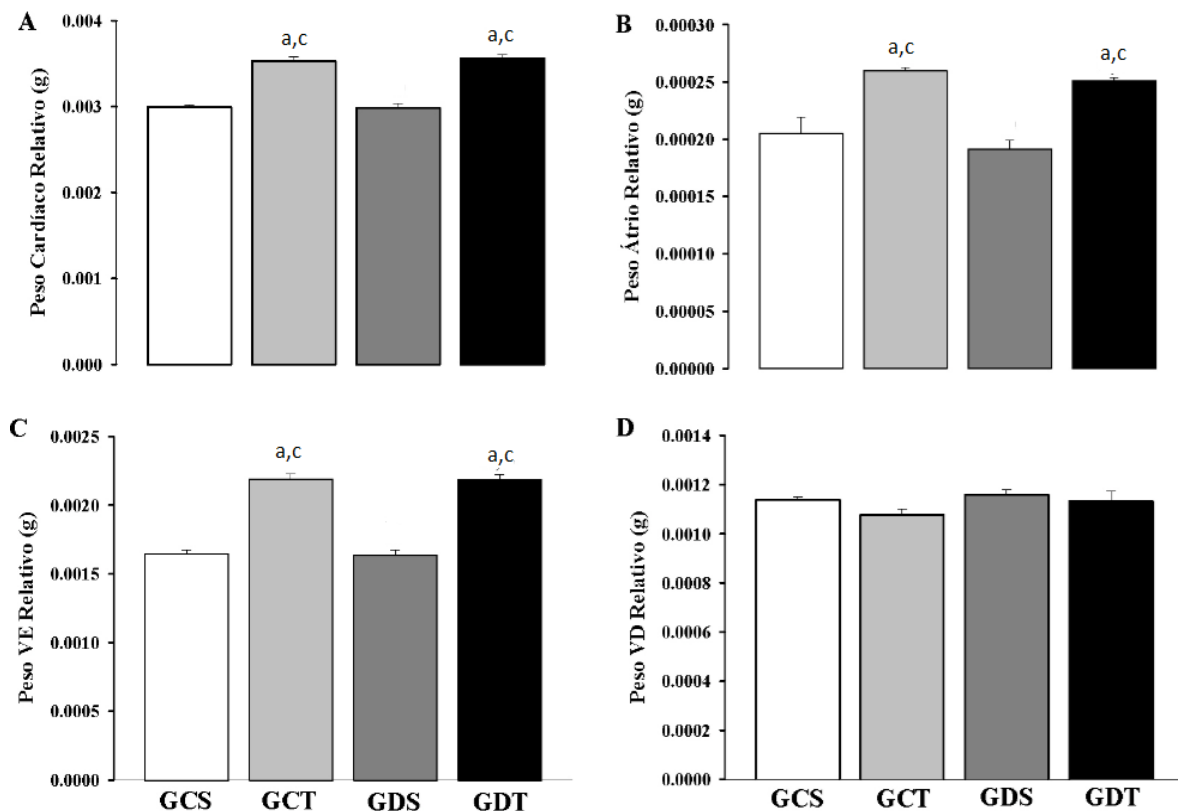


Figura 22 - Valores de média (\pm EPM) do peso do coração relativo (A), do peso do átrio relativo (B) e do peso do ventrículo esquerdo (VE) relativo (C) e do peso do ventrículo direito (VD) relativo (D). GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado. ^a $p<0,05$ vs. GCS; ^c $p<0,05$ vs. GDS.

Podemos observar na Figura 22 uma correlação significativa e negativa entre a variância da VFC e a FC de repouso ($r = -0,36$, $p = 0,04$), ou seja, quanto maior a variância da VFC menor os níveis basais da FC.

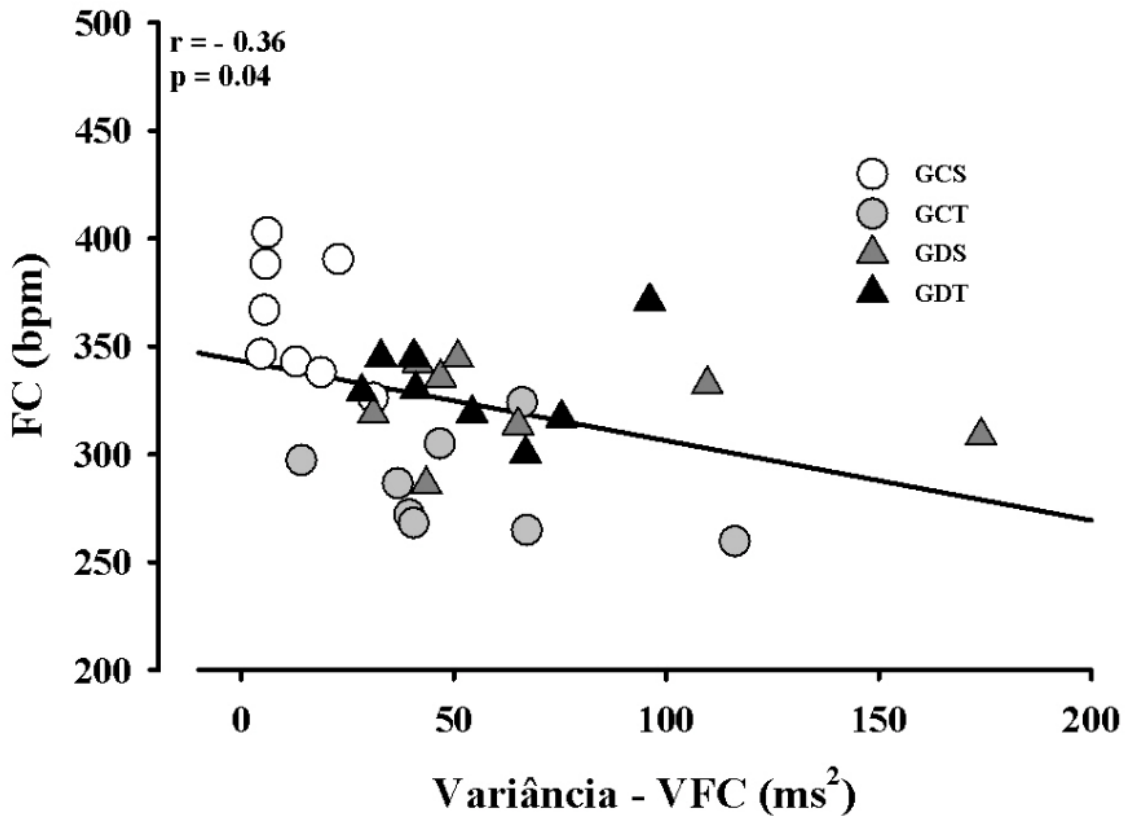


Figura 23 – Correlação entre frequência cardíaca (FC) e variância da variabilidade da FC (VFC) GCS = Grupo controle sedentário; GCT = Grupo controle treinado; GDS = Grupo DHEA sedentário; GDT = Grupo DHEA treinado

7. DISCUSSÃO

Diversos estudos confirmam uma alteração da composição corporal com a prática regular de exercício físico, aumentando a massa magra e reduzindo a massa gorda (OZCELIK, et al., 2015; YUAN, et al., 2016). Uma forma acurada e rápida para determinar a obesidade em ratos é o Índice de Lee. Na presente pesquisa, os animais dos grupos treinados apresentaram menores valores de índice de Lee, supondo uma possível relação do treinamento físico aeróbico com diminuição do peso corporal, entretanto, todos

os animais foram classificados como obesos (>30 g/cm). Apesar de um maior índice de Lee nos grupos DHEA (GDS e GDT), quando quantificamos o tecido epididimal, retroperitoneal e a somatório de ambos (visceral), o GDS e GDT apresentou menores valores de gordura.

Como mencionado anteriormente, evidenciamos em nossa pesquisa que a administração da DHEA isolada e/ou combinação da DHEA com o treinamento físico aeróbio de oito semanas foram eficazes para diminuição da gordura abdominal. Os mecanismos para tal fato, ainda não são claros, entretanto, um estudo com duas semanas de administração de DHEA demonstrou uma ativação de enzimas do metabolismo dos ácidos graxos, tais como acetil-coenzima A, e também síntese de gordura de cadeia longa para aumentar os níveis de coenzima A livre no fígado (MOHAN, et al., 1990), portanto DHEA parece estar envolvido na ação lipólise.

No que tange a avaliação dos parâmetros hemodinâmicos, nossos achados demonstraram uma maior FC de repouso nos grupos sedentários como também no grupo GDT em comparação com o GCT. Observamos uma bradicardia no GCT, sugerindo a ação benéfica do treinamento físico aeróbio. Este resultado é condizente a literatura, que demonstra uma redução da FC como adaptação do SCV, possivelmente devido a atenuação do SNP (SMITH, et al., 1989; MEDEIROS, et al., 2000; MEDEIROS, et al., 2004) e, simultaneamente, uma redução do SNS (CORNELISSEN, FAGARD, 2005) e da FIMC (NEGRÃO, et al., 2013), possibilitando uma menor FC de repouso. No entanto, a redução da FC do GCT em nosso trabalho pode ser explicada por uma menor atuação simpática, representado por um menor valor médio de LF, como também por um HFnu maior quando comparado aos grupos sedentários e ainda um maior TV.

Os valores de PAS obtidos no presente estudo não diferiram entre os grupos após o protocolo experimental. Este achado vai de acordo com estudos em seres humanos e ratos normotensos, onde autores já relataram a falta de adaptação na resposta da PA (MIZUNO, et al., 2011). Como tratamento não farmacológico, o treinamento físico se mostra bem eficiente para pacientes hipertensos (MARCEAU, et al., 1993; VÉRASSILVA, et al., 1997; BRUM, et al., 2000; NEGRÃO, URBANA, RONDON, 2001; CAVALCANTE, et al., 2015), contudo, seus efeitos em modelos animais experimentais e humanos normotensos parece ser mínimo (MEDEIROS, et al., 2004). Entretanto, quando observamos valores de PAD e PAM, os grupos com administração de DHEA (GDS e GDT) foi maior comparado aos grupos controle. Uma possível explicação refere-se a possível ligação do DHEA com a via de sinalização da proteínas-quinases ativadas

por mitógenos (MAPK) e secreção da endotelina 1 (ET-1), causando uma possível vasoconstrição endotelial (FORMOSO, et al., 2006), aumentando desta maneira a PAD e PAM.

Após a realização do protocolo de treinamento físico de oito semanas, avaliamos as variáveis hemodinâmicas que demonstraram padrões de resposta decorrentes da adaptação do sistema cardiovascular nos animais com a administração de DHEA e sem administração do hormônio. A partir dos sinais registrados, foi permitida a descrição e quantificação das alterações relacionadas à FC, à PA e às flutuações da FC e da PA, o que possibilitam a determinação da função autonômica cardíaca e da VFC e da VPA.

Estudos têm evidenciado que baixos níveis de DHEAS se relacionam com doenças cardiovasculares (JIMÉNEZ, et al, 2013; ALLAMEH, et al, 2016), outros demonstram que baixos níveis séricos do DHEAS é um fator preditor de mortalidade por DCV independente dos tradicionais fatores de risco (OHLSSON, et al., 2010; SANDERS, et al., 2010 SHUFELT, et al., 2010). Por outro lado, um importante indicador que parece desempenhar um papel determinante nas DCV é a função autonômica cardíaca. A mensuração da VFC é uma técnica utilizada para estimar as características do SNA e quantificar a modulação dos ramos simpáticos e parassimpáticos. Uma baixa VFC representa um prognóstico clínico comprometido independente da morbi-mortalidade cardiovascular (CAMBRI, et al., 2008; VANDERLEI, et al., 2009; HILLEBRAND, et al., 2013).

Pesquisas anteriores demonstraram associação entre níveis de esteroides sexuais, idade e atividade autonômica (EVANS, et al., 2001; DART, DU, KINGWELL, 2002; MOSS, 2004). Estudiosos descreveram os efeitos da testosterona sobre o controle autonômico das vias de transdução do nervo, fornecendo evidências de que esse hormônio afeta as respostas parassimpáticas e facilita a sensibilidade barorreflexa na função autonômica. (EL-MAS, et al., 2001). Estes resultados indicam que os hormônios esteroides no soro tem efeito não apenas na diferenciação sexual, mas também na modulação autonômica do sistema cardiovascular. Com o intuito de descobrir a relação entre os níveis séricos de esteroides sexuais e os parâmetros da VFC, Dogru, et al. (2010), demonstraram que DHEAS e testosterona estavam positivamente correlacionados com o HF (parâmetro parassimpático) e negativamente com a razão LF/HF. Além disso, dentre os esteroides sexuais séricos, DHEAS foi o parâmetro mais correlacionado com funções autonômicas.

Podemos evidenciar uma menor FC no grupo GDS quando comparado ao GCS, que pode ser explicada provavelmente pela maior modulação parassimpática e pelo aumento da concentração do NO cardíaco. Mohan, et al. (2002), demonstrou que NO atua de uma maneira específica nos neurotransmissores, causando uma bradicardia vagal cardíaca. Além disso, houve uma redução da razão LF/HF no grupo com administração isolada de DHEA comparado ao GCS, dado importante visto que, quanto mais elevada a relação, maior é a atuação simpática, o que indica um mau prognóstico (VANDERLEI, et al., 2009). Contrária a literatura o treinamento físico aeróbio não causou uma bradicardia no GDT, entretanto apesar de não apresentar uma redução da FC de repouso, verificamos que o GDT possui menor atuação simpática, representada pela baixa modulação do componente LF e uma maior atuação vagal, representada pelo alto índice da banda HFnu em relação aos grupos sedentários.

Em parte, nossos resultados podem ser explicados pela existência de receptores cardíacos para DHEAS verificados em alguns estudos (ALWARDT, et al., 2006). No entanto, foi demonstrado que o DHEAS tinha efeitos reguladores sobre a atividade adrenal simpática e estava positivamente correlacionado com a atenuação da resposta simpático-adrenal à hipoglicemia (IMRICH, et al., 2005). Embora este estudo tenha sido realizado em mulheres, pode-se também prever que há grandes efeitos reguladores de DHEAS na modulação autonômica em homens. Os mecanismos dos efeitos de DHEAS sobre o equilíbrio simpático-vagal ainda não foram elucidados, portanto, esta ação pode ser atribuída a receptores específicos eo efeito de DHEAS no sistema nervoso central (CHARALAMPOPOULOS, et al., 2004).

Em se tratando da análise da VPA, constatamos uma menor variância da VPAS, bem como da VPAD no grupo DHEA sedentário em relação aos grupos controle (GCS, GCT) e ao GDT. Além disso, o GDS possui uma menor ação simpática na VPAD quando relacionado aos demais grupos. Diferente da VFC, quando maior a VPA, pior o prognóstico, uma vez que a VPA aumentada representa uma perturbação do controle da PA (SOARES, NÓBREGA, 2005).

Após realização do duplo bloqueio autonômico foi possível avaliar o tônus autonômico cardíaco. Dessa maneira, identificamos que o GCT apresentou um TV maior em relação a ambos os grupos suplementados com DHEA (GDS e GDT). Nossos dados estão em concordância com diversos autores, demonstrando o efeito benéfico e protetor do treinamento físico na função autonômica cardíaca (BILLMAN, KUKIELKA, 2005; MIZUNO, et al., 2011). Além disso, o GCS apresentou maior TV em relação aos grupos

DHEA. Em se tratando de TS, o GDS demonstrou um maior TS em relação ao GCS e GDT. Em relação ao EV e ES, encontramos um menor ES nos GDS em relação aos grupos controles.

Diversos resultados do presente estudo não evidenciaram mudanças nas variáveis do grupo administração da DHEA combinado com o treinamento físico aeróbio. Igwebuike, et al. (2008), realizaram um estudo com treinamento de *endurance* e resistido aliado a suplementação com DHEA. Os autores encontraram melhora na composição corporal, redução das LDL no grupo treinado placebo, entretanto a administração da DHEA não proporcionou nenhum efeito adicional. Estudo realizado com ratos, demonstrou que a suplementação isolada de DHEA aumentou a massa corporal, níveis séricos de testosterona e glicogênio muscular e hepático. No entanto, quando combinado o treinamento com a suplementação, ocorreu uma diminuição nos níveis de testosterona e glicogênio quando comparada a administração isolada (CHEN, et al., 2016). Este resultado supõe-se que o treinamento pode inibir a absorção de DHEA ou a síntese de testosterona.

Apesar do aumento de adeptos a suplementação com a DHEA, a literatura científica atual se mostra limitada sobre os mecanismos que expressam a função biológica da DHEA e DHEAS sobre o SCV. Estudo demonstrou que a suplementação com DHEA foi capaz de reverter a rigidez ventricular esquerda em ratos idosos, com um paradoxal aumento da rigidez ventricular em ratos jovens (ALWARDT, et al, 2005). Outros, demonstraram através da administração, uma atenuação da síntese de colágeno tipo I em fibroblastos cardíacos (IWASAKI, et al, 2005) e ainda uma prevenção da disfunção ventricular por impedir alteração de cardiomiócitos (LA ROQUE, et al., 2012). Além disso, DHEA parece estar também envolvida na modulação do estresse oxidativo (JACOB, et al., 2009).

Supõem-se uma perspectiva da suplementação com DHEA para prevenção e tratamento da aterosclerose. Estudo com mulheres pós-menopausadas, demonstrou uma correlação positiva entre nível de DHEAS e percentual de dilatação fluxo da artéria braquial, sugerindo um efeito protetor da DHEA sobre o endotélio (AKISHITA, et al., 2008). López-Marure, et al. (2007), avaliaram efeito da administração na resposta inflamatória e os resultados sugeriram que DHEA inibe a expressão de moléculas envolvidas no processo inflamatório em células endoteliais ativas como LDL oxidadas, além de produção de espécies reativas de oxigênio e moléculas de adesão intracelular-1.

A disfunção endotelial é frequentemente referida como piora no relaxamento dependente do endotélio, causada pela perda da biodisponibilidade do NO. O NO, radical livre em estado gasoso, é o principal responsável por manter o tônus vasomotor. Uma diminuição da produção endógena de NO está relacionada com a redução da vasodilatação endotelial-dependente em pacientes com hipertensão, diabetes ou arteriosclerose (PALMER, 1993). Além disso, NO inibe a proliferação das células musculares lisas, a agregação plaquetária, a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, entre outras (VERMA, ANDERSON, 2002).

Nossos resultados apontam que a concentração de NO cardíaco no GDT foi menor em comparação aos GCS e GDS ($p < 0,05$). Uma possível explicação para este achado e que Formoso e seus colaboradores (2006), realizaram estudo com células endoteliais aórticas bovinas e tratamento com DHEA, sendo que a DHEA estimulou a produção de NO através de vias dependentes de fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) e secreção da ET-1 através de vias dependentes MAPK, portanto alterações do equilíbrio entre a sinalização da PI3K e MAPK dependente do endotélio vascular pode determinar se DHEA possui efeitos vasodilatadores ou vasoconstritores.

Estudos anteriores demonstraram influência do treinamento físico sobre a estrutura cardíaca (PLUIM, et al., 2000; MEDEIROS, et al., 2000; MEDEIROS, et al., 2004). Uma metodologia para estimar a hipertrofia cardíaca após o treinamento físico em animais de experimentação é o cálculo da relação entre a massa do coração e a massa corporal. Medeiros, et al. (2000), evidenciaram um aumento do peso cardíaco relativo no grupo que realizou um protocolo de treinamento em natação por oito semanas em comparação ao grupo sedentário.

A hipertrofia cardíaca é conhecida por ocorrer em resposta a diversos estímulos, tais como sobrecarga de pressão e de volume (MCARDLE, KATCH, KATCH, 2013). Além disso, a associação entre a estrutura do ventrículo esquerdo em repouso e o desempenho durante o esforço físico tem sido enfatizada por vários estudos (PLUIM, et al., 2000; D`ANDREA, et al., 2002). Sujeitos envolvidos com o treinamento aeróbio, desenvolvem predominantemente um aumento do tamanho da câmara do ventrículo esquerdo. Assim, o treinamento físico aeróbio causa uma hipertrofia cardíaca excêntrica, associada ao melhor desempenho cardíaco durante o exercício (MCARDLE, KATCH, KATCH, 2013).

O treinamento de natação, utilizado no presente estudo, está relacionado principalmente à sobrecarga de volume, gerando possivelmente uma hipertrofia

excêntrica cardíaca induzida com predominância de crescimento de miócitos longitudinais. Embora o comprimento dos miócitos não tenha sido determinado no presente estudo, podemos observar um aumento do ventrículo esquerdo relativo em ratos treinados o que nos leva a hipótese do crescimento longitudinal dos miócitos.

Por fim, encontramos correlação negativa e significativa entre a variância da VFC e a FC de repouso, ou seja, ao passo que a variância da VFC vai aumentando, ocorre uma redução concomitante da FC. Esse fato pode ser explicado em parte pela alta VFC que ocorre em decorrência de uma maior atuação vagal sobre o ritmo sinusal cardíaco, sendo assim, já se encontra bem estabelecido na literatura que o SNP é o maior controlador da FC (COOKE et al., 1998). Por essa razão, justifica-se a correlação entre a variância da VFC e a FC de repouso observada em nosso estudo. Em adição, evidenciamos que ambos os grupos treinados apresentaram uma maior VFC em comparação aos grupos sedentários, sendo que se correlacionam com uma maior bradicardia de repouso. De fato, a diferença na VFC entre indivíduos treinados e não treinados tem sido amplamente investigada. Tanto as variáveis no DT como no DF estão mais altas em indivíduos treinados comparados a sedentários, indicando que a VFC é mais alta nesses indivíduos (ACHTEN & JEUKENDRUP, 2003).

Nosso estudo tem algumas limitações que devem ser mencionadas. Primeiramente, a literatura atual não possui uma dose pré-estabelecida para a administração de DHEA em modelos de animais de experimentação, que varia de 1 mg/kg até 100 mg/kg de massa corporal, portanto o ideal seria realizar um estudo de curva dose resposta para detectar a melhor dose a ser utilizada. Em segundo lugar, para comprovar a efetividade do protocolo de treinamento físico utilizado na otimização do metabolismo aeróbio, a dosagem de concentração da enzima citrato sintase e/ou succinato desidrogenase seria um método adequado, entretanto, conseguimos amenizar esse fato pela comprovação da bradicardia de repouso, que é conhecida como sendo um excelente marcador do efeito do treinamento físico sobre o SVC. Uma terceira limitação, seria a falta de dosagem da DHEA, DHEA-S, testosterona e estrogênio para comprovar o aumento das concentrações plasmáticas do hormônio administrado e a sua possível conversão em hormônios sexuais. E por fim, análises histológicas para quantificar a hipertrofia cardíaca, como também para detectar fibrose no tecido cardíaco.

A administração isolada de DHEA mostrou-se eficiente na redução da FC, bem como em alguns parâmetros da VFC e da VPA. Entretanto, mais estudos devem ser

realizados associando DHEA com diferentes protocolos de treinando, bem como amostrar diferentes doses a fim de complementar os resultados encontrados no presente estudo.

8. CONCLUSÃO

Nossos dados nos permite concluir que a administração crônica de DHEA em ratos sedentários está relacionada a uma redução da gordura abdominal, como também na melhora da função autonômica cardíaca, desencadeando uma redução da FC, observado pelo incremento da atividade parassimpática cardíaca, como também em uma redução da VPA. Em adição a suplementação com DHEA desencadeou um aumento do conteúdo de NO cardíaco, entretanto, o treinamento físico combinado com a administração não foi capaz de potencializar esses efeitos.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, U.R., et al. Heart rate analysis in normal subjects of various age groups. **Biomed Eng Online**, v.3, n.1, p.1-8, 2004.
- ACHTEN, J; JEUKENDRUP, A.E. Heart rate monitoring: applications and limitations. **Sports Med.**, v.33, n.7, p.517-538, 2003.
- AKISHITA, M., et al. Association of plasma dehydroepiandrosterone-sulfate levels with endothelial function in postmenopausal women with coronary risk factors. **Hypertens Res**, v.31, n.1, p.69-74, 2008.
- ALLAMEH, F., et al. The Association between Androgenic Hormone Levels and the risk of developing coronary artery disease (CAD). **Iran J Public Health**, v.45, n.1, p.14-19, 2016.
- ALWARDT, C.M, et al. Comparative effects of dehydroepiandrosterone sulfate on ventricular diastolic function with Young and aged female mice. **Am J Physiol Regul Intergr Comp Physiol**, v.290, n.1, p. 251-256, 2005.
- ANDERSEN, M.L., et al. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. 1ª edição. São Paulo: Unifesp – Escola Paulista de Medicina, 2004.
- ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002.
- ARAD, Y., et al. Dehydroepiandrosterone feeding prevents aortic fatty streak formation and cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbit. **Arteriosclerosis**, v.9, n.2, p.156-166, 1989.
- AUBERT, A.E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart rate variability in athletes. **Revisa Sports Med.** v.33, n.12, p. 889-919, 2003.
- BAULIEU, E.E., et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: contribution of the DHEAge Study to asociobiomedical issue. *Proc Natl Acad Sci*, v.97, n.8, p.4279-4284, 2000.
- BARRETT-CONNOR, E.; KHAW, Y.S.; YEN, S. A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate, mortality, and cardiovascular disease. **N Engl J Med.** v.315, n.24, p.1519-1524, 1986.
- BILLMAN, G.E; KUKIELKA, M. Effects of endurance exercise training on heart rate variability and susceptibility to sudden cardiac death: protection is not due to enhanced cardiac vagal regulation. **J Appl Physiol**, v.100, n.3, p.896-906, 2005.
- BONNEMEIER, H., et al. Circadian profile of cardiac autonomic nervous modulation in healthy subjects: differing effects of aging and gender on heart rate variability. **J. Cardiovasc. Electrophysiol.**, v.14, n.8, p.791-799, 2003.
- BOUDOU, P., et al. Exercise training-induced tryglyceride lowering negatively correlates with DHEA levels in men with type 2 diabetes. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v.25, n.8 , p.1108-1112, 2001.

- BOVENBERG, S.A.; VAN UUM, S.H.; HERMUS, A.R. Dehydroepiandrosterone administration in humans: evidence based? **Net J Med.**, v.63, n.9, p.300-304, 2005.
- BOXER, R.S, et al. Effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on cardiovascular risk, factors in older women with frailty characteristics. **Age Ageing**, v.39, n.4, p.451-458, 2010.
- BROWN, G.A., et al. Effect of oral DHEA on serum testosterone and adaptations to resistance training in Young men. **J Appl Physiol**, v.87, n.6, p.2274-2283, 1999.
- BRUM, P.C., et al. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. **Hypertension.**, v.36, n.6, p.18-22, 2000.
- BRUNETTO, A.F., et al. Respostas autonômicas cardíacas à manobra de tilt em adolescentes obesos. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.51, n.5, p.256-260, 2005.
- CAMBRI, L.T., et al. Variabilidade da frequência cardíaca e controle metabólico. **Arq. Sanny Pesq. Saúde.**, v.1, n.1, p.72-82, 2008.
- CAMPOS, K.D, et al. Effect of obesity on rat reproduction and on the development of their adult offspring. **Braz J Med Biol Res.** v.41, n.2, p.122-125, 2008.
- CAPPOLA, A.R, et al. DHEAS Levels and Mortality in Disabled Older Women: The Womens' Health and Aging Study I. **J. Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v.61, n.9, p.957-962, 2006.
- CAPPOLA, A.R, et al. Trajectories of dehydroepiandrosterone sulfate predict mortality in older adults: the cardiovascular healthstudy. **J. Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v.64, n.12, p.1268-1274, 2009.
- CASTRO, C.L.B; NÓBREGA, A.C.L.; ARAÚJO, C.G.S. Testes autonômicos cardiovasculares. Uma revisão crítica Parte 1. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.59, p.75-85, 1992.
- CATAI, A.M., et al. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of Young and middle-aged healthy men. **Braz J Med Biol Res.**, v.35, n.6, p.741-752, 2002.
- CAVALCANTE, P.A., et al. Effects of exercise intensity on postexercise hypotension after resistance training session in overweight hypertensive patients. **Clin Interv Aging**, v.18, n.1, p.1487-1495, 2015.
- CFMV. **Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais** – Conceitos e Procedimentos Recomendados. 1ª Edição, Brasília, 2013.
- CHARALAMPOPOULOS, I., et al. Dehydroepiandrosterone and allopregnanolone protect sympathoadrenal medulla cells against apoptosis via antiapoptotic Bcl-2 proteins. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.101, n.21, p.8209-8214, 2004.
- CHEN, W.C., et al. Dehydroepiandrosterone supplementation combined with whole-body vibration training affects testosterone level and body composition in mice. **In J Med Sci.**, v.13, n.10, p.730-740, 2016.
- COOKE, W.H., et al. Controlled breathing protocols probe human autonomic cardiovascular rhythms. **Am J Physiol.**, v.274, n.2, p.709-718, 1998.

- COLEMAN, D.L; LEITER, E.H.; SCHWIZER, R.W. Therapeutic effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in diabetic mice. **Diabetes**, v.31, n.9, p.830-833, 1982.
- CONCEA. **Guia Brasileiro de Produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**. 1ª Edição, Brasília, 2016.
- CORNELISSEN, V.A.; FAGARD, R.H. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. **Hypertension**, v.46, n.4, p.667-675, 2005.
- D`ANDREA, A., et al. Association between left ventricular structure and cardiac performance during effort in twomorphologic al forms of athete´s heart. **Int J Cardiol**, v.86, n.2-3, p.177-184, 2002.
- DART, A.M, DU, X.J., KINGWELL, B.A. Gender, sex, hormones and autonomic nervous control of the cardiovascular system. **Cardiovasc Res**, v.53, n.3, p.678-687, 2002.
- DAYAL, M., et al. Supplementation with DHEA: effect on muscle size, strength, quality of life, and lipids. **J Womens Health (Larchmt.)**, v.14, n.5, p.391-400, 2005.
- DE ANGELIS, K.; SANTOS, M.S.B.; IRIGOYEN, M.C. Sistema Nervoso Autônomo e doença cardiovascular. **Rev. da Socied. de Cardio. do Rio Grande do Sul**, n. 3, p.1-7, 2004.
- DIAS DA SILVA, V.J, et al. Heart rate and arterial pressure variability and baroreflex sensitivity in ovariectomized spontaneously hypertensive rats. **Life Sci**. v.84, n.21-22, p.719-724, 2009.
- DOĞRU, M.T., et al. The relationship between sérum sex steroid levels and heart rate variability parameters in males and the effect of age. **Turk Kardiyol Dern Ars**, v.38, n.7, p.459-465, 2010.
- DONG, J.G. The role of heart rate variability in sports physiology. **Exp Ther Med.**, v.11, n.5, p.1531-1536, 2016.
- EARNEST, C.P.; BLAIR, S.N.; CHURCH, T.S. Heart rate variability and exercise in aging women. **J Womens Health (Larchmt.)**, v.21, n.3, p.334-339, 2012.
- EL-MAS, M.M., et al. Testosterone facilitates the baroreceptor control of reflex bradycardia: role of cardiac sympathetic and parasympathetic components. **J Cardiovasc Pharmacol**, v.38, n.5, p.754-763, 2001.
- EVANS, J.M., et al. Gender differences in autonomic cardiovascular regulation: spectral, hormonal, and hemodynamic indexes. **J Appl Physiol (1985)**, v.91, n.6, p.2611-2618, 2001.
- FAZAN, R.JR., et al. Changes in autonomic control of the cardiovascular system in the Wistar audiogenic rat (WAR) strain. **Epilepsy Behav**, v.22, n.4, p.666-670, 2011.
- FELDMAN, H.A., et al. Low dehydroepiandrosterone sulfate and heart disease in middle-aged men: cross-sectional results from the Massachusetts Male Aging Study. **Ann Epidemiol**. v.8, pp. 217-228, 1998.

FERRARI, E., et al. Age-related changes of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: pathophysiological correlates. **Eur. J. Endocrinol**, v.144, n.4, p.319-29, 2001.

FORMOSO, G., et al. Dehydroepiandrosterone mimics acute action of insulin to stimulate production of both nitric oxide and endothelin 1 via distinct phosphatidylinositol 3-Kinase- and mitogen-activated protein kinase-dependent pathways in vascular endothelium. **Mol Endocrinol**, v.20, n.5, p.1153-1163, 2006.

FORTE, R.; DE VITO, G.; FIGURA, F. Effects of dynamic resistance training on heart rate variability in healthy older women. **Eur J Appl Physiol.**, v.89, n.1, p.85-89, 2003.

GORDON, G.B.; BUSH, D.E.; WEISMAN, H.F. Reduction of atherosclerosis by administration of dehydroepiandrosterone. A study in the hypercholesterolemic New Zealand with rabbit with aortic intimal injury. **J Clin Invest.**, v.82, n.2, p.712-720, 1988.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HAK, A.E., et al. Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men: Rotterdam study. **J Clin Endocrinol Metab**, v.87, n.8, p.3632-3639, 2002.

HARING, R., et al. Association of sex steroids, gonadotropins, and their trajectories with clinical cardiovascular disease and all-cause mortality in elderly men from the Framingham heart study. **Clin Endocrinol(oxf)**, v.78, n.4, p.629-634, 2013.

HAYASHI, T., et al. Dehydroepiandrosterone retards atherosclerosis formation through its conversion to estrogen: the possible role of nitric oxide. **Atheroscler Thromb Vasc Biol.**, v.20, n.3, p.782-792, 2000.

HILLEBRAND, S., et al. Heart rate variability and first cardiovascular event in populations without known cardiovascular disease: meta-analysis and dose-response meta-regression. **Europace.**, v.15, n.5, p.742-749, 2013.

IGWEBUIKE, A., et al. Lack of dehydroepiandrosterone effect on a combined endurance and resistance exercise program in postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab.**, v.93, n.2, p.534-538, 2008.

IMRICH, R., et al. Low levels of dehydroepiandrosterone sulphate in plasma, and reduced sympathoadrenal response to hypoglycaemia in premenopausal women with rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis**, v.64, n.2, p.202-206, 2005.

INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES (US). COMMITTEE ON CARE; USE OF LABORATORY ANIMALS; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (US). DIVISION OF RESEARCH RESOURCES. **Guide for the care and use of laboratory animals**. National Academies, 1985.

IWASAKI, T., et al. Marked attenuation of production of collagen type I from cardiac fibroblasts by dehydroepiandrosterone. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v.288, n.6, p.1222-1228, 2005.

JACOB, M.H., et al. DHEA effects on myocardial Akt signaling modulation and oxidative stress changes in aged rats. **Steroids**, v.74, n.13-14, p.1045-1050, 2009.

- JAHN, M.P., et al. The effect of long-term DHEA treatment on glucose metabolism, hydrogen peroxide and thioredoxin levels in the skeletal muscle of diabetic rats. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.120, n.1, p.38-44, 2010.
- JANDACKOVA, V.K., et al. Are changes in heart rate variability in middle-aged and older people normative or caused by pathological conditions? Findings from a large population-based longitudinal cohort study. **J. Am. Heart. Assoc.**, v.5, n.2, p.1-13, 2016.
- JANKOWSKI, C.M., et al. Oral dehydroepiandrosterone replacement in older adults: effects on central adiposity, glucose metabolism and blood lipids. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v.75, n.4, p.456-463, 2011.
- JIMÉNEZ, M.C, et al. Low dehydroepiandrosterone sulfate is associated with increased risk of ischemic stroke among women. **Stroke**, v.44, n.7, p.1784-1789, 2013.
- KENNY, A.M. Dehydroepiandrosterone combined with exercise improves muscle strength and physical function in frail older women. **J Am Geriatr. Soc**, v.58, n.9, p.1707-1714, 2010.
- KIECHL, S., et al. No association between dehydroepiandrosterone sulfate and development of atherosclerosis in a prospective population study (Bruneck Study). **Arterioscler Tromb Vas Biol.**, v.20, n.4, p.1094-1100, 2000.
- LA ROQUE, D., et al. Dehydroepiandrosterone reverses chronic hypoxia/reoxygenation- induced right ventricular dysfunction in rats. **Eur Respir J**, v.40, n.6, p.1420-1429, 2012.
- LAITINEN, T., et al. Age dependency of cardiovascular autonomic responses to head-up tilt in healthy subjects. **J Appl Physiol**, v.96, n.6, p.2333-40, 2004.
- LANCHA JÚNIOR, A.H. **Resistência ao esforço físico: efeito da suplementação nutricional de cartinina, aspartato e asparagina.** São Paulo, 1991, 76 páginas. Dissertação em Ciências dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- LEITE, C.F.; ROMBALDI, A.J. Effect of carbohydrate intake and physical exercise on glycogen concentration. **Rev. Brasil. de Cineantropometria e Desemp. Humano**, v.17, n.1, p.62-72, 2015.
- LICHTE, P., et al. Dehydroepiandrosterone modulates the inflammatory response in a bilateral femoral shaft fracture model. **Eur. J. Med. Res**, v. 19, n.27, p.1-6, 2014.
- LOIS, K. et al. **Adrenal Androgens and Aging.** 2014.
- LOPES, F.L., et al. Redução da variabilidade da frequência cardíaca em indivíduos de meia-idade e o efeito do treinamento de força. **Rev. Bras. Fisioter**, v.11, n.2, p.113-119, 2007.
- LÓPEZ-MARURE, R., et al. Dehydroepiandrosterone delays LDL oxidation in vitro and attenuates several oxLDL- induced inflammatory responses in endothelial cells. **Inflamm Allergy Drug Targets.**, v.6, n.3, p.174-182, 2007.

- MACHI, J.F., et al. Impact of aging on cardiac function in a female rat model of menopause: role of autonomic control, inflammation, and oxidative stress. **Clin Interv Aging**. v.22, n.11, p.341-350, 2016.
- MALLIANI, A., et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, n. 84, 1991.
- MANNIC, T., et al. In vivo and in vitro evidences of Deydroepiandrosterone protective role on the cardiovascular system. **Int J Endocrinol Metab**, v.13, n.2, p. 1-9, 2015.
- MARÃES, V.R.F.S. Frequência cardíaca e sua variabilidade: análises e aplicações. **Rev. Andal Med Deporte.**, v.3, n.1, p.33-42, 2010.
- MARCEAU, et al. Effects of different training intensities on 24-hours blood pressure in hypertensive subjects. **Circulation**, v.88, n.6, p.2803-2811, 1993.
- MARTEL, C., et al. Predominant androgenic componente in the stimulatory effect of dehydroepiandrosterone on bone mineral density in the rat. **J. Endocrinol**, v.157, n.3, p.433-442, 1998.
- MARTINELLI, F.S., et al. Heart rate variability in athletes and nonathletes at rest and during head-up tilt. **Braz J Med Biol Res.**, v.38, n.4, p.639-647, 2005.
- MARTINS-PINGE, M.C. Cardiovascular and autonomic modulation by the central nervous system after aerobic exercise training. **Braz J Med Biol Res.**, v.44, n.9, p.848-854, 2011.
- MATELOT, D., et al. Athlete`s bradycardia may be a multifactorial mechanism. **J Appl Physiol (1985)**, v.114, n.12, p.1755-1256, 2013.
- MAUER, M.M.; HARRIS, R.B.; BARTNESS, T.J. The regulation of total body fat: lessons learned from lipectomy studies. **Neurosci Biobehav Rev**. v.25, n.1, p.15-28, 2001.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Nutrição para o Esporte e o Exercício**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- MEDEIROS, A. et al. Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. **Revista Paulista de Educação Física**, v. 14, n. 1, p. 7-15, 2000.
- MEDEIROS, A., et al. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Braz J Med Biol Res**. v.37, n.12, p.1909-1917, 2004.
- MIZUNO, M., et al. Exercise training augments the dynamic heart rate response to vagal but not sympathetic stimulation in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.300, n.4, p.969-977, 2011.
- MOHAN, P.F., et al. Effects of dehydroepiandrosterone treatment in rats with diet-induced obesity. **J Nutr.**, v.120, n.9, p.1103-1014, 1990.

- MOHAN, R.M., et al. Neuronal nitric oxide synthase gene transfer promotes cardiac vagal gain of function. **Cir Res**, v.91, n.12, p.1089-1091, 2002.
- MONAHAN, K.D., et al. Regular aerobic exercise modulates age-associated declines in cardiovagal baroreflex sensitivity in healthy men. **J Physiol.**, v.529, n.1, p.263-271, 2000.
- MORALES, A.J., et al. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 78, p. 1360-1367, 1994.
- MOSER, M., et al. Heart rate variability as a prognostic tool in cardiology. A contribution to the problem from a theoretical point of view. **Circulation**, v.90, n.2, p.1078-1082, 1994.
- MOSS, A.J. Modulating effects of sex hormones on cardiac function. **Ann Noninvasive Electrocardiol**, v.9, n.2, p.99-100, 2004.
- NEGRÃO, C.E.; URBANA, M., RONDON, B. Exercício físico, hipertensão e controle barorreflexo da pressão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v.8, n.1, p.89-95, 2001.
- NEGRÃO, C.E., et al. Commentaries on viewpoint: is the resting bradycardia in athletes the result of remodeling of the sinoatrial node rather than high vagal tone? **J Appl Physiol (1985)**, v.114, n.9, p.1356-1357, 2013.
- OHLSSON, C., et al. Low serum levels of dehydroepiandrosterone sulfate predict all-cause and cardiovascular mortality in elderly Swedish men. **J Clin Endocrinol Metab**, v.95, n.9, p.4406-4014, 2010.
- OZCELIK, O., et al. Beneficial effects of training at the anaerobic threshold in addition to pharmacotherapy on weight loss, body composition, and exercise performance in women with obesity. **Patient Preference Adherence**, v.9, p.999-1004, 2015.
- PAGE, J.H., et al. Plasma dehydroepiandrosterone and risk of myocardial infarction in women. **Clin Chem**, v.54, n.7, p.1190-1196, 2008.
- PALMER, R.M. The L-arginine: nitric oxide pathway. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v.2, n.1, p.122-128, 1993.
- PARASHAR, R., et al. Age related changes in autonomic functions. **J. Clin. Diagn. Res.**, v.10, n.3, p.1-5, 2016.
- PARK, J.; OMI, N. DHEA administration has limited effects on intestinal Ca absorption in ovariectomized rats. **J Exerc Nutr Biochem**. v.18, n.4, p.333-337, 2014.
- PASCHOAL, M.A.; PETRELLUZZI, K.F.S.; GONÇALVES, N.V.O. Estudo da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. **Rev Ciênc Med**, v.11, n.1, p.27-37, 2002.
- PASCHOAL, M.A., et al. Variabilidade da frequência cardíaca em diferentes faixas etárias. **Rev. Bras. de Fisiol.** v.10, n.4, p.413-419, 2006.
- PASCHOAL, M.A.; POLESSI, E.A.; SIMIONI, F.C. Evaluation of rate variability in trained and sedentary climacteric women. **Arq. Bras Cardiol.**, v.90, n.2, p.74-79, 2008.

PERCHERON, G., et al. Effect of 1-year oral administration of dehydroepiandrosterone to 60- to 80-year-old individuals on muscle function and cross-sectional area: a double-blind placebo-controlled trial. **Arch Intern Med**, v.163, n.6, p.720-727, 2003.

PLUIM, B.M., et al. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation**, v.101, n.3, p.226-344, 2000.

PORSOVÁ-DUTOIT, I; SULCOVÁ, J.; STÁRKA, L. DO DHEA/DHEAS play a protective role in coronary heart disease? **Physiol Res**, v. 49, n.1, p.43-56, 2000.

POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. **Fisiologia do Exercício: Teoria e Aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. 6. ed. Barueri: Manole, 2009.

REIS, A.F., et al. Disfunção parassimpática, variabilidade da frequência cardíaca e estimulação colinérgica após infarto agudo do miocárdio. **Arq. Bras Cardiol.**, v.70, n.3, p.193-199, 1998.

RESENDE, N.M, et al. The effects of coconut oil supplementation on the body composition and lipid profile of rats submitted to physical exercise. **An Acad Bras Cien.** v.88, n.2, p.933-940, 2016.

RIBEIRO, J.P.; MORAES, R.S. Variabilidade da frequência cardíaca como instrumento de investigação do sistema nervoso autônomo. **Rev. Bras. Hipertens.**, v.12, n.1, p.14-20, 2005.

SAAD, M.J.A; MACIEL, R.M.B; MENDONÇA, B.B. **Endocrinologia**, Atheneu, 2007.

SAMARAS, N., et al. A review of age-related dehydroepiandrosterone decline and its association with well-known geriatric syndromes: is treatment beneficial? **Rejuvenation Res.**, v.16, n.4, p.285-294, 2013.

SANCHES, I.C., et al. Tonic and reflex cardiovascular autonomic control in trained-female rats. **Braz J Med Biol Res.**, v.42, n.10, p.942-948, 2009

SANDERS, J.L, et al. Cardiovascular disease is associated with greater incident dehydroepiandrosterone sulfate decline in the oldest old: the cardiovascular health study all stars study. **J Am. Geriatr. Soc**, v. 58, n.3, p.421-426, 2010.

SATO, K., et al. Increased muscular dehydroepiandrosterone levels are associated with improved hyperglycemia in obese rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.301, n.2, p.274-280, 2011.

SATO, K, et al. DHEA administration and exercise training improves insulin resistance in obese rats. **Nutr Metab (Lond)**, v.9, n.47, p.2-7, 2012.

SHIMOJO, G.L., et al. Dynamic resistance training decreases sympathetic tone in hypertensive ovariectomized rats. **Braz J Med Biol Res.** v.48, n.6, p.523-527, 2015.

SHIN, K., et al. Assessment of training-induced autonomic adaptations in athletes with spectral analysis of cardiovascular variability signals. **Jpn J Physiol**, v.45, n.6, p.1053-1069, 1995.

SHIN, K., et al. Autonomic differences between athletes and nonathletes: spectral analysis approach. **Med Sci Sports Exerc.**, v.29, n.11, p.1482-1490, 1997.

- SHOJAIE, M., et al., Dehydroepiandrosterone Sulfate as a Risk Factor for Premature Myocardial Infarction: A comparative Study. **Korean J Fam. Med.** v.36, n.2, pp.1-9, 2015.
- SHUFLET, C., et al. DHEA-S levels and cardiovascular disease mortality in postmenopausal women: results from the National Institutes of Health-National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI)- Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). **J Clin Endocrinol Metab.**, v.95, n.11, p.4985-4992, 2010.
- SILVA, J.D.; JANUÁRIO, E.N. Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial na insuficiência cardíaca congestiva. **Rev. Bras. Hipertens**, v.12, n.1, p.21-26, 2005.
- SIMÕES, M.R., et al. Low-level Chronic lead exposure impairs neural control of blood pressure and heart rate in rats. **Cardiovasc. Toxicol.**, 2016.
- SMITH, M.L., et al. Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. **Med Sci Sports Exerc.**, v.21, n.1, p.40-44, 1989.
- SOARES, P.P.S.; NÓBREGA, A.C.L. Variabilidade da pressão arterial e exercício físico. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, n. 1, p.33-35, 2005.
- SOUZA, D.I., et al. **Manual de orientações para projetos de pesquisa**. 1ª ed. Novo Hamburgo: FESLSVC, 2013.
- SOUZA, H.C., et al. Nitric oxide synthesis blockade increases hypertrophy and cardiac fibrosis in rats submitted to aerobic training. **Arq Bras Cardiol.**, v.89, n.2, p.88-93, 2007.
- SOUZA, H.C.; TEZINI, G.C. Autonomic cardiovascular damage during post-menopause: the role of physical training. **Aging Dis.**, v.4, n.6, p.320-328, 2013.
- STÁRKA, L.; DUSKOVÁ, M.; HILL, M. Dehydroepiandrosterone: a neuroactive steroid. **J Steroid Biochem Mol Biol**, p.254-260, 2015.
- STEIN, R., et al. Intrinsic sinus and atrioventricular node electrophysiologic adaptations in endurance athletes. **J Am Coll Cardiol**, v.39, n.6, p.1033-1038, 2002.
- TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **Circulation**, v.93, n.5, p.1043-1065, 1996.
- THIJS, L., et al. Are low dehydroepiandrosterone sulphate levels predictive for cardiovascular diseases? A review of prospective and retrospective studies. **Acta Cardiol.** v.58, n.5, p.403-410, 2003.
- VANDERLEI, L.C.M., et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Rev. Bras. Circ. Cardiovasc**, v.24, n.2, p.205-217, 2009.
- VERAS, K, et al. DHEA supplementation in ovariectomized rats reduces impaired glucose-stimulated insulin secretion induced by a high-fat diet. **FEBS Open Bio**, p.141-146, 2014.

VÉRAS-SILVA, A.S., et al. Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol**.v.273, n.6, p.2627-2631, 1997.

VERMA, S; ANDERSON, T.J. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. **Circulation**, v.105, n.5, p.546-549, 2002.

VILLAREAL, D.T; HOLLOSZY, J.O. DHEA enhances effects of weight training on muscle mass and strenght in elderly women and men. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.291, n.5, p.1003-1008, 2006.

VON MUHLEN, D., et al. Effect of dehydroepiandrosterone supplementation on bone mineral density, boné markers, and body composition in older adults: the DAWN trial. **Osteoporos Int**, v.19, n.5, p.699-707, 2008.

WEBB, S.J.; GEOGHEGAN, T.E.; PROUGH, R.A. The biological action of dehydroepiandrosterone involves multiple receptors. **Drug Metab Rev**. v.38, n.1-2, p.89-116, 2006.

WEISS, E.P., et al. Dehydroepiandrosterone replacement therapy in older adults improves índices of arterial stiffness. **Aging cell**., v.11, n.5, p.876-883, 2012.


YEN, S.S. Dehydroepiandrosterone sulfate and longevity: New clues for an old friend. **Proc Natl Acad Sci U S A** ., v.98, n.15, p.8167-8169,2001.

YIN, F.J., et al. Effect of dehydroepiandrosterone treatment on hormone levels and antioxidante parameters in aged rats. **Genet Mol Res**, v.14, n.3, p.11300-113011, 2015.

YUAN, W.X., et al. Effects os 8-week swimming training on carotid arterial stiffness and hemodynamics in young overweight adults. **Biomed Eng Online**, v.15, n.2 p.678-684, 2016.

ZHOU, Y., et al. Ampla Evidence: Deydroepiandrosterone (DHEA) Conversion into Activated Steroid Hormones Occurs in Adrenal and Ovary in Female Rat. R. **Plos one**, v.10, n.5, p.1-11, 2015.

ANEXO I




Ministério da Educação
 Universidade Federal do Triângulo Mineiro
 CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
 Rua Madre Maria José, nº122 - Unidade Administrativa Temporária II - Bairro Abadia
 CEP: 38025-100 - Uberaba - MG - Telefone: (034) 33006764 - E-mail: ceua@pesq.ufim.edu.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Associação entre administração de dehidroepiandrosterona (DHEA) e treinamento físico aeróbio sobre parâmetros hemodinâmicos e controle autônomo cardiovascular em ratos idosos", registrada com o nº 375, sob a responsabilidade de Octávio Barbosa Neto – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, em reunião de 20/05/2016.

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência do projeto	20/05/2016 à 20/05/2017
Espécie/Linhagem	Ratos Wistar heterogênicos
Nº de animais	80
Peso/idade	350-500 gramas/ 23-24 semanas
Gênero	Machos
Origem	Biotério Central de Ratos da Universidade de São Paulo (USP)



Prof. Dr. Carlos José Freire de Oliveira
 Coordenador da CEUA