

Efeito do Treinamento Físico em Alterações Induzidas pelo Envelhecimento no Músculo Papilar do Rato

Effect of Exercise Training on Aging-induced Changes in Rat Papillary Muscle

Laura Beatriz Mesiano Maifirino^{1,4}; Rubens Correa Araújo¹; Cristiane Castro Faccini⁴, Edson Aparecido Liberti², Eliane Florêncio Gama¹; Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro³, Romeu Rodrigues de Souza¹

Laboratório de Biodinâmica, Universidade São Judas Tadeu¹; Departamento de Anatomia, Instituto de Ciências Biomédicas²; Instituto de Ciências Biomédicas e Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo³; Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia⁴, São Paulo, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: Os efeitos do envelhecimento no músculo papilar têm sido amplamente demonstrados, mas não há dados disponíveis sobre os efeitos do exercício nas alterações relacionadas à idade.

Objetivo: Analisar os efeitos do envelhecimento nas propriedades morfológicas e quantitativas do músculo papilar e investigar se um programa contínuo de exercícios moderados pode exercer um efeito protetor contra as consequências do envelhecimento.

Métodos: Microscopia eletrônica foi utilizada para estudar a densidade dos miócitos, capilares e tecido conectivo e área transversal dos miócitos do músculo papilar no ventrículo esquerdo de ratos Wistar de 6 e 13 meses, não-treinados e submetidos a exercícios.

Resultados: Como esperado, a densidade de volume dos miócitos diminuiu significativamente ($p < 0,05$) com a idade. A densidade de comprimento dos capilares também diminuiu com a idade, mas não de forma significativa. A fração de volume intersticial do tecido do músculo capilar aumenta significativamente com a idade ($P < 0,05$). O número de perfis de miócitos mostrou uma redução de 20% que foi acompanhada de hipertrofia dos miócitos no envelhecimento ($P < 0,05$). Animais submetidos a uma sessão diária de 60 minutos, 5 dias/semana a 1,8 km.h⁻¹ de corrida moderada em esteira ergométrica durante 28 semanas mostraram uma reversão de todos os efeitos do envelhecimento observados no músculo papilar.

Conclusão: O presente estudo apóia o conceito de que treinamento físico de longo prazo impede as mudanças deletérias relacionadas à idade no músculo capilar. (Arq Bras Cardiol 2009;92(5):387-392)

Palavras-chave: Exercício, músculos papilares, envelhecimento, ratos.

Summary

Background: The effects of aging on papillary muscle have been widely demonstrated, but no data on the effects of exercise on the age-related changes are available.

Objective: To analyze the effects of aging on the morphological and quantitative properties of papillary muscle and investigate whether a long-term moderate exercise program would exert a protective effect against the effects of aging.

Methods: We used electron microscopy to study the density of myocytes, capillaries and connective tissue and the cross-sectional area of myocytes of the papillary muscle of the left ventricle of 6- and 13-month-old untrained and exercised Wistar rats.

Results: As expected, the volume density of myocytes declined significantly ($p < 0.05$) with aging. The length density of myocardial capillaries also declined with aging, but not significantly. The interstitial volume fraction of the papillary muscle tissue increased significantly ($P < 0.05$) with age. The number of myocyte profiles showed a reduction of 20% that was accompanied by myocyte hypertrophy in the aged rats ($P < 0.05$). Animals submitted to a 60-minute daily session, 5 days/wk at 1.8 km.h⁻¹ of moderate running on a treadmill for 28 weeks showed a reversion of all the observed aging effects on papillary muscle.

Conclusion: The present study supports the concept that long-term exercise training restrains the aging-related deleterious changes in the papillary muscle. (Arq Bras Cardiol 2009;92(5):356-360)

Key words: Exercise; papillary muscles; aging; rats

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Laura Beatriz Mesiano Maifirino •
Rua Pirandello, 770 casa 08 - Brooklin Paulista - 04.623-000, São Paulo, SP - Brasil.
E-mail: lmaifirino@uol.com.br
Artigo recebido em 02/04/08; revisado recebido em 13/05/08; aceito em 15/05/08.

Introdução

Os músculos papilares são parte integral dos ventrículos e têm um papel importante na sua geometria e função sistólica¹⁻⁴. Estudos anteriores sobre variações nas características dos músculos papilares com a idade^{1-3,5} mostraram que a densidade dos miócitos, tecido conectivo e capilares, e a área transversal dos miócitos bem como as características físicas e bioquímicas do músculo papilar dependem da idade⁶⁻¹³. Os efeitos mais evidentes relacionados à idade no músculo papilar são a perda de células musculares e um aumento do tecido conectivo^{9,10}.

Por outro lado, foi demonstrado que o exercício aeróbico altera algumas das mudanças relacionadas à idade na parede do miocárdio ventricular esquerdo de ratos¹⁴⁻¹⁷. Entretanto, não há dados disponíveis sobre o efeito do exercício habitual nas mudanças do músculo papilar causadas pela idade. Dessa forma, no presente estudo, investigamos os efeitos do envelhecimento na morfologia e densidade dos miócitos, capilares e tecido conjuntivo e a área transversal dos miócitos do músculo papilar do ventrículo esquerdo (VE) e analisamos a hipótese de que um programa de exercícios moderados de longo prazo poderia ter um efeito protetor contra os efeitos deletérios do envelhecimento.

Material e métodos

Animais e procedimentos

Quinze ratos machos Wistar de 6 meses de idade, pesando aproximadamente 420 g cada, foram mantidos em grupos de 5, em uma sala com luz e temperatura controladas, com ração *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos: jovem controle (JC), exercício (E) e não-treinado (N). O grupo E correu em uma esteira ergométrica cinco dias por semana. O programa foi progressivamente aumentando em intensidade até a 4ª semana, quando os ratos passaram a correr 1 hora diária a 1,8 km.h⁻¹. Esse nível foi mantido durante o restante do período experimental. O período de treinamento total foi de 28 semanas.

O tipo de exercício usado nesse experimento pode ser considerado como exercício moderado. Os ratos do grupo N foram colocados sobre a esteira ergométrica parada por 10 minutos, diariamente, para que o manuseio dos animais fosse equivalente. O manuseio dos animais foi aprovado pelo Comitê de Ética de nossa Universidade, de acordo com o "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D. C., 1996) e os Princípios Éticos em Experimentos Animais do Colégio Brasileiro de Experimentos Animais (COBEA).

Preparação das amostras de tecido

Ao término do experimento, os animais dos grupos N e E aos 13 meses de idade (considerados de meia-idade^{4,18}) foram anestesiados com pentobarbital sódico (3 mg/100 g peso corporal, via intraperitoneal) e então sacrificados. O grupo adicional de 5 animais (grupo jovem controle, JC) foi sacrificado aos 6 meses de idade. Os corações foram parados

na diástole. A perfusão do miocárdio foi realizada através da aorta a uma pressão constante de 80 mmHg, usando 0,1 M de tampão cacodilato (3 minutos) seguido de solução de glutaraldeído 2,5 % diluída em tampão cacodilato.

Os animais foram heparinizados antes da fixação para otimizar a perfusão-fixação. O coração foi então removido, o VE foi aberto e o músculo papilar foi dissecado. Cada músculo papilar foi cortado em fatias de aproximadamente 3 mm de largura e 5 mm de comprimento. Essas fatias de tecido foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio em tampão cacodilato de sódio por 1 hora. O tecido foi desidratado em graduações de álcool e embebido em resina Epon e seccionado, de forma que as células musculares de metade dos blocos foram cortadas transversalmente e a outra metade, longitudinalmente. Cortes finos para estudo através de microscopia eletrônica de transmissão foram corados com acetato de uranila¹⁹ e citrato de chumbo²⁰. As seções longitudinais foram usadas para avaliar o estado de fixação do miocárdio através da medida de comprimento do sarcômero nos 3 grupos.

Estereologia

Dois blocos, escolhidos ao acaso, de cada músculo papilar no qual os miócitos foram cortados em transversal foram usados na análise quantitativa. As seções ultrafinas foram colocadas sobre um grelha de cobre e 10 campos por bloco, escolhidos ao acaso, foram selecionados para as micrografias, tiradas com um microscópio eletrônico de transmissão Jeol. Micrografias eletrônicas de baixa potência (x600) foram utilizadas para a análise quantitativa da composição do tecido do músculo papilar do VE. Cada uma das micrografias eletrônicas foi analisada usando um software processador de imagens digitais para a área biomédica (Axio Vision, Zeiss). Um total de 300 micrografias eletrônicas aleatórias foram analisadas. Um sistema-teste com 72 pontos de amostra foi colocado na tela do monitor e calibrado.

O miocárdio foi analisado considerando os miócitos (mi) e o interstício cardíaco (tecido conectivo [tc]). A densidade de volume foi estimada para miócitos (Vv[mi]), e tecido conectivo (Vv[tc]): $V_v[\text{estrutura}] = P_p[\text{estrutura}]/P_T$ (P_p é o número de pontos que incidem sobre a estrutura; P_T is o número total de pontos-teste). A densidade de comprimento também foi estimada para os capilares miocárdicos, $C_v[\text{ca}] = 2Q_A \text{ mm/mm}^3$, e Q_A também foi estimada para os miócitos (Q_A [mi]). Q_A é a densidade numérica por área de unidade. A densidade numérica dos perfis celulares ou capilares em uma dada área foi estimada através da seguinte fórmula: $Q_A = \sum \text{perfis/dada área}$.

A área transversal média dos miócitos (Área[mi]) também foi determinada em cada animal e para cada grupo. Os resultados são apresentados como médias \pm EPM computadas a partir das médias de medidas obtidas de cada animal.

Análise estatística

A significância estatística foi avaliada através de ANOVA e teste de Bonferroni, e os valores de P menores que 0,05 foram considerados significantes.

Resultados

Efeitos do exercício

A Figura 1 mostra a aparência ultramicroscópica de seções transversais do músculo papilar do VE no presente grupo de ratos. A análise através de microscopia eletrônica de seções ultrafinas revelou a presença de áreas focais esparsas de fibrose intersticial e de substituição através do miocárdio do músculo papilar do grupo N de ratos aos 13 meses de idade (Fig. 1C, D), comparados com os ratos JC (Fig. 1A, B). Nos ratos do grupo E, o programa de corrida contínua na esteira ergométrica, utilizado nesse estudo, reduziu a fibrose intersticial no músculo papilar treinado envelhecido (Fig. 1E, F). O comprimento do sarcômero de todas as seções de tecido era de comprimento similar (aproximadamente 2.1 μm) (Fig. 2), portanto, eles puderam ser comparados. De outra forma, eles não poderiam ser comparados, por que diferentes comprimentos de sarcômero afetarão os

diâmetros celulares e, conseqüentemente, os volumes celulares e a densidade de volume.

As características gerais dos três grupos de ratos e seus VE são mostradas na Tabela 1. O peso corporal dos grupos E e N no início do treinamento (aos 6 meses de idade) foi 421 ± 8 g e 427 ± 9 g, respectivamente (NS). Ao término do programa de corrida, o peso corporal dos ratos idosos do grupo E (então com 13 meses de idade) era significativamente mais baixo (461 ± 10 g) que o dos ratos idosos (também com 13 meses de idade) do grupo N (509 ± 11 g) ($P < 0,05$). O peso do VE aumentou 19,5% no grupo E ($P < 0,05$). A relação peso do VE/peso corporal foi significativamente maior ($P < 0,05$) nos animais idosos do grupo E, quando comparados ao grupo N.

As mudanças quantitativas no miocárdio do músculo papilar causadas pelo envelhecimento e os efeitos do exercício são mostrados na Tabela 2. A densidade de volume dos miócitos no miocárdio envelhecido do grupo N foi 11% mais baixa do que a densidade medida no grupo JC ($P < 0,05$). Como mostrado na Tabela 2, as alterações em direção oposta àquelas vistas no compartimento miócito ocorreram na fração do volume intersticial do tecido. Esse constituinte quantitativo era mais alto no miocárdio envelhecido do grupo N, quando comparado com o grupo JC ($P < 0,05$). A densidade de comprimento dos capilares miocárdicos era levemente menor nos ratos idosos do grupo N quando comparados ao grupo JC (NS). A contagem dos

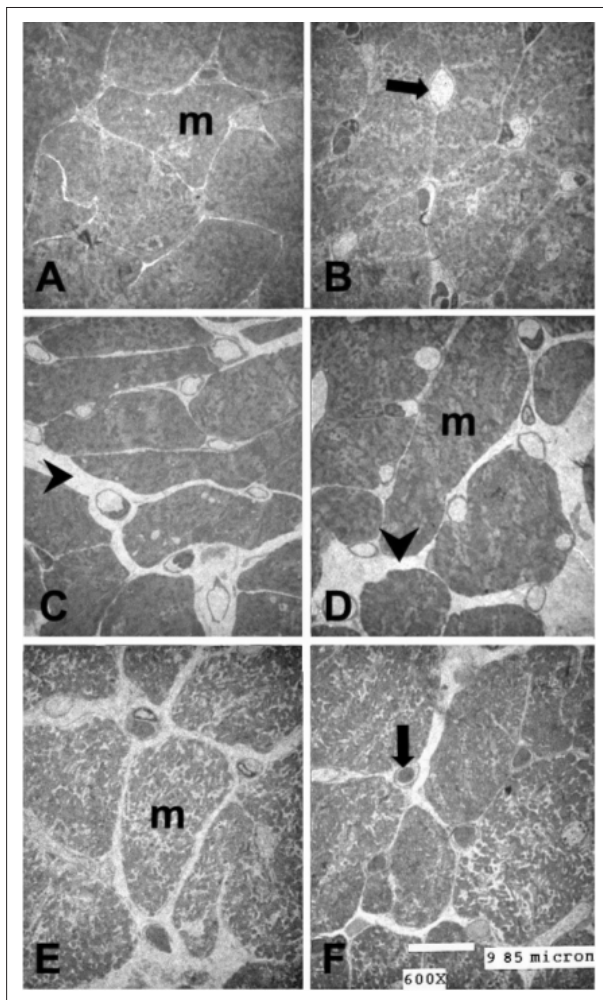


Fig. 1 - Cortes ultrafinos de blocos de tecido de músculo papilar embebidos em Epon, de ratos dos grupos JC (painéis A e B), N (painéis C e D) e E (painéis E e F). Observe a fibrose intersticial e de substituição (setas) no grupo N (painéis C e D), não observada nos outros grupos (grupo JC, painéis A e B e grupo E, painéis E e F). Setas - capilares; m - miócitos. Perfis dos capilares são facilmente delineados e os limites celulares musculares podem ser diferenciados com segurança. Barra - 9.85 μm .

Tabela 1 – Peso corporal e do coração em três grupos de ratos estudados

Parâmetro/Grupos	JC	N	E
n	5	5	5
Idade, meses	6	13	13
Peso corpo, inicial, g	421 ± 9	427 ± 9	421 ± 8
Peso corpo, terminal, g	-	509 ± 11	461 ± 10^a
VE, g	$0,912 \pm 8$	$0,920 \pm 32$	$1,100 \pm 46^b$
Peso VE / peso corpo, $\times 10^{-3}$	$2,1 \pm 0,05$	$1,8 \pm 0,07$	$2,3 \pm 0,15^a$

Grupos: JC - jovem controle; N - não-treinado; E - Exercício; Valores são mostrados em médias \pm EPM; n - número de ratos; VE - ventrículo esquerdo; ^a $P < 0,05$ vs. U; ^b $P < 0,05$ vs. JC e N.

Tabela 2 – Parâmetros estereológicos (Média \pm EPM)

Parâmetro/Grupos	JC	N	E
Vv[mi] (%)	83 ± 4^a	74 ± 5	80 ± 6^a
Vv[tc] (%)	8 ± 4^a	14 ± 5	12 ± 1^a
Cv[ca] (10^3 mm/mm ³)	17 ± 9	16 ± 8	20 ± 2^b
QA[mi] /mm ²	5 ± 1^a	4 ± 1	5 ± 1^a
Área [mi] (μm^2)	180 ± 74^a	270 ± 83	210 ± 60^c

Grupos: JC - jovem controle; N - não-treinado; E - Exercício; VV - Densidade de Volume; Cv - densidade de comprimento; QA - densidade numérica por área de unidade; mi - miócitos; tc - tecido conectivo; Ca - capilares. ^a $P < 0,05$ vs. N, ^b vs. JC e N e ^c VS. JC.

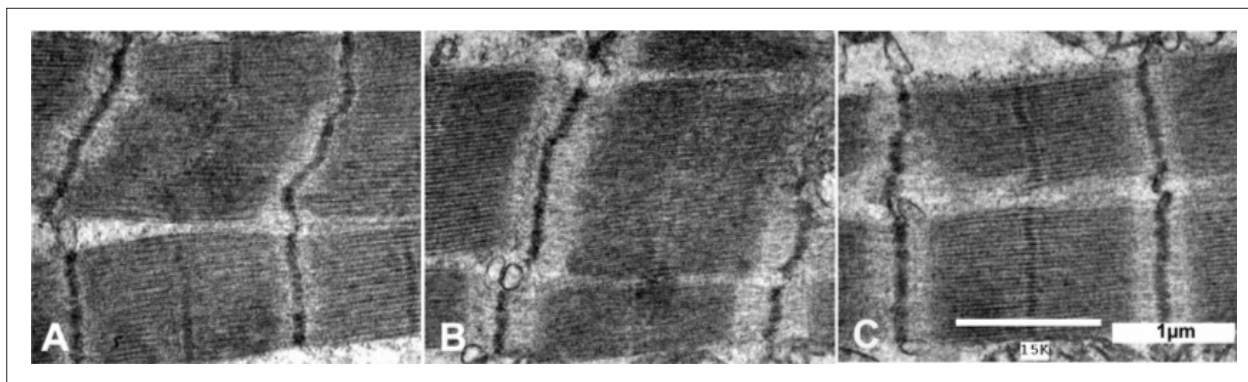


Fig. 2 - Cortes ultrafinos de blocos de tecido de músculo papilar embebidos em Epon, de ratos dos grupos JC (painéis A), N (painéis B) e E (painéis C). Observe que as fibras musculares mostram sarcômeros com aproximadamente o mesmo comprimento nos três grupos. Barra - 1 µm.

perfis de miócitos por milímetro quadrado mostrou que uma redução de 20% no número de miócitos ocorreu no grupo N com o envelhecimento ($P < 0,05$). Os ratos idosos do grupo N mostraram hipertrofia dos miócitos, com um aumento de 50% da área [mi] nos animais idosos do grupo N, quando comparados com aqueles do grupo JC ($P < 0,05$). Entretanto, essas mudanças relacionadas à idade não foram encontradas em ratos idosos condicionados pelo treinamento físico crônico (Tabela 2).

O exercício físico aumentou significativamente o $Vv[mi]$ nos ratos idosos e também foi eficiente na diminuição da fibrose miocárdica: $Vv[tc]$ foi mais de 25% mais baixo nos animais submetidos ao treinamento físico (Tabela 2). Entretanto, ele manteve o aumento da Área[mi] produzido pelo envelhecimento. Não houve diferença entre os grupos N e E em relação à Área[mi]. O exercício físico aparentemente também melhorou a vascularização miocárdica no grupo de animais E: o $C_v[ca]$ foi maior nos ratos idosos do grupo E do que nos ratos do grupo N ($P < 0,05$).

Discussão

O delineamento das mudanças na estrutura e função do coração e dos fatores que podem contribuir para reverter essas mudanças que ocorrem com o envelhecimento se torna cada vez mais importante, considerando-se que mais de 50% da mortalidade e a maioria das hospitalizações de indivíduos idosos resultam de doenças cardiovasculares²¹. Portanto, esta é a importância do isolamento e identificação dos efeitos do envelhecimento, isoladamente, daqueles relacionados à alterações patológicas.

Há uma crença geral de que, à medida que o coração envelhece, ele sofre certo grau de hipertrofia^{9,17,21}. Entretanto, baseado nos resultados correntes, o peso do VE não aumentou consistentemente com a idade, um padrão também observado por outros autores^{7,22,23} e nos resultados presentes.

No presente estudo, observou-se que o envelhecimento foi acompanhado de alterações morfoquantitativas no músculo papilar do ventrículo esquerdo (VE), a maioria das quais foi atenuada pelo exercício físico. Os resultados quantitativos demonstram que uma perda significativa de miócitos ocorreu

com o envelhecimento no músculo papilar do VE nos ratos do grupo N. Nesse grupo, tornou-se aparente que uma redução de 20% na densidade numérica dos miócitos foi observada. Esses resultados são similares aos achados obtidos por outros autores, que demonstraram uma redução no número total de miócitos nos ventrículos de ratos de 4 para 12 meses⁷ e de 4 para 15 meses⁹. De acordo com Anversa e cols.²⁴, um fenômeno comparável também ocorre no coração humano^{12,25,26}. É possível que a hipertrofia dos miócitos que ocorreu no coração idoso tenha sido capaz de compensar a perda dessas células musculares.

Os resultados do presente trabalho confirmam achados prévios mostrando que a diminuição no número de miócitos com a idade está associada com um aumento do tecido intersticial^{9,10}. O acúmulo de colágeno como uma função da idade também foi observado no coração humano^{11,12}. O mecanismo responsável pela perda dos miócitos com áreas de fibrose intersticial e de substituição no miocárdio é atualmente desconhecido⁷. A isquemia é uma provável possibilidade^{7,26}. Entretanto, no presente estudo, a contagem dos perfis capilares não mostrou uma densidade numérica diminuída nos ratos idosos do grupo N. Sob isquemia, o tecido miocárdico responde através de remodelagem²⁷, perda de miócito devido a apoptose e necrose²⁸⁻³¹, e fibrose reparadora^{32,33}. De acordo com outros autores³⁴ a perda de miócitos é provavelmente resultante principalmente da apoptose – morte celular geneticamente programada. É possível que essas alterações relacionadas à idade no músculo papilar sejam responsáveis pela deficiência de rigidez no músculo papilar e complacência do VE em idade avançada³⁵.

Alterações na área transversal de miócitos¹⁷ foram usadas anteriormente para caracterizar hipertrofia induzida pelo envelhecimento ao nível de organização celular. Entretanto, Anversa e cols.⁷ demonstrou que a hiperplasia celular dos miócitos também participa da resposta hipertrófica do miocárdio durante a senescência⁷.

É esperado que a perda contínua de miócitos nos ventrículos gere uma carga maior nos miócitos remanescentes, que pode funcionar como um estímulo mecânico crônico para o crescimento celular^{7,11,12,24,36}.

O exercício aeróbico durante a fase de envelhecimento

melhorou a vascularização miocárdica e normalizou a fibrose miocárdica. É esperado que a maior concentração de perfis capilares produza uma elevação na superfície luminal do endotélio acessível para troca de oxigênio no tecido e uma menor distância máxima de difusão para o transporte de oxigênio para os miócitos⁷.

Conclusão

Em conclusão, o presente estudo fornece informações morfoquantitativas, demonstrando que a prática diária de exercícios físicos moderados durante a fase de envelhecimento impede algumas alterações deletérias relacionadas à idade no músculo papilar, tais como a perda de miócitos, aumento no tecido intersticial, e uma diminuição da densidade numérica dos perfis capilares.

Referências

1. Gwathmey JK, Slawsky CL, Perrault G, Briggs M, Morgan JP, Wei JY. Effect of exercise conditioning on excitation-contraction coupling in aged rats. *J Appl Physiol*. 1990; 69 (4): 1366-71.
2. Thomas DP, McCormick RJ, Zimmerman SD, Vadlamudi RK, Gosselin LE. Aging- and training-induced alterations in collagen characteristics of rat left ventricle and papillary muscle. *J Appl Physiol*. 1992; 263 (3 Pt 2): H778-83.
3. Taffet GE, Michael LA, Tate CA. Exercise training improves lusitropy by isoproterenol in papillary muscles from aged rats. *J Appl Physiol*. 1996; 81 (4): 1488-94.
4. Berdajs D, Lajos P, Turina MI. A new classification of the mitral papillary muscle. *Med Sci Monit*. 2005; 11 (1): BR18-21.
5. Li XX, Lincoln T, Mendelowitz WG, Grossman W, Wei JY. Age-related differences in effect of exercise training on cardiac muscle function in rats. *Am J Physiol*. 1986; 251: H12-H18.
6. Klausner SC, Schwartz AB. The aging heart. *Clin Geriatr Med*. 1985 1(1): 119-41.
7. Anversa P, Sonnenblick EH. Ischemic cardiomyopathy: pathophysiological mechanisms. *Prog Cardiovasc Dis*. 1990; 33 (1): 49-70.
8. Cafagna D, Ponte E. Morphological and functional aspects of the cardiovascular system related to aging: does "aging heart" exist? *Minerva Med*. 1997; 88 (12): 491-500.
9. Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA, Apfel MI. Stereology of the myocardium in young and aged rats. *Arq Bras Cardiol*. 1998; 70 (2): 105-9.
10. Roffe C. Ageing of the heart. *B J Biomed Sci*. 1998; 55 (2): 136-48.
11. Debessa CRC, Maifrino LBM, De Souza RR. Age related changes of the collagen network of the human heart. *Mech Ageing Dev*. 2001; 122 (10): 1049-58.
12. De Souza RR. Aging of myocardial collagen. *Biogerontol*. 2002; 3: 325-35.
13. Lakatta EG. Age-associated cardiovascular changes in health: impact on cardiovascular disease in older persons. *Heart Fail Rev*. 2002; 7 (1): 29-49.
14. Douglas PS, O'Toole M. Aging and physical activity determine cardiac structure and function in the older athlete. *J Appl Physiol*. 1992; 72 (5): 1969-73.
15. Gates PE, Tanaka H, Graves J, Seals DR. Left ventricular structure and diastolic function with human ageing: relation to habitual exercise and arterial stiffness. *Eur Heart J*. 2003; 24 (24): 2213-20.
16. Maifrino LBM, Liberti EA, Castelucci P, De Souza RR. NADPH- diaphorase

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Mestrado de Laura Beatriz Mesiano Maifrino; Rubens Correa Araújo; Cristiane Castro Faccini, Edson Aparecido Liberti, Eliane Florêncio Gama; Antonio Augusto Coppi Maciel Ribeiro e Romeu Rodrigues de Souza pela Universidade de São Judas Tadeu, Universidade de São Paulo e Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

- positive cardiac neurons in the atria of mice: a morphoquantitative study. *BMC Neurosci*. 2006; 2: 7-10.
17. Rosa EF, Silva AC, Ihara SSM, Mora OA, Aboulafia J, Nouailhetas VLA. Habitual exercise program protects murine intestinal, skeletal and cardiac muscles against aging. *J Appl Physiol*. 2005; 99: 1569-75.
18. Gerrity RG, Cliff WJ. The aortic tunica intima in young and aging rats. *Exp Mol Path*. 1972; 16 (3): 382-402.
19. Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Bioph and Biochem Cytol*. 1958; 4 (4): 475-8.
20. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*. 1963; 17: 208-12.
21. Lakatta EG, Yin FC. Myocardial aging: functional alterations and related cellular mechanisms. *Am J Physiol*. 1982; 242 (6): H927-41.
22. Capasso JM, Malhotra A, Remily RM, Scheuer J, Sonnenblick EH. Effects of age on mechanical and electrical performance of rat myocardium. *Am J Physiol*. 1983; 245 (1): H72-81.
23. Capasso JM, Malhotra A, Scheuer J, Sonnenblick EH. Myocardial biochemical, contractile, and electrical performance after imposition of hypertension in young and old rats. *Circ Res*. 1986; 58 (4): 445-60.
24. Anversa P, Hiler B, Ricci R, Guideri G, Olivetti G. Myocyte cell loss and myocyte hypertrophy in the aging rat heart. *J Am Coll Cardiol*. 1996; 8 (6): 1441-8.
25. Unverferth DV, Baker PB, Arn AR, Magorien RD, Fetters J, Leier CV. Aging of the human myocardium: a histologic study based upon endomyocardial biopsy. *Gerontol*. 1986; 32 (5): 241-51.
26. Anversa P, Leri A, Li B, Liu Y, Di Somma S, Kajstura J. Ischemic cardiomyopathy and the cellular renin-angiotensin system. *J Heart Lung Transp*. 2000; 19 (8 Suppl): S1-11.
27. Anversa P, Zhang X, Li P, Olivetti G, Cheng W, Reiss K, et al. Ventricular remodeling in global ischemia. *Cardioscience*. 1995; 6 (2): 89-100.
28. Anversa P, Cheng W, Liu Y, Leri A, Redaelli G, Kajstura J. Apoptosis and myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*. 1998; 93 (Suppl. 3): 8-12.
29. Díez J, Fortuño MA, Ravassa S. Apoptosis in hypertensive heart disease. *Curr Opin Cardiol*. 1998; 13 (5): 317-25.
30. Mandarim-de-Lacerda CA, Pereira LMM. Numerical density of cardiomyocytes in chronic nitric oxide synthesis inhibition. *Pathobiol*. 2000; 68: 36-42.
31. Mani K, Kitsis RN. Myocyte apoptosis: programming ventricular remodeling.

Artigo Original

-
- J Am Coll Cardiol. 2003; 41(5): 761-4.
32. Weber KT, Brilla CG, Campbell SE, Reddy HK. Myocardial fibrosis and the concepts of cardioprotection and cardioreparation. *J Hypertens Suppl.* 1992; 10 (5): S87-94.
33. Weber KT, Brilla CG, Janicki JS. Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res.* 1993; 27 (3): 341-8.
34. Brömme HJ, Holtz J. Apoptosis in the heart: when and why? *Mol Cell Biochem.* 1996; 163-164: 261-75.
35. Rozenberg S, Tavernier B, Riou B, Swynghedauw B, Page CL, Boucher F, et al. Severe impairment of ventricular compliance accounts for advanced age-associated hemodynamic dysfunction in rats. *Exp Gerontol.* 2006; 41 (3): 289-95.
36. Yin FC, Spurgeon HA, Rakusan K, Weisfeldt ML, Lakatta EG. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. *Am J Physiol.* 1982; 243 (6): H941-7.