

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

“Efeito da terapia estrogênica sobre o controle
autônomo da frequência cardíaca e a capacidade
aeróbia de mulheres saudáveis”

Valéria Ferreira Camargo Neves

SÃO CARLOS

2007

Valéria Ferreira Camargo Neves

“Efeito da terapia estrogênica sobre o controle
autônômico da frequência cardíaca e a capacidade
aeróbia de mulheres saudáveis”

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Fisioterapia da Universidade Federal de
São Carlos, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutora em
Fisioterapia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ester da Silva

SÃO CARLOS

2007

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

N518et

Neves, Valéria Ferreira Camargo.

Efeito da terapia estrogênica sobre o controle autonômico da frequência cardíaca e a capacidade aeróbia de mulheres saudáveis / Valéria Ferreira Camargo Neves. -- São Carlos : UFSCar, 2007.

151 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2007.

1. Menopausa. 2. Variabilidade da frequência cardíaca. 3. Condicionamento e aptidão física. 4. Envelhecimento. 5. Exercício físico dinâmico. Sistema nervoso autônomo. I. Título.

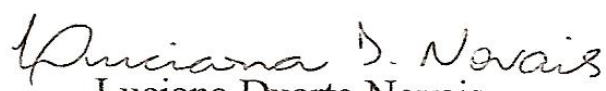
CDD: 618.175 (20^a)

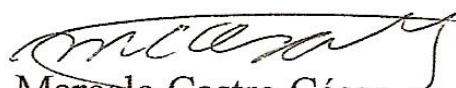
MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA PARA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DE Valéria Ferreira Camargo Neves, APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 12 DE FEVEREIRO DE 2007.

BANCA EXAMINADORA:


Ester Silva
UFSCar


Patricia Driusso
UFSCar


Luciana Duarte Novais
UFUMJ


Marcelo Castro César
UNIMEP


Maria Cristina Cortez Carneiro Merielles
UNAERP

Valéria Ferreira Camargo Neves

Estudo I

“Modulação autonômica da freqüência cardíaca de mulheres jovens e na pós-menopausa em uso de terapia estrogênica”

Estudo II

“A resposta da freqüência cardíaca durante exercício físico dinâmico em mulheres saudáveis é influenciada pela terapia estrogênica?”

Estudo III

“Efeito da idade e da terapia estrogênica sobre a capacidade aeróbia de mulheres saudáveis”

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Ester da Silva.

Apoio Financeiro: CNPq e FAPESP

SÃO CARLOS

2007

Investigação conduzida no Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico do Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos e no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Divisão de Cardiologia do Departamento de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem pessoas inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.

Fernando Pessoa

Dedicatória

Aos meus pais, Ariovaldo e Terezinha “in memoriam”, tão diferentes enquanto pessoas, mas igualmente belos e admiráveis em essência, estímulos que me impulsionaram a buscar ser sempre uma pessoa melhor e a superar todos os “obstáculos” da vida. Amo muito vocês!!!

Ao Marcelo, meu grande amor, que sempre soube entender as minhas ausências, mas acima de tudo soube me dar o amor e apoio incondicional nessa fase tão difícil, mas tão importante da minha vida. Sem o seu carinho, compreensão e acima de tudo, sem o seu amor, nada disso teria valido a pena.

À minha orientadora e amiga, Prof^a. Dr^a. Ester da Silva, pessoa tão admirável em sua humildade e sabedoria, que tão prontamente abriu-me as portas da ciência, mostrando-se sempre disposta em contribuir para meu engrandecimento tanto no aspecto profissional quanto pessoal. Obrigada pela confiança em mim depositada, pelos conhecimentos compartilhados e, sobretudo pela paciência com minhas dificuldades e hesitações.

À você, minha eterna gratidão e eterno carinho.

Agradecimentos

A Deus, que em Sua infinita bondade permitiu que mais esta etapa da minha vida fosse concluída.

Às minhas irmãs Tekã e Ana Paula “in memorian”, minhas grandes amigas e fiéis escudeiras, pelos momentos de alegrias e confidências. Amo muito vocês!!!

À minha querida avó Ermelinda, suas orações deram resultados....

À toda minha família, por compreender minhas ausências e pelo constante incentivo a este trabalho.

Aos membros da banca pelas críticas e sugestões que muito contribuíram para o aprimoramento desse trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Aparecida Maria Catai, por ser uma mestra verdadeira, capaz de ajudar mesmo nas horas mais conturbadas e por se mostrar uma grande amiga nos momentos de seriedade e descontração.

Ao Prof. Dr. Lourenço Gallo Jr, pessoa abençoada com raro talento e dotada de imensa capacidade de transmitir o vasto conhecimento que possui, obrigada por ter me dado a oportunidade de realizar os experimentos em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá, pelas inúmeras contribuições e valiosas sugestões a este trabalho, por compartilhar seus conhecimentos e pelo exemplo de ética, competência e profissionalismo.

À Prof^a. Dr^a. Audrey Borghi e Silva, pelos importantes ensinamentos e pela amizade demonstrada.

Ao Prof. Dr. Jorge Oishi, por ter despertado em mim o interesse pela pesquisa.

Aos professores do departamento de Fisioterapia da UFSCar, pelos ensinamentos, pela paciência e carinho demonstrados durante todo a minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Luiz Eduardo Barreto Martins, pela amizade e pela implementação das ferramentas matemáticas utilizadas neste estudo.

Ao Lucien de Oliveira, pela amizade e por sua disponibilidade e paciência em ensinar a utilizar os aplicativos de aquisição e análise dos dados.

À amiga Patrícia Driusso, pela sinceridade, carinho e apoio em momentos difíceis da minha vida.

À minha grande amiga Mali Naomi Higa, pelo carinho, pelo apoio, pela cumplicidade, pela disposição em ajudar, e principalmente por ser uma pessoa tão iluminada. Te admiro muito!

À amiga Tatiane Flores Ribeiro, pela amizade e por ter partilhado comigo seus dados.

Aos amigos da UFSCar, Ana Paula, Anielle Takahashi, Camila, Fernanda, Isabela Verzola, Karla, Luciana Novais, Marina, Michel Reis, Michele Santos, Milena, Pozzi, Renata, Robison, Rodrigo (Peter), Ruth, Poliana, Victor Ribeiro e Vinícius, por serem tão especiais, pela amizade verdadeira, pela solidariedade e por sempre estarem prontos em ajudar, não medindo esforços para isso.

Aos amigos da FMRP – USP, Bruno, Camila Bertini, Cleide Antlova, Daniel Sakabe, Ester Souza, Janaina Laureano, Júlio Crescêncio, Márcia Neves, Maurício Milani, Nataly Izeli, Renata Kozuki, Valéria Papa, Vanessa Miranda, pela acolhida, pela ajuda, pela troca de experiências e pela amizade ao longo desses anos.

Aos amigos da UNIMEP, Ana Cristina, Carol, Elisane (Nane), Marcio, Marlene, Natália, Roberta e Sirol, pela convivência, pela amizade, pelos momentos agradáveis e apoio irrestritos.

Às voluntárias dessa pesquisa, pela inestimável colaboração, sem a qual nada disto seria possível. A todas vocês, minha eterna gratidão.

Aos ginecologistas, Dr. Mario Henrique, Dra. Cláudia Adão, Dra. Rita Crestana, Dra. Margarida Botta, Dr. George Dantas, Dr. Gustavo Salata, Dr. Ramiro, Dra. Márcia Neves, pela ajuda na triagem das voluntárias.

Aos Funcionários da divisão de cardiologia do Hospital das Clínicas da FMRP – USP e dos Posto de Saúde de São Carlos (“Dr. Lauro Corsi”) e Ribeirão Preto (CSE “Dr. Joel Domingues Machado”), pela agradável convivência e pela ajuda indispensável.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia - UFSCar, Osmara, Ana Paula (ex-secretária) e Heitor, pela presteza e auxílio em todos os momentos necessários.

Aos órgãos de fomento CNPq e FAPESP, pelo auxílio financeiro.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

Os efeitos dos hormônios sexuais femininos sobre o sistema cardiovascular tem sido um tópico de muita discussão e controvérsias na literatura. Apesar disso, muitos cientistas acreditam que os estrogênios exercem importante papel cardioprotetor nas mulheres pré-menopausadas, sendo seus efeitos observados diretamente sobre os vasos sanguíneos ou indiretamente através da promoção de um perfil lipídico antiaterogênico. Nos últimos anos, tem sido reportado que o controle autonômico da frequência cardíaca (FC) e a tolerância ao exercício também podem ser influenciados pelos níveis hormonais de estrogênios. No entanto, outros pesquisadores não encontraram qualquer modificação nesses parâmetros em função da terapia hormonal. Dentro desse contexto, foram realizados três estudos, com o objetivo de verificar se a terapia estrogênica (TE) poderia atenuar o declínio relacionado à idade no controle autonômico da FC, em condições de repouso e exercício, e na capacidade aeróbia de mulheres saudáveis. Para isso foram estudadas 13 mulheres jovens (média etária de 24 anos), 10 na fase pós-menopausa em uso de TE (PMCTE: média etária de 53 anos) e 15 na pós-menopausa sem uso de TE (PMSTE: média etária de 56 anos). A TE consistiu de 0,625 mg/dia de estrogênios equinos conjugados. No primeiro estudo, foi avaliado o efeito da idade e da TE sobre a variabilidade da FC (VFC) durante o repouso, nas posições supina e sentada. A VFC foi analisada no domínio do tempo (DT) e da frequência (DF). Nesse estudo foram observados maiores valores dos índices temporais de VFC para o grupo jovem. Na análise no DF, o grupo PMSTE apresentou menores valores dos índices que refletem a atividade vagal e maiores valores dos índices que refletem a atividade simpática em relação aos grupos jovem (posição supina) e PMCTE (posição sentada). Esses resultados sugerem que a VFC diminui com o envelhecimento e que a TE pode atenuar esse processo, promovendo uma redução na atividade simpática sobre o coração, e contribuindo para o efeito cardioprotetor dos hormônios estrogênios. No segundo estudo, foi avaliado o efeito da idade e da TE sobre o controle autonômico da FC durante exercício dinâmico e o limiar de anaerobiose (LA). O exercício dinâmico foi realizado em cicloergômetro, sendo iniciado na potência de 15 W e seguido por incrementos de 5 W, até que fosse identificada a perda da estabilização da resposta da FC pelo modelo semiparamétrico, caracterizando o LA. O controle autonômico da FC durante o exercício foi analisado por meio da retirada vagal no início do exercício e pelo cálculo do índice rMSSD do trecho estável de cada nível de potência. A retirada vagal e o índice rMSSD foram maiores para o grupo jovem, nas potências estudadas. As jovens também apresentaram maiores valores de potência e de FC no LA em relação aos grupos na pós-menopausa. Esses resultados sugerem que a modulação autonômica cardíaca durante o exercício e a capacidade aeróbia são fortemente influenciados pela idade. Ambos, hipoestrogenismo e TE, não exerceram qualquer influência sobre as variáveis estudadas. No terceiro estudo, foi avaliado o efeito da idade e da TE sobre as respostas cardiorrespiratórias durante teste de exercício cardiopulmonar. Esse teste foi realizado em cicloergômetro, com incrementos de 10 a 20 W/min até a exaustão física. O LA foi determinado visualmente pela análise das curvas de produção de dióxido de carbono e de consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$). Foram observados maiores valores de potência e de FC tanto no LA como no pico do exercício para o grupo jovem. A FC foi similar entre os grupos no LA e, significativamente maior no grupo jovem, no pico do exercício. Os valores percentuais do LA em relação ao pico do exercício para os dados de $\dot{V}O_2$ e de FC foram maiores para os grupos na pós-menopausa. Esses resultados sugerem que a TE não teve influência sobre as respostas cardiorrespiratórias durante teste de exercício incremental. Finalizando, os resultados obtidos nos três estudos sugerem que o efeito protetor vagal dos hormônios estrogênios evidenciado durante o repouso não se mantém durante o exercício. Além disso, a tolerância ao exercício parece não depender dos níveis fisiológicos dos estrogênios. Desse modo, nossos achados reforçam a importância da prescrição de exercícios físicos na orientação clínica das mulheres no climatério.

Palavras-chave: variabilidade da frequência cardíaca, sistema nervoso autônomo, exercício dinâmico, capacidade aeróbia, envelhecimento, menopausa, terapia estrogênica.

ABSTRACT

The effects of female sex hormones on the cardiovascular system have been the topic of much discussion and controversy in the literature. Nevertheless, many scientists believe that estrogens play an important cardioprotective role in premenopausal women, with their effects being observed directly on blood vessels or indirectly by the promotion of an antiatherogenic lipid profile. In recent years, studies have reported that estrogen hormone levels may also influence autonomic control of heart rate (HR) and exercise tolerance. However, other researches have found no modification of these parameters in function of hormone therapy. Within this context, three studies were conducted to verify whether estrogen therapy (ET) could attenuate the age-related decline in autonomic control of HR under resting and exercise conditions and aerobic capacity of healthy women. Thirteen young women (mean age: 24 years), 10 postmenopausal women undergoing ET (PMET, mean age: 53 years) and 15 postmenopausal women not undergoing ET (PMnET, mean age: 56 years) were studied. Hormonal treatment consisted of 0.625 mg/day of conjugated equine estrogens. In the first study, the effect of age and ET on HR variability (HRV) under resting conditions in the supine and sitting positions was evaluated. HRV was analyzed by time (TD) and frequency domain (FD) methods. In this study, higher values of the temporal indices of HRV were observed for the young group. In the analysis of FD, the PMnET group presented lower values in the indices reflecting vagal activity and higher values in the indices reflecting sympathetic activity compared to the young group (supine position) and to the PMET group (sitting position). These results suggest that HRV decreases during aging and that ET may attenuate this process by promoting a reduction of sympathetic activity on the heart and contributing to the cardioprotective effect of estrogen hormones. In the second study, the effect of age and ET on the autonomic control of HR during dynamic exercise and anaerobic threshold (AT) was evaluated. Dynamic exercise was performed on a cycle ergometer starting at 15 W and followed by 5 W increments, until the loss of HR response stabilization was identified by a semiparametric model, characterizing AT. The autonomic control of HR during exercise was analyzed by vagal withdrawal at the beginning of exercise and by calculating the rMSSD index of the stable interval of each workload level. The vagal withdrawal and the rMSSD index were higher for the young group at the workloads studied. The young group also presented higher workload and HR values at AT compared to the postmenopausal groups. These results suggest that autonomic modulation of HR during exercise and aerobic capacity are strongly influenced by age. Hypoestrogenism and ET had no effect on the variables studied. In the third study, the effect of age and ET on cardiorespiratory responses during a cardiopulmonary exercise test was evaluated. This test was performed on a cycle ergometer with 10 to 20 W/min increments until physical exhaustion. The AT was determined by graphic visual analysis of the curves for carbon dioxide output and oxygen uptake ($\dot{V}O_2$). Higher workload and HR values both at AT and at the peak of exercise were observed for the young group. HR was similar between groups at AT and significantly higher at peak exercise for the young group. The percentages of AT in relation to peak exercise for $\dot{V}O_2$ and HR values were higher for the postmenopausal groups. These results suggest that ET had no effect on cardiorespiratory responses during the incremental exercise test. In conclusion, the results obtained in the three studies suggest that the vagal-protective effect of estrogen hormones detected at rest is not maintained during exercise. In addition, exercise tolerance does not seem to depend on the physiological levels of estrogens. On this basis, the present findings support the importance of the prescription of physical exercise in the clinical orientation for climacteric women.

Key-Words: heart rate variability, autonomic nervous system, dynamic exercise, aerobic capacity, aging, menopause, estrogen therapy.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. CONTEXTUALIZAÇÃO | 15 |
| 2. ESTUDO I | 20 |
| 2.1. Resumo | 21 |
| 2.2. Introdução | 22 |
| 2.3. Materiais e Métodos | 23 |
| 2.3.1. Análise da variabilidade da frequência cardíaca | 24 |
| 2.3.2. Análise estatística | 27 |
| 2.4. Resultados | 29 |
| 2.5. Discussão | 33 |
| 3. DESENVOLVIMENTO A PARTIR DO ESTUDO I | 37 |
| 4. ESTUDO II | 39 |
| 4.1. Resumo | 40 |
| 4.2. Introdução | 41 |
| 4.3. Materiais e Métodos | 42 |
| 4.3.1. Protocolo Experimental | 44 |
| 4.3.2. Análise estatística | 47 |
| 4.4. Resultados | 48 |
| 4.5. Discussão | 53 |
| 5. DESENVOLVIMENTO A PARTIR DO ESTUDO II | 56 |
| 6. ESTUDO III | 58 |
| 6.1. Resumo | 59 |
| 6.2. Introdução | 60 |
| 6.3. Materiais e Métodos | 60 |
| 6.3.1. Procedimento Experimental | 62 |
| 6.3.2. Protocolo Experimental | 62 |
| 6.3.3. Análise estatística | 66 |
| 6.4. Resultados | 67 |
| 6.5. Discussão | 71 |
| 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS | 74 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 76 |

ANEXOS

| | |
|---|-----------|
| ANEXO A - Pareceres dos Comitês de Ética em Pesquisa | 86 |
|---|-----------|

APÊNDICES

| | |
|---|------------|
| Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 89 |
| Apêndice B - Versão em inglês do Estudo I | 92 |
| Apêndice C - Versão em inglês do Estudo II | 103 |
| Apêndice D - Versão em inglês do Estudo III | 120 |
| Apêndice E - Estudo IV: trabalho vinculado à Tese de Doutorado | 136 |
| Apêndice F - Estudo V: trabalho vinculado à Tese de Doutorado | 143 |

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O envelhecimento é um processo fisiológico complexo que envolve muitas variáveis, dentre elas fatores genéticos, estilo de vida e doenças crônicas, que interagem entre si, influenciando grandemente a maneira como envelhecemos. As alterações estruturais e funcionais que ocorrem nos sistemas biológicos com o avançar da idade, acarretam um declínio fisiológico na função dos diferentes sistemas orgânicos, levando a uma perda progressiva da capacidade funcional dos idosos, com um impacto significativo sobre a qualidade de vida dos mesmos (MASORO, 1995; AZEVEDO et al, 2005).

Falando mais especificamente do sistema cardiovascular, o processo de envelhecimento promove modificações no controle autonômico da frequência cardíaca (FC), caracterizadas por uma diminuição da atividade simpática e vagal sobre o coração (KUO et al, 1999; ACHARYA et al, 2004). Além disso, uma redução progressiva na capacidade aeróbia dos indivíduos, evidenciada pelos parâmetros cardiorrespiratórios, tem sido reportada na literatura (FITZGERALD et al, 1997; SCHILLER et al, 2001; WEISS et al, 2006).

A mulher apresenta um fator diferencial no processo fisiológico do envelhecimento, que é o advento da menopausa. Esta ocorre por volta dos 50 anos de idade, porém varia com a raça, nível sócio-econômico e nutrição. Seu diagnóstico clínico é feito de forma retrospectiva quando a amenorréia atinge 12 meses. Nesse período observa-se uma elevação dos níveis séricos do hormônio folículo-estimulante (FSH) e uma diminuição dos níveis hormonais de estrogênio (FONSECA e HALBE, 1998; OUZOUNIAN e CHRISTIN-MAITRE, 2005). O hipoestrogenismo deste período determina uma série de manifestações clínicas, algumas delas de ocorrência precoce, compreendendo a síndrome do climatério (FONSECA e HALBE, 1998; OUZOUNIAN e CHRISTIN-MAITRE, 2005), e outras que podem se manifestar mais tardiamente, como as doenças cardiovasculares (ROSSI et al, 2002).

Estudos têm demonstrado que a incidência de doenças cardiovasculares aumenta significativamente em mulheres após a menopausa natural (KANNEL et al, 1976; ROSSI et al, 2002). O mesmo tem sido observado após intervenção cirúrgica (VIRDIS et al, 2000) ou medicamentosa (YIM et al, 1998) para inibição da produção hormonal pelos ovários em mulheres jovens, indicando que o fator idade não é o

único determinante para o aumento da incidência de doenças cardiovasculares em mulheres na fase pós-menopausa (DANTAS, 2005).

A redução ou ausência da produção dos hormônios ovarianos pode ser considerada fator responsável pela perda da proteção cardiovascular durante a pós-menopausa. De fato, alguns estudos mostraram uma relação entre os baixos níveis de estrogênio e alguns fatores envolvidos na patogênese de doenças cardíacas, dentre eles, perfil lipídico mais aterogênico (GENAZZANI, 2001), disfunção endotelial (VIRDIS et al, 2000), variabilidade da frequência cardíaca (VFC) reduzida (MERCURO et al, 2000; LIU et al, 2003) e baixa capacidade física (MERCURO et al, 2006).

A terapia hormonal, por sua vez, pode ter efeitos benéficos em mulheres na pós-menopausa. No entanto, conforme orientação das diversas sociedades de ginecologia, sua prescrição deve ter indicações precisas e serão particularmente beneficiadas aquelas pacientes que sofrem com os sintomas do climatério, tais como os vasomotores, urogenitais, fadiga, insônia e alterações de humor, com nenhum tratamento de efeito similar (MARINHO et al, 2001; SKOUBY et al, 2004). Contudo, o papel da terapia hormonal sobre o sistema cardiovascular tem sido objeto de intensa discussão na literatura.

Até o final da década passada, os trabalhos epidemiológicos e experimentais (STAMPFER et al, 1991; GRADY et al, 1992) apontavam claramente para um papel protetor dos estrogênios contra as doenças cardiovasculares, sendo seus efeitos observados diretamente sobre os vasos sanguíneos ou indiretamente através de alterações benéficas sobre o perfil lipídico (WRITING GROUP FOR THE PEPI TRIAL, 1995; MENDELSON 2002), com redução do risco relativo para as doenças cardiovasculares. Desta forma, a terapia hormonal no climatério passou a ser recomendada tanto para a proteção primária como secundária.

Entretanto, ao final da década de 90 e início dos anos 2000, os resultados de ensaios clínicos de grande porte, estudo *Heart and Estrogen/Progestin Replacement* (HERS) (HULLEY et al, 1998) e estudo *Women's Healthy Initiative* (WHI) (ROSSOUW et al, 2002), mostraram um aumento do risco relativo para as doenças cardiovasculares em usuárias de terapia hormonal contendo associação de estrogênios eqüinos conjugados e acetato de medroxiprogesterona. Tais achados tiveram um impacto muito forte sobre as prescrições de terapia hormonal no climatério. Entretanto, quando os pesquisadores do estudo WHI avaliaram os efeitos

da estrogenerioterapia isoladamente (ANDERSON et al, 2004), os resultados diferiram, ampliando as discussões sobre a terapia hormonal no climatério. Nesse último estudo do WHI os resultados mostraram que o risco de acidente vascular cerebral aumentou em 39%, porém o risco de doenças cardíacas não se alterou (ANDERSON et al, 2004).

A aplicabilidade dos resultados do estudo HERS (HULLEY et al, 1998) e do WHI (ROSSOUW et al, 2002; ANDERSON et al, 2004) tem sido revisada. Nesses estudos, dois terços das mulheres tinham idade acima de 60 anos (média etária de 67 anos no estudo HERS e de 63 anos nos estudos do WHI), com dez anos ou mais em período pós-menopáusico e cerca de 75% das mulheres nunca havia recebido terapia hormonal. No estudo HERS (HULLEY et al, 1998) foram estudadas mulheres portadoras de cardiopatias. No estudo WHI (ROSSOUW et al, 2002; ANDERSON et al, 2004), foram estudadas mulheres saudáveis, mas grande parte apresentava fatores de risco para doenças cardiovasculares (hipertensão arterial, obesidade e tabagismo). Dessa forma, os resultados em tais populações devem ser observados com cautela, não podendo ser generalizados às mulheres com um perfil clínico diferente, ou seja, mais jovens e nos primeiros anos de menopausa (GOODMAN et al, 2003; BORRELLI e ALMEIDA, 2005).

Dentro desse contexto, emerge uma questão crucial nestas discussões e que diz respeito sobre o momento de se iniciar a terapia hormonal. É a chamada “janela de oportunidade”. Qual o momento adequado para se iniciar a terapia hormonal no climatério? Sabe-se que o risco para fenômenos trombo-embólicos aumenta com a idade. Além disso, tem sido demonstrado que quando o vaso sanguíneo está íntegro os estrogênios tem efeito protetor vascular, mas quando a disfunção endotelial e a doença aterosclerótica estão presentes, a terapia hormonal promove instabilidade plaquetária, inflamação vascular e efeitos pró-trombóticos (MAAS et al, 2004; OUYANG et al, 2006). Um estudo prévio analisando os dados dos estudos HERS e WHI e subdividindo os resultados em grupos de idade média abaixo dos 55 anos não mostrou diferenças entre os grupos tratados e placebo (LOBO, 2004).

Portanto, estas questões ainda estão longe de serem completamente esclarecidas. Ainda há muitas dúvidas sobre o papel cardioprotetor dos hormônios estrogênio, pois vários fatores podem influenciar os resultados e a idade e a sua associação com os progestagênios podem ser fatores cruciais nesta análise. A presente investigação adquire importância neste sentido. Foram realizados três

estudos com o objetivo de avaliar o efeito da idade e da terapia estrogênica sobre a resposta cardiovascular em repouso e durante exercício físico dinâmico de mulheres numa faixa etária mais adequada (média de idade entre 53 e 56 anos), ou seja, com menor tempo de menopausa, e provavelmente, vasos sanguíneos menos afetados pelos processos degenerativos.

Nesse momento deve ser feita uma ressalva. Como foi feita uma avaliação qualitativa dos testes nos quais as voluntárias da presente investigação foram submetidas, o número de mulheres em cada grupo varia de estudo para estudo, como apresentado a seguir.

2. ESTUDO I

2. ESTUDO I

“Modulação autonômica da freqüência cardíaca de mulheres jovens e na pós-menopausa em uso de terapia estrogênica”

2.1. RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar se a terapia estrogênica (TE) atenua as alterações do controle autonômico da freqüência cardíaca (FC) que ocorrem devido ao hipoestrogenismo e ao envelhecimento. Foram estudadas 13 mulheres jovens ($24 \pm 2,6$ anos), 10 na fase pós-menopausa ($53 \pm 4,6$ anos) em uso de TE (PMCTE) e 14 na fase pós-menopausa ($56 \pm 2,6$ anos) sem uso TE (PMSTE). A TE consistiu de 0,625 mg/dia de estrogênios eqüinos conjugados. A FC foi registrada continuamente durante 8 min em repouso nas posições supina e sentada. A variabilidade da freqüência cardíaca (VFC) foi analisada no domínio do tempo (índices SDNN e rMSSD) e no domínio da freqüência. Os componentes espectrais de potência, baixa freqüência (BF) e alta freqüência (AF), foram expressos em unidades normalizadas (un) e como a razão BF/AF. Na comparação intergrupo, as jovens apresentaram maiores valores do índice SDNN (mediana: supino: 47 ms; sentado: 42 ms) em relação aos grupos PMCTE (33; 29 ms) e PMSTE (31; 29 ms) ($P < 0,05$). O grupo PMSTE apresentou menores valores do componente de AFun e maiores valores do componente de BFun e da razão BF/AF (supino: 44, 56, 1.29; sentado: 38, 62, 1.60) em relação ao grupo jovem na posição supina (61, 39, 0.63) e em relação ao grupo PMCTE na posição sentada (57, 43, 0.75; $P < 0,05$). Na comparação intragrupo, os valores de FC foram menores na posição supina comparativamente à posição sentada, em todos os grupos estudados ($P < 0,05$). A diminuição da VFC, de supino para sentado, foi significativa somente no grupo jovem. Esses resultados sugerem que a VFC diminui com o envelhecimento. A TE parece atenuar esse processo, promovendo uma redução na atividade simpática sobre o coração, e contribuindo para o efeito cardioprotetor dos hormônios estrogênios.

Palavras-chave: variabilidade da freqüência cardíaca, envelhecimento, menopausa, terapia estrogênica.

2.2. INTRODUÇÃO

Tem sido demonstrado que após a menopausa há um aumento na incidência de doenças cardiovasculares nas mulheres (KANDEL et al, 1976). Acredita-se que esta maior vulnerabilidade estaria relacionada à diminuição dos níveis hormonais de estrogênios que ocorre neste período (GREENDALE et al, 1999). Até a década passada, estudos demonstravam um efeito positivo da terapia hormonal sobre a incidência de doença da artéria coronária (DAC), bem como na morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (STAMPFER et al, 1991; GRADY et al, 1992). Os mecanismos envolvidos com a ação profilática dos estrogênios estariam relacionados principalmente com a promoção de um perfil lipídico antiaterogênico e com a ação sobre a parede dos vasos sanguíneos (WRITING GROUP FOR THE PEPI TRIAL, 1995; MENDELSON 2002). Recentemente, dois grandes estudos clínicos randomizados, em mulheres com (HULLEY et al, 1998) e sem DAC (ROSSOUW et al, 2002) indicaram que a terapia hormonal pode não conferir qualquer benefício e, de fato, pode aumentar o risco de eventos cardiovasculares (ROSSOUW et al, 2002).

O estudo da VFC é uma importante ferramenta de avaliação não-invasiva da integridade da função neurocardíaca (TASK FORCE, 1996). Tem sido proposto que a diminuição na VFC é um poderoso preditor de morbidade e de mortalidade por complicações arritmicas (BIGGER et al, 1992).

Modificações autonômicas do controle cardiovascular também têm sido observadas com o envelhecimento (RIBEIRO et al, 2001a; ACHARYA et al, 2004). Nas mulheres, tanto a idade como as alterações hormonais que ocorrem após a menopausa contribuem para as modificações no controle autonômico do coração. Brockbank et al (2000) e Liu et al (2003) verificaram maiores valores de VFC em mulheres pré-menopausadas em relação às pós-menopausadas. Mercurio et al (2000) também observaram reduções nos índices de VFC em mulheres submetidas a ooforectomia bilateral. No entanto, quando estas mulheres foram submetidas a terapia com 17β -estradiol, todos os índices de VFC retornaram aos valores obtidos antes da cirurgia. Outros autores (VIRTANEN et al, 2000; YILDIRIR et al, 2001; NISKANEN et al, 2002; LIU et al, 2003) também têm investigado se a terapia hormonal poderia influenciar a ação do sistema nervoso autônomo sobre o coração. No entanto, permanecem sem elucidação definitiva. O objetivo do presente estudo

foi testar a hipótese de que o uso da terapia estrogênica poderia atenuar as alterações no controle autonômico da FC devido ao hipoestrogenismo que acompanha o processo de envelhecimento, desde que reduções na VFC têm sido associadas com um maior risco de eventos cardíacos (BIGGER et al, 1992).

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

Fizeram parte deste estudo transversal 37 mulheres jovens e na fase pós-menopausa, saudáveis, que atendiam aos critérios de inclusão. As mulheres jovens selecionadas apresentavam ciclos menstruais regulares e não faziam uso de contraceptivos. Os procedimentos experimentais foram sempre realizados durante a fase folicular do ciclo menstrual, onde as variações hormonais não incluem as influências da ação progesterônica. Para caracterização da menopausa foi considerado idade acima de 48 anos, ausência de ciclo menstrual por pelo menos 12 meses consecutivos para as mulheres com útero preservado, e concentração sérica de FSH acima de 30 mIU/ml. Nenhuma das mulheres praticava atividades físicas regulares. Foram excluídas do estudo as mulheres que apresentassem evidências de doença cardíaca ou respiratória, hipertensão arterial (pressão arterial $\geq 140/90$ mmHg), diabetes mellitus, doenças tromboembólicas, disfunção da tireóide, acidente vascular cerebral, depressão, obesidade (índice de massa corporal ≥ 30 Kg/m²), e histórico de tabagismo ou alcoolismo. Nenhuma das voluntárias fazia uso de sedativos, anti-hipertensivos, antiarrítmicos, ou outros medicamentos capazes de influenciar o controle autonômico da FC.

Foram estudadas 13 mulheres jovens, 14 mulheres na fase pós-menopausa que não faziam uso de terapia hormonal (PMSTE) e 10 em uso de terapia estrogênica há pelo menos 1 ano (PMCTE). Nesse último grupo, todas as mulheres eram histerectomizadas e faziam uso de 0,625 mg/dia de estrogênios eqüinos conjugados, de forma contínua. Esse tratamento hormonal foi prescrito para as mulheres que apresentavam sintomas vasomotores, osteopenia ou osteoporose. A idade, as características antropométricas e clínicas dos grupos estudados estão apresentadas na Tabela 1.

A pressão arterial foi avaliada para confirmar se ela se encontrava dentro dos limites de normalidade. Para isso foram realizadas duas medidas, em dois dias não consecutivos, com as voluntárias mantidas em repouso por um período de pelo

menos 5 minutos, na posição sentada, com os pés apoiados no chão e o braço suportado ao nível do coração (CHOBANIAN et al, 2003). Todas as aferições foram feitas pelo método auscultatório na região da artéria braquial, utilizando um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio (WanMed, São Paulo, SP, Brasil) e um estetoscópio (Littmann, St. Paul, MN, USA). Os valores médios de pressão arterial estão apresentados na Tabela 1.

Todas as voluntárias incluídas neste estudo apresentaram resultados do hemograma, exame de urina rotina e eletrocardiograma em repouso, dentro dos limites de normalidade. O teste de exercício máximo em esteira foi negativo para isquemia miocárdica e arritmias em todas as voluntárias. Os resultados dos exames bioquímicos (glicemia de jejum, colesterol total e frações, triglicérides, uréia, creatinina, hormônio estimulante da tireóide e níveis séricos de estradiol) estão apresentados na Tabela 2.

As voluntárias também foram submetidas a um teste de exercício físico dinâmico contínuo até a exaustão física, em cicloergômetro (modelo Corival 400, Quinton, Seattle, WA, USA), com incrementos de potência de 10 a 20 W/min. Durante o teste, as variáveis ventilatórias e metabólicas foram obtidas respiração a respiração, usando um analisador metabólico específico (CPX-D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA). A capacidade aeróbia foi avaliada por meio dos dados de consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) obtidos no pico do exercício.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos (ANEXO A). O objetivo do estudo foi explicado para cada voluntária antes de se obter o consentimento formal de participação do estudo (APÊNDICE A).

2.3.1. Análise da variabilidade da frequência cardíaca

Os experimentos foram sempre realizados no período da manhã de modo a evitar interferências do ciclo circadiano na coleta dos dados. Os experimentos foram realizados em laboratório climatizado com temperatura em torno de 22°C e umidade relativa do ar entre 40 e 60%. As voluntárias foram familiarizadas com o protocolo experimental e instruídas para que não ingerissem bebidas alcoólicas e/ou

estimulantes 24 horas antes do exame e que fizessem uma refeição leve pelo menos 2 horas antes do experimento.

No dia do experimento, primeiramente era verificada a condição de saúde das voluntárias e se as mesmas tinham tido uma boa noite de sono. Em seguida, era feito um repouso inicial de 15 minutos na posição supina e após isso era aferida a pressão arterial e a FC para verificar se as condições basais eram adequadas para o experimento. A montagem do protocolo experimental está representada na Figura 1.



Figura 1 Ilustração da montagem experimental durante a captação da freqüência cardíaca em repouso, na posição supina. A: Monitor cardíaco; B: computador com o *software* de aquisição dos dados de freqüência cardíaca.

O eletrocardiograma e a FC foram obtidos de um monitor cardíaco de um canal (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brasil) e processados por meio de um conversor analógico-digital Lab. PC+ (National Instruments Co., Austin, TX, USA), o qual representa uma interface entre o monitor cardíaco e um microcomputador Pentium III. O sinal foi registrado em tempo real, após conversão A/D, numa taxa de amostragem de 500 Hz, e os intervalos R-R foram calculados, batimento a batimento, usando um *software* específico (SILVA et al, 1994), ilustrado na Figura 2. Para avaliar o efeito da posição corporal sobre a resposta da FC e de sua variabilidade, os intervalos R-R foram registrados por um período de 8 minutos em repouso, com as voluntárias nas posições supina e sentada, respectivamente, e respirando espontaneamente.

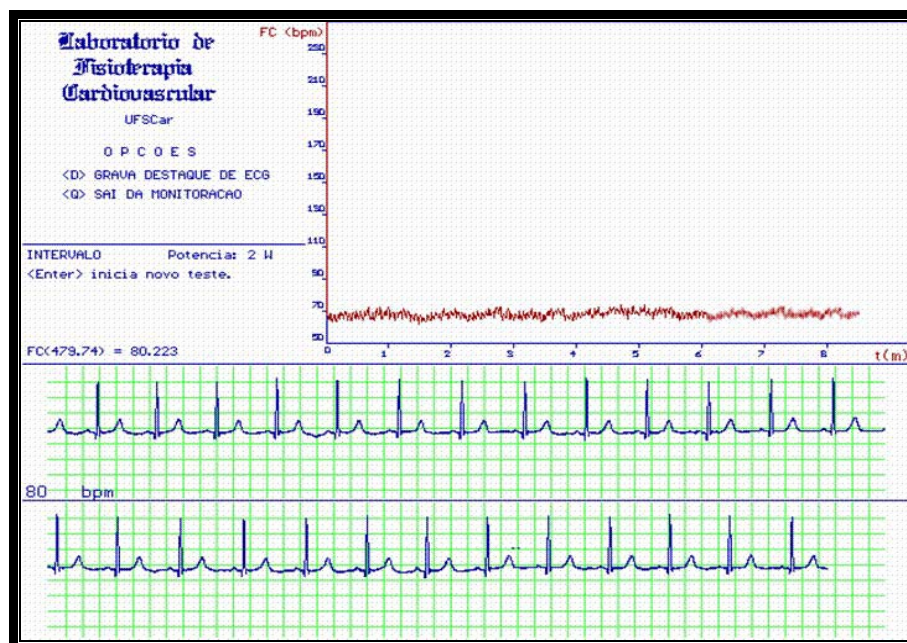


Figura 2 Ilustração da tela do computador do programa de aquisição do eletrocardiograma e da frequência cardíaca (ms), batimento a batimento, em tempo real, durante o repouso na posição supina.

A VFC foi analisada no domínio do tempo e da frequência. Para isto foi selecionado o trecho de maior estabilidade da captação dos intervalos R-R (Figura 3), de forma que o mesmo apresentasse no mínimo 256 batimentos consecutivos (TASK FORCE, 1996). No domínio do tempo foram selecionados os seguintes parâmetros: a média dos intervalos R-R, o desvio padrão dos intervalos R-R (SDNN), a raiz quadrada da média da soma do quadrado da diferença entre os intervalos R-R adjacentes (rMSSD). O índice SDNN reflete a VFC total, enquanto o rMSSD é considerado um índice da modulação parassimpática da FC (TASK FORCE, 1996).

Para análise no domínio da frequência, utilizou-se o procedimento de retirada de tendência linear, e a transformada rápida de Fourier foi aplicada em janela única, na seqüência dos valores dos intervalos R-R, previamente selecionados. Os componentes espectrais de potência foram computados nas bandas de baixa (BF: 0,04-0,15 Hz) e alta frequência (AF: 0,15-0,4 Hz), em unidades absolutas (ms^2) e em unidades normalizadas (un), as quais correspondem ao percentual do espectro total de potência subtraído do componente de muito baixa frequência (MBF: 0,003-0,04 Hz). Desde que a banda de BF é modulada por ambas divisões do sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático, e a banda de AF é correlacionada ao controle vagal, a razão BF/AF foi calculada para avaliar o balanço simpato-vagal

(TASK FORCE, 1996). A Figura 4, a qual foi desenhada utilizando um modelo auto-regressivo, ilustra o espectro de potência da VFC em repouso, nas posições supina e sentada, de uma representante de cada grupo.

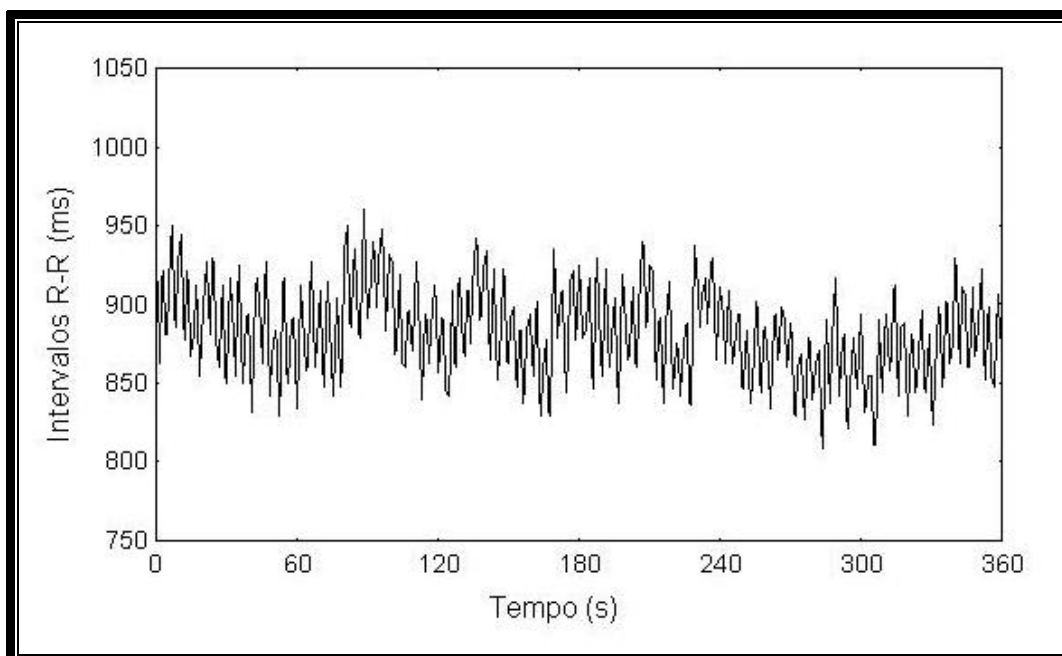


Figura 3 Ilustração do trecho de maior estabilidade da captação dos intervalos R-R (ms) durante o repouso na posição supina.

2.3.2. Análise estatística

As características antropométricas e clínicas dos grupos estudados foram analisadas pelo teste ANOVA *one-way* e, quando apropriado, foi utilizado o *post-hoc* de Tukey HSD *for unequal N*. Para comparar o tempo de menopausa e os níveis séricos de FSH e estradiol entre os grupos na pós-menopausa foi utilizado o teste-*t* não pareado. Os índices de VFC obtidos durante o protocolo experimental foram testados quanto à normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov). Como os dados não apresentaram uma distribuição normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos e, quando apropriado, o teste de comparação múltipla de Dunn. Para análise intragrupo foi utilizado o teste de Wilcoxon. Para associação entre as variáveis foi utilizado o teste de correlação de Spearman. Foi considerado nível de significância de 5%. Os dados foram expressos em mediana e 95% do intervalo de confiança. Para a construção das Figuras 4 e 5, foi utilizado o *software* MatLab 6.1.0.450, *release* 12.1.

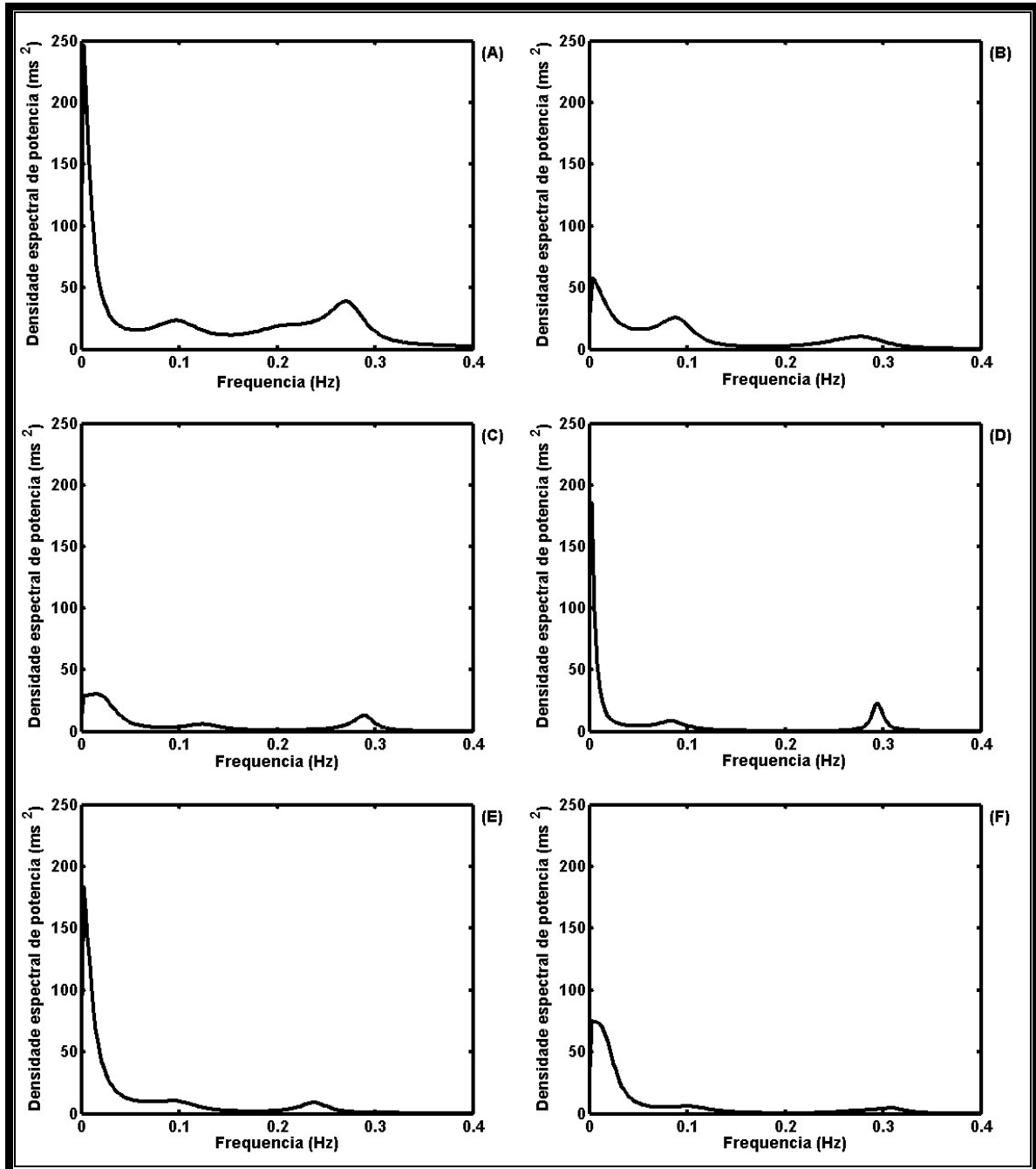


Figura 4 Espectro de potência da variabilidade da frequência cardíaca, de uma voluntária jovem (A e B), de uma voluntária na fase pós-menopausa em uso de terapia estrogênica (C e D) e de uma voluntária na fase pós-menopausa sem uso de terapia estrogênica (E e F), obtido em repouso, nas posições supina e sentada, respectivamente. São ilustrados os componentes de baixa frequência (BF: 0,04 a 0,15 Hz), alta frequência (AF: 0,15 a 0,4 Hz) e muito baixa frequência (MBF: < 0,04 Hz).

2.4. RESULTADOS

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à massa corporal e estatura (Tabela 1). As jovens apresentaram valores inferiores do índice de massa corporal e da pressão arterial e valores superiores de $\dot{V}O_2$ pico, expressos em valores absolutos e normalizados pela massa corporal, em relação aos grupos na pós-menopausa ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na pós-menopausa quanto ao tempo médio de menopausa. O tempo médio de uso de terapia estrogênica foi de $6 \pm 4,6$ anos.

Tabela 1 Idade, características antropométricas e clínicas dos grupos estudados.

| Características | Jovens (N = 13) | PM com TE (N = 10) | PM sem TE (N = 14) |
|-------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| Idade (anos) | $24 \pm 2,6$ | $53 \pm 4,6^*$ | $56 \pm 2,6^*$ |
| Massa corporal (kg) | $57 \pm 6,0$ | $66 \pm 9,9$ | $62 \pm 9,4$ |
| Estatura (cm) | $163 \pm 6,0$ | $157 \pm 5,8$ | $158 \pm 6,1$ |
| IMC (kg/m^2) | $21,6 \pm 2,5$ | $26,6 \pm 4,0^*$ | $24,8 \pm 3,2^*$ |
| PAS (mmHg) | $99 \pm 8,6$ | $114 \pm 11,7^*$ | $118 \pm 17,6^*$ |
| PAD (mmHg) | $67 \pm 5,5$ | $76 \pm 6,9^*$ | $76 \pm 10,4^*$ |
| $\dot{V}O_2$ pico (mL/min) | $1287 \pm 148,5$ | $918 \pm 114,3^*$ | $929 \pm 150,6^*$ |
| $\dot{V}O_2$ pico (mL/kg/min) | $22,6 \pm 3,1$ | $14,2 \pm 1,5^*$ | $14,8 \pm 2,7^*$ |
| Tempo de menopausa (anos) | - | $7 \pm 4,6$ | $8 \pm 4,8$ |
| Tempo de TE (anos) | - | $6 \pm 4,6$ | - |

Dados expressos em média \pm DP. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; IMC = índice de massa corporal; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; $\dot{V}O_2$ = consumo de oxigênio; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem (teste de ANOVA e *post-hoc* de Tukey).

Verifica-se na Tabela 2, que não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos quanto à glicemia de jejum, triglicérides, HDL colesterol, uréia, creatinina e hormônio estimulante da tireóide. As jovens apresentaram valores significativamente inferiores de colesterol total em comparação aos grupos na pós-menopausa e valores inferiores de LDL colesterol em relação às não usuárias de hormônios ($P < 0,05$). Os níveis séricos de FSH não diferiram entre os grupos na

pós-menopausa, mas os níveis séricos de estradiol foram superiores para o grupo PMCTE ($P < 0,05$).

Tabela 2 Resultados dos exames bioquímicos dos grupos estudados.

| | Jovens (N = 13) | PM com TE (N = 10) | PM sem TE (N = 14) |
|------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| Glicemia (mg/dL) | 80 ± 6,2 | 86 ± 9,2 | 88 ± 11,2 |
| Triglicérides (mg/dL) | 78 ± 28,9 | 141 ± 70,1 | 133 ± 69,5 |
| Colesterol total (mg/100 mL) | 174 ± 28,5 | 221 ± 51,0* | 216 ± 38,2* |
| LDL colesterol (mg/100 mL) | 102 ± 28,3 | 134 ± 39,7 | 140 ± 35,6* |
| HDL colesterol (mg/100 mL) | 56 ± 9,7 | 59 ± 10,4 | 49 ± 14,8 |
| Uréia (mg/dL) | 32 ± 3,6 | 28 ± 4,6 | 28 ± 6,9 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,9 ± 0,1 | 0,9 ± 0,1 | 0,9 ± 0,2 |
| TSH (mIU/mL) | 2,0 ± 0,7 | 1,6 ± 1,5 | 2,5 ± 2,0 |
| FSH (mIU/mL) | - | 60 ± 38,2 | 75 ± 45,2 |
| Estradiol (pg/mL) | - | 58 ± 25,4 | 23 ± 5,4** |

Dados expressos em média ± DP. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade; TSH = hormônio estimulante da tireóide; FSH = hormônio folículo estimulante; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem; ** $P < 0,05$ em relação ao grupo PM com TE (teste de ANOVA e *post-hoc* de Tukey; teste-*t* não pareado).

Na comparação intergrupo, foi observado que os valores de FC e dos intervalos R-R de repouso não diferiram entre os grupos estudados. Entretanto, na análise no domínio do tempo, foi verificado maiores valores do índice SDNN ($P < 0,05$) para o grupo jovem comparativamente aos 2 grupos na pós-menopausa. As jovens também apresentaram valores superiores do índice rMSSD em relação aos grupos na pós-menopausa, mas com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) apenas em relação às não usuárias de hormônios (Tabela 3). Na análise no domínio da frequência, o grupo PMSTE, apresentou menores valores do componente de AFun ($P < 0,05$) e maiores valores do componente de BFun e da razão BF/AF ($P < 0,05$) em relação ao grupo jovem na posição supina (Tabela 3), e em relação ao grupo na PMCTE na posição sentada (Tabela 3 e Figura 5).

Não foram observadas correlações significantes entre os índices de VFC e o índice de massa corporal, $\dot{V}O_2$ pico, triglicérides, colesterol total e frações. Entretanto, os componentes de BFun, AFun e a razão BF/AF (posição sentada)

apresentaram uma correlação significativa com os níveis séricos de estradiol ($r_s = -0,59$; $0,59$ e $-0,59$, respectivamente, $P < 0,05$).

Tabela 3 Variabilidade da frequência cardíaca em repouso nas posições supina e sentada.

| Variáveis | Jovens (N = 13) | PM com TE (N = 10) | PM sem TE (N = 14) |
|---------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| Posição supina | | | |
| FC (bpm) | 70 (65;75) | 66 (61;72) | 66 (64;68) |
| Intervalos R-R (ms) | 860 (804;916) | 904 (831;979) | 912 (878;947) |
| SDNN (ms) | 47 (40;54) | 33 (27;39)* | 31 (27;36)* |
| rMSSD (ms) | 43 (32;54) | 28 (20;35) | 19 (16;22)* |
| BF (un) | 39 (32;46) | 41 (32;50) | 56 (51;61)* |
| AF (un) | 61 (54;68) | 59 (50;68) | 44 (39;49)* |
| Razão BF/AF | 0,63 (0,42;0,84) | 0,70 (0,41;1,00) | 1,29 (1,04;1,54)* |
| Posição sentada | | | |
| FC (bpm) | 74 (68;80)*** | 72 (65;79)*** | 69 (65;72)*** |
| Intervalos R-R (ms) | 808 (748;868)*** | 832 (749;915)*** | 872 (823;921)*** |
| SDNN (ms) | 42 (32;52) | 29 (26;32)* | 29 (26;33)* |
| rMSSD (ms) | 37 (31;43)*** | 24 (19;29) | 17 (14;20)* |
| BF (un) | 49 (40;58)*** | 43 (35;50) | 62 (58;66)** |
| AF (un) | 51 (42;60)*** | 57 (50;65) | 38 (34;42)** |
| Razão BF/AF | 0,96 (0,57;1,35)*** | 0,75 (0,50;0,99) | 1,60 (1,29;1,91)** |

Dados expressos em mediana + 95% do intervalo de confiança. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; FC = frequência cardíaca; SDNN = desvio padrão dos intervalos R-R; rMSSD = raiz quadrada da média da soma do quadrado da diferença entre os intervalos R-R adjacentes; BF = baixa frequência; AF = alta frequência; un = unidades normalizadas; BF/AF = razão baixa frequência/alta frequência; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem; ** $P < 0,05$ em relação ao grupo PM com TE; *** $P < 0,05$ em relação à posição supina (comparação intergrupo: teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn; comparação intragrupo: teste de Wilcoxon).

Na comparação intragrupo verifica-se menores valores de FC e maiores valores dos intervalos R-R na posição supina em relação à posição sentada, para os 3 grupos estudados. Essas diferenças foram estatisticamente significantes ($P < 0,05$, Tabela 3). Quanto a VFC, somente o grupo jovem apresentou uma diminuição dos índices ($P < 0,05$) que refletem a atividade vagal (rMSSD e AFnu) e um aumento dos índices ($P < 0,05$) que refletem a atividade simpática (BFnu e a razão BF/AF) na posição sentada comparativamente à posição supina. A Figura 4 ilustra as diferenças na distribuição dos componentes espectrais de potência em função da

posição corporal, para uma representante de cada grupo. Podemos observar nessa figura, particularmente no grupo jovem, uma predominância dos componentes de AF e BF, nas posições supina e sentada, respectivamente.

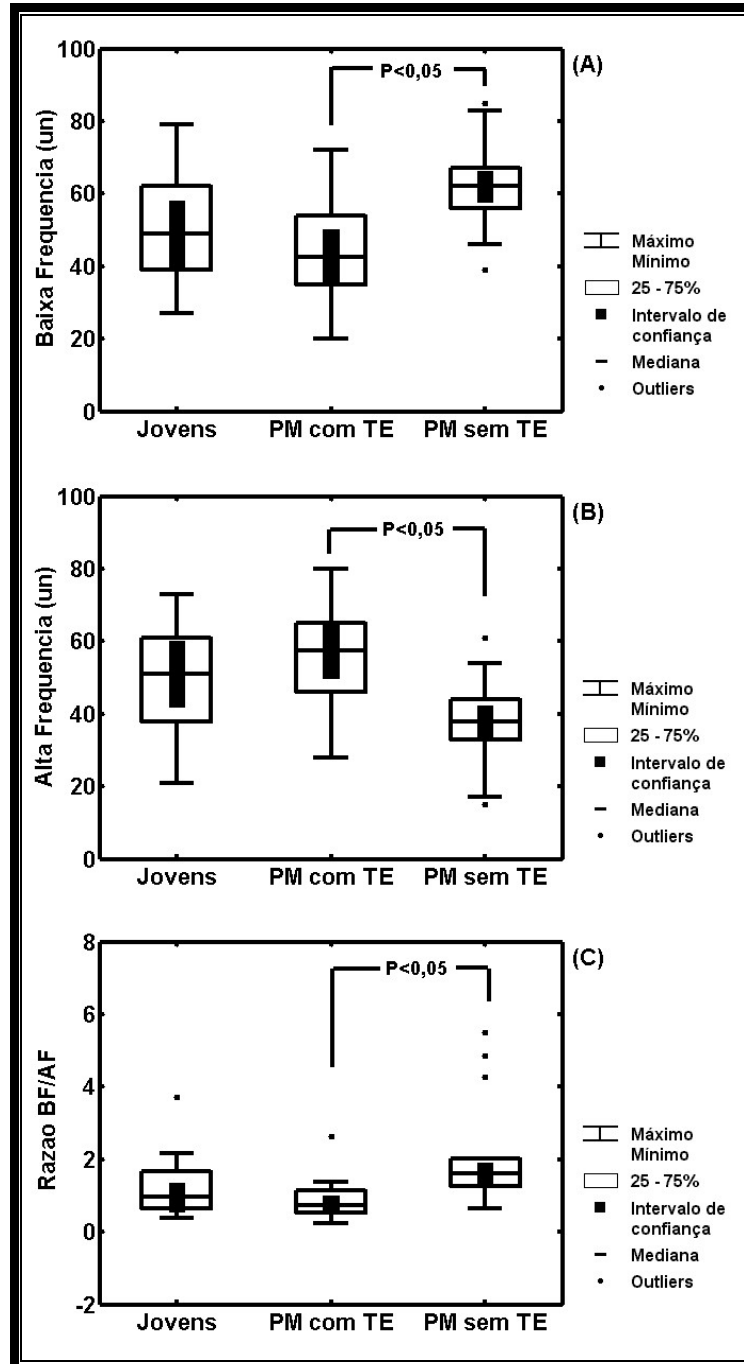


Figura 5 Valores do componente de baixa frequência (un) (A), do componente de alta frequência (un) (B) e da razão entre os componentes de baixa e alta frequência (razão BF/AF) (C) das mulheres jovens e na fase pós-menopausa (PM) com e sem terapia estrogênica (TE), na condição de repouso na posição sentada. un = unidades normalizadas. $P < 0,05$ em relação ao grupo PM com TE (teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn).

2.5. DISCUSSÃO

Os efeitos da terapia hormonal sobre os índices de VFC têm sido reportados de forma heterogênea e controversa, com alguns estudos apresentando resultados favoráveis (YILDIRIR et al, 2001; FARAG et al, 2002; LIU et al, 2003; ROSA BRITO-ZURITA et al, 2003; VIRTANEN et al, 2004), enquanto outros não encontraram qualquer modificação (VIRTANEN et al, 2000; NISKANEN et al, 2002). Christ et al (2002) observaram uma diminuição da VFC e referem que este efeito foi restrito ao subgrupo de mulheres que faziam uso de estrogênio associado a progesterona.

O objetivo da presente investigação foi avaliar a relativa influência da idade, do hipoestrogenismo e da terapia estrogênica sobre o controle autonômico da FC durante o repouso nas posições supina e sentada.

Tem sido documentado que a modulação autonômica da FC declina progressivamente com o avanço da idade. Esse processo tem sido demonstrado pela redução tanto dos índices que refletem a atividade vagal, como daqueles que refletem a atividade simpática sobre o coração (KUO et al, 1999; ACHARYA et al, 2004). Nossos resultados estão de acordo com a literatura desde que uma diminuição significativa dos índices temporais de VFC foi observada nas mulheres pós-menopausa. Apesar de ter sido observado, no presente estudo, uma diminuição na capacidade aeróbia, um aumento no índice de massa corporal e modificações no perfil lipídico com o envelhecimento, essas variáveis não apresentaram uma correlação significativa com os índices de VFC. Resultados similares foram observados por Byrne et al (1996), os quais sugeriram que a idade por si só, é a principal responsável pela diminuição da VFC em sujeitos idosos.

Entretanto, o hipoestrogenismo é um outro fator que pode ter influenciado nossos resultados, uma vez que o grupo tratado com estrogênio apresentou valores intermediários de VFC. Estudos prévios também têm demonstrado alterações no controle autonômico da FC após a menopausa natural (BROCKBANK et al, 2000; RIBEIRO et al, 2001a; LIU et al, 2003; GOKÇE et al, 2005) ou cirúrgica (MERCURO et al, 2000). Concordando com esses estudos, nossos resultados mostraram que a menopausa pode causar um desbalanço no controle autonômico do sistema cardiovascular em direção a uma hiperatividade simpática. Isso poderia explicar, em parte, o aumento na incidência de doenças cardiovasculares observada nas mulheres após a menopausa (KANNEL et al, 1976).

Verificamos ainda que as mulheres pós-menopausadas em uso de terapia estrogênica apresentaram valores superiores do componente de AFnu e inferiores do componente BFnu e da razão BF/AF em comparação com as não usuárias de hormônios. Considerando nosso desenho experimental, alguns fatores poderiam ter influenciado esses resultados, tais como a idade, características antropométricas, condição clínica, resultados dos exames bioquímicos e a capacidade aeróbia. Entretanto, nenhuma diferença foi observada entre os grupos na pós-menopausa para quaisquer variáveis estudadas, exceto os níveis séricos de estradiol e os índices de VFC descritos acima, os quais mostraram uma correlação estatisticamente significativa. Esses achados apontam no sentido de que haja uma significativa aderência entre vários parâmetros de VFC e os níveis séricos de estradiol (terapia estrogênica) nas mulheres pós-menopausadas estudadas.

Dessa forma, nossos achados são concordantes com estudos prévios (MERCURO et al, 2000; LIU et al, 2003; GOKÇE et al, 2005), os quais têm reportado um aumento na atividade vagal e uma redução no *drive* simpático nas mulheres pós-menopausadas em uso de terapia estrogênica. No entanto, os mecanismos responsáveis por esse efeito benéfico da terapia estrogênica sobre o controle autonômico da FC não são completamente conhecidos e devem ser investigados em estudos futuros.

As divergências encontradas na literatura sobre os efeitos da terapia hormonal sobre a VFC podem estar relacionadas aos diferentes tipos de hormônios utilizados, bem como diferenças nas dosagens e vias de aplicação. A idade das mulheres e o período em que a terapia hormonal foi prescrita também parece interferir nos resultados. De fato, os resultados do estudo *HERS* (HULLEY et al, 1998) e do estudo *WHI* (ROSSOUW et al, 2002), relacionados ao aumento do risco de eventos cardiovasculares têm sido questionados na comunidade científica devido à média de idade elevada das participantes desses estudos. Recentemente, os dados do *WHI* mostraram diferenças significantes no risco para DAC entre os grupos estratificados pela idade, e os resultados mostraram um risco reduzido nas mulheres tratadas com terapia estrogênica e com idade igual ou inferior a 60 anos (ANDERSON et al, 2004). Dessa forma, a terapia hormonal deve ser prescrita no momento adequado (“janela de oportunidade”), quando a função endotelial ainda está preservada. No presente estudo, o tempo de menopausa do grupo tratado com

estrogênios ainda se encontrava num período em que a terapia hormonal tem efeitos favoráveis sobre o sistema cardiovascular.

A mudança postural de supino para sentado provoca uma diminuição no retorno venoso e conseqüentemente uma elevação da FC devido à regulação autonômica cardíaca (ativação simpática e diminuição da atividade vagal sobre o coração), os quais são mediados por ajustes dos barorreceptores arteriais e cardiopulmonares (LINDQVIST, 1990). No presente estudo, todos os grupos apresentaram modificações na resposta cronotrópica em função da posição corporal. Por outro lado, variações na modulação simpato-vagal foram observadas somente no grupo jovem. Esses resultados sugerem que o controle barorreflexo da FC pode estar alterado devido ao processo do envelhecimento, desde que o aumento do diâmetro e da espessura das paredes arteriais, associada à diminuição da complacência arterial, podem ser responsáveis pelo declínio na sensibilidade barorreflexa cardiovascular em sujeitos idosos (MONAHAN et al, 2001; LAKATTA e LEVY, 2003a). Estudos prévios conduzidos em indivíduos jovens (Vuksanovic & Gal, 2005) e de meia-idade (PIKKUJAMSA et al, 2001; VUKSANOVIC e GAL, 2005) mostraram alterações nos índices de VFC com a mudança postural. Outros pesquisadores têm reportado que com o avanço da idade, tais alterações passam a não ter significância estatística (PERINI e VEICSTEINAS, 2003; SAKABE et al, 2004).

O desenho transversal deste estudo é uma limitação, desde que as características do controle autonômico da FC das mulheres pós-menopausa anteriores ao uso da terapia estrogênica não são conhecidas. No entanto, critérios rigorosos de inclusão e exclusão foram estabelecidos no estudo a fim de controlar os fatores que poderiam influenciar o controle autonômico do coração.

Os resultados do presente estudo sugerem que a idade tem um papel importante na modulação autonômica cardíaca das mulheres. A terapia estrogênica, por sua vez, parece atenuar as modificações relacionadas à idade no controle autonômico da FC, promovendo uma redução na hiperatividade simpática sobre o coração e, dessa forma, contribuindo para o efeito cardioprotetor descrito em estudos prévios (STAMPFER et al, 1991; GRADY et al, 1992). Nossos resultados também sugerem que os níveis fisiológicos de estrogênios são responsáveis pela maior modulação vagal e menor modulação simpática sobre a FC nas mulheres estudadas. Estudos adicionais estão sendo realizados em nosso laboratório para

avaliar os efeitos a longo prazo da atividade física e da terapia hormonal sobre a resposta cardiovascular em repouso e durante o exercício.

3. DESENVOLVIMENTO A PARTIR DO ESTUDO I

3. DESENVOLVIMENTO A PARTIR DO ESTUDO I

Foi observado no estudo I que a terapia estrogênica teve um efeito benéfico sobre o controle autonômico da FC durante a condição de repouso, caracterizado por um aumento da atividade vagal e uma diminuição da atividade simpática sobre o coração nas mulheres pós-menopausadas. Esse efeito benéfico da terapia estrogênica sobre a função autonômica cardíaca parece estar relacionado à sua ação sobre o sistema nervoso central, uma vez que receptores de estrogênios têm sido encontrados nos centros cerebrais envolvidos com a regulação cardiovascular (SIMERLY et al, 1990).

Após um levantamento bibliográfico na literatura, não foram encontrados estudos investigando se a terapia estrogênica também poderia influenciar a modulação autonômica da FC em condições de exercício, o que é importante considerando que nessa condição são impostas grandes sobrecargas aos sistemas biológicas. Assim, foi proposto no estudo II avaliar o controle autonômico da FC em dois momentos do exercício físico dinâmico de carga constante: na fase inicial do exercício, onde ocorre um aumento rápido da FC, mediado pela retirada vagal (MACIEL et al, 1986; SONE et al, 2004); e no intervalo do 1º ao 4º minuto do exercício, onde a resposta da FC, em baixas intensidades de esforço, é mediada pela retirada vagal, e em altas intensidades de esforço, pela atividade simpática (GALLO et al, 1995; CHACON-MIKAHIL et al, 1998; GONZÁLEZ-CAMARENA et al, 2000). Buscou-se também no estudo II, avaliar o efeito da idade e da terapia estrogênica sobre a capacidade aeróbia das mulheres pós-menopausadas, por meio da determinação do limiar de anaerobiose (LA) a partir da aplicação de um modelo semiparamétrico modificado aos dados de FC (MILAN et al, 2000; MARÃES et al, 2005; SIROL et al, 2005; TAKAHASHI et al, 2005).

4. ESTUDO II

“A resposta da frequência cardíaca durante o exercício dinâmico em mulheres saudáveis é influenciada pela terapia estrogênica?”

4.1. RESUMO

A proposta deste estudo foi determinar se a idade e a terapia estrogênica (TE) influencia o controle autonômico da frequência cardíaca (FC) durante o exercício dinâmico e o limiar de anaerobiose (LA) determinado a partir da análise da resposta da FC. Foram estudadas 11 mulheres jovens ($24 \pm 2,8$ anos), 8 na fase pós-menopausa ($53 \pm 4,1$ anos) em uso de TE (PMCTE) e 12 na fase pós-menopausa ($56 \pm 2,8$ anos) sem uso de terapia hormonal (PMSTE). A TE consistiu de 0,625 mg/dia de estrogênios eqüinos conjugados. O exercício dinâmico foi realizado em cicloergômetro, sendo iniciado na potência de 15 W, seguido por incrementos progressivos de 5 W até que fosse identificada a perda da estabilização da resposta da FC pelo modelo semiparamétrico, caracterizando o LA. A FC (bpm) e os intervalos R-R (ms) foram registrados batimento a batimento. A retirada vagal foi analisada pelo cálculo da variação da FC (bpm) na fase inicial do exercício e pela duração (s) dessa variação. Foram também calculados o índice rMSSD (ms) e a FC média (bpm) do trecho estável (1º ao 4º min) de cada potência. As jovens apresentaram maiores valores de variação da FC e do índice rMSSD em relação aos grupos na fase pós-menopausa nas potências estudadas. As jovens apresentaram maiores valores de potência e de FC (mediana: 45 W; 117 bpm, $P < 0,05$) no LA em relação aos grupos PMCTE (25 W; 102 bpm) e PMSTE (30 W; 107 bpm); os valores do índice rMSSD foram similares entre os grupos. Nossos resultados sugerem que o controle autonômico da FC durante o exercício físico (retirada vagal e índice rMSSD) e a capacidade aeróbia são fortemente influenciados pela idade. Ambos, hipoestrogenismo e TE, não exerceram qualquer influência sobre as variáveis estudadas.

Palavras-chave: exercício dinâmico, sistema nervoso autônomo, limiar de anaerobiose, menopausa, terapia estrogênica.

4.2. INTRODUÇÃO

Recentemente a literatura tem colocado sob intensa discussão o papel da terapia hormonal sobre o sistema cardiovascular. Apesar de vários estudos apontarem para um efeito cardioprotetor (STAMPFER et al, 1991; GRADY et al, 1992), ensaios clínicos de grande porte mostraram que o uso prolongado da terapia hormonal pode não ser benéfico (HULLEY et al, 1998) e pode inclusive acarretar aumento do risco para doenças cardíacas (ROSSOUW et al, 2002).

Efeitos favoráveis da terapia estrogênica sobre o controle autonômico da FC têm sido reportados em estudos prévios (LIU et al, 2003; GOKÇE et al, 2005; NEVES et al, 2007). Tais efeitos têm sido observados em condições de repouso. Poucos estudos têm investigado a influência dos níveis hormonais de estrogênio sobre a atividade neurocardíaca durante o exercício, um aspecto importante considerando que nesta condição são impostas grandes sobrecargas aos sistemas biológicos.

A resposta da FC durante exercício físico dinâmico é mediada por um mecanismo bifásico, que inicialmente envolve a retirada vagal (aumento rápido da FC). Em baixos níveis de esforço, este é o único mecanismo responsável pelo aumento da FC. Conforme a intensidade do exercício aumenta, a influência simpática passa a ser predominante e um incremento lento da FC pode ser observado. Nesta situação a resposta da FC não atinge a condição de *steady-state* (MACIEL et al, 1986; CHACON-MIKAHIL et al, 1998; SONE et al, 2004; MARÃES et al, 2005; SIROL et al, 2005).

Um achado importante relacionado ao controle autonômico da FC durante exercício físico dinâmico de carga constante é a observação de que a perda da estabilidade da resposta da FC (incremento lento da FC) ocorre em intensidades de esforço acima do LA, onde a contribuição simpática na taquicardia ao exercício é predominante (SILVA et al, 1988; GALLO et al, 1995; TULPPO et al, 1998). Desse modo, alguns pesquisadores têm proposto a utilização de modelos matemáticos e estatísticos como meio de identificar o nível de potência no qual ocorre a perda da estabilização da FC e determinar o LA por meio de metodologia não-invasiva (RIBEIRO et al, 2001b; MARÃES et al, 2005; SIROL et al, 2005; TAKAHASHI et al, 2005).

O LA tem sido comumente utilizado para avaliação da capacidade aeróbia, a qual diminui com o processo do envelhecimento (FITZGERALD et al, 1997; SCHILLER et al, 2001). O hipoestrogenismo pode ser um fator que contribui para esta redução (MERCURO et al, 2006). Existem poucos e controversos estudos a respeito dos efeitos da terapia estrogênica sobre a tolerância ao exercício (KIRWAN et al, 2004; ÖZDEMIR et al, 2004). O entendimento desses efeitos tem implicações clínicas, além de ser importante na prescrição de treinamento físico para as mulheres.

Em vista destas considerações, a proposta deste estudo foi verificar se a idade e a terapia estrogênica tem influência sobre o controle autonômico da FC durante exercício dinâmico e sobre o LA determinado a partir da análise da resposta da FC, desde que essas variáveis podem ser modificadas pelo hipoestrogenismo e pelo envelhecimento. Buscou-se ainda verificar se a modulação autonômica cardíaca se modifica com o incremento de potência.

4.3. MATERIAIS E MÉTODOS

Trinta e uma mulheres jovens e na fase pós-menopausa, saudáveis, que atendiam aos critérios de inclusão estabelecidos, fizeram parte deste estudo transversal. As mulheres jovens selecionadas apresentavam ciclos menstruais regulares e não faziam uso de contraceptivos. Os procedimentos experimentais foram sempre realizados durante a fase folicular do ciclo menstrual, onde as variações hormonais não incluem as influências da ação progesterônica. Para caracterização da menopausa foi considerado idade acima de 48 anos, ausência de ciclo menstrual por pelo menos 12 meses para as mulheres com útero preservado, e concentração sérica de FSH acima de 30 mIU/ml. Nenhuma das mulheres praticava atividades físicas regulares. Foram excluídas do estudo as mulheres que apresentassem evidências de doença cardíaca ou respiratória, hipertensão (pressão arterial $\geq 140/90$ mmHg), diabetes mellitus, doenças tromboembólicas, disfunção da tireóide, acidente vascular cerebral, depressão, obesidade (índice de massa corporal ≥ 30 Kg/m²) e histórico de tabagismo ou alcoolismo. Nenhuma das voluntárias faziam uso de sedativos, anti-hipertensivos, anti-arrítmicos, ou outros medicamentos capazes de influenciar o controle autonômico da FC.

Dessa forma, foram estudadas 11 mulheres jovens, 12 mulheres na fase pós-menopausa que não faziam uso de terapia hormonal (PMSTE) e 8 em uso de terapia estrogênica há pelo menos 1 ano (PMCTE). Nesse último grupo, todas as mulheres eram hysterectomizadas e faziam uso de 0,625 mg/dia de estrogênios eqüinos conjugados, de forma contínua. A terapia hormonal foi indicada por sintomas vasomotores, osteopenia ou osteoporose. A idade, as características antropométricas e clínicas dos grupos estudados estão apresentadas na Tabela 4.

A pressão arterial foi avaliada para confirmar se ela se encontrava dentro dos limites de normalidade. Para isso foram realizadas duas medidas, em dois dias não consecutivos, com as voluntárias mantidas em repouso por um período de pelo menos 5 minutos, na posição sentada, com os pés apoiados no chão e o braço suportado ao nível do coração (CHOBANIAN et al, 2003). Todas as aferições foram feitas pelo método auscultatório na região da artéria braquial, utilizando um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio (WanMed, São Paulo, SP, Brasil) e um estetoscópio (Littmann, St. Paul, MN, USA). Os valores médios de pressão arterial estão apresentados na Tabela 4.

Todas as voluntárias incluídas neste estudo apresentaram resultados do hemograma, exame de urina rotina e eletrocardiograma em repouso, dentro dos limites de normalidade. O teste de exercício máximo em esteira foi negativo para isquemia miocárdica e arritmias em todas as voluntárias. Os resultados dos exames bioquímicos (glicemia de jejum, colesterol total e frações, triglicérides, uréia, creatinina, hormônio estimulante da tireóide e níveis séricos de estradiol) estão apresentados na Tabela 5.

As voluntárias também foram submetidas a um teste de exercício físico dinâmico contínuo até a exaustão física, em cicloergômetro (modelo Corival 400, Quinton, Seattle, WA, USA), com incrementos de potência de 10 a 20 W/min. Durante o teste, as variáveis ventilatórias e metabólicas foram obtidas respiração a respiração, usando um analisador metabólico específico (CPX-D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA). A capacidade aeróbia foi avaliada por meio dos dados de $\dot{V}O_2$ obtidos no pico do exercício.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (ANEXO A). O objetivo do estudo foi explicado para cada voluntária antes de se obter o consentimento formal de participação do estudo (APÊNDICE A).

4.3.1. Protocolo Experimental

Os experimentos foram sempre realizados no período da manhã de modo a evitar interferências do ciclo circadiano na coleta dos dados. Os experimentos foram realizados em laboratório climatizado com temperatura em torno de 22°C e umidade relativa do ar entre 40 e 60%. As voluntárias foram familiarizadas com o protocolo experimental e instruídas para que não ingerissem bebidas alcoólicas e/ou estimulantes e que não realizassem atividades físicas extenuantes 24 horas antes do exame e que fizessem uma refeição leve pelo menos 2 horas antes do experimento.

No dia do experimento, primeiramente era verificada a condição de saúde das voluntárias e se as mesmas tinham tido uma boa noite de sono. Em seguida, era feito um repouso inicial de 15 minutos na posição supina e após isso era aferida a pressão arterial e a FC para verificar se as condições basais eram adequadas para o experimento.

O exercício físico dinâmico foi realizado em cicloergômetro de frenagem eletromagnética (modelo Corival 400, Quinton, Seattle, WA, USA), sendo iniciado na potência de 15 W, e seguido por incrementos progressivos de potência de 5 W, até que fosse visualizada a perda da estabilização da resposta da FC (incremento lento da FC) por um modelo semiparamétrico modificado. Em cada nível de esforço, o exercício físico dinâmico teve uma duração de 4 minutos. Entre os diferentes níveis de potência foi interposto um período variável de repouso para que a FC retornasse aos seus valores basais. A velocidade de pedalada foi mantida em 60 rotações por minuto (rpm), em cada nível de esforço. O objetivo desse protocolo foi avaliar o controle autonômico da FC durante exercício físico dinâmico e determinar o LA por meio da resposta da FC. A montagem do protocolo experimental do estudo II está representada na Figura 6.

Durante o teste, o eletrocardiograma e a FC foram obtidos de um monitor cardíaco de um canal (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brasil) e processados por meio de um conversor analógico-digital Lab. PC+ (National Instruments Co., Austin, TX, USA), o qual representa uma interface entre o monitor cardíaco e um microcomputador (Pentium III). O sinal foi registrado em tempo real, após conversão A/D, numa amostragem de 500Hz, e os intervalos R-R foram calculados, batimento a batimento, usando um *software* específico (SILVA et al, 1994). O eletrocardiograma

e a FC foram registrados durante 1 minuto em repouso pré-exercício, 4 minutos de exercício físico dinâmico e 1 minuto de recuperação pós-exercício, em cada nível de esforço. A Figura 7 ilustra o comportamento da resposta da FC durante cada potência do teste de exercício físico dinâmico de carga constante.



Figura 6 Ilustração da montagem experimental do teste de exercício físico dinâmico de carga constante. A: Monitor cardíaco; B: computador com o *software* de aquisição dos dados de frequência cardíaca; C: cicloergômetro de frenagem eletromagnética.

A contribuição dos sistemas simpático e parassimpático ao aumento da FC induzido pelo exercício físico dinâmico foi determinado baseando-se nas diferenças de constante de tempo de ambas divisões do sistema nervoso autônomo. Esse método foi validado em estudos prévios, nos quais a resposta da FC induzida pelo exercício foi avaliada antes e após bloqueio farmacológico seletivo dos sistemas simpático e parassimpático (MACIEL et al, 1986; SILVA et al, 1988; GALLO et al, 1995). Especial ênfase foi dada ao aumento da FC durante a fase inicial do exercício

(vago-dependente) e no intervalo do 1º ao 4º minuto do exercício físico dinâmico (simpático-dependente).

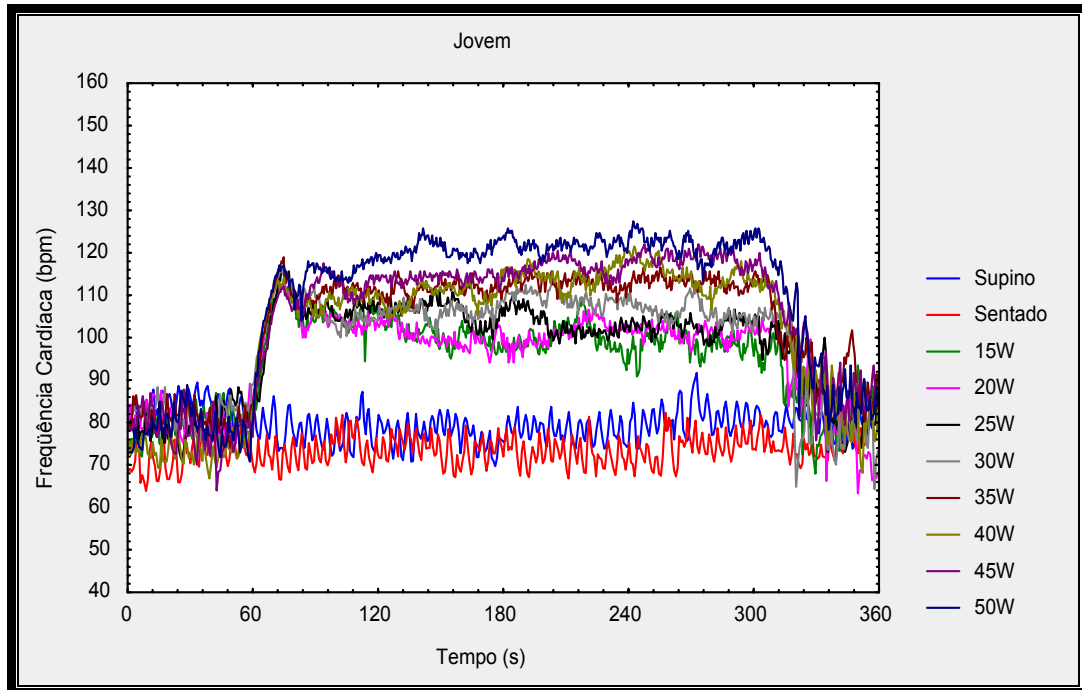


Figura 7 Resposta da frequência cardíaca (bpm), obtida batimento a batimento, em tempo real, durante 1 minuto em repouso pré-exercício, 4 minutos de exercício físico dinâmico e 1 minuto de recuperação pós-exercício, em cada potência estudada, de uma das voluntárias jovens estudadas.

Na fase inicial do exercício, foram calculadas a variação da FC (bpm) e a duração dessa variação (s), para cada nível de esforço. A variação da FC foi obtida a partir da diferença entre o maior valor de FC atingido nos primeiros segundos do exercício (FC_{pico}) e a FC média do minuto anterior de repouso pré-esforço, para cada potência do exercício. A duração da variação da FC corresponde à diferença entre o instante em que ocorreu a FC_{pico} (t_1) e o instante em que se iniciou o exercício (t_0).

Para análise da VFC durante o exercício físico dinâmico (1º ao 4º min) foi utilizado o índice temporal rMSSD dos intervalos R-R (ms), o qual corresponde à raiz quadrada da média da soma do quadrado da diferença entre os intervalos R-R adjacentes (TASK FORCE, 1996). Para essa análise foi selecionado o trecho de maior estabilidade da captação dos intervalos R-R, em cada nível de potência do exercício.

O LA foi determinado no nível de esforço em que a resposta da FC, em relação ao tempo, mostrou uma tendência de inclinação positiva de seus valores (incremento lento da FC). Para essa análise foi utilizado um modelo semiparamétrico (MILAN et al, 2000; RIBEIRO et al, 2001b; OLIVEIRA et al, 2002; SIROL et al, 2005; TAKAHASHI et al, 2005). O ajuste do modelo semiparamétrico foi aplicado ao trecho estável da série temporal de FC, no intervalo do 1º ao 4º minuto de cada nível de potência do exercício (Figura 8). Também foi calculado a FC média do intervalo correspondente.

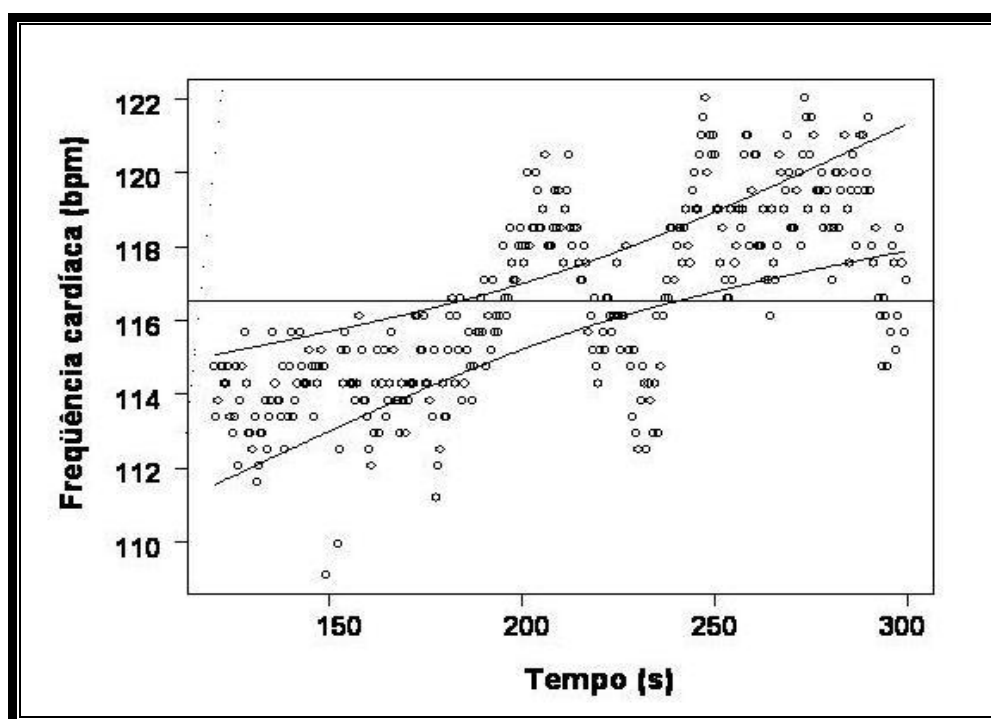


Figura 8 Ajuste do modelo semiparamétrico ao conjunto de dados de frequência cardíaca (FC, bpm) no período do 1º ao 4º minuto de exercício físico, cuja resposta foi classificada como crescente (incremento lento da FC), na potência de 40 W do teste de exercício físico dinâmico de carga constante, realizado por uma das voluntárias jovens estudadas.

4.3.2. Análise estatística

As características antropométricas e clínicas dos grupos estudados foram analisadas pelo teste ANOVA *one-way* e, quando apropriado, foi utilizado o *post-hoc* de Tukey HSD *for unequal N*. Para comparar o tempo de menopausa e os níveis séricos de FSH e estradiol entre os grupos na pós-menopausa foi utilizado o teste-*t* não pareado. As variáveis obtidas durante o protocolo experimental foram testadas quanto à normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov). Como os dados não

apresentaram uma distribuição normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos e o teste de Friedman para comparação intragrupo. Quando apropriado, foi utilizado o teste de comparação múltipla de Dunn. Foi considerado nível de significância de 5%. Os dados foram expressos em mediana e 95% do intervalo de confiança.

4.4. RESULTADOS

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à estatura e pressão arterial diastólica. As jovens apresentaram valores inferiores de massa corporal e pressão arterial sistólica em relação ao grupo na PMSTE ($P < 0,05$; Tabela 4). O grupo jovem apresentou valores inferiores do índice de massa corporal e valores superiores de $\dot{V}O_2$ pico comparativamente aos grupos na pós-menopausa ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na pós-menopausa quanto ao tempo médio de menopausa. O tempo médio de uso de terapia estrogênica foi de $5 \pm 4,9$ anos.

Tabela 4 Idade, características antropométricas e clínicas dos grupos estudados.

| Características | Jovens (N = 11) | PM com TE (N = 8) | PM sem TE (N = 12) |
|--------------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Idade (anos) | $24 \pm 2,8$ | $53 \pm 4,1^*$ | $56 \pm 2,8^*$ |
| Massa corporal (kg) | $58 \pm 6,5$ | $65 \pm 6,5$ | $68 \pm 8,1^*$ |
| Estatura (cm) | $163 \pm 6,6$ | $157 \pm 6,1$ | $160 \pm 4,8$ |
| IMC (kg/m^2) | $21,6 \pm 2,8$ | $26,2 \pm 2,8^*$ | $24,9 \pm 3,2^*$ |
| PAS (mmHg) | $101 \pm 8,3$ | $113 \pm 11,6$ | $115 \pm 16,6^*$ |
| PAD (mmHg) | $68 \pm 5,2$ | $76 \pm 7,4$ | $75 \pm 10,0$ |
| $\dot{V}O_2$ pico (mL/min) | $1273 \pm 157,2$ | $956 \pm 115,9^*$ | $905 \pm 145,7^*$ |
| $\dot{V}O_2$ pico (mL/kg/min) | $22,3 \pm 3,2$ | $14,7 \pm 1,1^*$ | $14,5 \pm 2,8^*$ |
| Tempo de menopausa (anos) | - | $6 \pm 5,1$ | $8 \pm 4,9$ |
| Tempo de TE (anos) | - | $5 \pm 4,9$ | - |

Dados expressos em média \pm DP. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; IMC = índice de massa corporal; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; $\dot{V}O_2$ = consumo de oxigênio; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem (teste de ANOVA e *post-hoc* de Tukey).

Verifica-se na Tabela 5, que não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos quanto à glicemia de jejum, colesterol total e frações, uréia,

creatinina e hormônio estimulante da tireóide. As jovens apresentaram valores significativamente inferiores de triglicérides em relação ao grupo PMCTE ($P < 0,05$). Os níveis séricos de FSH não diferiram entre os grupos na pós-menopausa, mas os níveis séricos de estradiol foram superiores para o grupo PMCTE ($P < 0,05$).

Tabela 5 Resultados dos exames bioquímicos dos grupos estudados.

| | Jovens (N = 11) | PM com TE (N = 8) | PM sem TE (N = 12) |
|-----------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Glicemia (mg/dL) | 80 ± 6,7 | 87 ± 10,9 | 87 ± 11,6 |
| Triglicérides (mg/dL) | 81 ± 29,9 | 177 ± 94,9* | 125 ± 56,7 |
| Colesterol total (mg/100mL) | 178 ± 29,8 | 231 ± 61,3 | 217 ± 49,9 |
| LDL colesterol (mg/100mL) | 104 ± 30,6 | 140 ± 45,4 | 141 ± 49,3 |
| HDL colesterol (mg/100mL) | 57 ± 10,3 | 55 ± 10,0 | 51 ± 14,9 |
| Uréia (mg/dL) | 32 ± 4,0 | 28 ± 6,8 | 27 ± 6,0 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,9 ± 0,1 | 0,8 ± 0,1 | 1,0 ± 0,2 |
| TSH (mIU/mL) | 1,9 ± 0,6 | 1,5 ± 1,4 | 2,5 ± 2,3 |
| FSH (mIU/mL) | - | 63 ± 32,8 | 82 ± 47,9 |
| Estradiol (pg/mL) | - | 58 ± 26,3 | 21 ± 3,3** |

Dados expressos em média ± DP. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade; TSH = hormônio estimulante da tireóide; FSH = hormônio folículo estimulante; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem; ** $P < 0,05$ em relação ao grupo PM com TE (teste de ANOVA e *post-hoc* de Tukey; teste-*t* não-pareado).

A variação da FC e o tempo dessa variação não diferiram entre as potências estudadas (Tabela 6). Entretanto, na análise intergrupo, a variação da FC foi maior para o grupo jovem em relação às mulheres na pós-menopausa em todas as potências estudadas, porém essas diferenças foram significativas ($P < 0,05$) apenas na potência de 20 W em relação ao grupo PMCTE, e nas potências de 20, 25, 35 e 40 W, em relação ao grupo PMSTE. Quanto ao tempo de variação da FC, foi observada diferença significativa somente na potência de 35 W entre o grupo jovem e o grupo PMCTE.

Tabela 6 Variação da frequência cardíaca (bpm) e tempo dessa variação (s) na fase inicial do exercício dinâmico nas diferentes potências estudadas.

| Potência (W) | Jovens (N = 11) | PM com TE (N = 8) | PM sem TE (N = 12) |
|--|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Variação da frequência cardíaca (bpm) | | | |
| 15 | 29 (23; 35) | 22 (16; 27) | 23 (21; 24) |
| 20 | 33 (27; 39) | 20 (17; 23)* | 20 (19; 21)* |
| 25 | 29 (21; 37) | 18 (14; 22) | 19 (15; 22)* |
| 30 | 27 (22; 32) | 21 (14; 27) | 19 (17; 21) |
| 35 | 28 (21; 35) | 23 (17; 29) | 17 (13; 21)* |
| 40 | 29 (21; 37) | 22 (13; 30) | 21(17; 24)* |
| Tempo de variação da frequência cardíaca (s) | | | |
| 15 | 13 (12; 14) | 10 (8; 11) | 12 (11; 14) |
| 20 | 13 (12; 14) | 8 (8; 9) | 13 (12; 14) |
| 25 | 13 (12; 14) | 9 (8; 11) | 13 (8; 17) |
| 30 | 13 (11; 15) | 10 (5; 14) | 11 (8; 14) |
| 35 | 14 (14; 14) | 10 (8; 12)* | 13 (10; 15) |
| 40 | 14 (13; 15) | 9 (6; 12) | 12 (9; 15) |

Dados expressos em mediana + 95% do intervalo de confiança. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; *P < 0,05 em relação ao grupo jovem (teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn).

Podemos observar na Figura 9 que ocorre uma diminuição dos valores medianos do índice rMSSD, à medida que se aumenta o nível de esforço físico, em todos os grupos estudados. Essa redução atingiu significância estatística (P < 0,05) a partir da potência de 40W para o grupo jovem e de 35W para os grupos na fase pós-menopausa, em comparação à potência de 15 W. Na análise intergrupo foi observado maiores valores do índice rMSSD para o grupo jovem (P < 0,05) em relação aos grupos PMCTE (25 a 40 W) e PMSTE (25 e 35 W).

Os valores medianos de potência e de FC no nível de esforço em que foi caracterizado o LA foram maiores para o grupo jovem comparativamente aos grupos na pós-menopausa (Figura 10; P < 0,05). Os valores medianos do índice rMSSD não diferiram entre os grupos estudados.

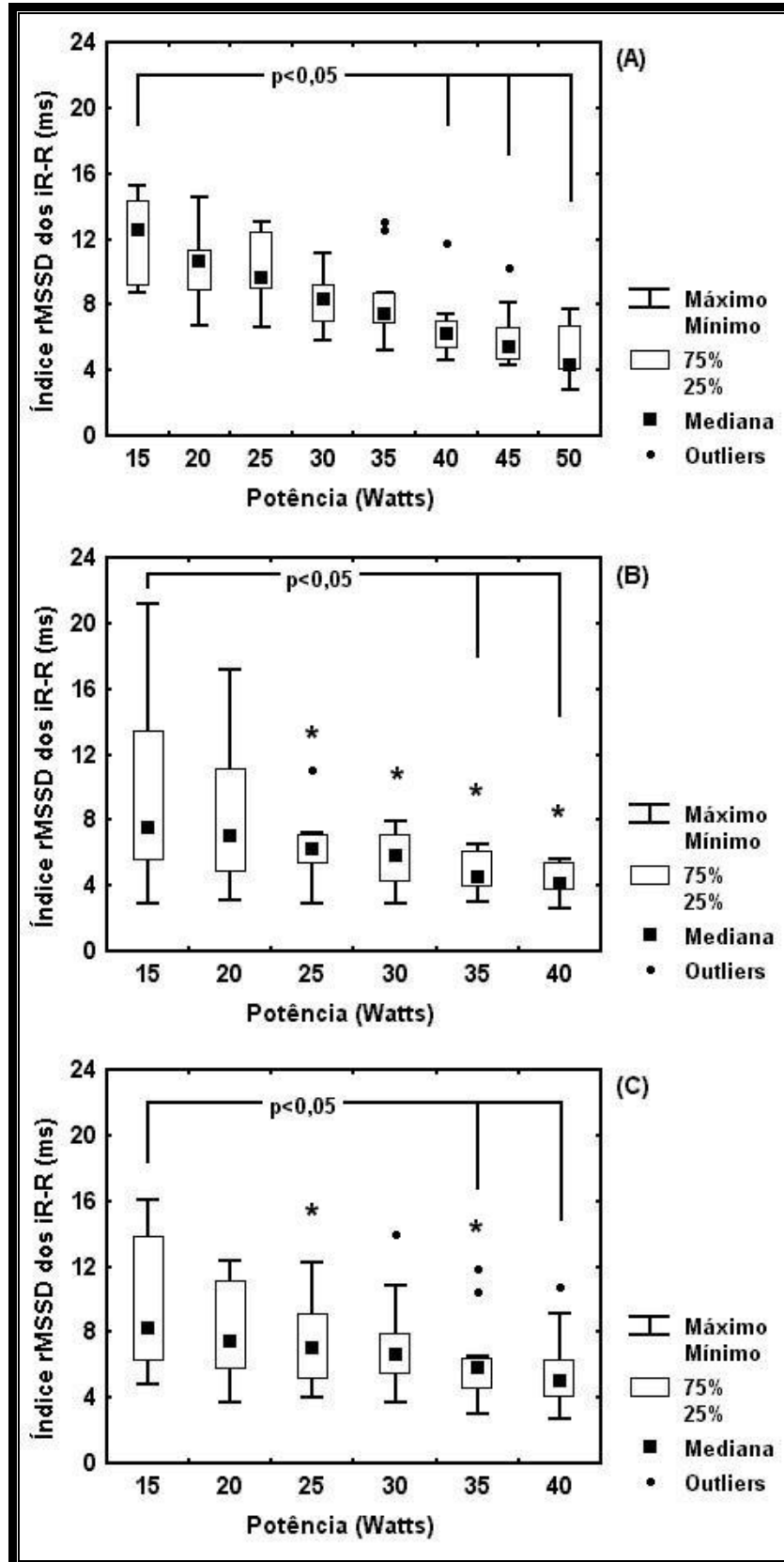


Figura 9 Valores do índice rMSSD dos intervalos R-R (iR-R), em ms, nas diferentes potências do teste de exercício dinâmico, das mulheres jovens (A) e na pós-menopausa com (B) e sem (C) terapia estrogênica. $P < 0,05$ em relação à potência de 15 W (teste de Friedman e *post-hoc* de Dunn); * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem (teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn).

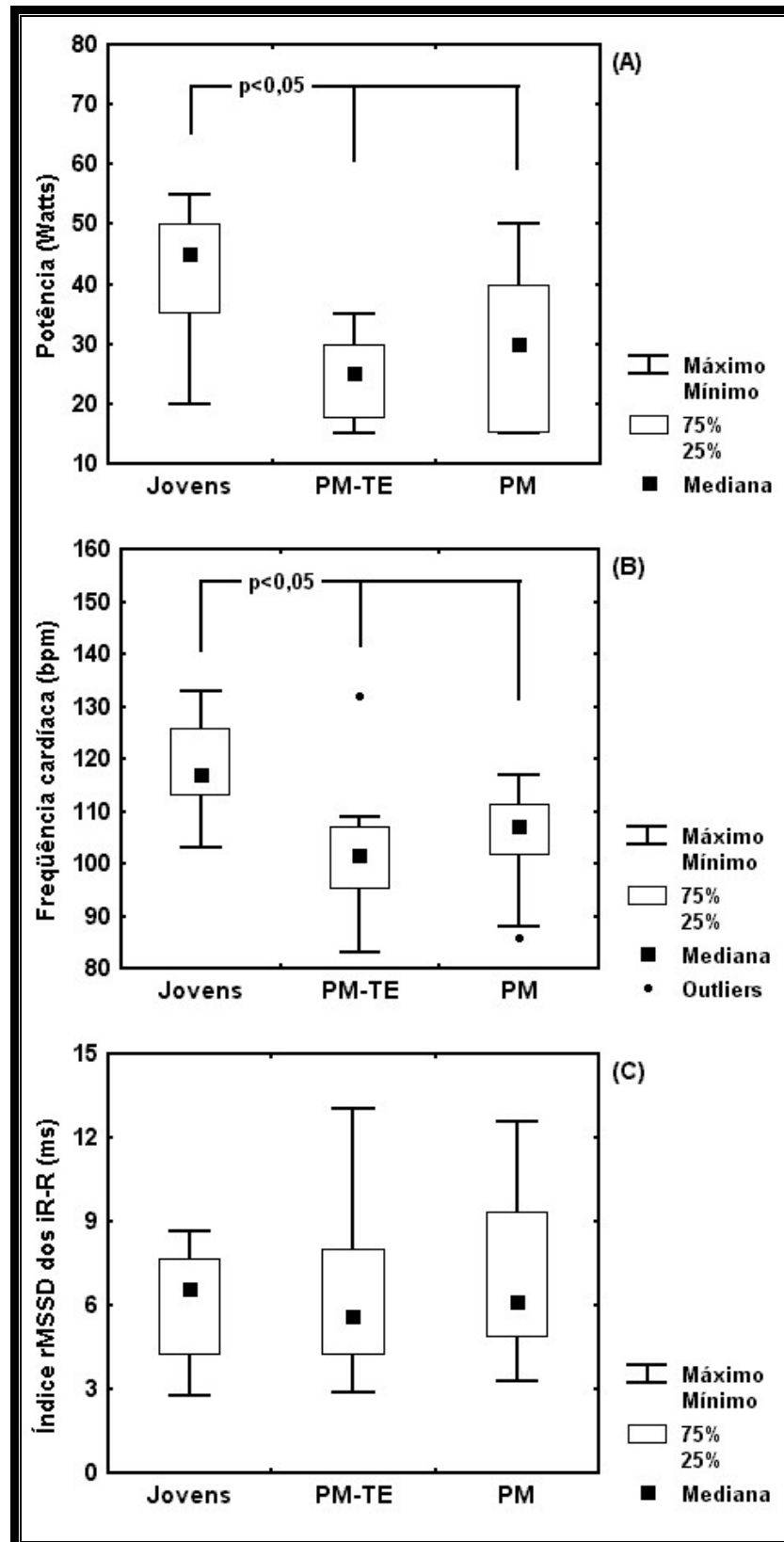


Figura 10 Valores de potência (A), de frequência cardíaca (B) e do índice rMSSD dos intervalos R-R (C), no nível de esforço em que foi caracterizado o limiar de anaerobiose durante o teste de exercício físico dinâmico, das mulheres jovens e na pós-menopausa com (PM-TE) e sem terapia estrogênica (PM). $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem (teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn).

4.5. DISCUSSÃO

As respostas cardiovasculares ao exercício físico dinâmico podem ser influenciadas por múltiplos fatores, alguns relacionados aos fatores constitucionais e outros inerentes à própria natureza do exercício (GALLO et al, 1995). O presente estudo mostrou que a idade teve um papel importante no controle autonômico da FC na fase inicial e no intervalo do 1º ao 4º minuto do exercício, bem como sobre a capacidade aeróbia das mulheres saudáveis. As alterações hormonais que ocorrem após a menopausa e a terapia estrogênica não influenciaram nossos resultados, desde que nenhuma diferença foi observada entre os grupos na pós-menopausa em quaisquer variáveis mensuradas, exceto os níveis séricos de estradiol.

Um aumento da atividade vagal no controle autonômico da FC decorrente da terapia estrogênica foi reportado por alguns autores (LIU et al, 2003; GOKÇE et al, 2005; NEVES et al, 2007). Baseando-se nesses resultados, acreditávamos que o aumento rápido da FC na fase inicial do exercício, mediado pela retirada vagal sobre o nódulo sinusal (BOKHARI et al, 2003; SONE et al, 2004), poderia ser de maior magnitude nas mulheres pós-menopausadas em uso de terapia estrogênica em comparação às não usuárias de hormônios. Essas mulheres foram pareadas pela idade, características físicas e condições clínicas. O mesmo efeito era esperado para os valores do índice rMSSD, calculados no intervalo do 1º ao 4º minuto do exercício, o qual apresenta uma forte associação com o tônus vagal (TASK FORCE, 1996).

No entanto, nossos achados não suportaram essas suposições, uma vez que a influência dos níveis hormonais de estrogênio sobre os resultados durante exercício (retirada vagal e índice rMSSD) foram mínimos. Isto é consistente com os achados de Myslivecek et al (2002) que não encontraram diferenças significativas no controle autonômico da FC durante o exercício físico dinâmico submáximo entre as mulheres pré e pós-menopausadas. Dessa forma, parece que o efeito cardioprotetor dos hormônios estrogênicos sobre a modulação autonômica cardíaca em repouso não se mantém durante o exercício físico, condição fisiológica que envolve mecanismos reguladores mais complexos.

A idade, por sua vez, teve um papel importante no controle autonômico da FC durante o exercício, com as jovens apresentando maior magnitude de variação da FC na fase inicial do exercício em relação às mulheres pós-menopausadas.

Considerando que o processo de envelhecimento é associado com uma redução da modulação vagal sobre o coração (BONNEMEIER et al, 2003; MELO et al, 2005), isso pode ter limitado a capacidade de retirada vagal observada nas mulheres pós-menopausadas, atenuando a taquicardia rápida em resposta ao exercício físico (SEALS et al, 1994). O efeito do envelhecimento sobre a atividade vagal na modulação autonômica da FC também pode explicar os valores reduzidos do índice rMSSD nas mulheres pós-menopausadas durante o exercício.

A comparação intragrupo mostrou que o aumento rápido da FC foi independente do nível de esforço aplicado, como observado previamente (MACIEL et al, 1986; CHACON-MIKAHIL et al, 1998). Entretanto, nesses estudos, a retirada vagal foi avaliada a partir de valores médios de FC calculados de 10 em 10 s, em intervalos de tempo pré-estabelecidos (0-10 e 0-30 s). Na presente investigação, a retirada vagal foi avaliada a partir dos dados de FC captados batimento a batimento, considerando o maior valor atingido em função do tempo. A metodologia empregada permitiu observar que o tempo de retirada vagal se estabelece de forma individual, com períodos distintos. Por outro lado, a análise do índice rMSSD, no intervalo do 1º ao 4º minuto do exercício dinâmico de carga constante, mostrou que a contribuição vagal à resposta da FC diminui progressivamente com o incremento de potência, em concordância com estudos prévios (WARREN et al, 1997; GONZÁLEZ-CAMARENA et al, 2000; HAUTALA et al, 2003).

Também foi observado que essa diminuição da VFC com o aumento da intensidade do exercício atingiu significância estatística em potências próximas ao nível em que foi caracterizado o LA pelo modelo semiparamétrico. Esse modelo identifica o nível de potência no qual ocorre a perda da estabilidade da resposta da FC (incremento lento da FC), o que tem sido atribuído ao predomínio da ativação simpática no nódulo sinusal (TULPPO et al, 1998). Outros pesquisadores também observaram uma associação entre o LA e as modificações no balanço autonômico da FC (YAMAMOTO et al, 1992; ALONSO et al, 1998; HAUTALA et al, 2003; COTTIN et al, 2004; SILVA et al, 2005). Dessa forma, a prática de exercícios físicos em intensidades próximas ao LA parece proporcionar menor vulnerabilidade cardíaca, uma vez que, nessas intensidades, a ação protetora vagal ainda predomina.

Os presentes dados confirmam os resultados obtidos em estudos prévios (FITZGERALD et al, 1997; RIBEIRO et al, 2001b; SCHILLER et al, 2001; MARÃES

et al, 2005) mostrando um declínio na tolerância ao exercício relacionado à idade, desde que as jovens atingiram o LA em níveis de potências superiores comparativamente aos grupos na pós-menopausa. Quanto à FC, os menores valores atingidos no LA pelas mulheres na pós-menopausa, podem ser explicados pelo fato de que com o avanço da idade, há uma diminuição na responsividade dos receptores β -adrenérgicos (SEALS et al, 1994; LAKATA e LEVY, 2003b). Entretanto, o índice rMSSD foi similar entre os grupos, sugerindo que para uma mesma faixa do metabolismo aeróbio, em condições de exercício, esse índice temporal independe da idade e do status menopausal.

Nossos resultados mostraram ainda que nem a menopausa e nem a terapia estrogênica interferiram no desempenho físico das mulheres pós-menopausadas. Outros autores também não observaram uma melhora na tolerância ao exercício, apesar da terapia hormonal ter provocado um aumento no fluxo sanguíneo periférico (GREEN et al, 2002; KIRWAN et al, 2004). Recentemente, no entanto, foi verificado que o hipoestrogenismo pode contribuir para a diminuição da capacidade física em mulheres pós-menopausadas saudáveis (MERCURO et al, 2006), e que a terapia hormonal pode atenuar esse processo (REDBERG et al, 2000; ÖZDEMIR et al, 2004).

A limitação do estudo está relacionada ao próprio design transversal, desde que as características das respostas cardiovasculares durante o exercício das mulheres pós-menopausa antes do uso da terapia estrogênica não são conhecidas. No entanto, critérios rigorosos de inclusão e exclusão foram estabelecidos no estudo a fim de controlar os fatores que poderiam influenciar as variáveis estudadas.

Nossos resultados sugerem que o controle autonômico da FC durante o exercício físico dinâmico (retirada vagal e índice rMSSD) e a capacidade aeróbia são fortemente influenciados pela idade. Ambos, hipoestrogenismo e terapia estrogênica, não exerceram qualquer influência sobre as variáveis estudadas. O presente estudo mostrou ainda que a retirada vagal no início do exercício não foi influenciada pela intensidade de esforço enquanto que o índice rMSSD diminuiu progressivamente com o incremento de potência. Novos estudos estão sendo desenvolvidos em nosso laboratório para avaliar o efeito do treinamento físico sobre a resposta cardiovascular em repouso e durante exercício dinâmico em mulheres pós-menopausadas com e sem terapia hormonal.

5. DESENVOLVIMENTO A PARTIR DO ESTUDO II

5. DESENVOLVIMENTO A PARTIR DO ESTUDO II

Contrariando nossas expectativas, verificou-se no estudo II que a terapia estrogênica não teve influência sobre o controle autonômico da FC em condições de exercício, uma vez que os grupos na pós-menopausa apresentaram valores similares de variação da FC na fase inicial do exercício (retirada vagal) e dos valores do índice rMSSD, calculados no intervalo do 1º ao 4º minuto do exercício. A idade, por sua vez, teve uma forte influência sobre os nossos resultados.

Uma possível explicação para os resultados contraditórios entre os estudos I e II, é que o nível de condicionamento físico das mulheres pós-menopausadas pode ter sido mais determinante na resposta rápida da FC na fase inicial do exercício e em sua variabilidade (índice rMSSD), do que o efeito da terapia estrogênica sobre a atividade neurocardíaca durante o exercício. De fato, tem sido documentado na literatura que o treinamento físico aeróbio promove modificações no controle autonômico da FC durante o exercício, caracterizadas por uma maior contribuição vagal na taquicardia rápida no início do exercício e uma menor participação simpática no incremento lento da FC durante o exercício, para um mesmo nível de esforço (GALLO et al, 1989; CHACON-MIKAHIL et al, 1998; FORTI, 1999).

No estudo II também foi observado que a capacidade aeróbia das mulheres pós-menopausadas não foi influenciada pela terapia estrogênica. Nesse estudo a capacidade física das mulheres foi avaliada por meio da determinação do LA a partir da análise da resposta da FC, utilizando para isso um modelo semiparamétrico. No entanto, existem estudos na literatura mostrando que os níveis hormonais de estrogênio podem influenciar a tolerância ao exercício de mulheres pós-menopausadas (REDBERG et al, 2000; MERCURO et al, 2006). Nesses estudos a capacidade física das mulheres foi avaliada por meio de teste de exercício cardiopulmonar. A partir dessas observações e baseando-se na hipótese de que a ação vasodilatadora dos hormônios estrogênicos (SANADA et al, 2001; MOREAU et al, 2003) poderia aumentar a capacidade oxidativa dos músculos em atividade e, conseqüentemente, a tolerância ao exercício das mulheres pós-menopausadas, foi proposto no estudo III avaliar o efeito da idade e da terapia estrogênica sobre a capacidade aeróbia por meio da análise das respostas cardiorrespiratórias durante teste ergoespirométrico incremental.

6. ESTUDO III

6. ESTUDO III

“Efeito da idade e da terapia estrogênica sobre a capacidade aeróbia de mulheres saudáveis”

6.1. RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar se a terapia estrogênica (TE) poderia atenuar o declínio relacionado à idade na tolerância ao exercício em mulheres pós-menopausadas. Foram estudadas 13 mulheres jovens ($24 \pm 2,6$ anos), 10 na fase pós-menopausa ($53 \pm 4,5$ anos) em uso de TE (PMCTE) e 15 na fase pós-menopausa ($56 \pm 2,8$ anos) sem uso de TE (PMSTE). A TE consistiu de 0,625 mg/dia de estrogênios eqüinos conjugados. Essas mulheres foram submetidas a um teste de exercício cardiopulmonar, em cicloergômetro, com incrementos de potência de 10 a 20 W/min até a exaustão física. As variáveis ventilatórias e metabólicas foram obtidas respiração a respiração e a frequência cardíaca (FC), batimento a batimento, em tempo real. O grupo jovem apresentou maiores valores medianos de potência ($P < 0,05$) no limiar de anaerobiose (LA) e no pico do exercício (51 e 126 W, respectivamente) em relação aos grupos PMCTE (35 e 74 W) e PMSTE (32 e 79 W). Os valores de consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) também foram maiores no grupo jovem (LA: 11,76 e pico: 23,24 mL/kg/min; $P < 0,05$) em comparação aos dos grupos PMCTE (9,05 e 14,63 mL/kg/min) e PMSTE (8,87 e 14,91 mL/kg/min). A FC foi similar entre os grupos no LA e, significativamente maior no grupo jovem no pico do exercício. Os valores percentuais do LA em relação ao pico do exercício para os dados de $\dot{V}O_2$ e de FC foram menores ($P < 0,05$) para o grupo jovem (52 e 64%, respectivamente) em relação aos grupos PMCTE (66 e 71 %) e PMSTE (63 e 72 %). Nossos resultados sugerem que a terapia estrogênica não foi capaz de atenuar o declínio relacionado à idade na capacidade física aeróbia das mulheres pós-menopausadas estudadas.

Palavras-chave: envelhecimento, menopausa, terapia estrogênica, capacidade aeróbia.

6.2. INTRODUÇÃO

O teste de exercício cardiopulmonar constitui-se de uma avaliação não-invasiva que fornece importantes informações sobre a integridade dos sistemas envolvidos nas trocas gasosas durante o exercício. Dois parâmetros são comumente usados para isso: o consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_2\text{máx}$) e o LA (BEAVER et al, 1986; WASSERMAN et al, 1999).

A capacidade física aeróbia diminuiu com o envelhecimento (FITZGERALD et al, 1997; SCHILLER et al, 2001; WEISS et al, 2006). Nas mulheres, as alterações hormonais que ocorrem após a menopausa pode ser um fator que contribui para essas alterações (MERCURO et al, 2006), devido aos efeitos da deficiência estrogênica sobre o fluxo sangüíneo e a reserva vasodilatadora (MERCURO et al, 1999). No entanto, outros estudos não encontraram modificações na aptidão cardiorrespiratória devido ao status menopausal (WELLS et al, 1992; GREEN et al, 2002).

O papel da terapia hormonal sobre a hemodinâmica cardiovascular tem sido discutido na literatura. Estudos prévios têm mostrado efeitos favoráveis da terapia hormonal sobre a função do miocárdio (GALLINELLI et al, 1999; FENKCI et al, 2003), vasodilatação endotélio-dependente (SANADA et al, 2001; MARES et al, 2002), fluxo sangüíneo periférico (LAU et al, 1998; MOREAU et al, 2003), distensibilidade arteriolar e sensibilidade dos baroreceptores (DE MEERSMAN et al, 1998). Dessa forma, pode-se esperar que a terapia estrogênica melhore a tolerância ao exercício de mulheres pós-menopausadas por meio de um aumento na entrega ou no consumo de oxigênio.

Diante dessas considerações, o objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que o uso de terapia estrogênica poderia atenuar o declínio relacionado à idade na tolerância ao exercício em mulheres pós-menopausadas, desde que uma baixa aptidão cardiorrespiratória foi associada a um maior risco para doenças cardiovasculares (KOKKINOS et al, 1995; HADDOCK et al, 1998).

6.3. MATERIAIS E MÉTODOS

Fizeram parte deste estudo transversal 38 mulheres jovens e na fase pós-menopausa, saudáveis, que atendiam aos critérios de inclusão. As mulheres jovens

selecionadas apresentavam ciclos menstruais regulares e não faziam uso de contraceptivos. Os procedimentos experimentais foram sempre realizados durante a fase folicular do ciclo menstrual, onde as variações hormonais não incluem as influências da ação progesterônica. Para caracterização da menopausa foi considerado idade acima de 48 anos, ausência de ciclo menstrual por pelo menos 12 meses consecutivos para as mulheres com útero preservado, e concentração sérica de FSH acima de 30 mIU/ml. Nenhuma das mulheres praticava atividades físicas regulares. Foram excluídas do estudo as mulheres que apresentassem evidências de doença cardíaca ou respiratória, hipertensão arterial (pressão arterial $\geq 140/90$ mmHg), diabetes mellitus, doenças tromboembólicas, disfunção da tireóide, acidente vascular cerebral, depressão, obesidade (índice de massa corporal ≥ 30 Kg/m²), e histórico de tabagismo ou alcoolismo. Nenhuma das voluntárias fazia uso de sedativos, anti-hipertensivos, antiarrítmicos, ou outros medicamentos capazes de influenciar as respostas cardiorrespiratórias.

Foram estudadas 13 mulheres jovens, 15 mulheres na fase pós-menopausa que não faziam uso de terapia hormonal (PMSTE) e 10 em uso de terapia estrogênica (PMCTE) há pelo menos 1 ano. Nesse último grupo, todas as mulheres eram hysterectomizadas e faziam uso de 0,625 mg/dia de estrogênios eqüinos conjugados, de forma contínua. Esse tratamento hormonal foi prescrito para as mulheres que apresentavam sintomas vasomotores, osteopenia ou osteoporose. A idade, as características antropométricas e clínicas dos grupos estudados estão apresentadas na Tabela 7.

A pressão arterial foi avaliada para confirmar se ela se encontrava dentro dos limites de normalidade. Para isso foram realizadas duas medidas, em dois dias não consecutivos, com as voluntárias mantidas em repouso por um período de pelo menos 5 minutos, na posição sentada, com os pés apoiados no chão e o braço suportado ao nível do coração (CHOBANIAN et al, 2003). Todas as aferições foram feitas pelo método auscultatório na região da artéria braquial, utilizando um esfigmomanômetro de coluna de mercúrio (WanMed, São Paulo, SP, Brasil) e um estetoscópio (Littmann, St. Paul, MN, USA). Os valores médios de pressão arterial estão apresentados na Tabela 7.

Todas as voluntárias incluídas neste estudo apresentaram resultados do hemograma, exame de urina rotina e eletrocardiograma em repouso, dentro dos limites de normalidade. O teste de exercício máximo em esteira foi negativo para

isquemia miocárdica e arritmias em todas as voluntárias. Os resultados dos exames bioquímicos (glicemia de jejum, colesterol total e frações, triglicérides, uréia, creatinina, hormônio estimulante da tireóide e níveis séricos de estradiol) estão apresentados na Tabela 8.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (ANEXO A). O objetivo do estudo foi explicado para cada voluntária antes de se obter o consentimento formal de participação do estudo (APÊNDICE A).

6.3.1. Procedimento experimental

Os experimentos foram sempre realizados no período da manhã de modo a evitar interferências do ciclo circadiano na coleta dos dados. Os experimentos foram realizados em laboratório climatizado com temperatura em torno de 22°C e umidade relativa do ar entre 40 e 60%. As voluntárias foram familiarizadas com o protocolo experimental e instruídas para que não ingerissem bebidas alcoólicas e/ou estimulantes e que não realizassem atividades físicas extenuantes 24 horas antes do exame e que fizessem uma refeição leve pelo menos 2 horas antes do experimento.

No dia do experimento, primeiramente era verificada a condição de saúde das voluntárias e se as mesmas tinham tido uma boa noite de sono. Em seguida, era feito um repouso inicial de 15 minutos na posição supina e após isso era aferida a pressão arterial e a FC para verificar se as condições basais eram adequadas para o experimento.

6.3.2. Protocolo experimental

O experimento consistiu de um teste de exercício cardiopulmonar integrado, realizado em cicloergômetro de frenagem eletromagnética (modelo Corival 400, Quinton, Seattle, WA, USA). O protocolo consistiu de um período de aquecimento na potência de 4 W por 4 minutos, seguido de incrementos de potência de 10 a 20 W/min até a exaustão física. O incremento de potência foi calculado para cada voluntária, de acordo com a fórmula proposta por Wasserman et al (1999). A velocidade de pedalada foi mantida em 60 rpm e foi monitorada durante todo o teste. Para evitar uma síncope após atingir o pico do esforço, as voluntárias foram

orientadas a continuar o exercício, numa potência e velocidade mais baixa, por aproximadamente 3 minutos. A montagem do protocolo experimental do estudo III está representada na Figura 11.

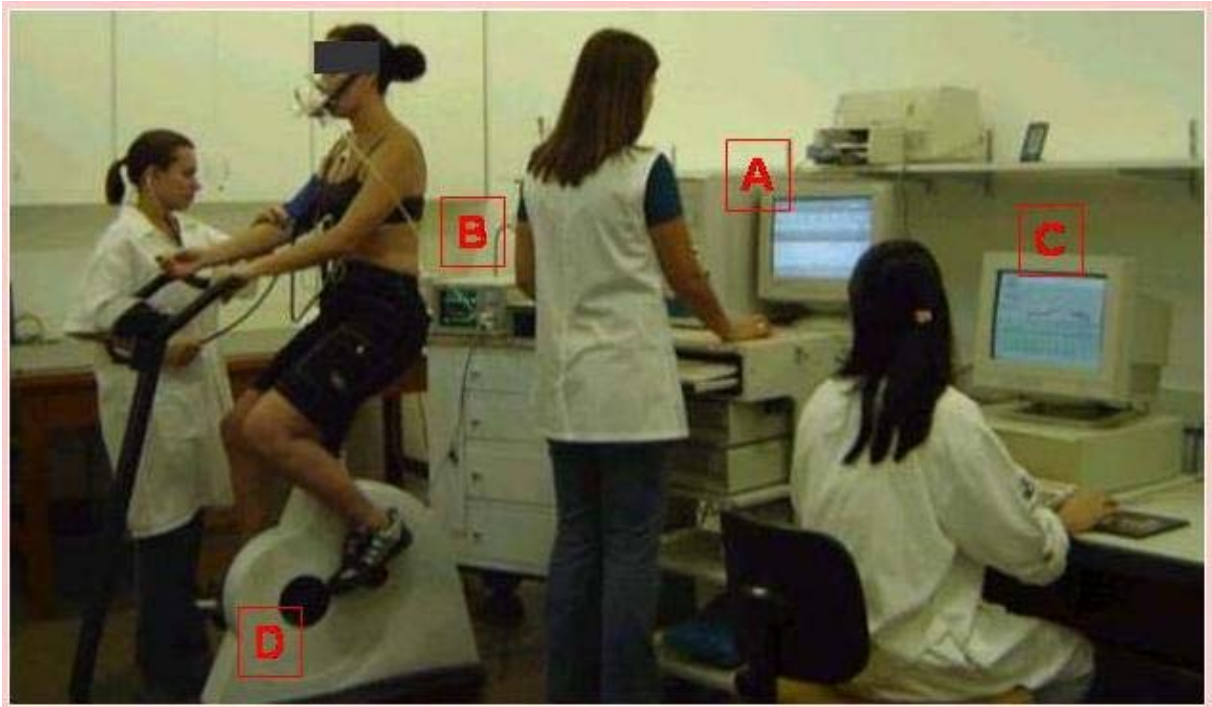


Figura 11 Ilustração da montagem experimental do teste de exercício cardiopulmonar integrado. A: sistema ergoespirométrico (CPX-D, Medical Graphics); B: monitor cardíaco; C: computador com o *software* de aquisição dos dados de frequência cardíaca; D: cicloergômetro de frenagem eletromagnética.

Durante o teste, o eletrocardiograma e a FC foram obtidos de um monitor cardíaco de um canal (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brasil) e processados por meio de um conversor analógico-digital Lab. PC+ (National Instruments Co., Austin, TX, USA), o qual representa uma interface entre o monitor cardíaco e um microcomputador Pentium III. O sinal foi registrado em tempo real, após conversão A/D, numa taxa de amostragem de 500 Hz, e os intervalos R-R foram calculados, batimento a batimento, usando um *software* específico (SILVA et al, 1994).

As variáveis ventilatórias e metabólicas foram captadas respiração a respiração por meio de um sistema metabólico automático (CPX-D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA), ilustrado na Figura 12. O sistema foi calibrado antes de cada teste, usando uma concentração de gás padrão. As variáveis ventilatórias e metabólicas foram posteriormente processadas e calculadas em médias móveis a

cada oito ciclos respiratórios para melhor observação da cinética de suas respostas durante o exercício (Figura 13).

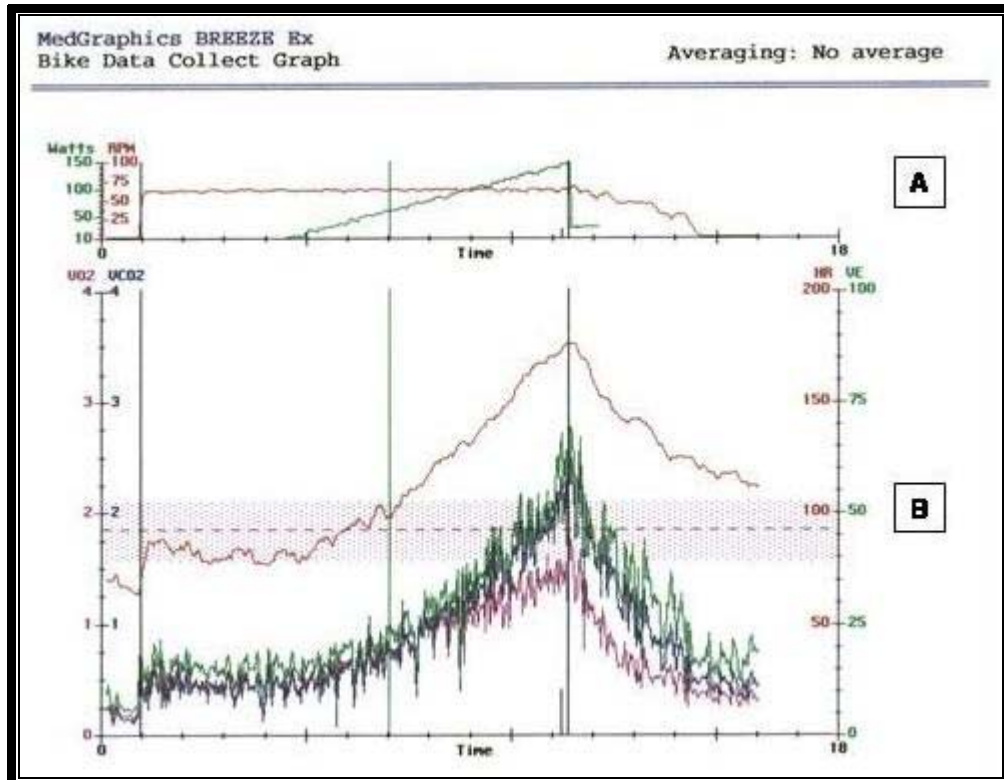


Figura 12 Ilustração da tela de aquisição do sistema ergoespirométrico durante o teste de exercício cardiopulmonar integrado, mostrando em A, velocidade de rotação (rpm) em vermelho e incremento de potência (Watts) em verde, e em B, frequência cardíaca (HR) em vermelho, consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) em rosa, produção de dióxido de carbono ($\dot{V}CO_2$) em azul e ventilação minuto ($\dot{V}E$) em verde, obtidos respiração a respiração.

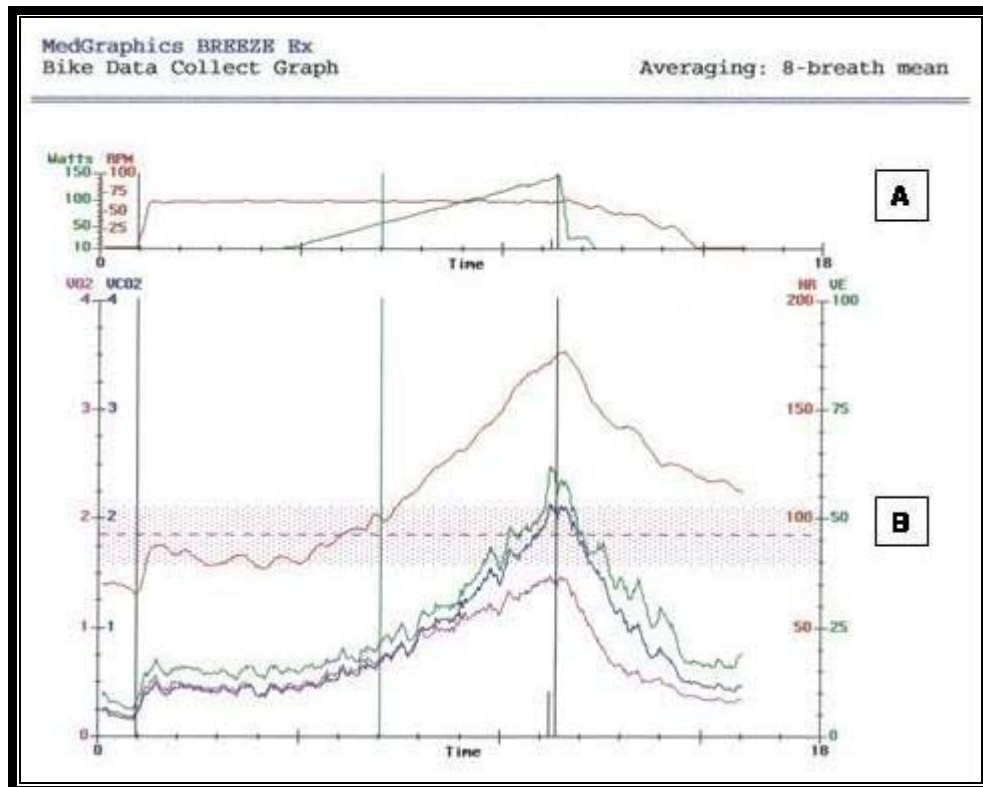


Figura 13 Ilustração da tela de aquisição do sistema ergoespirométrico durante o teste de exercício cardiopulmonar integrado, mostrando em A, velocidade de rotação (rpm) em vermelho e incremento de potência (Watts) em verde, e em B, frequência cardíaca (HR) em vermelho, consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) em rosa, produção de dióxido de carbono ($\dot{V}CO_2$) em azul e ventilação minuto ($\dot{V}E$) em verde, em médias móveis de 8 ciclos respiratórios.

Para determinação do LA foi utilizado como critério o momento em que se observasse um aumento não-linear da curva de produção de dióxido de carbono ($\dot{V}CO_2$) em relação à curva de $\dot{V}O_2$. Isso foi determinado pela análise visual das respostas do $\dot{V}O_2$ e da $\dot{V}CO_2$ (Figura 14), por três diferentes observadores independentes, devidamente treinados. Essa análise visual foi baseada no método do *V-Slope* (BEAVER et al, 1986). O valor do LA foi considerado como a média dos três valores obtidos para cada uma das voluntárias estudadas.

Para essa análise, foi selecionado o intervalo da rampa no qual se observou o início da resposta das variáveis ventilatórias e metabólicas ao incremento de potência até o ponto de compensação respiratória (segundo LA) ou até o final do exercício, caso não fosse identificado esse ponto (Figura 14).

A partir disso, eram verificados os valores de potência e FC correspondentes ao LA e ao pico do exercício. Para as variáveis ventilatórias e metabólicas, foi aplicado um modelo de ajuste linear (PITHON et al, 2006), com o intuito de minimizar os efeitos das flutuações respiração a respiração e evitar uma

subestimação ou superestimação dos seus valores (KELLY et al, 2001). Esse modelo foi aplicado a um conjunto de dados contendo 21 valores. No LA, foram considerados os 10 valores anteriores e os 10 valores posteriores em relação ao ponto em que foi identificado o LA. Para os dados no pico do exercício, foram considerados os 21 últimos valores, ou seja, foi levado em consideração o valor pico mais os 20 valores que o antecederam (PITHON et al, 2006). Além disso, também foram calculados os valores percentuais do LA em relação ao pico do exercício (razão LA/pico) para os dados de $\dot{V}O_2$ e de FC.

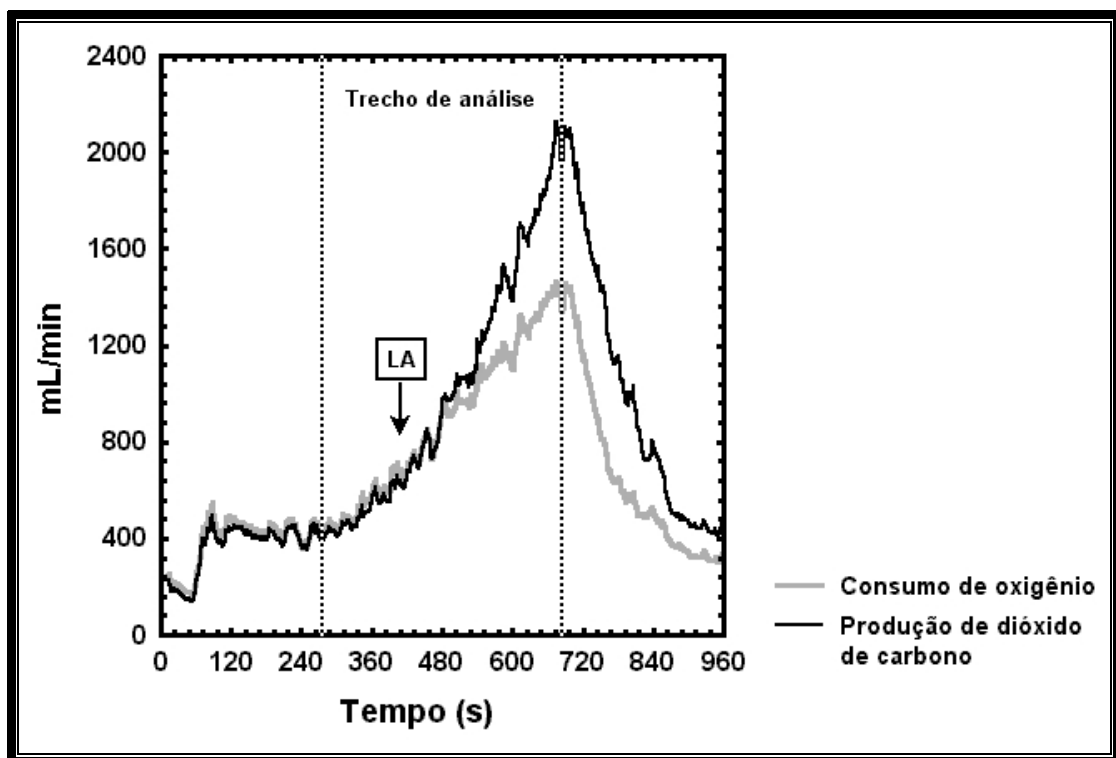


Figura 14 Resposta do consumo de oxigênio (mL/min) e da produção de dióxido de carbono (mL/min) durante teste de exercício físico dinâmico de uma das voluntárias jovens estudadas. As linhas verticais correspondem ao início da resposta das variáveis ventilatórias e metabólicas ao incremento de potência até o pico do exercício (trecho de análise). A seta indica o momento (s) no qual foi observado um aumento não-linear da curva de produção de dióxido de carbono em relação à curva de consumo de oxigênio na determinação do limiar de anaerobiose (LA).

6.3.3. Análise estatística

As características antropométricas e clínicas dos grupos estudados foram analisadas pelo teste ANOVA *one-way* e, quando apropriado, foi utilizado o *post-hoc* de Tukey HSD *for unequal N*. Para comparar o tempo de menopause, e as

concentrações séricas de FSH e estradiol entre os grupos na pós-menopausa foi utilizado o teste-*t* não pareado. As variáveis cardiorrespiratórias obtidas durante o protocolo experimental foram testados quanto à normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov). Como os dados não apresentaram uma distribuição normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos e, quando apropriado, o teste de comparação múltipla de Dunn. Para associação entre as variáveis foi utilizado o teste de correlação de Spearman. Foi considerado nível de significância de 5%. Os dados foram expressos em mediana e 95% do intervalo de confiança.

6.4. RESULTADOS

O grupo jovem apresentou valores inferiores de massa corporal e superiores de altura em relação ao grupo PMSTE. Foram observados menores valores de índice de massa corporal e de pressão arterial para o grupo jovem em relação aos grupos na pós-menopausa ($P < 0,05$; Tabela 7). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na pós-menopausa quanto ao tempo médio de menopausa. O tempo médio de uso de terapia estrogênica foi de $5 \pm 4,3$ anos.

Tabela 7 Idade, características antropométricas e clínicas dos grupos estudados.

| Características | Jovens (N = 13) | PM com TE (N = 10) | PM sem TE (N = 15) |
|---------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| Idade (anos) | 24 ± 2,6 | 53 ± 4,5* | 56 ± 2,8* |
| Massa corporal (kg) | 57 ± 6,0 | 66 ± 9,8 | 67 ± 7,2* |
| Estatura (cm) | 163 ± 6,0 | 158 ± 5,6 | 157 ± 5,6* |
| IMC (kg/m ²) | 21,6 ± 2,5 | 26,4 ± 3,6* | 25,3 ± 3,4* |
| PAS (mmHg) | 99 ± 8,6 | 115 ± 11,8* | 121 ± 16,2* |
| PAD (mmHg) | 67 ± 5,5 | 77 ± 6,7* | 78 ± 9,0* |
| Tempo de menopausa (anos) | -- | 6 ± 4,6 | 7 ± 4,8 |
| Tempo de TE (anos) | -- | 5 ± 4,3 | -- |

Dados expressos em média ± DP. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; IMC = índice de massa corporal; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem (teste de ANOVA e *post-hoc* de Tukey).

Verifica-se na Tabela 8, que não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos quanto à glicemia de jejum, HDL colesterol, uréia, creatinina e

hormônio estimulante da tireóide. As jovens apresentaram valores significativamente inferiores de triglicérides e de colesterol total em comparação ao grupo PMCTE e valores inferiores de LDL colesterol em relação ao grupo PMSTE ($P < 0,05$). Os níveis séricos de FSH não diferiram entre os grupos na pós-menopausa, mas os níveis séricos de estradiol foram superiores para o grupo PMCTE ($P < 0,05$).

Tabela 8 Resultados dos exames bioquímicos dos grupos estudados.

| | Jovens (N = 13) | PM com TE (N = 10) | PM sem TE (N = 15) |
|------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| Glicemia (mg/dL) | 80 ± 6,2 | 87 ± 9,7 | 88 ± 11,3 |
| Triglicérides (mg/dL) | 78 ± 28,9 | 162 ± 90,2* | 132 ± 67,6 |
| Colesterol total (mg/100 mL) | 174 ± 28,5 | 227 ± 55,7* | 212 ± 38,2 |
| LDL colesterol (mg/100 mL) | 102 ± 28,4 | 137 ± 41,6 | 137 ± 35,1* |
| HDL colesterol (mg/100 mL) | 56 ± 9,7 | 58 ± 10,5 | 48 ± 13,5 |
| Uréia (mg/dL) | 32,7 ± 3,8 | 28 ± 6,0 | 29,6 ± 6,7 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,9 ± 0,1 | 0,9 ± 0,1 | 0,9 ± 0,2 |
| TSH (mIU/mL) | 2,0 ± 0,8 | 1,8 ± 1,6 | 2,6 ± 1,9 |
| FSH (mIU/mL) | - | 66 ± 34,5 | 78 ± 47,8 |
| Estradiol (pg/mL) | - | 59 ± 23,6 | 23 ± 5,7** |

Dados expressos em média ± DP. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade; TSH = hormônio estimulante da tireóide; FSH = hormônio folículo estimulante; * $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem; ** $P < 0,05$ em relação ao grupo PM com TE (teste de ANOVA e *post-hoc* de Tukey; teste-*t* não-pareado).

No nível do LA, as jovens apresentaram valores superiores de potência em relação aos grupos na pós-menopausa ($P < 0,05$; Tabela 9). As jovens também apresentaram maiores valores de $\dot{V}O_2$ e $\dot{V}CO_2$ em relação aos grupos na pós-menopausa, mas com diferença estatisticamente significativa apenas em relação ao grupo PMSTE ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto à FC, razão de troca respiratória (RER), ventilação minuto ($\dot{V}E$), frequência respiratória (FR) e volume corrente (V_T).

No pico do exercício, o grupo jovem apresentou maiores valores de potência, FC, $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, e $\dot{V}E$ em relação aos grupos na pós-menopausa ($P < 0,05$; Tabela 9). Os valores de V_T foram significativamente superiores em relação ao grupo PMSTE. Os valores de RER e FR foram similares entre os grupos.

Tabela 9 Variáveis cardiorrespiratórias no limiar de anaerbiose e no pico do exercício.

| | Jovens (N = 13) | PM com TE (N = 10) | PM sem TE (N = 15) |
|------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| Limiar de anaerbiose | | | |
| Potência (W) | 51 (48; 54) | 35 (29; 40)* | 32 (28; 36)* |
| FC (bpm) | 115 (112; 118) | 106 (94; 118) | 103 (96; 110) |
| $\dot{V}O_2$ (mL/min) | 661 (620; 702) | 580 (531; 629) | 578 (554; 602)* |
| $\dot{V}CO_2$ (mL/min) | 640 (602; 678) | 571 (542; 600) | 566 (544; 588)* |
| RER | 0,95 (0,92; 0, 98) | 0,95 (0,93; 0,97) | 0,96 (0,94; 0,98) |
| \dot{V}_E (L/min) | 18,9 (17,5; 20,3) | 19,3 (17,2; 21,4) | 17,2 (16,3; 18,1) |
| FR (rpm) | 22 (20; 24) | 22 (19; 25) | 24 (22; 26) |
| V_T (mL/min) | 800 (754; 846) | 742 (560; 924) | 820 (739; 901) |
| Pico do exercício | | | |
| Potência (Watts) | 126 (115; 137) | 74 (66; 82)* | 79 (74; 84)* |
| FC (bpm) | 175 (170; 180) | 156 (147; 165)* | 145 (137; 153)* |
| $\dot{V}O_2$ (mL/min) | 1309 (1247; 1371) | 945 (847; 1043)* | 959 (899; 1019)* |
| $\dot{V}CO_2$ (mL/min) | 1734 (1675; 1793) | 1142 (1010; 1275)* | 1231 (1116; 1346)* |
| RER | 1,37 (1,33; 1,41) | 1,32 (1,27; 1,36) | 1,28 (1,21; 1,35) |
| \dot{V}_E (L/min) | 57,1 (53,7; 60,5) | 41,4 (35,0; 47,9)* | 37,1 (34,0; 40,2)* |
| FR (rpm) | 41 (36; 46) | 31 (28; 35) | 31 (27; 35) |
| V_T (mL/min) | 1352 (1200; 1504) | 1260 (1139; 1380) | 1232 (1174; 1291)* |

Dados expressos em mediana + 95% do intervalo de confiança. PM = pós-menopausa; TE = terapia estrogênica; FC = frequência cardíaca; $\dot{V}O_2$ = consumo de oxigênio; $\dot{V}CO_2$ = produção de dióxido de carbono; RER razão de troca respiratória; \dot{V}_E = ventilação minuto; FR = frequência respiratória; V_T = volume corrente; *P < 0,05 em relação ao grupo jovem (teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn).

Na figura 15 pode ser observado maiores valores $\dot{V}O_2$ (mL/kg/min) para o grupo jovem em relação aos grupos na pós-menopausa (P < 0,05), tanto no LA como no pico do exercício. Por outro lado, os valores percentuais do LA em relação ao pico para os dados de $\dot{V}O_2$ e FC foram significativamente menores para o grupo jovem comparativamente aos grupos na pós-menopausa (P < 0,05).

Foram observadas correlações significantes entre os valores de $\dot{V}O_2$ pico reportados em unidades absolutas (mL/min) e a idade ($r_s = -0,72$) e a pressão arterial sistólica ($r_s = -0,55$). Também foi observada uma correlação significativa entre os valores de $\dot{V}O_2$ pico reportados em unidades normalizadas pela massa corporal (mL/kg/min) e a idade ($r_s = -0,60$), o índice de massa corporal ($r_s = -0,68$), a pressão

arterial sistólica ($r_s = -0,55$) e diastólica ($r_s = -0,59$), triglicérides ($r_s = -0,55$) e colesterol total ($r_s = -0,52$). Não foram observadas correlações significantes entre os valores de $\dot{V}O_2$ pico e os níveis séricos de estradiol.

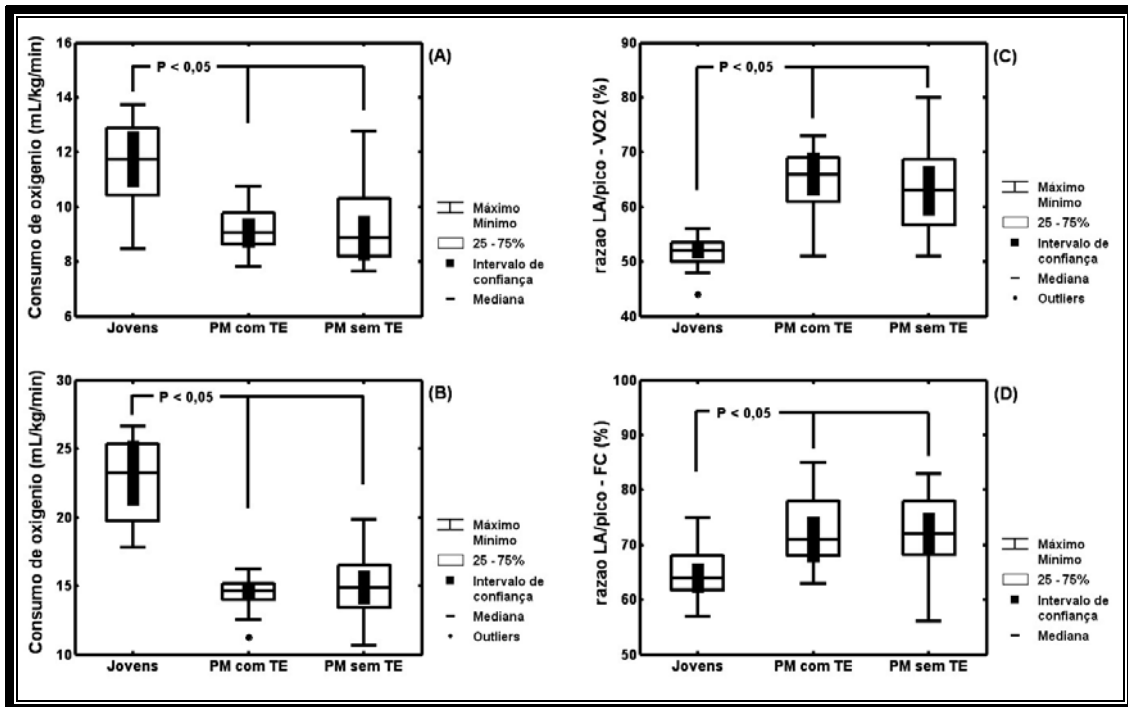


Figura 15 Valores de consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$, mL/kg/min) no limiar de anaerobiose (A) e no pico do exercício (B), e valores percentuais do limiar de anaerobiose em relação ao pico do exercício (razão LA/pico, %) para os dados de $\dot{V}O_2$ (C) e frequência cardíaca (FC, D), das mulheres jovens e na fase pós-menopausa (PM) com e sem terapia estrogênica (TE). $P < 0,05$ em relação ao grupo jovem (teste de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn).

6.5. DISCUSSÃO

Tem sido sugerido que os níveis hormonais de estrogênios podem influenciar as respostas cardiorrespiratórias durante exercício físico dinâmico (REDBERG et al, 2000; ÖZDEMIR et al, 2004; MERCURO et al, 2006). No entanto, a presente investigação mostrou que as alterações hormonais que ocorrem após a menopausa e a terapia estrogênica não influenciaram nossos resultados e que a idade foi a principal responsável pelo declínio na capacidade física das mulheres pós-menopausadas saudáveis.

Nossa hipótese foi que a ação vasodilatadora dos hormônios estrogênios (SANADA et al, 2001; MOREAU et al, 2003) poderia aumentar a capacidade oxidativa dos músculos e conseqüentemente melhorar a tolerância ao exercício e a capacidade no pico do exercício das mulheres pós-menopausadas. Nossos resultados, por sua vez, não suportaram essa hipótese, desde que nenhuma diferença foi observada entre os grupos na pós-menopausa para quaisquer variáveis cardiorrespiratórias mensuradas. Além disso, não foram observadas correlações estatisticamente significantes entre os níveis séricos de estradiol e os valores de $\dot{V}O_2$ pico.

Os achados presentes concordam com estudos prévios, os quais reportaram nenhuma melhora na tolerância ao exercício, apesar da terapia hormonal ter provocado um aumento no fluxo sangüíneo periférico (GREEN et al, 2002; KIRWAN et al, 2004; ALDRIGHI et al, 2005; FOGELBERG et al, 2006). Os mecanismos responsáveis por esses resultados não são completamente conhecidos, mas podem estar relacionados ao fato de que o aumento na capacidade vasodilatadora com a terapia estrogênica pode não ser específico ao músculo-esquelético e sim generalizado para todo leito vascular (KIRWAN et al, 2004); de qualquer forma, devem ser investigados em estudos futuros.

Os dados presentes corroboram os resultados obtidos em outros estudos (FITZGERALD et al, 1997; RIBEIRO et al, 2001b; SCHILLER et al, 2001; WEISS et al, 2006), mostrando um declínio na tolerância ao exercício relacionado à idade, desde que as jovens apresentaram maiores valores de potência e de $\dot{V}O_2$ tanto no LA como no pico do exercício comparativamente aos grupos na pós-menopausa. De fato, uma significativa correlação foi observada entre os valores de $\dot{V}O_2$ pico e a

idade. Quanto à FC, os menores valores atingidos no pico do exercício pelas mulheres na pós-menopausa podem ser explicados pelo fato de que com o avanço da idade, há uma diminuição na responsividade dos receptores β -adrenérgicos (SEALS et al, 1994; LAKATTA e LEVY, 2003b). Além disso, o efeito prejudicial da deficiência estrogênica sobre a capacidade cardiorrespiratória reportado recentemente (MERCURO et al, 2006) não foi confirmado pelos nossos resultados. Dessa forma, nossos achados mostraram que a idade foi a principal responsável pelo declínio na capacidade física das mulheres pós-menopausadas.

Um achado interessante da presente investigação foram os maiores valores percentuais do LA em relação ao pico para os dados de $\dot{V}O_2$ para os grupos na pós-menopausa. Resultados similares foram observados por outros autores, que atribuíram esses resultados a um declínio mais lento do $\dot{V}O_2$ no LA em relação ao pico do exercício, com o envelhecimento (JONES et al, 1985; PATERSON et al, 1999). O declínio mais lento no LA pode refletir uma função metabólica de oxidação muscular preservada, enquanto o maior declínio do $\dot{V}O_2$ pico/máx pode estar relacionado à perda de capacidade de entrega de oxigênio.

Verificamos também na presente investigação que as mulheres estudadas apresentaram valores de $\dot{V}O_2$ inferiores aos encontrados na literatura (REDBERG et al, 2000; GREEN et al, 2002; KIRWAN et al, 2004; MERCURO et al, 2006). Tais diferenças podem estar relacionadas aos hábitos de vida, dieta e características antropométricas das populações estudadas, ou mesmo aos ergômetros e equipamentos utilizados na coleta dos dados.

Um outro fator importante a ser considerado neste estudo foi a significativa correlação entre os valores de $\dot{V}O_2$ pico e alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares. Por meio dessa análise, verificamos que as mulheres com menores valores de $\dot{V}O_2$ apresentaram um perfil lipídico, pressão arterial e índice de massa corporal menos favoráveis. Resultados similares foram observados por outros autores (KOKKINOS et al, 1995; HADDOCK et al, 1998).

Assim, a falta de efeito da terapia estrogênica sobre a tolerância ao exercício, associada ao baixo nível de condicionamento físico e ao estilo de vida sedentário, e considerando a existência de estudos indicando a ocorrência de alterações positivas na capacidade aeróbia e nos fatores de risco para doença cardiovascular após treinamento físico aeróbio (SHEPHARD e BALADY, 1999; O'DONOVAN et al, 2005),

reforçam a importância do exercício físico como parte integrante da orientação clínica das mulheres no período do climatério. No entanto, a prescrição do exercício físico deve ser individualizada, numa intensidade adequada a capacidade física de cada paciente. O LA é um importante parâmetro que tem sido comumente utilizado para isso (GARCEZ et al, 2001; MEYER et al, 2006). Assim, de acordo com os nossos resultados, uma melhora na capacidade aeróbia das mulheres pós-menopausa pode ser obtida com um treinamento numa intensidade em torno de 70% da FC pico e/ou 60% do $\dot{V}O_2$ pico.

O desenho transversal deste estudo é uma limitação, desde que as características das respostas cardiorrespiratórias durante o exercício das mulheres pós-menopausadas anteriores ao uso da terapia estrogênica não são conhecidas. No entanto, critérios rigorosos de inclusão e exclusão foram estabelecidos no estudo a fim de controlar os fatores que poderiam influenciar as variáveis estudadas.

Concluindo, nossos resultados sugerem que o declínio na capacidade ao exercício observada nas mulheres na fase pós-menopausa parece estar mais relacionado ao processo do envelhecimento, do que com a deficiência estrogênica que ocorre nesse período. A terapia estrogênica não teve influência sobre as respostas cardiorrespiratórias durante o exercício dinâmico das mulheres pós-menopausadas estudadas. Novos estudos estão sendo desenvolvidos em nosso laboratório para avaliar o efeito do treinamento físico sobre as respostas cardiorrespiratórias durante exercício físico dinâmico em mulheres pós-menopausa com e sem terapia hormonal.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Com base nos resultados obtidos nos três estudos, podem-se chegar as seguintes conclusões:

- O envelhecimento teve um papel importante no controle autonômico da FC das mulheres pós-menopausadas, sendo seu efeito evidenciado em condições de repouso e exercício.
- A terapia estrogênica mostrou efeitos favoráveis na modulação autonômica cardíaca, caracterizados por um aumento da atividade vagal e diminuição da atividade simpática apenas em condições de repouso. Sua influência sobre a atividade neurocardíaca em condições de exercício foi mínima.
- A baixa capacidade física observada nas mulheres pós-menopausadas parece estar mais relacionada com o processo do envelhecimento do que com a diminuição dos níveis hormonais de estrogênio que ocorre após a menopausa, desde que a terapia estrogênica não interferiu nas respostas cardiovasculares e respiratórias das mulheres estudadas, nos dois protocolos de exercício propostos na presente investigação.

Quanto às perspectivas futuras, estudos longitudinais estão sendo desenvolvidos em nosso laboratório, com o intuito de avaliar o efeito do treinamento físico, associado ou não a terapia hormonal, e de terapias alternativas, como o raloxifeno (modulador seletivo dos receptores de estrogênio), sobre a modulação autonômica cardíaca e a capacidade aeróbia de mulheres pós-menopausadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARYA, U.R. et al. Heart rate analysis in normal subjects of various age groups. **Biomed Eng Online**, v. 3: 24, 2004.

ALDRIGHI, J.M. et al. Estrogen replacement and exercise capacity in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled study. **Gynecol Endocrinol**, v. 21, p. 324-329, 2005.

ALONSO, D.O. et al. Heart rate response and its variability during different phases of maximal graded exercise. **Arq Bras Cardiol**, v. 71, p. 787-792, 1998.

ANDERSON, G.L. et al. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. **JAMA**, v. 291, p. 1701-1712, 2004.

AZEVEDO, L.F.; ALONSO, D.O.; OKUMA, S.S. Envelhecimento e exercício físico. In: NEGRÃO, C.E.; BARRETO, A.C.P. **Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata**. 1. ed. Barueri: Manole, 2005. p.272-292.

BEAVER, W.L.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B.J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. **J Appl Physiol**, v. 60, p. 2020-2027, 1986.

BIGGER Jr., J.T. et al. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. **Circulation**, v. 85, p. 164-171, 1992.

BOKHARI, S.S. et al. Cardiac acceleration as a marker of vagal withdrawal in heart rate control during exercise in humans. **J Pak Med Assoc**, v. 53, p. 375-378, 2003.

BONNEMEIER, H. et al. Circadian profile of cardiac autonomic nervous modulation in healthy subjects: differing effects of aging and gender on heart rate variability. **J Cardiovasc Electrophysiol**, v. 14, p. 791-799, 2003.

BORRELLI, C.L.; ALMEIDA, P.G. Doenças cardiovasculares e as terapias de reposição hormonal. **Hipertensão**, v. 8, n. 3, p. 91-94, 2005.

BROCKBANK, C.L. et al. Heart rate and its variability change after the menopause. **Exp Physiol**, v. 85, p. 327-330, 2000.

BYRNE, E.A. et al. Role of aerobic capacity and body mass index in the age-associated decline in heart rate variability. **J Appl Physiol**, v. 81, p. 743-750, 1996.

CHACON-MIKAHIL, M.P.T. et al. Cardiorespiratory adaptations induced by aerobic training in middle-aged men: the importance of a decrease in sympathetic stimulation

for the contribution of dynamic exercise tachycardia. **Braz J Med Biol Res**, v. 31, p. 705-712, 1998.

CHOBANIAN, A.V. et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, p. 1206-1252, 2003.

CHRIST, M. et al. Hormone replacement in postmenopausal women: impact of progestogens on autonomic tone and blood pressure regulation. **Menopause**, v. 9, p. 127-136, 2002.

COTTIN, F. et al. Heart rate variability during exercise performed below and above ventilatory threshold. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, p. 594-600, 2004.

DANTAS, A.P.V. Ações cardiovasculares dos hormônios sexuais femininos. **Hipertensão**, v. 8, p. 86-90, 2005.

DE MEERSMAN, R.E. et al. Estrogen replacement, vascular distensibility, and blood pressures in postmenopausal women. **Am J Physiol**, v. 274, p. H1539-H1544, 1998.

FARAG, N.H. et al. Autonomic and cardiovascular function in postmenopausal women: the effects of estrogen versus combination therapy. **Am J Obstet Gynecol**, v. 186, p. 954-961, 2002.

FENKCI, V. et al. The short-term effects of different regimens of hormone replacement therapy on left ventricular structure and performance in healthy postmenopausal women. A prospective, controlled echocardiographic study. **Gynecol Obstet Invest**, v. 55, p. 139-144, 2003.

FITZGERALD, M.D. et al. Age-related declines in maximal aerobic capacity in regularly exercising vs. sedentary women: a meta-analysis. **J Appl Physiol**, v. 83, p. 160-165, 1997.

FOGELBERG, M. et al. Preserved microcirculatory response to acute estrogen not reflected by exercise capacity. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 85, p. 736-740, 2006.

FONSECA, A.M.; HALBE, H.W. Fisiologia do Climatério. In: HALBE, H.W. **Tratado de ginecologia**. 2. ed. São Paulo: Editora Roca Ltda., 1998. p. 1236-1242.

FORTI, V.A.M. **Influência do treinamento físico aeróbio sobre as respostas cardiovasculares e respiratórias em mulheres na menopausa com e sem terapia de reposição hormonal**. 1999. 213 p. Tese (Doutorado em Educação Física) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

GALLINELLI, A. et al. Variations of cardiac performance and inotropism in healthy postmenopausal women treated with estroprogestin replacement therapy. **Menopause**, v. 6, p. 49-55, 1999.

GALLO Jr., L. et al. Sympathetic and parasympathetic changes in heart rate control during dynamic exercise induced by endurance training in man. **Braz J Med Biol Res**, v. 22, p. 631-643, 1989.

GALLO Jr., L. et al. Control of heart rate during exercise in health and disease. **Braz J Med Biol Res**, v. 28, p. 1179-1184, 1995.

GARCEZ, A.R.R. Avaliação do limiar de anaerobiose em homens com fatores de risco para doença da artéria coronária e com doença da artéria coronária. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**, v.11, p.5-17, 2001.

GENAZZANI, A.R. Controversial issues in climacteric medicine (I). Cardiovascular disease and hormone replacement therapy. **Maturitas**, v. 38, p. 263-271, 2001.

GOKÇE, M. et al. Long term effects of hormone replacement therapy on heart rate variability, QT interval, QT dispersion and frequencies of arrhythmia. **Int J Cardiol**, v. 99, p. 373-379, 2005.

GONZÁLEZ-CAMARENA, R. et al. Effect of static and dynamic exercise on heart rate and blood pressure variabilities. **Med Sci Sports Exerc**, v.32, p. 1719-1728, 2000.

GOODMAN, N.; GOLDIZIEHER, J.; AYALA, C.R.N. Critique of the report from the Writing Group of the WHI. American Society for Reproductive Medicine. **Menopausal Med**, v. 10, p. 1-5, 2003.

GRADY, D. et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. **Ann Intern Med**, v. 117, p. 1016-1037, 1992.

GREEN, J.S. et al. Menopause, estrogen, and training effects on exercise hemodynamics: the HERITAGE study. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, p. 74-82, 2002.

GREENDALE, G.A.; Lee, N.P.; Arriola, E.R. The menopause. **Lancet**, v. 353, p. 571-580, 1999.

HADDOCK, B.L. et al. Cardiorespiratory fitness and cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, p. 893-898, 1998.

HAUTALA, A.J. et al. Short-term correlation properties of R-R interval dynamics at different exercise intensity levels. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 23, p. 215-223, 2003.

HULLEY, S. et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. **JAMA**, v. 280, p. 605-613, 1998.

JONES, N.L. et al. Normal standards for an incremental progressive cycle ergometer test. **Am Rev Respir Dis**, v. 131, p. 700-708, 1985.

KANNEL, W.B. et al. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. **Ann Intern Med**, v. 85, p. 447-452, 1976.

KELLY, G.E.; et al. Estimation of the gas exchange threshold in humans: a time series approach. **Eur J Appl Physiol**, v. 85, p. 586-592, 2001.

KIRWAN, L.D. et al. Acute and chronic effects of hormone replacement therapy on the cardiovascular system in healthy postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, p. 1618-1629, 2004.

KOKKINOS, P.F. et al. Cardiorespiratory fitness and coronary heart disease risk factor association in women. **J Am Coll Cardiol**, v. 26, p. 358-364, 1995.

KUO, T.B. et al. Effect of aging on gender differences in neural control of heart rate. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 277, p. H2233-H2239, 1999.

LAKATTA, E.G.; Levy, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises. Part I: aging arteries: A "set up" for vascular disease. **Circulation**, v. 107, p. 139-146, 2003a.

LAKATTA, E.G.; Levy, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. **Circulation**, v. 107, p. 346-354, 2003b.

LAU, T.K. et al. Prospective, randomized, controlled study of the effect of hormone replacement therapy on peripheral blood flow velocity in postmenopausal women. **Fertil Steril**, v. 70, p. 284-288, 1998.

LINDQVIST, A. Noninvasive methods to study autonomic nervous control of circulation. **Acta Physiol Scand Suppl**, v. 588, p. 1-107, 1990.

LIU, C.C.; KUO, T.B.J.; YANG, C.C.H. Effects of estrogen on gender-related autonomic differences in humans. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, p. 2188-H2193, 2003.

LOBO, R.A. Evaluation of cardiovascular event rates with hormone therapy in healthy, early postmenopausal women: results from 2 large clinical trials. **Arch Intern Med**, v. 164, p. 482-484, 2004.

MAAS, A.H.E.M. et al. HRT and heart disease: problems and prospects. **Maturitas**, v. 47, p. 255-258, 2004.

MACIEL, B.C. et al. Autonomic nervous control of the heart rate during dynamic exercise in normal men. **Clin Sci**, v. 71, p. 457-460, 1986.

MARÃES, V.R.F.S. et al. Identification of anaerobic threshold using heart rate response during dynamic exercise. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, p. 731-735, 2005.

MARES, P.; DAUZAT, M.; ABRAMOVICI, Y. Hormone replacement therapy with estradiol valerate and cyproterone acetate: effects on endothelium-dependent vasodilatation and arterial wall compliance. **Maturitas**, v. 42, p. 45-53, 2002.

MARINHO, R.M. et al. Atenção primária e terapia de reposição hormonal no climatério. **Projeto Diretrizes: Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia**, 11 p., 16 jun. 2001.

MASORO, E.J. **Handbook of physiology: a critical, comprehensive presentation of physiological knowledge and concepts - Section 11: Aging**. 1. ed. Oxford: Oxford University Press, 1995. 681 p.

MELO, R.C. et al. Effects of age and physical activity on the autonomic control of heart rate in healthy men. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, p. 1331-1338, 2005.

MENDELSON, M.E. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. **Am J Cardiol**, v. 89, p. 12E-17E, 2002.

MERCURO, G. et al. Impaired forearm blood flow and vasodilator reserve in healthy postmenopausal women. **Am Heart J**, v. 137, p. 692-697, 1999.

MERCURO, G. et al. Evidence of a role of endogenous estrogen in the modulation of autonomic nervous system. **Am J Cardiol**, v. 85, p. 787-789, 2000.

MERCURO, G. et al. Impairment of physical exercise capacity in healthy postmenopausal women. **Am Heart J**, v. 151, p. 923-927, 2006.

MEYER, T. Does cumulating endurance training at the weekends impair training effectiveness? **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 13, p. 578-584, 2006.

MILAN, L.A. et al. **Using semiparametric models for detection of anaerobic threshold**. Relatório Técnico do Departamento de Estatística, UFScar, n 40, p. 1-6, 2000.

MONAHAN, K.D.; et al. Age-associated changes in cardiovascular baroreflex sensitivity are related to central arterial compliance. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 281, p. H284-H289, 2001.

MOREAU, K.L.; et al. Basal leg blood flow in healthy women is related to age and hormone replacement therapy status. **J Physiol**, v. 547, p. 309-316, 2003.

MYSLIVECEK, P.R.; BROWN, C.A.; WOLFE, L.A. Effects of physical conditioning on cardiac autonomic function in healthy middle-aged women. **Can J Appl Physiol**, v. 27, p. 1-18, 2002.

NEVES, V.F.C. et al. Autonomic modulation of heart rate of young and postmenopausal women undergoing estrogen therapy. **Braz J Med Biol Res**, v. 40, 2007 (online ahead of print).

NISKANEN, L. et al. Does postmenopausal hormone replacement therapy affect cardiac autonomic regulation in osteoporotic women? **Menopause**, v. 9, p. 52-57, 2002.

O'DONOVAN, G. et al. Changes in cardiorespiratory fitness and coronary heart disease risk factors following 24 wk of moderate- or high-intensity exercise of equal energy cost. **J Appl Physiol**, v. 98, p. 1619-1625, 2005.

OLIVEIRA, L. et al. Modelo semiparamétrico de análise do comportamento da frequência cardíaca. In: XVII REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL – FeSBE, 2002, Salvador. **CD-Rom...**, Salvador, 2002.

OUYANG, P.; MICHOS, E.D.; KARAS, R.H. Hormone replacement therapy and the cardiovascular system. **J Am Coll Cardiol**, v. 47, p. 1741-1753, 2006.

OUZOUNIAN, S.; CHRISTIN-MAITRE, S. What is menopause? **Rev Prat**, v. 55, p. 363-368, 2005.

ÖZDEMİR, K. et al. Effect of postmenopausal hormone replacement therapy on cardiovascular performance. **Maturitas**, v. 47, p. 107-113, 2004.

PATERSON, D.H. et al. Aerobic fitness in a population of independently living men and women aged 55-86 years. **Med Sci Sports Exerc**, v. 31, p. 1813-1820, 1999.

PERINI, R.; VEICSTEINAS, A. Heart rate variability and autonomic activity at rest and during exercise in various physiological conditions. **Eur J Appl Physiol**, v. 90, p. 317-325, 2003.

PIKKUJAMSA, S.M. et al. Determinants and interindividual variation of R-R interval dynamics in healthy middle-aged subjects. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 280, p. H1400-H1406, 2001.

PITHON, K.R. et al. Comparison of cardiorespiratory responses between constant and incremental load exercises below, above and at the ventilatory anaerobic threshold. **Rev Bras Fisioter**, v. 10, p. 163-169, 2006.

REDBERG, R.F. et al. Long-term estrogen replacement therapy is associated with improved exercise capacity in postmenopausal women without known coronary artery disease. **Am Heart J**, v. 139, p. 739-744, 2000.

RIBEIRO, T.F. et al. Heart rate variability under resting conditions in postmenopausal and young women. **Braz J Med Biol Res**, v. 34, p. 871-877, 2001a.

RIBEIRO, T.F. et al. Determination of aerobic capacity in postmenopausal and young women by analysis of heart rate variability. In: Genazzani AR, Artini PG, Petraglia F (ed) **Recent Research in Gynecological Endocrinology**. London, United Kingdom, p. 177-180, 2001b.

ROSA BRITO-ZURITA, O. et al. Estrogen effect on heart rate variability in hypertensive postmenopausal women. **Maturitas**, v. 44, p. 39-48, 2003.

ROSSI, R. et al. Menopause and cardiovascular risk. **Pathophysiol Haemost Thromb**, v. 32, p. 325-328, 2002.

ROSSOUW, J.E. et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. **JAMA**, v. 288, p. 321-333, 2002.

SAKABE, D.I. et al. Análise da modulação autonômica do coração durante condições de repouso em homens de meia-idade e mulheres pós-menopausa. **Rev Bras Fisioter**, v. 8, p. 9-95, 2004.

SANADA, M. et al. Estrogen replacement therapy in postmenopausal women augments reactive hyperemia in the forearm by reducing angiotensin converting enzyme activity. **Atherosclerosis**, v. 158, p. 391-397, 2001.

SCHILLER, B.C. et al. Maximal aerobic capacity across age in healthy Hispanic and Caucasian women. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1048-1054, 2001.

SEALS, D.R. et al. Exercise and aging: autonomic control of the circulation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 26, p. 568-576, 1994.

SHEPHARD, R.J.; BALADY, G.J. Exercise as cardiovascular therapy. **Circulation**, v. 99, p. 963-972, 1999.

SILVA, E. et al. Design of a computerized system to evaluate the cardiac function during dynamic exercise. In: WORLD CONGRESS ON MEDICAL PHYSICS AND BIOMEDICAL ENGINEERING, 1994, Rio de Janeiro. **Annais...**, Rio de Janeiro, 1994, p. 409.

SILVA, E. et al. Inadequacy of first and second order models to characterize the heart rate response induced by dynamic exercise. **Braz J Med Biol Res**, v. 21, p. 61-63, 1988.

SILVA, F.M.H.S.P. et al. Identification of anaerobic threshold during dynamic exercise in healthy men using Kolmogorov-Sinai Entropy. **Computers in Cardiology**, v. 32, p. 731-734, 2005.

SIMERLY, R.B. et al. Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: an in situ hybridization study. **J Comp Neurol**, v. 294, p. 76-95, 1990.

SIROL, F.N. et al. Comparison of power output and heart rate levels in anaerobic threshold determinations by two indirect methods. **Rev Bras Fisioter**, v. 9, p. 211-218, 2005.

SKOUBY, S.O. et al. Climacteric medicine: European Menopause and Andropause Society (EMAS) statements on postmenopausal hormonal therapy. **Maturitas**, v. 48, p. 19-25, 2004.

SONE, R. et al. Autonomic heart rate regulation during mild dynamic exercise in humans: insights from respiratory sinus arrhythmia. **Jpn J Physiol**, v. 54, p. 273-284, 2004.

STAMPFER, M.J. et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. **N Engl J Med**, v. 325, p. 756-762, 1991.

TAKAHASHI, A.C.M. et al. Evaluation of autonomic heart rate control and determination of anaerobic threshold among healthy and coronary heart-diseased men. **Rev Bras Fisioter**, v. 9, p. 157-164, 2005.

TASK FORCE of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **Circulation**, v. 93, p. 1043-1065, 1996.

TULPPO, M.P. et al. Heart rate dynamics during accentuated sympathovagal interaction. **Am J Physiol**, v. 274, p. H810-H816, 1998.

VIRDIS, A. et al. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction associated with acute estrogen deprivation in normotensive women. **Circulation**, v. 101, p. 2258-2263, 2000.

VIRTANEN, I. et al. The effect of estrogen replacement therapy on cardiac autonomic regulation. **Maturitas**, v. 37, p. 45-51, 2000.

VIRTANEN, I. et al. Medroxyprogesterone improves cardiac autonomic control in postmenopausal women with respiratory insufficiency. **Respir Med**, v. 98, p. 126-133, 2004.

VUKSANOVIC, V.; GAL V. Nonlinear and chaos characteristics of heart period time series: healthy aging and postural change. **Auton Neurosci**, v. 121, p. 94-100, 2005.

WARREN, J.H. et al. Effect of autonomic blockade on power spectrum of heart rate variability during exercise. **Am J Physiol**, v. 273, p. R495-R502, 1997.

WASSERMAN, K. et al. **Principles of exercise testing and interpretation**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.

WEISS, E.P. et al. Gender differences in the decline in aerobic capacity and its physiological determinants during the later decades of life. **J Appl Physiol**, v. 101, p. 938-944, 2006.

WELLS, C.L.; Boorman, M.A.; Riggs, D.M. Effect of age and menopausal status on cardiorespiratory fitness in masters women runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 24, p. 1147-1154, 1992.

WRITING GROUP FOR THE PEPI TRIAL. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. **JAMA**, v. 273, p. 199-208, 1995.

YAMAMOTO, Y.; HUGHSON, R.L.; NAKAMURA, Y. Autonomic nervous system responses to exercise in relation to ventilatory threshold. **Chest**, v. 101, p. 206-210, 1992. Suplemento.

YILDIRIR, A. et al. Effects of hormone replacement therapy on heart rate variability in postmenopausal women. **Ann Noninvasive Electrocardiol**, v. 6, p. 80-284, 2001.

YIM, S.F. et al. Prospective randomized study of the effect of "Add-Back" hormone replacement on vascular function during treatment with gonadotropin-releasing hormone agonists. **Circulation**, v. 98, p. 1631-1635, 1998.




UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PRÓ - REITORIA DE PÓS - GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFSCar, registrado no CONEP/Conselho Nacional de Saúde, pelo ato de 18 de março de 1997, DELIBEROU aprovação sem restrições o projeto com protocolo nº 019 e título: "A INFLUÊNCIA DA IDADE E DA REPOSIÇÃO HORMONAL SOBRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA DO CORAÇÃO E NO LIMAR DE ANAROBIOSE" com orientação do Profa. Dra. Ester da Silva.

São Carlos, 02 de julho de 2001.


Prof. Dr. Vilmar Baldissera
Presidente da Comissão de Ética



CEP. 14048-900
RIBEIRÃO PRETO - S.P.
BRASIL

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 14 de dezembro de 2001

Ofício nº 3527/2001
CEP/SPC

Prezada Senhora:

O trabalho intitulado **"A INFLUÊNCIA DA IDADE E DA REPOSIÇÃO HORMONAL SOBRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA DO CORAÇÃO E O LIMIAR DE ANAEROBIOSE"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 121ª Reunião Ordinária realizada em 03/12/2001, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, de acordo com o Processo HCRP nº 7966/2001.

Aproveito a oportunidade para apresentar a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCFMRP-USP

Ilustríssima Senhora

VALÉRIA FERREIRA -A/C PROF.DR. LOURENÇO GALLO JÚNIOR
Depto. de Clínica Médica - Divisão de Cardiologia
Em mãos

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DE PARTICIPAÇÃO NO PROJETO DE PESQUISA:

“Efeito da terapia estrogênica sobre o controle autonômico da frequência cardíaca e a capacidade aeróbia de mulheres saudáveis”

Responsáveis:

Prof^a. Dr^a. Ester da Silva

Valéria Ferreira Camargo Neves

Prof. Dr. Lourenço Gallo Júnior

Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá

Locais de desenvolvimento do projeto:

Núcleo de Pesquisa em exercício Físico da UFSCar

Laboratório de Fisiologia do Exercício do HCFMRP da USP.

A pesquisa tem por objetivo avaliar como os nervos que controlam o seu coração respondem frente a um exercício físico e medir a intensidade de esforço que seu organismo pode realizar sem trazer riscos para o seu coração, quando a senhora estiver fazendo os exercícios da sua vida diária (andar, serviço de casa,...).

Desde que a senhora concorde será incluída em nosso estudo e submetida a uma avaliação clínica com medida de pressão, pulso, peso, altura, etc., além de alguns exames tais como: exame de sangue, dosagem de açúcar e da gordura do sangue, exames das substâncias eliminadas pelos rins, que servirão para avaliar seu estado de saúde.

Os exames que realizaremos neste estudo são testes de esforço em bicicleta de laboratório, fixa no chão, que permitem que cada pessoa pedale em intensidades diferentes. Antes de realizá-lo a senhora fará também um exame em repouso e outro em esforço para ver se está tudo bem com o funcionamento do coração e do pulmão (eletrocardiograma e teste de esforço máximo na esteira). Caso a senhora apresente a avaliação normal, será levada ao laboratório para conhecer os equipamentos e para receber maiores esclarecimentos sobre os testes que fará. Todos estes exames serão feitos sem que seja necessário usar agulhas para perfurar veias ou qualquer outra parte do corpo. Estes exames não oferecem riscos de complicações para sua saúde, e os desconfortos que poderão ocorrer com os testes de esforço na bicicleta são só um pouco de cansaço muscular e falta de ar, à medida que aumenta a intensidade do esforço, como acontece quando a senhora faz exercícios mais intensos nos trabalhos de casa (lavar roupa, varrer a casa, etc).

Os benefícios que terá com os exames realizados incluem a avaliação de possíveis alterações do funcionamento do coração e pulmão que ocorram nos exames clínicos, laboratoriais e de esforço. Caso se encontre alguma anormalidade nos exames, a senhora será encaminhada ao setor do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, para orientação específica. Os testes vão medir a sua capacidade para fazer exercícios físicos, no trabalho ou em programas de exercícios usados para diminuir os efeitos do envelhecimento, da parada das regras, e na prevenção das doenças do coração.

Eu, _____, portadora do RG n°. _____, residente a Rua: _____ n°. _____, Bairro: _____, Cidade: _____, Estado: _____, tendo recebido as informações acima e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, voluntariamente concordo em participar de um programa científico nos termos do projeto de pesquisa proposto pelos laboratórios acima mencionados.

1. A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos e benefícios e outros relacionados com a pesquisa;
2. A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isso traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;
3. A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com minha privacidade;
4. O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando.
5. A disponibilidade de tratamento médico por parte da Instituição à Saúde, em caso de danos diretamente causados pela pesquisa.

_____ de _____ de 200__

Assinatura da Voluntária

E-mail recebido em 20/12/2006 da revista "Brazilian Journal of Medical and Biological Research" apontando a aprovação do artigo intitulado "Autonomic modulation of heart rate of young and postmenopausal women undergoing estrogen therapy".

| | |
|---|--------------------------------|
| De: The Brazilian Journal of Medical and Biological Research <bjournal@terra.com.br> | SALVAR CONTATO |
| Data: 20/12/2006 (09:07:50) | |
| Assunto: MS6440-URGENTE | |
| Prioridade: Normal | |
| Para: <valeria0208@ig.com.br> <valeria_ferr@hotmail.com> | |
| [ver cabeçalho da mensagem] | |
| 20/12/06 | |
| Dra. Valéria Ferreira Camargo Neves Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular Departamento de Fisioterapia Universidade Federal de São Carlos Rodovia Washington Luís, Km 235 13565-905 São Carlos, SP | |
| Ref.: MS6440 A study of autonomic modulation of heart rate in young and postmenopausal women undergoing or not estrogen therapy. Valeria Ferreira Camargo Neves, Marcos Felipe Silva de Sá, Lourenço Gallo Jr., Aparecida Maria Catai, Luiz Eduardo Barreto Martins, Jílio César Crescêncio, Natália Martins Perpétuo, Ester da Silva. | |
| Prezada Dra. Valéria: | |
| Temos a satisfação de comunicar a V.Sa. que seu manuscrito acima referido está formalmente aceito para publicação no Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Oportunamente enviaremos as provas gráficas do trabalho para a devida liberação e eventuais correções que porventura ainda houverem. | |

Autonomic modulation of heart rate of young and postmenopausal women undergoing estrogen therapy

V.F.C. Neves¹,
M.F. Silva de Sá²,
L. Gallo Jr.³,
A.M. Catai¹,
L.E.B. Martins⁴,
J.C. Crescêncio³,
N.M. Perpétuo⁵
and E. Silva^{1,5}

¹Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil

²Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, ³Divisão de Cardiologia, Departamento de Clínica Médica, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

⁴Laboratório de Fisiologia do Exercício, Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

⁵Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Cardiovascular e de Provas Funcionais, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP, Brasil

Abstract

Correspondence

V.F.C. Neves
Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico
Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular
Departamento de Fisioterapia, UFSCar
Rodovia Washington Luís, km 235
13565-905 São Carlos, SP
Brasil
Fax: +55-16-3361-2081
E-mail: valeria0208@ig.com.br.

Some of the results were presented at the III Congresso de Pós-Graduação/6ª Jornada Científica da UFSCar, São Carlos, SP, Brazil, October 10-14, 2005.

Research supported by CNPq (No. 140684/2003-4) and FAPESP (No. 01/07427-2).

Received March 29, 2006
Accepted December 18, 2006

The aim of the present study was to determine whether estrogen therapy (ET) reduces alterations of the autonomic control of heart rate (HR) due to hypoestrogenism and aging. Thirteen young (24 ± 2.6 years), 10 postmenopausal (53 ± 4.6 years) undergoing ET (PM-ET), and 14 postmenopausal (56 ± 2.6 years) women not undergoing ET (PM) were studied. ET consisted of 0.625 mg/day conjugated equine estrogen. HR was recorded continuously for 8 min at rest in the supine and sitting positions. HR variability (HRV) was analyzed by time (SDNN and rMSSD indices) and frequency domain methods. Power spectral components are reported as normalized units (nu) at low (LF) and high (HF) frequencies, and as LF/HF ratio. Intergroup comparisons: SDNN index was higher in young (median: supine, 47 ms; sitting, 42 ms) than in PM-ET (33; 29 ms) and PM (31; 29 ms) women ($P < 0.05$). PM showed lower HFnu, higher LFnu and higher LF/HF ratio (supine: 44, 56, 1.29; sitting: 38, 62, 1.60) than the young group in the supine position (61, 39, 0.63) and the PM-ET group in the sitting position (57, 43, 0.75; $P < 0.05$). Intragroup comparisons: HR was lower in the supine than in the sitting position for all groups ($P < 0.05$). The HRV decrease from the supine to the sitting position was significant only in the young group. These results suggest that HRV decreases during aging. ET seems to attenuate this process, promoting a reduction in sympathetic activity on the heart and contributing to the cardioprotective effect of estrogen hormones.

Key words

- Heart rate variability
- Aging
- Menopause
- Estrogen therapy

Introduction

Epidemiological studies have demonstrated that, after menopause, women present an increased incidence of cardiovascular disease (1). It is believed that this higher vulnerability is related to the occurrence of decreased estrogen levels during this period (2). During the last decade, the positive effect of hormone therapy on the incidence of coronary artery diseases (CAD) as well as on the morbidity and mortality of cardiovascular disease has been demonstrated (3,4). The mechanisms involved in the prophylactic action of estrogens may be mainly related to the promotion of an antiatherogenic lipid profile and the action on blood vessel walls (5,6). More recently, however, two large scale randomized clinical studies on postmenopausal women with (7) or without (8) CAD indicated that hormone therapy may not be beneficial and may actually increase the risk of cardiovascular events (8).

The study of heart rate variability (HRV) is an important tool for a noninvasive evaluation of the integrity of neurocardiac function (9). It has been proposed that a decrease in HRV is a powerful predictor of morbidity and mortality consequent to arrhythmic complications (10).

Autonomic modifications of cardiovascular control have also been observed in the aging process (11,12). In women, both aging and postmenopausal hormonal changes contribute to modifications of the autonomic control of the heart. Brockbank et al. (13) and Liu et al. (14) noted higher HRV values in premenopausal than in postmenopausal women. Mercurio et al. (15) observed decreased HRV indices in women submitted to bilateral oophorectomy. However, when these patients were placed on therapy with 17 β -estradiol, all HRV indices returned to their pre-surgery levels. Others (14,16-18) have investigated whether hormone therapy could influence the action of the autonomic nervous system on the heart. Yet, the prob-

lem remains without a definitive solution. The objective of the present study was to test the hypothesis that the use of estrogen therapy could attenuate changes in the autonomic control of heart rate (HR) due to the hypoestrogenism that accompanies the aging process since a decrease in HRV has been associated with increased risks for cardiac events (10).

Material and Methods

A cross-sectional study was conducted on 37 healthy young and postmenopausal women who fulfilled established criteria. The young subjects presented regular menstrual cycles and were not using anticonceptual drugs. Experimental procedures were always performed during the follicular phase of their cycle, when hormonal variations are not influenced by progesterone. The postmenopausal state was defined as age above 48 years, the absence of a menstrual cycle for the last 12 months for patients who had uterus and serum follicular-stimulating hormone levels above 30 mIU/mL. None of the subjects followed any program of regular aerobic exercise. Subjects showing evidence of cardiac or respiratory disease, hypertension (blood pressure $\geq 140/90$ mmHg), diabetes mellitus, thromboembolic disease, dysthyroidism, stroke, depression, obesity (body mass index ≥ 30 kg/m²), or a history of smoking or alcoholism were excluded from the study. None of the subjects were using sedatives, anti-hypertensive or anti-arrhythmic medication, or other medications able to affect autonomic control of HR.

Thirteen young women, 14 postmenopausal women not undergoing hormone therapy and 10 women undergoing estrogen therapy for at least one year took part in the study. In the last group, all women had a previous history of hysterectomy and were continuously using oral conjugated equine estrogen at doses of 0.625 mg/day. This hormonal treatment had been indicated to

subjects showing vasomotor symptoms, osteopenia or osteoporosis. Age and anthropometric and clinical characteristics of the subjects in the groups studied are presented in Table 1.

Blood pressure was measured to confirm that it was within normal limits. Two measurements were performed on two non-consecutive days by the brachial artery auscultatory method using a mercury column sphygmomanometer (WanMed, São Paulo, SP, Brazil) and a stethoscope (Littmann, St. Paul, MN, USA). For this procedure the subjects remained at rest in the sitting position for at least 5 min, with feet on the floor, and the arm supported at heart level (19). The mean blood pressure values are reported in Table 1.

All subjects included in the present study had blood count, urinalysis and electrocardiogram at rest within normal limits. The results of the maximum treadmill exercise test were negative for myocardial ischemia and arrhythmia in all cases. Additionally, the results of clinical biochemical screening tests (glucose, total cholesterol and fractions, triglycerides, urea, creatinine, thyroid-stimulating hormone, and serum estradiol) are presented in Table 2.

The subjects were also submitted to a continuous dynamic exercise test up to physical exhaustion on a cycle ergometer (model Corival 400, Quinton, Seattle, WA, USA) with 10 to 20 W/min increments. During the test, ventilatory and metabolic measurements were obtained on a breath-by-breath basis using a specific metabolic analyzer (CPX-D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA). Aerobic capacity was then evaluated using oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) data obtained at the peak of exercise.

The study was approved by the Ethics Committee of the University Hospital, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, and by the Ethics Committee of the Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil. The purpose of the

study was explained to each subject prior to obtaining written informed consent.

Measurement of heart rate variability

Experiments were always carried out in the morning in order to avoid response differences due to circadian changes. Room temperature was kept at 22°C and relative air humidity between 40 and 60%. Subjects were acquainted with the experimental protocol and instructed to abstain from stimulants and alcoholic beverages during the 24 h preceding the exam, and to ingest a light meal at least 2 h prior to the measurement.

On each experimental day, the subjects were interviewed and examined prior to the beginning of the test to verify their continued good health and if they had had a normal night's sleep. After a 15-min rest in the supine position, blood pressure and HR were measured to determine whether the basal conditions of the subjects were adequate for the experiment.

An electrocardiogram and HR data were obtained from a one-channel heart monitor (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brazil) and processed using an analog-to-digital converter Lab. PC+ (National Instruments Co., Austin, TX, USA), which represented the interface between the heart monitor and a Pentium III microcomputer. Signals were recorded in real time after analog-to-digital conversion at a sampling rate of 500 Hz, and the R-R intervals (ms) were calculated on a beat-to-beat basis using specific software (20). To evaluate the effect of body position on the HR response and its variability, R-R intervals were recorded over an 8-min period under resting conditions with the subjects in the supine and sitting positions, respectively, and breathing spontaneously.

HRV was assessed in both time and frequency domains. The region of greatest stability for the gathering of the R-R intervals was used for this measurement, so that at least 256 consecutive beats (9) were pre-

sented. The selected time domain parameters studied were the mean of the R-R intervals, the standard deviation of the R-R intervals (SDNN) and the square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent R-R intervals (rMSSD). SDNN reflected overall HRV, whereas rMSSD was considered to be an index of parasympathetic modulations of HR (9).

For the frequency domain, spectral analysis was performed by fast Fourier transformation applied to a single window after a linear trend subtraction, at the R-R intervals previously chosen. The power spectral components were obtained at low (LF: 0.04 to

0.15 Hz) and high (HF: 0.15 to 0.4 Hz) frequencies, in absolute units (ms^2), and the normalized units were computed by dividing the absolute power of a given LF or HF component (ms^2) by the total power minus very low frequency (0.003-0.04 Hz) power and then multiplying this ratio by 100. Since the LF band is modulated by both the sympathetic and the parasympathetic nervous systems and the HF band is correlated with vagal cardiac control, the LF/HF ratio was calculated to determine the sympatho-vagal balance (9). Figure 1, which was drawn using an autoregressive model, illustrates the HRV power spectra at rest in the supine and sitting positions of a representative subject from each group.

Statistical analysis

One-way ANOVA was performed to compare the physical and clinical characteristics of the three experimental groups and, when appropriate, *post hoc* analyses were conducted using the Tukey HSD for unequal N. HRV indices obtained during the experimental trials were tested for normality. Since the data were shown not to be normally distributed, comparisons between groups were performed using the Kruskal-Wallis test and, when appropriate, *post hoc* analyses were conducted using Dunn's multiple comparison test. For intragroup analysis, the Wilcoxon matched-pair test was used. For association between variables, the Spearman correlation test was used. The level of significance was set at $P < 0.05$. Data are reported as medians followed by 95% confidence intervals. Figures 1 and 2 were drawn using MatLab software 6.1.0.450, release 12.1.

Results

No significant differences in weight or height were observed between groups. The subjects of the younger group had lower

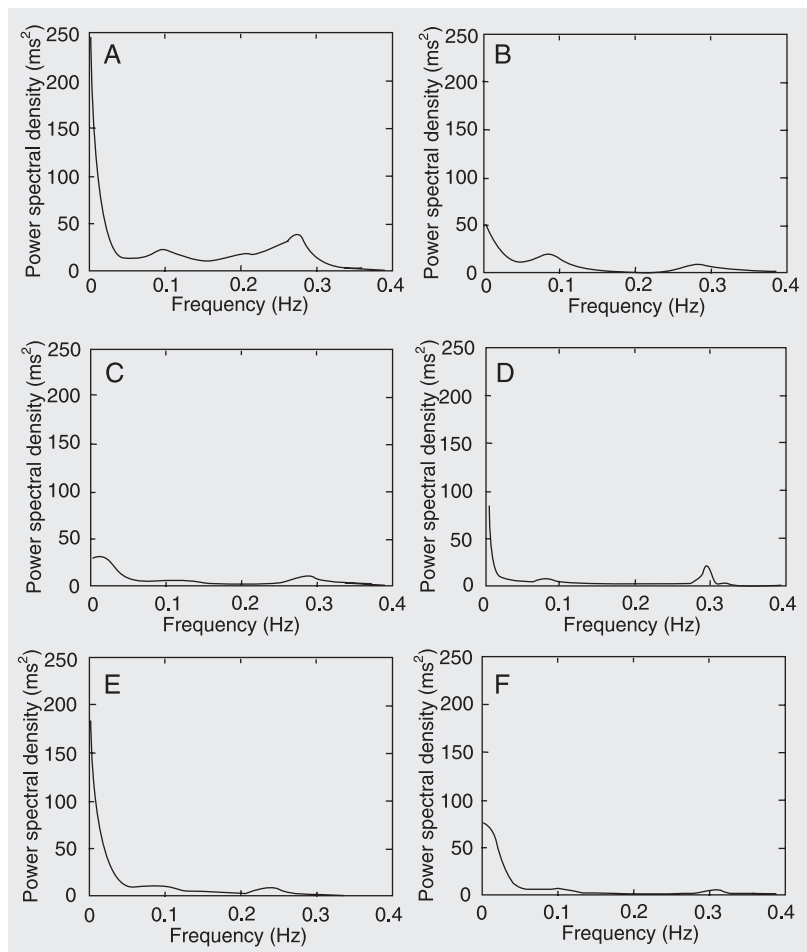


Figure 1. Heart rate variability power spectra of a representative subject from the groups of young women (A and B), postmenopausal women undergoing (C and D) and not undergoing (E and F) estrogen therapy obtained at rest in the supine and sitting positions, respectively. Spectral components are shown as low frequency (0.04 to 0.15 Hz), high frequency (0.15 to 0.4 Hz) and very low frequency (below 0.04 Hz).

body mass index, blood pressure and a higher $\dot{V}O_{2\text{peak}}$, reported as absolute and normalized values for body weight, than the postmenopausal groups ($P < 0.05$; Table 1). No significant differences in mean menopausal time periods were observed between the postmenopausal groups. The average period of estrogen therapy used was 6 ± 4.6 years.

Table 2 shows that there were no significant differences in serum concentrations of glucose, triglyceride, HDL cholesterol, urea, creatinine, or thyroid-stimulating hormone between groups. The young group presented significantly lower ($P < 0.05$) total cholesterol values compared to the postmenopausal groups, and lower LDL cholesterol values compared to subjects not using estrogen. Serum follicular-stimulating hormone levels did not differ between the postmenopausal groups, but the serum estradiol levels were higher in the postmenopausal group undergoing estrogen therapy ($P < 0.05$).

Intergroup comparisons showed that HR and R-R intervals at rest did not differ between the groups studied. However, analysis of the time domain demonstrated that the group of young subjects presented significantly ($P < 0.05$) higher values for the SDNN index compared to those of the two postmenopausal groups. The rMSSD index of the younger group was higher than those of the postmenopausal groups, but the difference was only statistically significant ($P < 0.05$) in relation to the subjects not using estrogens (Table 3). Frequency domain analysis showed that the postmenopausal group not undergoing hormone therapy presented lower values of the HF normalized unit (HFnu) components ($P < 0.05$), and higher LFnu components and LF/HF ratio ($P < 0.05$) relative to the young group, in the supine position (Table 3), and the postmenopausal group undergoing estrogen therapy, in the sitting position (Table 3 and Figure 2).

No significant correlation was observed between HRV and body mass index, $\dot{V}O_{2\text{peak}}$, triglycerides, or total cholesterol and

fractions. However, LFnu, HFnu and LF/HF ratio (sitting position) presented a significant correlation with serum estradiol levels ($r_s = -0.59, 0.59$, and -0.59 , respectively; $P < 0.05$).

In intragroup comparisons, lower HR values and higher values for the R-R intervals in the supine position were observed in relation to the sitting position in all three groups studied. These differences were sta-

Table 1. Age and anthropometric and clinical characteristics of the groups studied.

| Characteristics | Young (N = 13) | PM with ET (N = 10) | PM without ET (N = 14) |
|--|-------------------|------------------------|---------------------------|
| Age (years) | 24 \pm 2.6 | 53 \pm 4.6* | 56 \pm 2.6* |
| Weight (kg) | 57 \pm 6.0 | 66 \pm 9.9 | 62 \pm 9.4 |
| Height (cm) | 163 \pm 6.0 | 157 \pm 5.8 | 158 \pm 6.1 |
| BMI (kg/m ²) | 21.6 \pm 2.5 | 26.6 \pm 4.0* | 24.8 \pm 3.2* |
| SBP (mmHg) | 99 \pm 8.6 | 114 \pm 11.7* | 118 \pm 17.6* |
| DBP (mmHg) | 67 \pm 5.5 | 76 \pm 6.9* | 76 \pm 10.4* |
| $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ (mL/min) | 1287 \pm 148.5 | 918 \pm 114.3* | 929 \pm 150.6* |
| $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ (mL kg ⁻¹ min ⁻¹) | 22.6 \pm 3.1 | 14.2 \pm 1.5* | 14.8 \pm 2.7* |
| Menopause time (years) | - | 7 \pm 4.6 | 8 \pm 4.8 |
| ET time (years) | - | 6 \pm 4.6 | - |

Data are reported as means \pm SD. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; $\dot{V}O_2$ = oxygen uptake.

* $P < 0.05$ compared to young women (one-way ANOVA and *post hoc* Tukey test).

Table 2. Clinical biochemical characteristics of the groups studied.

| | Young (N = 13) | PM with ET (N = 10) | PM without ET (N = 14) |
|-------------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------|
| Glucose (mg/dL) | 80 \pm 6.2 | 86 \pm 9.2 | 88 \pm 11.2 |
| Triglyceride (mg/dL) | 78 \pm 28.9 | 141 \pm 70.1 | 133 \pm 69.5 |
| Total cholesterol (mg/100 mL) | 174 \pm 28.5 | 221 \pm 51.0* | 216 \pm 38.2* |
| LDL cholesterol (mg/100 mL) | 102 \pm 28.3 | 134 \pm 39.7 | 140 \pm 35.6* |
| HDL cholesterol (mg/100 mL) | 56 \pm 9.7 | 59 \pm 10.4 | 49 \pm 14.8 |
| Urea (mg/dL) | 32 \pm 3.6 | 28 \pm 4.6 | 28 \pm 6.9 |
| Creatinine (mg/dL) | 0.9 \pm 0.1 | 0.9 \pm 0.1 | 0.9 \pm 0.2 |
| TSH (mIU/mL) | 2.0 \pm 0.7 | 1.6 \pm 1.5 | 2.5 \pm 2.0 |
| FSH (mIU/mL) | - | 60 \pm 38.2 | 75 \pm 45.2 |
| Serum estradiol (pg/mL) | - | 58 \pm 25.4 | 23 \pm 5.4** |

Data are reported as means \pm SD. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; TSH = thyroid-stimulating hormone; FSH = follicular-stimulating hormone.

* $P < 0.05$ compared to young women; ** $P < 0.05$ compared to PM women with ET (one-way ANOVA and *post hoc* Tukey test).

tistically significant ($P < 0.05$; Table 3). Concerning HRV, only the group of young subjects presented decreased ($P < 0.05$) indices, reflecting vagal activity (rMSSD and HFnu) and an increase ($P < 0.05$) in the indices reflecting sympathetic activity (LFnu and the LF/HF ratio) in the sitting position compared to the supine position. Figure 1 shows the differences in the distribution of spectral components for both body positions for a representative subject from each group. Particularly in the young group, a predominance of the HF and LF components was observed in the supine and sitting position, respectively.

Discussion

The effects of hormone therapy on HRV indices have been reported in heterogeneous and controversial forms, with some studies presenting favorable results (14,17,21-23),

while others failed to find any modifications (16,18). Christ et al. (24) observed a decreased HRV and considered this effect to be restricted to a subgroup that used estrogen plus progesterone.

The objective of the present investigation was to evaluate the relative influence of age, hypoestrogenism and estrogen therapy on the autonomic control of HR during rest in the supine and sitting positions.

Autonomic modulation of HR has been documented as progressively declining with aging. This process has been demonstrated both by the reduction of vagal activity indices and of indices that reflect sympathetic activity on the heart (11,25). Since significantly decreased temporal indices of HRV were observed in postmenopausal women our results agree with the literature. Although the present study shows decreased aerobic capacity, increased body mass index and lipid profile modifications with aging, these variables did not present a significant correlation with HRV indices. Similar results were observed by Byrne et al. (26), suggesting that age is the major factor responsible for HRV reduction in the aging.

However, hypoestrogenism is another factor that could have influenced our results because the estrogen-treated group presented intermediate HRV values. Previous studies have also shown changes in the autonomic control of HR following natural (12-14,27) or surgical menopause (15). In agreement with the results of these studies, our results show that menopause can cause an imbalance of the autonomic nervous control of the cardiovascular system that shifts toward sympathetic hyperactivity. This could explain, in part, the increased incidence of cardiovascular diseases observed in postmenopausal women (1).

We also observed that postmenopausal women using estrogen therapy presented higher HFnu values and lower LFnu values, as well as lower LF/HF ratio compared to non-users of hormones. Considering our ex-

Table 3. Heart rate variability at rest in the supine and sitting positions.

| Variable | Young (N = 13) | PM with ET (N = 10) | PM without ET (N = 14) |
|-------------------------|---------------------|------------------------|---------------------------|
| Supine position | | | |
| Heart rate (bpm) | 70 (65;75) | 66 (61;72) | 66 (64;68) |
| R-R interval (ms) | 860 (804;916) | 904 (831;979) | 912 (878;947) |
| SDNN (ms) | 47 (40;54) | 33 (27;39)* | 31 (27;36)* |
| rMSSD (ms) | 43 (32;54) | 28 (20;35) | 19 (16;22)* |
| LF (nu) | 39 (32;46) | 41 (32;50) | 56 (51;61)* |
| HF (nu) | 61 (54;68) | 59 (50;68) | 44 (39;49)* |
| LF/HF | 0.63 (0.42;0.84) | 0.70 (0.41;1.00) | 1.29 (1.04;1.54)* |
| Sitting position | | | |
| Heart rate (bpm) | 74 (68;80)*** | 72 (65;79)*** | 69 (65;72)*** |
| R-R interval (ms) | 808 (748;868)*** | 832 (749;915)*** | 872 (823;921)*** |
| SDNN (ms) | 42 (32;52) | 29 (26;32)* | 29 (26;33)* |
| rMSSD (ms) | 37 (31;43)*** | 24 (19;29) | 17 (14;20)* |
| LF (nu) | 49 (40;58)*** | 43 (35;50) | 62 (58;66)** |
| HF (nu) | 51 (42;60)*** | 57 (50;65) | 38 (34;42)** |
| LF/HF | 0.96 (0.57;1.35)*** | 0.75 (0.50;0.99) | 1.60 (1.29;1.91)** |

Data are reported as medians and 95% confidence intervals. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; SDNN = standard deviation of the R-R intervals; rMSSD = square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent R-R intervals; LF = low frequency; HF = high frequency; nu = normalized units; LF/HF = low frequency/high frequency ratio.

* $P < 0.05$ compared to young women; ** $P < 0.05$ compared to PM women with ET; *** $P < 0.05$ compared to the supine position (intergroup comparisons: Kruskal-Wallis and *post hoc* Dunn test; intragroup comparisons: Wilcoxon test).

perimental design, some factors could have influenced these results, such as age, anthropometric characteristics, clinical status, biochemical tests, and aerobic capacity. However, no significant differences were observed between the postmenopausal groups for any of the variables measured, except for the serum estradiol levels and the HRV indices described above, which showed a statistically significant correlation. These findings suggest that there is a significant relationship between several HRV indices and serum estradiol levels (estrogen therapy) in the postmenopausal women studied.

Therefore, the present findings agree with previous studies (14,15,27), which have reported increased vagal activity and reduced sympathetic drive in postmenopausal women undergoing estrogen therapy. Nevertheless, the mechanism responsible for the beneficial effect of estrogen therapy on autonomic control of HR remains unknown and should be explored in future studies.

The divergence in the literature on the effects of hormone therapy on HRV may be due to the different types of hormones used, as well as to differences in dosage and route of administration. The patient's age at hormone utilization and prescription also appears to interfere with the results. Indeed, at this time, the results of the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (7) and of the Women's Health Initiative (WHI) Study (8) regarding the increased risk of cardiovascular events have been questioned because the mean age of the patients was very high. Actually, the WHI data showed significant differences in the risk of CAD between groups corrected by age, and the results showed a lower risk of CAD in estrogen-treated patients at the age of 60 years or less (28). Therefore, hormonal therapy must begin at the appropriate time ("window of opportunity") when endothelial function is still normal. In the present study, the menopause period of the estrogen-treated group was still within the time span when hormone

therapy has favorable effects on the cardiovascular system.

The postural change from the supine to

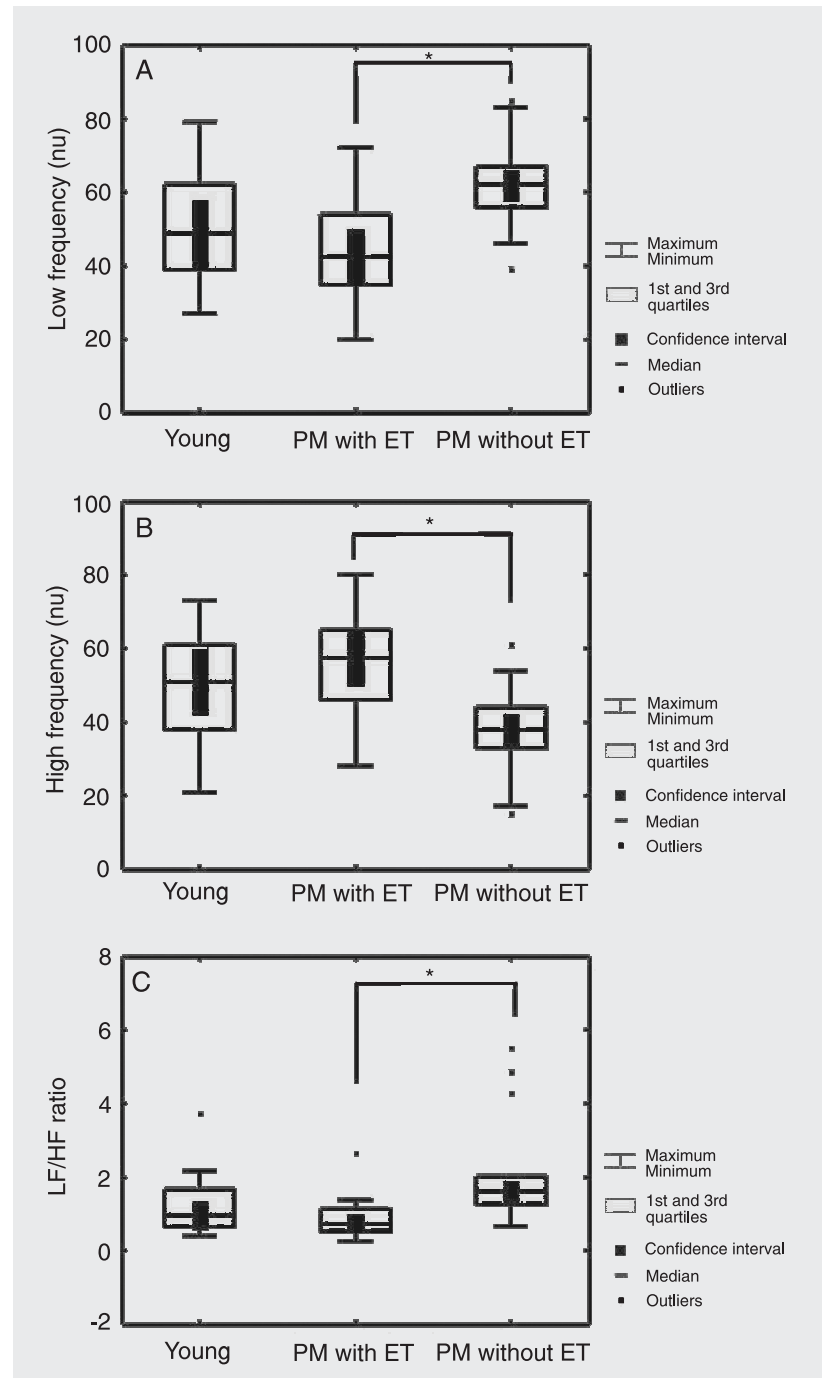


Figure 2. Low frequency normalized units (nu) (A), high frequency (nu) (B) and low frequency/high frequency (LF/HF) ratio (C) in young and postmenopausal (PM) women with or without estrogen therapy (ET), measured at rest in the sitting position. *P < 0.05 for the comparisons (Kruskal-Wallis and *post hoc* Dunn test).

the sitting position provokes a reduction in venous return and a consequent HR elevation due to cardiac autonomic regulation (i.e., sympathetic activation and decreased vagal activity), which are mediated by arterial and cardiopulmonary baroreceptor adjustment (29). In the present study, all groups presented modifications in the chronotropic response as a function of body position. On the other hand, variation of sympatho-vagal modulation was only noted in the younger group. These results suggest that the baroreflex control of HR could be altered by the aging process since increased vascular intima media thickness, associated with luminal dilatation and a reduction in compliance, could be responsible for the decline in cardiovascular baroreflex sensitivity in older subjects (30,31). Previous studies in young (32) and middle-aged subjects (32,33) have demonstrated alterations in HRV indices due to postural changes. Other investigators have reported that these changes lose their statistical significance with advancing age (34,35).

The cross-sectional design of this study

is a limitation, since the characteristics of the autonomic control of HR in postmenopausal women prior to the use of estrogen therapy were not known. However, rigorous criteria of inclusion and exclusion in the study were established in order to control the factors that could influence autonomic control of the heart.

The results of the present study suggest that age plays an important role in autonomic cardiac modulation in female subjects. Estrogen therapy, in turn, seems to attenuate age-related modifications of the autonomic control of HR by promoting reduced sympathetic hyperactivity of the heart, thus contributing to the cardioprotector effect described in earlier studies (3,4). Furthermore, our results indicate that physiological levels of estrogens are responsible for a higher vagal and lower sympathetic modulation of HR in our subjects. Studies are underway in our laboratory to evaluate the effects of long-term physical activity and hormonal therapy on the cardiovascular response at rest and during the exercise.

References

1. Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, Gordon T. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *Ann Intern Med* 1976; 85: 447-452.
2. Greendale GA, Lee NP, Arriola ER. The menopause. *Lancet* 1999; 353: 571-580.
3. Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. *N Engl J Med* 1991; 325: 756-762.
4. Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B, et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1992; 117: 1016-1037.
5. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *JAMA* 1995; 273: 199-208.
6. Mendelsohn ME. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *Am J Cardiol* 2002; 89: 12E-17E.
7. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998; 280: 605-613.
8. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2002; 288: 321-333.
9. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93: 1043-1065.
10. Bigger JT Jr, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Kleiger RE, Rottman JN. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation* 1992; 85: 164-171.
11. Acharya UR, Kannathal N, Sing OW, Ping LY, Chua T. Heart rate analysis in normal subjects of various age groups. *Biomed Eng Online* 2004; 3: 24.
12. Ribeiro TF, Azevedo GD, Crescencio JC, Maraes VR, Papa V, Catai AM, et al. Heart rate variability under resting conditions in postmenopausal and young women. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 871-877.
13. Brockbank CL, Chatterjee F, Bruce SA, Woledge RC. Heart rate and

- its variability change after the menopause. *Exp Physiol* 2000; 85: 327-330.
14. Liu CC, Kuo TB, Yang CC. Effects of estrogen on gender-related autonomic differences in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H2188-H2193.
 15. Mercurio G, Podda A, Pitzalis L, Zoncu S, Mascia M, Melis GB, et al. Evidence of a role of endogenous estrogen in the modulation of autonomic nervous system. *Am J Cardiol* 2000; 85: 787-789, A9.
 16. Virtanen I, Polo O, Polo-Kantola P, Kuusela T, Ekholm E. The effect of estrogen replacement therapy on cardiac autonomic regulation. *Maturitas* 2000; 37: 45-51.
 17. Yildirim A, Kabakci G, Yarali H, Aybar F, Akgul E, Bukulmez O, et al. Effects of hormone replacement therapy on heart rate variability in postmenopausal women. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2001; 6: 280-284.
 18. Niskanen L, Laitinen T, Tuppurainen M, Saarikoski S, Kroger H, Alhava E, et al. Does postmenopausal hormone replacement therapy affect cardiac autonomic regulation in osteoporotic women? *Menopause* 2002; 9: 52-57.
 19. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42: 1206-1252.
 20. Silva E, Catai AM, Trevelin LC, Guimarães JO, Silva LP Jr, Silva LM, et al. Design of a computerized system to evaluate the cardiac function during dynamic exercise. *Phys Med Biol* 1994; 39: 409 (Abstract).
 21. Farag NH, Nelesen RA, Parry BL, Loreda JS, Dimsdale JE, Mills PJ. Autonomic and cardiovascular function in postmenopausal women: the effects of estrogen versus combination therapy. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 954-961.
 22. Rosa Brito-Zurita O, Posadas-Romero C, Hermosillo AG, Zamora-Gonzalez J, Hernandez-Ono A, Cardoso-Saldana G, et al. Estrogen effect on heart rate variability in hypertensive postmenopausal women. *Maturitas* 2003; 44: 39-48.
 23. Virtanen I, Polo O, Saaresranta T, Kuusela T, Polo-Kantola P, Ekholm E. Medroxyprogesterone improves cardiac autonomic control in postmenopausal women with respiratory insufficiency. *Respir Med* 2004; 98: 126-133.
 24. Christ M, Seyffart K, Tillmann HC, Wehling M. Hormone replacement in postmenopausal women: impact of progestogens on autonomic tone and blood pressure regulation. *Menopause* 2002; 9: 127-136.
 25. Kuo TB, Lin T, Yang CC, Li CL, Chen CF, Chou P. Effect of aging on gender differences in neural control of heart rate. *Am J Physiol* 1999; 277: H2233-H2239.
 26. Byrne EA, Fleg JL, Vaitkevicius PV, Wright J, Porges SW. Role of aerobic capacity and body mass index in the age-associated decline in heart rate variability. *J Appl Physiol* 1996; 81: 743-750.
 27. Gokçe M, Karahan B, Yilmaz R, Orem C, Erdol C, Ozdemir S. Long term effects of hormone replacement therapy on heart rate variability, QT interval, QT dispersion and frequencies of arrhythmia. *Int J Cardiol* 2005; 99: 373-379.
 28. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, Bassford T, Beresford SA, Black H, et al. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2004; 291: 1701-1712.
 29. Lindqvist A. Noninvasive methods to study autonomic nervous control of circulation. *Acta Physiol Scand Suppl* 1990; 588: 1-107.
 30. Monahan KD, Dinunno FA, Seals DR, Clevenger CM, DeSouza CA, Tanaka H. Age-associated changes in cardiovagal baroreflex sensitivity are related to central arterial compliance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H284-H289.
 31. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* 2003; 107: 139-146.
 32. Vuksanovic V, Gal V. Nonlinear and chaos characteristics of heart period time series: healthy aging and postural change. *Auton Neurosci* 2005; 121: 94-100.
 33. Pikkujamsa SM, Makikallio TH, Airaksinen KE, Huikuri HV. Determinants and interindividual variation of R-R interval dynamics in healthy middle-aged subjects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H1400-H1406.
 34. Perini R, Veicsteinas A. Heart rate variability and autonomic activity at rest and during exercise in various physiological conditions. *Eur J Appl Physiol* 2003; 90: 317-325.
 35. Sakabe DI, Catai AM, Neves VF, Oliveira L, Silva de Sá MF, Azevedo GD, et al. Análise da modulação autonômica do coração durante condições de repouso em homens de meia-idade e mulheres pós-menopausa. *Rev Bras Fisioter* 2004; 8: 89-95.

Versão em inglês do artigo II submetido para a revista "Clinical Autonomic Research"

Is the heart rate response of healthy women during dynamic exercise influenced by estrogen therapy?

Valéria Ferreira Camargo Neves¹, Aparecida Maria Catai¹, Natália Martins Perpétuo²; Lourenço Gallo Jr³, Marcos Felipe Silva de Sá⁴, Luis Eduardo Barreto Martins⁵, Ester da Silva^{1,2}.

¹Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil; ²Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Cardiovascular e de Provas Funcionais, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP, Brasil; ³Divisão de Cardiologia, Departamento de Clínica Médica, ⁴Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil; ⁵Laboratório de Fisiologia do Exercício, Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Research supported by CNPq (nº 140684/2003-4) and FAPESP (nº 01/07427-2).

Correspondence: Valéria Ferreira Camargo Neves, Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luis, Km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP, Brasil, Telefone: +55-16-3351-8705, Fax: +55-16-3361-2081, e-mail: valeria0208@ig.com.br

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine whether age and estrogen therapy (ET) affect the autonomic control of heart rate (HR) during dynamic exercise and the anaerobic threshold (AT) as determined by HR response analysis. Eleven young women (24 ± 2.8 years), eight postmenopausal women (53 ± 4.1 years) undergoing ET (PMET) and twelve postmenopausal women (56 ± 2.8 years) not undergoing ET (PMnET) were studied. ET consisted of 0.625 mg/day of conjugated equine estrogen. The dynamic exercise was performed on a cycle ergometer at an initial workload of 15 W, followed by progressive steps of 5 W until the loss of HR response stabilization was identified by a semiparametric model, characterizing AT. HR (bpm) and R-R intervals (ms) were recorded on a beat-to-beat basis. Vagal withdrawal was analyzed by HR increments (bpm) and their duration (s) in the initial phase of exercise. The rMSSD index (ms) and the mean of HR (bpm) were calculated for the stable interval (1st to 4th min.) of each workload. HR increment and rMSSD index were higher in young than in postmenopausal women at the workloads studied. The young group had a higher workload and HR (median: 45 W; 117 bpm, $P < 0.05$) at AT than the PMET (25 W; 102 bpm) and the PMnET (30 W; 107 bpm) groups; the rMSSD index was similar for all groups. Our results suggest that autonomic control of HR during dynamic exercise (vagal withdrawal and rMSSD index) and aerobic capacity are strongly influenced by age. Neither hypoestrogenism nor ET was shown to have any influence on the variables studied.

Key words: dynamic exercise, autonomic nervous system, anaerobic threshold, menopause, estrogen therapy.

INTRODUCTION

In recent literature, there has been intense discussion about the role of hormonal therapy in the cardiovascular system. Although a cardioprotective effect has been indicated by several studies (Stampfer et al., 1991; Grady et al., 1992), large-scale clinical trials have shown that prolonged use of hormone therapy may not be beneficial (Hulley et al., 1998) and could increase the risk of cardiovascular disease (Rossouw et al., 2002).

The favorable effects of estrogen therapy on autonomic control of heart rate (HR) have been reported in previous studies (Liu et al., 2003; Gokçe et al., 2005; Neves et al., 2007). These effects have been observed under resting conditions. Few studies have investigated the neurocardiac influence of estrogen hormone levels during exercise, an important aspect given the great demand on biological systems during exercise.

During dynamic exercise the HR response is mediated by a biphasic mechanism that initially involves vagal withdrawal (very fast increase of HR). At low workloads, this is the only mechanism responsible for the exercise tachycardia. As the workload increases, the sympathetic influence predominates and a slow linear HR increase can be observed. In this situation the HR response does not attain a steady-state condition (Maciel et al., 1986; Chacon-Mikahil et al., 1998; Sone et al., 2004; Marães et al., 2005; Sirol et al., 2005).

An important finding related to the autonomic control of HR during constant load dynamic exercise is the observation that the loss of HR stabilization (slow linear HR increase) occurs at intensities above the anaerobic threshold (AT), when the sympathetic contribution of exercise tachycardia is predominant (Silva et al., 1988; Gallo et al., 1995; Tulppo et al., 1998). Thus, some investigators have proposed the use of mathematical and statistical models as a means to identify the workload level at which loss of HR stabilization occurs and to determine the AT by a non-invasive method (Ribeiro et al., 2001; Marães et al., 2005; Sirol et al., 2005; Takahashi et al., 2005).

The AT has been widely used for the evaluation of aerobic capacity, which decreases with the aging process (Fitzgerald et al., 1997; Schiller et al., 2001). Hypoestrogenism may be a contributing factor to this reduction (Mercurio et al., 2006). Few reports are available about the effect of estrogen therapy on tolerance

exercise and their results are considered to be controversial (Kirwan et al., 2004; Özdemir et al., 2004). An understanding of this issue has clinical implications, as well as importance for the prescription of physical training for women.

In view of these considerations, the purpose of this study was to verify whether age and estrogen therapy affect autonomic control of HR during dynamic exercise and AT as determined by HR response analysis, since hypoestrogenism and the aging process can alter these variables. In addition, we sought to verify whether autonomic cardiac modulation is modified by workload increment.

MATERIAL AND METHODS

A cross-sectional study was conducted on 31 healthy young and postmenopausal women who fulfilled established criteria. The young subjects selected presented regular menstrual cycles and were not using contraceptives. The experimental procedures were always performed during the follicular phase of their cycle, when hormonal variations are not influenced by progesterone. The postmenopausal state was defined by age above 48 years, the absence of a menstrual cycle for the last 12 months for patients who had uterus and serum follicular-stimulating hormone (FSH) levels above 30 mIU/mL. None of the subjects followed any program of regular aerobic exercise. Subjects showing evidence of cardiac or respiratory disease, hypertension (blood pressure $\geq 140/90$ mmHg), diabetes mellitus, thromboembolic disease, dysthyroidism, stroke, depression, obesity (body mass index ≥ 30 kg/m²) or a history of smoking or alcoholism were excluded. None of the subjects were using sedatives, anti-hypertensive or anti-arrhythmic medication, or other medications capable of affecting autonomic control of HR.

Eleven young women, twelve postmenopausal women not undergoing hormone therapy (PMnET) and eight women undergoing estrogen therapy for at least one year (PMET) took part in the study. In the last group, all women had a previous history of hysterectomy and were continuously using oral conjugated equine estrogen at doses of 0.625 mg/day. This hormonal treatment had been indicated to subjects showing vasomotor symptoms, osteopenia or osteoporosis. The age and the anthropometric and clinical characteristics of the subjects in the groups studied are presented in Table 1.

Blood pressure was measured to confirm that it was within normal limits. Two measurements were performed on two non-consecutive days by the brachial artery auscultatory method using a mercury column sphygmomanometer (WanMed, São Paulo, SP, Brazil) and a stethoscope (Littmann, St. Paul, MN, USA). For this procedure the subjects remained at rest in the sitting position for at least 5 min, with feet on the floor, and the arm supported at heart level (Chobanian et al., 2003). The mean blood pressure values are presented in Table 1.

All subjects included in the present study had blood count, urinalysis and electrocardiogram at rest within normal limits. The results of the maximum treadmill exercise test were negative for myocardial ischemia and arrhythmia in all cases. Additionally, the results of clinical biochemical screening tests (glucose, total cholesterol and fractions, triglycerides, urea, creatinine, thyroid-stimulating hormone, and serum estradiol) are presented in Table 2.

The subjects were also submitted to a continuous dynamic exercise test up to physical exhaustion on a cycle ergometer (Corival 400 model, Quinton, Seattle, WA, USA) with 10 to 20 W/min increments. During the test, ventilatory and metabolic measurements were obtained on a breath-by-breath basis using a specific metabolic analyzer (CPX-D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA). Aerobic capacity was then evaluated using oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) data obtained at the peak of exercise.

The study was approved by local Ethics Committee. The purpose of the study was explained to subjects prior to obtaining their written informed consent.

Experimental protocol

Experiments were always carried out in the morning in order to avoid response differences due to circadian changes. Room temperature was kept at 22°C and relative air humidity between 40 and 60 %. Subjects were acquainted with the experimental protocol and instructed to abstain from stimulants and alcoholic beverages, not to perform extenuating physical activity during the 24 hours preceding the exam, and to ingest a light meal at least 2 hours prior to the exercise trials.

On each experimental day, the subjects were interviewed and examined prior to the beginning of the test to verify their continued good health and if they had had a normal night's sleep. After a 15-min rest period in the supine position, blood pressure and HR were measured to determine whether the basal conditions of the subjects were adequate for the experiment.

Dynamic exercise was performed in the sitting position using an electromagnetic braked cycle ergometer (model Corival 400, Quinton, Seattle, WA, USA) at initial workload corresponding to 15 W, followed by discontinuous steps with progressive workload increments of 5 W, over an 4-min period each, until the loss of HR response stabilization (slow linear HR increase) was identified by the modified semiparametric model. Varying resting periods were allowed between the different levels of effort so that HR could return to control levels. A pedaling frequency of 60 rpm was maintained throughout each workload. The objective of this protocol was to evaluate the autonomic control of HR during dynamic exercise and to signal AT through the HR response.

During the test, an electrocardiogram and HR data were obtained from a one-channel heart monitor (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brazil) and processed using an analog-digital converter Lab. PC+ (National Instruments Co., Austin, TX, USA), representing an interface between the heart monitor and a Pentium III microcomputer. Signals were recorded in real time after analog to digital conversion at a sampling rate of 500 Hz, and the R-R intervals (ms) were calculated on a beat-to-beat basis using specific software (Silva et al., 1994). Recordings were obtained for 1 min. prior to each exercise power level, throughout the 4 min. dynamic exercise, and for 1 min. during the recovery period.

The contribution of the sympathetic and parasympathetic systems to the increase in HR induced by dynamic exercise was determined based on the time constant differences of both autonomic nervous system divisions. This method was validated in previous studies in which the HR response induced by exercise was evaluated before and after selective pharmacological blockade of the sympathetic and parasympathetic systems (Maciel et al., 1986; Silva et al., 1988; Gallo et al., 1995). Special emphasis was placed on the increase in HR during the initial phase (vagal-dependent component) and from the 1st to the 4th min. of dynamic exercise (sympathetic-dependent component).

In the initial phase, the HR increments (bpm) and their duration (s) were calculated for each workload. The HR increment was calculated by the difference between the highest HR value (HR_{peak}) obtained in the first seconds of exercise and the mean value of HR obtained during 1 min. at rest prior to each workload. The HR increment duration corresponds to the difference between the moment of HR_{peak} occurrence (t_1) and the moment of exercise starting (t_0).

Next, the heart rate variability (HRV) during dynamic exercise (1st to 4th min.) was analyzed by the time domain method. The selected parameter was the rMSSD index, which corresponds to the square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent R-R intervals (Task Force, 1996). In each workload, the region of greatest stability for the gathering of the R-R intervals was used for this measurement.

The AT was characterized by a workload at which the HR response, related to time, showed a tendency towards positive inclination (slow linear HR increase). This analysis was based on semiparametric modeling (Milan et al, 2000; Ribeiro et al., 2001b; Oliveira et al., 2002; Sirol et al., 2005; Takahashi et al., 2005). The fitted semiparametric model was applied for each workload in the interval from the 1st to the 4th min. of dynamic exercise. The mean HR of the corresponding interval was also calculated.

Statistical Analysis

One-way ANOVA was performed to compare the physical and clinical characteristics of the three experimental groups and, when appropriate, *post hoc* analyses were conducted using the Tukey HSD for unequal N. To compare the menopausal time periods, serum FSH and serum estradiol levels of the postmenopausal groups, an unpaired *t*-test was carried out. Variables obtained during the experimental trials were tested for normality (Kolmogorov-Smirnov test). Since the data were shown not to be normally distributed, comparisons between groups were performed using the Kruskal-Wallis test. For intragroup analysis, the Friedman test was used. When appropriate, *post hoc* analyses were conducted using Dunn's multiple comparison test. The level of significance was set at $P < 0.05$. Data are reported as medians followed by 95% confidence intervals.

RESULTS

No significant differences in height or diastolic blood pressure were observed between groups. The young group had lower weight and systolic blood pressure than the PMnET group ($P < 0.05$, Table 1). The young group presented lower body mass index and higher $\dot{V}O_{2peak}$ values compared to the postmenopausal groups ($P < 0.05$). No significant differences in mean menopausal time periods were observed

between the postmenopausal groups. The average period of estrogen therapy use was 5 ± 4.9 years.

Table 2 shows that there were no significant differences in serum concentrations of glucose, total cholesterol and fractions, urea, creatinine or thyroid stimulating hormone between groups. The young group presented lower triglyceride levels than the PMET group ($P < 0.05$). Serum FSH levels did not differ between the postmenopausal groups, but serum estradiol levels were higher in the PMET group ($P < 0.05$).

The HR increments and their duration did not differ between the workloads studied (Table 3). However, in the intergroup comparisons, the HR increments of the younger group were higher than those of the postmenopausal groups at all workloads studied, but the difference was only significant ($P < 0.05$) at 20 W for the PMET group and at 20, 25, 35 and 40 W for the PMnET group. Concerning HR increment duration, significant difference was only observed at 35 W between the young and PMET groups.

Figure 1 shows that a reduction in the median values of the rMSSD index occurred with increasing workload in all groups. This reduction was significant ($P < 0.05$) starting from 40 W for the young group and from 35 W for the postmenopausal groups when compared to 15 W. Intergroup comparisons showed that the rMSSD index was higher ($P < 0.05$) in young than in PMET group (25 to 40 W) and PMnET group (25 and 35 W).

The workload and median HR values at which the AT was assumed to occur were higher in the young group than in the postmenopausal groups (Figure 2, $P < 0.05$). The rMSSD index did not differ between the groups studied.

DISCUSSION

Cardiovascular responses to dynamic exercise can be influenced by multiple factors, some related to constitutional factors and others inherent to the nature of exercise itself (Gallo et al., 1995). The present study shows that age plays an important role in autonomic control of HR in the initial phase and in the interval from the 1st to the 4th min. of dynamic exercise, as well as in the aerobic capacity of healthy women. The postmenopausal hormonal changes and estrogen therapy did not influence our results, since no differences were observed between the

postmenopausal groups for any of the variables measured, with the exception of the serum estradiol levels.

An increase of vagal activity on the autonomic control of HR due to estrogen therapy has been reported by some investigators (Liu et al., 2003; Gokçe et al., 2005; Neves et al., 2007). On the basis of these results, we believed that the fast increase of HR during the initial phase of exercise mediated by vagal withdrawal on the sinus node (Bokhari et al., 2003; Sone et al., 2004) might be of greater magnitude in postmenopausal women on estrogen therapy compared to women receiving no hormonal therapy. These women were matched for age, physical characteristics and clinical conditions. The same effect was expected for rMSSD values calculated from the 1st to the 4th min. of exercise, an index which shows a strong association with vagal tonus (Task Force, 1996).

However, our findings do not support these assumptions since the effects of estrogen hormone levels on the results during exercise (vagal withdrawal and rMSSD index) were minimal. This is consistent with the findings of Myslivecek et al. (2002) who encountered no significant differences in autonomic control of HR during submaximal dynamic exercise between pre- and postmenopausal women. Therefore, it appears that the cardioprotective effect of estrogen hormones on autonomic cardiac modulation at rest is not maintained during exercise, a physiological condition that involves far more complex regulatory mechanisms.

Age, in turn, has an important role in the autonomic control of HR during exercise, with young women presenting higher HR increments at the beginning of exercise in relation to postmenopausal women. Considering that physiological aging is associated with a reduction in vagal modulation of the heart (Bonnemeier et al., 2003; Melo et al., 2005), this may have limited the vagal withdrawal capacity observed in postmenopausal women, attenuating fast tachycardia in response to dynamic exercise (Seals et al., 1994). The effect of aging on vagal activity for the autonomic modulation of HR may also explain the reduced values of the rMSSD index among postmenopausal women during exercise.

Intragroup comparisons showed that the fast increase of HR was independent of workload level, as observed previously (Maciel et al., 1986; Chacon-Mikahil et al., 1998). However, in the cited studies, vagal withdrawal was evaluated starting from pre-established time intervals (0-10 and 0-30 s) and from mean HR values calculated at 10 s intervals. In the present investigation, the vagal withdrawal was evaluated

starting from the HR data recorded on a beat-to-beat basis, considering the highest value reached related to time. The methodology employed permitted to observe that duration of the vagal withdrawal was established individually, in distinct periods. On the other hand, analysis of the rMSSD index during the interval from the 1st to the 4th min. of the constant load dynamic exercise demonstrated that the vagal contribution to the HR response progressively diminished with increasing workload, in agreement with previous studies (Warren et al., 1997; González-Camarena et al., 2000; Hautala et al., 2003).

It was also observed that this reduction of HRV with increasing exercise intensity reached statistical significance at powers close to the level at which AT was characterized by the semiparametric model. This model identified the workload at which loss of HR response stability (slow linear HR increase) occurred, which has been attributed to the predomination of the sympathetic activation in the sinus node (Tulppo et al., 1998). Other researchers have also observed an association between AT and modifications in the autonomic balance of HR (Yamamoto et al., 1992; Alonso et al., 1998; Hautala et al., 2003; Cottin et al., 2004; Silva et al., 2005). Therefore, the practice of physical exercise at intensities close to the AT appears to produce less cardiac vulnerability, since the protective vagal action still predominates at these intensities.

The present data confirm the results obtained in previous studies (Fitzgerald et al., 1997; Ribeiro et al., 2001; Schiller et al., 2001; Marães et al., 2005) showing an age-related decline in exercise tolerance, since the young women reached AT at higher workload levels than the postmenopausal groups. In relation to HR, the lower values observed in AT for these groups can be explained by diminished β -adrenergic responsiveness due to aging (Seals et al., 1994; Lakata & Levy, 2003). However, the rMSSD index was similar for all groups, suggesting that for the same range of aerobic metabolism under exercising conditions this temporal index does not depend on age or on menopausal status.

Our results further demonstrate that neither menopause nor estrogen therapy interfered with the physical performance of the postmenopausal women. Other authors have also observed no improvement in exercise tolerance despite the fact that hormone therapy had provoked an increase in peripheral blood flow (Green et al., 2002; Kirwan et al., 2004). However, it has been recently verified that hypoestrogenism can contribute to the reduction of physical capacity in healthy

postmenopausal women (Mercuro et al., 2006) and that hormone therapy may attenuate this process (Redberg et al., 2000; Özdemir et al., 2004).

The transverse design of this study is a limitation in itself, since the characteristics of the cardiovascular responses during exercise in postmenopausal women prior to the use of estrogen therapy were not known. However, rigorous criteria of inclusion and exclusion were established in the study in order to control factors that could influence the variables studied.

Our results suggest that the autonomic control of HR during dynamic exercise (vagal withdrawal and rMSSD index) and aerobic capacity are strongly influenced by age. Neither hypoestrogenism nor estrogen therapy affected the variables studied. Additionally, the present study indicates that vagal withdrawal at the beginning of exercise was not influenced by workloads while that the rMSSD index decreased progressively with increasing effort levels. Further studies are currently underway in our laboratory to evaluate the effects of long-term physical activity on the cardiovascular response at rest and during dynamic exercise in postmenopausal women undergoing or not hormone therapy.

Table 1 Age and anthropometric and clinical characteristics of the groups studied.

| Characteristics | Young (N = 11) | PM with ET (N = 8) | PM without ET (N = 12) |
|--|-------------------|-----------------------|---------------------------|
| Age (years) | 24 ± 2.8 | 53 ± 4.1* | 56 ± 2.8* |
| Weight (kg) | 58 ± 6.5 | 65 ± 6.5 | 68 ± 8.1* |
| Height (cm) | 163 ± 6.6 | 157 ± 6.1 | 160 ± 4.8 |
| BMI (kg/m ²) | 21.6 ± 2.8 | 26.2 ± 2.8* | 24.9 ± 3.2* |
| SBP (mmHg) | 101 ± 8.3 | 113 ± 11.6 | 115 ± 16.6* |
| DBP (mmHg) | 68 ± 5.2 | 76 ± 7.4 | 75 ± 10.0 |
| $\dot{V}O_2$ peak (mL/min) | 1273 ± 157.2 | 956 ± 115.9* | 905 ± 145.7* |
| $\dot{V}O_2$ peak (mL kg ⁻¹ min ⁻¹) | 22.3 ± 3.2 | 14.7 ± 1.1* | 14.5 ± 2.8* |
| Menopause time (years) | -- | 6 ± 5.1 | 8 ± 4.9 |
| ET time (years) | -- | 5 ± 4.9 | -- |

Data are reported as means ± SD. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; $\dot{V}O_2$ = oxygen uptake; *P < 0.05 compared to young women (One way ANOVA and Tukey's *post-hoc* test)

Table 2 Clinical biochemical characteristics of the groups studied.

| | Young (N = 11) | PM with ET (N = 8) | PM without ET (N = 12) |
|------------------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------|
| Glucose (mg/dL) | 80 ± 6.7 | 87 ± 10.9 | 87 ± 11.6 |
| Triglycerides (mg/dL) | 81 ± 29.9 | 177 ± 94.9* | 125 ± 56.7 |
| Total cholesterol (mg/100mL) | 178 ± 29.8 | 231 ± 61.3 | 217 ± 49.9 |
| LDL cholesterol (mg/100mL) | 104 ± 30.6 | 140 ± 45.4 | 141 ± 49.3 |
| HDL cholesterol (mg/100mL) | 57 ± 10.3 | 55 ± 10.0 | 51 ± 14.9 |
| Urea (mg/dL) | 32 ± 4.0 | 28 ± 6.8 | 27 ± 6.0 |
| Creatinine (mg/dL) | 0.9 ± 0.1 | 0.8 ± 0.1 | 1.0 ± 0.2 |
| TSH (mIU/mL) | 1.9 ± 0.6 | 1.5 ± 1.4 | 2.5 ± 2.3 |
| FSH (mIU/mL) | -- | 63 ± 32.8 | 82 ± 47.9 |
| Serum estradiol (pg/mL) | -- | 58 ± 26.3 | 21 ± 3.3** |

Data are reported as means ± SD. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; TSH = thyroid-stimulating hormone; FSH = follicular-stimulating hormone; *P < 0.05 compared to young women; **P < 0.05 compared to PM women with ET (One way ANOVA and Tukey's *post-hoc* test; unpaired *t*-test).

Table 3 Heart rate increments (bpm) and their duration (s) induced by beginning of dynamic exercise at different workloads.

| Workload (W) | Young (N = 11) | PM with ET (N = 8) | PM without ET (N = 12) |
|-----------------------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------|
| Heart rate increments (bpm) | | | |
| 15 | 29 (23; 35) | 22 (16; 27) | 23 (21; 24) |
| 20 | 33 (27; 39) | 20 (17; 23)* | 20 (19; 21)* |
| 25 | 29 (21; 37) | 18 (14; 22) | 19 (15; 22)* |
| 30 | 27 (22; 32) | 21 (14; 27) | 19 (17; 21) |
| 35 | 28 (21; 35) | 23 (17; 29) | 17 (13; 21)* |
| 40 | 29 (21; 37) | 22 (13; 30) | 21(17; 24)* |
| Heart rate increment duration (s) | | | |
| 15 | 13 (12; 14) | 10 (8; 11) | 12 (11; 14) |
| 20 | 13 (12; 14) | 8 (8; 9) | 13 (12; 14) |
| 25 | 13 (12; 14) | 9 (8; 11) | 13 (8; 17) |
| 30 | 13 (11; 15) | 10 (5; 14) | 11 (8; 14) |
| 35 | 14 (14; 14) | 10 (8; 12)* | 13 (10; 15) |
| 40 | 14 (13; 15) | 9 (6; 12) | 12 (9; 15) |

Data are reported as medians + 95% confidence intervals. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; *P < 0.05 compared to young women (Kruskal-Wallis and Dunn's *post hoc* test).

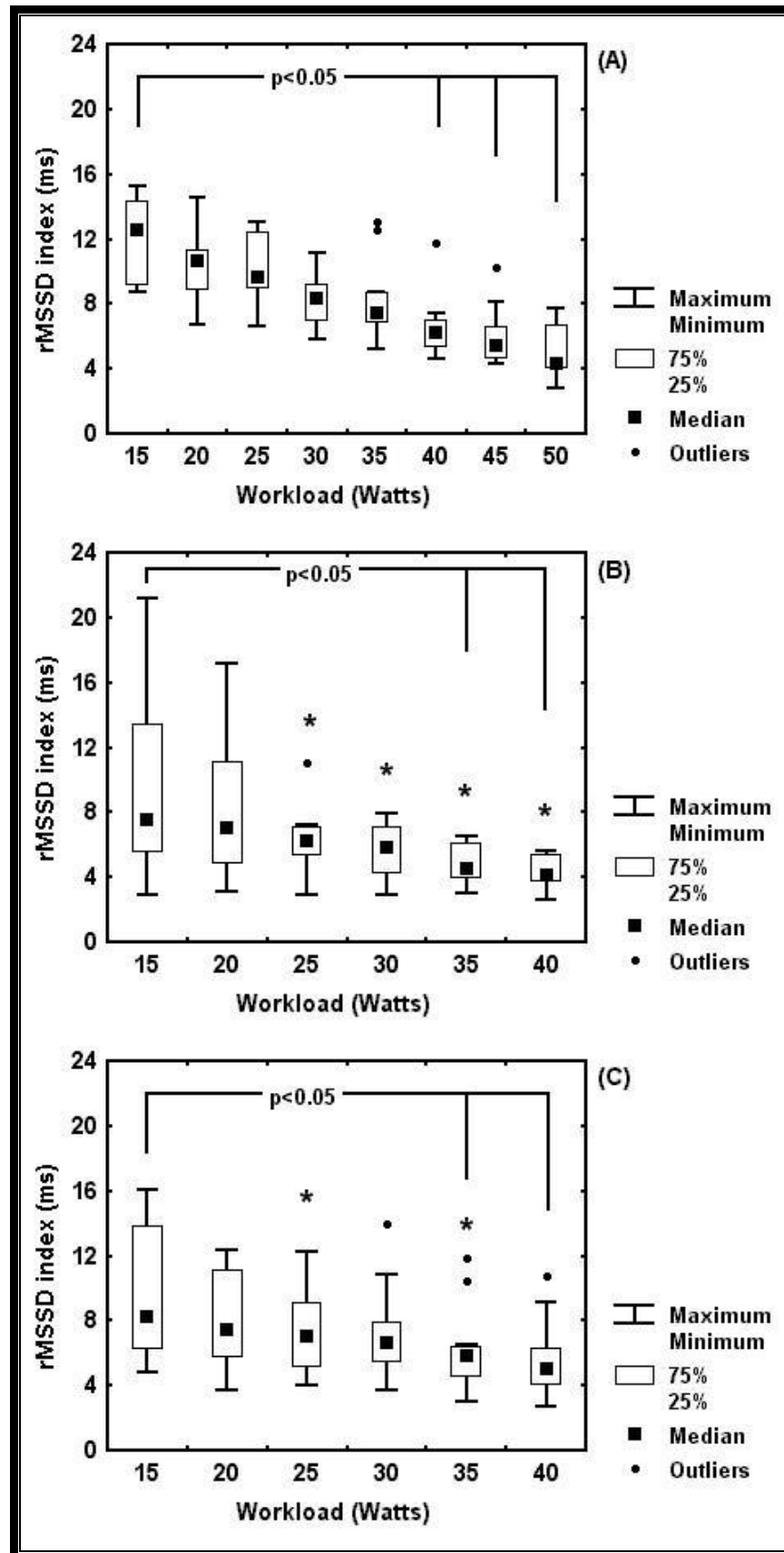


Figure 1 rMSSD index (ms) during dynamic exercise at different workloads in young (A) and postmenopausal woman undergoing (B) and not undergoing estrogen therapy (C). $P < 0.05$ compared to the 15 W (Friedman and Dunn's *post hoc* test); * $P < 0.05$ compared to young women (Kruskal-Wallis and Dunn's *post hoc* test).

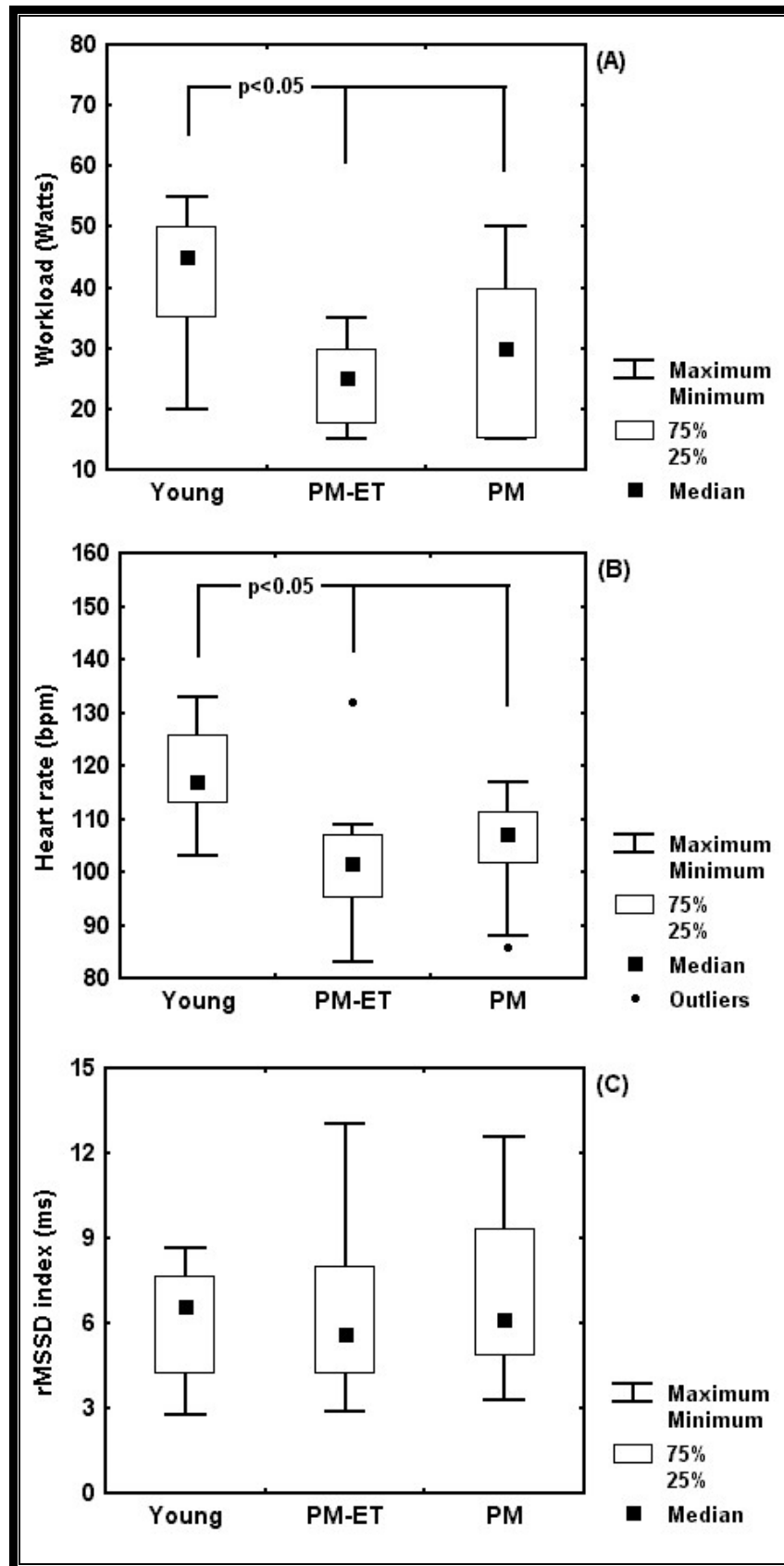


Figure 2 Workload (A), heart rate (B) and rMSSD index (C) values at which the assumed anaerobic threshold of the young and postmenopausal woman undergoing (PM-ET) and not undergoing estrogen therapy (PM) occurred during dynamic exercise test. $P < 0.05$ compared to young women (Kruskal-Wallis and Dunn's *post hoc* test).

APÊNDICE D
VERSÃO EM INGLÊS DO ESTUDO III

Versão em inglês do artigo submetido para a revista “European Journal of Applied Physiology”

Effect of age and estrogen therapy on aerobic capacity in healthy women

Valéria Ferreira Camargo Neves¹, Natália Martins Perpétuo², Lourenço Gallo Júnior³, Aparecida Maria Catai¹, Marcos Felipe Silva de Sá⁴, Renata Torres Kozuki³, Ester da Silva^{1,2}.

¹Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil. ²Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Cardiovascular e de Provas Funcionais, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP, Brasil. ³Divisão de Cardiologia, Departamento de Clínica Médica, ⁴Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Research supported by CNPq (nº 140684/2003-4) and FAPESP (nº 01/07427-2).

Correspondence: Valéria Ferreira Camargo Neves, Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, Km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP, Brasil, Telefone: +55-16-3351-8705, Fax: +55-16-3361-2081, E-mail: valeria0208@ig.com.br

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine whether estrogen therapy (ET) could attenuate the age-related decline in exercise tolerance in postmenopausal women. Thirteen young (24 ± 2.6 years), ten postmenopausal (53 ± 4.5 years) undergoing ET (PMET), and fifteen postmenopausal (56 ± 2.8 years) women not undergoing ET (PMnET) were studied. ET consisted of 0.625 mg/day of conjugated equine estrogen. They performed a cardiopulmonary exercise test, on a cycle ergometer, with 10 to 20 W/min increments until physical exhaustion. The ventilatory and metabolic variables were obtained breath-by-breath basis and the heart rate (HR) was recorded on a beat-to-beat basis, in real time. Workload median values were higher ($P < 0.05$) in young at anaerobic threshold (AT) and peak exercise (51 and 126 W, respectively) than the PMET (35 and 74 W) and the PMnET (32 and 79 W). Oxygen uptake ($\dot{V}O_2$) values also were higher in young (AT: 11.76 and peak: 23.24 mL/kg/min; $P < 0.05$) than the PMET (9.05 and 14.63 mL/kg/min) and the PMnET (8.87 and 14.91 mL/kg/min). HR was similar between groups at AT and significantly higher in young group at peak exercise. The percentile values of AT to peak for $\dot{V}O_2$ and HR was lower ($P < 0.05$) in young (52 and 64%, respectively) than in PMET (66 and 71 %) and PMnET (63 and 72 %). Our results suggest that estrogen therapy was not capable of attenuating the age-related decline in aerobic physical capacity for the postmenopausal women studied.

Keywords: Aging, menopause, estrogen therapy, aerobic capacity.

INTRODUCTION

Cardiopulmonary exercise testing is a noninvasive assessment that provides important information about integrity of systems involved in the gas exchange during the exercise. Two parameters are commonly used for that: the maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2\max}$) and the anaerobic threshold (AT) (Beaver et al., 1986; Wasserman et al., 1999).

Aerobic physical capacity decreases with advancing age (Fitzgerald et al., 1997; Schiller et al., 2001; Weiss et al., 2006). In women, the postmenopausal hormonal changes may be a contributing factor to these alterations (Mercurio et al., 2006), because of the effects of estrogen deficiency on blood flow and vasodilator reserve (Mercurio et al., 1999). However, other studies did not find modifications in cardiorespiratory fitness due to the postmenopausal condition (Wells et al., 1992; Green et al., 2002).

The role of hormone therapy on the cardiovascular hemodynamic has been discussed in literature. Previous studies have shown its favorable effects on myocardial function (Gallinelli et al., 1999; Fenkci et al., 2003), endothelium-dependent vasodilatation (Sanada et al., 2001; Mares et al., 2002), peripheral blood flow (Lau et al., 1998; Moreau et al., 2003), arteriolar distensibility and baroreceptor sensitivity (De Meersman et al., 1998). Thus, estrogen therapy might be expected to improve exercise tolerance in postmenopausal women by increasing oxygen delivery or uptake.

In view of these considerations, the purpose of this study was to test the hypothesis that the use of estrogen therapy can attenuate the age-related decline in exercise tolerance in postmenopausal women, since low cardiorespiratory fitness has been associated with increased risks for cardiovascular diseases (Kokkinos et al., 1995; Haddock et al., 1998).

METHODS

A cross-sectional study was conducted in 38 healthy young and postmenopausal women who fulfilled established criteria. The young subjects presented regular menstrual cycles and were not using contraceptives drugs. Experimental procedures were always performed during the follicular phase of their cycle, when hormonal variations are not influenced by progesterone. The

postmenopausal state was defined as age above 48 years, the absence of a menstrual cycle for the last 12 months for patients who had uterus and serum follicular-stimulating hormone (FSH) levels above 30 mIU/ml. None of the subjects followed any program of regular aerobic exercise. Subjects showing evidence of cardiac or respiratory disease, hypertension (blood pressure \geq 140/90 mmHg), diabetes mellitus, thromboembolic disease, dysthyroidism, stroke, depression, obesity (body mass index \geq 30 kg/m²) or a history of smoking or alcoholism were excluded from the study. None of the subjects were using sedatives, anti-hypertensive or anti-arrhythmic medication, or other medications capable of affecting cardiopulmonary responses.

Thirteen young women, fifteen postmenopausal women not undergoing hormone therapy (PMnET) and ten women undergoing estrogen therapy (PMET) for at least one year took part in the study. In the last group, all women had a previous history of hysterectomy and were continuously using oral conjugated equine estrogen at doses of 0.625 mg/day. This hormonal treatment had been indicated to subjects showing vasomotor symptoms, osteopenia or osteoporosis. Age and anthropometric and clinical characteristics of the subjects in the groups studied are presented in Table 1.

Blood pressure (BP) was measured to confirm that it was within normal limits. Two measurements were performed on two non-consecutive days by the brachial artery auscultatory method using a mercury column sphygmomanometer (WanMed, São Paulo, SP, Brazil) and a stethoscope (Littmann, St. Paul, MN, USA). For this procedure the subjects remained at rest in the sitting position for at least 5 min, with feet on the floor, and the arm supported at heart level (Chobanian et al., 2003). The mean blood pressure values are reported in Table 1.

All subjects included in the present study had blood count, urinalysis and electrocardiogram at rest within normal limits. The results of the maximum treadmill exercise test were negative for myocardial ischemia and arrhythmia in all cases. Additionally, the results of clinical biochemical screening tests (glucose, total cholesterol and fractions, triglycerides, urea, creatinine, thyroid-stimulating hormone, and serum estradiol) are presented in Table 2.

The study was approved by the local Ethics Committee. The purpose of the study was explained to subjects prior to obtaining their written informed consent.

Experimental Procedure

Experiments were always carried out in the morning in order to avoid response differences due to circadian changes. Room temperature was kept at 22°C and relative air humidity between 40 and 60 %. Subjects were acquainted with the experimental protocol and instructed to abstain from stimulants and alcoholic beverages, not to perform extenuating physical activity during the 24 hours preceding the exam and to ingest a light meal at least 2 hours prior to the exercise trials.

On each experimental day, the subjects were interviewed and examined prior to the beginning of the test to verify their continued good health and if they had had a normal night's sleep. After a 15-min rest in the supine position, blood pressure and heart rate (HR) were measured to determine whether the basal conditions of the subjects were adequate for the experiment.

Experimental Protocol

The experiment consisted of an integrative cardiopulmonary exercise test, performed on an electromagnetic braked cycle ergometer (Corival 400 Model, Quinton, Seattle, WA, USA). This protocol consisted of a 4 min. warm-up period at 4 W followed by a continuous workload increase set at a value of 10 to 20 W/min up to physical exhaustion. Workload increments were determined for each subject according to the formula proposed by Wasserman et al. (1999). The pedaling rate was set at 60 rpm and was monitored frequently throughout the test. To avoid syncope after reaching peak workload, the subjects continued the exercise at a lower pedaling frequency and workload for approximately three minutes.

During the test, an electrocardiogram and HR data were obtained from a one-channel heart monitor (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brazil) and processed using an analog-digital converter Lab. PC+ (National Instruments Co., Austin, TX, USA), representing an interface between the heart monitor and a Pentium III microcomputer. Signals were recorded in real time after analog to digital conversion at a sampling rate of 500 Hz, and the R-R intervals (ms) were calculated on a beat-to-beat basis using specific software (Silva et al., 1994).

Ventilatory and metabolic variables were obtained on a breath-by-breath basis using an automated exercise metabolic system (CPX-D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA). Before each test, the system was calibrated using a fixed concentration of standard gases. These variables were subsequently processed and calculated as

moving means after every eight respiratory cycles for better kinetic observation of responses during the exercise.

In all subjects, AT was measured when the carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$) began to increase non-linearly as compared to oxygen uptake ($\dot{V}O_2$). This was determined by visual analysis of $\dot{V}O_2$ and $\dot{V}CO_2$ curve responses (Fig. 1) by three different observers with proven experience in the application of this procedure. The visual analysis was based on the V-Slope method (Beaver et al., 1986). The AT value was considered as the mean of the data obtained from the analysis by three observers.

The selected section for subsequent AT determination was set at the starting of ventilatory and metabolic variable responses to power output increments up to the respiratory compensation point (i.e., second AT) or up to the end of the exercise when the volunteer no longer presented a second AT (Fig. 1).

Then, the workload and HR data at the AT and peak exercise were registered. For measurement of ventilatory and metabolic variables, a linear adjustment model (Phiton et al., 2006) was used in order to minimize the effects of breath-to-breath fluctuations and avoid under- or overestimating measurement values (Kelly et al., 2001). The model was applied to a data set of twenty-one values, comprised of the identified AT point with ten pre and ten post AT point values. For the peak exercise values, the last twenty-one values were taken into consideration (Phiton et al., 2006). Additionally, the ratio of AT to peak (AT/Peak ratio) for $\dot{V}O_2$ and HR, was calculated as a percentage.

Statistical Analysis

One-way ANOVA was performed to compare the physical and clinical characteristics of the three experimental groups and, when appropriate, *post hoc* analyses were conducted using the Tukey HSD for unequal N. To compare the menopausal time periods, serum FSH and serum estradiol levels of the postmenopausal groups, an unpaired *t*-test was carried out. Cardiorespiratory variables obtained during the experimental trials were tested for normality (Kolmogorov-Smirnov test). Since the data were shown not to be normally distributed, comparisons between groups were performed using the Kruskal-Wallis test and, when appropriate, *post hoc* analyses were conducted using Dunn's multiple

comparison test. For association between variables, the Spearman correlation test was used. The level of significance was set at $P < 0.05$. Data are reported as medians followed by 95% confidence intervals.

RESULTS

The young group presented lower weight and higher height than the PMnET group. The body mass index and BP of the young group was lower than those of the postmenopausal groups ($P < 0.05$; Table 1). No significant differences in mean menopausal time periods were observed between the postmenopausal groups. The average period of estrogen therapy use was 5 ± 4.3 years.

Table 2 also shows that there were no significant differences in serum concentrations of glucose, HDL cholesterol, urea, creatinine or thyroid-stimulating hormone between groups. The young group presented significantly lower ($P < 0.05$) triglyceride and total cholesterol values compared to the PMET group, and lower LDL cholesterol values compared to the PMnET group. Serum FSH levels did not differ between the postmenopausal groups, but the serum estradiol levels were higher in the PMET group ($P < 0.05$).

In the AT level, the workload values of the young group was higher than those of the postmenopausal groups ($P < 0.05$; Table 3). The $\dot{V}O_2$ and $\dot{V}CO_2$ values of the young group also were higher than those postmenopausal groups, but the difference was only statistically significant ($P < 0.05$) in relation to the PMnET group. No significant differences in HR, respiratory exchange ratio (RER), minute ventilation ($\dot{V}E$), breathing frequency (f_b) and tidal volume (V_T), were observed between groups.

In the peak exercise, the young group had higher workload, HR, $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, and $\dot{V}E$ values than the postmenopausal groups ($P < 0.05$; Table 3). The V_T values were significantly higher in young than in PMnET group. The RER and f_b values were similar between groups.

Fig. 2 shows that the $\dot{V}O_2$ values (mL/kg/min) at the AT and peak exercise of the young group was higher than those of the postmenopausal groups ($P < 0.05$). On the other hand, the AT/peak ratio for $\dot{V}O_2$ and HR was significantly lower in young group in comparison to the postmenopausal groups ($P < 0.05$).

A significant correlation was observed between $\dot{V}O_2$ peak reported as absolute values (mL/min) and age ($r_s = -0.72$) and systolic BP ($r_s = -0.55$). A

significant correlation was also observed between $\dot{V}O_2$ peak reported as normalized values for body weight (mL/kg/min) and age ($r_s = -0.60$), body mass index ($r_s = -0.68$), systolic BP ($r_s = -0.55$), diastolic BP ($r_s = -0.59$), triglycerides ($r_s = -0.55$) and total cholesterol ($r_s = -0.52$). No significant correlation was observed between $\dot{V}O_2$ peak and serum estradiol levels.

DISCUSSION

It has been suggested that estrogen hormone levels can influence cardiopulmonary response during dynamic exercise (Redberg et al., 2000; Özdemir et al., 2004; Mercurio et al., 2006). Nevertheless, the present investigation shows that postmenopausal changes and estrogen therapy did not influence our results and that age was the major factor for the decline in physical capacity in the healthy postmenopausal women.

Our hypothesis was that the vasodilator action of estrogen hormones (Sanada et al., 2001; Moreau et al., 2003) might increase the oxidative capacity of the muscles and consequently improves exercise tolerance and peak exercise capacity in postmenopausal women. Our results, in turn, not support this hypothesis, since no differences were observed between the postmenopausal groups for any of the cardiorespiratory variables measured. In addition, no statistically significant correlation was observed between serum estradiol levels and $\dot{V}O_2$ peak.

The present findings agree with previous studies, which have reported no improvement in exercise capacity despite the fact that hormone therapy had provoked an increase in peripheral blood flow (Green et al., 2002; Kirwan et al., 2004; Aldrighi et al., 2005; Fogelberg et al., 2006). The mechanism responsible for these results remains unknown, but it can be related to fact that the increase in vasodilatory capacity with estrogen therapy may be nonspecific to skeletal muscle and generalized to the entire vascular bed (Kirwan et al., 2004) and should be explored in future studies.

The present data confirm the results obtained in other studies (Fitzgerald et al., 1997; Ribeiro et al., 2001; Schiller et al., 2001; Weiss et al., 2006) showing an age-related decline in exercise tolerance, since the young women presented higher workload and $\dot{V}O_2$ values at AT and peak exercise in comparison to postmenopausal groups. In fact, a significant correlation was observed between $\dot{V}O_2$ peak and age. In

relation to HR, the lower values observed in peak exercise for these groups can be explained by diminished β -adrenergic responsiveness due to aging (Seals et al., 1994; Lakatta & Levy, 2003). Additionally, the impairment effect of the estrogen deficiency on cardiorespiratory capacity recently reported (Mercuro et al., 2006) was not confirmed by our results. Thus, our findings show that age was the major factor in the decline in physical capacity of the postmenopausal women.

An interesting finding of the present investigation was the higher AT/Peak ratio for $\dot{V}O_2$ values in the postmenopausal groups. Similar results were observed by other authors, who attributed these results to the slower rate of decline in AT with aging than in $\dot{V}O_2$ peak (Jones et al., 1985; Paterson et al., 1999). The slower decline in AT may reflect a preserved metabolic function of muscle oxidation, while the greater decline in $\dot{V}O_2$ peak/max can be related to loss of oxygen delivery capacity.

The present investigation also found lower $\dot{V}O_2$ values than reported in the literature (Redberg et al., 2000; Green et al., 2002; Kirwan et al., 2004; Mercuro et al., 2006). These differences may be related to lifestyle habits, diet and the anthropometrics of the populations studied, or even the ergometrics and equipment utilized in the collection of data.

Another important factor to be considered in this study was the significant correlation between $\dot{V}O_2$ peak and some risk factors for cardiovascular diseases. This analysis verified that women with lower $\dot{V}O_2$ peak values presented a lipid profile, blood pressure and a less favorable body mass index. Similar results were observed by other authors (Kokkinos et al. 1995; Haddock et al., 1998).

Therefore, estrogen therapy's lack of effect on exercise tolerance, associated with the low level of physical fitness and sedentary lifestyle, and considering the existence of studies indicating the occurrence of positive changes in aerobic capacity and in risk factors for cardiovascular disease after aerobic exercise training (Shephard & Balady, 1999; O'Donovan et al., 2005), reinforces the importance of physical exercise as an integral part of clinical orientation for women going through climacteric period. However, the physical exercise prescription should be individualized for the physical capacity of each patient. The AT is an important parameter that has been commonly used for that (Garcez et al., 2001; Meyer et al., 2006). Thus, in accordance with our results an improvement in the aerobic capacity

of postmenopausal women can be achieved with a training intensity around 70% of HR peak and/or 60% of $\dot{V}O_2$ peak.

The cross-sectional design of this study is a limitation, since the characteristics of the cardiopulmonary responses during exercise in postmenopausal women prior to the use of estrogen therapy were not known. However, rigorous criteria of inclusion and exclusion were established in the study in order to control factors that could influence the variables studied.

In conclusion, our results suggest that the decline of exercise capacity observed in postmenopausal women seems to be more related to the aging process, than to the estrogen deficiency that occurs in that period. Estrogen therapy had no influence on the cardiopulmonary responses during dynamic exercise in postmenopausal women studied. Studies are underway in our laboratory to evaluate the effects of long-term physical activity on the cardiopulmonary response during dynamic exercise in postmenopausal women undergoing or not hormone therapy.

Table 1 Age and anthropometric and clinical characteristics of the groups studied.

| | Young (N = 13) | PM with ET (N = 10) | PM without ET (N = 15) |
|--------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------|
| Age (years) | 24 ± 2.6 | 53 ± 4.5* | 56 ± 2.8* |
| Weight (kg) | 57 ± 6.0 | 66 ± 9.8 | 67 ± 7.2* |
| Height (cm) | 163 ± 6.0 | 158 ± 5.6 | 157 ± 5.6* |
| BMI (kg/m ²) | 21.6 ± 2.5 | 26.4 ± 3.6* | 25.3 ± 3.4* |
| SBP (mmHg) | 99 ± 8.6 | 115 ± 11.8* | 121 ± 16.2* |
| DBP (mmHg) | 67 ± 5.5 | 77 ± 6.7* | 78 ± 9.0* |
| Menopause time (years) | -- | 6 ± 4.6 | 7 ± 4.8 |
| ET time (years) | -- | 5 ± 4.3 | -- |

Data are reported as means ± SD. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; *P < 0.05 compared to young women (One way ANOVA and Tukey's *post-hoc* test).

Table 2 Clinical biochemical characteristics of the groups studied.

| | Young (N = 13) | PM with ET (N = 10) | PM without ET (N = 15) |
|------------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------|
| Glucose (mg/dL) | 80 ± 6.2 | 87 ± 9.7 | 80 ± 11.3 |
| Triglyceride (mg/dL) | 78 ± 28.9 | 162 ± 90.2* | 132 ± 67.6 |
| Total cholesterol (mg/100mL) | 174 ± 28.5 | 227 ± 55.7* | 212 ± 38.2 |
| LDL cholesterol (mg/100mL) | 102 ± 28.4 | 137 ± 41.6 | 137 ± 35.1* |
| HDL cholesterol (mg/100mL) | 56 ± 9.7 | 58 ± 10.5 | 48 ± 13.5 |
| Urea (mg/dL) | 32.7 ± 3.8 | 28 ± 6.0 | 29.6 ± 6.7 |
| Creatinine (mg/dL) | 0.9 ± 0.1 | 0.9 ± 0.1 | 0.9 ± 0.2 |
| TSH (mIU/mL) | 2.0 ± 0.8 | 1.8 ± 1.6 | 2.6 ± 1.9 |
| FSH (mIU/mL) | -- | 66 ± 34.5 | 78 ± 47.8 |
| Serum estradiol (pg/mL) | -- | 59 ± 23.6 | 23 ± 5.7** |

Data are reported as means ± SD. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; LDL = low-density lipoprotein; HDL = high-density lipoprotein; TSH = thyroid-stimulating hormone; FSH = follicular-stimulating hormone; *P < 0.05 compared to young women; **P < 0.05 compared to PM women with ET (One-Way ANOVA and Tukey's *post-hoc* test; unpaired *t*-test).

Table 3 Cardiorespiratory variables at anaerobic threshold and peak exercise.

| | Young (N = 13) | PM with ET (N = 10) | PM without ET (N = 15) |
|----------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------|
| <i>Anaerobic threshold</i> | | | |
| Workload (Watts) | 51 (48; 54) | 35 (29; 40)* | 32 (28; 36)* |
| Heart rate (beats/min) | 115 (112; 118) | 106 (94; 118) | 103 (96; 110) |
| $\dot{V}O_2$ (mL/min) | 661 (620; 702) | 580 (531; 629) | 578 (554; 602)* |
| $\dot{V}CO_2$ (mL/min) | 640 (602; 678) | 571 (542; 600) | 566 (544; 588)* |
| RER | 0.95 (0.92; 0.98) | 0.95 (0.93; 0.97) | 0.96 (0.94; 0.98) |
| \dot{V}_E (L/min) | 18.9 (17.5; 20.3) | 19.3 (17.2; 21.4) | 17.2 (16.3; 18.1) |
| f_b (breaths/min) | 22 (20; 24) | 22 (19; 25) | 24 (22; 26) |
| V_T (mL/min) | 800 (754; 846) | 742 (560; 924) | 820 (739; 901) |
| <i>Peak Exercise</i> | | | |
| Workload (Watts) | 126 (115; 137) | 74 (66; 82)* | 79 (74; 84)* |
| Heart rate (beats/min) | 175 (170; 180) | 156 (147; 165)* | 145 (137; 153)* |
| $\dot{V}O_2$ (mL/min) | 1309 (1247; 1371) | 945 (847; 1043)* | 959 (899; 1019)* |
| $\dot{V}CO_2$ (mL/min) | 1734 (1675; 1793) | 1142 (1010; 1275)* | 1231 (1116; 1346)* |
| RER | 1.37 (1.33; 1.41) | 1.32 (1.27; 1.36) | 1.28 (1.21; 1.35) |
| \dot{V}_E (L/min) | 57.1 (53.7; 60.5) | 41.4 (35.0; 47.9)* | 37.1 (34.0; 40.2)* |
| f_b (breaths/min) | 41 (36; 46) | 31 (28; 35) | 31 (27; 35) |
| V_T (mL/min) | 1352 (1200; 1504) | 1260 (1139; 1380) | 1232 (1174; 1291)* |

Data are reported as medians + 95% confidence intervals. PM = postmenopausal; ET = estrogen therapy; $\dot{V}O_2$ = oxygen uptake; $\dot{V}CO_2$ = carbon dioxide output; RER = respiratory exchange ratio; \dot{V}_E = minute ventilation; f_b = breathing frequency; V_T = tidal volume; *P < 0.05 compared to young women (Kruskal-Wallis and Dunn's *post hoc* test).

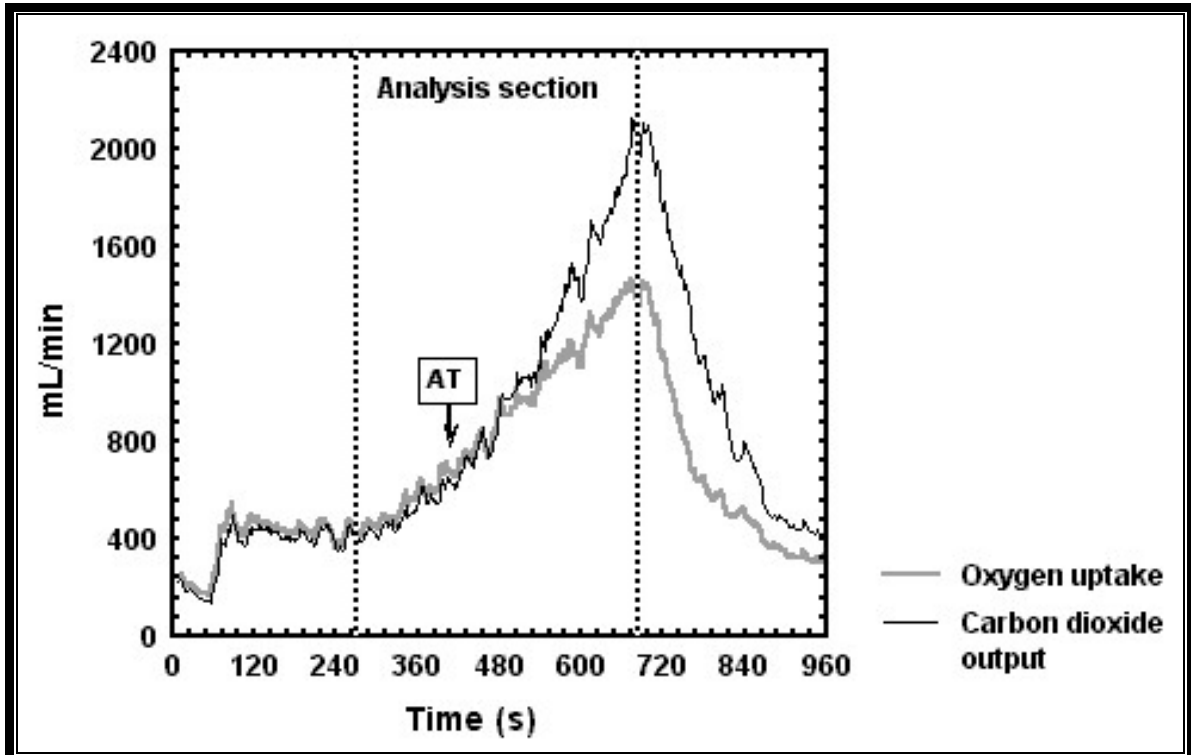


Fig. 1 Oxygen uptake and carbon dioxide output responses during dynamic exercise test of a representative subject from the young group. The vertical lines correspond to the starting of ventilatory and metabolic variables responses to workload increments up to the peak exercise (analysis section). The arrow indicates the time period (s) in which carbon dioxide output began to increase non-linearly as compared to oxygen uptake in the anaerobic threshold (AT) determination.

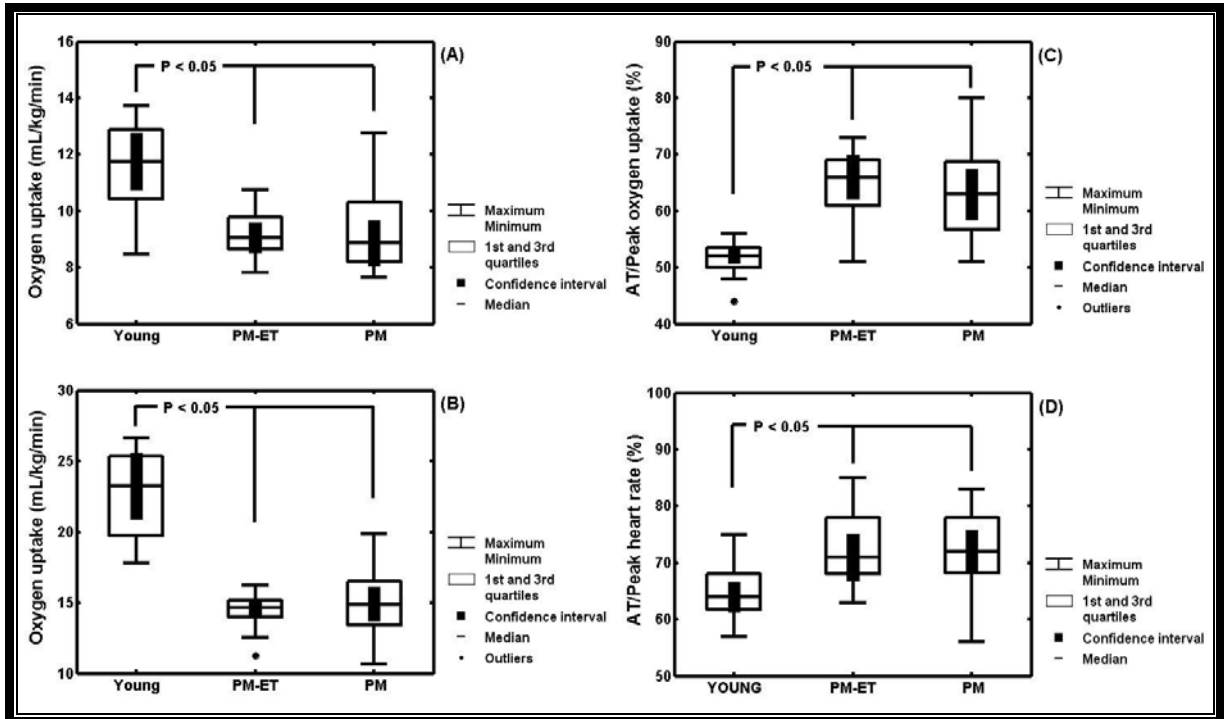


Fig. 2 Oxygen uptake values (mL/kg/min) at anaerobic threshold (A) and at peak exercise (B), and the ratio of anaerobic threshold to peak (AT/Peak, %) for oxygen uptake (C) and heart rate (D), of the young and postmenopausal women undergoing (PM-ET) and not undergoing (PM) estrogen therapy. (Intergroup comparisons: Kruskal-Wallis and Dunn's *post hoc* test).

APÊNDICE E

ESTUDO IV: TRABALHO VINCULADO À TESE DE DOUTORADO

ANÁLISE DOS ÍNDICES ESPECTRAIS DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM HOMENS DE MEIA IDADE E MULHERES NA PÓS-MENOPAUSA

NEVES VFC¹, PERPÉTUO NM², SAKABE DI³, CATAI AM¹, GALLO JR L⁴, SILVA DE SÁ MF³,
MARTINS LEB⁵ E SILVA E^{1,2}

¹ Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP – Brasil

² Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Cardiovascular e de Provas Funcionais, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP - Brasil

³ Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Hospital das Clínicas, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP - Brasil

⁴ Divisão de Cardiologia do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Hospital das Clínicas, USP, Ribeirão Preto, SP - Brasil

⁵ Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP - Brasil

Correspondência para: Ester da Silva, Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Cardiovascular e de Provas Funcionais, Mestrado em Fisioterapia - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, Rodovia do Açúcar, Km 156, CEP 13400-911, Piracicaba, SP – Brasil, e-mail: esilvas@unimep.br

Recebido: 29/08/2005 - Revisado: 28/03/2006 - Aceito: 26/06/2006

RESUMO

Objetivo: Analisar e comparar a variabilidade da frequência cardíaca (VFC), em repouso, de homens e mulheres de meia-idade. **Métodos:** Foram estudados 10 homens ($54 \pm 3,2$ anos) e 14 mulheres na pós-menopausa ($56 \pm 2,6$ anos) que não faziam uso de terapia hormonal. A frequência cardíaca (FC) e os intervalos R-R foram obtidos a partir do eletrocardiograma, batimento a batimento, durante 8 minutos em repouso, nas posições supina e sentada. A VFC foi analisada no domínio da frequência, usando a transformada rápida de Fourier, por meio da qual foram obtidas as bandas de baixa (BF) e alta frequência (AF), as quais foram expressas em unidades normalizadas (AFun) e (BFun) e na razão BF/AF. Foram utilizados os testes estatísticos não-paramétricos de Mann-Whitney e de Wilcoxon, com nível de significância de $\alpha = 5\%$. **Resultados:** Na comparação intergrupo, as mulheres apresentaram maiores valores da banda AFun e menores valores da banda BFun e da razão BF/AF em relação aos homens, diferenças essas significativas ($p < 0,05$). Na comparação intragrupo, não foram observadas diferenças significativas nos índices de VFC entre as posições supina e sentada para os 2 grupos estudados. **Conclusão:** Nossos resultados mostram uma maior modulação vagal e menor simpática no controle autonômico da FC para as mulheres em comparação aos homens de mesma idade, o que sugere que as diferenças autonômicas relacionadas ao gênero não se devem unicamente aos níveis hormonais de estrogênio, uma vez que as mulheres estudadas já se encontravam na fase pós-menopausa. Outros fatores podem estar contribuindo para essas diferenças.

Palavras-chave: variabilidade da frequência cardíaca, homens de meia-idade, mulheres na pós-menopausa, modulação autonômica.

ABSTRACT

Analysis of Spectral Indexes for Heart Rate Variability in Middle-Aged Men and Postmenopausal Women

Objective: To analyze and compare heart rate variability (HRV) in middle-aged men and women under resting conditions. **Method:** Ten men (54 ± 3.2 years) and fourteen postmenopausal women (56 ± 2.6 years) who were not using hormonal therapy were studied. Heart rates (HR) and R-R intervals (iR-R) on a beat-to-beat basis were obtained from electrocardiograms over an eight-minute period under resting conditions, in the supine and sitting positions. The HRV was analyzed in the frequency domain by means of fast Fourier transforms and the low (LF) and high (HF) frequency bands were obtained and presented as normalized

units (LFnu and HFnu) and the LF/HF ratio. Wilcoxon and Mann-Whitney non-parametric statistical tests were used, with the significance level set at 5%. Results: Comparing between the groups, the women presented significantly higher HFnu and lower LFnu and LF/HF ratios than did the men ($p < 0.05$). Comparing within the groups, no significant differences ($p > 0.05$) were found in the HRV indexes between the supine and sitting positions for either study group. Conclusion: Our results show greater vagal modulation and lower sympathetic activity in autonomic heart rate control among women than among men of similar age. This suggests that the gender-related autonomic differences are not solely dependent on estrogen levels, since the women studied were already postmenopausal. Other factors may be contributing towards these differences.

Key words: heart rate variability, middle-aged men, postmenopausal women, autonomic modulation.

INTRODUÇÃO

As mulheres, como os homens, compartilham vários fatores de risco para doença cardiovascular, tais como história familiar, dieta, obesidade, tabagismo, dislipidemia, níveis altos de homocisteína, fibrinogênio alto, sedentarismo, diabetes mellitus e hipertensão. Entretanto, as mulheres têm o fator de risco único da menopausa¹. Mulheres mais jovens têm um risco significativamente menor de desenvolver doenças cardiovasculares em comparação aos homens da mesma faixa etária. No entanto, com o avanço da idade, especialmente após a menopausa, esse risco se aproxima ao dos homens^{1,2}. Acredita-se que essa maior vulnerabilidade esteja relacionada à diminuição dos níveis hormonais de estrogênio³. Esses parecem proteger as mulheres pela promoção de um perfil lipídico antiaterogênico e pela ação direta sobre a parede dos vasos sanguíneos⁴.

Diversos marcadores fisiológicos são utilizados para avaliar as condições de saúde dos indivíduos, bem como estimar o risco de acometimentos cardiovasculares através de reflexos gerais e específicos. O sistema nervoso autônomo exerce grande efeito modulador sobre o sistema cardiovascular em condições fisiológicas e patológicas. Arcos reflexos aferentes enviam informações a partir do sistema nervoso central e periférico para os centros autonômicos cerebrais no bulbo, sendo as mesmas processadas e enviadas de volta ao coração por vias eferentes. As respostas desenvolvem-se de forma muito rápida e têm como finalidade básica manter a homeostase local.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é uma importante ferramenta de avaliação não-invasiva da integridade da função neurocardíaca. Ela reflete a interação das eferências simpática e parassimpática sobre o nodo sinusal. No entanto, para se avaliar a relativa contribuição de cada uma dessas eferências na modulação autonômica cardíaca, são utilizadas análises no domínio da frequência⁵.

Estudos prévios têm relatado importantes alterações do controle autonômico da frequência cardíaca (FC) em função da idade^{6,7} e do nível de condicionamento físico^{8,9}, em indivíduos de ambos os sexos. Na mulher, a redução da VFC decorrente do envelhecimento parece estar associada à depressão dos níveis hormonais de estrogênio que ocorre em razão da menopausa^{7,10}. Diferenças autonômicas relacionadas ao gênero também têm sido reportadas na

literatura. A maior dominância vagal sobre a regulação da FC observada nas mulheres pode ser responsável pela cardioproteção dessas comparadas aos homens^{6,11}. No entanto, com o envelhecimento, essas diferenças tendem a desaparecer⁶.

Considerando-se que, após a menopausa, tem sido observado um aumento na incidência de doenças cardiovasculares^{1,2} e que reduções nos índices de VFC tem sido associados a um aumento no risco de ocorrências de eventos cardiovasculares¹², torna-se necessário que estudos sejam realizados, avaliando índices que refletem a integridade cardiovascular, tanto no homem como na mulher pós-menopausa, uma vez que tais informações são relevantes tanto para a avaliação como para a intervenção precoce. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi analisar e comparar a VFC de homens de meia-idade e de mulheres na pós-menopausa, saudáveis e sedentários, em condições de repouso, nas posições supina e sentada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (parecer nº 019/2001). Todos os voluntários foram informados e esclarecidos a respeito do protocolo experimental a que seriam submetidos e assinaram um termo de consentimento formal, aceitando participar do estudo.

Para inclusão dos voluntários, neste trabalho, foram considerados os seguintes critérios: estilo de vida sedentário; não tabagistas; não usuários de drogas que causassem dependência química; não obesos; não portadores de anormalidades do sistema cardiovascular, respiratório ou musculoesquelético; não usuários de medicações anti-hipertensivas, cardioativas e antivertiginosas. Para o grupo de mulheres na pós-menopausa também foram consideradas a ausência de fluxo menstrual espontâneo há mais de 12 meses consecutivos e a concentração sérica do hormônio folículo estimulante (FSH) maior do que 30 mIU/ml.

Foram estudados 24 voluntários saudáveis, sendo 14 mulheres na fase pós-menopausa que não faziam uso de terapia hormonal e 10 homens de meia-idade. A idade e as características antropométricas dos grupos estudados estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Idade, características antropométricas e clínicas dos grupos estudados.

| Variáveis | Mulheres (n=14) | Homens (n=10) |
|--------------------------|-----------------|------------------------|
| Idade (anos) | 56 ± 2,6 | 54 ± 3,2 |
| Estatura (cm) | 158 ± 6,1 | 167 ± 5,2 ^a |
| Massa corporal (kg) | 62 ± 9,4 | 73 ± 8,9 ^a |
| IMC (kg/m ²) | 24,8 ± 3,2 | 26,1 ± 2,6 |
| FC (bpm) | 67 ± 7,5 | 65 ± 7,4 |
| PAS (mmHg) | 118 ± 17,6 | 118 ± 6,3 |
| PAD (mmHg) | 76 ± 10,5 | 79 ± 3,4 |

Dados expressos em média ± DP. IMC = índice de massa corporal; FC = frequência cardíaca; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; ^ap<0,05 em relação às mulheres pós-menopausa.

Todos os voluntários apresentaram resultados dos exames laboratoriais (hemograma, glicemia de jejum, colesterol total e frações, triglicérides e urina rotina) e do eletrocardiograma em repouso dentro dos limites de normalidade; o resultado do teste ergométrico foi negativo para isquemia miocárdica e arritmias em todos os casos. Nesse teste, os voluntários foram classificados quanto a sua capacidade aeróbia e todos foram considerados como “fracos”, de acordo com a American Heart Association.

O estudo foi realizado em laboratório climatizado artificialmente, com temperatura ambiente mantida em torno de 23°C e a umidade relativa do ar em torno de 50%. Foi promovida a familiarização progressiva de cada voluntário com os equipamentos, pessoal, local, avaliação e testes que foram aplicados.

Foi orientado a todos os voluntários que não ingerissem bebidas alcoólicas e/ou estimulantes (chá, café e outros) 24 horas antes dos testes, que tivessem uma boa noite de sono, que não utilizassem medicamentos e que fizessem uma refeição leve pelo menos 2 horas antes do teste.

Antes da realização do protocolo experimental, foi realizado um repouso inicial por um período de 15 minutos, na posição supina, para que as variáveis cardiovasculares, pressão arterial (PA) e FC retornassem aos valores basais.

O eletrocardiograma (ECG) e a FC foram captados batimento a batimento, em tempo real, por meio de uma interface entre um monitor cardíaco de um canal (TC500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brasil) e um microcomputador (Pentium III 500MHz). O sinal analógico do ECG, captado a partir da derivação MC5 (pólo negativo no manúbrio esternal, pólo positivo posicionado no quinto espaço intercostal, na linha hemiclavicular esquerda, e o neutro no quinto espaço intercostal direito), foi digitalizado com uma frequência de amostragem de 500 Hz por meio de um conversor analógico-digital (Lab. PC+, NATIONAL INSTRUMENTS, CO, Austin, TX, USA) e processado por um software específico (STEF 1.01 PC-LPM-16 PnP)¹³, que realizava o cálculo dos intervalos R-R e da FC em valores instantâneos, amostrados em tempo

real e armazenados em disco, permitindo, assim, a análise posterior dos dados.

Os voluntários foram orientados a se manterem em repouso, a respirarem espontaneamente e a não conversarem com os experimentadores. Após os 15 minutos iniciais de repouso, iniciou-se a coleta da FC durante 8 minutos em cada posição: supina e sentada.

A análise VFC foi realizada no domínio da frequência. Para isso, utilizou-se o procedimento de retirada de tendência linear, e a transformada rápida de Fourier foi aplicada em janela única, na sequência dos valores dos intervalos R-R, com o mínimo de 256 batimentos consecutivos⁵, e foram computadas as potências espectrais em três bandas de: muito baixa frequência (MBF: < 0,04 Hz), de baixa frequência (BF: 0,04-0,15 Hz) e de alta frequência (AF: 0,15-0,4 Hz). Neste estudo, utilizamos as bandas de BF e AF, que melhor representam a atuação dos componentes simpático e vagal no controle da FC, respectivamente⁵. Esses componentes espectrais foram expressos em unidades normalizadas (BFun e AFun), as quais correspondem ao percentual do espectro total de potência subtraído do componente de MBF⁵. Tais componentes ainda foram expressos como a razão entre eles (razão BF/AF), indicativa do balanço simpato-vagal⁵.

Análise Estatística

A idade, as características antropométricas e clínicas foram analisadas pelo teste *t* de student e apresentadas de forma descritiva, em média e desvio-padrão. Foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a distribuição de normalidade dos valores dos índices espectrais de VFC. Pela observação de não-normalidade na distribuição dos conjuntos de dados analisados, foram aplicados os testes não-paramétricos de Wilcoxon e Mann-Whitney. Foi considerado o nível de significância de $\alpha = 5\%$. Os resultados foram apresentados graficamente em *Box-plots*, contendo os valores da mediana, primeiro (25%) e terceiro (75%) quartis, valores máximos e mínimos, outliers e extremos.

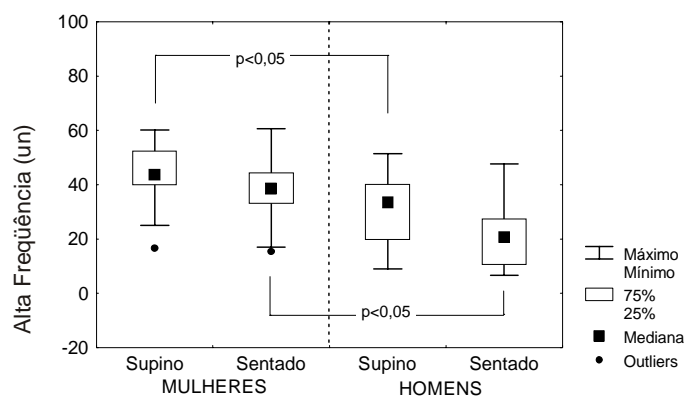


Figura 1. Valores do componente de alta frequência, em unidades normalizadas (un), dos voluntários estudados nas condições de repouso supino e sentado.

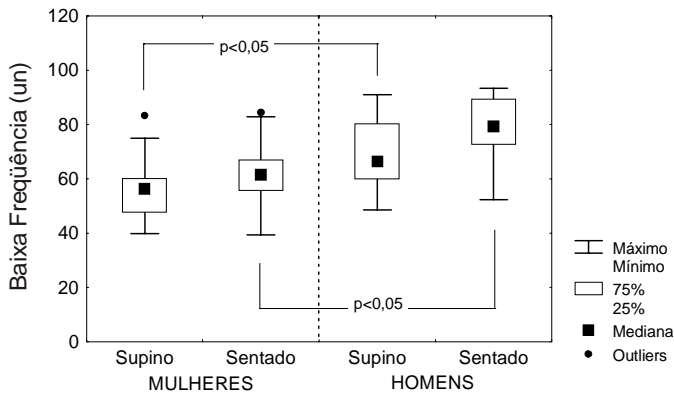


Figura 2. Valores do componente de baixa frequência, em unidades normalizadas (un), dos voluntários estudados nas condições de repouso supino e sentado.

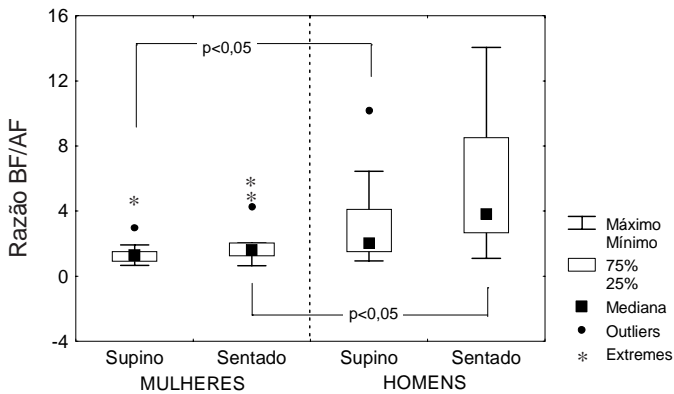


Figura 3. Valores da razão entre os componentes de baixa e alta frequência (razão BF/AF) dos voluntários estudados nas condições de repouso supino e sentado.

RESULTADOS

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os grupos quanto à idade e ao índice de massa corporal (Tabela 1). As mulheres pós-menopausa apresentaram valores inferiores de estatura e de massa corporal em relação aos homens ($p < 0,05$). Quanto à FC e à PA, em repouso, foram encontrados resultados similares entre os grupos estudados ($p > 0,05$).

Na comparação intergrupo dos índices espectrais de VFC (Figuras 1 a 3), as mulheres pós-menopausa apresentaram valores superiores do componente de AFun e inferiores do componente de BFun e da razão BF/AF em relação aos homens ($p < 0,05$), tanto na posição supina como na posição sentada. Na comparação intragrupo, não foram observadas diferenças significativas dos índices espectrais de VFC, entre as posições supina e sentada, para os 2 grupos estudados ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

A análise da VFC é uma técnica simples, não invasiva e sensível de avaliação da modulação do sistema nervoso autônomo sobre o coração e tem sido utilizada para avaliar diferentes populações, como as estudadas no presente estudo.

Está bem estabelecido na literatura que o controle autonômico da FC declina progressivamente com o avanço da idade. Esse processo tem sido demonstrado pela redução tanto dos índices que refletem a atividade vagal como daqueles que refletem a atividade simpática sobre o coração^{6,14}. No entanto, os mecanismos responsáveis para essa resposta fisiológica não são completamente conhecidos. Podem estar relacionados às alterações estruturais e funcionais no miocárdio e vasos sanguíneos, à sensibilidade dos tecidos, à atividade baro-reflexa, entre outros¹⁵.

Estudos prévios têm reportado diferenças na modulação autonômica cardíaca entre homens e mulheres. A maioria desses estudos mostra que as mulheres possuem uma maior atividade vagal e uma menor atividade simpática quando comparada aos homens^{6,16,17}, e que essas diferenças entre os gêneros diminuem com o envelhecimento^{6,18}.

No entanto, a mulher apresenta um fator diferencial no processo fisiológico do envelhecimento, que é o advento da menopausa. Devido à maior incidência de doenças cardiovasculares em homens comparados às mulheres até a idade da menopausa, pressupõe-se que a menopausa constituiu um significativo marco cardiovascular em termos de fisiologia e patologia².

Alguns autores têm observado que o estrogênio exerce um efeito protetor no sistema cardiovascular da mulher^{4,11} e, com o advento da menopausa, a redução em sua produção acarreta um aumento na atividade simpática, evidenciado pela análise da VFC, o qual, por sua vez, é revertido com o uso crônico de terapia estrogênica^{10,19}.

No presente estudo, foi observado que as mulheres apresentaram valores superiores da banda de AFun e inferiores da banda de BFun e da razão BF/AF em relação aos homens, o que reflete uma maior atividade vagal e uma menor atividade simpática atuante sobre o nodo sinoatrial nas mulheres estudadas⁵. Esses resultados indicam que as diferenças relacionadas ao gênero, na regulação autonômica cardíaca, ainda estão presentes nessa faixa etária. Considerando que as mulheres do presente estudo se encontram na fase após a menopausa e que as mesmas não são usuárias de hormônios, isso sugere que outros fatores, e não apenas os níveis fisiológicos de estrogênio, podem contribuir para tais diferenças. Desde que a banda da BF é um componente que reflete as oscilações do sistema baro-reflexo⁵, nossos achados também podem estar indicando diferenças na função baroreceptora entre homens e mulheres.

Nossos resultados corroboram os achados de outros autores que também observaram valores inferiores dos índices espectrais que refletem a atividade simpática^{17,20} e superiores

daqueles que refletem a atividade vagal^{17,20,21} sobre o controle da FC nas mulheres em comparação aos homens de meia-idade. Ryan et al.²² observaram maiores valores da razão AF/BF em mulheres jovens, de meia-idade e idosas, em relação aos homens de mesma idade, sugerindo uma maior participação vagal sobre o controle da FC. Ressalta-se que a forma de análise desse autor²², difere da forma proposta pelo Task Force⁵, que propõe a normatização da análise no domínio da frequência. Assim, tem sido proposto que a razão seja calculada pela BF/AF. No estudo de Jensen-Urstad et al.¹⁴ foram observados maiores valores da banda de BF e da razão BF/AF para os homens em todas as faixas etárias estudadas. Sakabe et al.²³ não encontraram diferenças dos índices temporais da VFC entre mulheres na pós-menopausa e homens de meia-idade.

No entanto, Liu et al.¹¹ verificaram menores valores da banda de AF e maiores valores da razão BF/AF nos homens de meia-idade em relação às mulheres pré e pós-menopausa, em uso de terapia estrogênica; mas nenhuma diferença foi observada entre os homens e as mulheres pós-menopausa não usuárias de hormônios. No estudo de Kuo et al.⁶, as diferenças entre homens e mulheres nos índices espectrais de VFC desapareceram a partir da idade de 50 anos. Ramaekers et al.¹⁸ observaram valores significativamente superiores da banda de BF nos homens em comparação às mulheres, apenas nos indivíduos mais jovens (idade < 39 anos).

Quanto à posição corporal, a literatura refere que durante a mudança postural de supino para sentado, ocorrem ajustes cardiovasculares em decorrência de a força de gravidade agir contrariando o retorno venoso para o coração, resultando num volume sistólico reduzido e FC aumentada para a manutenção do débito cardíaco. Também têm sido observadas variações no tônus vago-simpático, envolvendo a ativação das vias eferentes simpáticas e menor ativação vagal para o coração²⁴.

No presente estudo, não foram observadas diferenças significativas nos valores de VFC entre as posições supina e sentada nos 2 grupos estudados. Embora estudos prévios conduzidos em indivíduos jovens²⁵ e de meia-idade^{8,17} tenham mostrado alterações nos índices de VFC com a mudança postural, outros autores^{23,26} verificaram que, com o avanço da idade, tais alterações perdem sua significância estatística. Isso pode ser atribuído às modificações estruturais arteriais e às suas propriedades mecânicas decorrentes do envelhecimento, as quais parecem ser o evento primário no desencadeamento das alterações cardíacas. Assim, o aumento do diâmetro e da espessura das paredes arteriais, causado pela deposição de cálcio e por modificações na natureza do colágeno e da elastina na camada média vascular, leva à redução da elasticidade e a um aumento da rigidez das paredes das mesmas²⁷. O predomínio dos mecanismos constritores, mediados por diversas substâncias vasoativas, estimula a hipertrofia e a hiperplasia da musculatura lisa; o aumento da matriz extracelular, com conseqüente redução da

complacência, e o aumento da resistência vascular na elevação da pressão arterial²⁸.

Nossos resultados mostram uma maior modulação vagal e menor simpática no controle autonômico da FC para as mulheres em comparação aos homens de mesma idade, o que sugere que as diferenças autonômicas relacionadas ao gênero não se devem unicamente aos níveis hormonais de estrogênio, uma vez que as mulheres estudadas já se encontravam na fase pós-menopausa. Outros fatores podem estar contribuindo para a menor atividade simpática sobre o coração das mulheres. Se essas diferenças podem protegê-las contra o desenvolvimento de arritmias e de doenças cardíacas, requer estudos futuros, com um desenho longitudinal.

Agradecimentos: Os autores são gratos à Júlio César Crescêncio e Renata Torres Kozuki, pela assistência durante a realização do protocolo experimental. **Apoio:** CNPq (nº 140684/2003-4), FAPESP (nº 01/07427-2) e FAP-UNIMEP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Genazzani AR. Controversial issues in climacteric medicine (I) Cardiovascular disease and hormone replacement therapy. *Maturitas*. 2001; 38(3): 263-71.
2. Hayward CS, Kelly RP, Collins P. The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function. *Cardiovasc Res*. 2000; 46(1): 28-49.
3. Greendale GA, Lee NP, Arriola ER. The menopause. *Lancet*. 1999; 353(9152): 571-80.
4. Mendelsohn ME. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *Am J Cardiol*. 2002; 89(12 Suppl 1): S12-7.
5. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation*. 1996; 93(5): 1043-65.
6. Kuo TBJ, Lin T, Yang CCH, Li CL, Chen CF, Chou P. Effect of aging on gender differences in neural control of heart rate. *Am J Physiol*. 1999; 277(6 Pt 2): 2233-9.
7. Ribeiro TF, Azevedo GD, Crescêncio JC, Marães VRFS, Papa V, Catai AM, et al. Heart rate variability under resting conditions in postmenopausal and young women. *Braz J Med Biol Res*. 2001; 34(7): 871-7.
8. Davy KP, Miniçlier NL, Taylor JA, Stevenson ET, Seals DR. Elevated heart rate variability in physically active postmenopausal women: a cardioprotective effect? *Am J Physiol*. 1996; 271(2 Pt 2): 455-60.
9. Melo RC, Santos MDB, Silva E, Quitério RJ, Moreno MA, Reis MS, et al. Effects of age and physical activity on the autonomic control of heart rate in healthy men. *Braz J Med Biol Res*. 2005; 38(9): 1331-8.
10. Mercurio G, Podda A, Pitzalis L, Zoncu S, Mascia M, Melis GB, et al. Evidence of a role of endogenous estrogen in the modulation of autonomic nervous system. *Am J Cardiol*. 2000; 85(6): 787-9.
11. Liu CC, Kuo TB, Yang CCH. Effects of estrogen on gender-related autonomic differences in humans. *Am J Physiol*. 2003; 285(5): 188-93.

12. Bigger JT, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Kleiger RE, Rottman JN. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation*. 1992; 85(1): 164-71.
13. Silva E, Catai AM, Trevelin LC, Guimarães JO, Silva Jr LP, Silva LMP, et al. Design of a computerized system to evaluate the cardiac function during dynamic exercise [abstract]. *Phys Med Biol*. 1994; 39a: 409.
14. Jensen-Urstad K, Storck N, Bouvier F, Ericson M, Lindblad LE, Jensen-Urstad M. Heart rate variability in healthy subjects is related to age and gender. *Acta Physiol Scand*. 1997; 160(3): 235-41.
15. Walsh RA. Cardiovascular effects of the aging process. *Am J Med*. 1987; 82 Suppl 1B: S34-40.
16. Evans JM, Ziegler MG, Patwardhan AR, Ott JB, Kim CS, Leonelli FM, et al. Gender differences in autonomic cardiovascular regulation: spectral, hormonal, and hemodynamic indexes. *J Appl Physiol*. 2001; 91(6): 2611-8.
17. Pikkujämsä SM, Mäkikallio TH, Airaksinen KEJ, Huikuri HV. Determinants and interindividual variation of R-R interval dynamics in healthy middle-aged subjects. *Am J Physiol*. 2001; 280(3): 1400-6.
18. Ramaekers D, Ector H, Aubert AE, Rubens A, Van de Werf F. Heart rate variability and heart rate in healthy volunteers. Is the female autonomic nervous system cardioprotective? *Eur Heart J*. 1998; 19(9): 1334-41.
19. Rosano GMC, Patrizi R, Leonardo F, Ponikowski P, Collins P, Sarrel PM, et al. Effect of estrogen replacement therapy on heart rate variability and heart rate in healthy postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 1997; 80(6): 815-17.
20. Huikuri HV, Pikkujämsä SM, Airaksinen KEJ, Ikäheimo MJ, Rantala AO, Kauma H, et al. Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects. *Circulation*. 1996; 94(2): 122-5.
21. Bigger JT Jr, Fleiss JL, Steinman RC, Rolnitzky LM, Schneider WJ, Stein PK. RR variability in healthy, middle-aged persons compared with patients with chronic coronary heart disease or recent acute myocardial infarction. *Circulation*. 1995; 91(7): 1936-43.
22. Ryan SM, Goldberger AL, Pincus SM, Mietus J, Lipsitz LA. Gender and age-related differences in heart rate dynamics: are women more complex than men? *J Am Coll Cardiol*. 1994; 24(7): 1700-7.
23. Sakabe DI, Catai AM, Neves VFC, Oliveira L, Silva de Sá MF, Azevedo GD, et al. Análise da modulação autonômica do coração durante condições de repouso em homens de meia idade e mulheres pós menopausa. *Rev Bras Fisioter*. 2004; 8(1): 89-95.
24. Lindqvist A. Noninvasive methods to study autonomic nervous control of circulation. *Acta Physiol Scand*. 1990; 588 Suppl 1: S107.
25. Low PA, Opfer-Gehrking TL, Proper CJ, Zimmerman I. The effect of aging on cardiac autonomic and postganglionic sudomotor function. *Muscle Nerve*. 1990; 13(2): 152-7.
26. Perini R, Veicsteinas A. Heart rate variability and autonomic activity at rest and during exercise in various physiological conditions. *Eur J Appl Physiol*. 2003; 90(3-4): 317-25.
27. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises. *Circulation*. 2003; 107(1 Pt 1): 139-46.
28. Lüscher TF, Dohi Y, Tschudi M. Endothelium-dependent regulation of resistance arteries: alterations with aging and hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1992; 19 Suppl 5: S34-42.

APÊNDICE F

ESTUDO V: TRABALHO VINCULADO À TESE DE DOUTORADO

Comparison of anaerobic threshold determined by visual and mathematical methods in healthy women

M.N. Higa¹,
E. Silva^{3,4},
V.F.C. Neves³,
A.M. Catai³,
L. Gallo Jr.²,
R.C. Melo³
and M.F. Silva de Sá¹

¹Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, ²Divisão de Cardiologia, Departamento de Clínica Médica, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

³Núcleo de Pesquisa em Exercício Físico, Laboratório de Fisioterapia Cardiovascular, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil

⁴Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Cardiovascular e de Provas Funcionais, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP, Brasil

Abstract

Correspondence

E. Silva
Laboratório de Pesquisa em
Fisioterapia Cardiovascular e
Provas Funcionais
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Metodista de Piracicaba
Rodovia do Açúcar, km 156
13400-911 Piracicaba, SP
Brasil
Fax: +55-19-3124-1558
E-mail: esilvas@unimep.br

Research supported by CAPES,
CNPq (No. 140684/2003-4) and
FAPESP (No. 01/07427-2).

Received April 28, 2006
Accepted January 12, 2007

Several methods are used to estimate anaerobic threshold (AT) during exercise. The aim of the present study was to compare AT obtained by a graphic visual method for the estimate of ventilatory and metabolic variables (gold standard), to a bi-segmental linear regression mathematical model of Hinkley's algorithm applied to heart rate (HR) and carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$) data. Thirteen young (24 ± 2.63 years old) and 16 postmenopausal (57 ± 4.79 years old) healthy and sedentary women were submitted to a continuous ergospirometric incremental test on an electromagnetic braking cycloergometer with 10 to 20 W/min increases until physical exhaustion. The ventilatory variables were recorded breath-to-breath and HR was obtained beat-to-beat over real time. Data were analyzed by the nonparametric Friedman test and Spearman correlation test with the level of significance set at 5%. Power output (W), HR (bpm), oxygen uptake ($\dot{V}O_2$; mL kg^{-1} min^{-1}), $\dot{V}O_2$ (mL/min), $\dot{V}CO_2$ (mL/min), and minute ventilation ($\dot{V}E$; L/min) data observed at the AT level were similar for both methods and groups studied ($P > 0.05$). The $\dot{V}O_2$ (mL kg^{-1} min^{-1}) data showed significant correlation ($P < 0.05$) between the gold standard method and the mathematical model when applied to HR ($r_s = 0.75$) and $\dot{V}CO_2$ ($r_s = 0.78$) data for the subjects as a whole ($N = 29$). The proposed mathematical method for the detection of changes in response patterns of $\dot{V}CO_2$ and HR was adequate and promising for AT detection in young and middle-aged women, representing a semi-automatic, non-invasive and objective AT measurement.

Key words

- Anaerobic threshold
- Incremental test
- Graphic visual method
- Mathematical model
- Hinkley's algorithm

Introduction

The level of intensity of physical exercise, when energy production by aerobic metabolism is supplemented by anaerobic metabolism, is characterized as anaerobic threshold (AT) (1,2). This physiological delimitation provides important information about the major physiological systems of the organism involved in the performance of physical activity and constitutes a most important determinant of an individual's functional aerobic capacity (1-3).

Several methods have been employed for AT determination. The interest in the identification of the critical intensity workload above which lactate accumulation occurs has a long history (4,5). Invasive methods require repeated blood lactate concentration measurements during physical exercise (6,7) while non-invasive methods are based on the analysis of changes in the response patterns of ventilatory and metabolic variables, such as V-slope (1,5) and the graphic visual method (8,9). Some studies (8,9) have used the graphic visual method for the estimate of the disproportionate increase in ventilatory and metabolic variables, during the incremental dynamic exercise, as a gold standard for the quantification of AT. Additionally, other investigators have identified AT by analysis of heart rate (HR) (3,10-13) and of its variability (14), as well as by surface electromyography analysis (15-17).

Interest in the determination of AT has increased because of the inclusion of qualitative and systematic research in health studies. Some investigators have proposed the use of mathematical and statistical models as a means to characterize responses of biological systems of the organism during physical exercise (8-10,18,19).

The recent technological advances in equipment for the determination of AT and the use of mathematical and statistical algorithms have served to facilitate, automate

and/or semi-automate this procedure. Thus, mathematical and statistical algorithms have become tools destined to represent the dynamic behavior of biological variables of interest, such as the physiological change patterns of the metabolic and ventilatory variables observed when AT is reached.

The search for ever more perfected techniques for AT determination has great importance, since this parameter has been extensively used for the evaluation of aerobic capacity at submaximal levels of physical exercise and for the prescription of individual physical training for patient rehabilitation.

In view of these considerations, the purpose of the present study was to compare the AT determined by the graphic visual method for the estimate of ventilatory and metabolic variables, considered to be the gold standard, to the Hinkley (20) bi-segmental linear regression mathematical model (MMH), in healthy women.

Material and Methods

Subjects

Thirteen young (24 ± 2.63 years of age) and 16 postmenopausal (57 ± 4.79 years of age) women took part in the study. The young volunteers selected presented regular menstrual cycles and had not been using anticonceptionals for at least 6 months. The postmenopausal state was defined by the absence of a spontaneous menstrual cycle for at least 1 year, and serum follicular-stimulating hormone levels above 30 mIU/mL. None of the postmenopausal women were using hormone therapy.

All volunteers were in good health based on clinical and physical examination and laboratory tests that included a standard electrocardiogram (ECG), maximum exercise test conducted by physician, total blood count, urinalysis, and clinical biochemical screening tests (serum glucose, uric acid,

total cholesterol and fractions, triglycerides and concentration of thyroid-stimulating hormone). None of the volunteers had respiratory, metabolic or cardiovascular diseases. Smokers and users of any kind of medication were excluded from the study. The oxygen uptake data ($\dot{V}O_2$) obtained at peak of the ergospirometric test were used to better characterize the subjects and to obtain the aerobic classification. According to the American Heart Association (21), all volunteers studied had a "very low level" of aerobic capacity, characterizing their sedentary life style.

The volunteers were instructed about the objectives and experimental procedures of the study, its experimental protocol and its non-invasive character. After agreeing to participate, all volunteers gave written informed consent. The Ethics Committee of the University Hospital, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo, and the Ethics Committee of the Federal University of São Carlos, SP, Brazil, approved the study.

Experimental procedure

The experimental procedures were performed in a climatically controlled laboratory where temperature and relative air humidity were kept at around 23°C and 60%, respectively. Volunteers familiarized themselves with the laboratory environment and the experimental protocol that they would undergo. On the day of the test they were questioned concerning their health condition, if they had had a good night's sleep and if they had followed the instructions given on the day before, such as no ingestion of alcoholic drinks or of stimulants (coffee, tea, soft drinks), and had done no extenuating physical activity.

The experimental protocol was always applied at the same time of day (morning) taking into consideration the circadian influences on the responses of the variables stud-

ied. The volunteers were studied during the follicular phase of the menstrual cycle in order to avoid the influence of hormonal fluctuation on the cardiorespiratory variables measured.

Before the measurements the volunteers rested for 15 min in the supine position, and their arterial blood pressure and HR were measured to determine whether their basal condition was satisfactory for the experiment.

Experimental protocol

The experiment consisted of a continuous physical exercise test of the ramp type (CT-R), performed on a cycloergometer with electromagnetic braking (Quinton Corival 400, Seattle, WA, USA), at a bench height regulated to permit knee flexing of 5 to 10 degrees. The volunteers were instructed not to perform an isometric contraction while holding onto the handlebar of the bicycle and to maintain the pedaling rate at 60 rpm.

The CT-R consisted of 1 min pre-testing in the sitting resting position on the cycloergometer followed by a 4-min warm-up period at 4 W and workload increases of 10 to 20 W/min, until physical exhaustion. Workload increases were determined for each volunteer according to the formula proposed by Wasserman et al. (2).

During the test, the volunteers were monitored on the CM5 lead. ECG and HR were obtained beat-to-beat from a one-channel heart monitor (TC 500, ECAFIX, São Paulo, SP, Brazil) and processed with an analog-to-digital converter Lab PC + (National Instruments, Co., Austin, TX, USA), which acts as an interface between the heart monitor and a microcomputer (Pentium III 500 MHz). The ECG signal was recorded in real time after analog-to-digital conversion at a sampling rate of 500 Hz, and the R-R intervals (ms) and HR (bpm) were calculated on a beat-to-beat basis using specific software (22).

Ventilatory and metabolic variables, such

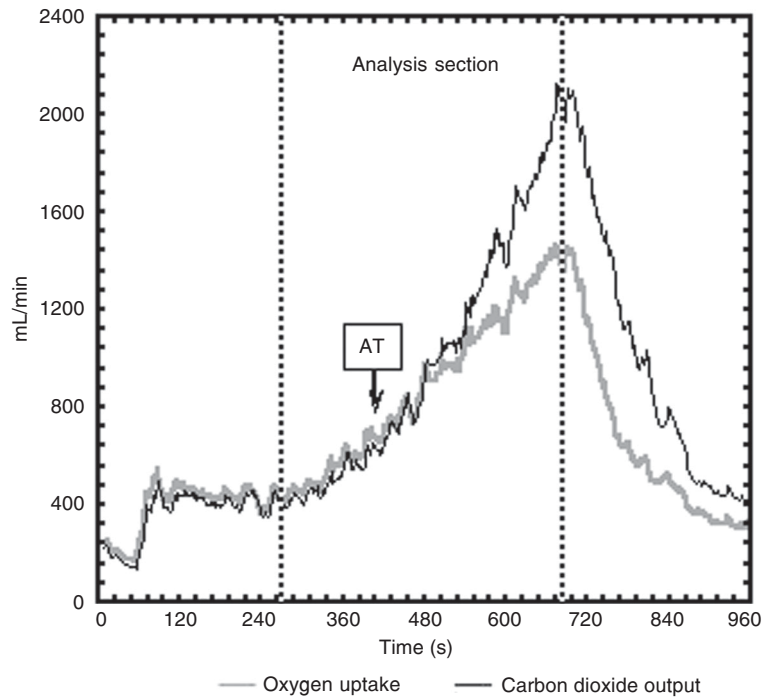


Figure 1. Oxygen uptake and carbon dioxide output responses during the continuous physical exercise dynamic test of the ramp type by one of the volunteers studied. The arrow indicates the time (s) of the disproportionate increase in carbon dioxide output relative to oxygen uptake in the anaerobic threshold (AT) determination.

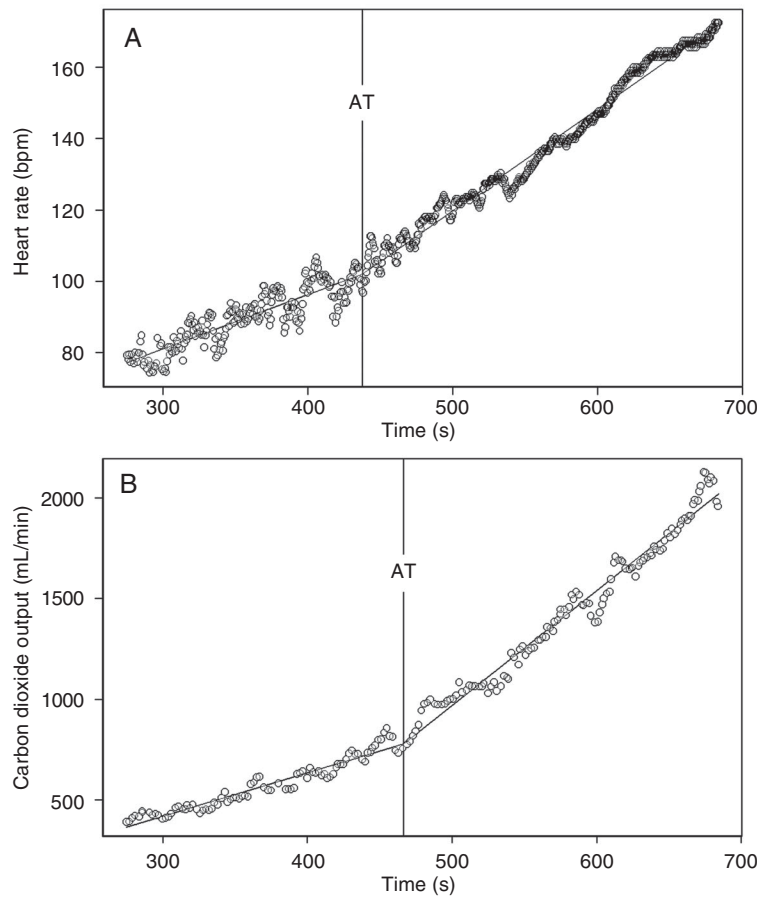


Figure 2. Illustration of the break point determined by the mathematical linear bi-segmental model applied to heart rate (A) and carbon dioxide output (B) data, obtained during a continuous physical exercise test of the ramp type by one volunteer whose data are presented in Figure 1. AT = anaerobic threshold.

as $\dot{V}O_2$, carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$) and minute ventilation ($\dot{V}E$), were obtained breath-to-breath during the CT-R by means of a system measuring expired gases (CPX/D, Medical Graphics, St. Paul, MN, USA) which was calibrated before each test. These variables were subsequently processed and calculated as moving means after every eight respiratory cycles for better kinetic observation of the responses during the exercise.

Anaerobic threshold determination

Two methods were employed for AT determination at CT-R: 1) graphic visual analysis of the responses of ventilatory and metabolic variables was performed by three observers with proven experience in the application of the procedures used for this purpose. The criterion for AT quantification was graphic observation at the time of a disproportionate $\dot{V}CO_2$ increase in relation to the $\dot{V}O_2$ linear increase on the ergospirometer monitor (Figure 1). This method was based on the V-slope method described by Wasserman and McIlroy (5) which is considered to be a gold standard method. The AT value was considered as the mean of the data obtained from the analysis by three observers. 2) The mathematical model of bisegmental linear regression was implemented using Hinkley's algorithm applied to HR (MMH-HR) and $\dot{V}CO_2$ (MMH- $\dot{V}CO_2$) data. This permits analysis of the $\dot{V}CO_2$ and HR data series by the maximum similarity method that identifies the moment when a change occurs in the response pattern of $\dot{V}CO_2$ and HR data collected during CT-R performance, and detects the intersection point of two phases adjustment of data sets (Figure 2).

The section selected for subsequent AT determination was identical for both methods. It was set from the beginning of the responses of ventilatory and metabolic variables to power output increments to the respiratory compensation point (RCP) or up to the end of exercise when the volunteer did

not present the RCP.

Statistical analysis

The power output (W), HR (bpm), $\dot{V}O_2$ ($mL\ kg^{-1}\ min^{-1}$), $\dot{V}O_2$ (mL/min), $\dot{V}CO_2$ (mL/min), and $\dot{V}E$ (L/min) at AT determined by the two methods used did not present normal distribution upon application of the Kolmogorov-Smirnov test. Therefore, the non-parametric Friedman repeated measurements, Dunn's *post-hoc* and Spearman correlation tests were used, with the level of significance set at 5%.

Results

No significant differences in weight, height and HR at rest were observed between groups. The subjects of the young group had lower body mass index, blood pressure and a higher $\dot{V}O_2$ peak than middle-aged group ($P < 0.05$; Table 1).

Power output, HR, $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, and $\dot{V}E$ data, at the AT level, did not differ significantly ($P > 0.05$) between the graphic visual, MMH-HR and MMH- $\dot{V}CO_2$ methods, for both young and postmenopausal groups (Table 2).

Concerning the two methods used to deter-

Table 1. Age and anthropometric and clinical characteristics of the subjects studied.

| | Young group (N = 13) | Postmenopausal group (N = 16) |
|---|-------------------------|----------------------------------|
| Age (years) | 24 ± 2.63 | 57 ± 4.79* |
| Weight (kg) | 57 ± 6.02 | 62 ± 9.91 |
| Height (cm) | 163 ± 6.0 | 157 ± 5.0 |
| Body mass index (kg/m^2) | 21.61 ± 2.55 | 25.10 ± 3.67* |
| Systolic blood pressure (mmHg) | 99 ± 8.62 | 121 ± 16.92* |
| Diastolic blood pressure (mmHg) | 67 ± 5.55 | 77 ± 9.81* |
| Heart rate (bpm) | 72 ± 8.64 | 67 ± 5.75 |
| $\dot{V}O_2$ peak ($mL\ kg^{-1}\ min^{-1}$) | 22.67 ± 3.11 | 14.33 ± 2.73* |
| Follicle-stimulating hormone (mIU/mL) | 3.97 ± 2.18 | 70.6 ± 50.97* |
| Serum estradiol level (pg/mL) | 80.0 ± 51.87 | 23.4 ± 5.94* |
| Menstrual cycle (days) | 29 ± 1.5 | - |
| Years of menopause | - | 9 ± 5.48 |

Data are reported as means ± SD. $\dot{V}O_2$ = oxygen uptake.

* $P < 0.05$ compared to the young group (unpaired *t*-test).

mine AT, a significant correlation of $\dot{V}O_2$, in $\text{mL kg}^{-1} \text{min}^{-1}$, was detected between the gold standard method and the MMH applied to HR ($r_s = 0.75$) and $\dot{V}CO_2$ ($r_s = 0.78$) data for the subjects as a whole ($N = 29$; Figure 3).

Discussion

Changes in cardiorespiratory response pattern during dynamic exercise are medi-

ated by muscle metabolic activity (2). Hinkley's mathematical algorithm of the bi-segmental linear regression model (20) was used to identify the moment at which these changes occur.

The principle of the proposed mathematical model is based on the fitting of two straight lines by maximum similarity of data sets analyzed. The first straight line adjusted by the algorithm represents the variable behavior at the beginning of physical effort up to the AT. The second straight line corresponds to the change in variable response pattern, which is characterized by an increase in its rate of variation until RCP or physical exhaustion. Thus, the break point of the two straight lines was considered to be the moment when AT occurs (Figure 2).

The mathematical model used in the present investigation allowed the determination of the break point in the dynamic behavior pattern of $\dot{V}CO_2$ and HR data that occurs during physical exercise, as well as its interactions with the level of physical effort.

The aging physiologic process is marked with several changes that influence individual aerobic capacity (23,24), as well as the magnitude of the cardiorespiratory response to exercise. Due to this process, our objective was to evaluate whether these alterations could affect the accuracy of the

Table 2. Cardiorespiratory parameters at the anaerobic threshold determined by a graphic visual method (VM) and by the mathematical model of Hinkley's bi-segmental linear regression applied to heart rate (MMH-HR) and carbon dioxide output (MMH- $\dot{V}CO_2$) data for the young and postmenopausal groups.

| Group | VM | MMH-HR | MMH- $\dot{V}CO_2$ |
|--|-------|--------|--------------------|
| Young (N = 13) | | | |
| Power output (W) | 51 | 41 | 44 |
| Heart rate (bpm) | 115 | 110 | 113 |
| $\dot{V}O_2$ ($\text{mL kg}^{-1} \text{min}^{-1}$) | 11.76 | 10.46 | 11.18 |
| $\dot{V}O_2$ (mL/min) | 661 | 591 | 628 |
| $\dot{V}CO_2$ (mL/min) | 640 | 550 | 576 |
| VE (L/min) | 18.9 | 16.8 | 17.8 |
| Postmenopausal (N = 16) | | | |
| Power output (W) | 33 | 37 | 37 |
| Heart rate (bpm) | 103 | 108 | 104 |
| $\dot{V}O_2$ ($\text{mL kg}^{-1} \text{min}^{-1}$) | 9.10 | 9.36 | 9.29 |
| $\dot{V}O_2$ (mL/min) | 584 | 628 | 605 |
| $\dot{V}CO_2$ (mL/min) | 579 | 617 | 581 |
| VE (L/min) | 18.3 | 20.6 | 19.4 |

Data are reported as medians. $\dot{V}O_2$ = oxygen uptake; $\dot{V}CO_2$ = carbon dioxide output; VE = minute ventilation.

*P < 0.05 (Friedman repeated measurements and *post hoc* Dunn test).

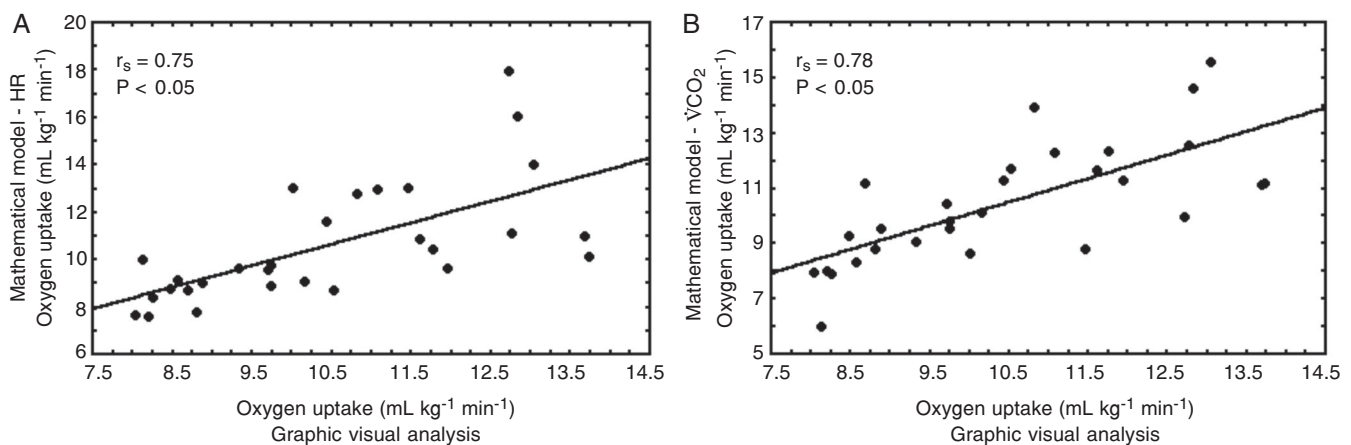


Figure 3. Correlation of the oxygen uptake data obtained by the graphic visual method with the mathematical model applied to heart rate (HR, in A) and carbon dioxide output ($\dot{V}CO_2$, in B) for the subjects as a whole.

proposed mathematical model for women in any age group.

The comparison analysis of AT values determined by visual and mathematical methods showed a good fit in detection of the break point in response pattern of $\dot{V}CO_2$ and HR in relation to time, for both young and postmenopausal groups, because the power output, HR, $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, and $\dot{V}E$ values obtained at AT determined by visual method were similar to the mathematical model.

For analysis of the correlation between the methods used, the two groups of volunteers were studied as a whole. The analysis of $\dot{V}O_2$ data ($mL\ kg^{-1}\ min^{-1}$) showed a statistically significant correlation between the gold standard method and the bi-segmental linear regression mathematical model when applied to the HR ($r_s = 0.75$) and $\dot{V}CO_2$ ($r_s = 0.78$) data.

Thus, our findings showed that the mathematical model was adequate for AT determination in sedentary healthy women. Other studies from our laboratory found that the ventilatory AT (gold standard method) was very close to the AT determined by the autoregressive integrated moving average model applied to middle-aged healthy men (10).

Studies that compare the analysis of ventilation and metabolic variables by trying to determine the index of these variables that best corresponds to AT estimated by the blood lactate method are available in the literature (6,7,16,25-27). Other studies have

identified AT using non-invasive methods by analysis of cardiorespiratory variables, developing mathematical models applied to $\dot{V}CO_2$, such as multi-segmental linear regression (18) and linear-linear and linear-quadratic bi-segmental regressions (8).

Conconi et al. (3) presented a pioneering proposal to verify the relationship between running speed and loss of HR linearity in runners for AT determination. Nevertheless, this method was not able to determine the AT, but it permitted the quantification of RCP. After that, other investigators conducted research based on Conconi's study in order to improve the analytical methodologies, using the third-order curvilinear regression method (19) and mathematical model of linear adjustment of HR data (12,13).

The mathematical model used in the present study showed to be a promising tool for AT determination, since it constitutes a non-invasive, objective and semi-automatic method. Furthermore, it decreases the variations of human acuity evoked by graphic visual analysis, optimizing the process for the determination of this physiological parameter.

The results of this study showed that the mathematical linear regression bi-segmental model can be used for AT identification based on $\dot{V}CO_2$ data as well as on HR response. This method permits AT determination in clinics and consulting rooms by analysis of HR, which is a simple and easily obtained variable, permitting an optimization of this process.

References

1. Beaver WL, Wasserman K, Whipp BJ. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 1986; 60: 2020-2027.
2. Wasserman K, Hansen JE, Sue D, Whipp BJ, Casaburi R. *Principles of exercise testing and interpretation*. 4th edn. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1999.
3. Conconi F, Ferrari M, Ziglio PG, Droghetti P, Codeca L. Determination of the anaerobic threshold by a noninvasive field test in runners. *J Appl Physiol* 1982; 52: 869-873.
4. Owles WH. Alterations in the lactic acid content of the blood as a result of light exercise, and associated changes in the CO_2 -combining power of the blood and in the alveolar CO_2 pressure. *J Physiol* 1930; 69: 214-237.
5. Wasserman K, Mcllroy MB. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am J Cardiol* 1964; 14: 844-852.
6. Prioux J, Ramonatxo M, Hayot M, Mucci P, Prefaut C. Effect of ageing on the ventilatory response and lactate kinetics during incre-

- mental exercise in man. *Eur J Appl Physiol* 2000; 81: 100-107.
7. Solberg G, Robstad B, Skjonsberg OH, Borchsenius F. Respiratory gas exchange indices for estimating the anaerobic threshold. *J Sport Sci Med* 2005; 4: 29-36.
 8. Crescêncio JC, Martins LE, Murta LO Jr, Antloga CM, Kozuki RT, Santos MD, et al. Measurement of anaerobic threshold during dynamic exercise in healthy subjects: Comparison among visual analysis and mathematical models. *Comput Cardiol* 2003; 30: 801-804.
 9. Soler AM, Folledo M, Martins LE, Lima-Filho EC, Gallo JL. Anaerobic threshold estimation by statistical modelling. *Braz J Med Biol Res* 1989; 22: 795-797.
 10. Maraes VR, Silva E, Catai AM, Novais LD, Moura MA, Oliveira L, et al. Identification of anaerobic threshold using heart rate response during dynamic exercise. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 731-735.
 11. Ribeiro JP, Fielding RA, Hughes V, Black A, Bochese MA, Knuttgen HG. Heart rate break point may coincide with the anaerobic and not the aerobic threshold. *Int J Sports Med* 1985; 6: 220-224.
 12. Hofmann P, Bunc V, Leitner H, Pokan R, Gaisl G. Heart rate threshold related to lactate turn point and steady-state exercise on a cycle ergometer. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1994; 69: 132-139.
 13. Bunc V, Hofmann P, Leitner H, Gaisl G. Verification of the heart rate threshold. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995; 70: 263-269.
 14. Silva FM, Silva Filho AC, Murta LO Jr, Lavrador MA, Marães VR, Moura MA, et al. Identification of anaerobic threshold during dynamic exercise in healthy men using Kolmogorov-Sinai Entropy. *Comput Cardiol* 2005; 32: 731-734.
 15. Viitasalo JT, Luhtanen P, Rahkila P, Rusko H. Electromyographic activity related to aerobic and anaerobic threshold in ergometer bicycling. *Acta Physiol Scand* 1985; 124: 287-293.
 16. Mateika JH, Duffin J. Coincidental changes in ventilation and electromyographic activity during consecutive incremental exercise tests. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1994; 68: 54-61.
 17. Glass C, Knowlton RG, Sanjabi PB, Sullivan JJ. The effect of exercise induced glycogen depletion on the lactate, ventilatory and electromyographic thresholds. *J Sports Med Phys Fitness* 1997; 37: 32-40.
 18. Orr GM, Green HJ, Hughson RL, Bennetett GW. A computer linear regression model to determine ventilatory anaerobic threshold. *J Appl Physiol* 1982; 52: 1349-1352.
 19. Kara M, Gokbel H, Bediz C, Ergene N, Ucok K, Uysal H. Determination of the heart rate deflection point by the Dmax method. *J Sports Med Phys Fitness* 1996; 36: 31-34.
 20. Hinkley DV. Inference about the intersection in two-phase regression. *Biometrika* 1969; 56: 495-504.
 21. American Heart Association. *Exercise testing and training of apparently health individuals. A handbook for physicians*. Dallas: American Heart Association; 1972.
 22. Silva E, Catai AM, Trevelin LC, Guimarães JO, Silva LP Jr, Silva LMP, et al. Design of a computerized system to evaluate the cardiac function during dynamic exercise. *Phys Med Biol* 1994; 39: 409 (Abstract).
 23. Schiller BC, Casas YG, Desouza CA, Seals DR. Maximal aerobic capacity across age in healthy Hispanic and Caucasian women. *J Appl Physiol* 2001; 91: 1048-1054.
 24. Weise SD, Grandjean PW, Rohack JJ, Womack JW, Crouse SF. Acute changes in blood lipids and enzymes in postmenopausal women after exercise. *J Appl Physiol* 2005; 99: 609-615.
 25. Wasserman K, Whipp BJ, Koyl SN, Beaver WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* 1973; 35: 236-243.
 26. Caiozzo VJ, Davis JA, Ellis JF, Azus JL, Vandagriff R, Prietto CA, et al. A comparison of gas exchange indices used to detect the anaerobic threshold. *J Appl Physiol* 1982; 53: 1184-1189.
 27. Zoladz JA, Szkutnik Z, Majerczak J, Duda K. Detection of the change point in oxygen uptake during an incremental exercise test using recursive residuals: relationship to the plasma lactate accumulation and blood acid base balance. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1998; 78: 369-377.