



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCar/UNESP**



DIEGO FELIPE CAVALINI

**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE
O COEFICIENTE DE CONTROLE DE FLUXO MITOCONDRIAL
DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DE RATAS OVARIETOMIZADAS**

**Março/2022
São Carlos**

Diego Felipe Cavalini

**EFEITO DO TREINAMENTO RESISTIDO SOBRE
O COEFICIENTE DE CONTROLE DE FLUXO MITOCONDRIAL
DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL DE RATAS OVARIECTOMIZADAS**

Dissertação: requisito para obtenção
do título de mestre no PIPG-CF

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gilberto Eiji Shiguemoto

**Março/2022
São Carlos**

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado a minha mãe Antônia Cristina Lavezzo Graziosi, meu pai Edson Rogério Cavalini, todos meus amigos e familiares que me deram suporte para realizar este grande sonho.

AGRADECIMENTO

Todo grande ato de agradecimento envolve o ideal de uma força extrema que existe sobre nós, agradeço a Deus por permitir a defesa dessa dissertação de mestrado.

Sem minha família o dia de hoje não seria capaz de ser realizado, agradeço a minha mãe, meu pai, e todos que participaram de cada processo de minha evolução.

Sinto uma imensa gratidão pela confiança depositada pelo Prof. Dr. Gilberto Eiji Shiguemoto na maneira que conduzi minhas pesquisas e trabalho dentro do laboratório.

Agradeço ao Prof. Dr. Anibal Eugenio Vercesi e ao Prof. Dr. Roger Frigério Castilho por possibilitar que minhas análises ocorressem no laboratório da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Agradeço aos companheiros de laboratório pelo compartilhamento de experiências e ao suporte na execução da pesquisa.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste trabalho de mestrado.

Agradeço a equipe técnica do Laboratório de Fisiologia do Exercício e do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCAR por viabilizarem todo material e suporte necessário para realização desta dissertação.

“As grandes ideias surgem da observação dos pequenos detalhes.”
Augusto Cury.

Resumo

Introdução: Durante o envelhecimento da mulher, acontece um processo chamado de menopausa, marcado por alterações hormonais (queda no estrogênio, aumento no hormônio folículo estimulante e luteinizante). Em decorrência desta fase surgem episódios de alterações de funções cerebrais (déficit cognitivo, alteração do humor e distúrbios do sono) que são sensíveis a esta variação hormonal, principalmente relacionadas a queda do estrogênio, que por sua vez compromete diretamente a atividade de uma organela, a mitocôndria. É sugerido que o treinamento resistido melhora as funções mitocondriais, trazendo consigo benefícios não farmacológicos às mulheres que se encontram nesta fase. A função mitocondrial pode ser medida por meio da respiração mitocondrial, mas também pode-se utilizar o método FCC, que calcula o funcionamento individual das proteínas que estão acoplada a cadeia transportadora de elétrons (ANT-1, ATP-sintase e o trocador de fosfato). **Objetivos:** avaliar os efeitos da ovariectomia e do Treinamento Resistido (TR) sobre a eficiência do coeficiente de controle de fluxo (FCC) e o consumo de oxigênio durante a respiração acoplada do Córtex Pré-Frontal de ratas maduras jovens, avaliar os efeitos da ovariectomia e do treinamento resistido sobre o funcionamento global e intrínseco dos complexos da Cadeia Transportadora de Elétrons Mitocondrial dos neurônios do córtex pré-frontal, a atividade da ANT-1, da ATP-Sintase e do Trocador de Fosfato em modelo “in vivo” (biópsia) dos neurônios do córtex pré-frontal. **Metodologia:** Foram utilizadas 40 ratas Wistar adultas (*rattus albinus norvegicus*), distribuídas em 4 subgrupos experimentais: 1) Intacto Sedentário (INT-SED), Intacto Treinamento Resistido (INT-TR), Ovariectomizado Sedentário (OVX-SED) e Ovariectomizado Treinamento Resistido (OVX-TR), para o grupo TR, a frequência de treino aconteceu 3 vezes na semana, por 12 semanas e a intensidade era aplicada a 65 %, 70 %, 75 %, 80 % e 85 % da carga máxima carregada. O consumo de oxigênio no tecido cerebral permeabilizados foi realizado em oxígrafo de alta resolução com MiR05, 37° C, na presença de glutamato (10 mM) e malato (5 mM). ADP (400 µM), oligomicina (1 µg/mL) e FCCP (carbonil cianeto-4) (trifluorometoxi) fenilhidrazona 0,2 µM] foram adicionados durante o experimento. As titulações para se estabelecer o Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) foram realizadas na ANT, no Trocador de Fosfato e na ATP-Sintase. **Resultados:** A ovariectomia aumentou a massa corporal das ratas, tamanho da tibia não houve diferença significativa mostrando assim que todas as ratas tiveram seu crescimento similar. A ovariectomia afetou negativamente a FCC da ANT-1, da ATP-sintase no grupo OVX-SED, e do carreador de fosfato. Os efeitos negativos da ovariectomia foram revertidos pelo TR. **Discussão:** a ovariectomia promoveu a diminuição da capacidade de funcionamento da cadeia transportadora de elétrons no córtex pré-frontal, avaliada pela disfunção do FCC encontrada em todas as proteínas de análise, ANT-1, ATP-Sintase e Trocador de Fosfato, um fato em destaque foi a utilização do TR como instrumento terapêutico importante para reverter os efeitos deletérios causado pela ovariectomia no FCC da cadeia respiratória mitocondrial das ratas treinadas. **Conclusão:** Os efeitos deletérios da ovariectomia impactam negativamente no funcionamento da cadeia respiratória mitocondrial no córtex pré-frontal, fato relacionado as alterações negativas nas proteínas avaliadas neste estudo pelo do coeficiente de controle de fluxo. O treinamento resistido aplicado mostrou-se efetivo em prevenir as alterações deletérias promovidas pela ovariectomia, visto que as proteínas avaliadas mantiveram suas atividades em níveis satisfatórios.

Palavras-Chaves: Ovariectomia. Disfunção Mitocondrial. FCC. ANT. Treinamento Resistido.

Abstract

Introduction: During the aging of a woman, a process called menopause takes place, marked by hormonal changes (fall in estrogen, increase in follicle stimulating and luteinizing hormone). As a result of this phase, there are episodes of changes in brain functions (cognitive deficit, mood change and sleep disorders) that are sensitive to this hormonal variation, mainly related to the drop in estrogen, which in turn directly compromises the activity of an organelle, the mitochondria. It is suggested that resistance training improves mitochondrial functions, bringing non-pharmacological benefits to women who are in this phase. Mitochondrial function can be measured through cellular respiration, but the FCC method can also be used, which calculates the individual functioning of each protein that is coupled to the electron transport chain (ANT-1, ATP synthase and the phosphate exchanger). Objectives: to evaluate the effects of ovariectomy and Resistance Training (RT) on the efficiency of the flow control coefficient (FCC) and oxygen consumption during coupled breathing of the Prefrontal Cortex of young mature rats, to evaluate the effects of ovariectomy and resistance training on the global and intrinsic functioning of the mitochondrial electron transport chain complexes of prefrontal cortex neurons, the activity of ANT-1, ATP-Synthase and Phosphate Exchanger in an "in vivo" model (biopsy) of neurons in the prefrontal cortex. Methodology: 40 adult Wistar rats (*rattus albinus norvegicus*) were divided into 4 experimental subgroups: 1) Intact Sedentary (INT-SED), Intact Resistance Training (INT-TR), Sedentary Ovariectomized (OVX-SED) and Ovariectomized Resistance Training (OVX-TR), for the TR group, the training frequency happened 3 times a week for 12 weeks and the intensity was applied at 65%, 70%, 75%, 80% and 85% of the maximum load carried. Oxygen consumption of permeabilized brain tissue was performed in a high resolution oxygraph with MiR05, 37°C, in the presence of glutamate (10 mM) and malate (5 mM), ADP (400 µM), oligomycin (1 µg/mL) and FCCP (carbonyl cyanide-4) (trifluoromethoxy) phenylhydrazone 0.2 µM] were added during the experiment. The titrations to establish the Flow Control Coefficient (FCC) were carried out in the ANT, in the Phosphate Exchanger and in the ATP-Synthase. Results: Ovariectomy increased the body mass of the rats, tibia size there was no significant difference, thus showing that all rats had similar growth. Ovariectomy negatively affected the FCC of ANT-1, ATP synthase in the OVX-SED group, and the phosphate carrier. The negative effects of ovariectomy were reversed by RT. Discussion: ovariectomy promoted a decrease in the functioning capacity of the electron transport chain in the prefrontal cortex, evaluated by the FCC dysfunction found in all analysis proteins, ANT-1, ATP-Synthase and Phosphate Exchanger, a fact in A highlight was the use of RT as an important therapeutic tool to reverse the deleterious effects caused by ovariectomy on the FCC of the mitochondrial respiratory chain of trained rats. Conclusion: The deleterious effects of ovariectomy negatively impact the functioning of the mitochondrial respiratory chain in the prefrontal cortex, a fact related to the negative changes in the proteins evaluated in this study by the flow control coefficient. The applied resistance training proved to be effective in preventing the deleterious changes promoted by ovariectomy, since the evaluated proteins maintained their activities at satisfactory levels.

Keywords: Ovariectomy. Mitochondrial Dysfunction. FCC. ANT. Resistance Training.

Sumário

1.1.	LISTA DE ILUSTRAÇÕES	10
1.2.	LISTA DE TABELAS	11
1.3.	LISTA DE ABREVIATURAS	12
2.	Contextualização do problema	13
3.	Revisão de Literatura	17
3.1.	Menopausa.....	17
3.2.	Estrogênio e sistema nervoso central.....	21
3.3.	Fluxo sanguíneo e atividade cerebral	25
3.4.	Ovariectomia	27
3.5.	Cérebro.....	28
3.6.	Mitocôndrias	28
3.7.	Estrogênio (E2)	31
3.8.	Translocador de Nucleotídeo de Adenina.....	31
3.9.	ATP-sintase.....	33
3.10.	Carreador de fosfato.....	35
3.11.	Coeficiente de Controle de Fluxo – FCC	37
3.12.	Exercício Físico.....	38
4.	Objetivo	42
4.1.	Objetivo geral	42
4.2.	Objetivos específicos	42
5.	Hipótese	43
6.	METODOLOGIA	44
6.1.	Animais e condições experimentais	44
6.2.	Protocolo de treinamento resistido	45
6.3.	Ovariectomia e Intactos	46
6.4.	Eutanásia dos animais e coletas de tecidos	47
6.5.	Preparação das amostras.....	50
6.6.	Avaliação da qualidade das amostras.....	50
6.7.	Avaliação dos parâmetros respiratórios	50
6.8.	Avaliação do Coeficiente de Controle de Fluxo FCC	51
6.9.	Determinação da atividade da Translocase de Nucleotídeo de Adenina 1 (ANT-1), ATP-Sintase e Trocador de Fosfato.	52
6.9.1.	Determinação da atividade da ANT-1.....	52
6.9.2.	Determinação da atividade do Carreador de Fosfato	52
6.9.3.	Determinação da atividade da ATP-sintase	53

6.10.	Determinação da atividade enzimática citrato sintase (CS)	53
6.11.	Análise estatística dos dados	53
7.	Resultados	54
7.1.	Análise da massa corporal	54
7.2.	Evolução da carga máxima carregada.....	55
7.3.	Titulação para Obtenção do Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC).....	56
7.3.1.	Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) da ANT-1	57
7.3.2.	Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) da ATP-sintase.....	59
7.3.3.	Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) do Carreador de Fosfato	61
7.3.4.	Análise do Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) Intra-Grupo	63
8.	DISCUSSÃO	65
8.1.	Análise do FCC da ANT-1	66
8.2.	Análise do FCC da ATP-Sintase	66
8.3.	Análise do FCC do Carreador de Fosfato.....	67
8.4.	Análise intragrupo do FCC das proteínas de análise.	67
8.5.	Considerações finais	67
9.	conclusão.....	68
10.	Referências bibliograficas	69

1.1. LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Visão geral dos sintomas da menopausa.	19
Figura 2: Menopausa e Cérebro.	25
Figura 3: Morfologia da Mitocôndria.	29
Figura 4: Cadeia Transportadora de Elétrons.	29
Figura 5: Dinâmica Mitocondrial no Neurônio.	31
Figura 6: Troca eletrogênica ADP/ATP.	33
Figura 7: Cadeia transportadora de elétrons.	34
Figura 8: ANT-1, ATP-sintase e Trocador de fosfato.	36
Figura 9: Organograma dos grupos experimentais.	43
Figura 10: Gaiola e pesos usados no treinamento.	45
Figura 11: Ovariectomia.	46
Figura 12: Remoção do Cortex Pré-Frontal.	47
Figura 13: Anatomia do encéfalo.	48
Figura 14: Localização do Córtex Pré-Frontal.	49
Figura 15: Comparação do útero das ratas ovariectomizadas e intactas.	54
Figura 16: Carga máxima de carregamento dos grupos experimentais.	54
Figura 17: Corrida no Oxígrafo de Alta Resolução.	55
Figura 18: FCC da ANT-1.	57
Figura 19: FCC da ATP-sintase.	59
Figura 20: FCC do CARREADOR DE FOSFATO.	61
Figura 21: Análise do FCC Intra-Grupo.	63

1.2. LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Massa Corporal (MC) e demais tecidos dos grupos experimentais.	53
--	-----------

1.3. LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina Difosfato
ANT-1	Translocase de Nucleotídeo de Adenina-1
ANT _c	Citosólico “c”
ANT _m	Matricial “m”
ATP	Adenosina Trifosfato
AVCs	Acidentes Vasculares Cerebrais
Ca ²⁺	Cálcio
CAT	Carboxiatractilato
CMC	Capacidade Máxima de Carregamento
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
CS	Citrato Sintase
CTE	Cadeia Transportadora de Elétrons
DA	Doença de Alzheimer
DCF	Departamento de Ciências Fisiológicas
E1	Estrona
E2	17β Estradiol
E3	Estriol
EF	Exercício Físico
ER	Exercício Resistido
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FADH ₂	Flavina Adenina Dinucleotídeo
FCC	Coefficiente de Controle de Fluxo
GnRH	Gonadotrofinas
H ⁺	Próton
hPP	Peptídeo Pancreático Humano
INT-SED	Intacto Sedentário
INT-TR	Intacto Treinamento Resistido
MERS	Mersalil
MMI	Membrana Mitocondrial Interna
mPTP	Poros de Transição de Permeabilidade Mitocondrial
mtDNA	DNA mitocondrial
NADH	Adenina Dinucleotídeo
nDNA	DNA Nuclear
NMDA-r	Receptores N-metil D-aspartato
O ₂	Oxigênio
OLIGO	Oligomicina
OMS	Organização Mundial da Saúde
OVX-SED	Ovariectomizado Sedentário
OVX-TR	Ovariectomizado Treinamento Resistido
Pi	Fosfato Inorgânico
PiC	Carreador de Fosfato Inorgânico
PTPC	Complexo de Poros de Transição de Permeabilidade
Res	Receptores Intranucleares
SNC	Sistema Nervoso Central
TR	Treinamento Resistido
TRH	Terapia de Reposição Hormonal
VIP	Peptídeo Intencional Vasoativo

2. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBELMA

O envelhecimento é um processo dinâmico e progressivo causando modificações morfológicas, funcionais, fisiológicas e bioquímicas, determinando assim a perda da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente, que gera maior vulnerabilidade e maior incidência de processos patológicos (NETTO, 2004; CECCON, 2021).

No Brasil, a população feminina é representada por mais de 51,6 % do total da população, com expectativa de vida de aproximadamente 79,6 anos (IBGE 2017). Junto ao processo de envelhecimento, a mulher tem um marco importante já bem caracterizado e conhecido como menopausa, processo normal e natural definido como a interrupção permanente da menstruação após 12 meses consecutivos de amenorreia, e que marca o momento no qual a mulher perde a capacidade de procriação (FEBRASGO, 2010; NAMS, 2013; CRAMER et al., 2018).

Existe uma correlação entre a idade de ocorrência da menopausa e taxas de mortalidade, sendo que, quanto mais precoce a menopausa maior é a taxa de mortalidade (COOPER; SANDLER, 1998; JACOBSEN et al., 1999; JACOBSEN et al., 2003; OSSEWAARDE et al., 2003; HONG et al., 2007).

Um trabalho em específico de base populacional que envolveu 74.941 mulheres com idades entre 40-70 anos em 7 distritos urbanos de Xangai entre 1997 e 2000 (taxa de participação: 92 %), em que foram aplicados questionários com história de vida, antropometria, e levantamentos de doenças crônicas, como *diabetes mellitus*, doenças cardiovasculares e câncer, sendo que 3.158 mortes ocorreram durante um acompanhamento médio de 11,2 anos. Um fato curioso foi que a idade mais jovem na menopausa (46,64 anos) foi associada a um maior risco de mortalidade total e uma menor idade na menarca (14 anos) foi associada a maior risco de mortalidade por acidente vascular cerebral e diabetes, mas menor risco de mortalidade por câncer do sistema respiratório, assim como as mulheres com menor tempo reprodutivo tiveram menor risco de mortalidade por câncer ginecológico (WU et al., 2014).

As funções primárias do estrogênio são: promover o aparecimento das características sexuais secundárias femininas, elevar a atividade de osteoblastos, promover breve aumento na síntese proteica através do balanço positivo nitrogenado e elevação do metabolismo total. Quando há uma redução do estrogênio circulante, observam-se diversas manifestações clínicas (neurogênicas, psicogênicas, mamárias,

urogenitais, osteoarticulares, cutâneas e metabólicas, em nível ósseo e lipídico), causando prejuízos na qualidade de vida da mulher (KARGOZAR et al., 2017; MEDEIROS, 2019).

Concomitante ao período pós-menopausa, as mulheres são acometidas por distúrbios cerebrais e doenças mentais, que em particular são considerados comuns e um dos principais desafios da saúde global no século XXI. A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que o sexo é um importante fator para determinar a prevalência e a gravidade desses transtornos mentais, acometendo 30 % da população total feminina e 20 % da população total masculina (BALTA et al., 2019).

Existem funções e regiões cerebrais que são sensíveis ao estrogênio, pois este hormônio estimula o eixo hipocampo-accumbens, modula a plasticidade dos terminais axonais, ramos dendríticos e seus receptores, estimula diversos sistemas de neurotransmissores, potencializa a transmissão glutamatérgica no receptor N-metil-D-aspartato (NMDA-r). Observa-se que os estrógenos e a progesterona podem aumentar a densidade de receptores GABA-A em determinadas regiões do cérebro, influenciando diretamente na desregulação dopaminérgica característica da esquizofrenia. Além do que, o estrogênio pode ter influência mediada por receptores intranucleares de células neurais e são responsáveis por regular a transcrição dos genes alvos, ou mediada por receptores de membrana, assim como, por processos não dependentes de ligações com receptores (FEBRASGO, 2010; BARBOSA et al., 2020).

É sabido que paralelo à menopausa existe um agravamento no desenvolvimento de uma patologia conhecida como Doença de Alzheimer (DA). A DA é caracterizada por perda progressiva na memória, comprometimentos cognitivos além de alteração na personalidade e deterioração da função sináptica, levando assim à perda de neurônios em regiões do cérebro, incluindo no neocórtex, sistema límbico e as regiões subcorticais (YAO; BRINTON, 2012).

O Sistema Nervoso Central (SNC) apresenta prejuízos decorrentes da menopausa (distúrbios de sono, humor e déficits cognitivos) (WISE, 2001; EDWARDS; LI, 2013). Tanto no metabolismo celular quanto na produção de energia, tem-se a atividade contínua da mitocôndria, porém o destaque encontra-se na proteção contra neuropatias degenerativas, encefalopatia mitocondrial e episódios semelhantes ao acidente vascular cerebral (JONGPIPUTVANICH et al., 2005), que apresentam relação com uma diminuição do 17 β Estradiol (E2) (FEBRASGO, 2010; RETTBERG et al., 2013; BALTA et al., 2019), visto que o E2 exerce função importante no cérebro (WISE, 2002; WISE et

al., 2001), e sua privação pode agravar doenças neurodegenerativas e déficits cognitivos (GREEN et al., 2000; WISE et al., 2001; BEN et al., 2010).

Mediante a correlação entre distúrbios cognitivos e mulheres que se encontram no período pós-menopausa, tem-se como foco de tratamento atingir os agentes etiológicos da disfunção mitocondrial dos neurônios no sistema nervoso central (diminuição do estrogênio) (FEBRASGO, 2010; RETTBERG et al., 2013; BALTA et al., 2019).

A mitocôndria é a organela responsável por 90% do fornecimento de Adenosina Trifosfato (ATP), processo esse que ocorre prioritariamente através da fosforilação oxidativa (CHEN et al., 2006). Além disso, a mitocôndria apresenta outras importantes funções, as quais envolvem a integração e coordenação da morte celular programada, também conhecida como apoptose (BELZACQ et al., 2002).

As disfunções mitocondriais são causadas por comprometimentos da cadeia respiratória da própria mitocôndria (FILOSTO; MANCUSO, 2007; DIMAURO; SCHON, 2003), e podem envolver também alterações no DNA mitocondrial (mtDNA) (FILOSTO; MANCUSO, 2007; LAGO et al., 2021).

É sabido que o comprometimento da função mitocondrial implica na degeneração celular no cérebro (BEAL, 1992). Grahan et al. (1997) sugerem que a proteína mitocondrial Translocase de Nucleotídeo de Adenina -1 (ANT-1) exerce um papel essencial no metabolismo bioenergético mitocondrial. As desordens envolvendo essa proteína estão intimamente relacionadas com doenças como miopatias, cardiomiopatias e desordens cognitivas. Como os fatores do mecanismo de declínio no metabolismo de glicose e na função mitocondrial no cérebro podem aparecer muito antes do surgimento das características histopatológicas ou clínicas, eles podem ser utilizados como biomarcadores do risco, ou até mesmo como alvo terapêutico da DA (GRAHAN et al., 1997). Bobba et al. (2013) correlacionam o comprometimento da proteína ANT-1 com a progressão da DA.

Com o estudo de modelos *in vitro* e *in vivo* de DA pode ser verificado uma diminuição da respiração mitocondrial, expressão e atividade enzimática do metabolismo reduzidas, o metabolismo de glicose cerebral também diminuído, aumento do estresse oxidativo e aumento na carga alfa e beta na mitocôndria e uma expressão de ABAD. Esse padrão de hipometabolismo cerebral levou à uma previsão do declínio cognitivo no envelhecimento normal ou também para uma progressão de comprometimento cognitivo leve para a DA, contendo uma alta taxa de precisão, além do que ficou em evidência uma

alta relação entre o metabolismo interrompido da glicose e patogênese da DA (YAO; BRINTON, 2012).

Um tratamento clínico ainda muito utilizado e recomendado no tratamento da menopausa é a Terapia de Reposição Hormonal (TRH), que apresenta efeitos colaterais deletérios importantes e proporciona aumento no risco de desenvolvimento de outras doenças, como câncer de mama e colo de útero, acidentes vasculares cerebrais (AVCs), e doenças cardiovasculares (BROWN, 2008; NAMS, 2018).

O Treinamento Resistido (TR) é uma técnica de exercício físico em que se objetiva a manutenção da saúde do ser humano, que envolve benefícios não farmacológicos tanto ao sistema musculo esquelético (gerando força, resistência, potência, melhora do equilíbrio, melhora da densidade mineral óssea e gera uma inibição do processo degenerativo osteomuscular) como para o Sistema Nervoso Central (SNC) (melhora da cognição, diminuição ao risco de depressão e diminuição da ansiedade). A técnica do TR propriamente dita envolve resistir a cargas impostas contra a gravidade que podem ser executadas com peso do próprio corpo ou com auxílios de equipamentos específicos (MATSUDO, 2009; FLECK; KRAEMER, 2017)

No entanto, este trabalho parte da premissa que o exercício físico, mais especificamente o Treinamento Resistido (TR), pode ser mais benéfico para a prevenção e tratamento dos efeitos deletérios que a disfunção mitocondrial proporciona no cérebro durante o período da menopausa, por causar efeitos positivos em nível sistêmico que melhoram a viabilidade e longevidade celular (PRESTES et al., 2011).

O TR oferece diversos benefícios relacionados à saúde, desde estética, aptidão física e composição corporal (KRAMER et al., 2002), bem como existe uma correlação entre o TR e o metabolismo mitocondrial de redução-oxidação e danos oxidativo, que levam a uma adaptação por meio da ativação de agentes sinalizadores como PGC-1 α , NF- κ B e MAPK (BO et al., 2013). O efeito benéfico do TR dependerá da correta prescrição entre os componentes do treinamento (intensidade, volume, duração, densidade, complexidade e frequência), promovendo as adaptações agudas e crônicas devido a transdução de sinais mecânicos em sinais químicos estimulados pelo próprio TR (BARBANTI, 1994; KRAEMER et al., 2002; HALL, 2011; FLECK; KRAEMER, 2017).

O TR pode influenciar positivamente processos mitocondriais como a biogênese, dinâmica, mitofagia e apoptose (BO et al., 2013), assim como é capaz de reverter efeitos deletérios no tecido ósseo em ratas ovariectomizadas (SHIGUEMOTO et al., 2012) e é

capaz de prevenir a disfunção mitocondrial e a superexpressão de proteínas desacopladoras (UCP-3) (MONTEIRO et al., 2019).

As mulheres acometidas pelos efeitos deletérios da menopausa podem se beneficiar com o TR (DESCHENES; KRAEMER, 2002; PRESTES et al., 2009), por meio da adaptação mitocondrial já que suas vias de sinalizações interagem com os hormônios suprimidos pela menopausa (GONZALEZ et al., 2016), aumentando a densidade mineral óssea (SHIGUEMOTO et al., 2012) e diminuindo a gordura corporal (DESCHENES; KRAEMER, 2002; BARBOSA et al., 2016).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Menopausa

A ocorrência da menopausa parece ser geneticamente programada em cada caso, associada a mecanismos biológicos que se originam de alterações que ocorrem na estrutura e função dos ovários, sendo dependente de fatores como número de folículos ovarianos, socioeconômicos e culturais, tabagismo, altitude e nutrição. O número de folículos em mulheres antes da menopausa é dez vezes maior do que em mulheres após a menopausa, pois quase não há folículos nos ovários de mulheres na pós-menopausa, indicando que o número de folículos armazenados é um fator determinante no período de transição da menopausa (FEBRASGO, 2010; KARGOZAR et al., 2017).

Existe um período denominado de climatério, que remete a transição entre o período reprodutivo e o não reprodutivo da mulher. Sendo que a menopausa é uma etapa que ocorre durante o climatério e é confirmado após 12 meses consecutivos de amenorreia, a divisão desde episódio se dá em pré-menopausa ou perimenopausa e pós-menopausa (SOBRAC, 2004; BRASIL, 2008).

Sintomas da pré-menopausa incluem irregularidade dos ciclos menstruais, menorragia ou hipermenorreia, assim como os fogachos e alterações de humor. Já na fase pós-menopausa algumas mudanças são notadas como o ressecamento vaginal, dispareunia, urgência urinária, disúria e perda da libido. As modificações se destacam de acordo com a individualidade de cada indivíduo, história de vida, condições sociais, econômicas, fatores hereditários e culturais (DE SOUZA et al., 2015).

A produção de estrogênio ocorre principalmente nos ovários, corpo lúteo, placenta, e em quantidades menores são produzidas também em órgãos como fígado, coração, pele e cérebro. As principais formas fisiológicas de estrogênio são: Estrona (E1),

estradiol (E2 ou 17 β -estradiol), e estriol (E3), cada um apresentando produtos e funções diferentes no organismo (CUI et al., 2013).

A carência de E2 (deficiência ou ausência na produção) pode induzir casos de demência como a DA, caso o quadro de deficiência permaneça contínuo (BERGLUND, 2018).

O risco de demência parece ser diferente para homens e mulheres ao longo do processo de envelhecimento, com as mulheres apresentando um risco aumentado de demência logo após a menopausa. Essas descobertas combinam com mulheres que comumente relatam uma "névoa cerebral" descendo após a menopausa, o que pode ser a primeira indicação de risco aumentado de demência (ROCCA et al., 2014, MAKI et al., 2016; BERGLUND, 2018).

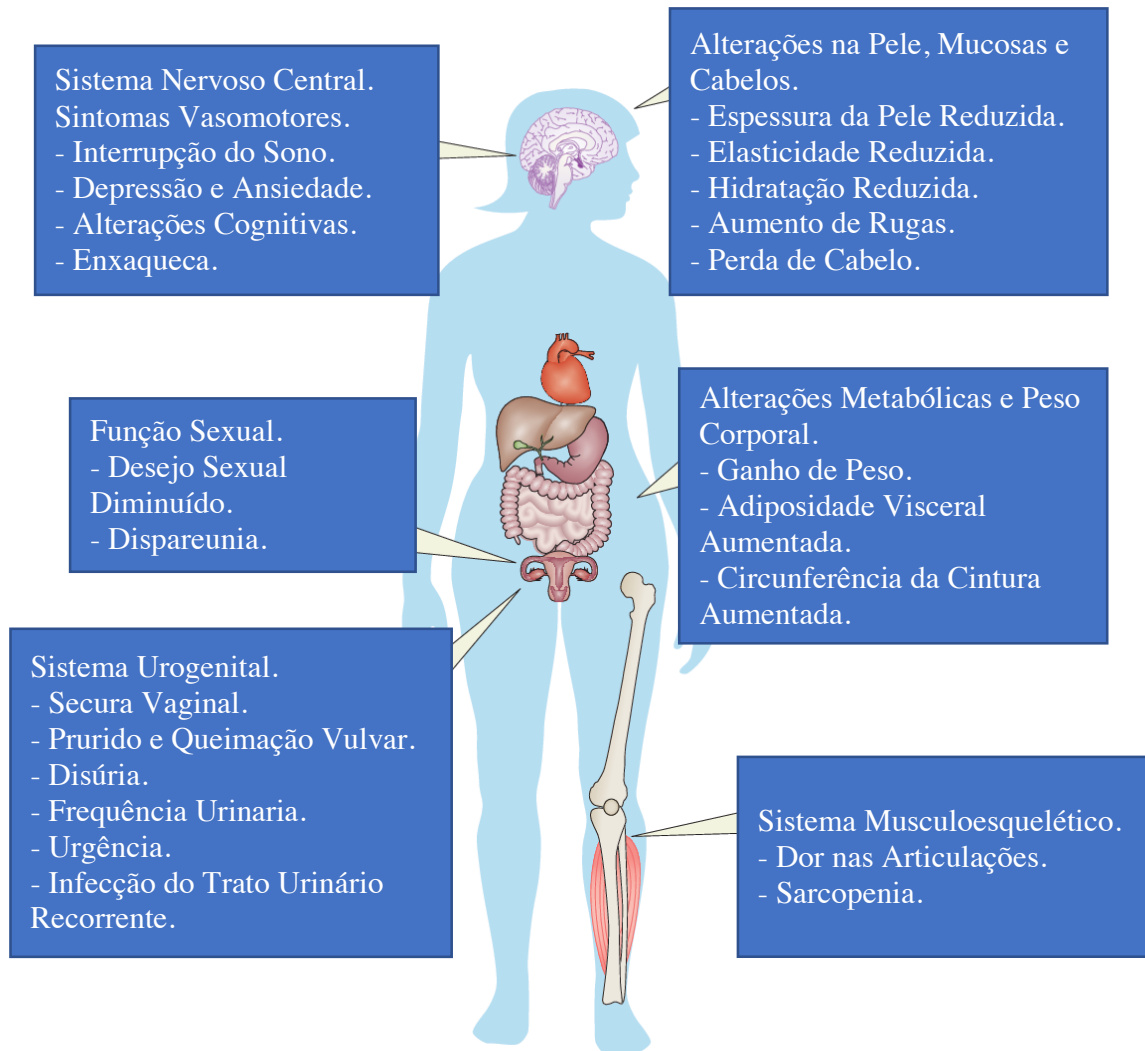
Entre as principais funções do estrogênio pode-se citar a atividade de coagulação, manutenção do equilíbrio de fluidos adequado, promoção do aumento nas lipoproteínas de alta densidade e diminuição na de baixa densidade, além de exercer ainda papéis benéficos ao fígado, inibindo a proliferação de células estreladas e fibrogênese, que são responsáveis pela formação de fibrose no fígado. A atividade em destaque do estrogênio, que está associada a este trabalho, remete à regulação da estrutura e função mitocondrial, e no período da menopausa com a queda acentuada do E2 as mulheres podem sofrer com alterações relacionadas à baixa atividade mitocondrial, relacionadas a alterações físicas e psíquicas (FEBRASGO, 2010; MEDEIROS, 2019).

Nesta fase da menopausa, ocorre um aumento de massa corporal na mulher, porém tal acometimento pode não depender da carência estrogênica, mas sim das alterações fisiológicas, onde há um aumento da adiposidade central, entretanto não um ganho global, diminuição acentuada da densidade mineral óssea, e aumento da incidência de infarto agudo do miocárdio (ANTUNES et al., 2003).

A figura 1 demonstra algumas disfunções globais que ocorrem no organismo da mulher quando ocorre queda na produção de estrogênio. O SNC e o sistemas vasomotor apresentam disfunções como interrupção de sono, depressão e ansiedade, alterações cognitivas e enxaqueca. Já na pele, na mucosa e em cabelos observa-se uma redução na espessura, elasticidade e hidratação, assim como aumento de rugas e perda de cabelo. São percebidas também alterações na função sexual que está associada à queda na libido e dispareunia. O metabolismo apresenta alterações que levam ao ganho de peso corporal que ocorre pelo aumento da circunferência da cintura devido ao aumento na adiposidade visceral. O sistema urogenital apresenta secura vaginal, prurido e queimação vulvar,

disúria, urgência na frequência urinária e infecção do trato urinário recorrentes. Já no sistema musculoesquelético apresenta tanto dores nas articulações como também a sarcopenia (MONTELEONE et al., 2018).

Figura 1: Visão geral dos sintomas da menopausa:



Fonte: Modificado de Monteleone et al. (2018).

Os sintomas incluem, distúrbios ao sistema nervoso central (SNC), alterações cardiometabólicas, osteomusculares, atrofia urogenital e cutânea além de disfunção sexual. Na perimenopausa, ocorrem alterações neuroquímicas, ocasionando em sintomas vasomotores graves, distúrbios do sono e depressão, podendo também afetar a função cognitiva. A longo prazo o declínio definitivo do estrogênio leva a atrofia urogenital, envelhecimento da pele, sendo que a osteoporose e sarcopenia podem se desenvolver no período pós-menopausa (MONTELEONE et al., 2018).

Assim como essa reação progride para uma perda de massa muscular considerável, tal acontecimento está intimamente relacionado à sarcopenia, o que ainda é responsável por uma nova redistribuição de gordura subcutânea (MALTAIS et al., 2009), além favorecer o aparecimento de osteoporose pela menor atividade de osteoblastos, sendo que mulheres não obesas que passam por esse processo tendem a apresentar maiores quantidades de gorduras viscerais (ABDULNOUR et al., 2012).

Contudo, esse acontecimento sendo de natureza fisiológica, a diminuição na produção do estrogênio acaba afetando a maioria dos sistemas e órgãos do corpo das mulheres, como o cérebro, coração, sistema imunológico, reprodutivo, pele e ossos (RETTBERG et al., 2013). Com todos esses acometimentos no processo de envelhecimento da mulher, estas mudanças tendem influenciar de forma negativa a qualidade de vida, pois, além dos já citados acima, pode ocorrer também alterações de humor, alterações cognitivas, distúrbios de sono, diminuição da libido, ressecamento da pele e das mucosas e sintomas vasomotores, sendo que algumas outras alterações irão acontecer de forma mais tardia como a diminuição da densidade mineral óssea, elevados riscos cardiovasculares, além de alterações uroginecológicas (SCHOENAKER et al., 2014).

3.2. Estrogênio e sistema nervoso central

O estrogênio tem uma influência na organização neural, sendo essencial na manutenção da densa rede de fibras neurais, onde conectam as células nervosas, influenciando as atividades e ações de diversos neurotransmissores no metabolismo cerebral e o próprio processo oxidativo que ocorre em nível do sistema nervoso central (YAO; BRINTON, 2012). Este hormônio pode influenciar o curso e os sintomas de doenças psiquiátricas, como por exemplo a esquizofrenia, pois o estrogênio apresenta efeito protetor contra psicoses como observado nas mulheres que foram acometidas pela esquizofrenia em comparação às mulheres saudáveis, que neste caso apresentaram maiores níveis de estrogênio (BARBOSA et al., 2020). Essa diminuição de produção estrogênica ovariana após a menopausa não é determinante para a deficiência estrogênica em nível cerebral. Nesses aspectos o líquido cefalorraquidiano parece não mudar com a idade, mas não significa que essa manutenção seja suficiente para as necessidades do sistema nervoso central (SNC), alguns esteroides são sintetizados no SNC pelas células gliais de modo independente das fontes periféricas. Um grupo de neuroesteróides são produzidos endogenamente no SNC sendo respectivamente a pregnenolona, a

dehidroepiandrosterona e a progesterona (FEBRASGO, 2010; GOGOS et al., 2015; JI et al., 2016; SEARLES et al., 2018; GOGOS et al., 2019).

A explicação para o fato citado acima é que o estrogênio tem uma característica lipofílica, com propriedade de transpassar a barreira hematoencefálica, modulando a excitabilidade, por meio de interações com canais iônicos controlados por ligantes e outros receptores da superfície celular (CAI et al., 2018; MILLER, 2019). Os distúrbios cerebrais e as doenças mentais, em particular, são considerados comuns e um dos principais desafios da saúde global no século XXI, e o sexo é um importante fator para determinar a prevalência e a gravidade destes distúrbios, sendo que o sexo feminino apresenta maiores proporções desses índices (BALTA et al., 2019).

Alguns sintomas que envolvem o SNC surgem como seqüela de alterações neuroquímicas, onde prevalecem logo após a falência ovariana, como sintomas vasomotores, distúrbio do sono, ansiedade, depressão, enxaqueca e alteração no desempenho cognitivo (MONTELEONE et al., 2018).

Existem funções e regiões cerebrais que são sensíveis ao estrogênio, com mecanismos característicos, podendo ser mediadas por receptores intranucleares – REs (encontrados no interior dos núcleos de células neurais, responsáveis por regular a transcrição dos genes alvos), ou mediadas por receptores de membrana, assim como processadas de maneira não dependentes de ligações com receptores. Existem muitas alterações neuronais implicadas na etiologia da esquizofrenia nas quais os estrogênios podem exercer efeitos neuroprotetores (SINGER et al., 1996).

O fato é que a diminuição da excitotoxicidade causada pelo excesso de glutamato na disfunção de receptores N-metil D-aspartato (NMDA-r) pode causar alterações neurais características de disfunções no SNC. O E2 atenuar a apoptose induzida pela exposição aguda de altos níveis de glutamato e preserva a função eletrofisiológica nos neurônios corticais. Assim como em baixas concentrações de glutamato, o estradiol atua aumentando os sítios de ligação do NMDA-r. É observado que a redução da função do NMDA-r pode ser influenciada pelo estrogênio como resposta aos seus efeitos espinogênico e sinaptogênico em uma via glutamatérgica específica, a via hipocampo-accumbens. É confirmado que níveis elevados de estrogênio na idade reprodutiva, atenuam a sintomatologia negativa de esquizofrenia, assim como, atrasa o surgimento e as formas mais crônicas da doença no período após a menopausa (SINGER et al., 1996; CULMSEE et al., 1999).

O estradiol apresenta ação antioxidante e protege o tecido cerebral da morte celular induzida pela oxidação celular. Esse efeito antioxidante não depende de receptores estrogênicos clássicos, já que as moléculas que retêm o componente fenol do estradiol apresentam propriedades antioxidantes e neuroprotetoras, mesmo quando os receptores estrogênicos estão bloqueados. Associa-se ao estrogênio um efeito anti-inflamatório no cérebro, pelo mecanismo de ajuste da expressão do complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC-II) numa variedade de células cerebrais (SEEMAN, 2012; SPAMPINATO et al., 2012; GOGOS et al., 2015; RIECHER-RÖSSLER, 2017; CHÁVEZ-CASTILLO et al., 2019; GOGOS et al., 2019).

Um efeito importante do estradiol está no mecanismo inibitório do fator nuclear kappa ($\text{NF-}\kappa\text{B}$), um fator de transcrição que promove a produção de citocinas. Além do estradiol ter ações anti-inflamatórias na glia, reduzindo a ativação glial e a liberação de citocinas, com propriedade anti-inflamatória natural, e exerce papel crucial no ajuste de diversos neurotransmissores, como por exemplo, acetilcolina, dopamina, ácido gama aminobutírico (GABA), glutamato, noradrenalina, peptídios opióides, melatonina, serotonina, como também os neuropeptídicos (peptídios opióides endógenos), os esteroides sexuais (capazes de influenciar diretamente o hormônio responsável por liberar a gonadotrofinas - GnRH), liberador de corticotrofina - CRH, neuropeptídeo Y, o peptídeo intencional vasoativo - VIP, peptídeo pancreático humano - hPP, substância P, endotelinas e galanina (OSPINA et al., 2004; AKABORI et al., 2010; FEBRASGO, 2010; XING et al., 2012; SÁRVÁRI et al., 2014).

Efeitos indiretos do estrogênio sobre os neurônios do SNC:

- Células gliais: Aumenta seu crescimento, densidade dendrítica, ampliando assim a comunicação entre os neurônios e as células glia.
- Fluxo sanguíneo cerebral, efeitos a curto prazo direto sobre vasos sanguíneos cerebrais, vasodilatação; a longo prazo, coagulação e fibrinólise, e sobre o metabolismo de lipídios.
- Atividade cerebral, determinando seu aumento.
- Sinal de transmissão pré e pós-sináptico por meio do aumento da síntese de neurotransmissores e receptores.
- Proteção contra danos oxidativos, envolvendo a beta-neurotoxicidade e a toxicidade do glutamato. O estrogênio funciona como um importante agente antioxidante protegendo os neurônios de estresse oxidativo e podendo até proteger o SNC de eventuais isquemias.

- Produção de fatores de crescimento, determinando assim o aumento dos mesmos estrogênios, estimulando grande variedade de fatores neurotróficos no SNC, e promover a regeneração de neurônios parcialmente lesados.

- Inibição da expressão de moléculas de adesão e citocinas.

- A ramificação dendrítica e a formação de sinapses em espinha dendrítica no hipocampo é melhorada além de aumentar a atividade de acetiltransferase de colina nos membros anteriores do cérebro basal, bem como no hipocampo de ratos (FEBRASGO, 2010; MONTELEONE et al., 2018; COUGHLAN et al., 2019).

- O transporte de glicose através da barreira hematoencefálica com o estrogênio é melhorado junto com a utilização da glicose no cérebro, evitando uma cascata que induz a neuroglicopenia que levam à degeneração neural (FEBRASGO, 2010; MONTELEONE et al., 2018; COUGHLAN et al., 2019).

- O seu efeito anti-apoptótico tem uma contribuição na sobrevivência celular dos neurônios através da modulação das neurotrofinas que induzem o funcionamento dos neurônios (COUGHLAN et al., 2019).

- Efeitos neuroprotetores, estimulação da atividade colinérgica e redução do dano oxidativo, além de impedir que a proteína beta-amiloide induza o aumento de cálcio intracelular e provoca danos mitocondriais (COUGHLAN et al., 2019).

A figura 2 representa as influências da menopausa no cérebro. Tanto o humor quanto as funções cognitivas se alteram por conta do aumento da noradrenalina, do cortisol, e beta amiloide, assim como queda de dopamina, de serotonina, de androstenediona, de testosterona, da função GABA, de beta endorfinas, de alopregnanolona, de dehidroepiandrosterona (DHEA), de sulfato dehidroepiandrosterona (DHEAS). Já no sistema urogenital, observa-se a queda da E1, do E2, da androstenediona, da testosterona, da DHEA e DHEAS (MONTELEONE et al., 2018).

Na pele e no cabelo podem ser observados alterações associadas ao envelhecimento, que por sua vez têm relação com a queda da relação Estrogênio / Androgênio, e queda da testosterona e Diidrotestosterona (MONTELEONE et al., 2018).

A remodelação óssea sofre alterações por conta da queda do E2 e do fator de crescimento transformante beta (TGF β), e elevação do N-telopectídeo de colágeno tipo 1, do telopeptídeo C-terminal do colágeno tipo 1, das ligações cruzadas de piridinolina, da interleucina 1 (IL-1), da interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF α).

São observados também alterações metabólicas e cardiovasculares que estão associadas ao aumento da lipoproteína de baixa densidade (colesterol LDL), do ácido graxo livre (AGL), do triglicérides, do cortisol, da testosterona, da leptina e do sistema renina-angiotensina. As alterações musculares são afetadas negativamente por conta da queda do hormônio de crescimento (GH), do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) da proteína ligadora do IGF-1 tipo 3 (IGFBP3) e da testosterona. Em resumo a queda da inibina B, E2 e progesterona, assim como a elevação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) caracterizam o mecanismo deletério do período da menopausa (MONTELEONE et al., 2018).

Figura 2: Menopausa e Cérebro.



Fonte: Modificado de Monteleone et al. (2018)

3.3. Fluxo sanguíneo e atividade cerebral

Na menopausa ocorre uma redução na zona termo neutra do corpo que leva a ocorrência de pequenos aumentos de temperatura corporal central, provocando o desencadeamento de reações termo regulatórias excessivas, que causam vasodilatação

periférica e sudorese para a eliminação dessa temperatura elevada. O circuito termorregulador é formado por elementos funcionais que estão sobre o controle catecolaminérgico e/ou serotoninérgico, papel fundamental na integração de informações térmicas junto com o controle dessas reações termo regulatória, no qual o responsável por controlar esses mecanismos é o hipotálamo (BORGES, 2018; SANTOS, 2021).

Com o processo de perimenopausa, os ciclos hormonais sexuais ficam dessincronizados e irregulares, podendo chegar ao seu pico e acabam tendo uma diminuição acelerada; com essa irregularidade, o cérebro não consegue se adaptar ao ciclo, o que leva à disfunção termo-regulatória, alterando as funções nas vias noradrenérgicas e serotoninérgicas, sendo que essas duas vias apresentam um papel importante na estabilização da zona termo neutra. Com a lenta progressão, redução e o desaparecimento final dos sintomas vasomotores durante essa transição da menopausa, os reajustes cerebrais frente as diferentes concentrações hormonais e de neurotransmissores, podem exigir uma quantidade de tempo diferente e variável para cada indivíduo (KOEBELE; BIMONTE-NELSON, 2016; MONTELEONE et al., 2018).

As células gliais, importantes tanto na função neural normal quanto em situação de dano no SNC, estão envolvidas na síntese e no metabolismo dos compostos esteroides, por exemplo o E2, que é sintetizado no ovário chega aos neurônios via corrente sanguínea. Uma outra via de produção de estradiol pode ocorrer através dos astrócitos, que sintetizam a testosterona (síntese local) a transforma em estradiol através da enzima aromatase. Nos indivíduos do sexo feminino, a síntese de testosterona acontece no córtex adrenal (25%), nos ovários (25%), bem como também por aromatização (50%) no fígado, rins, intestinos, pulmões, tecido adiposo e SNC (RIBEIRO et al., 2017).

O fato em destaque é que as mulheres na menopausa apresentam uma diminuição na concentração de estradiol, que está associada à diminuição do fluxo de sangue cerebral, causando com isso adaptações negativas tanto na expressão neural como na síntese local de estrogênio em diferentes áreas cerebrais (FEBRASGO, 2010).

O mecanismo do estrogênio no córtex cerebral acontece por 3 vias: difusão direta do E2 periférico para o sistema nervoso central (SNC); conversão da testosterona e androstenodiona pela aromatase pré-sináptica existente no cérebro; e pela síntese de novo de estrogênio no cérebro a partir do colesterol. O E2 estimula seus receptores desde o desenvolvimento do indivíduo, caso ocorra uma lesão cerebral pode acontecer uma inibição deste mecanismo (NASSIF et al., 2005; ISHUNINA et al., 2007; FEBRASGO, 2010; RIBEIRO et al., 2017).

Os hormônios sexuais na fase adulta, como por exemplo o estrogênio, podem afetar as funções cerebrais através de neurotransmissão moduladora, chamados de esteroides neuroativos (modulam a excitabilidade neuronal através de interações específicas com receptores de neurotransmissores e canais de íons). Sua síntese ocorre no SNC, predominantemente no hipocampo, a partir do colesterol endógeno. A produção dos neuroesteroides acontece nas mitocôndrias e nos microsomos de neurônios e células da glia, e sua liberação ocorre por difusão passiva (PALMEIRA et al., 2011).

A falta de E2 no cérebro pode alterar as funções cognitivas, de concentração e de memória e depressão, Em média 33% das mulheres podem ser acometidas por um episódio de depressão, sendo que 9% apresentarão durante o climatério (FREEMAN, 2011). As áreas do cérebro responsáveis pelo sistema cognitivo (córtex, lobos temporais e sistema límbico), possuem receptores estrogênicos que estão associados com memória e concentração (GIACOMINI, 2006).

3.4. Ovariectomia

Tendo em vista as alterações que ocorrem durante a menopausa, modelos animais são submetidos a Ovariectomia (pela semelhança na sintomatologia), para compreender os acometimentos no período da menopausa. A ovariectomia é um procedimento cirúrgico de retirada dos ovários considerado padrão ouro no declínio abrupto dos hormônios sexuais em animais experimentais e em mulheres (LEMINI, 2015; COLLINS, 2017; CARDOSO; CAMARGO, 2017).

Uma fase conhecida como ciclo estral, marca o ciclo hormonal nas ratas, com duração de 4 a 5 dias, e no fim deste ciclo o revestimento da parede uterina é absorvido; o período da estropausa (período em que os animais perdem a capacidade de reprodução) acontece entre o 9º e o 12º mês de vida, diferenciando-se das mulheres, visto que o ciclo é conhecido como ciclo menstrual, e a fase não reprodutiva acontece por volta dos 50 anos de idade e o revestimento da parede uterina é descamado do corpo por meio da menstruação (MESSIER et al., 2011; KOEBELE, 2016; BARBOSA et al., 2016).

Em complemento a todos esses fenômenos citados acima, no trabalho de KALU (1991) realizou-se em ratas maduras jovens os procedimentos de remoção dos ovários através de uma cirurgia bilateral. Justificada pelo fato de evitar todas as influências dos fenômenos associados aos processos de envelhecimento nos resultados encontrados nos estudos (BRINTON, 2012). Após três semanas da cirurgia, os animais tendem a estar recuperados e os seus níveis séricos de E2 tendem a estar suprimidos e próximo a zero, e

com essa modificação hormonal podemos notar algumas mudanças no decorrer do tempo, mudança como a alteração significativa na composição corporal e atrofia vaginal (BRINTON, 2012; KOEBELE, 2016).

3.5. Cérebro

A estrutura cerebral é composta por uma rede de células nervosas (neurônios), com a peculiaridade de possuir três domínios funcionais, sendo o primeiro o corpo celular (núcleo, ribossomos, retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi, mitocôndrias e lisossomos), o segundo, um longo axônio (amielinizado) e o terceiro, numerosas regiões sinápticas denominadas como dendritos (SAXTON; HOLLENBECK, 2012; WU et al., 2013).

O cérebro é uma estrutura com alta demanda metabólica, (consumindo cerca de 20 % do oxigênio captado). Suas atividades com o oxigênio consumido envolvem a síntese do ATP, necessário pelo sistema nervoso central para manter o gradiente iônico da membrana celular, promover a neurogênese, diferenciação celular, formação de dendritos e axônios (JAIN et al., 2010; BOLISSETTY; JAIMES, 2013; GEHRKE et al., 2015; RAJASEKARAN et al., 2015; XAVIER et al., 2015).

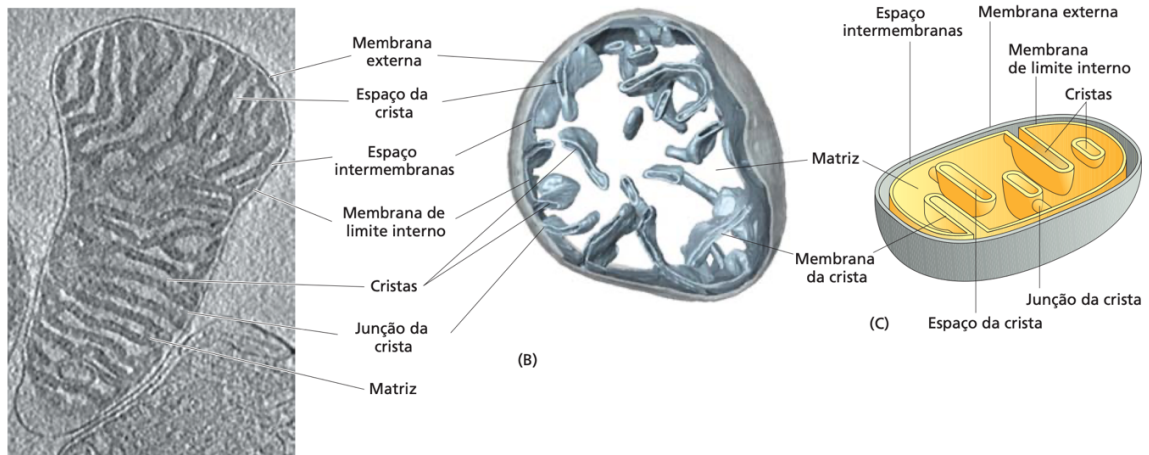
3.6. Mitocôndrias

Dada sua importância, é simples constatar que a integridade das mitocôndrias pode afetar a viabilidade celular, comprometendo tecidos e órgãos (KOWALTOWSKI, 2000). A função mitocondrial tem uma dependência do estrogênio, responsável por evitar uma desregulação da homeostase do cálcio (Ca^{2+}), o que aumenta o sequestro mitocondrial do Ca^{2+} , e ao mesmo tempo, sustenta a respiração mitocondrial. O estrógeno também é capaz de aumentar a geração de adenosina trifosfato (ATP) em neurônios saudáveis do hipocampo, além de sustentar a geração de ATP mesmo após uma exposição a $A\beta$ -42 (YAO; BRINTON, 2012).

A produção de ATP acontece nas mitocôndrias, que por sua vez são organelas formadas por quatro compartimentos (Figura 3), divididas em membrana externa, espaço intermembranar, membrana interna e matriz mitocondrial, local em que os ribossomos e DNA (DNAmt) estão envolvidos na síntese de proteínas específicas responsáveis pelo processo de formação dos complexos da cadeia transportadora de elétrons (CTE), componente da membrana interna. Os complexos proteicos (I-IV) concomitante a atividade do Ciclo de Krebs (na matriz) otimizam a geração de um gradiente eletroquímico de prótons (H^+) através da membrana interna (a passagem de elétrons pela

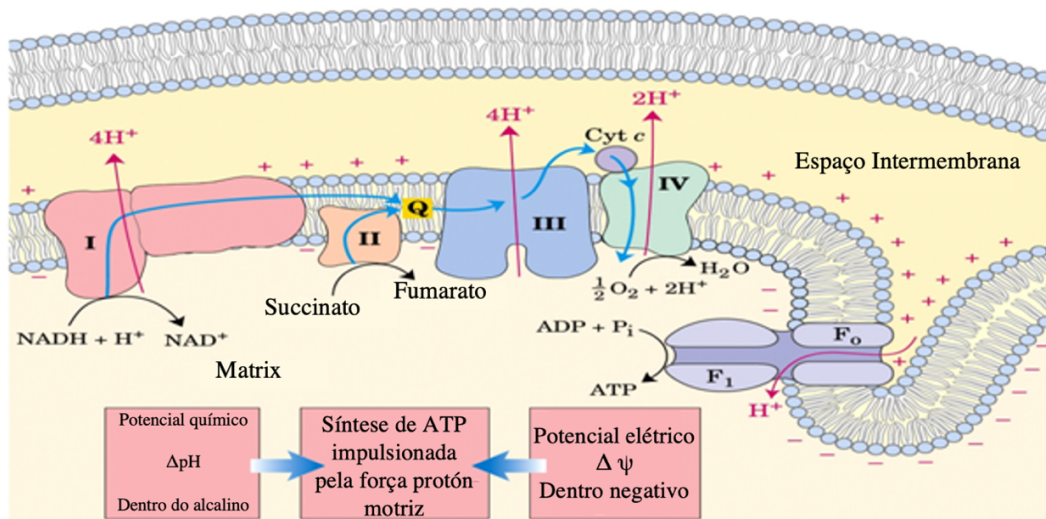
cadeia respiratória e o oxigênio é acoplada ao transporte de H^+ da matriz para o espaço intermembrana). Uma vez formado, o gradiente eletroquímico de H^+ aciona o complexo V (ATP Sintase), desta forma acontece a catalisação da síntese de ATP, conhecido também como fosforilação oxidativa (Figura 4) (FRIEDMAN; NUNNARI, 2014; ALBERTS et al., 2017).

Figura 3: Morfologia da Mitocôndria.



Fonte: Modificado de Alberts et al., (2017)

Figura 4: Cadeia Transportadora de Elétrons



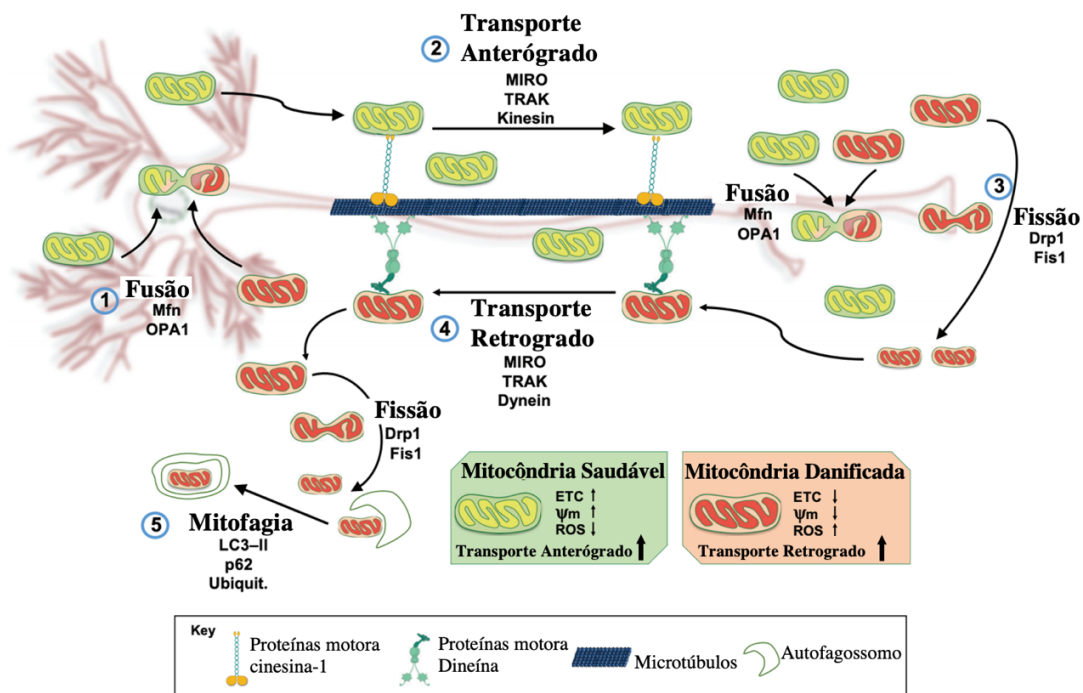
Fonte: Modificado de Nelson & Cox (2013)

No interstício celular, as mitocôndrias, pelo mecanismo de fissão e fusão, caracterizam-se pela capacidade do potencial de membrana, transporte de biomoléculas, e desencadeamento da biogênese e mitofagia (Figura 5). Estas dinâmicas são fundamentais na distribuição, regulação e bioenergética mitocondrial, caso não ocorram

podem desencadear disfunções mitocondriais, comprometendo a saúde celular, incluindo doenças neurodegenerativas (TANNER et al., 2011; STEKETEE et al., 2012; XAVIER et al., 2015; SZCZEPANOWSKA; TRIFUNOVIC, 2015; ZHANG et al., 2015; BUNKAR et al., 2016).

A dinâmica mitocondrial em neurônios é regulada pelas atividades da fusão, fissão, transporte mitocondrial e mitofagia. As mitocôndrias danificadas (marcadas em vermelho, Figura 5) podem ser restauradas pela fusão (1) com mitocôndrias saudáveis (em verde), um processo que ocorre principalmente no corpo celular dos neurônios e são direcionados pela mitofusina (Mfn) e *Optical atrophy 1* (OPA1). Já as mitocôndrias saudáveis são transportadas nos axônios do corpo celular para as sinapses pelo sistema de transporte axonal anterógrado (2), com o suporte da proteína motora cinesina. As mitocôndrias envelhecidas e danificadas podem sofrer fissão (3) direcionadas pela *Dynamamin-related protein 1* (DRP1) e *Fission 1 homologue protein* (Fis1), essas organelas são trazidas de volta ao corpo celular neuronal pelo sistema de transporte axonal retrógrado (4), sendo auxiliada pela proteína motora dineína. Em condições de danos irreversíveis no DNA mitocondrial, esta organela é destinada ao autofagossomo (5) (NELSON; COX, 2013; DEVOTO; FALZONE, 2017).

Figura 5: Dinâmica Mitocondrial no Neurônio



Fonte: Modificado de Devoto & Falzone (2017)

As mitocôndrias são as organelas responsáveis por 90% do fornecimento de Adenosina Trifosfato (ATP), processo esse que ocorre através da fosforilação oxidativa. (CHEN et al., 2006). Além disso, a mitocôndrias apresentam outras importantes funções, as quais envolvem a integração e coordenação da morte celular programada, também conhecida como apoptose (BELZACQ et al., 2002).

3.7. Estrogênio (E2)

O E2 tem a capacidade de aumentar a respiração mitocondrial máxima nos neurônios e a respiração basal e máxima na glia, assim como observa-se um déficit na bioenergética mitocondrial, mas quando existe a reposição E2 exógeno, o mesmo déficit não é apresentado, desta as vias de sinalização induzidas pelo estrogênio aderem para as mitocôndrias, transformando assim a mitocôndria como um elemento central do ponto de convergência da ação do estrogênio nos neurônios (YAO et al., 2011).

Em neurônios do SNC, o E2 ativa um sistema de cascata de sinalização, incluindo a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), sinalização regulada pela proteína G, c-fos, proteína quinase C (PKC) e influxo de Ca^{2+} . Todas as vias foram associadas à regulação do E2 da função e sobrevivência neural, e, contudo, a via PI3K tem um potencial de ativar simultaneamente as vias de sinalização MAPK, PKC, Ca^{2+} e Akt. Como resultante das ativações das vias citadas, obtém-se respostas neuroprotetoras coordenadas envolvendo respostas de forma imediata, intermediária e a longo prazo, sendo que as imediatas envolvem a fosforilação mediadas por PKC responsáveis pela abertura rápida dos canais de cálcio do tipo L seguindo para ativação da via de sinalização Src, ERK e CREB, paralelamente a ativação da via PI3K que leva a fosforilação de AKT inativando a proteína pró-apoptóticas, já as respostas intermediárias são caracterizadas pela translocação de Ca^{2+} , pERK e pAKT para o núcleo e ativação do fator de transcrição CREB (YAO; BRINTON, 2012).

3.8. Translocador de Nucleotídeo de Adenina

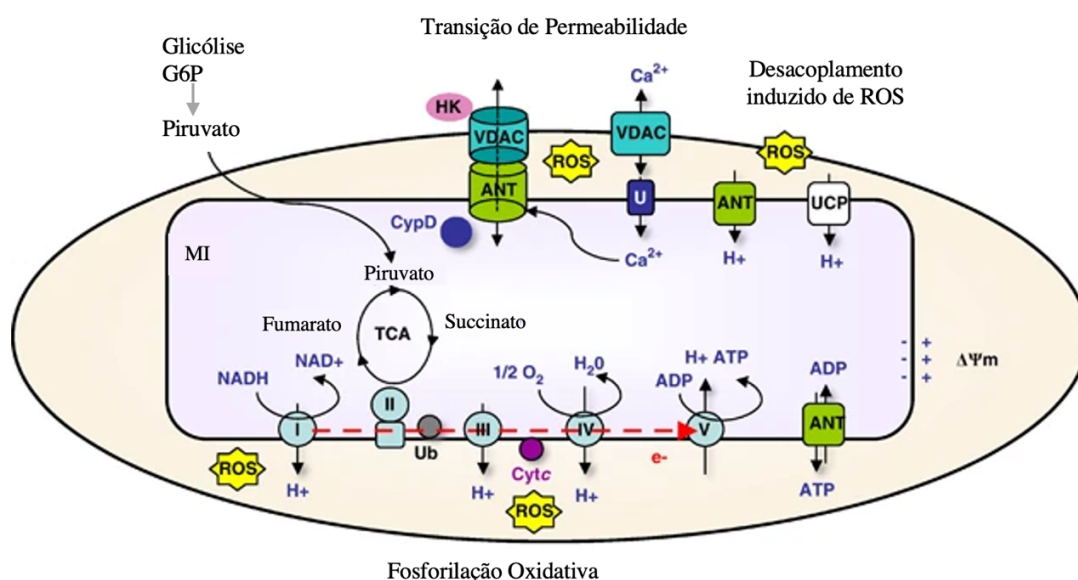
Por característica, a Adenina-nucleotídeo-translocase (ANT) (figura 6) é uma proteína bifuncional específica, é encontrada na membrana interna mitocondrial, com sua concentração em torno de 10 %, sendo a mais abundante. Sua função permite a troca eletrogênica de dois substratos, ADP e ATP, na proporção de 1:1 entre a matriz e o espaço intermembrana, o que gera uma estrutura dimérica formada por duas subunidades com

um peso molecular de 32 kDa (LEE et al., 2009; SHARER, 2005; BELZACQ et al., 2002).

A ANT diferencia-se em duas formas diferenciados, enquanto uma pode ser chamada de citosólico “c” (ANT_c), e a segunda é conhecida como matricial “m” (ANT_m). A ANT também está envolvida em outros processos mitocondriais, como exemplo, o vazamento basal de prótons, a abertura dos poros de transição e a permeabilidade mitocondrial (PEBAY-PEYROULA et al., 2003; BRAND et al., 2005; GOTTLIEB; TOMLINSON, 2005; BRENNER et al., 2011; DIVAKARUNI; BRAND, 2011; NELSON; COX, 2013).

Portanto, essa função é dependente de nucleotídeos, o que implica em um papel central no metabolismo energético e na compartimentação energética através do acoplamento da síntese mitocondrial de ATP à entrega citosólica. As funções mitocondriais, incluindo a troca eletrogênica ADP/ATP (figura 6) através da membrana interna, a participação no complexo de poros de transição de permeabilidade (PTPC) estimulado por Ca²⁺ e espécie reativa de oxigênio (EROs), uma atividade de desacoplamento que é estimulada por superóxido de ânion, ácidos graxos e lipídios peroxidados. As funções são moduladas pelo potencial interno transmembrana, $\Delta\Psi_m$, que é gerado pela fosforilação oxidativa e pela função dos complexos respiratórios I a V. Cyt_c, citocromo *c*; G6P, glicose-6-fosfato HK, hexoquinase, TCA, ciclo do ácido tricarboxílico; U, uniporte de cálcio; UCP, proteína de desacoplamento (PEBAY-PEYROULA et al., 2003; GOTTLIEB; TOMLINSON, 2005; BRENNER et al., 2011).

Figura 6 – Troca eletrogênica ADP/ATP



Fonte: Modificado de Brenner et al. (2011)

Como função, a ANT catalisa o processo energético de exportação de ATP da matriz mitocondrial para o espaço intermembrana e, inversamente, a importação de ADP do espaço intermembrana para a matriz. O transporte é eletrogênico e impulsiona a troca de ATP^{4-} e ADP^{3-} . Enzimaticamente a atividade da ANT é caracterizada em mitocôndrias isoladas de vários tecidos com nucleotídeos radiomarcados e em proteolipossomas nativos contendo ANT. A otimização na troca de ADP e ATP é moderada e a abundância da portadora refletiria uma adaptação à alta demanda intracelular da exportação de ATP (PFAFF; KLINGENBERG, 1968; PFAFF et al., 1969; VIGNAIS et al., 1973; LAUQUIN et al., 1979; BRANDOLIN et al., 1980; KLINGENBERG, 2008; BRENNER et al., 2011; DIVAKARUNI; BRAND, 2011; NELSON; COX, 2013).

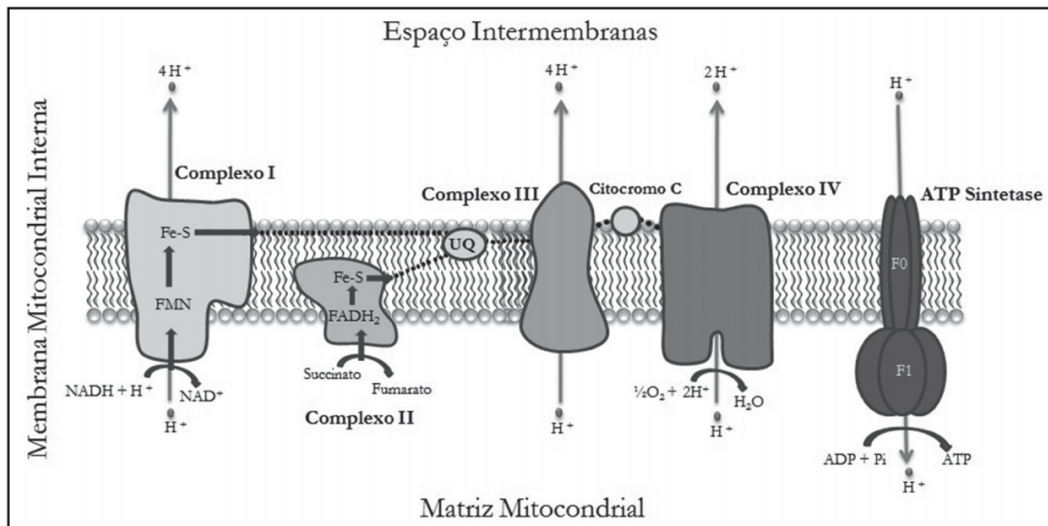
Este mecanismo de troca do ADP/ATP é controlado pela força próton-motriz, ao passo que essa troca ocorre, a ANT transfere quatro prótons para fora da matriz, a cada três que são transportadas para dentro. Por conta disto, sua ação é favorecida em razão do gradiente eletroquímico transmembrana, visto que a matriz mitocondrial é mais eletronegativa do que o espaço intermembrana (DIVAKARUNI; BRAND, 2011; NELSON; COX, 2013).

3.9. ATP-sintase

A cadeia transportadora de elétrons é formada por uma série de proteínas e moléculas orgânicas encontradas na membrana interna da mitocôndria. Os elétrons são

passados de um componente da cadeia transportadora para outro em uma série de reações redox. A energia liberada nestas reações é capturada na forma de um gradiente de prótons, o qual é usado para produzir ATP em um processo chamado quimiosmose. Juntas, a cadeia transportadora de elétrons e a quimiosmose formam a fosforilação oxidativa, como observado na Figura 7 (NADEGE et al., 2009; PEREIRA et al., 2012; NELSON; COX, 2013).

Figura 7: Cadeia transportadora de elétrons:



Fonte: Modificado de Pereira et al. (2012)

Como demonstrado na figura 6, os complexos da cadeia respiratória I, II, III e IV, e a ATP-sintase, são apresentados na forma de quatro complexos de proteínas que, transferem os elétrons provenientes da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e Flavina Adenina dinucleotídeo (FADH₂) para o oxigênio, que é o receptor final e cuja redução gera uma molécula de água. No transporte de elétrons, acontece o bombeamento de prótons pelos complexos I, III e IV da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, o que gera um gradiente eletroquímico entre o espaço intermembrana e a matriz mitocondrial. Os prótons bombeados para o espaço intermembrana retornam à matriz

mitocondrial pela ATP Sintase, gerando energia a partir desse processo para a formação de ATP necessária para a célula, onde $ATP = ADP + P_i + \text{Energia}$ (NADEGE et al., 2009; PEREIRA et al., 2012)

O termo ATP Sintase é atribuído às enzimas que fornecem energia (localizadas na membrana mitocondrial interna) para o funcionamento das células através da síntese de ATP. A maioria do ATP celular nos eucariotas é sintetizada por duas subunidades da ATP Sintase durante a fosforilação oxidativa a partir de ADP e de fosfato inorgânico (P_i), utilizando energia proveniente da decomposição da glicose (na fosforilação oxidativa), esta reação é impulsionada pelo fluxo de prótons do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial. A ATP sintase também é conhecida como complexo V ou F1-Fo-ATPase, e é constituído por 10-15 subunidades distintas. A subunidade F1, periférica de membrana, e Fo (“o” indica sensível à oligomicina), integral à membrana. Em condições fisiológicas, a produção de energia mitocondrial pode alternar entre dois estados de energia: basicamente, o estado 4, caracterizado por uma respiração lenta e em que há baixa produção de ATP (potencial elétrico elevado), enquanto que o estado 3 é caracterizado por uma respiração rápida com elevada produção de ATP (BENARD; ROSSIGNOL, 2008; NADEGE et al., 2009; NELSON; COX, 2013).

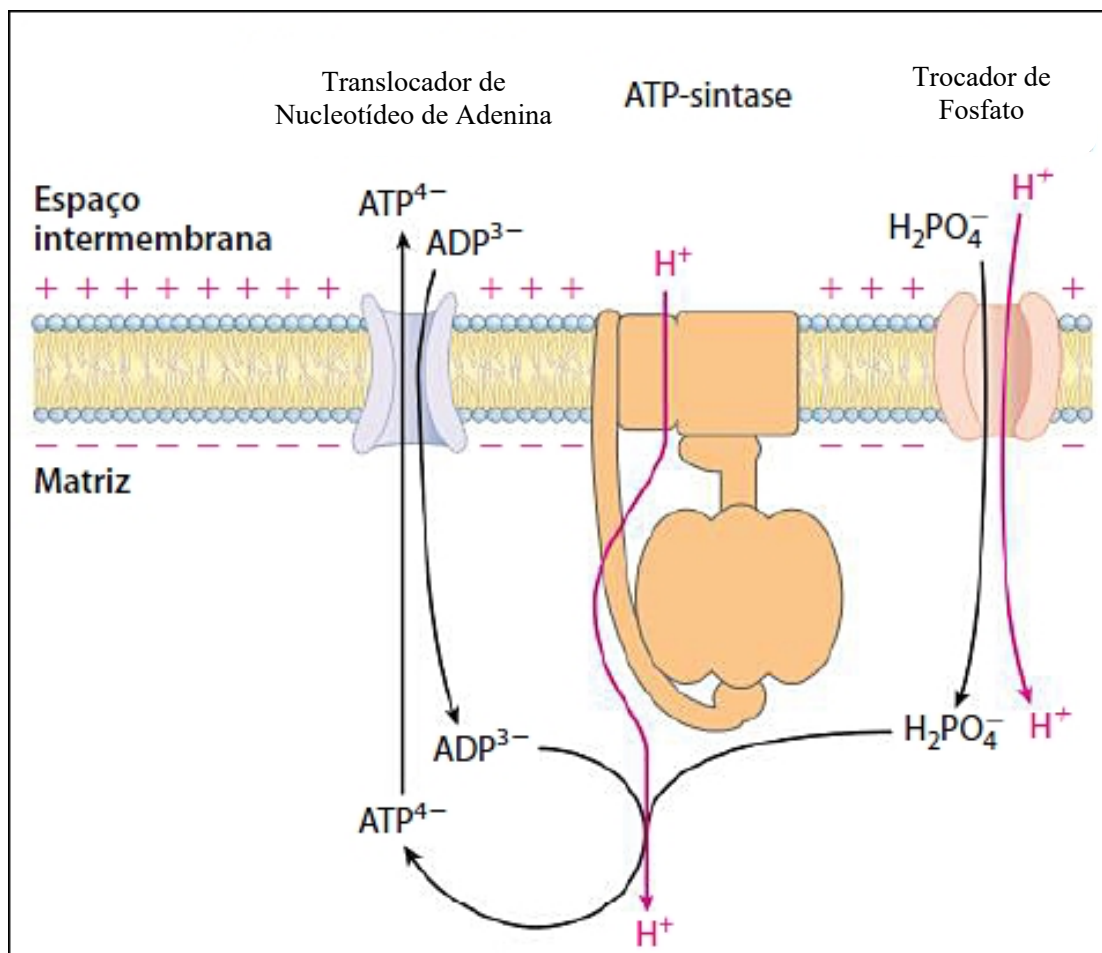
3.10. Carreador de fosfato

Uma proteína denominada carreador de fosfato inorgânico mitocondrial (PiC), cuja principal função é conhecida como transporte de fosfato inorgânico presente no espaço intermembrana para a matriz mitocondrial. A PiC está localizada na membrana mitocondrial interna (MMI), e compõe com a ANT e a ATP-sintase o grupo de proteínas responsáveis pela fosforilação oxidativa e produção de ATP (MAYR et al., 2007; KWONG et al., 2014).

Outra função da PiC está relacionada ao processo de modulação no poro de transição de permeabilidade mitocondrial (mPTP), sendo associada na regulação da morte celular, desempenhando seu papel no metabolismo energético mitocondrial. Este mPTP está envolvido na morte celular não programada, visto que seu mecanismo permite a perda ponderal do potencial de membrana mitocondrial, por conta de sua característica sendo um canal não seletivo, formado como resultante à sobrecarga de Ca^{2+} , o que aumentaria o estresse oxidativo, permitindo assim a permeabilidade mitocondrial para solutos de até 1500 Dalton, causando com isso danos irreversíveis, a regulação acontece pela ciclofilina D, ANT e proteínas apoptóticas na membrana celular externa três

complexos distintos (ATP-sintase, ANT e Carreador de fosfato) localizados na MMI. A ativação do mPTP acontece pelo fosfato inorgânico (Pi), além do que, vale ressaltar sua capacidade de formar canais inespecíficos nas membranas lipídicas, o que explicaria a premissa de que o carreador de fosfato seja um componente da membrana interna do mPTP. Em virtude destas colocações, ressalta-se que o PiC não é um componente direto do mPTP, no entanto pode regular sua atividade (ALCALÁ et al., 2008; LEUNG et al., 2008; HALESTRAP 2009; KWONG et al., 2014).

Figura 8: ANT-1, ATP-sintase e Trocador de fosfato



Fonte: modificada de Mayr et al. (2007); Nelson & Cox (2013); Kwong et al. (2014)

A figura 8 demonstra o funcionamento sincronizado das três proteínas avaliadas nesse trabalho, caso ocorra alguma modificação na estrutura ou na função destas proteínas toda a função e respiração mitocondrial poderá ser prejudicado diminuindo assim o FCC, de um ou todas as três proteínas envolvidas na fosforilação oxidativa.

3.11. Coeficiente de Controle de Fluxo – FCC

No trabalho de Gellerich & Bohnensack (1990), propõe-se a utilização do FCC, visto que se trata de um modelo matemático de regressão não linear que relaciona o fluxo metabólico (J) com a concentração do inibidor (I) adicionado com intuito de otimizar a obtenção dos resultados de uma determinada análise. A técnica propriamente dita foi desenvolvida para estimar os coeficientes de controle de fluxo (C_o), para obtenção dos resultados utilizou-se titulações com inibidores não competitivos, específicos e irreversíveis, sendo independente da concentração dos intermediários, para idealizar o modelo proposto, que considera o equilíbrio de dissociação (K_D) que existe entre o inibidor e seus sítios de ligação (E_o), bem como uma estimativa objetiva da inclinação inicial, mediante as titulações são executadas a curva que tendem a chegar a inibição completa, impedindo assim a respiração. Esse método emprega a regressão não linear em relação ao equilíbrio de dissociação entre o inibidor e seus sítios de ligação, assim como, este método permite quantificar a atividade específica das enzimas tituladas. Gellerich & Bohnensack (1990) demonstraram a eficácia desse método para titulações de mitocôndrias de fígado de rato com antimicina A e carboxiatractilosídeo. As fórmulas para o cálculo do FCC estão demonstradas a seguir:

Equação 1

$$K_D = \frac{E \times I_{free}}{EI}$$

Equação 2

$$E^2 + (K_D + I - E_o) \times E - K_D \times E_o = 0$$

Equação 3

$$J = \frac{\alpha \times E}{\beta + E} + \gamma$$

Equação 4

$$J = \frac{\alpha \times E^n}{\beta + E^n} + \gamma$$

Equação 5

$$J = \frac{n (J_0 - J_i)^2 \times E^n}{C_o \times J_o \times E_o^n + [(n - C_o) \times J_o - n \times J_i] \times E^n} + J_i \quad (5)$$

Através da estimulação da respiração mitocondrial por ADP ocorre um aumento da atividade enzimática até alcançar seu pico de respiração, onde encontra-se o ponto A; a partir desse ponto estima-se a concentração ótima dos inibidores específicos e irreversíveis (carboxiatractilato – CAT; oligomicina – OLIGO; mersalil – MERS), que promovem a queda abrupta, chegando-se assim ao ponto B, que representa o nível mais baixo, onde ocorre a estabilização da inibição promovida pelos já citados inibidores. A proposta do cálculo do FCC compreende a composição da titulação, que deve conter inibidores específicos para cada proteína analisada, como o inibidor CAT, que é um inibidor extremamente específico da ANT-1 por ligar-se seletivamente ao lado “c” desta proteína. A CAT influencia a mudança na velocidade do consumo de oxigênio (O₂), visto que encerra o aumento da atividade da bioenergética mitocondrial induzida pelo ADP e inibe imediatamente a ligação do ADP aos sítios de ligação na ANT (KLINGENBERG, 1974; KLINGENBERG; GREBE; SCHERER, 1975; KLINGENBERG; BUCHHOLZ, 1973).

A OLIGO também é um inibidor específico, classificado como um fármaco com característica antibiótica, que age diretamente na ATP Sintase; seu mecanismo está relacionado pela sua ligação à uma subunidade de Fo, onde bloqueia o movimento de prótons através desse canal (NAKATA, 1995). As mitocôndrias ao serem inibidas pela OLIGO perdem a funcionalidade da ATP Sintase, não ocorrendo desta forma a fosforilação oxidativa, pois o potencial de prótons mitocondrial não pode ser utilizado para a síntese de ATP (NICHOLLS, BUDD, 2000; NELSON, COX, 2012).

Um terceiro inibidor específico para entendimento do Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) é o mersalil (MERS), o qual apresenta a capacidade de bloquear o carreador de fosfato (DIWAN et al., 1980). Sua família farmacológica pertence aos diuréticos, por ter mercúrio na composição, sendo considerado um composto tóxico; apresenta afinidade no carreador de fosfato mitocondrial, impedindo que o fosfato alcance a matriz mitocondrial impossibilitando a formação de ATP pela ATP-Sintase (STEWART et al., 1965).

3.12. Exercício Físico

O exercício físico tem papel crucial na manutenção da saúde do ser humano, por conta da sua propriedade não farmacológica de promover níveis satisfatórios de bem-

estar ao indivíduo submetido a sua prática, inibindo o aparecimento de alterações associados ao processo degenerativo do organismo acompanhado do processo de envelhecimento, dentre as principais respostas do exercício físico, tem-se adaptações benéficas do SNC, como por exemplo melhoras na cognição, diminuição do risco de depressão e ansiedade (MATSUDO, 2009).

Uma das formas de intervenção de exercícios físico (EF) é a prática do exercício resistido (ER), conhecido como uma variação de exercícios em que são executados movimentos contra uma resistência, que pode ser aplicada contra o peso do próprio corpo ou sendo executados por algum tipo de equipamento (FLECK; KRAEMER, 2017).

O EF apresenta diversos benefícios quando praticado com regularidade, como por exemplo, melhora na capacidade física, hipertrofia e força muscular, resistência muscular e aumento na quantidade e qualidade funcional de mitocôndrias (HAWLEY, et al., 2014).

O EF promove respostas na mitocôndria como o aumento do tamanho, do volume e do número de mitocôndrias, este processo é conhecido como biogênese mitocondrial (CHERRY et al., 2015).

O treinamento físico pode contribuir para o aumento da biogênese mitocondrial cerebral por conta do estímulo ao mtDNA e mRNA, afirmação esta demonstrada pelo estudo de Steiner et al. (2011), que induziu camundongos por 8 semanas de treinamento em esteira. Observou-se neste estudo aumento nos marcadores de biogênese mitocondrial no cérebro em conjunto com mRNA e mtDNA, uma consequência funcional dessas mudanças foi confirmada usando um teste em esteira, desta forma pode ser comprovado um aumento na biogênese mitocondrial no cérebro, que está associada a um melhor desempenho de resistência após o treinamento físico.

Um fato que deve ficar em destaque seria a diminuição na utilização de glicose cerebral que tem como uma das principais consequências a diminuição da funcionalidade da bioenergética mitocondrial, um mecanismo ativado pela perda de hormônio ovariano que ocorre devido à OVX em camundongos (DING et al., 2013).

Sabe-se que os defeitos no metabolismo energético estão relacionados a vários distúrbios neurodegenerativos (MORAN et al., 2012), e que os estrogênios tem capacidade de regular regulam enzimas-chave do metabolismo energético (RETTBERG et al., 2013), a creatinaquinase (CK), esta enzima está presente em tecidos que requerem alta demanda energética para o desempenho de suas funções, como o tecido muscular cardíaco, músculo esquelético e cérebro, e catalisa a reação de transferência de fosforil

grupamento da fosfocreatina para ADP, regenerando ATP (WALLIMANN; HEMMER, 1994).

A CK é um marcador de dano celular em doenças que afetam o SNC, sua inibição indica patogênese de várias doenças neurodegenerativas, como isquemia e doença de Alzheimer (TOMIMOTO et al., 1993; AKSENOV et al., 2000; FREITAS et al., 2010).

As mitocôndrias compreendem uma rede de intercomunicação com uma morfologia dinâmica e função mitocondrial, que constantemente se adaptam para acomodar seu próprio ambiente mediado pelas demandas energéticas e estímulos gerados durante o TR (KIRKWOOD et al., 1986; YOULE; VAN DER BLIEK, 2012; MEINILD LUNDBY et al., 2018).

A cadeia transportadora de elétrons do músculo esquelético tem ajustes adaptados em resposta ao exercício, promovendo aumento do conteúdo mitocondrial (complexo I, II, III, IV e V), fato este comprovado pelo achado de que a cadeia respiratória do músculo esquelético é afetada por exercício, não apenas no conteúdo total de complexos individuais, mas também na forma como eles se agrupam em supercomplexos, tais modificações acompanham melhorias funcionais e fisiológicas (GREGGIO et al., 2017).

Ao modular a montagem ultraestrutural de CI e CIII, a capacidade de usar equivalentes redutores de NADH durante a contração muscular pode ser aumentada. Os supercomplexos respiratórios aceleram o transporte de elétrons, evitando assim a geração de EROs (GHELLI et al., 2013; MARANZANA et al., 2013). Dessa forma, o aumento do supercomplexo garante que os altos fluxos de transporte de elétrons durante o treinamento físico não se traduzam em quantidades prejudiciais de EROs (GREGGIO et al., 2017).

A biogênese mitocondrial está coordenada com o genoma mitocondrial (mtDNA) e nuclear (nDNA), este processo promove o crescimento da organela em volume que sofre divisão subsequente por fissão (GOMEZ-CABRERA et al., 2015).

É sabido que o EF é capaz de estimular a biogênese e o conteúdo mitocondrial, fazendo assim com que melhore a sua função respiratória, promovendo a diminuição da percepção de fadiga e melhora no desempenho físico (HOLLOSZY, 1967), prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DUNCAN, 2011; LIN et al., 2006). Existem publicações que associam a idade com declínio na atividade mitocondrial no cérebro (NAVARRO et al., 2004; NAVARRO et al., 2007; BOVERIS; NAVARRO, 2008; MARTON et al., 2010). Assim como citado neste trabalho, existe a correlação entre distúrbios psicológicos e disfunção mitocondrial (BEAL, 1992; GRAHAN et al., 1997;

BOBBA et al., 2013). Por conta desta premissa, ao estimular a biogênese mitocondrial e a formação dos supercomplexos por meio do exercício físico, o EF pode trazer mais qualidade de vida para os indivíduos acometidos pelos problemas psicológicos (GERHART-HINES et al., 2007; PUIGSERVER et al., 2003).

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da ovariectomia e do Treinamento Resistido (TR) sobre a eficiência do COEFICIENTE DE CONTROLE DE FLUXO (FCC) e o consumo de oxigênio durante a respiração acoplada do Córtex Pré-Frontal de ratas maduras jovens.

4.2. Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da Ovariectomia e do Treinamento Resistido sobre:

- a) O funcionamento global e intrínseco dos complexos da Cadeia Transportadora de Elétrons Mitocondrial dos neurônios do córtex pré-frontal;
- b) A atividade da ANT-1, da ATP-Sintase e do Trocador de Fosfato em modelo “in vivo” (biópsia) dos neurônios do córtex pré-frontal;

5. HIPÓTESE

A hipótese principal idealizada para esse projeto está baseada na premissa inédita, de que a ovariectomia poderá promover disfunção mitocondrial dos neurônios do córtex pré-frontal ao diminuir drasticamente o coeficiente de controle de fluxo da cadeia respiratória mitocondrial. Na medida progressiva da hipótese principal, podemos inferir se a disfunção mitocondrial além de ser promovida pela Ovariectomia, também pode estar relacionada com possíveis alterações na expressão genica e/ou atividade da ANT-1, da ATP Sintase e/ou do Trocador de Fosfato (YAO; BRINTON, 2012).

Como hipótese secundária deste projeto, entendemos que o treinamento resistido será efetivo em diminuir os efeitos deletérios provocados pela ovariectomia no coeficiente de controle de fluxo da cadeia respiratória mitocondrial, constituindo-se como tratamento não-farmacológico para a disfunção mitocondrial que possivelmente atingirá os neurônios do córtex pré-frontal.

6. METODOLOGIA

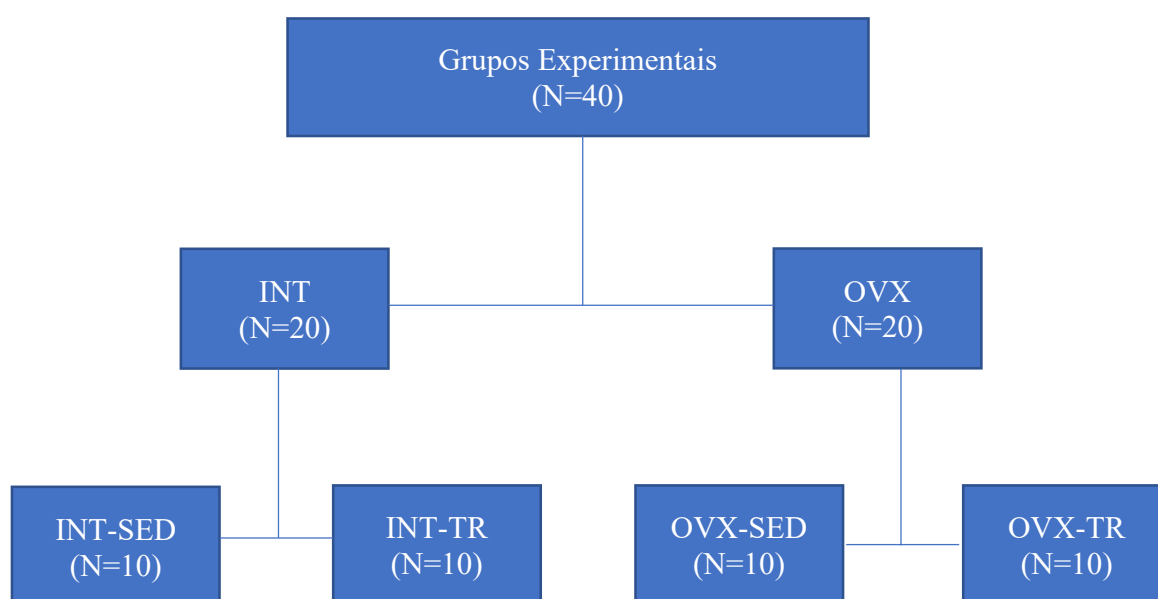
6.1. Animais e condições experimentais

Foram utilizadas 40 ratas Wistar adultas (*Rattus norvegicus albinus*), obtidas do Biotério Central da UFSCAR. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (5 ratas/gaiola) no biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício, do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF) – UFSCar, sob condições constantes de temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), iluminação em ciclo invertido (18:30-6:30h: claro; 6:30-18:30h: escuro) e com oferta de água e dieta *ad libitum*. Todos os animais após chegada ao biotério do Laboratório de Fisiologia do Exercício - UFSCar permaneceram por três semanas em condição de aclimação ao biotério e ao ciclo invertido.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCar) mediante ao protocolo 6331101218, e conduzidos de acordo com o guia de cuidados e manuseio de animais laboratoriais dos Estados Unidos da América (NATIONAL RESEARCH COUNCIL'S, 2011).

A figura 9 mostra o organograma de distribuição dos grupos:

Figura 9: Organograma dos grupos experimentais, INT: ratas intactas, OVX: ratas ovariectomizadas, SED: grupo sedentário e TR: grupo treinado.

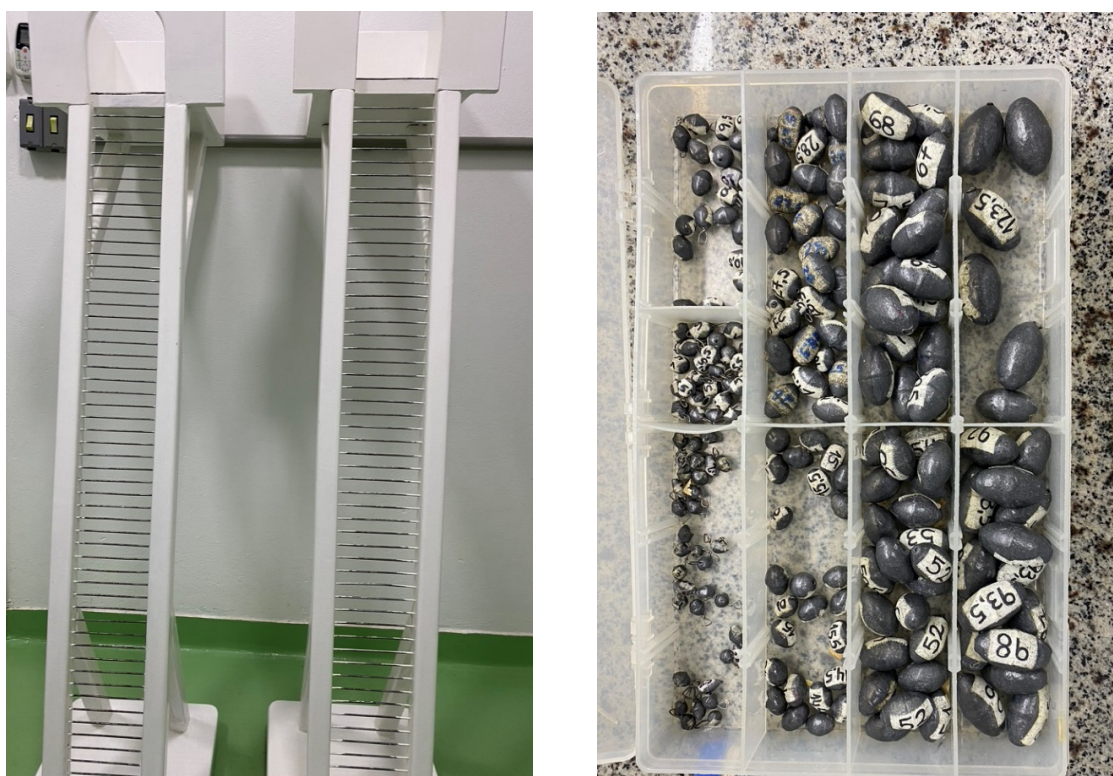


(Fonte: Próprio Autor)

6.2. Protocolo de treinamento resistido

O protocolo de TR foi adaptado de Hornerberg e Farrar (2004), de acordo com as necessidades do presente estudo. Inicialmente as ratas foram familiarizadas ao protocolo de TR conforme descrito por Prestes et al. (2009). Para a realização do protocolo de treinamento, foi utilizada uma escada vertical (110 cm x 18 cm, degrau de 2 cm e 80° de inclinação) que possui uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) em sua altura final, como mostra na figura 10. Após completar 15 semanas de idade e três sessões de familiarização, a primeira escalada consistiu em carregar uma carga de 75% da massa corporal do animal através de pesos colocado em um aparato constituído por tubos *falcon* unidos por barbante e acoplados na porção proximal da cauda do animal com a utilização de uma fita adesiva. Após 2 minutos de recuperação, a segunda escalada foi realizada com a adição de um peso de 30 g. Este acréscimo de carga (+ 30 g) foi repetido consecutivamente em cada escalada até uma carga com a qual a rata não consiga escalar toda a escada após três estímulos manuais consecutivos. A maior carga carregada por toda a escada foi considerada como a Capacidade Máxima de Carregamento (CMC) da rata. A determinação da CMC foi realizada uma vez por semana, sempre na segunda sessão da semana e as sessões do TR consistiram de 5 escaladas, com 65%, 70%, 75%, 80% e 85% da CMC do animal com intervalo de 60" entre cada escalada e ocorreram com periodicidade semanal de duas vezes por semana, sendo a determinação da CMC considerada uma sessão de treino. Foi dado um intervalo mínimo de 48 horas entre as sessões de treinamento. Esta padronização de sessões de treinamento foi realizada durante as 12 semanas, totalizando 36 sessões de TR.

Figura 10: Gaiola e pesos usados no treinamento.



Fonte: Próprio autor.

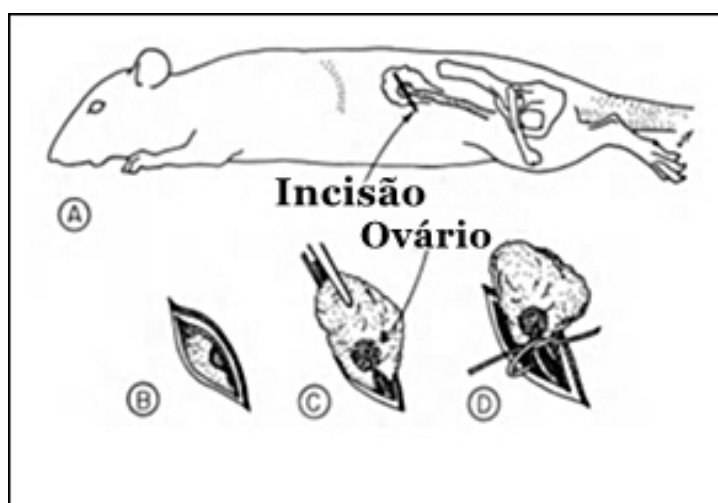
6.3. Ovariectomia e Intactos

As ratas dos grupos OVX foram submetidas à cirurgia para a retirada dos ovários na 13^a semana de vida segundo o modelo proposto por Kalu (1991). Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados posteriormente à anestesia das ratas com uma associação de 13 mg/Kg de xilazina e 33 mg/Kg de quetamina base, via intramuscular, o procedimento ocorreu conforme ilustra a figura 11. O treinamento resistido (TR) foi iniciado após 3-4 semanas dos procedimentos cirúrgicos.

Baseado no método de Kruger & Morel (2015), os animais intactos (INT) não sofreram procedimento cirúrgico, neste mesmo trabalho realizou-se ensaios comparativos de adaptação fisiológica em animais OVX, SHAM e INTACTO, para avaliar o impacto dos procedimentos cirúrgicos na comparação do conteúdo mineral ósseo e densidade mineral óssea. Com análise do Dual energy x-ray absorptiometry (DEXA) no português Absorciometria por raios-X com dupla energia, não foram observadas diferenças entre os grupos no início do estudo, indicando que todos os ratos tinham peso corporal, densidade mineral e conteúdo mineral ósseo semelhantes entre o grupo SHAM e INTACTO, a semelhança foi mantida mesmo após a cirurgia e mantida até o final do estudo. Corroborando com o princípio dos 3Rs (*replacement, reduction, refinement*) que se refere

ao bem-estar do animal, determinou-se para diminuição do sofrimento que não fosse executado o estudo com o grupo SHAM (CONCEA, 2016).

Figura 11: Ovariectomia.



Fonte: Modificado de Zarrow et al. (2012).

A remoção bilateral dos ovários das ratas seguiram os procedimentos a seguir: a) Depois dos animais estarem anestesiados, foram submetidos aos procedimentos antissépticos; b) E logo após foi realizada a tricotomia e em seguida foi realizada a incisão na pele e do peritônio; c) O ovário foi encontrado e exposto; d) Onde foi realizado a laqueadura e em seguida a retirada do ovário, e posteriormente foi realizado a recolocação anatômica, e logo após foi realizada a sutura nos tecidos, e o procedimento foi repetido no lado oposto ao inicial, logo após a realização dos procedimentos os animais seguem para a recuperação pós- cirúrgica. Figura retirada e adaptada de Zarrow et al. (2012).

6.4. Eutanásia dos animais e coletas de tecidos

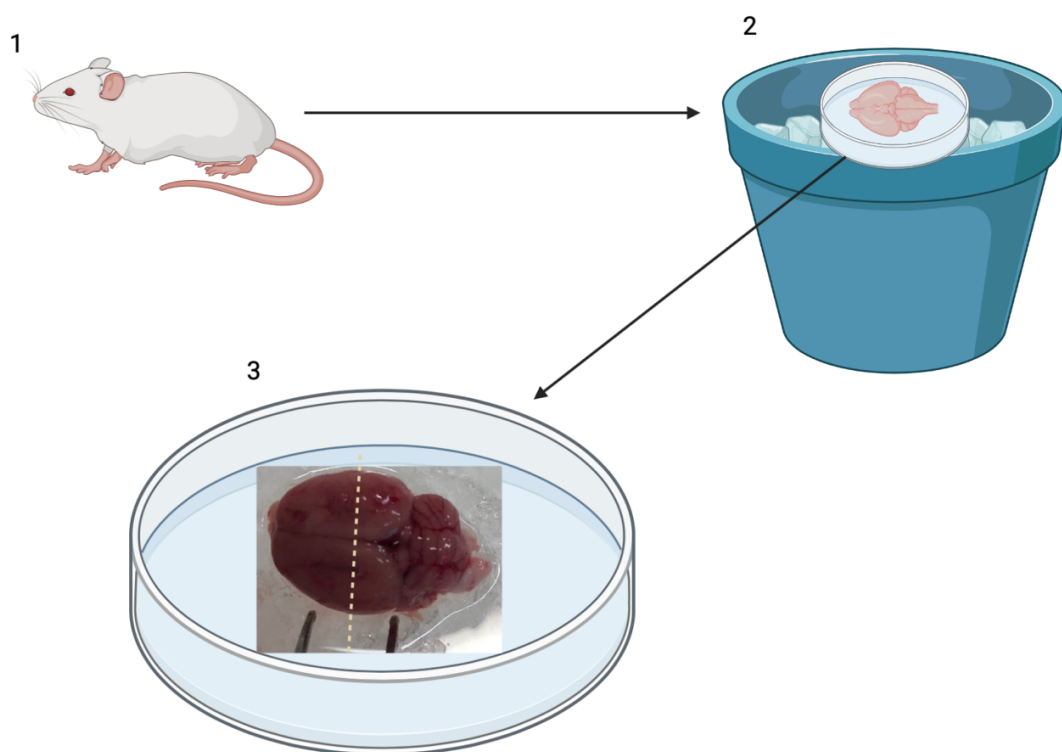
Realizou-se um estudo prévio no atlas de anatomia animal para conhecer as peculiaridades da estrutura a ser analisada, para garantir que a estrutura coletada representava o tecido que seria utilizado no presente estudo.

Os animais foram eutanasiados após 48h da última sessão de treinamento resistido. A eutanásia ocorreu por decapitação sob efeito anestésico (Isoflurano 1 mL/100 g de massa corporal). Imediatamente após a decapitação, foi realizada a retirada do córtex frontal para análises respiratórias mitocondriais e atividade da ANT-1; em seguida, foi pesado e congelado em nitrogênio líquido, para subsequente armazenamento em freezer -80°C ou tratados conforme metodologia específica de análise. O anestésico usado foi

uma associação de 13mg/Kg de xilazina e 33mg/Kg de quetamina base, por via intraperitoneal.

A figura 12 representa a remoção do cortex pré-frontal, (1) após o sacrifício do animal e a remoção do cérebro (por meio da abertura da calota craniana com utilização de um dispositivo com cerra circular acoplada em uma das extremidade), (2) o cérebro foi depositado em uma placa de Petri que já estava sobre uma espessa camada de gelo, logo após (3) o cérebro sofreu cortes separando o cortex pré-frontal do restante da estrutura.

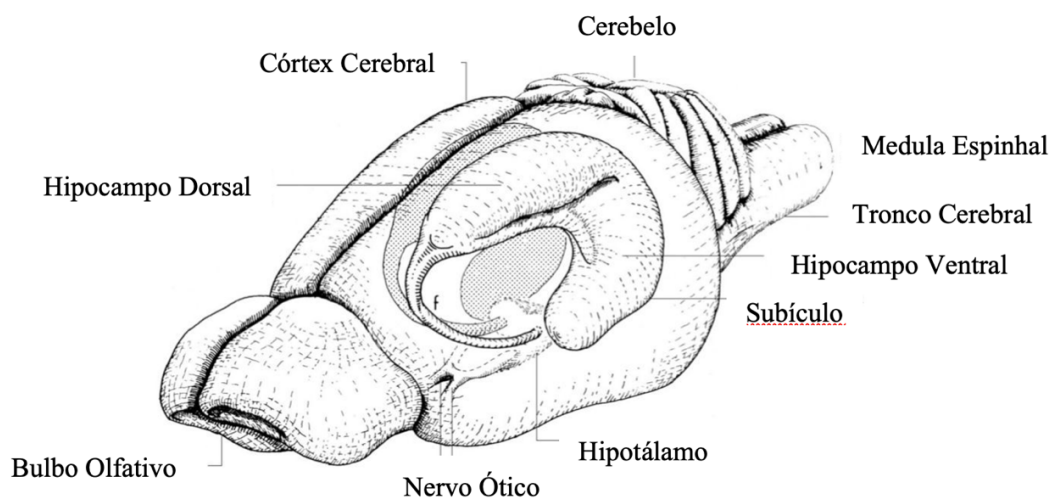
Figura 12: Remoção do Cortex Pré-Frontal.



(Fonte: Próprio Autor)

A figura 13 demonstra a anatomia do encefalo da rata, (a) pode-se observar 10 estruturas (cortex cerebral, cerebelo, medula espinhal, tronco cerebral, hipocampo ventral, subículo, hipotálamo, nervo optico, bulbo ofativo e hipocampo dorsal).

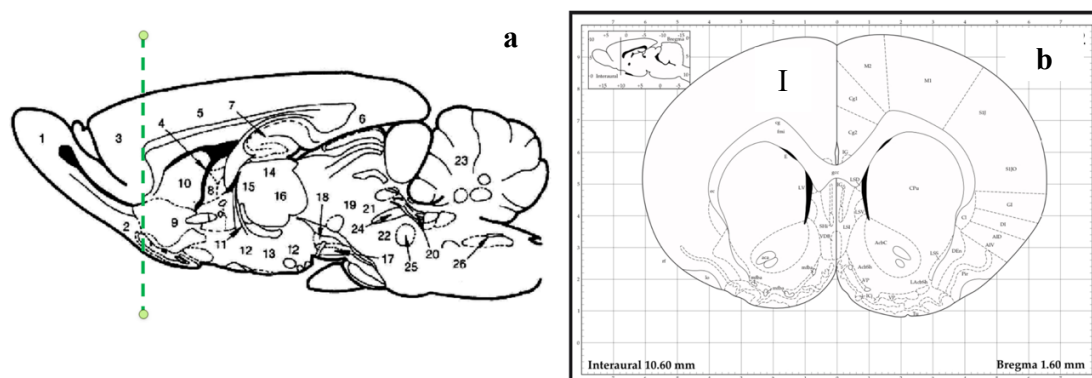
Figura 13: Anatomia do encéfalo.



Fonte: Adaptado de Cheung et al. (2005)

A figura 14 (a) representa um resumo das localizações do Encéfalo: 1. Bulbo olfativo, 2. Córtex pré-piriforme, 3. Córtex pré-frontal medial, 4. Órgão subfornical, 5. Córtex cingulado, 6. Córtex entorrinal, 7. Hipocampo, 8. Septo, 9. Núcleo accumbens, 10. Caudado-Putâmen. Diencéfalo: 11. Fórnix, 12. Hipotálamo lateral (feixe prosencéfalo medial), 13. Hipotálamo ventromedial, 14. Núcleo mediodorsal do tálamo, 15. Núcleo pariental do tálamo, 16. Núcleo central do tálamo. Mesencefalo: 17. Substantia nigra, 18. Área tegmental ventral, 19. Substância cinzenta periaquedutal, 20. Núcleo mesencefálico do nervo trigêmeo, 21. Rafe dorsal, 22. Rafe medial. Metencefalo: 23. Cerebelo, 24. Pedúnculos cerebelares superiores, 25. Núcleo motor do nervo trigêmeo. Mielencéfalo: 26. Núcleo do trato solitário. Estruturas não mostradas: córtex sulcal pré-frontal, globo pálido, amígdala e habênula. A figura (b) representa um corte frontal do encéfalo, onde I representa o córtex pré-frontal (PHILLIPS; FIBIGER, 1989).

Figura 14: Localização do Córtex Pré-Frontal.



Fonte: Adaptado de Phillips & Fibiger (1989)

6.5. Preparação das amostras

Após a eutanásia o cérebro foi coletado e colocado em uma solução de relaxamento gelada denominada de BIOPS, contendo o pH = 7,1. Essas amostras foram cortadas separando córtex frontal e divididas em duas partes onde foi permeabilizada por 30 minutos em BIOPS com saponina contendo 50 µg/mL em agitação constante a 4°C), e após os 30 minutos as porções duplicadas foram levadas em meio de respiração mitocondrial (KUZNETSOV et al., 2008).

6.6. Avaliação da qualidade das amostras

Na mitocôndria *in situ*, no MC permeabilizado, a adição de citocromo c não aumenta a taxa de consumo de oxigênio (Fig. 2C), demonstrando que a membrana externa mitocondrial está intacta. Além disso, a adição de CAT diminui a taxa de respiração de volta ao nível inicial, mostrando integridade da membrana interna da mitocôndria (TEPP et al., 2011).

6.7. Avaliação dos parâmetros respiratórios

O consumo de oxigênio dos no tecido cerebral permeabilizados foi aferido em oxígrafo de alta resolução (OROBOROS, Innsbruck, Áustria) com MiR05, 37° C, na presença de glutamato (10 mM) e malato (5 mM), ADP (400 µM), oligomicina (1 µg/mL) e FCCP (carbonil cianeto-4) (trifluorometoxi) fenilhidrazona, 0,2 µM] (MELO et al., 2011).

6.8. Avaliação do Coeficiente de Controle de Fluxo FCC

Com relação ao estudo de controle de fluxo e sua investigação em conjunto com a fosforilação oxidativa mitocondrial, pode se dizer que o desenvolvimento iniciou após a criação da teoria de controle metabólico (GROEN et al., 1982; KUNZ et al., 1988), que contribuiu para o desenvolvimento da curva de titulação, ao utilizar os inibidores específicos e permanentes, que foram utilizadas na determinação gráfica dos sítios de ligação do inibidor e também da inclinação primária, fundamental no cálculo do FCC (KACSER; BURNS, 1973; HEINRICH; RAPOPORT, 1974).

O presente trabalho faz uso da aplicação de um modelo matemático de regressão não linear, em que se relaciona o fluxo metabólico e a concentração do inibidor a ser adicionado. Contudo, a ligação do inibidor ocorrerá com proteínas envolvidas no fluxo metabólico (ANT-1, ATP-sintase e o Carreador de Fosfato), testados individualmente. O fato que deve ser deixado em destaque seria a ocorrência de uma inibição não competitiva e não dependente dos valores de concentração dos intermediários (GELLERICH et al., 1990).

Para conduzir a inibição da proteína ANT-1, utilizou-se CAT em uma quantidade de 9 a 12 titulações e com 0,2 $\mu\text{M}/\text{mL}$ até que a inibição estivesse concluída ou até o momento em que acabasse o oxigênio na cuba e o experimento se encerrasse. A taxa de respiração foi calculada por meio do modelo matemático de regressão não linear, que calcula o FCC. De forma semelhante, para a proteína ATP-Sintase, agora utilizando o inibidor oligomicina (OLIGO) inibiu-se contendo pequenas adições cumulativas de titulação com quantidade de 9 a 12 titulações e com 0,5 $\mu\text{M}/\text{mL}$ de OLIGO até que a inibição estivesse concluída ou até o momento em que acabasse o oxigênio na cuba e o experimento se encerrasse. A taxa de respiração foi calculada por meio do modelo matemático de regressão não linear, que calcula o FCC. Por sua vez, para a proteína Carreador de Fosfato, utilizando o inibidor mersalil (MERS), inibiu-se contendo pequenas adições cumulativas de titulação com quantidade de 9 a 12 titulações e com 2,5 $\mu\text{M}/\text{mL}$ de MERS até que a inibição estivesse concluída ou até o momento em que acabasse o oxigênio na cuba e o experimento se encerrasse.

Para análise estatística calculou-se a taxa de respiração por meio do modelo matemático de regressão não linear, que estima o FCC. A metodologia foi baseada seguindo a proposta de Gellerich et al. (1990). E os resultados foram expressos em porcentagem como proposto por Rodrigues-Silva et al. (2017). O compartilhamento do controle do fluxo através das vias bioquímicas de todas as etapas acontece de forma

desigual, algumas exercem mais e outras menos controle. Os coeficientes de controle de fluxo quantificam o controle exercido por cada etapa sobre o fluxo da via (KACSER, 1973; KACSER, BURNS, 1979).

O FCC tem como função identificar a manutenção da síntese e conversão de metabolitos de forma equilibradas, para que não haja elevação ou diminuição significativa nas concentrações intracelulares destes metabolitos, mesmo que as condições externas estejam desfavoráveis. Ao analisar o FCC é possível descrever, a partir da resposta do fluxo metabólico, qual é a proteína responsável por possíveis alterações no funcionamento do próprio fluxo metabólico, e conseqüentemente, do mau funcionamento da cadeia respiratória mitocondrial (BRAND, 1994).

6.9. Determinação da atividade da Translocase de Nucleotídeo de Adenina 1 (ANT-1), ATP-Sintase e Trocador de Fosfato.

6.9.1. Determinação da atividade da ANT-1

A atividade da ANT-1 do córtex frontal permeabilizado foi realizada em oxígrafo de alta resolução (*OROBOROS*, Innsbruck, Áustria) com o meio MiR05, com BSA (*bovine serum albumin*) desengordurado, com adição inicial de substratos glutamato (10mM) e malato (5mM), bem como oligomicina (1µg/mL). Para análise da atividade da ANT-1, foi adicionado na cuba ADP (adenina difosfato), para estabelecer o estado 3, então a respiração foi sucessivamente inibida por pequenas adições de carboxietrilato (CAT) (até 5 nmol / mg de proteína) até que o estado 4 esteja bem estabelecido. Para verificar se as mitocôndrias estavam no estado 4, mais ADP foi adicionado, seguido por aproximadamente 2 µM de FCCP para assim confirmar a integridade da cadeia transportadora de elétrons. A taxa de respiração foi calculada conforme a interceptação entre o declive mais acentuado e a taxa estado 4. Os resultados estão apresentados como mmol de CAT/mg de proteína (BRAND et al., 2005).

6.9.2. Determinação da atividade do Carreador de Fosfato

A determinação da atividade carreador de fosfato foi realizada por meio do inibidor específico, a mersalil (MERS), a titulação deste inibidor foi determinada a 2,5 µM/mL.

6.9.3. Determinação da atividade da ATP-sintase

A determinação da atividade da ATP-sintase foi realizada por meio do inibidor específico, a oligomicina (OLIGO), a titulação deste inibidor foi determinada a 0,5 $\mu\text{M}/\text{mL}$.

6.10. Determinação da atividade enzimática citrato sintase (CS)

A avaliação da atividade CS no tecido cerebral, foi feita através da conversão de acetil-CoA e oxaloacetato para citrato e coenzima A (HSCoA), catalisada pela enzima CS sendo monitorada pela mensuração do produto calorímetro de tionitrobenzoico (SHEPHERD; GARLAND, 1969). O tecido foi homogeneizado (0,5-0,75 mg/ml, peso úmido) incubado a 30° C em solução tampão contendo 50 mM de Tris-HCl (ph 8,0), 0,1% de Triton X-100, 250 μM de oxaloacetato, 50 μM de acetil-Coa, e 100 μM de 2-ácido nitrobenzoico. O aumento da absorção 412 nm foi monitorado por 6 minutos usando o leitor de microplaca (Power Wave XS 2, BioTek Instrumentos, Winooski, VT, EUA).

6.11. Análise estatística dos dados

Foi adotado um erro de 0,05 sendo o nível de significância estipulado em $p < 0,05$ para todos os testes estatísticos realizados. Todos os dados foram expressos como média \pm Desvio Padrão da Média (DPM). A análise estatística foi realizada no software Statistica® versão 7. Foram aplicados testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e de homocedacidade (Levene) para os valores das amostras de todas as variáveis dependentes. As variáveis que apresentarem distribuição normal e com homocedacidade, foram analisadas pelo teste ANOVA-one-way, e para os resultados que apresentaram diferença significativa, foi aplicado o post-hoc de Teste de Fisher.

7. RESULTADOS

7.1. Análise da massa corporal

A massa corporal das ratas foi avaliada no começo do experimento para verificar a homogeneidade entre os grupos. Após 12 semanas de experimento o grupo OVX-SED obteve um aumento significativo da massa corporal quando comparado aos outros três grupos ($p < 0,05$). Já no grupo OVX-TR, o treinamento foi o responsável por prevenir o aumento da massa corporal, quando comparamos com o grupo OVX-SED.

Tabela 1: Massa Corporal (MC) e demais tecidos dos grupos experimentais.

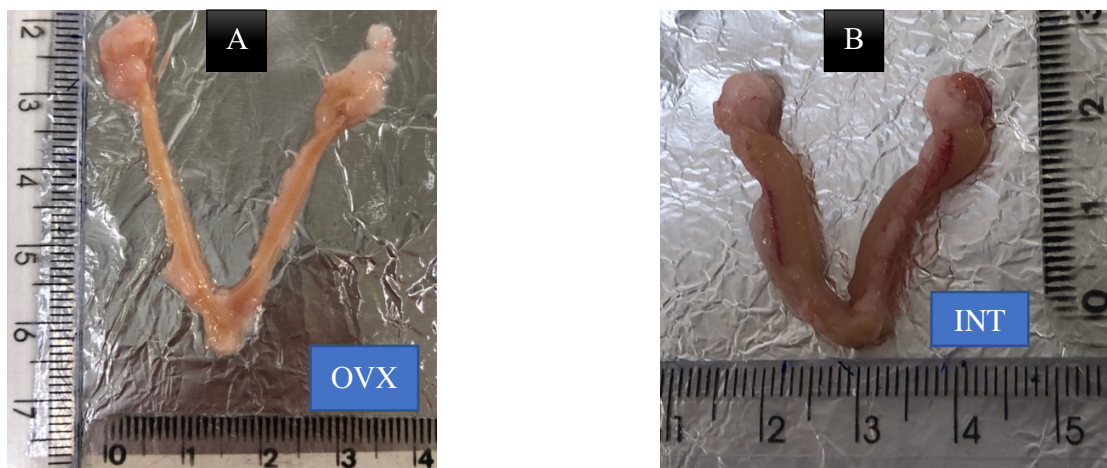
Grupos Experimentais	Grupo Intacto		Grupo OVX	
	SED	TR	SED	TR
MC Inicial (g)	320,55 ± 10,01	301,11 ± 4,76	338,47 ± 9,94	326,78 ± 10,69
MC Final (g)	365,61 ± 10,22 *	319,98 ± 6,57 *	427,70 ± 21,71	362,17 ± 27,86 *
Útero (mg)	927,46 ± 121,99 **	1025,09 ± 155,38 **	183,37 ± 17,86	124,17 ± 31,76
Tíbia (mm)	39,5 ± 0,2	39 ± 0,5	39 ± 0,5	39 ± 0,4

Valores expresso como Média ± Erro Padrão da Média. Foi executado ANOVA One-Way e post-hoc Teste de Fisher: $p < 0,05$ comparados aos grupos, onde * representa diferença significativa entre o grupo OVX-SED. + representa diferença significativa comparado ao grupo OVX-TR.

Utilizou-se a massa do útero (figura 15) para analisar de forma indireta o efeito da condição estrogênicas das ratas. A massa do útero foi menor no grupo OVX-SED e OVX-TR quando comparado com os grupos INT-SED e INT-TR ($p=0,001$). Esta diminuição da massa do útero comprova a eficácia da ovariectomia, realizada no início do projeto. No tamanho da tíbia não houve diferença significativa, mostrando assim que todas as ratas tiveram crescimento similar.

Figura 15: Comparação do útero das ratas ovariectomizadas e intactas.

A: OVX-SED e Figura B: INTACTO-SED.



Fonte: Acervo do próprio autor.

7.2. Evolução da carga máxima carregada

Durante todo o período de experimento, os grupos treinados (OVX-TR e INT-TR) responderam de forma similar no quesito carga de carregamento. Contudo o aumento foi significativo ($p < 0,05$), conforme demonstrado na figura 16 quando se compara a primeira sessão com a decima primeira e quando comparamos a decima primeira com a vigésima segunda sessão de treinamento ($p < 0,05$), o que mostra a efetividade do treino em aumentar a força das ratas em ambas as condições.

Figura 16: Carga máxima de carregamento dos grupos experimentais.

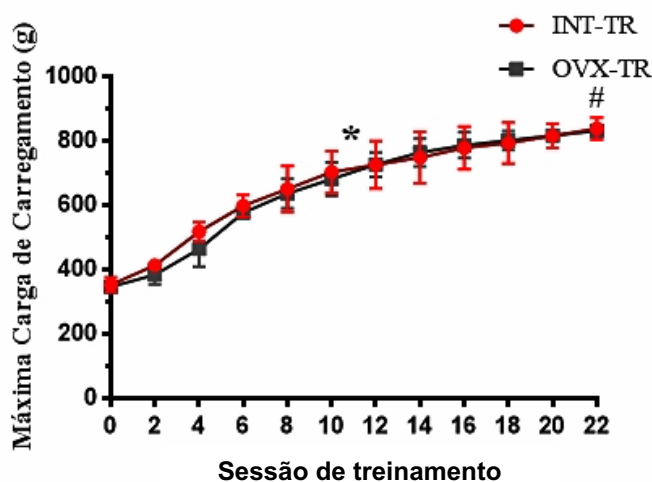


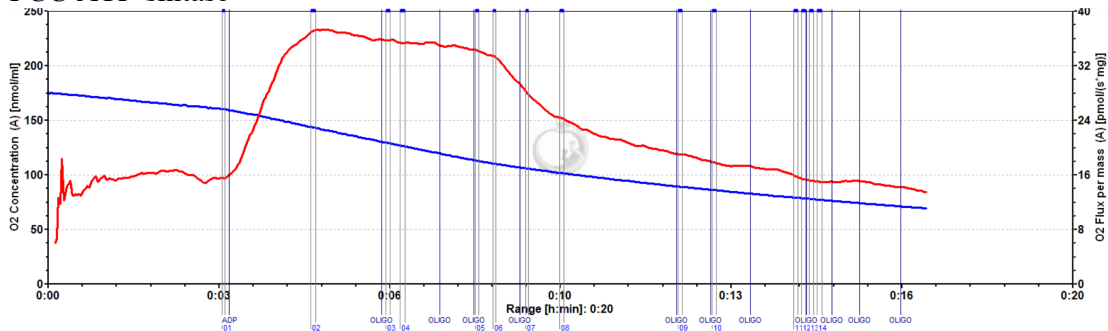
Figura 16: A linha vermelha representa o grupo INT-TR e a linha preta representa o grupo OVX-TR, todos os valores são expressos como Média \pm Erro Padrão da Média. ANOVA Two-Way e post-hoc teste de Tukey: $p < 0,05$; o * representa a diferença significativa entre a primeira e decima primeira sessão $p < 0,05$; o # representa diferença significativa entre a decima primeira e a vigésima segunda sessão $p < 0,05$.

7.3. Titulação para Obtenção do Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC)

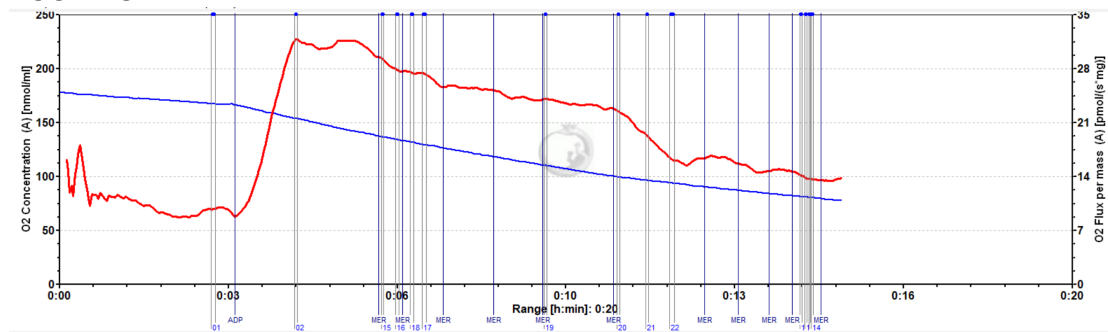
Seguindo o modelo proposto por Gellerich et al. (1990), realizou-se o cálculo do FCC a partir de titulações sucessivas. O cálculo da FCC demonstra como a partir dessa medida é possível dizer que: o TR demonstrou ser um mecanismo de manutenção do funcionamento da ATP-Sintase em condições fisiológicas.

Figura 17: Corrida no Oxígrafo de Alta Resolução

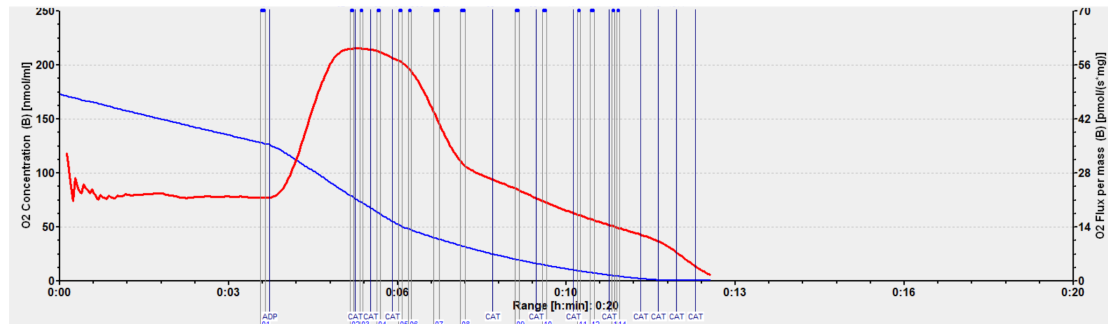
FCC ATP-sintase



FCC do Carreador de Fosfato



FCC da ANT-1



A figura 17 apresenta o resultado de 3 modelos de titulações conforme proposto por Gellerich et al. (1990) avaliada no Oxígrafo de Alta Resolução, as proteínas avaliadas foram: FCC da ATP-sintase, carreador de fosfato e ANT-1,

7.3.1. Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) da ANT-1

A análise do FCC da ANT-1 (figura 18) demonstra uma diminuição significativa do percentual de funcionamento para o grupo OVX-SED (62,21 %) em relação ao seu controle positivo INT-SED (72,0 %, $p = 0,0475$), bem como aos grupos treinados, OVX-TR (79,2 %, $p = 0,0015$) e INT-TR (81,0 %, $p = 0,0004$). Destaca-se que o TR é efetivo em manter o funcionamento da ANT-1 na falta dos ovários. Outro resultado importante em relação ao TR é a alta porcentagem do FCC da ANT-1 encontrado no grupo INT-TR (81,0 %), porcentagem que demonstrou ser significativa em relação ao seu controle sedentário, INT-SED (71,89 %, $p = 0,0445$), demonstrando a efetividade do TR em aumentar a capacidade de funcionamento da ANT-1.

Figura 18: Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) da ANT-1.

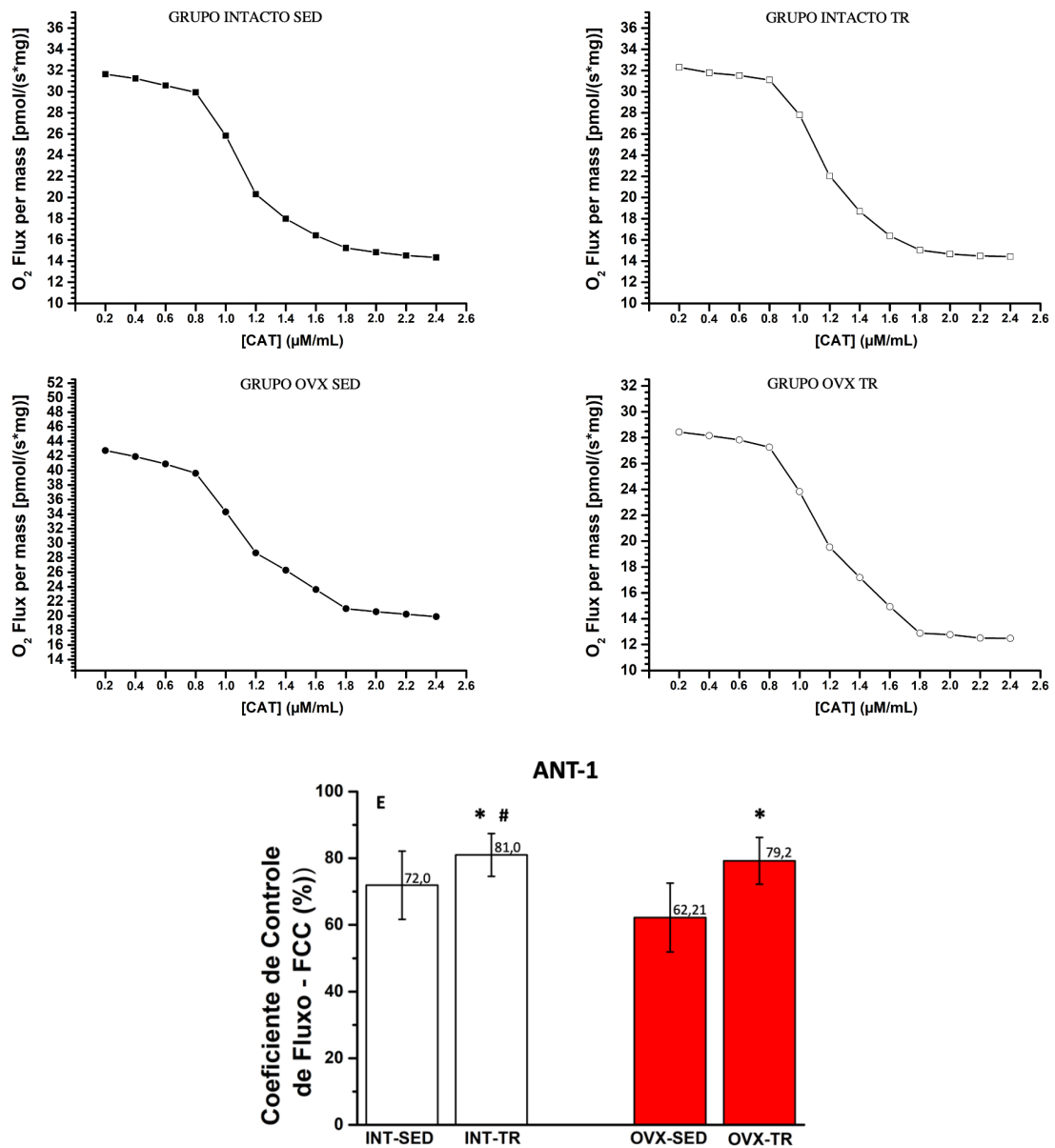


Figura 18: FCC da ANT-1. Os valores estão apresentados como Média \pm Desvio Padrão da Média (DPM). Grupo Intacto (INT, branco): INT-SED (intacto sedentário) e INT-TR (intacto treinamento resistido); Grupo Ovariectomia (OVX, vermelho): OVX-SED (ovariectomizado sedentário) e OVX-TR (ovariectomizado treinamento resistido). ANOVA One-Way e post-hoc Teste de Fisher, $p < 0,05$; *diferença significativa em relação ao grupo OVX-SED, #diferença significativa em relação ao grupo INT-SED, $n = 10$ por grupo.

7.3.2. Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) da ATP-sintase

A análise do FCC da ATP-sintase (figura 19) demonstra uma diminuição significativa do percentual de funcionamento do grupo OVX-SED (66,7 %), em relação ao seu grupo controle positivo, o grupo INT-SED (74,4 %, $p = 0,017$). O TR demonstrou ser um efetivo mecanismo de manutenção do funcionamento da ATP-Sintase em condições fisiológicas, pois tanto o grupo OVX-TR como o grupo INT-TR, apresentaram porcentagens do FCC superiores aos grupos sedentários (78,2 % e 80,2 %, versus 66,7 % e 74,4 %), mas com significância estatística somente para o grupo OVX-SED ($p = 0,0033$ e $p = 0,0003$, respectivamente).

Figura 19: Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) da ATP-sintase

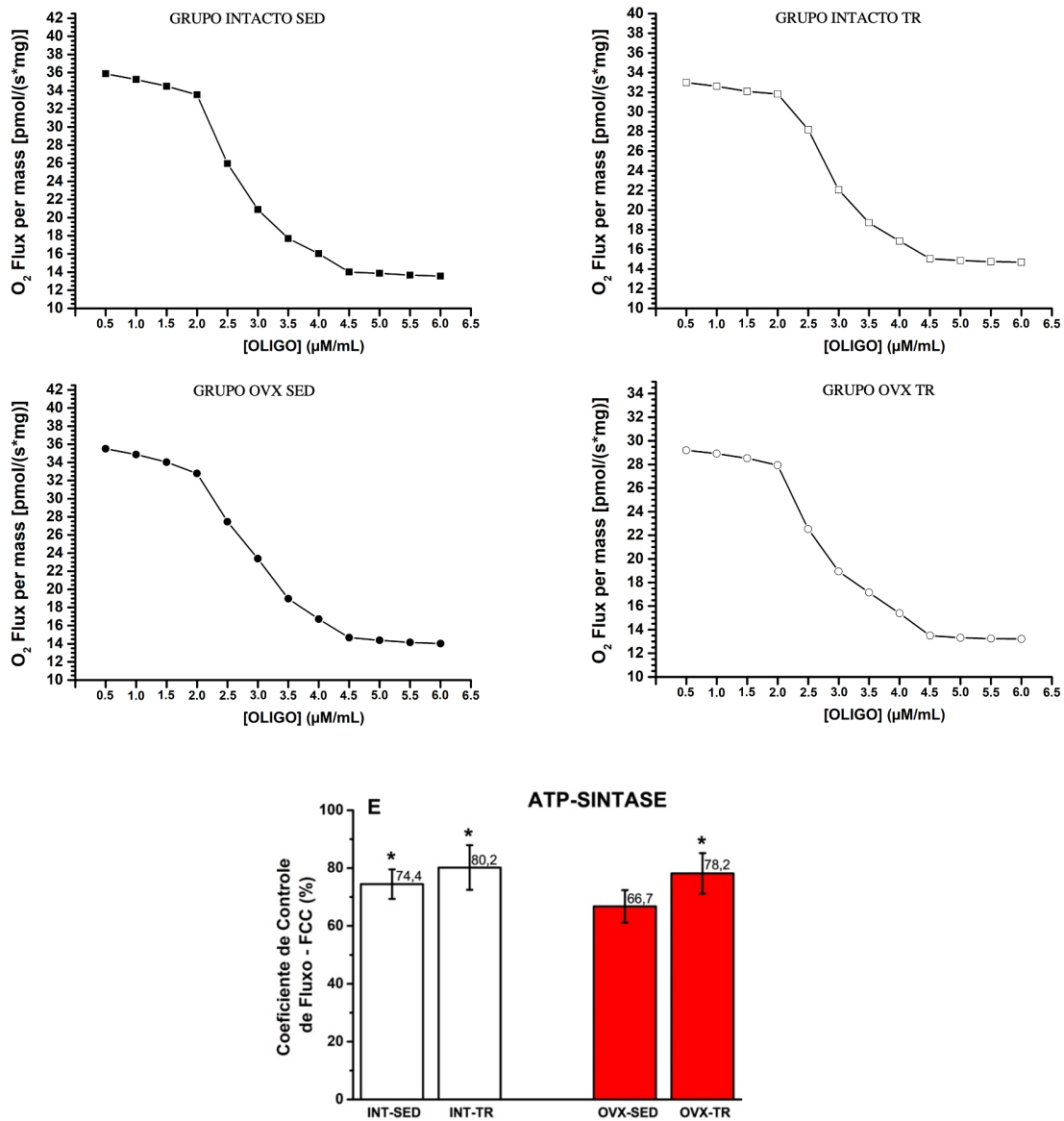


Figura 19: FCC da ATP-sintase. Os valores estão apresentados como Média \pm Desvio Padrão da Média (DPM). Grupo Intacto (INT, branco): INT-SED (intacto sedentário) e INT-TR (intacto treinamento resistido); Grupo Ovariectomia (OVX, vermelho): OVX-SED (ovariectomizado sedentário) e OVX-TR (ovariectomizado treinamento resistido). ANOVA One-Way e post-hoc Teste de Fisher, $p < 0,05$; *diferença significativa em relação ao grupo OVX-SED, $n = 10$ por grupo.

7.3.3. Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) do Carreador de Fosfato

A análise do FCC do Carreador de Fosfato (figura 20) demonstra uma diminuição significativa no percentual de funcionamento do grupo OVX-SED (47,6 %), em relação ao grupo INT-SED (61,8 %, $p = 0,0088$). O TR demonstrou ser um efetivo mecanismo de manutenção do funcionamento também do Trocador de Fosfato em condições fisiológicas, pois tanto o grupo OVX-TR como o grupo INT-TR, apresentaram porcentagens do FCC superiores aos grupos sedentários (71,2 % e 71,9 %, versus 47,6 % e 61,8 %), com significância estatística para o grupo OVX-SED ($p = < 0,0001$ e $p = < 0,0001$, respectivamente) e para o grupo INT-SED ($p = 0,0423$ e $p = 0,0491$, respectivamente).

Figura 20: Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) do Carreador de Fosfato.

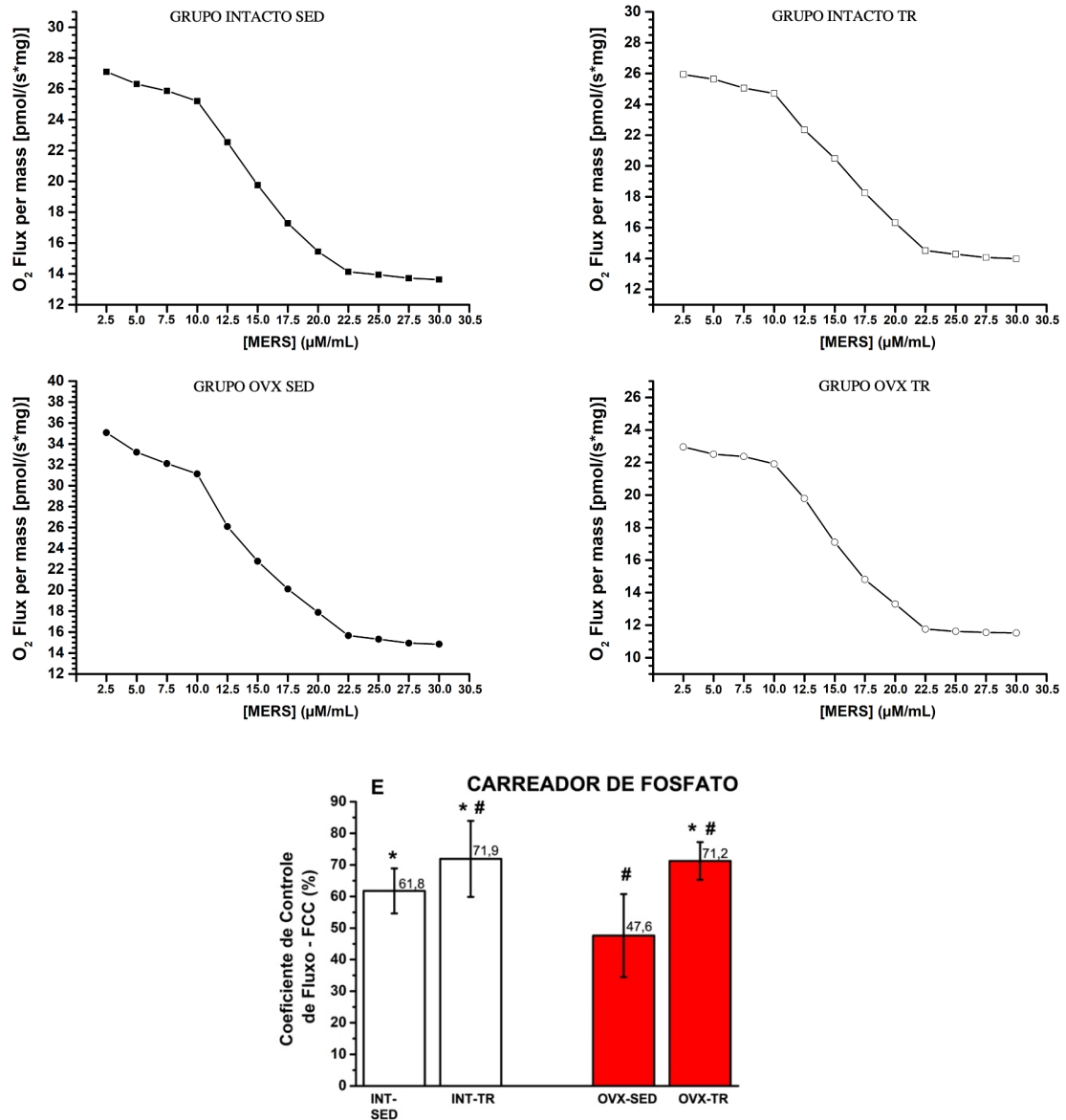


Figura 20: FCC do Carreador de Fosfato. Os valores estão apresentados como Média \pm Desvio Padrão da Média (DPM). Grupo Intacto (INT, branco): INT-SED (intacto sedentário) e INT-TR (intacto treinamento resistido); Grupo Ovariectomia (OVX, vermelho): OVX-SED (ovariectomizado sedentário) e OVX-TR (ovariectomizado treinamento resistido). ANOVA One-Way e post-hoc Teste de Fisher, $p < 0,05$; *diferença significativa em relação ao grupo OVX-SED, #diferença significativa em relação ao grupo INT-SED, $n = 10$ por grupo.

7.3.4. Análise do Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) Intra-Grupo

A Figura 20 demonstra os resultados do funcionamento das proteínas que regulam o fluxo de O₂ na cadeia transportadora de elétrons dentro dos grupos de análise (Análise Intra-Grupo). Pode ser observado que no grupo INT-SED (Figura 21A), o FCC do Trocador de Fosfato apresenta diminuição significativa (61,75%) em relação ao FCC das proteínas ANT-1 (71,89%) e ATP-Sintase (74,43%) ($p = 0,0148$ e $p = 0,0025$, respectivamente). No grupo INT-TR (Figura 21B), observa-se que o FCC de todas as proteínas de análise (ANT-1, ATP-Sintase e Carreador de Fosfato) não apresentou diferença estatística, embora o FCC da ANT-1, com valor de 80,99%, e o da ATP-Sintase, com valor de 80,18%, foram maiores que o FCC do Carreador de Fosfato (Tro-Fosfato), que apresentou valor de 71,89% ($p = 0,0559$ e $p = 0,0619$, respectivamente).

Em relação aos grupos OVX, pode ser observado no grupo OVX-SED (Figura 21C), que a principal proteína com déficit de funcionamento no controle de fluxo (FCC) foi o Trocador de Fosfato, com valor médio de 46,61 %, valor significativamente inferior ao FCC das proteínas ANT-1 (62,21 %) e ATP-Sintase (66,74 %) ($p = 0,0147$ e $p = 0,0010$, respectivamente). Já no grupo treinado (OVX-TR), o FCC de todas as proteínas de análise apresentou valores superiores ao grupo sedentário. Mas, novamente, o FCC do Carreador de Fosfato apresentou valor significativamente menor (71,2 %) quando comparado à ANT-1 (79,21 %) e ATP-Sintase (78,15 %) ($p = 0,0356$ e $p = 0,0470$, respectivamente).

Figura 21: Análise do Coeficiente de Controle de Fluxo (FCC) Intra-Grupo.

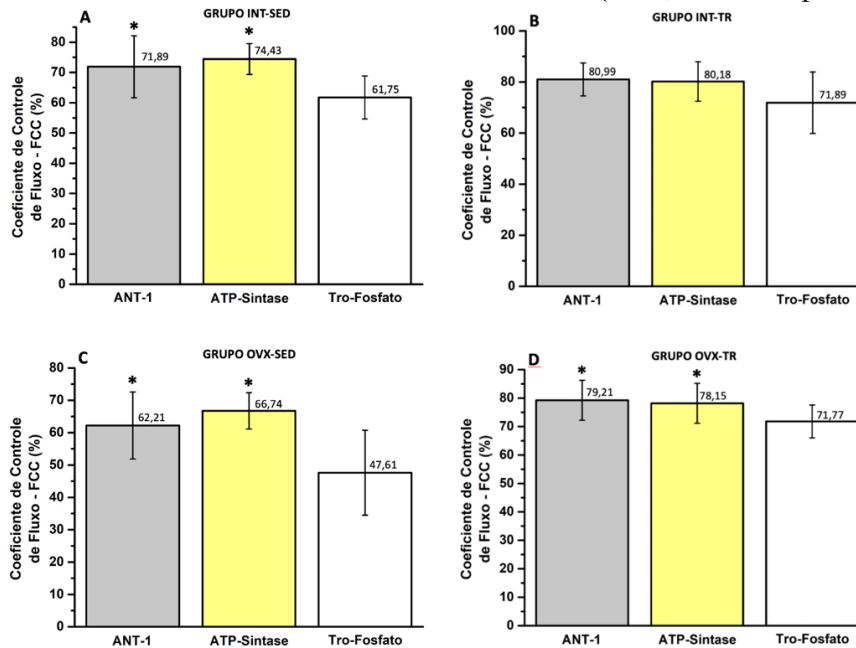


Figura 21 - Análise do FCC Intra-Grupo: (A); Proteínas ANT-1, ATP-sintase, Tro-Fosfato analisadas no grupo INT-TR (B); Proteínas ANT-1, ATP-sintase, Tro-Fosfato analisadas no grupo OVX-SED (C); Proteínas ANT-1, ATP-sintase, Tro-Fosfato analisadas no grupo OVX-TR (D). ANOVA One-Way e post-hoc Teste de Fisher, $p < 0,05$. *diferença significativa em relação ao Tro-Fosfato.

8. DISCUSSÃO

Na execução deste trabalho, observou-se que a principal hipótese levantada foi confirmada, pois a ovariectomia (OVX) promoveu a diminuição da capacidade de funcionamento da cadeia transportadora de elétrons no córtex pré-frontal, avaliada pela diminuição do FCC encontrada em todas as proteínas de análise, ANT-1, ATP-Sintase e Carreador de Fosfato. E em seguida, a segunda hipótese levantada por este estudo também foi confirmada, pois o TR foi instrumento terapêutico importante para prevenir os efeitos deletérios causado pela ovariectomia no FCC da cadeia respiratória mitocondrial das ratas treinadas, uma vez que o FCC de todas as proteínas de análise esteve em patamares superiores aos do seu respectivo grupo sedentário.

Existe uma semelhança entre a ovariectomia e o período pós-menopausa. Em ambas as situações, pode ser observada uma elevada diminuição do E2, que repercute em prejuízos neurogênicos, psicogênicos, nas glândulas mamárias, no sistema urogenital, no complexo osteoarticular, e em doenças cutâneas e metabólicas (LEITE et al., 2009; KOEBELE, 2016; CARDOSO; CAMARGO, 2017; KARGOZAR et al., 2017; MEDEIROS, 2019).

Apesar de existir relato na literatura demonstrando que o exercício físico não foi capaz de reverter a diminuição dos níveis de ATP (gerado pela ATP-sintase) causada pela OVX, que promove déficit energético no hipocampo (SHI; XU 2008; XU et al., 2008; SHI et al., 2011; SIEBERT et al., 2014), os próprios autores sugerem que o tempo de exposição dos animais ao protocolo de treinamento não foi adequado para promover uma adaptação do sistema energético; em nosso estudo foi possível confirmar que o exercício físico foi capaz de reverter a função da proteína ATP-sintase, alterando assim uma possível diminuição na formação de ATP, fato que reforça a premissa de que o grupo OVX-SED promove déficit na função da ATP-sintase.

O dinamismo mitocondrial, morfologia e função, se unifica em uma rede de intercomunicação, que adapta seu próprio ambiente em resposta das exigências geradas pelo TR (KIRKWOOD et al., 1986; YOULE; VAN DER BLIEK, 2012; MEINILD LUNDBY et al., 2018), o presente trabalho compara este achado da literatura que acontece no músculo esquelético com a adaptação funcional da mitocôndria no córtex pré-frontal de ratas ovariectomizadas.

8.1. Análise do FCC da ANT-1

Neste trabalho verificou-se diversas proteínas que regulam de fato o fluxo de elétrons e seus mecanismos alterados pela ovariectomia. Em específico, um dos principais achados deste trabalho foi a diminuição do FCC da ANT-1, no grupo OVX-SED, sendo a proteína responsável pela troca do ATP pelo ADP (HALESTRAP; BRENNER, 2003; YIN et al., 2010), este achado mostrou ser promissor no quesito eficiência energética, por conta da alta demanda metabólica exigida durante o exercício físico. Em contrapartida os resultados para o FCC desta proteína do grupo OVX-TR, apresentaram uma adaptação benéfica, visto que seu aumento foi capaz de reverter o efeito negativo provocado pela ovariectomia. Reforçando a ideia do benefício do mecanismo não farmacológico oferecido pelo TR, como uma resposta mais eficaz da ANT-1, exercido nesta proteína mitocondrial. A partir destes resultados inéditos, sugere-se que em resposta do TR ocorre um desencadeamento no fornecimento energético, fazendo assim com que a ANT-1 possa desempenhar uma regulação e otimização da viabilidade celular. Este fato deve ser contemplado com relevância, já que o TR pode aumentar o coeficiente de controle de fluxo da ANT-1, o que modula o sistema de fornecimento energético, na matriz mitocondrial do córtex pré-frontal.

8.2. Análise do FCC da ATP-Sintase

Os resultados das análises da ATP-Sintase, responsáveis pela produção de energia mitocondrial, demonstraram um déficit no percentual de funcionamento no grupo OVX-SED, frente ao seu controle positivo, INT-SED. A partir deste resultado pode-se afirmar que a ovariectomia causou um impacto negativo na função da ATP-Sintase. Por sua vez o grupo OVX-TR, apresentou resultados melhores, quando comparado ao grupo INT-SED e OVX-SED. O grupo INT-TR apresentou resultados superiores na atividade da ATP-Sintase quando comparado ao grupo INT-SED e OVX-TR, com significância estatística do grupo OVX-SED frente aos outros grupos, demonstrado pelos resultados obtidos.

Um fato que deve ser destacado, seria a ausência de achados na literatura com a utilização de metodologia semelhante para análise do FCC da ATP-Sintase como apresentado neste trabalho, o que inviabiliza comparativos, porém destaca-se a contribuição científica do presente achado para investigações futuras, mostrando assim o ineditismo deste trabalho.

8.3. Análise do FCC do Carreador de Fosfato

Os resultados das análises do FCC do Carreador de Fosfato, cuja principal função é conhecida como transporte de fosfato inorgânico, e compõem com a ANT e a ATP-sintase o grupo de proteínas responsáveis pela fosforilação oxidativa e produção de ATP (MAYR et al., 2007; KWONG et al., 2014), demonstraram no grupo OVX-SED uma diminuição significativa no percentual de funcionamento desta proteína, fato que deve ser destacado por conta do impacto negativo da ovariectomia no metabolismo energético, quando comparado ao grupo INT-SED. Os resultados tanto o grupo OVX-TR como o grupo INT-TR, por conta da apresentação das porcentagens do FCC que foram superiores aos grupos sedentários OVX-SED e INT-SED, mostrando mais uma vez a efetividade do TR frente aos efeitos deletérios da ovariectomia.

8.4. Análise intragrupo do FCC das proteínas de análise.

O controle exercido pela ANT não depende exclusivamente da taxa respiratória, mas sim da complexibilidade da rede metabólica e do mecanismo de utilização de ATP (MAZAT et al., 1986).

Sabe-se que o carreador de fosfato em baixas concentrações não exerce controle sobre o consumo de oxigênio ou sobre a síntese de ATP, no entanto em altas concentrações, torna-se uma etapa de controle (MAZAT et al., 1986).

8.5. Considerações finais

Destaca-se que as maiores disfunções se encontram na proteína ATP-sintase com diminuição de 7,7 % (grupo INT-SED 74,4 % para o grupo OVX-SED 66,7 %) e depois a proteína Carreador de Fosfato com diminuição de 14,2 % (grupo INT-SED 61,8 % para o grupo OVX-SED 47,6 %).

Com o treinamento resistido os valores da proteína Carreador de Fosfato apresentaram diferença significativa para o grupo INT-SED (61,8 %) em relação ao grupo INT-TR (71,9 %) e do grupo OVX-SED (47,6 %) para o grupo OVX-TR (71,2 %), mostrando assim que o treinamento resistido é capaz de promover a manutenção no funcionamento desta proteína, já na proteína ATP-sintase o grupo INTACTO-SED (74,4 %) em relação ao GRUPO INTACTO-TR (80,2 %) e do GRUPO OVX-SED (66,7 %) para o GRUPO OVX-TR (78,2 %) e na proteína ANT-1 o grupo INTACTO-SED (72,0 %) em relação ao GRUPO INTACTO-TR (81,0 %) e do GRUPO OVX-SED (62,21 %) para o GRUPO OVX-TR (79,2 %), ou seja em todas as proteínas analisadas o TR foi

responsável pela manutenção e no aumento do funcionamento das três proteínas analisadas sendo elas responsáveis pela geração de ATP.

O ineditismo deste trabalho contribui para a comunidade científica com o modelo de análise da função (FCC) das proteínas responsáveis pela geração de ATP, que são modificadas pela ausência dos hormônios ovarianos e pelo TR. Esse novo método traz consigo a explicação das respostas das proteínas analisadas no córtex pré-frontal em ratas foram moduladas pelo TR.

9. CONCLUSÃO

Os efeitos deletérios associados a ovariectomia impactam negativamente no funcionamento da cadeia respiratória mitocondrial, fato observado na diminuição da função das proteínas avaliadas neste estudo por meio do coeficiente de controle de fluxo, destacando-se maior disfunção nas proteínas ATP-sintase e no Carreador de Fosfato.

O treinamento resistido aplicado mostrou-se efetivo em prevenir as alterações deletérias promovidas pela ovariectomia, visto que as proteínas avaliadas mantiveram suas funções em níveis satisfatórios e maiores do que seu controle positivo.

Em conclusão podemos afirmar que dentro destas três proteínas analisadas, a função mitocondrial é afetada diretamente pela diminuição do E2 promovida pela retirada dos ovários. Em contrapartida, o TR pode ser considerado uma importante ferramenta não farmacológica para prevenção e manutenção do funcionamento destas três proteínas, que afetam diretamente a função mitocondrial no córtex pré-frontal em ratas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULNOUR, J. et al. The effect of the menopausal transition on body composition and cardiometabolic risk factors. *Menopause: The Journal of The North American Menopause Society*. v. 19, n. 7, p. 760-767, 2012.

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, v. 105, p. 121-126, 1984.

ALBERTS, B. et al. *Biologia molecular da célula*. Artmed Editora, 6. ed. 2017.

ALCALÁ, S. et al. A high-throughput screening for mammalian cell death effectors identifies the mitochondrial phosphate carrier as a regulator of cytochrome c release. *Oncogene*, v. 27, n. 1, p. 44-54, 2008.

ANTUNES, S. et al. Fisiopatologia da menopausa. *Rev. Port Clin. Geral*. v.19, p.353-7, 2003.

ARNOLD, S. et al. Estrogen and the regulation of mitochondrial structure and function in the brain. *Rev. ELSEVIER, Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, v. 131, p. 02-09, 2012.

AKABORI, H. et al. Mechanism of the anti-inflammatory effect of 17 β -estradiol on brain following trauma-hemorrhage. *Shock*, v. 33, n. 1, p. 43-48, 2010.

AKSENOV, M. et al. Oxidative modification of creatine kinase BB in Alzheimer's disease brain. *Journal of neurochemistry*, v. 74, n. 6, p. 2520-2527, 2000.

BALTA, G. et al. *In*, *Frontiers in Psychiatry: Artificial Intelligence, Precision Medicine, and Other Paradigm Shifts*. Korea University; Springer, p. 225-249. 2019.

BARBOSA, B.N. et al. Neuroesteroides e esquizofrenia: A função do estrogênio e da progesterona na modulação de proteção do cérebro. *Revista Debates em Psiquiatria*, p. 32-44, fev. 2020.

BARBOSA, M.R. et al. Resistance training and ovariectomy: antagonistic effects in mitochondrial biogenesis markers in rat skeletal muscle. *International Journal of Sports Medicine*, v. 37. n. 11, p. 841-848, 2016.

BARBANTI, V. J. *Dicionário de educação física e do esporte*. 1994.

BEAL, M.F. Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses?. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, v. 31. n. 2: p. 119-130, 1992.

BEN, J. et al. Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. *Neurobiology of learning and memory*, v. 94, n. 3, p. 312-317, 2010.

- BENARD, G.; ROSSIGNOL, R. Ultrastructure of the mitochondrion and its bearing on function and bioenergetics. **Antioxidants & redox signaling**, v. 10, n. 8, p. 1313-1342, 2008.
- BELZACQ, A. S. et al. The adenine nucleotide translocator in apoptosis. Rev. ELSEVIER. **Biochimie**, v. 84, p. 167-176, 2002.
- BERGLUND, J. A Time of Forgetting: Menopause May Hold a Key to Understanding the Development of Alzheimer's Disease. **IEEE pulse**, v. 9, n. 2, p. 19-21, 2018.
- BO, H.; et al. Mitochondrial redox metabolism in aging: Effect of exercise interventions. **Journal of Sport and Health Science**, v. 2, n. 2, p. 67-74, 2013.
- BOBBA, A.; et al. Dissecting the molecular mechanism by which NH₂tau and A β 1-42 peptides impair mitochondrial ANT-1 in Alzheimer disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1827, n. 7, p. 848-860, 2013.
- BOLISETTY, S.; JAIMES, E.A. Mitochondria and reactive oxygen species. Physiology and Pathophysiology. **International Journal of Molecular Sciences**, 14: 6306-6344, 2013.
- BORGES, V.S. Fogachos na menopausa e sua relação com doenças inflamatórias crônicas. 2018.
- BOVERIS, A.; NAVARRO, A. Systemic and mitochondrial adaptive responses to moderate exercise in rodents. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, n. 2, p. 224-229, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Atenção à Saúde - Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Manual de atenção à mulher no climatério/menopausa. Série A. Normas e Manuais Técnicos Série Direitos Sexuais e Direitos Reprodutivos – Caderno, n.9. **Brasília**, 2008.
- BRAND, M.D. et al. The sum of flux control coefficients in the electron-transport chain of mitochondria. **European journal of biochemistry**, v. 226, n. 3, p. 819-829, 1994.
- BRANDOLIN, G. et al. Kinetic, binding and ultrastructural properties of the beef heart adenine nucleotide carrier protein after incorporation into phospholipid vesicles. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 592, n. 3, p. 592-614, 1980.
- BRENNER, C. et al. Adenine nucleotide translocase family: four isoforms for apoptosis modulation in cancer. **Oncogene**, v. 30, n. 8, p. 883-895, 2011.
- BROWN, M. Skeletal muscle and bone: effect of sex steroids and aging. **Advances in physiology education**, v. 32, n. 2, p. 120-126, 2008.
- BUNKAR, N. et al. Mitochondrial anomalies: driver to age associated degenerative human ailments. **Frontiers in Bioscience**, 21: 769-793, 2016.

- BUNKAR, N. et al. Mitochondrial anomalies: driver to age associated degenerative human ailments. **Frontiers in Bioscience**, 21: 769-793, 2016.
- CAI, H.L. et al. Pregnenolone-progesterone-allopregnanolone pathway as a potential therapeutic target in first-episode antipsychotic-naïve patients with schizophrenia. **Psychoneuroendocrinology**, v. 90, p. 43-51, 2018.
- CARDOSO, E.C.; CAMARGO, M.J.G. Terapia Ocupacional em Saúde da Mulher: Impacto dos sintomas do climatério na atividade profissional. **Tempus** (Brasília), p. 153-167, 2017.
- CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. In: *Methods in enzymology*. **Academic press**, p. 484-490. 1985.
- CECCON, R.F. et al. Envelhecimento e dependência no Brasil: características sociodemográficas e assistenciais de idosos e cuidadores. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 26, p. 17-26, 2021.
- CRAMER, H. et al. Yoga for menopausal symptoms—A systematic review and meta-analysis. **Maturitas**, v. 109, p. 13-25, 2018.
- CHÁVEZ-CASTILLO, M. et al. Depression as a neuroendocrine disorder: emerging neuropsychopharmacological approaches beyond monoamines. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2019, 2019.
- CHEN L. et al. Characteristics of adenine nucleotide translocator in mitochondria of rat cerebral cortex during hypobaric hypoxia exposure. **Rev. Acta Physiologica Sinica**, v. 1, n. 58, February, p. 29-33, 2006.
- CHEUNG, T.H.C. et al. Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats. **BMC neuroscience**, v. 6, n. 1, p. 1-24, 2005.
- CHERRY, A.D. et al. Regulation of mitochondrial biogenesis and its intersection with inflammatory responses. **Antioxidants & redox signaling**, v. 22, n. 12, p. 965-976, 2015.
- COLLINS, F.L. et al. Temporal and regional intestinal changes in permeability, tight junction, and cytokine gene expression following ovariectomy-induced estrogen deficiency. **Physiological reports**, v. 5, n. 9, p. e13263, 2017.
- CONCEA – Ministério da ciência, tecnologia e inovação conselho nacional de controle de experimentação animal. **Diretriz brasileira para o cuidado e utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica – DBCA**. Brasília, 2016.
- CUI, J. et al. Estrogen synthesis and signaling pathway during ageing: from periphery to brain. **Rev. National Institutes of Health. Trends Mol Med**. v.3, p. 197-209. 2013.
- CULMSEE, C. et al. Neuroprotection by estrogens in a mouse model of focal cerebral ischemia and in cultured neurons: evidence for a receptor-independent antioxidative

- mechanism. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 19, n. 11, p. 1263-1269, 1999.
- DE ARAÚJO PALMEIRA, C.C.; ASHMAWI, H.A. et al. Sex and pain perception and analgesia. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 61, n. 6, p. 814-828, 2011.
- DE SOUZA, N.L.A.; DE OLIVEIRA ARAÚJO, C.L. Marco do envelhecimento feminino, a menopausa: sua vivência, em uma revisão de literatura. **Revista Kairós: Gerontologia**, v. 18, n. 2, p. 149-165, 2015.
- DESCHENES, M. R.; KRAEMER, W. J. Performance and physiologic adaptations to resistance training. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 81, n. 11, p. S3-S16, 2002.
- DEVOTO, V. M. P.; FALZONE, T. L. Mitochondrial dynamics in Parkinson's disease: a role for α -synuclein?. **Disease Models & Mechanisms**, 10: 1075-1087, 2017.
- DIVAKARUNI, A. S.; BRAND, M. D. The Regulation and Physiology of Mitochondrial Proton Leak. **Physiology**, v. 26, n. 3, p. 192-205, 2011.
- DIMAURO, S.; SCHON, E.A. Mitochondrial respiratory-chain diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 26, p. 2656-2668, 2003.
- DIWAN, J. J. et al. Effect of mersalyl on mitochondrial Mg^{++} flux. **Journal of bioenergetics and biomembranes**, v. 12, n. 3-4, p. 205-212, 1980.
- DUNCAN, J.G. Mitochondrial dysfunction in diabetic cardiomyopathy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1813, n. 7, p. 1351-1359, 2011.
- EDWARDS, B.J.; LI, J. Endocrinology of menopause. **Periodontology 2000**, v. 61, n. 1, p. 177-194, 2013.
- FEBRASGO - Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. **Manual de Orientação Climatério**. 2010.
- FILOSTO, M.; MANCUSO, M. Mitochondrial diseases: a nosological update. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 115, n. 4, p. 211-221, 2007.
- FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. **Fundamentos do treinamento de força muscular**. 4ed. São Paulo: Artmed, 2017.
- FREEMAN, E.W. et al. Duration of menopausal hot flashes and associated risk factors. **Obstetrics and gynecology**, v. 117, n. 5, p. 1095, 2011.
- FREITAS, T.P. et al. Evaluation of brain creatine kinase activity in an animal model of mania induced by ouabain. **Journal of neural transmission**, v. 117, n. 2, p. 149-153, 2010.
- FRIEDMAN, J. R.; NUNNARI, J. Mitochondrial form and function. **Nature**, 505: 335-343, 2014.

GERHART-HINES, Z. et al. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α . **The EMBO journal**, v. 26, n. 7, p. 1913-1923, 2007.

GEHRKE, S. et al. PINK1 and Parkin control localized translation of respiratory chain component mRNAs on mitochondrial outer membrane. **Cell Metabolism**, 21: 95- 108, 2015.

GELLERICH, F. N. et al. Estimation of flux control coefficients from inhibitor titrations by non-linear regression. **FEBS letters**, v. 274, n. 1-2, p. 167-170, 1990.

GIACOMINI, D.R.; MELLA, E.A.C. Reposição Hormonal: vantagens e desvantagens. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 27, n. 1, p. 71-92, 2006.

GOGOS, A. et al. A role for estrogen in schizophrenia: clinical and preclinical findings. **International journal of endocrinology**, 2015.

GOGOS, A. et al. Sex differences in schizophrenia, bipolar disorder, and post-traumatic stress disorder: Are gonadal hormones the link?. **British journal of pharmacology**, v. 176, n. 21, p. 4119-4135, 2019.

GOMEZ-CABRERA, M.C. et al. Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training?. **Free radical biology and medicine**, v. 86, p. 37-46, 2015.

GONZALEZ, A. M.; et al. Intramuscular Anabolic Signaling and Endocrine Response Following Resistance Exercise: Implications for Muscle Hypertrophy. **Sports Medicine**, v. 46, n. 5, p. 671–685, 2016.

GOTTLIEB, E.; TOMLINSON, I.P.M. Mitochondrial tumour suppressors: a genetic and biochemical update. **Nature Reviews Cancer**, v. 5, n. 11, p. 857-866, 2005.

GREEN, P.S. et al. Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, n. 4-5, p. 347-358, 2000.

GREGGIO, C. et al. Enhanced respiratory chain supercomplex formation in response to exercise in human skeletal muscle. **Cell metabolism**, v. 25, n. 2, p. 301-311, 2017.

HALESTRAP, A.P. What is the mitochondrial permeability transition pore? **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 46, n. 6, p. 821-831, 2009.

HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro, 2011.

HAWLEY, J. A. et al. Integrative biology of exercise. **Cell**, v. 159, n. 4, p. 738-749, 2014.

- HEINRICH, R.; RAPOPORT, T. A. A linear steady-state treatment of enzymatic chains: general properties, control and effector strength. **European journal of biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 89-95, 1974.
- HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, n. 1, p. 214–226, 1976.
- HOLLOSZY, J.O. Biochemical adaptations in muscle: effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. **Journal of biological chemistry**, v. 242, n. 9, p. 2278-2282, 1967.
- ISHUNINA, T.A.; SWAAB, D.F. Alterations in the human brain in menopause. **Maturitas**, v. 57, n. 1, p. 20-22, 2007.
- JAIN, V. et al. Estimation of global brain oxygen consumption rate. **J Cereb Blood Flow Metab**, 30 (9): 1598-1607, 2010.
- Jl, E. et al. Adjunctive selective estrogen receptor modulator increases neural activity in the hippocampus and inferior frontal gyrus during emotional face recognition in schizophrenia. **Translational psychiatry**, v. 6, n. 5, p. e795-e795, 2016.
- JONGPIPUTVANICH, S. et al. Mitochondrial respiratory chain dysfunction in various neuromuscular diseases. **Journal of clinical neuroscience**, v. 12, n. 4, p. 426-428, 2005.
- KACSER, H. The control of flux. In: **Symp. Soc. Exp. Biol**, p. 65-104. 1973.
- KACSER, H.; BURNS, J. A. Rate control of biological processes. **Symp. Soc. Exp. Biol**, p. 65-104, 1973.
- KACSER, H.; BURNS, J.A. Molecular democracy: who shares the controls?. **Biochemical Society Transactions**, v. 7, n. 5, p. 1149-1160, 1979.
- KARGOZAR, R. et al. A review of effective herbal medicines in controlling menopausal symptoms. **Electronic physician**, v. 9, n. 11, p. 5826, 2017.
- KOEBELE, S.V.; BIMONTE-NELSON, H.A. Modeling menopause: The utility of rodents in translational behavioral endocrinology research. **Maturitas**, v. 87, p. 5-17, 2016.
- KIRKWOOD, S.P. et al. Mitochondrial reticulum in limb skeletal muscle. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 251, n. 3, p. C395-C402, 1986.
- KLINGENBERG, M.; BUCHHOLZ, M. On the Mechanism of Bongkrekate Effect on the Mitochondrial Adenine-Nucleotide Carrier as Studied through the Binding of ADP. **European journal of biochemistry**, v. 38, n. 2, p. 346-358, 1973.
- KLINGENBERG, M.; GREBE, K.; SCHERER, B. The Binding of Atractylate and Carboxy-atractylate to Mitochondria. **European journal of biochemistry**, v. 52, n. 2, p. 351-363, 1975.

- KLINGENBERG, M. The ADP and ATP transport in mitochondria and its carrier. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1778, n. 10, p. 1978-2021, 2008.
- KRAEMER, W. J.; RATAMESS, N. A.; FRENCH, D. N. Resistance training for health and performance. **Current sports medicine reports**, v. 1, n. 3, p. 165-171, 2002.
- KRUGER, M.C.; MOREL, P.C.H. Experimental control for the ovariectomized rat model: Use of sham versus nonmanipulated animal. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 19, n. 1, p. 73-80, 2016.
- KOEBELE, S. V.; BIMONTE-NELSON, H. A. Modeling menopause: The utility of rodents in translational behavioral endocrinology research. **Maturitas**, v. 87, p. 5-17, 2016.
- KWONG, J. Q. et al. Genetic deletion of the mitochondrial phosphate carrier desensitizes the mitochondrial permeability transition pore and causes cardiomyopathy. **Cell Death & Differentiation**, v. 21, n. 8, p. 1209-1217, 2014.
- KOWALTOWSKI, A.J. et al. Mitochondrial membrane protein thiol reactivity with N-ethylmaleimide or mersalyl is modified by Ca²⁺: Correlation with mitochondrial permeability transition. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1318, n. 3, p. 395-402, 1997.
- KUZNETSOV, A.V. et al. Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. **Nature protocols**, v.3, n.6, p.965-976, 2008.
- LAGO, V.M. et al. Envelhecimento e mitocôndrias: revisão sistemática de literatura. **Revista Mosaicum**, n. 33, p. 67-84, 2021.
- LAUQUIN, G.J.M. et al. Purification of an atractyloside-binding protein related to the ADP/ATP transport system in yeast mitochondria. **Methods in enzymology**, v. 56, p. 414-418, 1979.
- LEE, J. et al. Adenine nucleotide translocator 1 deficiency increases resistance of mouse brain and neurons to excitotoxic insults. **Rev. ELSEVIER, Biochimica et Biophysica Acta**, p. 364-370, 2009.
- LEITE, R.D. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, 2009.
- LEUNG, A.W.C. et al. The mitochondrial phosphate carrier interacts with cyclophilin D and may play a key role in the permeability transition. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 39, p. 26312-26323, 2008.
- LEMINI, C. et al. Ovariectomy differential influence on some hemostatic markers of mice and rats. **Experimental animals**, v. 64, n. 1, p. 81-89, 2015.

- LIN, M.T. et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Nature**, v. 443, n. 7113, p. 787-795, 2006.
- MEINILD LUNDBY, A.K. et al. Exercise training increases skeletal muscle mitochondrial volume density by enlargement of existing mitochondria and not de novo biogenesis. **Acta physiologica**, v. 222, n. 1, p. e12905, 2018.
- MANCUSO, M. et al. Mitochondrial DNA-related disorders. **Bioscience reports**, v. 27, n. 1-3, p. 31-37, 2007.
- MARTON, O. et al. Aging and exercise affect the level of protein acetylation and SIRT1 activity in cerebellum of male rats. **Biogerontology**, v. 11, n. 6, p. 679-686, 2010.
- MAKI, P.M.; HENDERSON, V.W. Cognition and the menopause transition. **Menopause**, v. 23, n. 7, p. 803-805, 2016.
- MALTAIS, M. L.; DESROCHES, J.; DIONNE, I.J. Changes in muscle mass and strength after menopause. **J Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 9, n. 4, p. 186-97, 2009.
- MATSUDO, S.M.M. Envelhecimento, atividade física e saúde. **BIS. Boletim do Instituto de Saúde (Impresso)**, n. 47, p. 76-79, 2009.
- MAYR, J.A. et al. Mitochondrial Phosphate–Carrier Deficiency: A Novel Disorder of Oxidative Phosphorylation. **The American Journal of Human Genetics**, v. 80, n. 3, p. 478-484, 2007.
- MAZAT, J.P. et al. Control of oxidative phosphorylations in yeast mitochondria. Role of the phosphate carrier. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 849, n. 1, p. 7-15, 1986.
- MEDEIROS, M.F. A perda de memória na menopausa devido a supressão do efeito neuroprotetores do estrogênio: Uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 8, n. 2, p. 57-64, 2019
- MELO, D.R. et al. Mitochondrial energy metabolism in neurodegeneration associated with methylmalonic acidemia. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 43, n. 1, p. 39–46, 2011.
- MESSIER, V. et al. Menopause and sarcopenia: A potential role for sex hormones. **Maturitas**, v. 68, n. 4, p. 331–336, 2011.
- MILLER, K.K. Neuroactive Steroids and Depression. In: **The Massachusetts General Hospital Guide to Depression**. Humana Press, Cham, p. 147-151, 2019.
- MONTELEONE, P. et al. Symptoms of menopause — global prevalence, physiology and implications. **Nature Reviews, Endocrinology**. 2018.

- MONTEIRO, A. R. B. Efeito do Treinamento Resistido na Função Mitocondrial e na Expressão Gênica da UCP-3 no Músculo de Ratas Ovariectomizadas. 2019.
- MORÁN, M. et al. Mitochondrial respiratory chain dysfunction: implications in neurodegeneration. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 3, p. 595-609, 2012.
- NADEGE, B.; PATRICK, L.; RODRIGUE, R. Mitochondria: from bioenergetics to the metabolic regulation of carcinogenesis. **Frontiers in bioscience**, v. 14, n. 11, p. 4015-4034, 2009.
- NASSIF, M.C. et al. Estrógeno versus isquemia cerebral: Hormônio feminino como agente neuroprotetor. **Infarma**, v. 17, p. 57-60, 2005.
- NAMS - Sociedade Norte-Americana de Menopausa. **Guia da menopausa: ajudando a mulher climatérica a tomar decisões informadas sobre a sua saúde**. 7th ed. São Paulo: **SOBRAC**; 2013.
- NAMS (THE NORTH AMERICAN MENOPAUSE SOCIETY). Position Statement: 2017 hormone therapy position statement of the North American Menopause Society. **Menopause**, v. 25, n. 11, p. 1362-1387, 2018.
- NAKATA, M. et al. Synthetic studies on oligomycins. Synthesis of the oligomycin B spiroketal and polypropionate portions. **Bulletin of the chemical society of Japan**, v. 68, n. 3, p. 967-989, 1995.
- NAVARRO, A. et al. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. **American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 286, n. 3, p. R505-R511, 2004.
- NAVARRO, A. et al. Brain mitochondrial dysfunction in aging: conditions that improve survival, neurological performance and mitochondrial function. **Front Biosci**, v. 12, p. 1154-1163, 2007.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- NETTO, F.L.M. Aspectos biológicos e fisiológicos do envelhecimento humano e suas implicações na saúde do idoso. **Rev. Pensar a Prática**. v.7, p.75-84, 2004.
- NEWSON, L. Menopause and cardiovascular disease. **Post Reproductive Health**, v.24, n. 1, p. 44-49, 2018.
- NICHOLLS, D. G.; BUDD, S. L. Mitochondria and neuronal survival. **Physiol. Rev.** v. 80, p. 315-360, 2000.
- OSPINA, J.A. et al. Estrogen suppresses IL-1 β -mediated induction of COX-2 pathway in rat cerebral blood vessels. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 286, n. 5, p. H2010-H2019, 2004.

- PARDINI, D. Terapia de reposição hormonal na menopausa. **Arq. Bras Endocrinol Metab**, v. 58, n. 2, p 172-181, 2014.
- PEBAY-PEYROULA, E. et al. Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside. **Nature**, v. 426, n. 6962, p. 39-44, 2003.
- PEREIRA, L.C. et al. Mitocôndria como alvo para avaliação de toxicidade de xenobiótico. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 25, n. 1-2, p. 1-14, 2012.
- PERTESI, S. et al. Menopausa, cognition and dementia – A review. **Rev. Post Reproductive Health**, v. 0, p. 1-7, 2019.
- PFAFF, E.; KLINGENBERG, M. Adenine nucleotide translocation of mitochondria: 1. Specificity and control. **European journal of biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 66-79, 1968.
- PFAFF, E.; HELDT, H.W.; KLINGENBERG, M. Adenine nucleotide translocation of mitochondria: kinetics of the adenine nucleotide exchange. **European journal of biochemistry**, v. 10, n. 3, p. 484-493, 1969.
- PRESTES, J. et al. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metabol**, v.34, n.4, p.700-706, 2009.
- PUIGSERVER P. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. **Endocr Rev** 24: 78–90, 2003.
- RAJASEKARAN, A. et al. Mitochondrial dysfunction in Schizophrenia: Pathways, mechanisms and implications. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 48: 10-21, 2015.
- RETTBERG, J.R. et al. Estrogen: A master regulator of bionergetic systems in the brain and body. **Neuroendocrinol**, v.35, n.1, p.8–30. 2013.
- RIBEIRO, V.C. et al. Cefaleia e hormonas. **Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa**, v. 11, n. 3, p. 182-188, 2017.
- RIECHER-RÖSSLER, A. Oestrogens, prolactin, hypothalamic-pituitary-gonadal axis, and schizophrenic psychoses. **The Lancet Psychiatry**, v. 4, n. 1, p. 63-72, 2017.
- ROCCA, W.A. et al. Sex and gender differences in the causes of dementia: a narrative review. **Maturitas**, v. 79, n. 2, p. 196-201, 2014.
- SANTOS, E. et al. Vivências de mulheres na menopausa: contributos a compreensão do cuidar em enfermagem. **Revista INFAD de Psicologia. International Journal of Developmental and Educational Psychology.**, v. 1, n. 1, p. 503-514, 2021.
- SÁRVÁRI, M. et al. Ovariectomy and subsequent treatment with estrogen receptor agonists tune the innate immune system of the hippocampus in middle-aged female rats. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e88540, 2014.

SAXTON, W. M.; HOLLENBECK, P. J. The axonal transport of mitochondria. **J Cell Sci**, 125: 2095-2104, 2012.

SCHOENAKER, D.A.J.M. et al. Socioeconomic position, lifestyle factors and age at natural menopause: a systematic review and meta-analyses of studies across six continents. **International Journal of Epidemiology**, p.1–21, 2014.

SEARLES, S. et al. The role of estradiol in schizophrenia diagnosis and symptoms in postmenopausal women. **Schizophrenia research**, v. 196, p. 35-38, 2018.

SEEMAN, M.V. Treating schizophrenia at the time of menopause. **Maturitas**, v. 72, n. 2, p. 117-120, 2012.

SINGER, C.A. et al. Estrogen protects primary cortical neurons from glutamate toxicity. **Neuroscience letters**, v. 212, n. 1, p. 13-16, 1996.

SHARER, J.D. The Adenine Nucleotide Translocase Type 1 (ANT1): A New Factor in Mitochondrial Disease. **Rev. IUBMB Life**, v. 9, n. 57, September, p. 607-614, 2005.

SHEPHERD, D.; GARLAND, P.B. The kinetic properties of citrate synthase from rat liver mitochondria. **Biochemical Journal**, v. 114, n. 3, p. 597-610, 1969.

SHIGUEMOTO, G. E. et al. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 22, n.5, p.607-617, 2012.

SIMONCINI, C. et al. Mitochondrial ANT-1 related adPEO leading to cognitive impairment: is there a link? **Acta Myologica**, v. 36, n. 1, p. 25, 2017.

SIEBERT, C. et al. Effect of physical exercise on changes in activities of creatine kinase, cytochrome c oxidase and ATP levels caused by ovariectomy. **Metabolic brain disease**, v. 29, n. 3, p. 825-835, 2014.

SOBRAC - Sociedade Brasileira de Climatério, 2004.
<http://www.sobrac.org.br/media/files/publicacoes/>

SPAMPINATO, S.F. et al. Dual effect of 17 β -estradiol on NMDA-induced neuronal death: involvement of metabotropic glutamate receptor 1. **Endocrinology**, v. 153, n. 12, p. 5940-5948, 2012.

STEINER, J.L. et al. Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. **Journal of applied physiology**, v. 111, n. 4, p. 1066-1071, 2011.

STEKETEE, M.B. et al. Mitochondrial dynamics regulate growth cone motility, guidance, and neurite growth rate in perinatal retinal ganglion cells in vitro. **Retinal Cell Biology**, 53 (11): 7402-7411, 2012.

STEWART, J. H.; EDWARDS, K. D. Clinical comparison of frusemide with bendrofluzide, mersalyl, and ethacrynic acid. **British medical journal**, v. 2, n. 5473, p. 1277, 1965.

SZCZEPANOWSKA, K.; TRIFUNOVIC, A. Different faces of mitochondrial DNA mutators. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1847 (11): 1362-1372, 2015.

TANNER, C. et al. Rotenone, Paraquat, and Parkinson's Disease. **Environmental Health Perspectives**, 119 (6): 866-872, 2011.

TOMIMOTO, H. et al. Immunoelectron microscopic investigation of creatine kinase BB-isoenzyme after cerebral ischemia in gerbils. **Acta neuropathologica**, v. 86, n. 5, p. 447-455, 1993.

VIGNAIS, V.; VIGNAIS, P.M.; DEFAYE, G. Adenosine diphosphate translocation in mitochondria. Nature of the receptor site for carboxyatractyloside (gummiferin). **Biochemistry**, v. 12, n. 8, p. 1508-1519, 1973.

VOET, D. et al. **Fundamentos de Bioquímica: A Vida em Nível Molecular**. Artmed Editora, 2014.

WALLIMANN, T.; HEMMER, W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 133, n. 1, p. 193-220, 1994.

WISE, P.M. Estrogens and neuroprotection. **Trends in endocrinology & metabolism**, v. 13, n. 6, p. 229-230, 2002.

WISE, P.M. et al. Estradiol is a protective factor in the adult and aging brain: understanding of mechanisms derived from in vivo and in vitro studies. **Brain Research Reviews**, v. 37, n. 1-3, p. 313-319, 2001.

WU, M. et al. Structural and biomechanical basis of mitochondrial movement in eukaryotic cells. **International Journal of Nanomedicine**, 8: 4033-4042, 2013.

WU, X. et al. Age at menarche and natural menopause and number of reproductive years in association with mortality: results from a median follow-up of 11.2 years among 31,955 naturally menopausal Chinese women. **PloS one**, v. 9, n. 8, p. e103673, 2014.

XAVIER, J.M. et al. Mitochondria: Major regulators of neural development. **The Neuroscientist**, p1-13, 2015.

XING, D. et al. Estrogen modulates NF κ B signaling by enhancing I κ B α levels and blocking p65 binding at the promoters of inflammatory genes via estrogen receptor- β . **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e36890, 2012.

YAO, J. et al. Ovarian hormone loss induces bioenergetic deficits and mitochondrial beta-amyloid. **Neurobiology of Aging**. 2011.

YAO, J.; BRINTON, R.D. Estrogen Regulation of Mitochondrial Bioenergetics: Implications for Prevention of Alzheimer's Disease. **Adv Pharmacol**, v. 64, p. 327-371, 2012.

YOULE, R.J.; VAN DER BLIEK, A.M. Mitochondrial fission, fusion, and stress. **Science**, v. 337, n. 6098, p. 1062-1065, 2012.

ZARROW, M. X. **Experimental endocrinology: a sourcebook of basic techniques.**

ZHANG, H.; DAVIES, K. J. A.; FORMAN, H. J. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. **Free Radical Biology & Medicine**, 88: 314-336, 2015.