

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO**

**TALITA MARIA ALVES LOPES DA SILVA**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO SOBRE  
O PERFIL LIPÍDICO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS  
SUBMETIDAS A TREINAMENTO FÍSICO COM CARGA**

**João Pessoa**

**2011**

**TALITA MARIA ALVES LOPES DA SILVA**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO SOBRE  
O PERFIL LIPÍDICO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS  
SUBMETIDAS A TREINAMENTO FÍSICO COM CARGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
graduação em Ciências da Nutrição da  
Universidade Federal da Paraíba para obtenção  
do grau de mestre em Ciências da Nutrição.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Simone Bezerra Alves

**João Pessoa**

**2011**

**TALITA MARIA ALVES LOPES DA SILVA**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO SOBRE O PERFIL  
LIPÍDICO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS SUBMETIDAS A  
TREINAMENTO FÍSICO COM CARGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição da Universidade Federal da Paraíba para obtenção do grau de mestre em Ciências da Nutrição.

Aprovada em: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ 2011

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Simone Bezerra Alves (Orientadora) – Departamento de Fisioterapia da UFPB. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição – CCS / UFPB

---

Prof<sup>ª</sup> Liana Clébia Soares Lima de Moraes (Membro interno titular) – Departamento de Fisiologia e Patologia da UFPB. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição – CCS / UFPB

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves (Membro interno suplente) - Departamento de Nutrição UFPB. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição – CCS / UFPB

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sandra Rodrigues Mascarenhas (Examinador externo titular) – Departamento de Fisiologia e Patologia UFPB. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – CCS / UFPB

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Angélica da Silva Tenório (Examinador externo suplente) - Departamento de Fisioterapia CCS / UFPE

Dedico este trabalho a minha Mãe  
que sempre se empenhou na  
educação de seus filhos.

## AGRADECIMENTOS

- Agradeço a cima de tudo a Deus, que me concedeu a oportunidade de fazer o mestrado e que me abençoou do início ao fim me dando a vitória ao final;
- Agradeço a minha família, pelo apoio, em orações, com palavras de encorajamento, pela paciência, muito obrigada;
- Ao meu noivo, futuro marido, que sempre me incentivou a fazer o mestrado e que me deu estrutura emocional e física para que eu pudesse concluir o mestrado. E a D. Margarida que me recebeu como uma filha em sua casa;
- Aos meus colegas de turma, todos foram fundamentais durante esses dois anos, em especial a Babi com quem dividi momentos que só ela entendia;
- À Professora Simone que como prometeu não desistiu de mim;
- À Professora Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves, pelo seu cuidado com toda a turma;
- À todo o grupo de pesquisa, Lígia, Plínio, Rafaella, Anderson, Dani, Suzy, Kelly, Germana, Afonso e Jeane, sem vocês o projeto não seria o mesmo;
- À Crispim e Sr. Luiz de quem nunca ouvi um não, sempre dispostos a nos ajudar durante a fase do projeto no biotério;
- À Professora Liana com quem me identifiquei antes mesmo de saber que faria parte da minha banca, muito obrigada pelas orientações estatísticas entre outras;
- À Professora Sandra Mascarenhas, pelas orientações e conhecimentos passados, obrigada pelo espaço no laboratório que foi cedido para que pudéssemos realizar parte de nossa pesquisa;
- À Germana que reacendeu em mim o desejo de fazer o mestrado, que me incentivou, me orientou em meu pré-projeto e hoje é minha colega de trabalho;
- A toda equipe de nutrição do HULW em especial a Adriana que a conheci como chefe e em pouco tempo se tornou uma amiga que Deus colocou em minha vida e levarei por toda ela;
- Aos meus colegas de trabalho da Faculdade Maurício de Nassau, onde inicio minha carreira acadêmica, pela compreensão e apoio;
- Aos secretários do programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Sr. Carlos e Sr. Marcos;

- A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciências da nutrição, pelos conhecimentos transmitidos;
- A Vianey e Edna bioquímica do HULW pelo espaço e pelas dosagens realizadas;
- Ao Professor José Artur de Jesus Rodrigues da Costa, pelo apoio no estágio de docência;
- Ao programa de bolsas REUNI e CNPq pelo apoio financeiro;
- A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

“E toda língua confesse que  
Jesus Cristo é o Senhor,  
para glória de Deus Pai”.

Fiipenses 2,11

## RESUMO

A ovariectomia, extração dos ovários, contribui para a carência de estrogênio e desta forma é um bom modelo para representar a diminuição deste hormônio que ocorre na menopausa, tornando as mulheres mais propícias aos sintomas e doenças desta fase. Após a menopausa pode-se observar maior estresse oxidativo em mulheres, resultado do desequilíbrio do sistema imunológico, esse estresse oxidativo pode ocorrer devido à influência que o estrogênio tem sobre o sistema imune e sua ação antioxidante. Neste cenário o zinco é considerado um elemento importante, uma vez que ele atua como cofator de diversas enzimas antioxidantes. O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da suplementação de zinco associada ou não ao treinamento físico com carga no perfil lipídico e massa esplênica de ratas ovariectomizadas. Trata-se de um estudo experimental com 60 ratas wistar que foram separadas em cinco grupos com 12 animais cada, sendo estes grupos denominados SHAM (não ovariectomizado e sem tratamento), OX-C (ovariectomizado sem tratamento), OX-Z (ovariectomizado suplementado com zinco), OX-TF (ovariectomizado submetido à atividade física) e OX-ZTF (ovariectomizado suplementado com zinco e submetido à atividade física). O protocolo consistiu de 04 séries de 10 saltos dentro da água, com temperatura controlada de  $32 \pm 2$  °C e a uma profundidade de 70 cm, e intervalo de 30 segundos entre as séries, foi utilizada uma sobrecarga acoplada em um colete específico. Nas primeira e segunda semanas de treinamento foi adicionada sobrecarga de 50% da massa corpórea das ratas, na terceira e quarta semanas, de 60%, quinta e sexta semana 70 % e nas duas últimas semanas 80% da massa corporal. O treinamento dos animais foi realizado três vezes por semana, durante o período de oito semanas, que coincidiu com o período de suplementação de zinco. Após a eutanásia, foram analisados perfil lipídico (colesterol total, LDL, HDL, VLDL, triglicérido), massa de órgãos (baço, coração e útero) e da gordura corporal. Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e ANOVA univariada. Os resultados obtidos em relação à massa do útero e as dosagens de estradiol dos animais ovariectomizados foram significativamente menores em relação grupo controle. A supressão estrogênica provocou aumento no consumo de ração ( $p=0,0001$ ) e massa corporal ( $p=0,0002$ ), entretanto os grupos suplementados com zinco apresentou menores valores destes dados quando comparados com o grupo OX-C

( $p=0,0001/0,01$  respectivamente). A massa do baço dos animais ovariectomizados sem nenhum tratamento foi significativamente maior que o SHAM ( $p=0,04$ ), enquanto o grupo OX-ZTF, comparado com OX-C apresentou menor massa do baço ( $p=0,02$ ). Observou-se que a supressão estrogênica elevou todas as concentrações séricas avaliadas, com diferença estatística apenas para as dosagens de colesterol total e LDL. O tratamento com zinco diminuiu as concentrações de VLDL e triglicerídeos e aumentou HDL, colesterol total e LDL. Já o treinamento físico diminuiu todas as dosagens, com exceção do HDL. Então pôde-se observar que o zinco associado ou não ao treinamento físico apresentou-se como uma opção para amenizar as desordens fisiológicas causadas pela supressão estrogênica no perfil lipídico de ratas ovariectomizadas.

Palavras-chave: Zinco. Treinamento Físico. Lípides. Ovariectomia

## ABSTRACT

Ovariectomy, removal of the ovaries, contributes to the lack of estrogen and thus is a good model to represent a decrease of this hormone that occurs at menopause, making women more prone to diseases and symptoms of this phase. After menopause can observe increased oxidative stress in women, a result of the imbalance of the immune system, oxidative stress that may occur due to the influence that estrogen has on the immune system and its antioxidant action. In this scenario zinc is considered an important element, since it acts as a cofactor of several antioxidant enzymes. The aim of this study was to evaluate the effects of zinc supplementation with or without physical training load on lipid profile and spleen mass of ovariectomized rats. This is an experimental study 60 wistar rats were divided into five groups with 12 animals each, and these groups called SHAM (not ovariectomized and untreated), OX-C (ovariectomized without treatment), OX-Z (ovariectomized supplemented zinc), OX-TF (ovariectomized subjected to physical activity) and OX-ztf (ovariectomized supplemented with zinc and subjected to physical activity). The protocol consisted of 04 2 ° C at a±sets of 10 jumps into the water, at temperatures of 32 depth of 70 cm and 30-second intervals between sets, we used an overhead attached to a specific vest. In the first and second weeks of training was added overhead of 50% of body weight of rats in the third and fourth weeks, 60%, fifth and sixth weeks and 70% in the last two weeks 80% of body weight. The training of the animals was performed three times per week during the eight weeks, which coincided with the period of zinc supplementation. After euthanasia, we analyzed lipid profile (total cholesterol, LDL, HDL, VLDL, triglycerides), weight of organs (spleen, heart and uterus) and body fat. The parameters were analyzed by unpaired t-test and univariate ANOVA. The results on the mass of the uterus and levels of estradiol of ovariectomized animals were significantly lower than control group. The suppression of estrogen increased the feed intake ( $p = 0.0001$ ) and body mass ( $p = 0.0002$ ), however the groups supplemented with zinc had lower values of these data when compared with the group X-C ( $p = 0,0001 / 0.01$  respectively). The mass of the spleen of ovariectomized animals with no treatment was significantly higher than the SHAM ( $p = 0.04$ ), while the OX-ztf group, compared with OX-C showed a smaller mass of the spleen ( $p = 0.02$ ). We observed that estrogen increased the suppression all serum concentrations evaluated, with statistical difference only for the concentrations of total cholesterol and LDL. Zinc treatment decreased concentrations of

VLDL and triglycerides and increased HDL, total cholesterol and LDL. Since physical training decreases all dosages, except for HDL. Then it was observed that zinc with or without exercise training was presented as an option to mitigate the physiological disorders caused by suppression of estrogen on lipid profile in ovariectomized rats.

Key-words: Zinc. Resistance Training. Lipids. Ovariectomy.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Representação da metodologia empregada	26
Figura 2 - Ovariectomia	27
Figura 3 - Ilustração da suplementação de zinco por gavagem	28
Figura 4 - Demonstração do sistema para o treinamento dos animais	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT1	Receptor da Angiotensina
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
OX-C	Controle Ovariectomizado
CT	Colesterol Total
Cu	Cobre
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDRF	Fator de Relaxamento Dependente do Endotélio
eNOS	Oxido Nítrico Sintase Endotelial
iNOS	Oxido Nítrico Sintase Induzida
nNOS	Oxido Nítrico Sintase Neuronal
ERRO	Espécie Reativa de Oxigênio
GH	Hormônio do Crescimento
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
ICAM	Moléculas de Adesão Intercelular
IGF-I	Fator de Crescimento Dependente de Insulina I
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea
Kg	Kilograma
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LH	Lipase Hepática
LTF	Laboratório de Tecnologias Farmacêuticas
MCP	Fator quimiotático de Monócitos
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetros
MT	Metalotioneínas
NF-κB	Fator Nuclear κB
OMS	Organização Mundial de Saúde

ON	Óxido Nítrico
ONS	Óxido Nítrico Sintase
OX-Z	Grupo Suplementado com Zinco
OX-TF	Grupo Treinado
OX-ZTF	Grupo Suplementado com Zinco e Treinado
RE	Receptor de Estrogênio
RE $\alpha$	Receptor de Estrogênio Alfa
RE $\beta$	Receptor de Estrogênio Beta
RNA	Ácido Ribonucléico
SHAM	Grupo Controle (Pseudo-cirurgia)
SOD	Superóxido Dismutase
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina Aldosterona
TG	Triglicerídeo
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TRH	Terapia de Reposição Hormonal
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
VCAM	Moléculas de Adesão Célula-Vaso
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
Zn	Zinco
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de Zinco Heptahidratado

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	15
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	17
2.1 ESTROGÊNIO	17
2.1.1 AÇÃO DO ESTROGÊNIO SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR	17
2.1.2 ESTROGÊNIO NO SISTEMA IMUNE	20
2.2 ZINCO	21
2.2.1 ZINCO NO SISTEMA IMUNE	21
2.3 TREINAMENTO FÍSICO	23
2.3.1 IMPORTÂNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO PARA O SISTEMA CARDIOVASCULAR E IMUNE	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	27
3.1 ANIMAIS	27
3.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO – OVARECTOMIA	28
3.3 PROCEDIMENTO PARA ADMINISTRAR O ZINCO	29
3.4 PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO	29
3.5 CONSUMO DE RAÇÃO E CONTROLE DE MASSA CORPÓREA	31
3.6 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS	31
3.7 RETIRADA DOS ÓRGÃOS	31
3.8 OBTENÇÃO DOS LINFÓCITOS	32
3.9 RETIRADA DA GORDURA VISCERAL	32
3.10 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	32
3.10.1 ESTRADIOL	32
3.10.2 PERFIL LIPÍDICO	32
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
<b>4 REFERÊNCIAS</b>	34
<b>5 ANEXO</b>	45
<b>6 APÊNDICE</b>	47
6.1. ARTIGO	48
<b>7 OUTROS RESULTADOS</b>	68

## 1 INTRODUÇÃO

O zinco é considerado um elemento importante para as reações antioxidantes, uma vez que ele atua como co-fator de diversas enzimas envolvidas neste processo (PACHECO; GONSEBATT, 2009). Estudos sugerem que uma alta ingestão dietética ou suplementação de determinados nutrientes que possuem ação antioxidante está associada com diminuição de riscos para doenças, como aterosclerose, acidente vascular encefálico, trombose, e seus fatores de risco como a peroxidação lipídica, adesão plaquetária e lesão na artéria coronária muito comum na menopausa (JIALAL; DEVARAJ, 2003; LOSONCZY; HARRIS; HAVLIK, 1996).

O envelhecimento implica em uma diminuição progressiva da secreção de vários hormônios, dentre eles o estrogênio (ARLT; HEWISON, 2004). Este hormônio é importante no desenvolvimento e na maturação do sistema reprodutor, nervoso e cardiovascular, ossos e sistema imunológico (ISLANDER et al., 2010). Dessa forma a carência de estrogênio apresentada durante a menopausa torna as mulheres mais propensas ao desenvolvimento de doenças (AMIN; KUHLE; FITZPATRICK, 2003), este risco também ocorre quando os ovários são extraídos, como no caso da ovariectomia, uma vez que esta situação suprime o estrogênio (PUNNONEN et al., 1997).

Após a menopausa pode-se observar maior estresse oxidativo em mulheres, resultado do desequilíbrio do sistema imunológico, esse estresse oxidativo pode ocorrer devido à influência que o estrogênio tem sobre o sistema imune e sua ação antioxidante (DUBEY et al., 2001; RECKELHOFF; FORTEPIANI, 2004).

A atividade física sistemática também está associada de maneira benéfica com o estresse oxidativo (ATALEY; SEN, 1999; KNOWLER et al., 2002). O exercício estimula a regulação de defesas antioxidantes, particularmente em tecidos diretamente envolvidos no exercício, como músculo esquelético e cardíaco (FATOUROS et al., 2004; FINAUD et al., 2006). Existem evidências sobre o impacto positivo da atividade física na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (THOMPSON et al., 2003). Segundo a OMS (2011), a inatividade física é um fator de risco independente para doenças crônicas, dentre estas as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo. A atividade física regular traz benefícios significativos para a saúde. Por exemplo, pode reduzir o risco de doença cardiovascular, diabetes e osteoporose, ajuda a controlar a massa corporal.

A terapêutica mais utilizada na prática clínica para combater os problemas decorrentes da menopausa é a terapia de reposição hormonal (TRH) com hormônios sexuais femininos. Entretanto, este tratamento pode representar uma ameaça para a saúde de mulheres com histórico familiar de cânceres estrogênio-dependentes (CHEN, 2009). O que corrobora com a necessidade de se estudar alternativas.

Considerando a importância do zinco e da atividade física sobre a função do sistema cardiovascular e imune, esta pesquisa visa investigar os efeitos da suplementação de zinco associada, ou não, ao treinamento físico sobre o perfil lipídico de ratas com supressão de estrogênio. Aumentando assim as perspectivas para formas de tratamento e/ou prevenção de baixo custo para patologias que afetem o sistema cardiovascular de população com carência estrogênica.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 ESTROGÊNIO**

#### **2.1.1 AÇÃO DO ESTROGÊNIO SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR**

Os efeitos fisiológicos do estrogênio são dose-dependentes (CUTOLO et al., 2010). Assim, o mesmo pode contribuir para reduzir a incidência de infarto do miocárdio e outras complicações da doença vascular aterosclerótica em mulheres na pré-menopausa, uma vez que reduz a concentração de colesterol total, inibindo a aterogênese. No entanto, altas doses de estrogênio ativo por via oral parecem promover trombozes, por chegarem ao fígado pelo sangue, em altas concentrações e alterarem a produção hepática dos fatores de coagulação (MILLER; CHAN; NELSON, 2002).

As doenças cardiovasculares são mais prevalentes em homens que em mulheres, entretanto esta prevalência aumenta quando as mulheres chegam à menopausa (MEYER; HAAS; BARTON, 2006). Este fato indica a importância do estrogênio como cardioprotetor, uma vez que ele age no metabolismo lipídico, na inibição da proliferação de células musculares lisas dos vasos (ABU-TAHA et al., 2009), na atividade vasodilatadora, inibe a inflamação, apresenta propriedades antioxidantes e acelera a recuperação de células endoteliais depois de lesões vasculares (MEYER; HAAS; BARTON, 2006). Assim, a carência deste hormônio em homens e mulheres favorece o desenvolvimento de aterosclerose, alterações indesejadas no perfil lipídico e na pressão sanguínea (MENDELSON; KARAS, 1999; MEYER; HAAS; BARTON, 2006).

A patogênese da aterosclerose é multifatorial e um desses fatores é o acúmulo de lipídio e colesterol na matriz ao redor do vaso, ocorrendo associação entre os altos níveis de colesterol sérico e a incidência de doenças arteriais, especialmente a aterosclerose, que pode levar, dentre outros problemas, ao infarto do miocárdio (DE BIASE et al., 2007). O balanço benéfico no metabolismo de lipoproteínas, aumento da síntese de lipoproteína de alta densidade (HDL) e degradação de lipoproteína de baixa densidade (LDL), é considerado um metabolismo menos aterogênico, sendo assim um dos mecanismos cardioprotetores (MENDELSON; KARAS, 1999).

Os efeitos benéficos do estrogênio sobre o perfil lipídico sérico pode ser atribuído a regulação da expressão hepática de genes envolvidos no metabolismo de

lipoproteínas séricas, como a lipoproteína A. A Lipase Hepática (LH), enzima que está envolvida no metabolismo das lipoproteínas, principalmente HDL e LDL, está sujeita à regulação hormonal. Sua atividade é diminuída após o pico do estrógeno no ciclo reprodutivo, ou seja, o estrogênio e a lipase hepática são inversamente proporcionais.

As mulheres têm menor atividade da LH que homens, o que pode explicar maiores concentrações de HDL colesterol em mulheres. Estudos clínicos em mulheres na pós-menopausa têm mostrado que a reposição estrogênica diminui a atividade da LH, em associação com o aumento colesterol HDL. Esse efeito se reproduz em ratos associados por uma redução dos níveis de RNAm para LH, sugerindo uma inibição da transcrição. Contudo, o mecanismo pelo qual o estrogênio diminui a atividade da LH não é totalmente compreendido (JONES et al., 2002).

Na presença dos fatores de risco cardiovasculares ocorre a perda da ação protetora do endotélio, com aumento da propensão à vasoconstrição, trombose, inflamação e proliferação celular na parede do vaso (BAHIA et al., 2004). Essa perda também ocorre na presença de fatores inflamatórios como fator quimiotático de monócitos (MCP-1), de leucócitos e de plaquetas, moléculas de adesão (VCAM-1, ICAM-1), interleucinas 1 e 6, fator de necrose tumoral (BLANKENBERG; BARBAUX; TIRET, 2003), e o aumento da concentração plasmática de IL-6 têm sido proposto como um preditor de futuros eventos cardiovasculares (PRADHAN et al., 2002; LUC et al., 2003). A ligação do receptor de estrogênio com o NF-kB inibe a expressão dessas citocinas pró-inflamatórias (KING et al., 2010).

O NF-kB, é responsável pela ativação da transcrição dos genes que codificam fatores quimiotáticos, tais como o peptídeo quimiotático de monócitos (MCP) e fator estimulante de macrófagos, que atraem monócitos na parede do vaso promovendo a inflamação. Este fator nuclear de transcrição, também aumenta a síntese e liberação de citocinas como a interleucina IL -1, IL-2 e IL-6, que ativam células inflamatórias, e aumentam a sua fixação à parede do vaso (HU et al., 2009).

A reação inflamatória vascular, que pode ser observada na carência de estrogênio, promove hiperplasia e conseqüente espessamento da camada íntima, a partir da ativação das células musculares lisas (COSTA; FAGUNDES, 2002), contribuindo para a redução do lúmen arterial e limitação do fluxo sanguíneo (CARAMORI; YAMAMOTO; ZAGO, 1997). A aterosclerose se estabelece a partir desta disfunção endotelial.

Estrogênio possui propriedades antioxidantes que pode ser atribuído a sua estrutura fenólica, a qual sequestra radicais livres, atenuando seus efeitos deletérios no metabolismo celular, como na peroxidação lipídica (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995). Desse modo, o estrogênio tem a capacidade de diminuir a concentração e/ou efeito dos radicais livres, dentre estes podemos destacar o ânion superóxido, que promove a oxidação do LDL e a conseqüente formação de placas de ateroma em células endoteliais, gerando processos inflamatórios. O estrogênio está envolvido na regulação da SOD em células vasculares (SIOW et al., 2007), enzima que atua no estresse oxidativo.

Os efeitos vasodilatadores do estrogênio são alcançados através da inibição direta sobre o músculo liso vascular e do aumento da produção do fator de relaxamento dependente do endotélio (EDRF), também conhecido com óxido nítrico (ON) e considerado o mais potente vasodilatador produzido pelo endotélio. O estrogênio ativa a enzima oxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que leva à síntese aumentada de ON, promovendo a vasodilatação e inibindo a inflamação (MEYER; HAAS; BARTON, 2006). O ON regula o tônus vascular e inibe a adesão e agregação de plaquetas, assim a produção e liberação do mesmo pelas células endoteliais são fundamentais para a manutenção da homeostase do sistema cardiovascular. (ZANESCO; ZAROS, 2009).

É possível que as diferenças da balança pressórica vasodilatadora/vasopressora, mediada por vias vasoativas, como bradicininas e oxido nítrico, seja secundária ao desequilíbrio do sistema renina-angiotensina aldosterona (SRAA), (SANDBERG; JI, 2008). Este sistema participa ativamente do controle da função cardiovascular. Em estudo com animais que apresentavam deficiência de estrogênio, como na ovariectomia bilateral, foi observado aumento da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) e a densidade dos receptores AT1 nos rins de ratas Wistar, principal receptor de ação da angiotensina II. Após reposição estrogênica as alterações causadas pela ovariectomia foram amenizadas. A reposição hormonal reduziu em 20% a atividade da enzima conversora da angiotensina após seis meses de tratamento (PROUDLER et al., 1995), atenuando os efeitos pressóricos do SRAA no sistema vascular.

Esta disfunção vasomotora também se relaciona com o desenvolvimento do processo inflamatório local. Assim, estas alterações das funções do endotélio promovem fenótipo pró-inflamatório e pró-trombótico, com conseqüente migração dos leucócitos, que estão relacionados com o início da formação da lesão aterosclerótica (LANDMESSER; HORNIG; DREXLER, 2004).

O estrogênio tem capacidade de ativar vias de sinalização intracelular, levando ao aumento da biodisponibilidade e regulação da atividade e / ou expressão de genes de defesa antioxidante. As espécies reativas de oxigênio (ERO) ativam vias de sinalização que degradam o inibidor específico do NF- $\kappa$ B, fazendo com que este seja acumulado e quando ativado promova o desenvolvimento da aterosclerose a partir da produção de citocinas pró-inflamatórias (SLOW et al., 2007).

### 2.1.2 ESTROGÊNIO NO SISTEMA IMUNE

A privação dos hormônios ovarianos acarreta distúrbios endócrinos e funcionais, como maior risco de osteoporose e de doenças cardíacas e níveis alterados de lipoproteínas (ARORA et al., 2009), além de ter um papel importante na etiologia e no curso de doenças inflamatórias crônicas. Alguns estudos mostram que os estrógenos têm influenciado o desenvolvimento, regulação e funcionamento normal do sistema imunológico (ISLANDER et al., 2010; REHMAN; MASSON, 2005).

A presença da inflamação, estresse, LDL oxidada e algumas citocinas (TNF e IL-1) ativam o NF- $\kappa$ B. Este fator de transcrição nuclear desempenha um papel fundamental na regulação da resposta imune à infecção e o funcionamento incorreto do NF- $\kappa$ B tem sido associada a doenças inflamatórias, choque séptico, infecção viral e desenvolvimento da resposta imune inadequada (COMINACINI et al., 2005).

Evidências experimentais e clínicas indicam que a resposta imune tem maior atividade em mulheres que em homens, sugerindo que esteróides sexuais podem ter um papel importante na regulação da resposta imune (MAIS; ALDAG; JACOBS, 2005). Esses hormônios modulam o crescimento, diferenciação e proliferação de células linfóides, apresentação de antígenos, produção de citocinas e anticorpos, atividade e a sobrevivência das células *natural killer* (MACMURRAY et al., 2001).

Células do sistema imunológico, que participam da resposta imune inata e adaptativa, possuem receptores de estrogênio (RE), que são classificados em dois subtipos distintos, RE $\alpha$  RE $\beta$ . Estrogênios circulantes se ligam aos seus receptores intracelulares (REs), e regulam a transcrição de genes. Este mecanismo pode justificar melhores respostas imunológicas humoral e celular a infecções em mulheres do que nos homens (STYGAR et al., 2006). Os dois subtipos de receptores de estrogênio foram detectados no timo, medula óssea e baço (SAMY et al., 2003). A ampla distribuição

desses receptores no sistema imunológico pode explicar a função dos estrógenos na mediação das ações imunomoduladoras.

## 2.2 ZINCO

O zinco é um elemento traço essencial para a maioria dos mecanismos homeostáticos do organismo, pois ele liga enzimas, proteínas e peptídeos com diferentes afinidades de ligação, estes compostos exibem baixa atividade biológica quando não ocorre a vinculação com zinco (MOCCHIGIANI; MUZZIOLI; GIACCONI, 2000). Ele é considerado o segundo micronutriente mais prevalente no organismo, apresentando-se em grandes concentrações no cérebro de mamíferos. Além do cérebro, as maiores concentrações desse oligoelemento no organismo humano são encontradas nos ossos, próstata, pele e seus apêndices, fígado, pâncreas e sangue (WEISS; SENSI; KOH, 2001).

Dentre muitos papéis fisiológicos, o zinco é componente funcional e/ou estrutural de mais de 300 enzimas, muitas delas envolvidas no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (SANDSTEAD, 1994); está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a peroxidação lipídica (POWELL, 2000); é indispensável para a atividade de enzimas participantes da síntese de DNA e RNA; influencia a divisão celular (VALLE; FALCHUK, 1993); está relacionado com células do sistema imunológico, incluindo atividades das células *T-Helper*, desenvolvimento de linfócitos T-citotóxicos, hipersensibilidade retardada, proliferação de linfócitos T, produção de interleucina – 2 e morte programada de células de origem mielóide e linfóide (BAUM; POSNER-SHOR; CAMPA, 2000).

Além de todas as funções anteriormente citadas, o zinco ainda desempenha importante papel na regulação do apetite (SHAY; MANGIAN, 2000), estando envolvido na produção e/ou secreção de hormônios reguladores do metabolismo energético como a insulina e leptina (SHAY; MANGIAN, 2000; OTT; SHAY, 2001).

### 2.2.1 ZINCO NO SISTEMA IMUNE

O zinco atua na regularização da resposta imune como co-fator enzimático, na esteroidogênese e espermatogênese, no metabolismo energético, síntese protéica, estabilização de macromoléculas, divisão celular. Além destas funções o zinco

desenvolve importante ação como antioxidante e no sistema de defesa (SALGUEIRO et al., 2000). Estas funções podem ser de especial interesse nas doenças cardiovasculares, já que pesquisas mostram correlação entre doenças cardiovasculares e estado de inflamação crônica (KENTISCHER, 2006; NIETHAMMER, 2008; VIDEM, 2007).

Diferentes estudos têm mostrado a importância de uma dieta rica em vitaminas e minerais para a manutenção do equilíbrio antioxidante (PAPAS, 1999; BIANCHI; ANTUNES, 1999). O zinco está envolvido em muitos aspectos da função imunológica, incluindo crescimento e função dos linfócitos T e B (PRASSAD, 2008) que participam da imunidade adaptativa, além de ser considerado crucial para o normal desenvolvimento e funcionamento de células como neutrófilos, e células *natural killer*, mediadoras da imunidade inata. Os macrófagos e as citocinas também são afetados pela deficiência de zinco (PRASAD, 2008; KING et al., 2005).

Someya et al (2009) mostraram alterações na distribuição destas células brancas no sangue de animais que consumiam dieta deficiente de zinco. Este pode afetar o processo de fagocitose dos macrófagos e neutrófilos, interferir na lise celular mediada por células *natural killer* e ação citolítica das células T. Além disso, células do sistema imune podem apresentar altas taxas de proliferação, e o zinco pode ter um papel importante na tradução, transporte e replicação do DNA (MA et al., 2009). O zinco também pode influenciar a regulação hormonal da divisão celular, especialmente via hormônio do crescimento (GH) e fator I do crescimento dependente de insulina (IGF-I), atuando sobre a proliferação celular (MACDONALD, 2000).

O zinco participa de uma variedade de processos celulares como um co-fator de enzimas, influenciando a expressão gênica por meio de fatores de transcrição. Numerosas enzimas associadas à síntese de DNA e RNA são metaloenzimas dependentes de zinco, incluindo a RNA polimerase, transcriptase reversa e fator de transcrição. Nestas enzimas, o zinco está firmemente ligado, estabilizando estruturas que são funcionalmente importantes (TAPIERO; TEW, 2003).

A concentração de zinco é regulada pelas metalotioneínas (MT), que constituem uma família de peptídeos não enzimáticos, caracterizados pelo baixo peso molecular (MARET; KREZEL, 2007) e estão estritamente ligadas a importância deste micronutriente pela participação em sua homeostase, por meio da captação do zinco e posterior liberação para outras proteínas e enzimas na ocorrência de uma maior necessidade para que a correta função destas seja desempenhada (MOCCHEGIANI et al., 2000). Esta classe de proteínas é produzida no fígado e também atua na proteção

contra as espécies reativas de oxigênio (ERO) e na adaptação ao estresse (VASAK, 2005; NATH et al., 2000).

A liberação de zinco pelas MT também é relevante para uma rápida resposta imunológica, quer diretamente através do timo na proliferação e diferenciação de células imune (MOCHEGANI et al., 2000), ou indiretamente por meio da codificação e posterior produção de citocinas pró-inflamatórias (DREOSTI, 2001). Quando ocorre desequilíbrio entre a liberação e captação de zinco pela MT, uma inflamação pode ser desencadeada e esta desempenhar um papel importante na aterosclerose (PRASSAD, 2008). Em humanos, o aumento da concentração plasmática de IL-6 têm sido proposto como um preditor de futuros eventos cardiovasculares (PRADHAN et al., 2002; LUC et al., 2003; GIACCONI et al., 2004; DE LA TORRE et al., 2005), por estarem associados com disfunções endoteliais (NAYA et al., 2007; PRADHAN et al., 2002; LUC et al., 2003).

A progressão da resposta inflamatória e formação de placas ateroscleróticas são regidas por um aumento da aderência de monócitos, células T e plaquetas para o endotélio e transmigração e diferenciação de monócitos em macrófagos e células espumosas (KENTISCHER, 2006). A patogênese da aterosclerose é dependente de fatores metabólicos, físicos, nutricionais e ambientais, mas torna-se cada vez mais claro que processos inflamatórios crônicos são considerados centrais para a aterogênese e desempenham um papel importante em todos os estágios da aterosclerose (KENTISCHER, 2006). Estas etapas envolvem aumento da permeabilidade vascular, captura de lipoproteína de baixa densidade (LDL), modificação da LDL oxidada e ativação do endotélio, em conjugação com expressão aumentada de citocinas, quimiocinas, e fatores de crescimento (PACKARD, 2008; LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002). Autores demonstraram, usando microscopia nuclear, que paralelo ao desenvolvimento precoce de aterosclerose em coelhos também é observado uma depleção nos níveis sanguíneos de zinco (REN et al., 2003; JENNER et al., 2007).

O zinco também está envolvido na produção de óxido nítrico (ON) que é uma molécula endógena sinalizadora e exerce importantes funções no sistema cardiovascular, dentre estas funções podemos destacar a regulação do fluxo sanguíneo e pressão arterial que se dá através do relaxamento da vasculatura sistêmica (TOMAT et al., 2005).

As enzimas que sintetizam ON a partir da L-arginina e oxigênio fazem parte de uma família de ON sintases (ONS) que inclui a neuronal, induzida e endotelial ONS

(nNOS, iNOS e eNOS) e são expressas em muitos tecidos, incluindo o endotélio vascular e músculos lisos. Estas enzimas contêm zinco em sua estrutura e este desempenha papel essencial na atividade catalítica destas enzimas (ZOU; SHI; COHEN, 2002).

## 2.3 TREINAMENTO FÍSICO

### 2.3.1 IMPORTÂNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO PARA O SISTEMA CARDIOVASCULAR E SISTEMA IMUNE

Na tentativa de reduzir a incidência das patologias que agredem o sistema circulatório, diversos tratamentos têm sido empregados, porém a maioria dos trabalhos mostra que a mudança de estilo de vida parece ser a melhor estratégia para o controle dos seus fatores de risco (WHELTON et al., 2002; LABRESH et al., 2000). Dentre essas mudanças, a prática de atividade física regular contribui para melhorar os fatores de risco cardiovascular como, diminuir a pressão arterial e a dislipidemia. O exercício físico regular é utilizado como abordagem não farmacológica na prevenção e/ou no tratamento de diversas doenças cardíacas, como a hipertensão arterial, aterosclerose e as dislipidemias (ZANESCO; ANTUNES, 2007).

Essa abordagem torna-se ainda mais importante para mulheres no climatério, visto que, nessa fase, elas apresentam modificações antropométricas e bioquímicas que comprometem a qualidade de vida. As mudanças antropométricas incluem diminuição da massa livre de gordura, aumento da gordura corporal e redução da estatura, acarretando elevação no índice de massa corpórea (IMC). Alterações no perfil lipídico e deficiência de estrogênio são as principais mudanças bioquímicas que parecem comprometer a saúde das mulheres nessa fase da vida, levando ao desequilíbrio da homeostase do sistema cardiovascular (SIMKIN-SILVERMAN et al., 2003).

A produção e liberação de óxido nítrico (ON) pelas células endoteliais são fundamentais para manutenção dessa homeostase do sistema cardiovascular, por meio de sua regulação do tônus vascular e inibição da adesão e agregação de plaquetas. O ON é considerado o mais potente vasodilatador produzido pelo endotélio, e o controle de sua produção está diretamente relacionada a diversas patologias, como hipertensão arterial, aterosclerose e doença arterial coronária.

O exercício físico é um estímulo importante para o aumento do fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, promove elevação da produção de ON, que desencadeia vários efeitos, como relaxamento vascular e inibição da agregação plaquetária, prevenindo a hipertensão arterial e a aterosclerose. Assim, um dos efeitos benéficos do exercício físico regular está na sua capacidade em estimular a síntese de ON pelas células endoteliais e, conseqüentemente, controlar a pressão arterial a médio e longo prazo. A produção aumentada de ON promove também efeitos antitrombóticos, prevenindo as doenças tromboembólicas e a aterosclerose, e isso se deve à inibição da agregação plaquetária pelo ON (ZANESCO; ANTUNES, 2007).

Autores sugerem que essa participação da atividade física regular e exercício na manutenção da saúde e prevenção de doenças crônicas (SINGH, 2004), aconteçam através do aumento ou manutenção das defesas antioxidantes (MECOCCI et al., 2000; LAZAREVIC et al., 2006), pois além de estimular a produção de ON, o exercício físico promove também elevação da expressão de enzimas antioxidantes, como a SOD-1, aumentando a biodisponibilidade do ON para as células musculares lisas, promovendo melhor relaxamento da musculatura lisa vascular, e, conseqüentemente, reduzindo os valores de pressão arterial (DE MORAES et al., 2008).

Jiang et al (2009) demonstraram claramente a idéia de que o exercício crônico tem um efeito duplo: a geração de oxidantes e estresse oxidativo e, como conseqüência, um aumento na síntese de enzimas antioxidantes, o que minimiza os efeitos deletérios destes oxidantes. Ferrara e Kerbel. (2005) encontraram que o exercício diminui o estresse oxidativo com aumento das proteínas como a Mn-SOD e a catalase no tecido adiposo de ratos adultos, estas são enzimas que atuam como antioxidantes endógenos, ratificando que o exercício regular de formação tem sido mostrado como um auxiliar na proteção antioxidante. Dentre as enzimas antioxidantes presentes no tecido vascular, temos a catalase, a glutathiona peroxidase e mais três tipos de superóxido dismutase (SOD), sendo a SOD-1 e a SOD-3 dependente de Cu/Zn.

A biodisponibilidade do ON para as células musculares lisas dos vasos é controlada pela ação de pelo menos dois sistemas enzimáticos: de enzimas oxidantes e antioxidantes. Estas enzimas estão envolvidas na produção das espécies reativas de oxigênio, que são produzidas por todas as células do organismo em decorrência do metabolismo celular pela utilização do oxigênio na cadeia respiratória mitocondrial (SANJUÁN-PLA et al., 2005).

Em condições basais, apenas 5% de espécies reativas de oxigênio são formadas durante o metabolismo celular. No entanto, em estados patológicos, como a hipertensão arterial sua produção aumenta de maneira significativa – fenômeno este chamado de estresse oxidativo. Assim, o termo estresse oxidativo descreve condições patológicas nas quais ocorre massiva produção de espécies reativas de oxigênio, e esta condição tem sido positivamente associada às doenças cardiovasculares. Assim, as espécies reativas de oxigênio promovem danos no endotélio, além de reduzirem a biodisponibilidade do ON para as células musculares lisas vasculares (AUGERI et al., 2009).

Por outro lado, a função endotelial é melhorada pela ação das enzimas antioxidantes, que têm a função de tornar as espécies reativas de oxigênio menos reativas ou até mesmo inativá-las. Dentre as enzimas antioxidantes presentes no tecido vascular, temos a catalase, a glutathione peroxidase e mais três tipos de superóxido dismutase (SOD), sendo a SOD-1 e a SOD-3 dependente de Cu/Zn. Cada uma delas atua em etapas diferentes do processo de inativação das espécies reativas de oxigênio, para reagir com essas moléculas e torná-las menos reativas ou neutralizá-las. Assim, o papel das enzimas antioxidantes é o de proteger as células dos efeitos tóxicos e mutagênicos das espécies reativas de oxigênio ou radicais livres e aumentar a biodisponibilidade de ON para as células musculares lisas, regulando o tônus vascular e os valores de pressão arterial (MIGLIORE; COPPEDÈB, 2009).

Radak; Chung; Goto, 2005 sugeriram que a atividade física regular ajuda o organismo a adaptar-se à presença contínua de pequenos estímulos, como baixas concentrações de espécies reativas de oxigênio, e que esses estímulos podem induzir um aumento na expressão de enzimas antioxidantes promovendo a diminuição do estresse oxidativo. Eles ainda mostraram a importância da produção de oxidantes em níveis moderados de sinalização e de adaptação das células ao exercício, e consideravam que o exercício é um acontecimento saudável e pode desenvolver propriedades antioxidantes. Trabalho recente mostra que as adaptações fisiológicas induzidas pelo treinamento intervalado são maiores do que aquelas induzidas pelo exercício físico contínuo (PETERSEN, 2005; ZANESCO; ZAROS, 2009).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Ratas Wistar, fêmeas, nulíparas, com idade de 90 dias, desmamadas aos 21 dias de idade. A massa corporal ao nascer desses animais foi de aproximadamente 6g, no período do desmame a massa corpórea era de aproximadamente 60g e quando iniciamos o experimento a média da massa corpórea era de 230g. Esses animais foram procedentes do biotério do Laboratório de Tecnologias Farmacêuticas (LTF) da UFPB e mantidos neste mesmo ambiente com temperatura de  $(21 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C})$  com ciclo de claro-escuro de 12h de claro. Estes animais receberam ração comercial e água destilada *ad libidum*, foram mantidos em gaiolas de propileno translúcido (30x20x13cm), com tampa de aço inox e aço carbono e cama de maravalha. As ratas foram separadas em cinco grupos com 12 animais cada sendo estes grupos denominados de:

- SHAM (n=12): não ovariectomizado sem tratamento;
- OX-C (n=12): ovariectomizado sem tratamento;
- OX-Z (n=12): ovariectomizado + suplementação de zinco;
- OX-TF (n=12): ovariectomizado + treinamento físico;
- OX-ZTF (n=12): ovariectomizado + suplementação de zinco + treinamento físico.

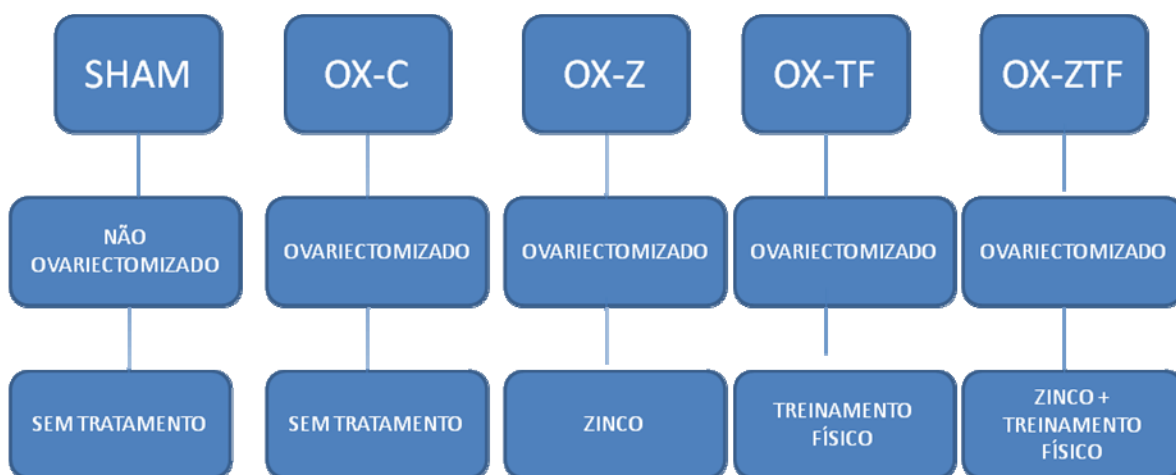


Figura 1: Representação da metodologia empregada.

O presente trabalho foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal sob a certidão nº 0310/2010.

### 3.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO - OVARIECTOMIA

O procedimento cirúrgico (figura 2) foi realizado nos animais com 90 dias, em todos os grupos, sendo que a ovariectomia não foi executada no grupo denominado SHAM. A técnica utilizada foi a de incisão bilateral, com lâmina de bisturi nº 15, no abdômen, na região pré-pubiana. Os animais foram anestesiados intraperitonealmente com solução de xilazina como pré-anestésico e ketamina como anestésico, ambos na dose de 1mL/Kg, utilizando agulha de tamanho 25x5 ou 25x7 mm. Todos os animais tiveram que ser imobilizados corretamente para que a administração das injeções fosse conduzida sem risco para o pesquisador ou animal. A imobilização adequada é pré-requisito básico para o sucesso deste tipo de aplicação. A substância foi injetada na cavidade peritoneal entre os órgãos abdominais na metade posterior do abdome com o animal contido pelo dorso. A profundidade anestésica foi avaliada por meio da presença ou ausência de determinados sinais como reflexo da cauda. Realizou-se tricotomia prévia seguida da incisão, localização e remoção dos ovários. A região incisada recebeu sutura simples com fio de seda 4.0.

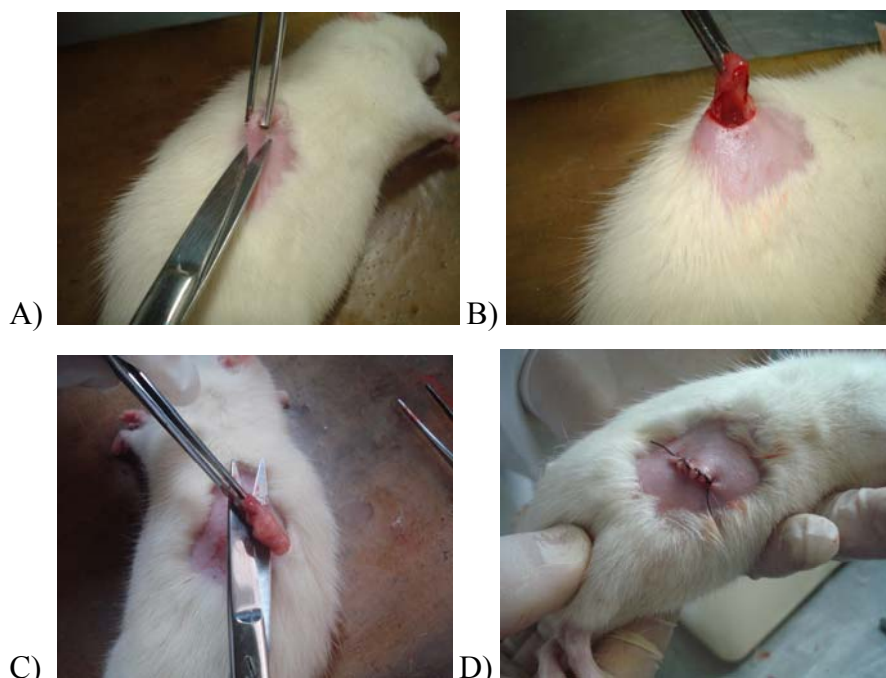


Figura 2: Ovariectomia: A) Excisão da epiderme; B) Excisão da musculatura; C) Exposição e extração do ovário; D) Sutura

Uma vez concluído o procedimento cirúrgico, os animais foram colocados isoladamente em suas gaiolas para a recuperação anestésica.

### 3.3 PROCEDIMENTO PARA ADMINISTRAR O ZINCO

Os animais receberam suplementação de zinco com 120 dias de nascidos e após 30 dias do procedimento cirúrgico, na dose de 25mg/kg de massa corporal/dia via oral (gavagem), na forma de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , durante 08(oito) semanas (figura 2). A imobilização para realizar a gavagem foi feita colocando-se a mão firmemente sobre o dorso e a caixa torácica, a cabeça segura com o polegar e o indicador, imediatamente atrás da mandíbula. A manipulação incorreta ou brusca pode implicar estresse e, conseqüentemente, desequilíbrio de funções orgânicas, o que pode determinar a ocorrência de alterações fisiológicas. Os grupos que não receberam a suplementação de zinco passaram pelo estresse da gavagem com água ultra-pura. A substância foi introduzida na cavidade oral por meio de uma agulha com a ponta arredondada e gentilmente empurrado pelo esôfago até o estômago. Teve-se o cuidado necessário para assegurar que o tubo não penetrasse inadvertidamente a traquéia. O horário para a realização da gavagem foi mantido durante todo o experimento, 12h, pois o estímulo luminoso produz variações nos níveis hormonais dos animais.



Figura 3: Ilustração da suplementação de zinco por gavagem.

### 3.4 PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO

O protocolo de treinamento físico foi adaptado do protocolo realizado por Renno et al (2007) e Marqueti et al (2006). Inicialmente os animais foram submetidos a uma semana de adaptação ao exercício, neste período não foi feita a suplementação de zinco. Foi utilizada uma sobrecarga equivalente a 50% da massa corporal do animal, e um intervalo de 30 segundos para repouso entre as séries.

Os animais foram colocados em uma piscina com a água (figura 4) em uma temperatura controlada de  $32 \pm 2$  °C e a uma profundidade de 70 cm, sempre no mesmo horário, às 10h. Ao final da sessão diária de testes a água do aquário era trocada, pois é relatado que a água previamente utilizada por outros ratos pode influenciar no comportamento, podendo assim alterar os resultados dos testes (KELLIHER et al., 2000).



Figura 4: Demonstração do sistema para o treinamento dos animais; observa-se uma rata durante o treino e que as paredes lisas facilitam a realização dos saltos sem que ela se agarre às paredes.

Para assegurar os saltos, foi empregado um procedimento bastante utilizado que consiste em colocar nas ratas uma carga adicional presa a um colete adequado que permitiu a execução dos saltos sem que a vestimenta saia do corpo das ratas.(BRAÛ et al., 1997; NEMIROVSKAYA et al., 1998; MEDEIROS et al., 2000; FERREIRA et al., 2001; CASSIMIRO-LOPES et al., 2008). A carga foi aumentada durante o experimento, sendo ajustada diariamente. Essa adaptação é necessária, pois murinos forçados a nadar em um espaço restrito do qual não podem escapar, adotam, após um período inicial de atividade vigorosa, uma postura de imobilidade se mantendo flutuando na água e fazendo somente os movimentos necessários para manter suas cabeças fora da água (CHATUVERDI; CHANDRA; BAPNA 1999). O treinamento dos

animais foi realizado três vezes por semana, durante o período de oito semanas, coincidindo com o período de suplementação de zinco.

O protocolo consistiu de 04 séries de 10 saltos dentro da água, com intervalo de 30 segundos entre as séries. Nas primeira e segunda semanas de treinamento foi adicionada sobrecarga de 50% da massa corpórea das ratas, na terceira e quarta semanas, de 60%, quinta e sexta semana 70 % e nas duas últimas semanas 80% da massa corporal, adaptado do protocolo desenvolvido por Renno et al. (2007) e Marqueti et al. (2006).

### 3.5 CONSUMO DE RAÇÃO E CONTROLE DE MASSA CORPÓREA

A massa corpórea dos animais, assim como a quantidade média de ração consumida por cada animal foram verificados duas vezes por semana com intervalos de 3 e 4 dias entre cada medida durante o período do treinamento físico e da suplementação do zinco. Foi utilizada balança digital (Mettler, Suíça) com capacidade máxima de 2610g e precisão de 0,1 g casas decimais. O controle do consumo da ração foi realizado pesando-se a sobra da ração e subtraindo da quantidade que foi colocada e estipulada como padrão (500g). Obtendo-se o consumo total por gaiola. Em seguida foi calculada a média de consumo por animal.

### 3.6 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Ao final das oito semanas de suplementação de zinco e treinamento físico, foi realizada a eutanásia dos animais por punção cardíaca precedida por anestesia com ketamina (1mL/Kg), estando todos com 180 dias de nascidos, após jejum de 12 h. A substância foi injetada na cavidade peritoneal entre os órgãos abdominais na metade posterior do abdome com o animal contido pelo dorso. A profundidade anestésica foi avaliada por meio da presença ou ausência de determinados sinais como reflexo da cauda. Em seguida, foi feita abertura da cavidade abdominal para realizar a punção cardíaca com o objetivo de obter amostra sanguínea para realização das análises bioquímicas e dosagens hormonais.

### 3.7 RETIRADA DOS ÓRGÃOS

Logo após a eutanásia, foi realizada a abertura da cavidade abdominal, através de incisão da pele, musculatura e tecido adiposo para retirada do baço, coração e útero para procedimento de pesagem. Todos esses órgãos foram removidos livre de gordura e tecido conectivo e foram imediatamente pesados em balança digital de precisão.

### 3.8 OBTENÇÃO DOS LINFÓCITOS

Após remoção do baço foi realizada maceração com um êmbolo de uma seringa para obtenção da suspensão celular em uma rede de nylon sobre placa de Petri contendo soro fisiológico. A suspensão celular foi centrifugada a 300rpm durante 7 minutos. A contagem das células foi realizada através de um microscópio na Câmara de Neubauer sob contraste de fase na presença de azul de tripan, para excluir as células em necrose.

### 3.9 RETIRADA DA GORDURA VISCERAL

Para a retirada da gordura visceral, foram removidos inicialmente todos os órgãos que não tenham sido retirados da cavidade abdominal, assim como o tecido adiposo que esteja próximo a esses órgãos. Separou-se essa gordura para posterior pesagem. Em seguida removeu-se toda a gordura visível, suspendendo as alças intestinais, que não foram retiradas para evitar sangramento.

### 3.10 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

#### 3.10.1 ESTRADIOL

Para dosagem dos níveis plasmáticos de estradiol, foram coletadas amostras de sangue, centrifugadas (a fim de separar o soro) e congeladas. O método utilizado para dosar o estradiol foi o de QL por imunoenensaio competitivo ou imunoenensaio enzimático (ELISA). Foram utilizados kits específicos para tal propósito.

### 3.10.2 PERFIL LIPÍDICO

Os níveis de colesterol total, HDL e triglicérides, também foram dosados a partir de amostras sanguíneas centrifugadas. Foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFPB e foi determinada através de método proposto pela Labtest-Diagnóstica, Brasil. A lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL) foi determinada através do cálculo de triglicérides pela fórmula de Friedwald; Levy; Fredrickson (1972). A fração LDL-colesterol foi calculada pela fórmula de Friedwald (1972), somente válida com TG < 400 mg.

$$\text{VLDL} = \text{TG}/5;$$

$$\text{LDL} = \text{CT} - (\text{VLDL} + \text{HDL}).$$

Onde:

VLDL: Very Low Density Lipoprotein (Lipoproteína de Muita Baixa Densidade)

CT: Colesterol Total

TG: Triglicérides

### 3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão. Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e ANOVA univariada ou bivariada quando necessário. O nível de significância aceito como estatisticamente significativo foi de  $p < 0,05$ . O software utilizado para realizar as análises estatísticas foi o GraphPad Prism version 4.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)

#### 4 REFERÊNCIAS

ABU-TAHA, M.; RIUS, C.; HERMENEGILDO, C.; NOGUERA, I.; J.M. CERDA-NICOLAS.; ISSEKUTZ, A. C.; JOSE, P. J.; CORTIJO, J.; MORCILLO, E. J. and SANZ, M. J. Menopause and ovariectomy cause a Low Grade of Systemic Inflammation that May Be Prevented by Chronic Treatment with Low Doses of Estrogen or Losartan. **J. Immunol.** v. 183, p. 1393-1402, 2009.

AMIN, S.H.; KUHLE, C.L.; FITZPATRICK, L.A. Comprehensive evaluation of the older woman. **Mayo Clin. Proc.** v. 78, 2003.

ATALEY, M.; SEN, C.K. Physical exercise and antioxidant defenses in the heart. **Ann. NY Acad. Sci.** v. 874, p. 169–177, 1999.

AUGERI, A. L.; TSONGALIS, G. J.; HEEST, J. L. V.; MARESHA, C. M.; THOMPSON, P. D.; PESCATELLO, L. S. The endothelial nitric oxide synthase –786 T>C polymorphism and the exercise-induced blood pressure and nitric oxide responses among men with elevated blood pressure. **Atherosclerosis** v. 204, 2009.

ARAÚJO, A. P. S.; MENÓIA, E. Atividade lipolítica durante a prática de atividade Física: enfoque sobre o consumo de oxigênio, produção de atp e o estímulo neuro–humoral. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 2, p. 177-184, 2008.

ARLT, W.; HEWISON, M. Hormones and immune function: implications of aging. **Aging Cell.** v. 3, p. 209–216, 2004.

ARORA, K. S.; GUPTA, N.; SINGH, R. A.; NAGPAL, S.; ARORA, D. Role of Free Radicals in Menopausal Distress. **Journal of Clinical and Diagnostic Research.** 2009.

AYRES, S.; BAER, J.; SUBBIAH, M. T. R. Exercised-induced increase in lipid peroxidation parameters in amenorrhic female athletes. **Fertility and Sterility** v. 69, n. 1. 1998

BAHIA, L.; AGUIAR, L. G. K.; VILLELA, N. R.; BOTTINO, D.; BOUSKELA, E. Endotélio e aterosclerose. **Revista da SOCERJ.** 2004.

BAUM, M.K; POSNER-SHOR, G, CAMPA, A. Zinc status in human immunodeficiency virus infection. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1421-1423, 2000.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Rev. Nutr., Campinas.** v. 12, p. 123-130, 1999.

BLANKENBERG, S.; BARBAUX, S.; TIRET, L. Adhesion molecules and atherosclerosis. **Atherosclerosis.** 2003.

BRAÜ, L. ; FERREIRA , L. D. M. C. B. ; NIKOLOVSKIS, ; RAJA, G. ; PALMER, T. N. ; FOURNIER, P. A. Regulation of glycogen synthase and phosphorylase during recovery from high-intensity exercise in the rat. **Bioch J**, v. 322, p. 303-308, 1997.

CAI, H. e HARRISON, D. G. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. **Circ. Res.** v. 87, p. 840-844, 2000.

CAI, L.; WANG, Y.; ZHOU, G.; CHEN, T.; SONG, Y.; LI, X. Attenuation by metallothionein of early cardiac cell death via suppression of mitochondrial oxidative stress results in a prevention of diabetic Cardiomyopathy. **J Am Coll Cardiol.** v. 48, p. 1688–1697, 2006.

CALIGIURI, G.; NICOLETTI, A.; POIRIER, B. HANSSON, G. K. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. **J.Clin Invest.** v.109(6), p. 745-753, 2002.

CARAMORI, P. R. A.; YAMAMOTO, G. I.; ZAGO, A. J. Reestenose Pós-Angioplastia. Fisiopatogenia. **Arq Bras Cardiol.** v. 69, 1997.

CASIMIRO-LOPES, G. ; ALVES, S. B. ; SALERNO, V. P. ; PASSOS, M. C. F. ; LISBOA, P. C. ; MOURA, E. G. Maximum acute exercise tolerance in hyperthyroid and hypothyroid rats subjected to forced swimming. **Horm Metab Res.** v. 40, p. 276 – 280, 2008.

CHATUVERDI, H. K.; CHANDRA, D.; BAPNA, J. S. Effect of NMDA receptor antagonist in forced swim test and its modification by antidepressants. **Ind J Pharmac.** v. 31, p. 104-109, 1999.

CHEN F. P. Postmenopausal Hormone Therapy and Risk of Breast Cancer. **Chang Gung Med J.** v. 32 (2), p. 140-7, 2009.

CHEN, J. Q.; BROWN, T. R.; RUSSO, J. Regulation of energy metabolism pathways by estrogens and estrogenic chemicals and potential implications in obesity associated with increased exposure to endocrine disruptors. **Biochimica et Biophysica Acta.** v. 1793, p. 1128–1143, 2009.

CHEN, M. D.; SONG, Y. M.; LIN, P. Y. Zinc may be a mediator of leptin production in humans. **Life Sciences.** v. 66, n. 22, p. 2143-2149, 2000

CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. **Rev Bras Med Esporte.** v. 10, n. 4, 2004.

COMINACINI, L.; ANSELMI, M.; GARBIN, U.; PASINI, A. F.; STRANIERI, C.; FUSARO, M. ; NAVA, C.; AGOSTONI, P.; KETA, D.; ZARDINI, P.; SAWAMURA, T.; CASCIO, V. Enhanced Plasma Levels of Oxidized Low-Density Lipoprotein Increase Circulating Nuclear Factor-Kappa B Activation in Patients With Unstable Angina. **JACC.** v. 46, p. 799–806, 2005.

COSTA, R. F. B.; FAGUNDES, D. J. Modelos Experimentais de Hiperplasia Intimal: Efeitos da Radiação Ionizante. **Acta Cir. Bras.** v.17, n. 3, 2002.

COYLEWRIGHT, M.; RECKELHOFF, J.F.; OUYANG, P. Menopause and hypertension: an age-old debate. **Hypertension.** v. 51(4), p.952-959, 2008.

CUTOLO, M.; BRIZZOLARA, R.; ATZENI, F.; CAPELLINO, S.; STRAUB, R. H.; PUTTINI, P. C. S. The immunomodulatory effects of estrogens Clinical relevance in immune-mediated rheumatic diseases. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** v. 1193, p. 36–42, 2010.

DAVIDHIZAR, R.; ESHLEMAN, J.; MOODY, M. Health promotion for aging adults. **Geriatr. Nurs.** v. 23, p. 28–35, 2002.

DE BIASE, S. G.; FERNANDES, S. F. C.; GIANINI, R. J.; DUARTE, J. L. G. Vegetarian Diet and Cholesterol and Triglycerides Levels. **Arq Bras Cardiol.** v. 88(1), p. 32-36, 2007.

DE LA TORRE, P.; DIAZ-SANJUAN, T.; GARCIA-RUIZ, I.; ESTEBAN, E.; CANGA, F.; MUNOZ-YAGUE, T.; SOLIS-HERRUZO, J.A. Interleukin-6 increases rat metalloproteinase-13 gene expression through Janus kinase-2-mediated inhibition of serine/threonine phosphatase-2A. **Cell. Signal.** v. 17, p. 427–435, 2005.

DE MORAES, C.; DAVEL, A. P. C.; ROSSONI, L. V.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiology.** v. 8, 2008.

DREOSTI, I.E. Zinc and the gene. **Mutat. Res.** v. 475, p. 161–167, 2001.

DUBEY, R. K.; TYURINA, Y. Y.; TYURIN, V. A.; GILLESPIE, D. G.; BRANCH R. A.; JACKSON, E. K. and KAGAN, V. E. Estrogen and tamoxifen metabolites protect smooth muscle cell membrane phospholipids against peroxidation and inhibit cell growth. **Circ. Res.** v. 84, p. 229– 239, 1999.

DUBEY, R. K.; JACKSON, E. K. Estrogen-induced cardiorenal protection: potential cellular, biochemical, and molecular mechanisms. **Am. J. Physiol.** v. 280, p. 365–F388, 2001.

FATOUROS, I. G.; JAMURTAS, A. Z.; VILIOTOU, V.; POULIOPOULOU, S.; FOTINAKIS, P.; TAXILDARIS, K.; DELICONSTANTINOS, G. Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 36, p. 2065–2072, 2004.

FATOUROS, M.; BOURANTAS, K.; Bairaktari E.; ELISAF, M.; TSOLAS, O.; CASSIOMIS, D. Role of the spleen in lipid metabolism. **Br J Surg.** v.82, p. 1675-1677, 1995.

FERRARA, N.; KERBEL, R. S. Angiogenesis as a therapeutic target. **Nature.** v. 438, p. 967-974, 2005.

FERREIRA, L. D. M. C. ; BRAÜ, L. ; NIKOLOVSKI, S. ; RAJA, G. ; PALMER, T. N.; FOURNIER, P. A. Effect of streptozotocin-induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats ost high intensity exercise. **Am J Physiol Endocrinol Metabolism,** v. 280, p. 83–91, 2001.

FINAUD, J.; SCISLOWSKI V.; LAC, G; DURAND, D.; VIDALIN, H.; Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. **Int J Sports Med.** v. 27(2), p. 87-93, 2006.

FRANCESCHI, C.; BONAFE, M.; VALENSIN, S.; OLIVIERI, F.; DE LUCA, M.; OTTAVINI, E.; DE BENEDICTIS, G.; Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immuno senescence. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** v. 908, p. 244–254, 2000c.

FRIEDWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative centrifuge. **Clinical Chemistry**, v.18, p.499-502, 1972.

GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; ALBANESE, F.; BOCCOLI, G.; SABA, V.; OLIVIERI, F.; FRANCESCHI, C.; MOCCHEGIANI, E. 174G/C polymorphism of IL-6 is useful to screen old subjects at risk for atherosclerosis or to reach successful ageing. **Exp. Gerontol.** v. 39, p. 621–628, 2004.

GUAYERBAS, N.; PUERTO, M.; ALVARADO, C.; DE LA FUENTE, M. Effect of diet supplementation with N-acetylcysteine on leucocyte functions in prematurely aging mice. **J. Appl. Biomed.** v. 3, p.199–205. 2005.

HALLIWELL, B. e GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in Biological systems. **Free Radical Biology & Medicine.** v. 18, n. 1, p. 125-126, 1995.

HANDY, R.D.; ABD-EL SAMEI, H.A.; BAYOMY, M.F.F.; MAHRAN, A.M.; ABDEEN, A.M.; EL-ELAIMY, E.A. Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. **Toxicology.** v.172, p.13–34, 2002.

HU, C. J.; LEE, Y. L.; SHIH, N.Y.; YANG, Y.Y.; CHAROENFUPRASERT, S.; DAI, Y. S.; CHANG, S.M.; TSAI, Y.H.; TSENG, H.; LIU, C. Y.; LEU, S.J. Reduction of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Interleukin-8 Levels by Ticlopidine in TNF- $\alpha$  Stimulated Human Umbilical Vein Endothelial Cells. **Journal of Biomedicine and Biotechnology.** 2009.

HUGHES, S.; SAMMAN, S. The effect of zinc supplementation in humans on plasma lipids, antioxidant status and thrombogenesis. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 25, p. 285– 291, 2006.

ISLANDER, U.; JOCHEMS, C.; LAGERQUIST, M. K.; HANSCARLSTEN, H. F. Estrogens in rheumatoid arthritis; the immune system and bone. **Mol Cell Endocrinol.** v. 335, p. 14-29, 2010.

IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** v. 88, Supl. I, 2007.

IVKOVIĆ, A.; FRANIĆ, M.; BOJANIĆ, I.; PEĆINA, M. Overuse Injuries in Female Athletes. **Croat Med J.** v.48, 2007.

JENNER, A.; REN, M.; RAJENDRAN, R.; NING, P.; HUAT, B. T. K.; WATT, F.; HALLIWELL, B. Zinc supplementation inhibits lipid peroxidation and the development of atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 42, p. 559–566, 2007.

JI, L.L. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. **Ann NY Acad Sci**. v. 959, p. 82-92, 2002.

JIALAL, I; DEVARAJ, S. Antioxidants and atherosclerosis: don't throw out the baby with the bath water. **Circulation**. v. 107, p. 926–8, 2003.

JIANG, N.; ZHANG, G.; BO, H.; QU, J.; MA, G.; CAO, D.; WEN, L.; LIU, S.; JI, L. L.; ZHANG, Y. Upregulation of uncoupling protein-3 in skeletal muscle during exercise: a potential antioxidant function. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 46, p. 138-145, 2009.

JONES, D. R.; SCHMIDT, R. J.; PICKARD, R. T.; FOXWORTHY, P. S.; EACHO, P. I. Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. **Journal of Lipid Research** v. 43, 2002.

KARMISHOLT, K.; GYNTELBERG, F.; GOTZCHE, P.C. Physical activity for primary prevention of disease. Systematic reviews of randomized clinical trials. **Dan. Med. Bull**. v. 52, p. 86–89, 2005.

KELLIHER, P.; CONNOR, T. J.; HARKIN, A.; SANCHEZ, C.; KELLY, J. P.; LEONARD, B. E. Varying response to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. **Physiol Behavior**, v. 69, p. 531-539, 2000.

KENTISCHER, A. B.; GOBEL, H.; KLEEMANN, R.; ZERNECKE, A.; BUCALA, R.; LENGD, L.; FINKELMEIER, D.; GEIGER, G.; SCHAEFER, H. E.; SCHOBER, A.; WEBER, C.; BRUNNER, H.; RUTTEN, H.; IHLING, C.; BERNHAGEN, J. Reduction of the aortic inflammatory response in spontaneous atherosclerosis by blockade of macrophage migration inhibitory factor. **Atherosclerosis**. v.184, p. 28–38, 2006.

KIMURA, M.; IRAHARA, M.; YASUI, T.; SAITO, S.; TEZUKA, M.; YAMANO, S.; KAMADA, M.; AONO, T. The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. **Biochem Biophys Res Commun**. v.290(4), p. 1349-1353, 2002

KING, A.E.; COLLINS, F.; KLONISCH, T.; SALLENAVE, J.M.; CRITCHLEY, H.O.D.; SAUNDERS, P.T.K. An additive interaction between the NFκB and estrogen receptor signaling pathways in human endometrial epithelial cells. **Human Reproduction**. v. 25, p. 510–518, 2010.

KING, L. E.; FRENTZEL, J. W.; MANN, J. J.; FRAKER, P. J. Chronic Zinc Deficiency in Mice Disrupted T Cell Lymphopoiesis and Erythropoiesis While B Cell Lymphopoiesis and Myelopoiesis Were Maintained. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 24, n. 6, p. 494–502, 2005.

KNOWLER, W. C., CONNOR, E. B., FOWLER, S. E., HAMMAN, R. F., LACHIN, J. M., WALKER, E. A., and NATHAN, D. M.. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle Intervention or metformin. **N Engl J Med**, v.346, n. 6, 2002.

KRAMER, K.; DIJKSTRA, H.; BAST, A. Control of physical exercise of rats in a swimming basin. **Physiology & Behavior**. v. 53, p. 271-276, 1993.

LABRESH, K. A.; OWEN, P.; ALTERI, C.; REILLY, S.; ALBRIGHT, P.; HORDES A. R.; SHAFTEL, P. A.; NOONAN, T. E.; STOUKIDES, C. A.; KAUL A. F.; Secondary prevention in a cardiology group practice and hospital setting after a heart-care initiative. **American Journal of Cardiology**. v. 85, p. 23-29, 2000.

LANDMESSER, U.; HORNIG, B.; DREXLER, H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? **Circulation**. v. 109, p. 27-33, 2004.

LASSÈGUE, B. e GRIENGLING, K. K. Reactive Oxygen Species in Hypertension. **AJH**. v. 17, p. 852-886, 2004.

LATOUR, M.G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J.M.. Regulation of Fat Metabolism in the Liver: link to non alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. **Cell. Mol. Life. Sci**. v. 63, p. 1393, 2001.

LAZAREVIC, G.; ANTIC, S.; CVETKOVIC, T.; VLAHOVIC, P.; TASIC, I.; STEFANOVIC, V. A physical activity programme and its effects on insulin resistance and oxidative defense in obese male patients with type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Metab**. v. 32, p. 583-590, 2006.

IBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. Inflammation and Atherosclerosis. **Circulation**. v. 105, p. 1135-1143, 2002.

LOSONCZY, K.G.; HARRIS, T.B.; HAVLIK, R.J. Vitamin E and vitamin C supplement use and risk of all-cause and coronary heart disease mortality in older persons: the established populations for epidemiologic studies of the Elderly. **Am J Clin Nutr** v. 64, p. 190-196, 1996.

LUC, G.; BARD, J.M.; JUHAN-VAGUE, I.; FERRIERES, J.; EVANS, A.; AMOUYEL, P.; ARVEILER, D.; FRUCHART, J.C.; DUCIMETIERE, P. PRIME Study Group. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease. **Arteriosler. Thromb. Vasc. Biol**. v. 23, p. 1255-1261, 2003.

LUKASKI, H.C. Magnesium, zinc, and chromium nutriture and physical activity. **Am J Clin Nutr**; v. 72, p. 585-593, 2000.

MA, X.; MA, Q.; LIU, J.; TIAN, Y.; WANG, B.; TAYLOR, K. M.; WU, P.; WANG, D.; XU, G.; MENG, L.; WANG, S.; MA, D.; ZHOU, J. Identification of LIV1, a Putative Zinc Transporter Gene Responsible for HDACi-Induced Apoptosis, Using a Functional Gene Screen Approach. **Mol Cancer Ther**. v. 11, 2009

MACDONALD, R.S. The role of zinc in growth and cell proliferation. **J Nutr.** v. 130, p. 1500-1508, 2000.

MACMURRAY, R. W.; NDEBELE, K.; HARDY, K. J.; JENKINS, J. K. 17- $\beta$ -estradiol Suppresses IL-2 and IL-2 Receptor. **Cytokine.** v. 14, p. 324-333, 2001.

MANTZOROS, C. S.; PRASAD, A. S.; BECK, M. F. W. J.; GRABOWSKI, S.; KAPLAN, J.; ADAIR, C.; BREWER, G. J. Zinc may regulate serum leptin concentrations in humans. **J Am Coll Nutr.** v. 17, p. 270-275, 1998.

MARET, W.; KREZEL, A. Cellular zinc and redox buffering capacity of metallothionein/thionein in health and disease. **Mol Med.** v. 13, p. 371–375, 2007

MARQUETI, R. C. ; PARIZOTTO, N. A. ; CHRIGUER, R. S. ; PEREZ, S. E. ; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. **Am J Sports Med,** v. 34, p. 1274-1280, 2006.

MASI, A.T.; ALDAG, J.C.; JACOBS, J.W. Rheumatoid arthritis: neuroendocrine immune integrated physiopathogenetic perspectives and therapy. **Rheum Dis Clin North Am.** v. 31, p. 131-160, 2005.

MECOCCI P.; POLIDORI M. C., TROIANO L.; CHERUBINI, A.; CECCHETTI, R.; PINI, G.; STRAATMAN, M.; MONTI, D.; STAHL, W.; SIES, H.; FRANCESCHI, C. e SENIN, U. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy Centenarians. **Free Radical Biology & Medicine.** v. 28, No. 8, p. 1243–1248, 2000.

MEDEIROS, A.; GIANNOLA, R. M.; KALIL, L.; BACURAU, R.; ROSA, L.; NEGRÃO, C.; BRUM, P. Efeitos do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. **Rev Paul Ed Fis,** v. 14, p. 7-15, 2000.

MELTON, S.A.; M.HEGSTED, M.J. KEENAN, Y.ZHANG, S.MORRIS, L. POTTER BULOT, C.E.O'NEIL AND G. STEPHEN MORRIS

MENDELSON, M. E.; KARAS, R. H. Mechanisms of disease: the protective effects of estrogen on the cardiovascular system. **N. Engl. J. Med.** v. 340, p. 1801– 1811; 1999.

MEYER, M. R.; HAAS, E.; BARTON, B. Gender Differences of Cardiovascular Disease. New Perspectives for Estrogen Receptor Signaling. **Hypertension.** v. 47, p. 1019-1026; 2006.

MIGLIORE, L.; COPPEDEB, F. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. **Mutation Research** v.674, 2009.

MILLER, J.; CHAN, B. K.S.; NELSON, H. D. Postmenopausal Estrogen Replacement and Risk for Venous Thromboembolism: A Systematic Review and Meta-Analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. **Ann Intern Med.** v.136, p. 680-690. 2002.

MOCCHIGIANI, E.; MUZZIOLI, M.; GIACCONI, R. Zinc and immunoresistance to infection in aging: new biological tools. **Trends Pharmacol. Sci.** v. 21, p. 205–208, 2000.

MOCCHIGIANI, E.; COSTARELLI, L.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; MUTI, E.; TESEI, S.; MALAVOLTA, M. Nutrient–gene interaction in ageing and successful ageing. A single nutrient (zinc) and some target genes related to inflammatory/immune response. **Mech. Ageing Dev.** v. 127, p. 517–525, 2006.

NAYA, M.; TSUKAMOTO, T.; MORITA, K.; KATOH, C.; FURUMOTO, T.; FUJII, S.; TAMAKI, N.; TSUTSUI, H. Plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha can predict coronary endothelial dysfunction in hypertensive patients. **Hypertens. Res.** v. 30, p. 541–548, 2007.

NATH, R.; KUMAR D.; LI, T.; SINGAL, P. K. Metallothioneins, oxidative stress and the cardiovascular system. **Toxicology.** v. 155, p. 17–26, 2000.

NEMIROVSKAYA, T. L.; SHENKAN, B. S.; KOSHELEV, V. B. Exercise-induced hypoxia and structural and metabolic adaptation of skeletal muscle. **Basic Appl Myol.** v. 8, p.441-445, 1998.

NIETHAMMER, M.; SIEBER, M.; VON, H. S.; ANKER, S. D.; MUNZEL, T.; HORSTICK, G.; GENTH-ZOTZ S. Inflammatory pathways in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *International Journal of Cardiology.* v. 129, p. 111–117, 2008.

OMS, Fact sheet N°317 Jan 2011.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>. Acessado Mar/2011

PACHECO J. L., GONSEBATT M. E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. **Mutation Research.** v. 674, p. 137–147, 2009.

PACKARD, R. R. S.; LIBBY, P. Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. **Clinical Chemistry.** v. 54:1 24–38. 2008.

PAPAS, A. M. Diet and Antioxidant Status. **Food and Chemical Toxicology.** v. 37, p.999-1007, 1999.

PERIS'IC', M.; RANIN, N. A.; PILIPOVIC', I.; KOSEC, D.; PES'IC', V.; RADOJEVIC', K.; LEPOSAVIC', G. Role of ovarian hormones in age-associated thymic involution revisited. **Immunobiology.** v.215. p. 275–293, 2010

PETERSEN, A. M., PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol.** v. 98, p. 1154–1162, 2005.

POLITI, F.A.S.; PIETRO, R.C.L.R.; SALGADO, H.R.N. Caracterização de biotérios, legislação e padrões de biossegurança. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 29, n.1, p. 17-28, 2008.

POWELL, S. R. The antioxidant properties of zinc. **The Journal of Nutrition**, v.130, p. 1447-1454, 2000.

PRADHAN, A.D.; MANSON, J.E.; ROSSOUW, J.E.; SISCOVICK, D.S.; MOUTON, C.P.; RIFAI, N.; WALLACE, R.B.; JACKSON, R.D.; PETTINGER, M.B.; RIDKER, P.M. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease. **JAMA**. v. 288, p. 980–987, 2002.

PRADO, E. S.; DANTAS, E. H. M. Efeitos dos Exercícios Físicos Aeróbio e de Força nas Lipoproteínas HDL, LDL e Lipoproteína(a). **Arq Bras Cardiol**, v. 79 (nº 4), p. 429-33, 2002.

PRASAD, A. S. Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. **Mol Med**. v. 14, p. 353 – 357, 2008.

PROUDLER, A. J.; CROOK, D.; STEVENSON, J.C.; AHMED, A.I.H.; RYMER, J.M.; FOGELMAN, I. Hormone replacement therapy and serum angiotensin-converting-enzyme activity in postmenopausal women. **Lancet**. v. 346, p. 89–90, 1995.

PUNNONEN, R.; JOKELA, H.; AINE, R.; TEISALA, K.; SALOMAKI, A.; UPPA, H. Impaired ovarian function and risk factors for atherosclerosis in premenopausal women. **Maturitas** v. 27, p. 231–238, 1997.

RADAK, Z.; CHUNG, H.Y.; GOTO, S. Exercise and hormesis: oxidative stress related adaptation for successful aging. **Biogerontolog**. v.6, p. 71–75, 2005.

RECKELHOFF, J.F.; FORTEPIANI, L.A. Novel mechanisms responsible for postmenopausal hypertension. **Hypertension** v. 43, p. 918–923, 2004.

REHMAN, H. U.; MASSON, E. A. Neuroendocrinology of Female Aging. **Gender Medicine**. v. 2, p. 41-56, 2005.

REN, M. Q.; WATT, F.; TAN, K.W.; HALLIWELL, B. Correlation of iron and zinc levels with lesion depth in newly formed atherosclerotic lesions. **Free Radic. Biol. Med**. v.34, p. 746–752, 2003.

RENNO, A. C. M.; FAGANELLO, F. R.; DE MOURA, F. M.; DOS SANTOS, N. S. A.; TIRICO, R. P.; BOSSINI, P. S.; ZUANON, J. A.; BENATTI NETO, C.; PARIZOTTO, N. A. The effects of a progressive loading exercise Program on femoral physical properties and Strength of osteopenic rats. **Acta Ortop Bras**. v.15, n.5, p. 276-279, 2007.

RINALDI, B.; CORBI, G.; BOCCUTI, S.; FILIPPELLI, W.; RENGO, G.; LEOSCO, D.; ROSSI, F.; FILIPPELLI, A.; FERRARA, N. Exercise training affects age-induced changes in SOD and heat shock protein expression in rat heart. **Experimental Gerontology**. v. 41, p. 764–770, 2006.

SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; SARABIA, M.I.; CARE, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; AND BOCCIO, J. Zinc as an essential micro nutrient: a review. **Nutrition Research**. v. 20, No. 5, p. 737-755, 2000.

SAMY, T.S.; ZHENG, R.; MATSUTANI, T.; RUE III, L.W.; BLAND, K.I.; CHAUDRY, I.H. Mechanism for normal splenic T lymphocyte functions in proestrus females after trauma: enhanced local synthesis of 17 beta-estradiol. **Am J Physiol Cell Physiol**. v. 285, p. 139-149, 2003.

SANDBERG, K.; JI, H. Why can't a woman be more like a man?: Is the angiotensin type 2 receptor to blame or to thank? **Hypertension**. v. 52(4), p. 615-617, 2008.

SANDSTEAD, H. H. Understanding zinc: recent observations and interpretations. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 124, n. 3, p. 322-327, 1994.

SANDSTROM, B. Dose Dependence of zinc and manganese absorption in man. **Proc. Nutr. Soc.** v. 51, 1992.

SANJUÁN-PLA, A.; CERVERA, A. M.; APOSTOLOVA, N.; GARCIA-BOUA, R.; VICTORA, V. M.; MURPHY, M. P.; MCCREATH, K. J. A targeted antioxidant reveals the importance of mitochondrial reactive oxygen species in the hypoxic signaling of HIF-1a. **FEBS Letters**. v. 579, p. 2669–2674, 2005.

SHAY, N. F.; MANGIAN, H. F. Neurobiology of zinc-influenced eating behavior. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1493-1499, 2000.

SILVA, M.M.; JAMEL, N.; REFINETTI, R.A.; OLIVEIRA, M.A.S.; PADILHA, M.S. Papel do baço no perfil lipídico: estudo experimental. **Arq Bras Cir Dig**. v.15, p. 121-124, 2002.

SIMKIN-SILVERMAN, L.R.; WING, R.R.; BORAZ, M.A.; KULLER, L.H. Lifestyle intervention can prevent weight gain during menopause: results from a 5-year randomized clinical trial. **Ann Behav Med**. v. 26(3), p. 212-220, 2003.

SINGH, M. A. F. Exercise and aging. **Clin Geriatr Méd**. v. 20, p. 201– 221, 2004.

SINGH, R.B.; NIAZ, M. A.; RASTOGI, S. S.; BAJAJ, S.; GAOLI, Z.; e SHOUMIN, Z. Current zinc intake and risk of diabetes and coronary artery disease and factors associated with insulin resistance in rural and urban populations of North India. **J Am Coll Nutr**. v.17(6), p. 564–70, 1998.

SIOW, R. C.M.; LI, F. Y.L.; ROWLANDS, D. J.; WINTER, P.; MANN, G. E. Cardiovascular targets for estrogens and phytoestrogens: Transcriptional regulation of nitric oxide synthase and antioxidant defense genes. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 42, p. 909–925, 2007.

SOINIO, M.; MARNIEMI, J.; LAAKSO, M.; PYORALA, K.; LEHTO, S.; RONNEMAA, T.; Serum zinc level and coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**. v. 30(3), p. 523–8, 2007.

SOMEYA, Y.; TANIHATA, J.; SATO, S.; KAWANO, F.; SHIRATO, K.; SUGIYAMA, M.; KAWASHIMA, Y.; NOMURA, S.; TACHIYASHIKI, K.;

IMAIZUMI, K. Zinc Deficiency Induced Changes in the Distribution of Rat White Blood Cells. **J Nutr Sci Vitaminol.** v. 55, 162-169, 2009.

STRAIN, J.J. Trace elements and cardiovascular disease. **Bibl Nutr Dieta.** v. 54, p. 127-140, 1998.

STONE, J.A.; CYR, C.; FRIESEN, M.; SYMONDS, K. H.; STENE, R.; SMILOVITCH, M. Canadian guidelines for cardiac rehabilitation and atherosclerotic heart disease prevention: a summary. **Can J Cardiol.** v. 17, p. 3-30, 2001.

STYGAR, D.; WESTLUND, P.; ERIKSSON, H.; SAHLIN, L. Identification of wild type and variants of oestrogen receptors in polymorphonuclear and mononuclear leucocytes. **Clinical Endocrinology.** v. 64, p. 74-81, 2006.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomedicine & Pharmacotherapy.** v. 57, p. 399-411, 2003.

THOMPSON, P. D.; BUCHNER, D.; PIÑA, I. L.; BALADY, G. J.; WILLIAMS, M. A.; MARCUS, B. H.; BERRA, K.; BLAIR, S. N.; COSTA, F.; FRANKLIN, B.; FLETCHER, G. F.; GORDON, N. F.; PATE, R. R.; RODRIGUEZ, B. L.; YANCEY, A. K.; WENGER, N. K. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. **Circulation.** v. 107, p. 3109-3116, 2003.

TOMAT, A. L.; WEISSTAUB, A. R.; JAUREGUI, A.; PIÑEIRO, A.; BALASZCZUK, A. M.; COSTA, M. A.; ARRANZ, C. T. Moderate Zinc Deficiency Influences Arterial Blood Pressure and Vascular Nitric Oxide Pathway in Growing Rats. **Pediatric Research.** v. 58, 2005.

TOUYZ, R. M.; Reactive Oxygen Species, Vascular Oxidative Stress, and Redox Signaling in Hypertension What Is the Clinical Significance? **Hypertension.** v. 44, p. 248-252, 2004.

TRAUPE, T.; STETTLER, C.D.; LI, H.; HAAS, E.; BHATTACHARYA, I.; MINOTTI, R.; BARTON, M. Distinct roles of estrogen receptors alpha and beta mediating acute vasodilation of epicardial coronary arteries. **Hypertension** v. 49, p. 1364-1370, 2007.

VALLEE, B.L.; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiology Reviews,** v.73, n.1, p. 79-118, 1993.

VASAK, M. Advances in metallothionein structure and functions. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.** v. 19, p. 13-17, 2005.

VIDEM, V.; WISETH, R.; GUNNES, S.; MADSEN, H. O.; GARRED, P. Multiple inflammatory markers in patients with significant coronary artery disease. **International Journal of Cardiology.** v.118, p. 81-87, 2007.

WAJCHENBERG, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocrine Rev.** v.21, p. 697-738, 2000.

WANG, J.; SONG, Y.; ELSHERIF, L.; SONG, Z.; ZHOU, G.; PRABHU, S. D.; SAARI, J. T.; CAI, L. Cardiac Metallothionein Induction Plays the Major Role in the Prevention of Diabetic Cardiomyopathy by Zinc Supplementation. **Circulation**. v.113, p. 544-554, 2006.

WEISS, J.H.; SENSI, S. L.; KOH, J.Y. Zn<sup>2+</sup>: a novel ionic mediator of neural injury in brain disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 21, p. 395-401, 2001.

WHELTON, S. P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann Intern Méd.** v. 136(7), p. 493-503, 2002.

YOUNG, K. Health, health promotion and the elderly. **J. Clin. Nurs.** v.5, p. 241–248, 1996.

ZANESCO, A.; ANTUNES, E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: Pharmacological approaches. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 114, 307–317, 2007.

ZANESCO, A.; ZAROS, P. R. Physical exercise and menopause. **Rev Bras Ginecol Obstet.** v. 31(5), p. 254-61, 2009.

ZOU, M. H.; SHI, C.; COHEN, R. A. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. **J. Clin. Invest.**v. 109. p. 817–826. 2002.

## 5 ANEXO

## **6 APÊNDICE**

### **6.1 ARTIGO**

Os capítulos de resultados e discussão estão estruturados sob a forma de um artigo original intitulado: ASSOCIAÇÃO ENTRE ZINCO E TREINAMENTO FÍSICO MELHORA O PERFIL LIPÍDICO NA DEFICIÊNCIA ESTROGÊNICA. Este artigo foi enviado para publicação no periódico Arquivos Brasileiros de Cardiologia co Qualis B3 para medicina II.

# **ASSOCIAÇÃO ENTRE ZINCO E TREINAMENTO FÍSICO MELHORA PERFIL LIPÍDICO NA DEFICIÊNCIA ESTROGÊNICA**

Zinc and physical training improves lipid profile in estrogen deficiency in rats

**Título Resumido:** Zinco e Exercício Físico em ratas ovariectomizadas

**Palavras-chave:** Zinco, Treinamento de Resistência, Lípides, Ovariectomia

**Keyword:** Zinc, Resistance Training, Lipids, Ovariectomy

Talita Maria Alves Lopes da Silva<sup>1</sup>

Lígia de Albuquerque Maia<sup>1</sup>

Plínio Luna de Albuquerque<sup>2</sup>

Rafaella de Menezes Leuthier<sup>2</sup>

Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves<sup>1</sup>

Hosana Bandeira Santos<sup>3</sup>

Isac Almeida de Medeiros<sup>3</sup>

Simone Bezerra Alves<sup>1,2</sup>

1. Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição–Departamento de Nutrição–CCS–Universidade Federal da Paraíba
2. Departamento de Fisioterapia–CCS-UFPB
3. Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos-CCS-UFPB

**Autor correspondente:**

**Simone Bezerra Alves**

**Endereço:** Campus I–Cidade Universitária–João Pessoa/PB–Brasil-CEP: 58059-

**900. Telefone:** (83) 32167718. **E-mail:** [simonea@gmail.com](mailto:simonea@gmail.com)

APOIO: CNPq e REUNI

## **RESUMO**

**FUNDAMENTO:** A menopausa altera o perfil lipídico. O zinco e o treinamento físico podem interferir na ação de enzimas envolvidas no metabolismo lipídico.

**OBJETIVO:** Avaliar os efeitos da suplementação de zinco e/ou treinamento físico com carga no perfil lipídico de ratas ovariectomizadas.

**MÉTODO:** Estudo com 60 ratas wistar distribuídas em cinco grupos: Controle (SHAM): não recebeu tratamento; Controle Ovariectomizadas (OX-C): não recebeu tratamento; Zinco (OX-Z): suplementadas com zinco; Treinamento Físico (OX-TF): realizou treinamento físico; Zinco + Treinamento Físico (OX-ZTF): suplementadas com zinco e realizou treinamento físico. Após a eutanásia analisou-se perfil lipídico, massa de coração e útero, gordura visceral. Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e/ou ANOVA univariada.

**RESULTADOS:** Nos grupos com supressão estrogênica, observaram-se maiores concentrações de colesterol total e LDL ( $p < 0,05$ ). O grupo OX-Z apresentou menores concentrações de VLDL ( $12,07 \pm 0,79$  mg/dL) e triglicerídeos ( $60,33 \pm 3,96$  mg/dL) quando comparado com OX-C ( $16,66 \pm 0,96$  mg/dL;  $83,29 \pm 4,82$  mg/dL), respectivamente; maiores colesterol total ( $80,67 \pm 3,08$  mg/dL), colesterol HDL ( $42,18 \pm 0,90$  mg/dL), e colesterol LDL ( $27,56 \pm 2,84$  mg/dL). A concentração de colesterol HDL do grupo OX-ZTF ( $42,56 \pm 1,04$  mg/dL) se apresentou maior que os grupos SHAM ( $38,13 \pm 0,85$  mg/dL) e OX-TF ( $39,25 \pm 1,15$  mg/dL). O grupo OX-ZTF também apresentou maior hipertrofia cardíaca e menor massa do baço.

**CONCLUSÕES:** A associação entre zinco e treinamento físico apresentou-se como melhor opção de tratamento na supressão estrogênica, pois favoreceu o perfil lipídico e a hipertrofia cardíaca, o que seria benéfico para a prevenção de doenças, como aterosclerose.

## INTRODUÇÃO

O envelhecimento implica em uma diminuição progressiva da secreção de vários hormônios, dentre eles o estrogênio [1], que é importante no desenvolvimento e maturação do sistema cardiovascular [2]. Dessa forma a carência de estrogênio durante a menopausa, ou após a ovariectomia, torna as mulheres mais propensas ao surgimento de doenças cardiovasculares [3], devido às alterações no perfil lipídico que podem ser decorrentes da falha da ação antioxidante deste hormônio [4].

Autores sugerem participação da atividade física na manutenção da saúde e prevenção de doenças crônicas [5], através do aumento ou manutenção das defesas antioxidantes [6], estimulando a produção de óxido nítrico (ON), e a expressão de enzimas antioxidantes, como a SOD-1 [7], aumento da biodisponibilidade do ON para as células musculares lisas, relaxamento da musculatura lisa vascular e conseqüente redução da pressão arterial. Esta ação antioxidante da atividade física [8] impacta positivamente na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares [9], regulando as defesas antioxidantes em tecidos como músculo esquelético e cardíaco [10].

Além da importância da atividade física, enzimas antioxidantes presentes no tecido vascular, como SOD-1 e a SOD-3, são dependentes de Cobre/Zinco [11]. Assim a ingestão adequada ou suplementação de nutrientes que possuem ação antioxidante está associada com diminuição de riscos para doenças, como aterosclerose, trombose, acidente vascular encefálico e seus fatores de risco como a peroxidação lipídica, adesão plaquetária e lesão na artéria coronária [12]. Neste cenário o zinco é considerado um elemento importante, atuando como co-fator de diversas enzimas antioxidantes [13].

Diante da importância do zinco e da atividade física sobre a função do sistema cardiovascular investigaram-se os efeitos da suplementação de zinco associada, ou não, ao treinamento físico sobre o perfil lipídico de ratas ovariectomizadas.

## **METODOLOGIA**

Ratas Wistar, fêmeas, nulíparas, com idade de 90 dias, procedentes do biotério do Laboratório de Tecnologias Farmacêuticas da UFPB foram utilizadas. No início do experimento a média da massa corpórea era de 230g. Esses animais foram mantidos em ambiente com temperatura de  $(21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C})$  com ciclo de claro-escuro de 12h de claro. Receberam ração comercial e água destilada *ad libitum*, mantidos em gaiolas de propileno translúcido (30x20x13cm), com tampa de aço inox e aço carbono e cama de maravalha.

As ratas foram distribuídas aleatoriamente em cinco grupos, cada grupo com 12 animais: Controle (SHAM): não recebeu nenhum tratamento; Controle Ovariectomizadas (OX-C): não recebeu nenhum tratamento; Zinco (OX-Z): recebeu suplementação de zinco; Treinamento Físico (OX-TF): realizou treinamento físico; Zinco + Treinamento Físico (OX-ZTF): recebeu suplementação de zinco e realizou treinamento físico. O presente trabalho foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal sob a certidão nº 0310/2010.

### **Procedimento Cirúrgico – Ovariectomia**

O procedimento cirúrgico foi realizado aos 90 dias, em todos os grupos, sendo que a ovariectomia não foi executada no grupo denominado SHAM. Os animais foram

anestesiados intraperitonealmente com solução de xilazina como pré-anestésico e ketamina como anestésico, ambos na dose de 1mL/Kg. A substância foi injetada na cavidade peritoneal na metade posterior do abdome com o animal contido pelo dorso. A profundidade anestésica foi avaliada por meio da ausência de reflexo da cauda. Realizou-se tricotomia prévia seguida da incisão bilateral, com lâmina de bisturi nº 15 na região pré-pubiana, localização e remoção dos ovários. A região incisada recebeu sutura simples com fio de seda 4.0. Uma vez concluído o procedimento cirúrgico, os animais foram colocados isoladamente em suas gaiolas para a recuperação anestésica.

### **Suplementação de Zinco**

Os animais receberam suplementação de zinco com 120 dias de nascidos e após 30 dias do procedimento cirúrgico, na dose de 25mg/kg de massa corporal/dia via oral (gavagem), na forma de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , durante 08(oito) semanas. Os grupos que não receberam a suplementação de zinco passaram pelo estresse da gavagem com água ultra-pura. A substância foi introduzida na cavidade oral por meio de uma agulha com a ponta arredondada até o estômago. Teve-se o cuidado necessário para assegurar que o tubo não penetrasse a traquéia. O horário para a realização da gavagem foi mantido durante todo o experimento, 12h.

### **Treinamento Físico**

O protocolo de treinamento físico foi adaptado do realizado por Renno et al. [14] e Marqueti et al.[15]. Inicialmente os animais foram submetidos a uma semana de

adaptação ao exercício, neste período não houve suplementação de zinco. Foi utilizada uma sobrecarga equivalente a 50% da massa corporal do animal.

Os animais foram colocados em uma piscina com a água com temperatura controlada ( $32 \pm 2$  °C) e profundidade de 70 cm, sempre no mesmo horário, 10h. Ao final da sessão diária a água da piscina era trocada, pois é relatado que a água previamente utilizada por outros ratos pode influenciar no comportamento e assim alterar os resultados dos testes [16].

Para assegurar os saltos foi adicionada uma carga presa a um colete adequado que permitiu a execução dos saltos sem que a vestimenta saia do corpo das ratas [17]. Essa adaptação é necessária, pois murinos forçados a nadar em um espaço restrito do qual não podem escapar, adotam, após um período inicial de atividade vigorosa, uma postura de imobilidade na água, fazendo somente os movimentos necessários para manter suas cabeças fora da água [18]. A carga foi aumentada durante o experimento, sendo ajustada semanalmente. O treinamento dos animais foi realizado três vezes por semana, durante de oito semanas, coincidindo com o período de suplementação de zinco.

O protocolo consistiu de 04 séries de 10 saltos dentro da água, com intervalo de 30 segundos entre as séries. Nas primeira e segunda semanas de treinamento foi adicionada sobrecarga de 50% da massa corpórea das ratas, na terceira e quarta semanas, de 60%, quinta e sexta semana 70 % e nas duas últimas semanas 80% da massa corporal.

## **Consumo de Ração e controle de massa corpórea.**

A massa corpórea dos animais, assim como a quantidade média de ração consumida por cada animal foram verificados duas vezes por semana com intervalos de 3 e 4 dias entre cada medida durante o experimento. Foi utilizada balança digital (Mettler, Suíça) com capacidade máxima de 2610g e precisão de 0,1 g casas decimais. O controle do consumo da ração foi realizado pesando-se a sobra da ração e subtraindo da quantidade que foi colocada e estipulada como padrão (500g). Obtendo-se o consumo total por gaiola. Em seguida foi calculada a média de consumo por animal.

## **Eutanásia dos animais**

Ao final das oito semanas do experimento, foi realizada a eutanásia dos animais por punção cardíaca precedida por anestesia com ketamina (1mL/Kg), estando todos com 180 dias de nascidos. Todos os animais estavam em jejum de 12 h. Em seguida, foi a punção cardíaca com o objetivo de obter amostra sanguínea para realização das análises bioquímicas e hormonais.

## **Retirada dos órgãos**

Após a eutanásia, foi realizada a abertura da cavidade abdominal, através de incisão da pele, musculatura e tecido adiposo para retirada do baço, coração e útero

para procedimento de pesagem. Todos esses órgãos foram removidos livre de gordura e tecido conectivo e foram imediatamente pesados em balança digital de precisão.

### **Extração da gordura visceral**

Para a retirada da gordura visceral, foram removidos inicialmente todos os órgãos da cavidade abdominal, assim como o tecido adiposo que estivesse próximo a esses órgãos. Em seguida removeu-se toda a gordura visível, suspendendo as alças intestinais, que não foram retiradas para evitar sangramento.

### **Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos**

#### **Estradiol**

Para dosagem dos níveis plasmáticos de estradiol, foram coletadas amostras de sangue, que foram centrifugadas, a fim de separar o soro. O método utilizado para dosar o estradiol foi o de quimioluminescência por imunoensaio competitivo ou imunoensaio enzimático (ELISA). Foram utilizados kits específicos para tal propósito.

#### **Perfil Lipídico**

As concentrações de colesterol total, colesterol HDL e triglicérides, foram dosados a partir do soro no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFPB utilizando o método proposto pela Labtest-Diagnóstica, Brasil. A lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL) foi determinada através do cálculo de triglicérides pela fórmula de Friedwald; Levy; Fredrickson [19]. A fração colesterol LDL foi calculada pela fórmula de Friedwald, somente válida com TG < 400 mg:  $VLDL = TG/5$ ;  $LDL = CT - (VLDL+HDL)$ . Onde: VLDL: *Very Low Density Lipoprotein* (Lipoproteína de Muita Baixa Densidade); CT: Colesterol Total TG: Triglicérides

### **Análise Estatística**

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão. Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e ANOVA univariada ou bivariada quando necessário. O nível de significância aceito como estatisticamente significativo foi de  $p < 0,05$ . O software utilizado para realizar as análises estatísticas foi o GraphPad Prism version 4.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com).

### **Fontes de Financiamento de Estudos**

CNPq

## **RESULTADOS**

Os dados da Tabela 1 mostram que a massa corpórea dos animais dos grupos ovariectomizados ao término do experimento foi significativamente maior que a massa do grupo SHAM ( $p < 0,05$ ). A média de consumo de ração do grupo OX-C foi 12,3 % maior que o grupo SHAM e o grupo OX-Z reduziu 11,3 % em relação ao grupo OX-C, ambos os resultados com significância estatística ( $p < 0,0001$ ). A massa corporal do grupo OX-Z foi 11% menor quando comparado ao grupo OX-C. Entretanto, não se observou variações significativas ( $p = 0,58$ ) entre as médias da massa de gordura visceral.

A massa do útero foi menor nos grupos ovariectomizados ( $p < 0,0001$ ), já a massa do baço dos animais que se submeteram a supressão estrogênica sem nenhum tratamento foi significativamente maior que o SHAM ( $p = 0,04$ ), enquanto os animais do grupo OX-ZTF quando comparado com OX-C apresentou menor massa do baço ( $p = 0,02$ ) (tabela 2). O dado de massa do coração do grupo OX-Z foi 10,2% menor quando comparado ao grupo OX-C (Tabela 2).

A concentração sérica média de estradiol se apresentou menor em todos os grupos quando comparado ao grupo SHAM ( $12,29 \pm 2,59$  pg/ml;  $p < 0,0007$ ). Quando comparados os grupos que se submeteram ao treinamento físico (OX-TF:  $1,2 \pm 0,80$  pg/mL;  $p = 0,05$  e OX-ZTF:  $0,20 \pm 0,20$  pg/mL;  $p = 0,009$ ) com o grupo OX-C, estes apresentaram concentrações ainda menores de estrogênio, sendo que o grupo que associou treinamento físico e suplementação de zinco apresentou dosagens séricas de estradiol 95,8% menor. Os valores encontrados para os grupos OX-C e OX-Z foram respectivamente  $4,75 \pm 1,44$  pg/mL e  $4,80 \pm 1,93$  pg/mL.

A Tabela 3 apresenta os dados do perfil lipídico. Observa-se que as concentrações de colesterol total foram maiores nos grupos ovariectomizados quando

comparados com o SHAM, entretanto este dado não apresentou diferença significativa no grupo OX-TF ( $p>0,05$ ) tendo este o menor aumento (11%).

As concentrações de colesterol HDL dos animais tratados com zinco associado (OX-ZTF) ou não (OX-Z) ao treinamento físico apresentaram-se respectivamente 11,62% e 10,62% maiores em relação aos animais do grupo SHAM ( $p \leq 0,005$ ). Os grupos que realizaram a ovariectomia apresentaram valores maiores de colesterol LDL quando comparados ao grupo SHAM, sendo que os grupos OX-C e OX-Z apresentaram maior variação percentual (107,8 e 218%, respectivamente). Ao comparar os grupos treinados com o OX-C, observa-se que os mesmos apresentaram menores concentrações de colesterol LDL, assim como quando comparamos com o grupo que recebeu apenas o Zinco ( $p<0,05$ ).

As concentrações de VLDL e triglicérideo de todos os grupos não se alteraram significativamente em comparação com o SHAM, porém, observa-se na Tabela 3 que estas avaliações foram menores no grupo OX-Z em comparação com o OX-C. ( $p=0,0023$ ). Entretanto, quando se associou o treinamento físico ao tratamento com zinco (OX-ZTF) observou-se maiores concentrações de VLDL e triglicérideo quando comparado com grupo que foi apenas suplementado com zinco (OX-Z) apresentando valores 47 e 21% maiores, respectivamente.

## **DISCUSSÃO**

As ratas ovariectomizadas apresentaram aumento de massa corpórea e de consumo alimentar. A supressão estrogênica justificaria o ganho de massa corpórea desses animais [20], podendo também esse aumento ser secundário ao aumento do consumo alimentar. Entretanto os mecanismos pelos quais este hormônio exerce

influência sobre o comportamento alimentar e a regulação da massa corpórea ainda não são claros. A deficiência de estrogênio pode estar relacionada à diminuição de receptores de leptina no hipotálamo, que causaria diminuição da saciedade [21], maior ingestão e consequente ganho de massa corpórea. Também é possível que o aumento de massa corpórea seja resultado da diminuição do gasto energético em fêmeas com deficiência de estrogênio, uma vez que este aumenta a atividade e/ou expressão de enzimas que participam do metabolismo energético. Assim uma menor estimulação dessas vias tem como consequência o armazenamento de energia e consequente deposição de gordura [22].

A maior massa corporal dos animais ovariectomizados também pode ser consequência de maior massa magra e/ou de gordura subcutânea, já que os grupos treinados, quando comparados ao controle ovariectomizado, não tiveram alterações significativas em relação ao consumo de ração e ganho de massa corporal, o que também está de acordo com o tipo de treinamento realizado. A similaridade entre os dados de massa de gordura visceral nos diferentes grupos já era esperada, uma vez que o treinamento físico anaeróbico [23] e a suplementação de zinco [24] são insuficientes para metabolizar este tipo de gordura. Portanto, se faz necessário avaliar histomorfometricamente o tecido muscular e/ou a composição corporal neste modelo experimental.

O grupo OX-Z teve uma média de ingestão alimentar e de massa corporal menor quando comparado com o OX-C. Estudo prévio aponta que o zinco pode promover aumento da produção de leptina. Indivíduos deficientes em zinco, após suplementação deste mineral, apresentaram aumento da concentração de leptina e consequente diminuição do consumo alimentar [25].

Observou-se menor massa uterina em todos os grupos submetidos à ovariectomia, o que já era esperado, pois o estrogênio é regulador do crescimento e da diferenciação celular de vários tecidos, logo a diminuição desse hormônio implica na supressão do crescimento de órgãos como o útero [2]. As menores concentrações de estradiol associadas com a menor massa do útero dos animais ovariectomizados ratificaram que a cirurgia foi bem sucedida.

No grupo OX-C a massa esplênica apresentou-se elevada em relação ao grupo controle não ovariectomizado. Isto pode ser justificado pelo fato do estrogênio diminuir o número de células T esplênicas [26]. O que corrobora com o estudo de Gomes et al. [27] que demonstrou que na supressão estrogênica ocorre aumento no número de células, não devido ao aumento da taxa de proliferação, mas podendo ser decorrente da redução da taxa de apoptose. Ratas ovariectomizadas apresentariam maior número de linfócitos imaturos no timo, com conseqüente aumento das células T e B no baço [28]. É necessário um estudo que avalie a contagem de células, determinação da tipologia celular e histopatologia desse órgão para investigar esse aumento da massa.

Paulo et al. [29] atribuíram ao baço importante papel na regulação do metabolismo lipídico. Acredita-se que o tecido esplênico age como um grande filtro fisiológico captando e destruindo o colesterol LDL através de receptores na membrana de macrófagos, controlando assim as concentrações de colesterol total. Caligiuri et al [30] sugeriram a participação do sistema imunológico mediado por linfócitos B no controle do colesterol LDL. Os linfócitos B seriam capazes de produzir anticorpos contra o LDL-colesterol-oxidado, este complexo, LDL-colesterol-oxidado associado ao anticorpo, seria captado por receptores dos macrófagos do baço, com posterior fagocitose e destruição do complexo, tanto no local, nas placas de ateroma, quanto no baço. Provavelmente a maior massa do baço no grupo OX-C seja conseqüência da

diminuição da apoptose das células esplênicas que levaria a aumento na quantidade de células imaturas que não seriam capazes de diminuir as concentrações do colesterol LDL nos animais ovariectomizados. Entretanto alterações na massa não foram observadas nos demais grupos.

A ovariectomia promove acúmulo de gordura em alguns órgãos [31] dentre eles o coração. O zinco parece diminuir o conteúdo lipídico e conseqüentemente a massa desses órgãos [32], o que foi constatado neste estudo no grupo OX-Z. Quando os animais receberam o zinco associado ao treinamento de força, estes apresentaram maior massa do coração, talvez pelo esforço cardíaco necessário durante o protocolo de treinamento, que pode ter resultado em uma maior massa muscular cardíaca. Sabe-se que o treinamento físico anaeróbico pode gerar sobrecarga pressórica no ventrículo esquerdo que por sua vez proporciona hipertrofia cardíaca em resposta a sobrecarga de treinamento, sendo um mecanismo compensatório fisiológico [33]. É possível que a maior massa cardíaca observada no grupo OX-ZTF seja decorrente da hipertrofia da musculatura cardíaca proporcionada pelo treinamento físico, não pelo aumento da gordura neste órgão, e sim pela menor gordura neste órgão proporcionada pela ação do zinco, como foi visto no grupo OX-Z.

As maiores concentrações de colesterol total obtidas nos grupos ovariectomizados em relação ao grupo SHAM, podem ser justificadas pelo fato do estrogênio atuar como cardioprotetor, agindo no metabolismo lipídico [34]. Os efeitos benéficos do estrogênio sobre o perfil lipídico podem ser atribuídos a regulação da expressão hepática de genes envolvidos no metabolismo de lipoproteínas. A Lipase Hepática (LH), enzima que participa do metabolismo das lipoproteínas, diminuindo colesterol HDL e produzindo colesterol LDL, está sujeita à regulação hormonal. Sua atividade é diminuída após o pico do estrógeno no ciclo reprodutivo, ou seja, o

estrogênio e a lipase hepática são inversamente proporcionais. Contudo, o mecanismo pelo qual o estrogênio diminui a atividade da LH não é totalmente compreendido [35].

Os efeitos da atividade física sobre o perfil lipídico são bem conhecidos. Porém, a minoria dos estudos associa alterações lipoprotéicas e exercícios anaeróbicos, havendo maior destaque para os aeróbicos. Quando se comparou os grupos tratados com o OX-C, percebeu-se modificações lipoprotéicas semelhantes ao estudo de Ciolac e Guimarães [36] em mulheres na pré-menopausa que praticaram exercícios anaeróbicos, com diminuição de colesterol LDL e aumento de colesterol HDL nos grupos treinados. Este maior colesterol HDL pode ser justificado pelo fato do exercício aumentar a habilidade do tecido muscular de consumir ácidos graxos e aumentar a atividade da enzima lipase lipoprotéica no músculo [37]. O zinco por sua vez, tem sido associado com maior força e resistência muscular [38], elevando indiretamente as concentrações de colesterol HDL. Este dado está de acordo com o presente estudo, pois os animais dos grupos OX-Z e OX-ZTF apresentaram-se maiores concentrações de colesterol HDL em relação aos animais do grupo SHAM ( $p=0,006$ ).

O fígado é o principal local de síntese de TG a partir da esterificação dos ácidos graxos, que são secretados na forma de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL). A diminuição da concentração de TG implica em uma diminuição de VLDL, fato que foi observado no presente estudo. Os TG transportados na corrente sanguínea nos quilomicrons e nas VLDL sofrem ação da lipoproteína lipase, enzima sintetizada no adipócito que, posteriormente, é secretada para as células endoteliais adjacentes [34]. O zinco pode ter exercido influência sobre a atividade desta enzima, pois nos grupos tratados com zinco houve melhora do perfil lipídico no que diz respeito às moléculas de VLDL e TG.

A suplementação de zinco parece ser uma alternativa para melhorar as concentrações de colesterol HDL, VLDL e triglicérido, entretanto se faz necessário maior atenção com os níveis de colesterol total e LDL. Observou-se que a associação entre a suplementação de zinco e o treinamento físico parece ser uma boa opção de tratamento para as alterações ocorridas no perfil lipídico decorrente da supressão estrogênica, uma vez que este tratamento proporcionou maior concentração do colesterol HDL. Além disto, esta associação pode ter levado a maior hipertrofia cardíaca com menor massa adiposa neste órgão, o que seria bastante benéfico para a prevenção de doenças do sistema cardiovascular, como aterosclerose. Entretanto, esta hipótese precisa ser melhor investigada através de estudos histomorfométricos do coração. Também se faz necessário uma melhor investigação sobre os motivos que levaram a maior massa esplênica no grupo OX-C e menor no OX-ZTF. Estes dados poderiam ter relação com a associação entre a suplementação de zinco e treinamento físico na regulação da taxa de apoptose das células esplênicas com melhora do perfil lipídico na carência de estrogênio. Sendo assim, este trabalho abre perspectivas para outros estudos que visem compreender melhor a importância do zinco e do treinamento físico com carga sobre o metabolismo lipídico e na prevenção de doenças cardiovasculares após a menopausa.

## **AGRADECIMENTOS**

CNPq.

## REFERÊNCIAS

- [1] ARLT, W.; HEWISON, M. Hormones and immune function: implications of aging. *Aging Cell*. 2004, v. 3, p. 209–216.
- [2] ISLANDER, U.; JOCHEMS, C.; LAGERQUIST, M. K.; HANSCARLSTEN, H. F. Estrogens in rheumatoid arthritis; the immune system and bone. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010, v. 335, p. 14-29.
- [3] RECKELHOFF, J.F.; FORTEPIANI, L.A. Novel mechanisms responsible for postmenopausal hypertension. *Hypertension*. 2004, v. 43, p. 918–923.
- [4] PUNNONEN, R.; JOKELA, H.; AINE, R.; TEISALA, K.; SALOMAKI, A.; UPPA, H. Impaired ovarian function and risk factors for atherosclerosis in premenopausal women. *Maturitas*. 1997, v. 27, p. 231–238.
- [5] SINGH, M. A. F. Exercise and aging. *Clin Geriatr Méd*. 2004, v. 20, p. 201– 221.
- [6] LAZAREVIC, G.; ANTIC, S.; CVETKOVIC, T.; VLAHOVIC, P.; TASIC, I.; STEFANOVIC, V. A physical activity programme and its effects on insulin resistance and oxidative defense in obese male patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab*. 2006, v. 32, p. 583-590.
- [7] DE MORAES, C.; DAVEL, A. P. C.; ROSSONI, L. V.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. *BMC Physiology*. 2008, v. 8, p. 12-20.
- [8] KNOWLER, W. C., CONNOR, E. B., FOWLER, S. E., HAMMAN, R. F., LACHIN, J. M., WALKER, E. A., and NATHAN, D. M.. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle Intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002, v. 346, p. 393 – 403.

- [9] THOMPSON, P. D.; BUCHNER, D.; PIÑA, I. L.; BALADY, G. J.; WILLIAMS, M. A.; MARCUS, B. H.; BERRA, K.; BLAIR, S. N.; COSTA, F.; FRANKLIN, B.; FLETCHER, G. F.; GORDON, N. F.; PATE, R. R.; RODRIGUEZ, B. L.; YANCEY, A. K.; WENGER, N. K. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Circulation*. 2003, v. 107, p. 3109-3116.
- [10] FINAUD, J.; SCISLOWSKI V.; LAC, G; DURAND, D.; VIDALIN, H.; Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. *Int J Sports Med*. 2006, v. 27(2), p. 87-93.
- [11] ERMILOVA, I. P.; ERMILOV, V. B.; Mark Levy, Emily Ho, Cliff Pereira, Joseph S. Beckman. *Neuroscience Letters*. 2005, v. 379, p. 42-46.
- [12] JIALAL, I; DEVARAJ, S. Antioxidants and atherosclerosis: don't throw out the baby with the bath water. *Circulation*. 2003, v. 107, p. 926–928.
- [13] PACHECO J. L., GONSEBATT M. E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*. 2009, v. 674, p. 137–147.
- [14] RENNO, A. C. M.; FAGANELLO, F. R.; DE MOURA, F. M.; DOS SANTOS, N. S. A.; TIRICO, R. P.; BOSSINI, P. S.; ZUANON, J. A.; BENATTI NETO, C.; PARIZOTTO, N. A. The effects of a progressive loading exercise Program on femoral physical properties and Strength of osteopenic rats. *Acta Ortop Bras*. 2007, v. 15, p. 276-279.
- [15] MARQUETI, R. C. ; PARIZOTTO, N. A. ; CHRIGUER, R. S. ; PEREZ, S. E. ; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. *Am J Sports Med*. 2006, v. 34, p. 1274-1280.

- [16] MEDEIROS, A.; GIANNOLA, R. M.; KALIL, L.; BACURAU, R.; ROSA, L.; NEGRÃO, C.; BRUM, P. Efeitos do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. *Rev Paul Ed Fis.* 2000, v. 14, p. 7-15.
- [17] FERREIRA, L. D. M. C. ; BRAÜ, L. ; NIKOLOVSKI, S. ; RAJA, G. ; PALMER, T. N.; FOURNIER, P. A. Effect of streptozotocin-induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats ost high intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metabolism.* 2001, v. 280, p. 83–91.
- [18] CHATUVERDI, H. K.; CHANDRA, D.; BAPNA, J. S. Effect of NMDA receptor antagonist in forced swim test and its modification by antidepressants. *Ind J Pharmac.* 1999, v. 31, p 104-109.
- [19] FRIEDWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative centrifuge. *Clinical Chemistry.* 1972, v.18, p.499-502.
- [20] SIMKIN-SILVERMAN, L.R.; WING, R.R.; BORAZ, M.A.; KULLER, L.H. Lifestyle intervention can prevent weight gain during menopause: results from a 5-year randomized clinical trial. *Ann Behav Med.* 2003, v. 26, p. 212-20.
- [21] CHEN, J. Q.; BROWN, T. R.; RUSSO, J. Regulation of energy metabolism pathways by estrogens and estrogenic chemicals and potential implications in obesity associated with increased exposure to endocrine disruptors. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2009, v. 1793, p. 1128–1143.
- [22] LATOUR, M.G.; SHINODA, M.; LAVOIE, J.M. Regulation of Fat Metabolism in the Liver: link to non alcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2001, v. 63, n.12, p. 1393 – 1409.
- [ 23] IRVING, B. A.; DAVIS, C. K.; BROCK, D. W.; WELTMAN, J. Y.; SWIFT, D.; BARRETT, E. J.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. Effect of exercise training

intensity on abdominal visceral fat and body composition. *Med Sci Sports Exerc.* 2008, v. 40, p. 1863–1872.

[24] SMIDT, K.; PEDERSEN, S. B.; BROCK, B.; SCHMITZ, O.; FISHER, S.; BENDIX, J.; WOGENSEN, L.; RUNGBY, J. Zinc-transporter genes in human visceral and subcutaneous adipocytes: Lean versus obese. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2007, v. 264, p. 68–73.

[25] SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; SARABIA, M. I.; CARE, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; AND BOCCIO, J. Zinc as an essential micro nutrient: a review. *Nutrition Research.* 2000, v. 20, n. 5, p. 737-755.

[26] SILVA, M.M.; JAMEL, N.; REFINETTI, R.A.; OLIVEIRA, M.A.S.; PADILHA, M.S. Papel do baço no perfil lipídico: estudo experimental. *Arq Bras Cir Dig.* 2002, v.15, p. 121-124.

[27] GOMES, M. G.; SILVA, C. M.; RIBEIRO, A. F. C.; OCARINO, N. M.; MORO, L.; VASCONCELOS, A. C.; SERAKIDES, R. Apoptose, Proliferação e histomorfometria do Baço de Ratas Adultas com Hipofunção Tireoidiana e Ovariana. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008, v. 52, p. 1031 - 1038.

[28] WINDINILL, K.F.; LEE, V.W.K. Effects of castration on lymphocytes of thymus, spleen and lymph nodes. *Tissue Cell.* 1998, v. 30, p. 104-111.

[29] PAULO, I. C. A. L.; PAULO, D. N. S.; KALIL, M.; GUERRA, A. J.; GUERZET, E. A.; SILVA, A. L. Lípidos Plasmáticos em ratos após cirurgia esplênica – efeito de dois tipos de dieta. *Rev Assoc Med Bras.* 2007, v. 53, p. 171-177.

[30] CALIGIURI, G.; NICOLETTI, A.; POIRIER, B. HANSSON, G. K. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J.Clin Invest.* 2002, v. 109(6), p. 745-53.

- [31] KELLIHER, P.; CONNOR, T. J.; HARKIN, A.; SANCHEZ, C.; KELLY, J. P.; LEONARD, B. E. Varying response to the rat forced-swim test under diurnal and nocturnal conditions. *Physiol Behavior*. 2000, v. 69, p. 531-539.
- [32] WANG, J.; SONG, Y.; ELSHERIF, L.; SONG, Z.; ZHOU, G.; PRABHU, S. D.; SAARI, J. T.; CAI, L. Cardiac Metallothionein Induction Plays the Major Role in the Prevention of Diabetic Cardiomyopathy by Zinc Supplementation. *Circulation*. 2006, v. 113, p. 544-554.
- [33] MAGALHÃES, F. C.; BARRETTI, D.; HASHIMOTO, N.; MELO, S. F. S.; ROQUE, F. R.; OLIVEIRA, E. M. Hipertrofia cardíaca induzida pelo treinamento Físico: eventos moleculares e celulares que modificam o fenótipo. *Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte*. 2008, v. 7, p. 189-193.
- [34] JONES, D. R.; SCHMIDT, R. J.; PICKARD, R. T.; FOXWORTHY, P. S.; EACHO, P. I. Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. *Journal of Lipid Research*. 2002, v. 43, p. 383 – 391.
- [35] VIEIRA, J. L. C.; GOMES, M. E. W.; ALMEIDA, A. B.; MORIGUCHI, E. H. Alterações do Perfil das Subfrações de Lipoproteínas Associadas à Terapia de Reposição Hormonal. *Arq Bras Cardiol*. 2001, v. 76, 177-182.
- [36] CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev Bras Med Esporte*. 2004, v. 10, p. 319-324.
- [37] LUKASKI, H.C. Magnesium, zinc, and chromium nutriture and physical activity. *Am J Clin Nutr*. 2000, v. 72, p. 585-593.
- [38] ARAÚJO, A. P. S.; MENÓIA, E. Atividade lipolítica durante a prática de atividade Física: enfoque sobre o consumo de oxigênio, produção de atp e o estímulo neuro–humoral. *Revista Saúde e Pesquisa*. 2008, v. 1, n. 2, p. 177-184.

Tabela 1 - Valores médios de massa corpórea, consumo de ração e gordura corporal

Grupos	Massa Corpórea (g)	Consumo de Ração (g / dia / animal)	Gordura Visceral (g)
SHAM	224,3 ± 9,2 / n=11	16,26 ± 0,19 / n=12	19,89 ± 2,82 / n=10
OX-C	285,2 ± 9,2 / n= 12*	18,26 ± 0,25 / n=12*	22,18 ± 1,87 / n= 11
OX-Z	254,2 ± 6,2 / n= 11†	16,20 ± 0,37 / n=12†	17,02 ± 2,49 / n=9
OX-TF	279,2 ± 7,3 / n= 12‡	17,29 ± 0,49 / n=12	19,11 ± 1,81 / n= 11
OX-ZTF	277,3 ± 8,9 / n= 12‡	17,11 ± 0,50 / n=12	21,07 ± 1,72 / n=10

Os dados estão expressos como média ± erro padrão. SHAM (controle não ovariectomizado); OX-C (Controle Ovariectomizado); OX-Z (Ovariectomizado + Zinco); OX-TF (Ovariectomizado + Treinamento Físico); OX-ZTF (Ovariectomizado + Zinco + Treinamento Físico); \* - p<0,05 comparado com o grupo SHAM; † - p<0,05 comparado com grupo OX-C; ‡ - p<0,05 comparado com o grupo OX-Z; Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e ANOVA univariada ou bivariada quando necessário.

Tabela 2 - Valores médios de massa uterina, esplênica, cardíaca

Grupos	Massa Uterina (g)	Massa Esplênica (g)	Massa Cardíaca (g)
SHAM	0,48 ± 0,05 / n= 11	0,49 ± 0,02 / n= 11	0,88 ± 0,04 / n= 11
OX-C	0,07 ± 0,004 / n= 12*	0,56 ± 0,03 / n= 12*	0,98 ± 0,03 / n= 12
OX-Z	0,06 ± 0,003 / n= 10*	0,51 ± 0,02 / n= 10	0,88 ± 0,02 / n= 10†
OX-TF	0,07 ± 0,006 / n= 11*	0,52 ± 0,02 / n= 11	0,96 ± 0,04 / n= 11
OX-ZTF	0,08 ± 0,005 / n= 11*	0,49 ± 0,02 / n= 11†	0,96 ± 0,03 / n= 11‡

Os dados estão expressos como média ± erro padrão. SHAM (controle não ovariectomizado); OX-C (Controle Ovariectomizado); OX-Z (Ovariectomizado + Zinco); OX-TF (Ovariectomizado + Treinamento Físico); OX-ZTF (Ovariectomizado + Zinco + Treinamento Físico); \* - p<0,05 comparado com o grupo SHAM; † - p<0,05 comparado com grupo OX-C; ‡ - p<0,05 comparado com o grupo OX-Z; Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e ANOVA univariada ou bivariada quando necessário.

Tabela 3 - Valores das concentrações séricas médias de Estradiol, Colesterol Total, HDL, LDL, VLDL e Triglicerídeo para cada um dos grupos estudados

Grupos	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	Triglicerídeo (mg/dL)
SHAM	63,60 ± 2,98 / n=10	38,13 ± 0,85 / n=8	9,3 ± 1,48 / n=6	14,07 ± 0,82 / n=6	70,50 ± 5,60 / n=8
OX-C	77,38 ± 3,83 / n=8*	40,14 ± 1,26 / n=7	19,33 ± 2,49 / n=6*	16,66 ± 0,96 / n=7	83,29 ± 4,82 / n=7
OX-Z	80,67 ± 3,08 / n=9*	42,18 ± 0,90 / n=11*	27,56 ± 2,84 / n=5*†	12,07 ± 0,79 / n=9†	60,33 ± 3,96 / n=9†
OX-TF	70,67 ± 3,05 / n=9‡	39,25 ± 1,15 / n=8	12,85 ± 1,90 / n=4‡	14,67 ± 1,45 / n=6	73,33 ± 7,26 / n=6
OX-ZTF	77,0 ± 3,91 / n=10*	42,56 ± 1,04 / n=9*§	15,6 ± 2,34 / n=6*‡	17,73 ± 1,53 / n=8‡	88,63 ± 7,64 / n=8‡

Os dados estão expressos como média ± erro padrão. SHAM (controle não ovariectomizado); OX-C (Controle Ovariectomizado); OX-Z (Ovariectomizado + Zinco); OX-TF (Ovariectomizado + Treinamento Físico); OX-ZTF (Ovariectomizado + Zinco + Treinamento Físico); \* - p<0,05 comparado com o grupo SHAM; † - p<0,05 comparado com grupo OX-C; ‡ - p<0,05 comparado com o grupo OX-Z; § - p<0,05 comparado com o grupo OX-TF; Os parâmetros foram analisados pelo teste-t não pareado e ANOVA univariada ou bivariada quando necessário.

## 6.2 FORMULÁRIOS