

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU
PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM
EDUCAÇÃO FÍSICA

Roberto Ferraboli

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO (NATAÇÃO) NOS
GRÂNULOS ATRIAIS DOS CARDIOMIÓCITOS DE
CAMUNDONGOS COM DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA.
ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA.

SÃO PAULO

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU
PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM
EDUCAÇÃO FÍSICA

Roberto Ferraboli

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO (NATAÇÃO) NOS
GRÂNULOS ATRIAIS DOS CARDIOMIÓCITOS DE
CAMUNDONGOS COM DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA.
ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA.

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Educação Física da Universidade São Judas Tadeu como requisito à obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Área de Concentração: Bases Biodinâmicas da Atividade Física.

Orientadora: Profa. Dra. Laura Beatriz Mesiano Maifrino

SÃO PAULO

2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Ferraboli, Roberto

Efeitos do exercício físico (natação) nos grânulos atriais dos cardiomiócitos de camundongos com doenças de chagas crônica : Análise morfoquantitativa Roberto Ferraboli. - São Paulo, 2009.

67 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Laura Beatriz Mesiano Maifrino

Dissertação (mestrado) – Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2009.

1. Doença de Chagas crônica 2. Exercícios físicos 3. grânulos atriais 4. morfometria
I. Maifrino, Laura Beatriz Mesiano II. Universidade São Judas Tadeu, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física. III. Título

Ficha catalográfica: *Elizangela L. de Almeida Ribeiro - CRB 8/6878*

DEDICATÓRIAS

À minha esposa Maria Pinheiro Lucena Ferraboli, um exemplo de companheirismo, carinho, amizade, compreensão, amor e incentivo demonstrados nos últimos 50 anos que nos une, motivo que me fez superar todas as dificuldades, desde coveiro analfabeto, até professor universitário.

Aos meus filhos, Professor Dr. Roberto Ferraboli Jr. e Dra. Rosiani Ferraboli, que tanto orgulho nos proporciona.

Às minhas netinhas Amira, Amanda e Julia, que nos proporciona alegria de viver.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Laura Beatriz Mesiano Maifrino pela atenção, dedicação, humildade, paciência, incentivo, orientação, amizade e respeito sempre generosa e pronta para sugerir modificações e incentivar este trabalho.

À Mantenedora da Universidade São Judas Tadeu, pela bolsa concedida, razão que me proporcionou este estudo.

Ao Professor Mario Natal por ter me concedido oportunidade de ingressar nesta maravilhosa profissão docente.

Ao Professor José Ribeiro Filho, e demais Diretores do Colégio São Judas Tadeu pela oportunidade de aperfeiçoar minha carreira Docente.

A Elizabete de Marco Ornelas pelo incentivo, amizade e colaboração na construção deste trabalho.

Ao Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia pela concessão das amostragens dos animais e cepa do protozoário *Trypanosoma cruzi*, usados neste trabalho.

À aprimorada do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Valeska que com competência e paciência cuidou dos animais durante o período de incubação.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação pela gentileza e disposição.

Ao Técnico de Biologia Dimas pelo trabalho de digitação e formatação do trabalho.

Aos Técnicos dos Laboratórios de Biologia, Farmácia, Informática e Nutrição pela colaboração constante e precisa.

Aos colegas Professores da Universidade São Judas Tadeu pelo incentivo.

A todos os meus Alunos destes últimos 30 anos, pela convivência e troca de conhecimento que me proporcionaram.

E a todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, toda a minha gratidão.

EPÍGRAFES

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”.

LEONARDO DA VINCI

“Ele supõe alguma coisa e não sabe, enquanto eu, se não sei, tampouco suponho saber. Parece que sou um pouco mais sábio que ele, exatamente por não supor que saiba o que não sei”.

SÓCRATES

"Quanto à trypanozomíase americana, nada custará erradicá-la das zonas extensas onde é endêmica, uma vez que tudo aí depende da providência elementar de melhorar a residência humana, e não mais consentir que o nosso camponês tenha como abrigo a caçua primitiva, infestada pelo inseto que lhe suga o sangue e lhe injeta o parasita; caçua, às vezes, imprestável como habitação de suínos e, de todo incompatível com a civilização de um povo".

CARLOS CHAGAS, 1934.

RESUMO

A doença de Chagas é causada por um protozoário que infecta várias espécies de mamíferos, incluindo humanos de qualquer idade. Na maioria dos indivíduos infectados, se manifesta inicialmente pela disseminação do parasita no sangue e tecidos com formas clínicas diversas, desde assintomática até miocardite aguda com destruição de células cardíacas, inclusive miócitos podendo causar óbito. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do exercício físico (natação) nos grânulos atriais e componentes dos cardiomiócitos de camundongos com doença de Chagas crônica. Foram selecionados 20 camundongos machos, divididos em quatro grupos de cinco animais: Grupo controle sedentário (CS); Grupo controle nadador (CN); Grupo chagásico sem exercício (CHS) e Grupo chagásico nadador (CHN). Nos grupos CHS e CHN, foram inoculadas 1000 formas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) por via intraperitoneal e após 40 dias da infecção, comprovada a fase crônica, iniciou-se o protocolo de exercícios. Os grupos CS e CHS realizaram o exercício durante 10 min/dia e os grupos CN e CHN seguiram o protocolo de treinamento 5 vezes por semana, durante 30 min por 9 semanas. Os animais foram eutanasiados e o átrio direito retirado. Foram feitos cortes ultrafinos submetidos às análises morfométrica e estereológica, utilizando eletronfotomicrografias, obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. Os dados foram submetidos a estatística através do método ANOVA (dois caminhos) e teste *post hoc* de Tukey ($p < 0,05$). Os resultados mostraram que houve aumento na relação peso corpóreo final/peso do coração no grupo CS. Ao analisarmos a densidade numérica de grânulos atriais, observamos que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos estudados. Verificamos que o grupo CHN apresentou a menor porcentagem de

grânulos pequenos (58%), enquanto que o grupo CHS apresentou a maior porcentagem destes (80%). Verificamos que a densidade de volume das seguintes organelas: complexo de Golgi, grânulos atriais, miofibrilas e mitocôndrias, se apresentaram diferentemente nos cardiomiócitos dos grupos estudados. Concluimos que o exercício físico moderado apresentou efeitos benéficos no grupo chagásico nadador.

Palavras chaves: doença de Chagas crônica, exercícios, grânulos atriais, morfometria, estereologia, ultraestrutura.

ABSTRACT

Chagas' disease is caused by a protozoan that parasites many mammals species, including humans at any age. The majority of infected individuals initially present dissemination of the parasite in the blood and tissues, with diverse clinical forms, since asymptomatic until acute myocarditis with cardiac cells destruction including myocytes, what may cause death. The aim of this study was to study the effects of physical exercise (swimming) in the atrial granules and cardiomyocytes of mice with chronic Chagas' disease. There were chose 20 male mice, divided into four groups of five animals each: SDCT group: sedentary control; SWCT group: swimming control; SDCH group: sedentary with Chagas' disease and SWCH groups: swimming with Chagas' disease. The SDCH and SWCH groups were inoculated with 1000 forms of *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) intraperitoneal and 40 days after the infection, with the chronic phase proved, the physical exercise protocol was started. The SDCT and SDCH groups were submitted to 10 swimming minutes/day and the SWCT and SWCH groups followed the training protocol 5 times/week X 30 minutes/day X during 9 weeks. The euthanasia was done in the animals and the right atrium was removed. There were made ultra-slight cuts that were submitted to morphometric and stereological analysis, using electron-micrography obtained with electronic microscopy. The data were submitted to statistical analyze ANOVA (two-way) and pos hoc Tukey test ($p < 0, 05$). The results showed increase in the index corporal weight/heart weight in the SDCT group. In analyzing the atrial granules numeric density, we observe that there were no statistical difference ($p > 0.05$) between the studied groups. We verified that the SWCH group showed the decrease percentage of small granules (58%) while the SDCH group showed the increraise

percentage (80%). We concluded that moderate physical exercise shows positive effects in the group with Chagas' disease that used to swim.

Key words: Chronic Chagas' disease, physical exercise, atrial granules, morphometry, stereology, ultra-structure.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Doença de Chagas	2
1.2. Coração	6
1.3. Peptídeo Natriurético Atrial (ANP).....	8
1.3.1. Produção de ANP.....	8
1.3.2. Mecanismo de Liberação do ANP.....	10
1.3.3. Locais de Ação do ANP.....	11
1.3.4. Exercício Físico e ANP.....	12
1.3.5. Doença de Chagas e ANP.....	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. MÉTODOS	18
3.1. Animais.....	18
3.2. Protocolo Experimental.....	18
3.2.1. Inoculação de <i>Trypanosoma cruzi</i>	18
3.2.2. Protocolo de atividade física.....	19
3.2.2.1 Processo de adaptação dos animais.....	19
3.2.2.2 Protocolo de natação.....	19
3.2.3. Eutanásia dos animais	20

3.2.4. Microscopia de Luz.....	20
3.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão para Visualização dos Grânulos....	21
3.3. Análises Morfométrica e Estereológica.....	23
3.3.1. Medida da área de perfis (transsecção) dos grânulos atriais	23
3.3.2. Densidade numérica dos grânulos (número por área).....	23
3.3.3. Densidade de volume dos grânulos atriais [Vv (g)] e organelas citoplasmáticas [Vv (c)] dos cardiomiócitos auriculares.....	24
3.4 Análise Estatística.....	25
4. RESULTADOS.....	27
4.1. Análise da Presença de Miocardite Através da Microscopia de Luz.....	27
4.2. Peso Corpóreo e do Coração dos Grupos dos Animais Estudados.....	28
4.3. Análise Morfológica Ultraestrutural do Miocárdio Atrial.....	29
4.3.1. Grupo controle sedentário (CS).....	29
4.3.2. Grupo controle nadador (CN).....	32
4.3.3. Grupo chagásico sedentário (CHS).....	34
4.3.4. Grupo chagásico nadador (CHN).....	36
4.4. Análise morfométrica e estereológica.....	40
4.4.1 Densidade de transsecções dos grânulos atriais.....	40
4.4.2 Área dos grânulos atriais.....	41
4.4.3 Densidade das organelas e interstício do cardiomiócito atrial por área..	42
4.4.3.1 Aparelho de Golgi	43
4.4.3.2 Grânulos.....	43
4.4.3.3 Interstício.....	44
4.4.3.4 Miofibrilas.....	45

4.4.3.5 Mitocôndrias.....	46
4.4.3.6 Núcleo.....	47
5. DISCUSSÃO.....	51
6. CONCLUSÃO.....	58
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS

15 K = 15.000 vezes de aumento

3K = 3.000 vezes de aumento

7K = 7.000 vezes de aumento

ADH = Sistema Vasopressina

ANP = Peptídeo Natriurético do topo A

BNP = Peptídeo Natriurético do Tipo B

C = Colágeno

CCC = Cardiopatia Chagásica Crônica

CHN = Chagásico Nadador

CHS = Chagásico Sedentário

CN = Controle Nadador

CNP = Peptídeo Natriurético do tipo C

COEP = Comissão de Ética e Pesquisa

CS = Controle Sedentário

D = Direito

I = Interstício

IC = Insuficiência Cardíaca

ICB = Instituto de Ciências Biomédicas

ICC = Insuficiência Cardíaca Congestiva

mio = Miofilamento

MET = Microscopia Eletrônica de Transmissão

MI / M = Mitocôndria

N = Núcleo

NaCl = Cloreto de Sódio

Nm = nanômetro

NSA = Nódulo Sino Atrial

OPS = Organização Panamericana de Saúde

PBS = Solução salina Tamponada e Fosfatada

pH = potencia Hidrogeniônico

SNC = Sistema Nervoso Central

S-RAA = Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

USA = Estados Unidos da América

USP = Universidade de São Paulo

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas, infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, foi descoberta, estudada e descrita pela primeira vez pelo médico Dr. Carlos Justiniano das Chagas no ano de 1909, quando realizava investigação epidemiológica de Malária em Minas Gerais (CHAGAS, 1909). Atualmente, com um século desta importante descoberta e sua primeira descrição original, esta enfermidade parasitária ainda continua representando um triste impacto sobre milhões de americanos.

Na América Central e do Sul, muitos indivíduos de ambos os sexos na idade infantil, adolescência e adulta ficam doentes, perdem sua capacidade produtiva e milhões são gastos com assistência médico-social com estes doentes (CUBILLOS-GARZON, et al., 2004).

Apesar de alguns países Sul Americanos como o Uruguai, Argentina, Brasil e Chile terem conseguido controlar os vetores transmissores nas últimas décadas, ainda em outros países podemos observar todas as fases epidemiológicas causadas pela doença de Chagas (OPS, 2006).

Estima-se que atualmente existem na América Latina, cerca de 10 a 12 milhões de indivíduos contaminados, ocasionando cardiopatia em 25% a 30% dos acometidos e comprometimento psicossocial em todos os que têm esse diagnóstico. (OPS, 2006). Estatisticamente comprova-se a incidência de 200 mil casos novos por ano, e 45 mil óbitos anuais pela doença de Chagas (ROCHA et al, 2003).

Em todas as regiões brasileiras, estima-se que haja em torno de quatro milhões de portadores de *Trypanosoma cruzi* (ROCHA et al., 2003). Dentre estes infectados cerca de 30% apresentam ou apresentarão formas de comprometimento clínico cardíaco. Aproximadamente 15% têm ou terão formas mais graves da doença com insuficiência ventricular esquerda que pode evoluir para mortalidade (BESTETTI, et al., 1994; MADY, et al., 1994; ROCHA et al., 2003).

Considera-se a doença de Chagas com caráter endêmico na América Latina, mas não deixa de ser um problema de saúde pública mundial, devido à migração das pessoas doentes para outros países como Europa, América do Norte e outros. Mais de 100 mil migrantes infectados pelo *T. cruzi*, podem apresentar potencial de risco de transmissão se consideramos a prática de doação de órgãos e transfusão sanguínea (MAGUIRE, 2006).

No seu ciclo evolutivo, a doença de Chagas apresenta duas fases de evolução clínica bem distinta; uma aguda seguida de outra crônica, que se distribui num tempo variável podendo ultrapassar os 30 anos de infecção, para manifestação clínica bem definida da fase crônica (DIAS, 1989). A fase aguda não tem sintomas bem precisos, podendo até ser assintomática, porém com intensa parasitemia e invasão de formas parasitárias em muitos tecidos, como coração, colons e esôfago, inclusive o sistema nervoso central (SNC). Após algumas semanas do início da infecção, a resposta imunológica do hospedeiro apresenta-se com intensa produção de anticorpos anti-*T.cruzi*, e observa-se uma queda brusca na parasitemia e parasitismo tissular, finalizando a fase aguda e surgindo os primeiros sintomas da fase crônica, às vezes difíceis de serem definidas clinicamente (DIAS, 1989). Nesta fase evolutiva o aspecto clínico das lesões se modifica apresentando baixa

quantidade de antígeno parasitário e intensa inflamação com degeneração e destruição de células e tecidos, inclusive células cardíacas e fibras musculares (HIGUCHI et al., 2003, ROCHA et al., 2003).

Na fase crônica ocorrem as formas clínicas indeterminada e a determinada. A forma indeterminada pode representar em torno de 70% dos casos, os quais são identificadas e diagnosticadas através de sorologia positiva para *T. cruzi*, com ausência de lesões cardíacas e gastrointestinais, comprovadas com exames cardiológicos, diagnóstico de imagem e dosagem plasmática do peptídeo natriurético atrial (ANP) e peptídeo natriurético do tipo B (BNP). A forma crônica determinada, ou típica caracteriza-se por sorologia positiva para *T. cruzi* e exames complementares cardíacos e gastrointestinais positivos com evidência de lesões típicas (ROCHA et al., 2003).

O aspecto de maior importância da doença de Chagas crônica é a Cardiopatia Chagásica Crônica (CCC). O elevado índice de mortalidade se configura de grande importância médica e social (ROCHA et al., 2003). Hipertensão do ventrículo esquerdo, alteração eletrocardiográfica, baixo débito cardíaco, complexidade na arritmia ventricular em repouso e no esforço físico são algumas das manifestações clínicas existentes (BESTETTI, et al., 1994; MADY, et al., 1994; ROCHA et al., 2003). Quanto mais intensa for a disfunção ventricular esquerda, mais importante se torna o prognóstico da insuficiência cardíaca crônica, do ponto de vista médico (BESTETTI, et al., 1994; MADY, et al., 1994). Apesar da Cardiopatia Chagásica Crônica (CCC) ser de grande importância médico-social, a mesma é pouco estudada e compreendida.

Durante a fase aguda a destruição de células pelo *T. cruzi* é notória, porém, na fase crônica não é característica, devido à desproporcionalidade entre o número de parasitas possíveis de serem demonstrados, em relação aos tecidos lesados. Esta desproporção levou muitos estudiosos a admitirem a resposta imunológica do hospedeiro como mecanismo importante na patogenia da Cardiopatia Chagásica: (GOIN et al., 1994; STERIN-BORDA et al., 1976). Outros fatores de natureza neuro-hormonais patogênicos e inflamatórios que conduzem a remodelagem do miocárdio foram descobertos, tais como a miofibrose (HIGUCHI et al., 2003), inclusive a lesão do endotélio dos vasos participantes, agregação das plaquetas, caracterizando a disfunção bi-ventricular, insuficiência cardíaca progressiva, distúrbios graves da condução atrioventricular e intraventricular, arritmia, fenômeno tromboembólico causando falência miocárdica (DIAS, 1989 *in* CANÇADO & CHUSTER, 1985; MADY, et al., 1994; MARIN-NETO, et al., 1999), resultando a isquemia do miocárdio (TORRES, et al., 1993). A insuficiência cardíaca (IC), de maneira geral, caracteriza-se por uma variedade de sintomas cardiovasculares por disfunção ventricular sistólica e diastólica, ou ainda por falência circulatória com evidência de fadiga ao exercício físico e retenção hídrica. Manifestam-se também situações fisiopatológicas, onde o coração não é capaz de manter a irrigação sanguínea adequada dos tecidos e órgãos distantes com competência para manter o metabolismo (COLUCCI & BRAZINWALD, 1997).

Os peptídeos natriuréticos são importantes marcadores de hipertrofia ventricular e insuficiência cardíaca congestiva (ICC) (MAACK, 2006), e possuem valor, tanto no diagnóstico, como no prognóstico das cardiopatias (RICHARDS, 2007). Os peptídeos natriuréticos, atrial (ANP) e ventricular (BNP), são hormônios vasodilatadores, hipotensores que agem na diurese, e são sintetizados a partir de

precursores, proANP e proBNP, que são armazenados em grânulos do tecido atrial e em miócitos ventriculares respectivamente.

Em condições patológicas como comprometimento da contração e relaxamento do miocárdio, pode ocorrer queda do débito sistólico e do oxigênio (O²), e aumento do volume dos ventrículos. Aparecem mecanismos de compensação como aumento da frequência cardíaca, vasoconstrição periférica, retenção de sódio e água e conseqüente, aumento da volemia. Os efeitos fisiológicos do ANP e BNP geralmente são opostos aos do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Todos estes sintomas clínicos decorrem de uma ação conjunta do sistema neuro-hormonal com mediação adrenérgica do sistema renina-angiotensina-aldosterona, endotelina, citocina, peptídeos natriurético atrial ANP e BNP, prostaglandina e outros hormônios (BRAUNWALD, 2001). Esta sintomatologia pode ser discreta para uns e acentuada para outros indivíduos (GHEORGHIADÉ & BONOW, 2001).

Quando comparadas à fisiopatologia da cardiopatia chagásica crônica com insuficiência cardíaca de outra etiologia (miocardiopatia idiopática ou isquêmica), parece não haver diferenças referentes aos aspectos hemodinâmicos inflamatórios e neuro-hormonais (BESTETTI, 1994; MUCCILLO, 1997; HIGUCHI, et al., 2003). Nestas condições, referindo-se a essas premissas, os resultados das grandes pesquisas clínicas envolvendo insuficiência cardíaca, pode ser extrapolada a todos os portadores de miocardiopatia, incluindo os de natureza chagásica (CANÇADO & CHUSTER, 1985).

1.2 Coração

O átrio direito apresenta um arranjo muscular constituído por feixes musculares, organizados e dispostos uniformemente, o que não se verifica na

aurícula, onde os feixes musculares estão dispostos e concentrados de formas multidirecionais. O conjunto átrio e aurícula formam um complexo saculiforme com paredes finas (PAGE & SHIBATA, 1981; WINEGRAD, 1984; BRADY, 1991). É notório o esforço físico átrio-auricular direito ao receber um grande volume de sangue rico em gás carbônico, proveniente da circulação sistêmica.

A aurícula e átrio direito foram mais bem estudados com microscopia eletrônica e foi possível desvendar muitas dúvidas que existiam no complexo átrio auricular.

Pesquisadores, na tentativa de explicar a natriurese e diurese obtidas através de modificações do volume sangüíneo circulante, sugeriam que pelo menos três fatores poderiam estar envolvidos: um componente neural (GOETZ et al, 1986), uma substância inibidora da bomba de Na^+ K^+ ATPase (DEWARDENER et al, 1981) e uma outra correlacionada com o sistema renina angiotensina-aldosterona (ANDERSON et al, 1956 e BRENNAN et al, 1971).

Uma equipe canadense chefiada por de Bold (1981) conseguiu resultados que constituíram como o próprio pesquisador acentuou, verdadeiro desafio a um conceito muito bem estabelecido: o de que as células miocárdicas sempre se apresentaram essencialmente diferenciadas para os fenômenos de excitação, de condução e de contração e não para a secreção. E, agora, revelam-se também como órgão endócrino.

1.3 Peptídeo Natriurético Atrial (ANP)

1.3.1. Produção de ANP

No decorrer do ano de 1950, os fisiologistas acreditavam que a diurese era controlada por duas funções neuro-hormonais: a vasopressina e o sistema renina-angiotensina-aldosterona. No entanto, naquela época já se acreditava existir um terceiro fator interferindo na diurese, e ainda não bem conhecido. Com relato de pesquisadores sobre aumento da diurese associada à taquicardia supraventricular, passou-se a suspeitar que o terceiro fator estivesse relacionado com o coração. Prevaleceu a clássica descrição do reflexo em que a dilatação atrial seria capaz de aumentar a diurese (HENRY, et. al., 1961; GAUER et. al., 1956).

Com a microscopia eletrônica, foi possível observar a presença de grânulos intracelulares nos miócitos atriais semelhantes aos vistos em células endócrinas. Estava fundamentada a suspeita de que o coração tinha função endócrina. No final do Século XIX para o Século XX, o coração foi mais bem estudado em modelos experimentais e foi possível avaliar toda sua estrutura e ultra-estrutura, possibilitando avaliar suas dimensões, organização dos miócitos, organelas e grânulos citoplasmáticos.

Até a década de 1950, admitia-se que a função do coração era apenas manter o fluxo sanguíneo, através da contração e relaxamento muscular. Com estudos e pesquisas posteriores ficou demonstrado que dentre as funções do coração, evidenciou-se a de glândula secretora de hormônios (KISCH, 1956;

PALADE, 1961; BOLD et al., 1981; IIDA, et al., 1988; CALIARI & TAFURI, 1993; FRANCHINI et.al., 2001; SILVA et al., 2003).

Os corpos osmiofílicos esféricos descritos por Kisch (1956) isolados ou aglomerados no citoplasma dos cardiomiócitos atriais de cobaias, foram então reconhecidos como grânulos específicos dos cardiomiócitos secretores do Peptídeo Natriurético Atrial (ANP) (PALADE, 1961). Estes grânulos podem apresentar ultraestrutura heterogênea devido ao sentido do ângulo dos cortes ou secções transversais, oblíquas e longitudinais (SKEPPER & NAVARATMAM, 1988). Observou-se que os grânulos medem entre 100 a 250 nm de diâmetro, com alterações da área de acordo com o sentido da secção, ou podem variar também com a espécie do modelo estudado. Os grânulos podem estar localizados ao redor do envoltório nuclear, próximo às mitocôndrias e ao aparelho de Golgi, junto aos retículos endoteliais lisos, ou granulares. Os grânulos secretores do ANP são abundantes nos miócitos atriais e raros nos miócitos ventriculares (PALADE, 1961; JAMIESON & PALADE, 1964; IIDA et al., 1988). Estudos realizados por Avramovitch e colaboradores (1995), mostraram em modelos experimentais com Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC), uma concentração de grânulos, em sua maioria, pequenos, na periferia dos miócitos. Chapeau et al., (1985) e de Souza et al, (2005), através de estudos feitos com animais, demonstraram que a aurícula direita apresenta maior quantidade de grânulos que a aurícula esquerda.

De acordo com o tipo das estruturas, conteúdo e eletrodensidade os grânulos foram classificados em A, B, C e D. Os grânulos do tipo A possuem conteúdo fortemente eletrodenso, com conteúdo retraído deixando transparecer um halo vazio na face interna da membrana. Já os grânulos do tipo B foram classificados como

grânulos pálidos com granulações de aspecto fibroso, os grânulos do tipo C foram descritos como corpúsculos residuais e os grânulos do tipo D como grânulos pequenos extremamente eletrodensos (BERGER & RONA, 1971).

A presença de grânulos específicos atriais semelhantes aos encontrados em células endócrinas induziu pesquisadores a estudar melhor o conteúdo destes grânulos. De Bold e colaboradores (1981), após exaustivos estudos, realizaram a clássica experiência da injeção de extrato de átrio e ventrículo em ratos. Os animais que receberam extrato de átrio tiveram a excreção urinária de sódio e potássio aumentada quando comparada com os valores normais. Não obtiveram estes mesmos resultados quando os ratos eram inoculados com extrato de ventrículos. Este experimento foi repetido várias vezes e os cientistas concluíram que no extrato atrial havia um componente de alto potencial inibidor da reabsorção de cloreto de sódio nos rins. Após algumas denominações anteriores, o hormônio produzido pelos grânulos atriais ficou denominado fator natriurético atrial (FNA) ou peptídeo natriuretico atrial (ANP) (PALADE, 1961). Muitos pesquisadores estudaram o estímulo da produção do ANP e concluíram que este estímulo ocorre quando há distensão e pressão das paredes átrio-auricular, portanto na volemia, taquicardia e exercícios físicos (SILVA et al., 2003).

Li e colaboradores (2006), demonstraram que o ANP e BNP não são produzidos exclusivamente no átrio direito, pois com seus estudos, foram encontrados também nas células da parede do estômago com elevada concentração dos grânulos nas células da cárdia.

1.3.2. Mecanismo de Liberação do ANP

As pesquisas no processo de liberação do ANP para o microambiente extracelular, despertou grande interesse científico envolvendo várias metodologias. Chapeau et al. (1985), usando cortes ultrafinos e criofraturas conseguiram observar os princípios básicos estruturais do processo da exocitose do ANP e fusão dos grânulos atriais que julgaram ser a via para a liberação deste hormônio a caminho da circulação. O estudo da mobilização cinética dos grânulos no citoplasma dos miócitos também despertou grande interesse por parte dos cientistas e coube a Lida et al. (1988), o estudo da substância monensina, que atua sobre a mobilidade dos grânulos atriais, demonstrando a ação estimulante desta substância no processo de interação entre os grânulos e os microtúbulos, causando um carreamento destas estruturas da região perinucleares para a periferia dos miócitos, onde ocorre a exocitose. Wildey et al., (1988) estudaram a liberação do ANP nos miócitos de ratos e concluíram após exaustivos trabalhos que a ativação do ANP não ocorre no interior dos miócitos, mas após a liberação do próhormônio para microambientes extracelulares. As pesquisas de Tibault et al (1984) e Cho et al.(1991), estudando a liberação do ANP em coelhos, demonstraram que o mais importante estímulo para liberar o ANP é a contração das fibras atriais e que a clivagem do prohormônio ANP liberado não ocorre nos grânulos intracelulares. Os íons cálcio são indispensáveis na excitação e contração do músculo cardíaco, porém não interfere na liberação do ANP (MERCEDES et al., 1991).

Gilloteaux et al., (1991) estudando *hamsters* de todas as idades, verificaram que após inoculação de imunomarcadores estruturais, que possibilitam a observação do trajeto seguido pelo próhormônio ANP até sua liberação na circulação, este hormônio é liberado por exocitose e ao passar pelo endotélio dos capilares é ativado, transportado e liberado para a corrente sanguínea.

1.3.3. Locais de Ação do ANP

As primeiras descobertas científicas sobre a ação do ANP no organismo humano e animal foram através de um tipo de peptídeo sintetizado por células do sistema átrio auricular, que foram denominadas por Forssmann et al. (1983), de cardiodilatina. Estes estudiosos observaram que os referidos peptídeos agiam na musculatura lisa das artérias renais, aorta e nas atividades da excreção renal. A artéria aorta apresentou-se sensível ao relaxamento causado pelo peptídeo. Observaram que a cardiodilatina tinha forte ação natriurética e diurética.

DE BOLD (1985) sugeriu que as funções de regulação orgânica pelo ANP iam de encontro com as necessidades de cada espécie. Bianchi et al. (1985), estudando ratos, usaram radioautografia e observaram que o ANP tem ação nas glândulas supra-renais, pulmões, hepatócitos, vilosidades, músculos dos colos, vasos renais e outros órgãos. Foi sugerido também que o ANP exerce importante ação hemodinâmica nestes órgãos e na regulação hídrica, transporte iônico principalmente no intestino delgado e metabolismo hepático. Ohba et al. (2001), e McGrat et al. (2005), estudando a ação modeladora deste peptídeo sobre alguns sistemas orgânicos, observaram que ele interfere controlando o sistema renina-angiotensina, modela a ação e resposta do sistema nervoso simpático, aumenta o fluxo e a permeabilidade capilar e, é um vaso dilatador redutor da pressão sanguínea, reabsorve água e sódio e facilita a diurese e natriurese.

Molkentin (2003), Lafontan et al. (2005) pesquisaram em diversos mamíferos a ação do ANP e concluíram no final dos trabalhos que este peptídeo tem ação antiinflamatória e age energeticamente no metabolismo lipolítico durante a hidrólise do triacilglicerol.

1.3.4. Exercício Físico e ANP

Segundo Bianchi e colaboradores (1985), ação do exercício físico sobre o coração normal oferece benefícios, pois o aumento da volemia provocada pelo exercício físico eleva os níveis de ANP e BNP facilitando o metabolismo de todos os órgãos envolvidos.

Goodman et al., (1993) estudando ratos e camundongos que realizaram exercício físico aeróbico prolongado, observaram acentuado aumento do ANP plasmático. Epstein, 1976, Krishna et al., 1983 em seus trabalhos estudaram o efeito da imersão do corpo em água durante a natação, com a compressão negativa do corpo, principalmente torácica, ocorre redistribuição do volume sanguíneo, na região dos grandes vasos e coração, causando aumento dos níveis dos peptídeos natriuréticos ANP e BNP, inibindo o Sistema renina-angiotensina-aldosterona (S-RAA) e liberação da vasopressina.

Nos trabalhos de Roffe (1998), ficou demonstrado que tanto indivíduos saudáveis como os portadores de insuficiência cardíaca crônica (ICC) aumentam o ANP plasmático após a prática de exercício físico. Barletta et al., (1998), estudando atletas saudáveis do sexo masculino submetidos aos exercícios físicos intensos como bicicletas e *hand-grip*, verificaram microlesões do miocárdio e conseqüentemente aumento dos níveis plasmáticos do ANP e BNP. Engelmann et al., (2005) pesquisaram e acompanharam os efeitos do exercício físico em portadores de fibrilação atrial e observaram aumento dos níveis plasmáticos do ANP e BNP. McGrath et al., (2005) observaram que quando indivíduos são submetidos às modalidades de exercícios físicos aeróbicos na posição vertical a pressão arterial

não muda; porém os níveis plasmáticos do ANP se elevam consideravelmente (GHORAYEB et al., 2005 e VOGELSANG et al. 2006).

A literatura é quase unânime sobre o efeito do exercício físico no ANP em indivíduos saudáveis e também nos indivíduos com IC inespecífica, com raras discordâncias entre os autores. Nestes casos, o exercício físico, dependendo da modalidade e intensidade, aumenta a produção do ANP nos níveis plasmáticos consideravelmente (GOODMAN et al., 1993; ROFFE, 1998).

1.3.5. Doenças de Chagas e ANP

O efeito do ANP no coração chagásico depende da intensidade da patologia nesse órgão, podendo se manifestar de forma intensa em alguns indivíduos com sintomas característicos, de moderado a grave e de pouca intensidade e até assintomático em outros indivíduos. Se considerarmos que a IC inespecífica eleva os níveis plasmáticos do ANP, proporcionais ao número e volume dos grânulos atriais, a Cardiopatia Chagásica Crônica também eleva esses níveis, poderíamos supor que o exercício físico teria um efeito coadjuvante no tratamento de pacientes com Doença de Chagas (GOODMAN et al., 1993; ROFFE, 1998).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Considerando o átrio e a aurícula direita do coração como órgão de natureza glandular, responsáveis pela síntese do ANP, o objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do exercício físico aeróbio moderado (natação) nos cardiomiócitos de camundongos com doença de Chagas crônica.

2.2 Objetivos Específicos

Analisar através de técnicas morfométricas e estereológicas os efeitos do programa de exercícios aeróbio moderado (natação) sobre os cardiomiócitos do átrio direito de animais chagásicos crônicos. Os seguintes parâmetros foram analisados:

- 1- Peso dos animais;
- 2- Peso do coração dos animais;
- 3- Densidade de grânulos atriais no citoplasma dos cardiomiócitos;
- 4- Área dos grânulos atriais;
- 5- Densidade de Volume dos Grânulos Atriais (V_v [g]);
- 6- Quantidade de organelas distribuídas no citoplasma (A_v [c]) dos cardiomiócitos ;
- 7- Alterações ultra-estruturais dos cardiomiócitos;

8- Peso corporal / coração.

METODOLOGIA

3. MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 20 camundongos da linhagem *Swiss*, machos, com aproximadamente 20 dias de vida, pesando aproximadamente 36 g, oriundos e mantidos no Biotério do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Os animais foram mantidos em condições ambientais com controle de temperatura (22 a 24 °C) e de iluminação (ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro). Para todos os animais foi fornecida ração comercial referência para camundongos (Nuvital®) e água *ad libitum*. Os procedimentos utilizados nesta investigação científica foram conduzidos de acordo com os princípios éticos de experimentação animal (COEP-06/0207).

Os animais foram separados em quatro grupos:

- Grupo CS: 5 animais controle sem exercício (CS) sacrificados aos 120 dias;
- Grupo CN: 5 animais controle nadadores (CN) sacrificados aos 120 dias;
- Grupo CHS: 5 animais chagásico sem exercício (CHS) sacrificados aos 120 dias;
- Grupo CHN: 5 animais chagásico nadadores (CHN) sacrificados aos 120 dias.

3.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

3.2.1. Inoculação de *Trypanosoma cruzi*

Foram inoculadas nos grupos CHS e CHN quando tinham 20 dias, 1000 formas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) por via intraperitoneal. Para o estudo dos níveis de parasitemia (curva parasitemica) foram coletados diariamente de cada animal inoculado, 5 μ l de sangue periférico (ponta da cauda). Em seguida, a contagem foi realizada até que não se encontrou mais parasitas no sangue (\pm 40 dias) após a inoculação, caracterizando o início da fase crônica.

3.2.2. Protocolo de atividade física

3.2.2.1 Processo de adaptação dos animais

Após 60 dias de vida, os animais dos grupos CN e CHN realizaram uma adaptação prévia ao protocolo de exercício (natação), conforme mostrado na Figura 1. O procedimento foi repetido durante 10 minutos por dia num total de 6 dias.



Figura 1. Camundongos nadando, acondicionados em aquário redondo com água à temperatura de 30°C e profundidade de 40 cm de diâmetro para impedir que os animais se apoiem no fundo do aquário.

3.2.2.2 Protocolo de natação

O protocolo de treinamento dos animais dos grupos CN e CHN foi realizado no período da manhã, em um aquário de vidro de 40 cm de diâmetro, à uma temperatura de 30° C, por 30 minutos, durante 9 semanas. Os outros animais dos grupos CS e CHS realizaram o exercício somente durante 10 minutos/dia, 6 vezes/semana, com o objetivo de provocar um estresse semelhante ao do grupo treinado.

3.2.3. Eutanásia dos animais

Os animais foram pesados, anestesiados com injeção de Tiopental (40mg/kg de peso corpóreo, Sigma®, USA), intraperitonal e a seguir foi realizada uma incisão na região esternal para expor o coração. O sistema circulatório foi lavado com solução de PBS (0,01 M e pH 7,4) e heparina a 2% anteriormente à fixação e após foi retirado o coração, seccionando-se os vasos da base. O coração foi pesado. e após seccionados, os átrios direito e esquerdo através do sulco coronário.

3.2.4. Microscopia de luz

Esta técnica foi utilizada para que pudéssemos confirmar a presença de miocardite nos animais infectados com *T.cruzi*, segundo o critério de “Dallas” (ARETZ, 1987).

Foram retirados segmentos do ventrículo esquerdo, fixados em solução de formol tamponado 10% (pH 7,2) por 48 horas o material foi deixado em álcool 70% por um dia. Para o processo de desidratação o material passou por baterias de álcool 80% (1 hora), 95% (1 hora), 3 baterias de álcool 100% (30 minutos cada

bateria). Após foi processada a diafanização do material, sendo colocado em álcool / xilol 1:1 (30 minutos), xilol (20 minutos) e imediatamente, após este procedimento, iniciou-se o processo de inclusão em parafina líquida. O material incluído na parafina.

Foram utilizados cortes histológicos transversais de 6 μm de espessura, através de micrótomo convencional, sendo cortes não-consecutivos por animal. Os cortes foram colocados sobre as lâminas, corados pelos métodos HE, montados entre lâmina e lamínula e examinados ao microscópio de luz.

3.2.5. Microscopia eletrônica de transmissão para visualização dos grânulos atriais

Para todos os animais destinados aos estudos de microscopia eletrônica de transmissão tiveram o sistema circulatório lavado anteriormente à fixação, e após, retirado o coração. A lavagem procedeu por meio da inserção de uma cânula no ventrículo esquerdo, onde foi perfundida uma solução contendo salina tamponada fosfatada (PBS) a 0,01 M e pH 7,4 e heparina a 2%. As veias jugulares foram seccionadas previamente para permitir a completa lavagem do sistema. Após a lavagem do sistema, foi perfundida uma solução fixadora constituída por glutaraldeído a 5% (Merck®) e formaldeído a 1% (Sigma®) em tampão cacodilato de sódio (EMS®) a 0,125M e pH 7,4 (solução fixadora de Karnovsky modificada). Em seguida o coração foi retirado, o átrio D seccionado e fragmentado em trechos com cerca de 1mm³. Após, os fragmentos atriais foram lavados em solução tampão de cacodilato de sódio (EMS®) a 0,125M e pH 7,4 e imersos em uma solução aquosa de tetróxido de ósmio (EMS®) 2%. As amostras permaneceram nesta solução durante 60 minutos, no escuro e sob agitação constante. Em seguida, foram lavados

na mesma solução de tampão cacodilato anteriormente referida, seguido de água destilada, para serem contrastados em blocos com a solução aquosa saturada de acetato de uranila (Reagen®) durante 60 minutos sob agitação constante e em recipiente escuro.

Os fragmentos foram lavados com água destilada, e desidratados em série crescente de etanóis com início em 50% , 70% e 90% por 10 minutos cada passagem, e 100% por 20 minutos, sendo depois desidratados em óxido de propileno (EMS®) por 10 minutos. As amostras foram embebidas com uma solução de óxido de propileno (EMS®) e resina araldite (502 Polyscience Inc.®), em constante agitação e em diferentes proporções. Após estas etapas, os espécimes foram transferidos para resina Araldite pura (502 Polyscience Inc.®) e levados à estufa (60º), aí permanecendo durante um período mínimo de dois dias.

Os blocos de resina formados foram trimados e posteriormente seccionados com navalha de vidro a 2 µm de espessura. A seguir, as secções semifinais foram coletadas sobre lâmina e coradas com uma solução de azul de toluidina alcoólica. Após foram cobertas com uma gota de Araldite (502 Polyscience Inc.®) e montados sob lamínula e observados em microscopia de luz, para avaliação do material a ser estudado.

Para estudos à microscopia eletrônica de transmissão, os blocos foram seccionados num ultramicrótomo com navalha de diamante e obtidos cortes ultrafinos, montados em tela de cobre e corados com acetato de uranila (Reagen®) a 3% e citrato de chumbo (Sigma®). O material foi examinado ao microscópio eletrônico de transmissão (Jeol, JSM, Japão), localizado no Laboratório de Investigação do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade São Paulo.

3.3. Análise morfométrica e estereológica

Para realizar a análise morfométrica (número e área em micrômetros quadrados), os corações foram retirados, seccionando-se os vasos da base, próximo ao órgão, e pesados em balança analítica digital com acurácia de 0,001 g. Foi utilizado para a pesagem o método de Scherle (SCHERLE, 1970), onde o coração foi suspenso por um fio, imerso em um Becker com solução fisiológica, sem que o mesmo tocasse as paredes do recipiente.

Foram fotografados aleatoriamente os grânulos presentes em 500 electronmicrografias, sendo 20 campos por animal no microscópio eletrônico de transmissão com aumento de 3000 (3K), 7000 (7K) e 15000 (15K) vezes.

3.3.1. Medida da área de perfis (transsecção) dos grânulos atriais

Para a medida da área dos grânulos foram utilizados 20 electronmicrografias digitalizadas por animal, com aumento de X15K. As medidas foram realizadas utilizando um sistema computadorizado, contendo um programa de análise de imagem (Axio Vision Plus, Zeiss), no Laboratório de Estudos Morfoquantitativos e Imunohistoquímics (LEMI) da Universidade São Judas Tadeu (USJT).

3.3.2. Densidade Numérica dos grânulos atriais (Número por Área)

Para a contagem do número de grânulos foram utilizados 20 campos por animal com aumento de 15K. Foram contados os grânulos que estavam no campo e os que estavam cruzados pelas linhas superior e lateral direita desprezando os que estavam parcialmente cruzados pelas linhas inferior e lateral esquerda.

3.3.3 Densidade de volume dos grânulos atriais (Av[g]) e organelas citoplasmáticas (Av [c]) dos cardiomiócitos por área de transsecção

A densidade de volume das organelas citoplasmáticas (complexo de golgi, mitocôndrias, núcleos e grânulos), interstício e miofibrilas, expressam a fração de volume ocupado pelas estruturas de interesse dividido pelo volume total de pontos. Para se estimar a densidade de volume dos componentes do cardiomiócito, foi adotado um sistema teste composto por pontos delimitados por linhas de inclusão e exclusão sistemática, uniformemente alocados, sobreposto sobre as secções de referência, usadas para estimar as densidade dos componentes por área. O número total de pontos por área de secção dos cardiomiócitos utilizados no sistema teste foi de 400 (100%), sendo registrados apenas os pontos que caiam sobre cada componente estudado na pesquisa. Assim, a seguinte equação foi utilizada (BRUEL, et al., 2002).

a) Grânulos Atriais

$Vv [g] (\text{grânulos Atriais}) = \Sigma P[g] (\text{grânulos Atriais}) / \Sigma P(\text{cm}) (\text{cardiomiócito})$

Onde:

$P [g]$ (grânulos Atriais) = Número de pontos que caem no cardiomiócito.

$P(cm)$ (cardiomiócito) = Número total de pontos que caem no cardiomiócito.

b) Organelas Citoplasmáticas (complexo de golgi, mitocôndrias, núcleos e grânulos)

$Av [c]$ (citoplasma) = $\Sigma P(c)$ (citoplasma) / $\Sigma P(cm)$ (cardiomiócito)

Onde:

$P (c)$ (citoplasma) = Número de pontos que tocam os citoplasma do cardiomiócito.

$P(cm)$ (cardiomiócito) = Número total de pontos sob o cardiomiócito.

O valor da densidade de volume foi expresso em percentagem considerando 100% o numero total de pontos (400) e o cálculo para as estruturas estudadas foram realizados a partir do número de pontos sobre as mesmas.

3.4. Análise Estatística

Os resultados das medidas foram tabulados, as médias foram calculadas, assim como seus respectivos desvios padrões. As médias de cada parâmetro dos 4 grupos foram comparadas estatisticamente através de análise de variância (ANOVA dois caminhos) e Teste pos hoc Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos serão assim apresentados: peso corpóreo (inicial e final) e peso do coração, análise ultraestrutural dos grupos estudados, densidade numérica e área dos grânulos, densidade de volume dos grânulos e das organelas citoplasmáticas.

4.1 Análise da presença de miocardite através da microscopia de luz

Para a confirmação da presença de miocardite nos animais contaminados por *T. cruzi*, empregou-se o critério de “Dallas” (ARETZ,1987). Foram confirmadas, através da microscopia de luz, a presença de mais de três células inflamatórias no interstício por campo, que ocasionaram lesões nos cardiomiócitos adjacentes, mostrado na Figura 2.

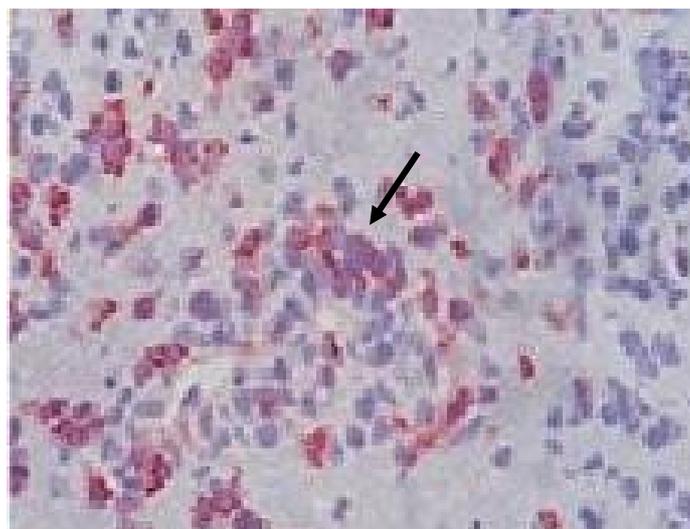


Figura 2. Células inflamatórias caracterizando a miocardite chagásica (HIGUCHI, 2010).

4.2. Peso corpóreo e do coração dos grupos dos animais estudados

Na tabela 1 podemos observar que os animais de todos os grupos não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), apesar de verificarmos que o grupo CHN apresentou discreto ganho de peso corpóreo durante o período de treinamento (estatisticamente não significativo).

Tabela 1 - Valores do peso médio corpóreo (inicial e final) em gramas (g), nos animais dos quatro grupos estudados (MÉD±EPM), ($p > 0,05$).

Grupos	n	peso inicial (g)	peso final (g)	diferença(g)	variação (%)
CS	5	35,2 ± 1,59	40,6 ± 0,94	5,4	13,3
CN	5	37,8 ± 0,58	43,4 ± 0,62	5,6	12,9
CHS	5	35,6 ± 2,06	42,5 ± 1,14	6,9	16,2
CHN	5	34,1 ± 1,12	41,9 ± 0,45	7,8	18,6

Na tabela 2 verificamos que os animais do grupo controle sedentário obtiveram resultado significativo ($p < 0,01$) em relação ao grupo CHS e ($p < 0,05$) em relação ao grupo CHN.

Tabela 2 - Valores do peso do coração em gramas (g) e relação peso corpóreo final/peso do coração em %, nos animais dos quatro grupos estudados (MÉD±EPM) , ($p>0,05$).

Grupos	n	peso do coração (g)	peso corp. final/peso do coração (%)
CS	5	0,19 ± 0,03	0,47*
CN	5	0,20 ± 0,01	0,46
CHS	5	0,19 ± 0,03	0,44
CHN	5	0,21 ± 0,04	0,49

* $p<0,01$ xCHS e $p<0,05$ xCHN

4.3 Análise morfológica ultra-estrutural do miocárdio atrial.

4.3.1. Grupo controle sedentário (CS)

Ao analisarmos as eletronicografias, Figuras 3, 4, 5 e 6) do grupo CS, observamos abundância de interstício com arquitetura regular e presença de fibras colágenas. No citoplasma observaram-se mitocôndrias, aparelho de Golgi, miofibrilas e linhas Z conservadas. O núcleo apresentou cromatina com densidade heterogênea, envoltório nítido de contorno irregular na intersecção com o citoplasma. Os grânulos atriais apresentaram-se de tamanho e densidade diversas.

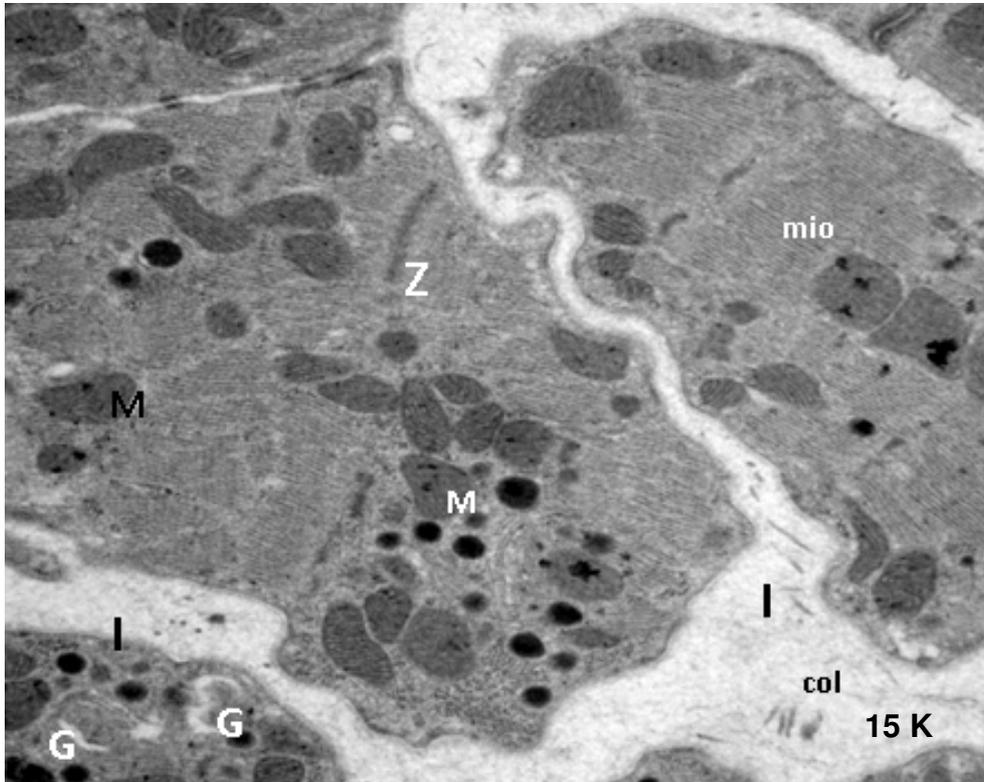


Figura 3. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo controle sedentário (CS). Observar mitocôndrias (M), muitas miofibrilas (mio), linha Z bem definida (Z), grande quantidade de interstício (I), grânulos eletrodensos (G) e colágeno (col). 15K.

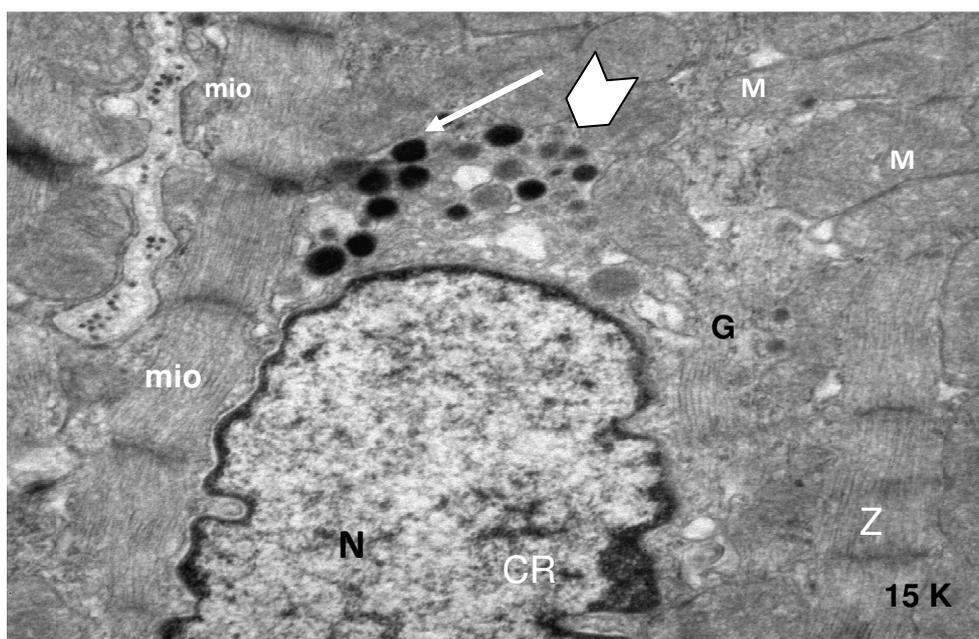


Figura 4. Eletronmicrografia do átrio direito de animais do grupo controle sedentário (CS). Observar freqüentes mitocôndrias (M). grânulos com tamanhos e eletrodensidade heterogênea (seta) aglomerados com outros menores e pouco eletrodensos (cabeça de seta), grande quantidade de miofibrilas com aspecto morfológico conservado (mio) pouco interstício (I). Complexo de Golgi (G), linhas (Z), núcleo (N) e cromatina (CR) no envoltório nuclear. 15K

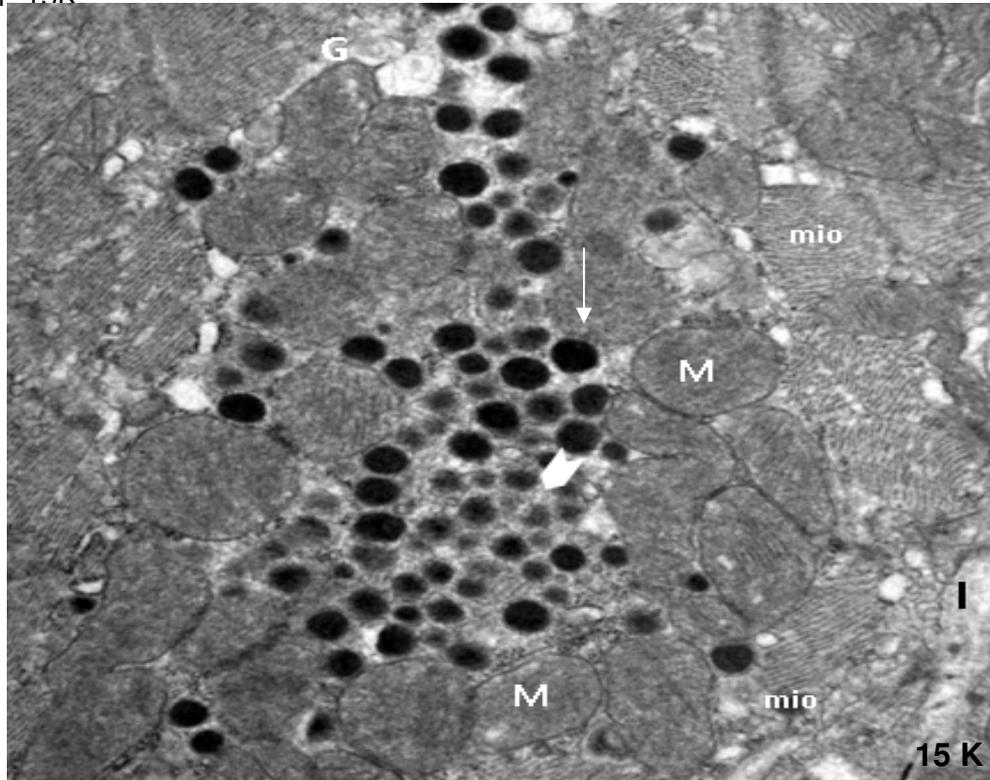
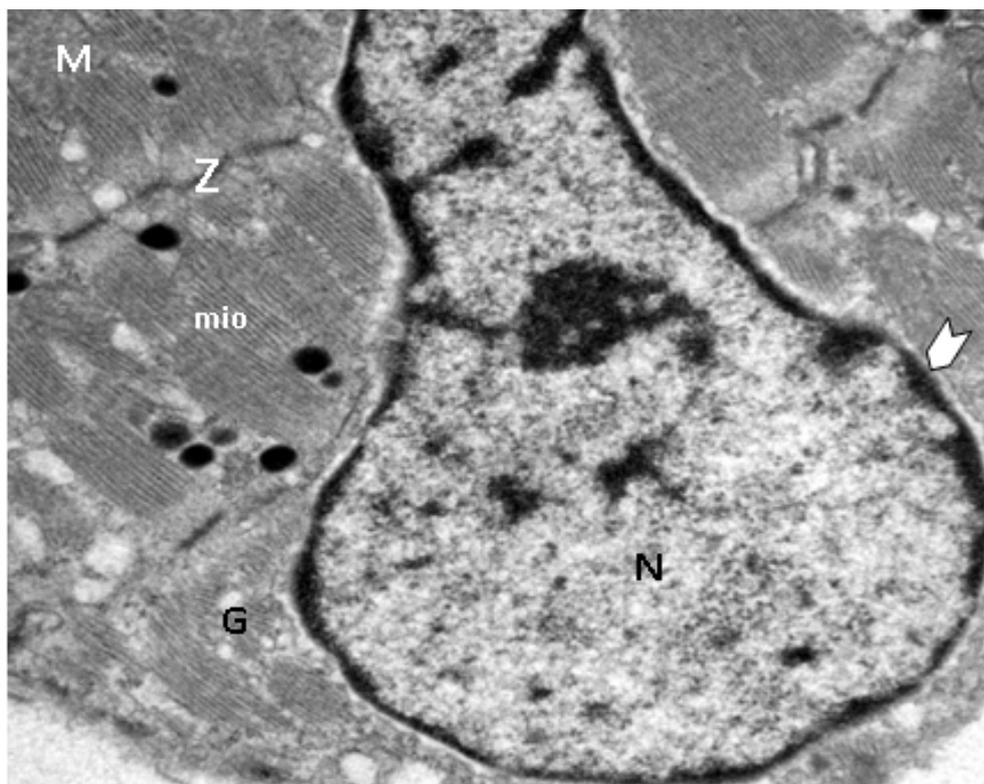


Figura 5. Eletronmicrografia do átrio direito de animais do grupo controle sedentário (CS). Observar granulos com forte (seta) e fraca eletrodensidade (cabeça de seta), mitocôndrias (M), Interstício (I), miofibrilas (mio), complexo Golgi (G). 15K.



15 K

Figura 6. Eletromicrografia do átrio direito de animais do grupo controle sedentário (CS). Observar grande quantidade de miofibrilas (mio). Linha Z (Z), Núcleo (N), cromatina concentrada no envoltório nuclear (cabeça de seta) e complexo de Golgi. 15K.

4.3.2. Grupo controle nadador (CN)

Ao analisarmos as eletromicrografias, conforme as Figuras 7, 8, 9 e 10 dos animais do grupo controle nadador (CN), observamos interstício reduzido comparado ao grupo controle sedentário (CS). No citoplasma foram observadas numerosas mitocôndrias enfileiradas quando comparadas ao grupo controle sedentário. Miofibrilas e linhas Z espessadas. O núcleo apresenta grande concentração de cromatina e o envoltório nuclear com contorno extremamente irregular e eletrodenso. A maioria dos grânulos atriais apresentou tamanho e eletrodensidade variável, dispersos no citoplasma e em menor quantidade ao redor do envoltório nuclear e próximo das mitocôndrias e complexo de Golgi e periferia dos miócitos.

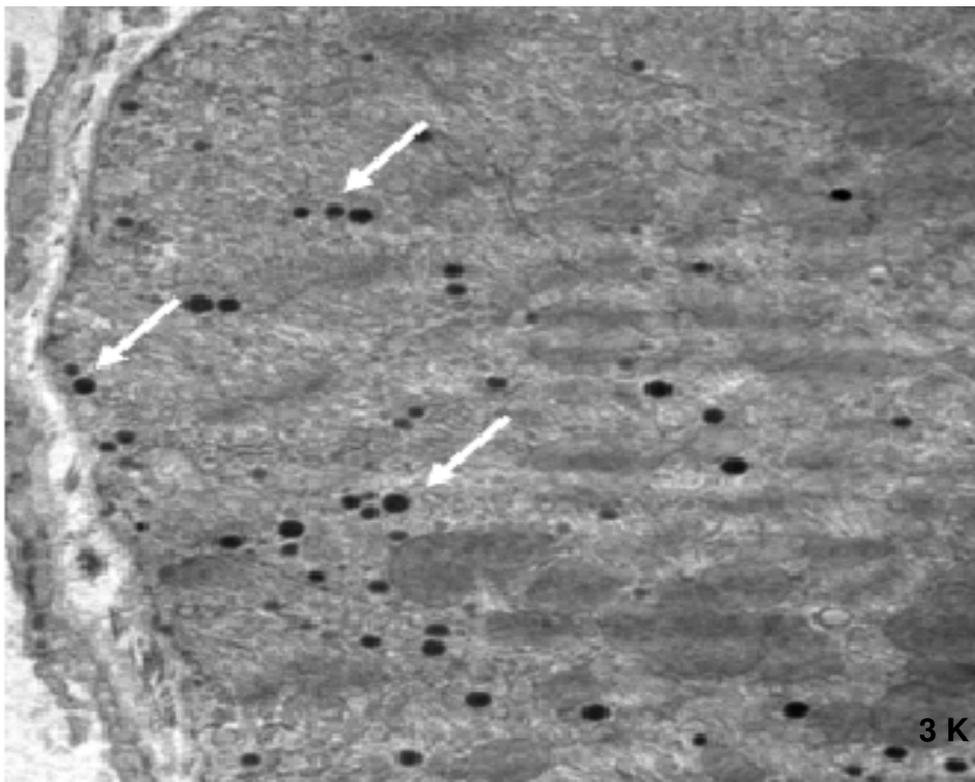


Figura 7. Eletronmicrografia do átrio direito de animais do grupo controle nadador (CN). Observar a dispersão dos grânulos no citoplasma e na periferia junto da membrana plasmática (setas). 3K.

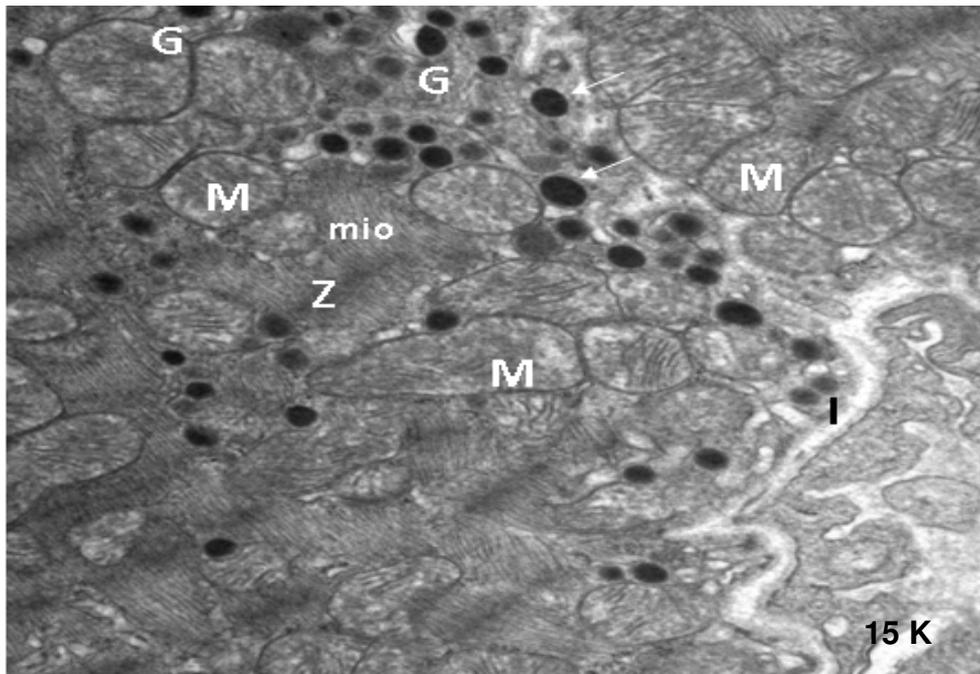
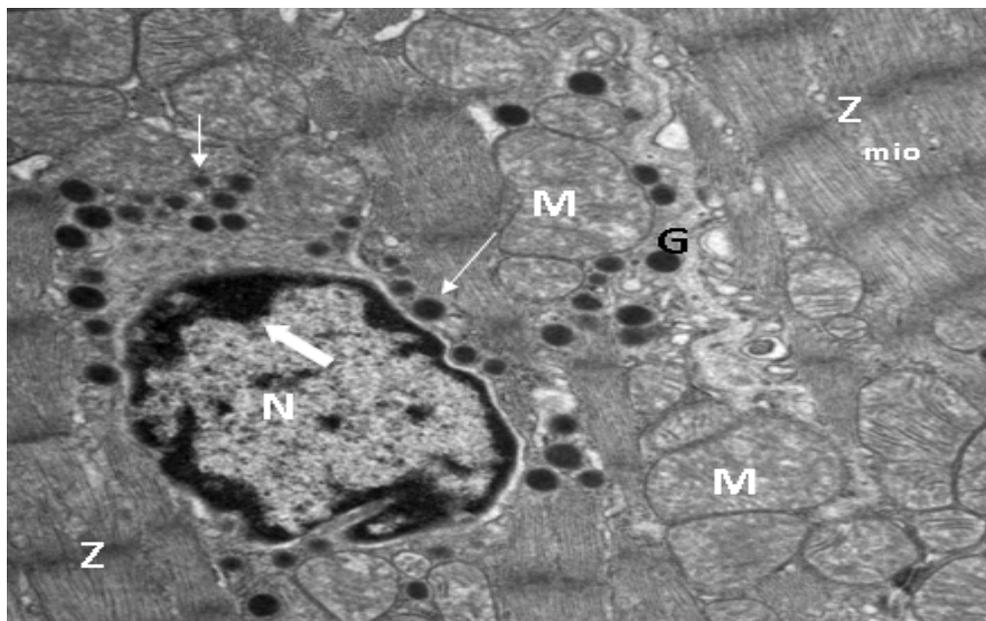


Figura 8. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo controle nadador (CN). Observar grande número de mitocôndrias com morfologia bem definida (M), miofibrilas (mio), sarcomero com linha Z (Z), complexo de golgi (G), interstício reduzido (I) e grânulos de tamanhos e eletrodensidade variáveis (seta). 15K.



15 K

Figura 9. Eletronmicrografia do átrio direito de animais do grupo controle nadador (CN). Observar grande número de mitocôndrias enfileiradas (M), miofibrilas hipertróficas (mio), com espessamento das linhas Z (Z). Aparelho de Golgi (G). Núcleo (N) com grande concentração de cromatina eletrodensa no envoltório nuclear. (seta cheia) e granulos de tamanho e eletrodensidade heterogênea (setas). 15K.

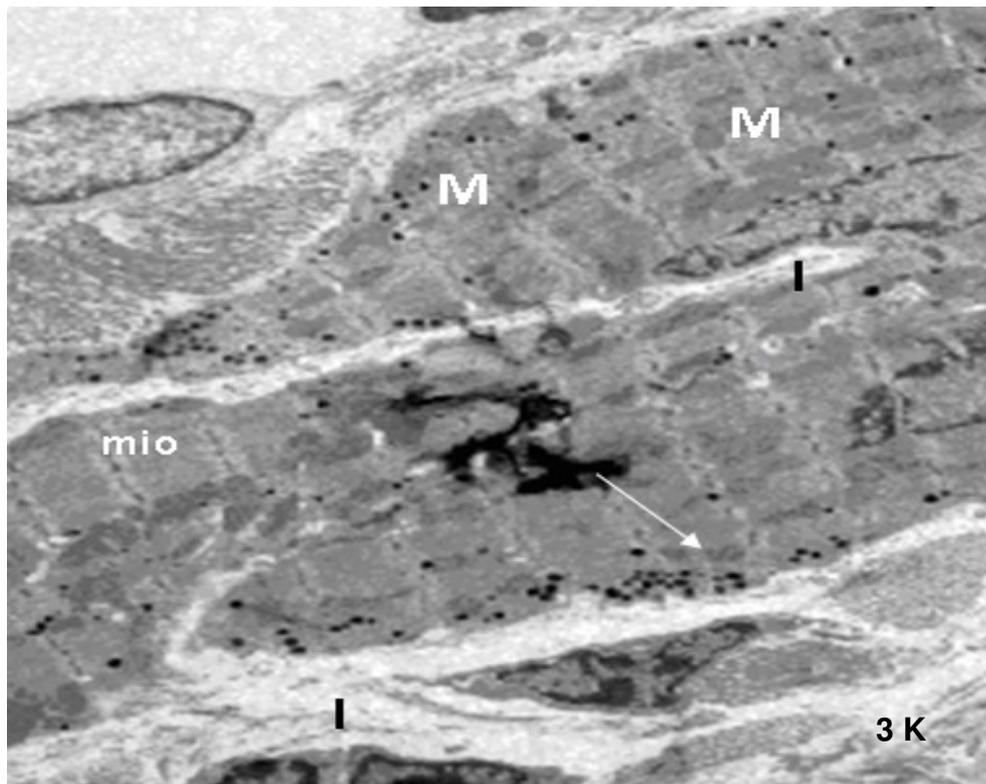


Figura 10. Eletronmicrografia do átrio direito de animais do grupo controle nadador (CN). Observar grânulos eletrodensos enfileirados na região da periferia da membrana citoplasmática. (seta) Mitocôndrias (M), enfileiradas no citoplasma, Interstício (I), miofilamentos (mio). 3K.

4.3.3. Grupo chagásico sedentário (CHS)

Ao analisarmos as eletronmicrografias, conforme as Figuras 11, 12 e 13 do grupo chagásico sedentário (CHS), observamos grande quantidade de fibras colágenas no interstício. O envoltório nuclear de alguns miócitos, apresentou-se com uma espessura irregular e numerosas invaginações, enquanto outros espessura retilínea e limites precisos com o citoplasma. A cromatina nuclear apresentou

eletrondensidade heterogênea, com regiões intensamente densas junto ao envoltório nuclear, algumas mitocôndrias com cristas não evidentes. Presença de concentração de grânulos pequenos em sua maioria, e na periferia dos miócitos. A estrutura das miofibrilas e linhas Z apresentaram-se conservadas.

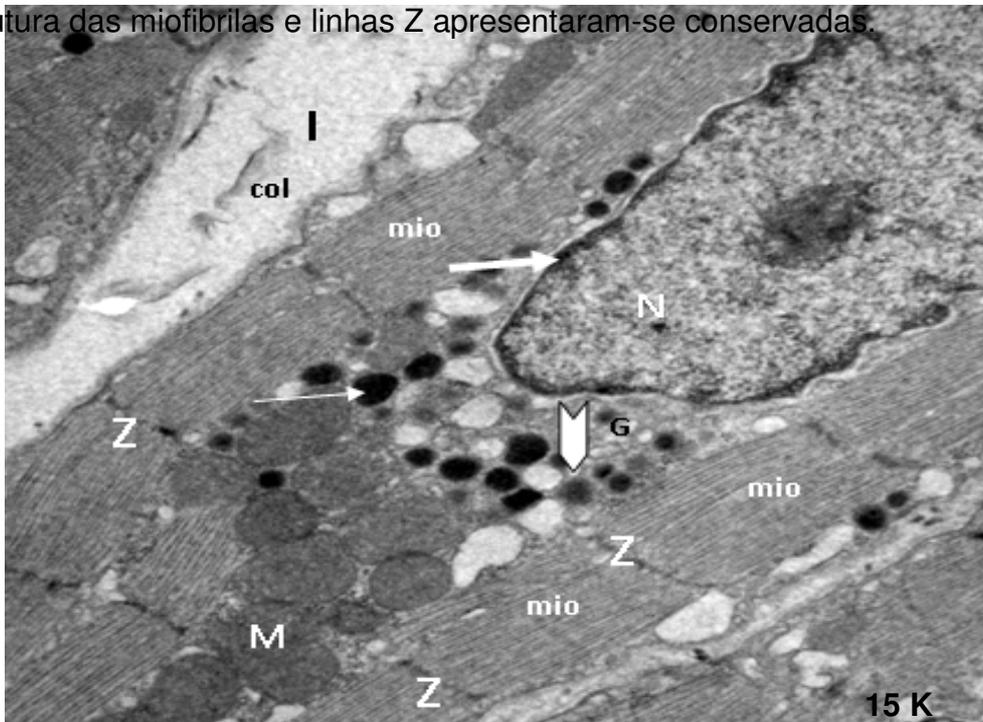
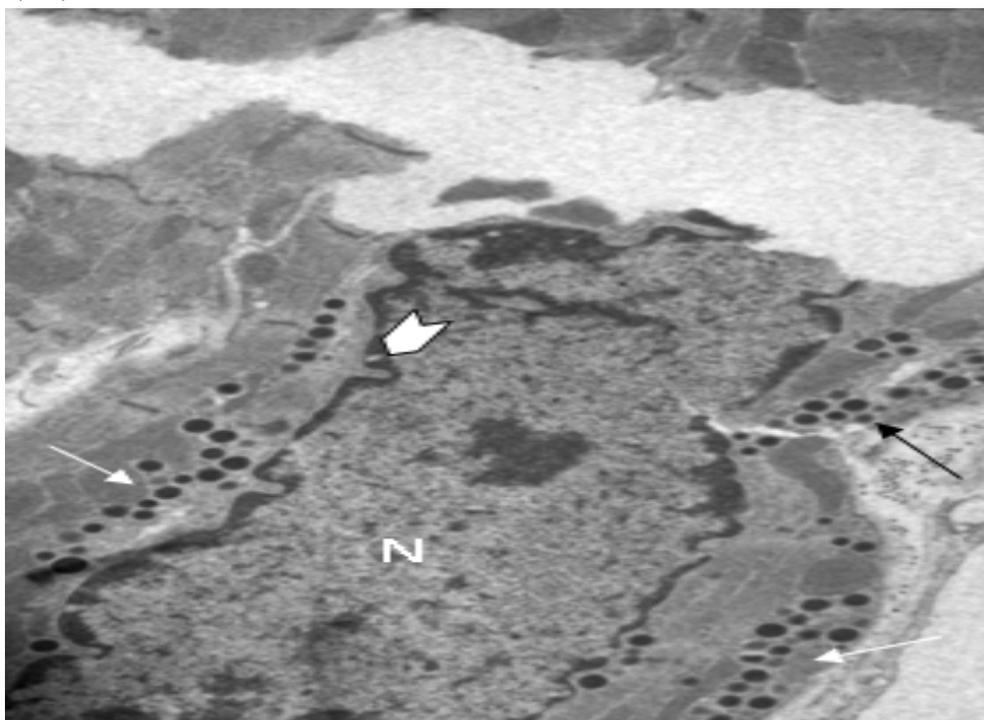


Figura 11. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo controle chagásico sedentário (CHS). Miofilamentos bem definidos (mio), sarcômero com linha Z integro (Z), Grânulos maiores e eletrodensos (seta) outros menores e menos eletrodensos (cabeça de seta) Golgi (G). Núcleo (N) com pouca concentração de cromatina na região do envoltório nuclear. (seta cheia). Regular número de mitocôndrias (M). Interstício (I) com pouco colágeno (col). 15K.



7 K

Figura 12. Eletromicrografias do átrio direito de animais do grupo controle chagásico sedentário (CHS). Observar a localização dos grânulos de tamanhos e eletrodensidade heterogênea ao redor do núcleo (seta), dispersos no citoplasma e na periferia próximo da região da membrana citoplasmática (setas), Núcleo (N) com pouca concentração de cromatina na região perinuclear. (cabeça de seta). 7K.

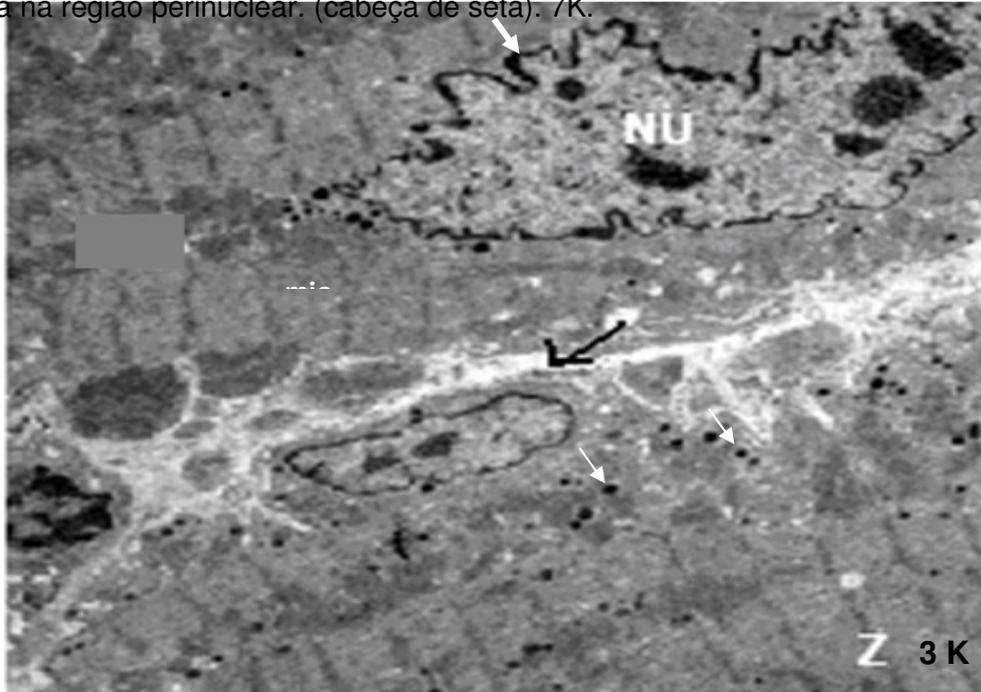


Figura 13. Eletromicrografias do átrio direito de animais do grupo controle chagásico sedentário (CHS). Observar grânulos atriais dispersos no citoplasma (seta), grande quantidade de miofilamentos (mio) e sarcomero com linha Z bem definidos (Z), núcleo (NU), envoltório nuclear com invaginações e pouca cromatina (seta cheia). 3K.

4.3.4. Grupo chagásico nadador (CHN)

As eletromicrografias do átrio direito dos animais do grupo CHN, conforme Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19, apresentou interstício irregular com abundância de fibras colágenas. A membrana citoplasmática, na maioria dos miócitos, apresentou contorno irregular e numerosas reentrâncias (invaginações), Apresentou também, citoplasma com mitocôndrias dispersas ou agrupadas, e raras sugestivas de degeneração. A cromatina nuclear apresentou-se heterogênea com regiões eletrodensas e disseminada por todo o núcleo e, junto do envoltório nuclear. Há

predomínio de grânulos atriais pequenos, dispersos no citoplasma, nos pólos nucleares e superfície da membrana citoplasmática. A miofibrila e a linha Z apresentaram espessamento.

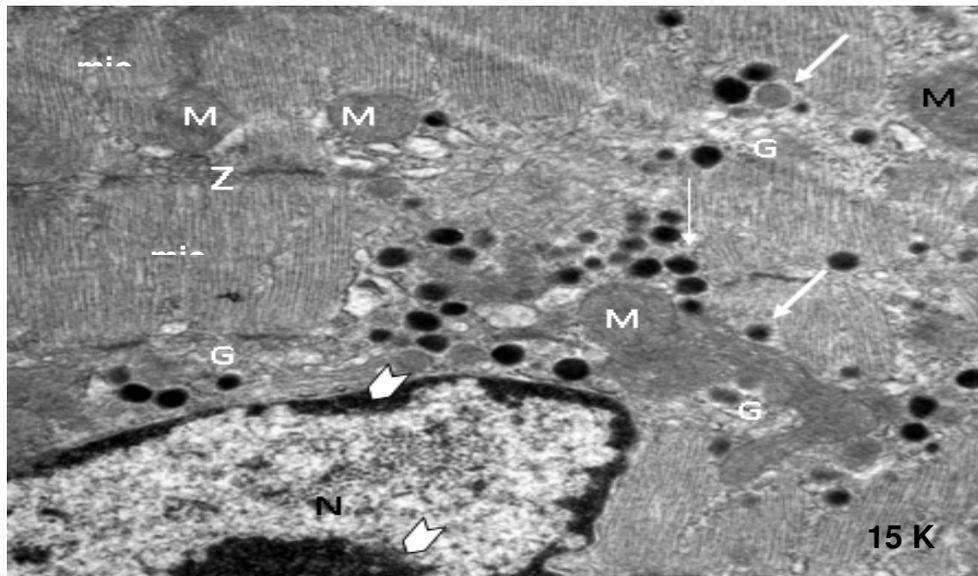
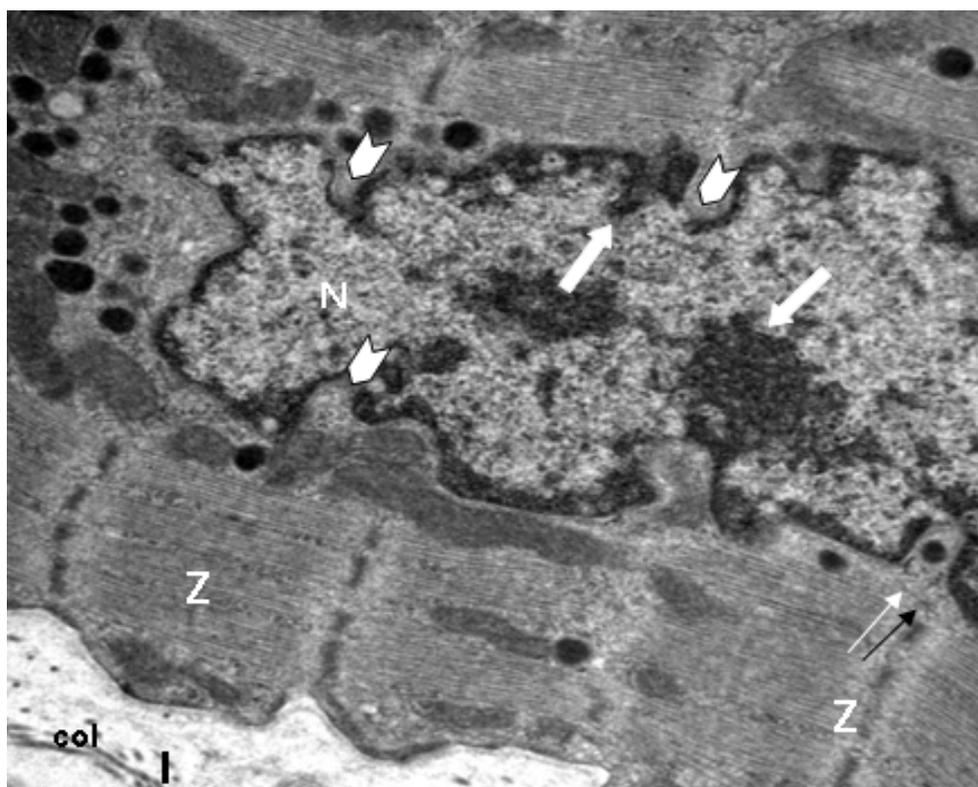


Figura 14. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo chagásico nadador (CHN). Observar grânulos na maioria grandes, com eletrodensidade heterogênea (seta), dispersos no citoplasma, ao redor das mitocôndrias (setas). Mitocôndrias (M) isoladas e agrupadas. Muitas miofibrilas hipertróficas (mio) Sarcomero com espessamento da linha Z (Z) Núcleo (N) com grande concentração de cromatina no envoltório nuclear e dispersa no interior do núcleo (cabeça de seta) e complexo de Golgi (G). 15 K.



15 K

Figura 15. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo chagásico nadador (CHN). Observar a estrutura do núcleo (N) com cromatina densa dispersa no interior do núcleo e concentrada no envoltório nuclear (seta cheia). Observar as tortuosidade com reentrâncias do envoltório nuclear (cabeça de seta), algumas contendo grânulos. (seta dupla). Espessamento do sarcomero e linha Z (Z). Interstício (I). Fibras colágenas (col). 15K.

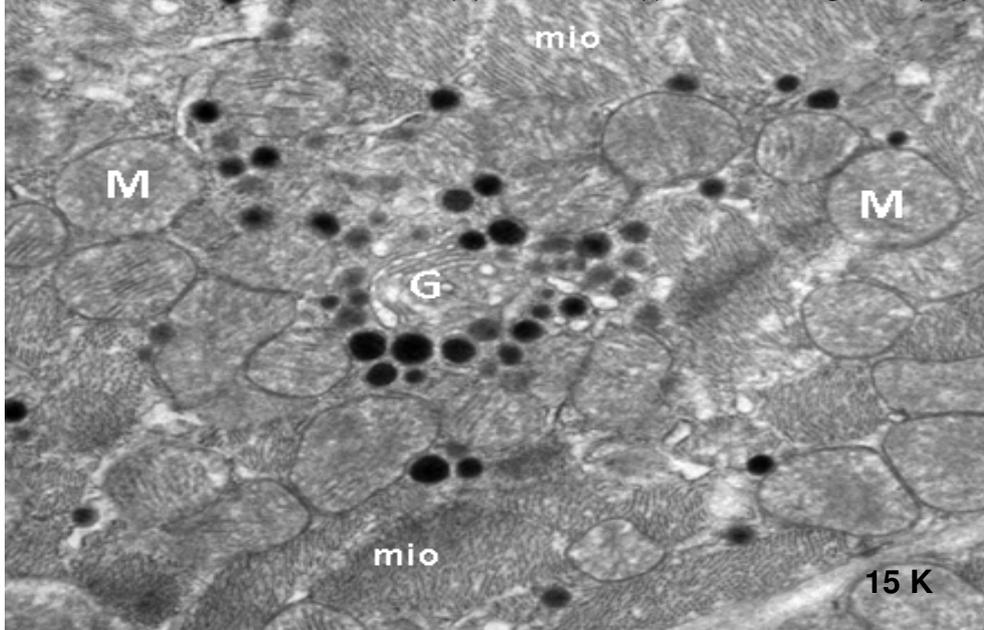


Figura 16. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo chagásico nadador (CHN). Observar abundância de mitocôndrias grandes (M), miofibrilas (mio) e aglomerado de grânulos eletrodensos ao redor do complexo de Golgi (G). 15K.

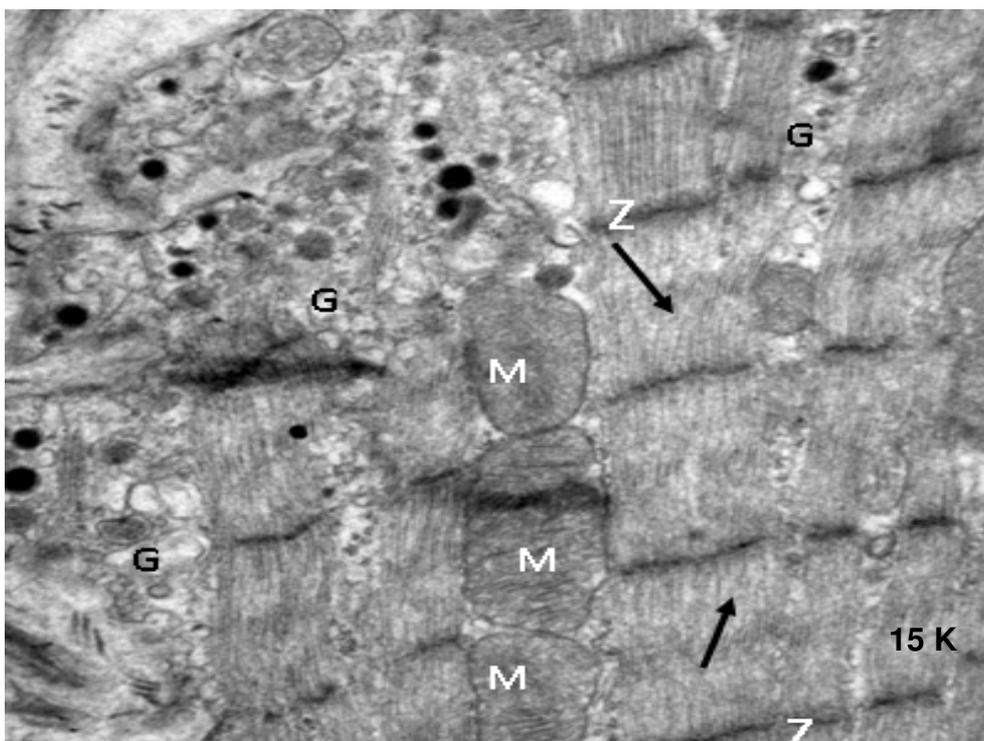


Figura 17. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo chagásico nadador (CHN). Observar grande quantidade de aparelho de Golgi (G) e mitocôndrias (M) enfileiradas de permeio ao sarcomero (seta) e linha Z espessadas (seta e Z). 15K.

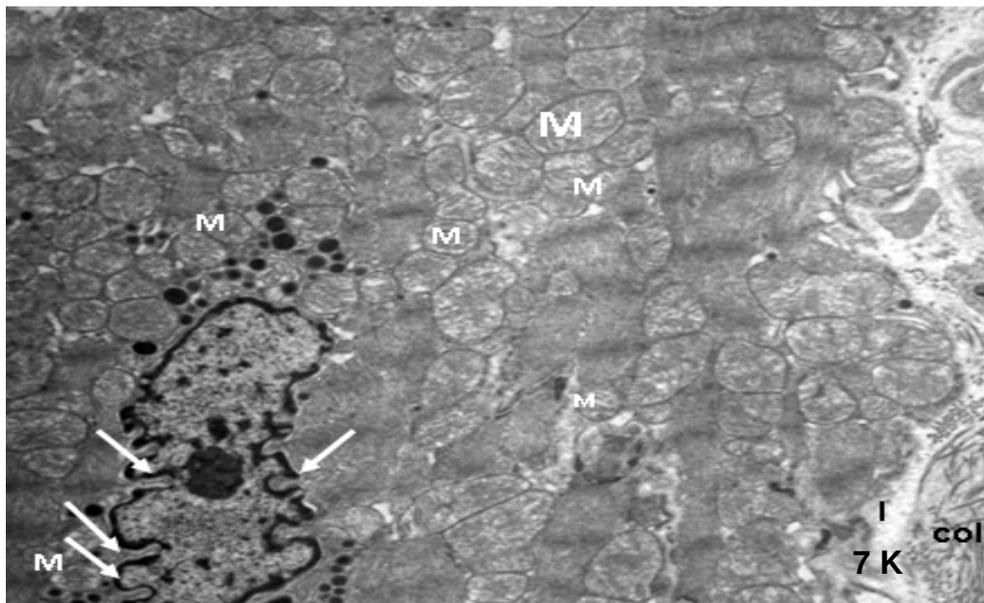
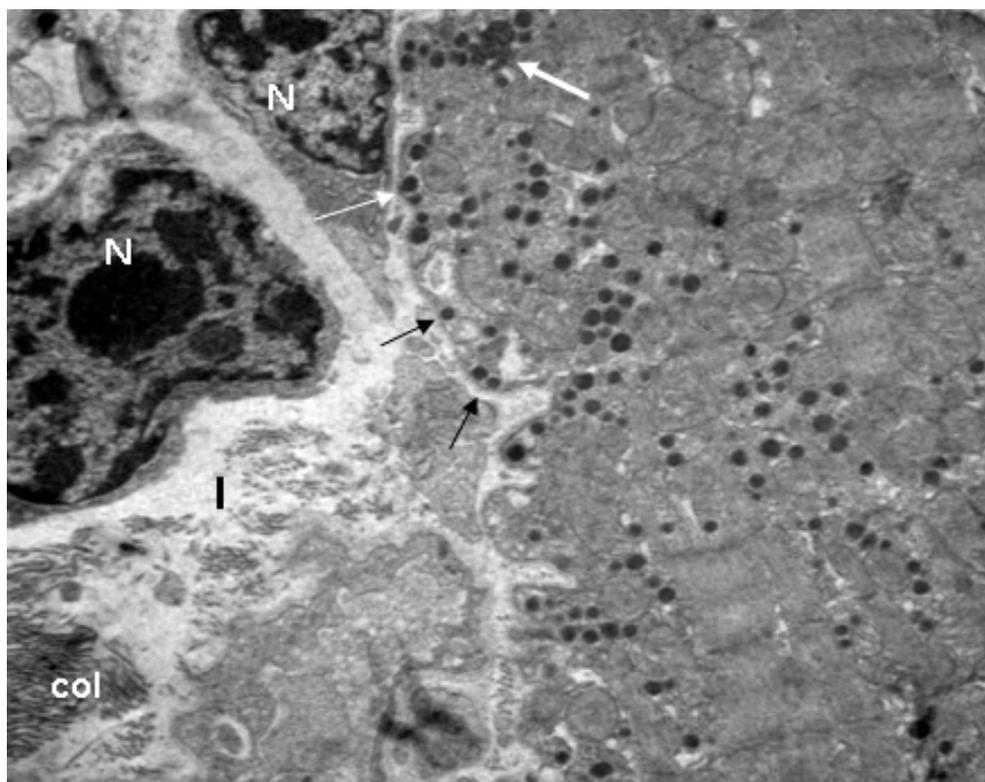


Figura 18. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo chagásico nadador (CHN). Observar grande número de mitocôndrias (M) pequenas se comparadas com as fotos anteriores. Envoltório nuclear exibindo seliências e reentrâncias com cromatina densa (setas cheias). Interstício (I) exibindo fibras colágenas (col). 7K.



7,5 K

Figura 19. Eletronmicrografias do átrio direito de animais do grupo chagásico nadador (CHN). Observar grande número de grânulos, de tamanho e eletrondensidade diversas, aglomerados sugestivos de fusão (setas cheia), de permeio às mitocôndrias e enfileirados na região da membrana citoplasmática sugestivos de exocitose (setas). Núcleos (N) com muita cromatina densa e dispersa no interior do núcleo, Interstício (I) com fibras colágenas (col). 7,5K.

4.4. Análises morfométrica e estereológica

4.4.1. Densidade numérica de transeções dos grânulos

atriais

Ao analisarmos a densidade numérica de grânulos atriais, observamos que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos estudados (Tabela 3 e Figura 20). Os dados sugerem que o grupo CHN apresenta densidade maior de grânulos comparado aos outros grupos, mas não houve diferença estatística ($p > 0,05$).

Tabela 3. Densidade numérica dos grânulos do átrio D de camundongos dos grupos CS, CN, CHS e CHN.

Número de grânulos no átrio Direito				
Grupo	CS	CN	CHS	CHN
Média \pmEPM	34,41 \pm 2,8	34,04 \pm 2,6	31,7 \pm 3,4	40,1 \pm 3,9

Valores descritos em média e erro padrão da média (EPM). ($p > 0,05$)

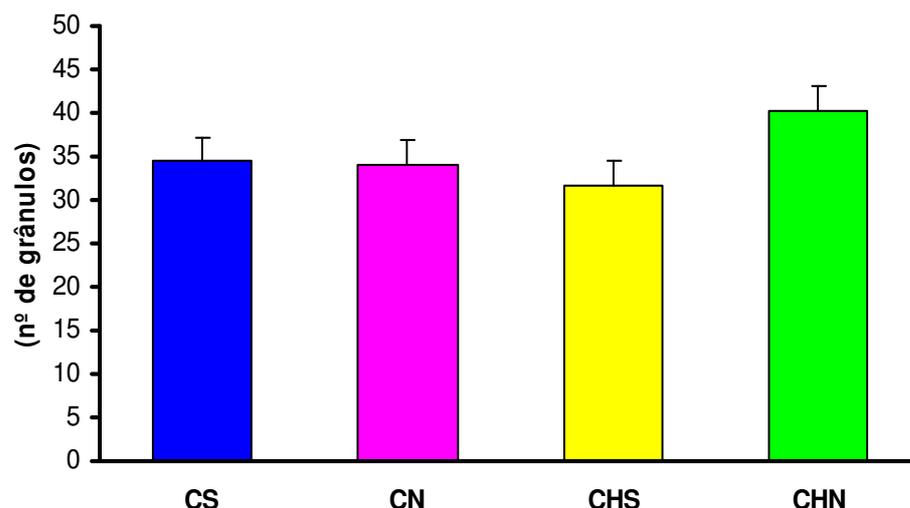


Figura 20. Densidade numérica de grânulos atriais nos grupos estudados.

4.4.2. Área dos grânulos atriais

Como mostra a Figura 21, os grânulos atriais constituem uma população heterogênea quanto ao tamanho, variando de 0,01 a 0,08 μm^2 . O tamanho médio dos grânulos, representado pela área de seu perfil nos grupos CS foi de $0,228 \pm 0,001 \mu\text{m}^2$, no CN, de $0,023 \pm 0,001 \mu\text{m}^2$, no CHS, de $0,018 \pm 0,002 \mu\text{m}^2$ e no CHN, de $0,0258 \pm 0,005 \mu\text{m}^2$. Somente os valores dos grupos CHS e CHN apresentaram diferença estatística ($p < 0,01$).

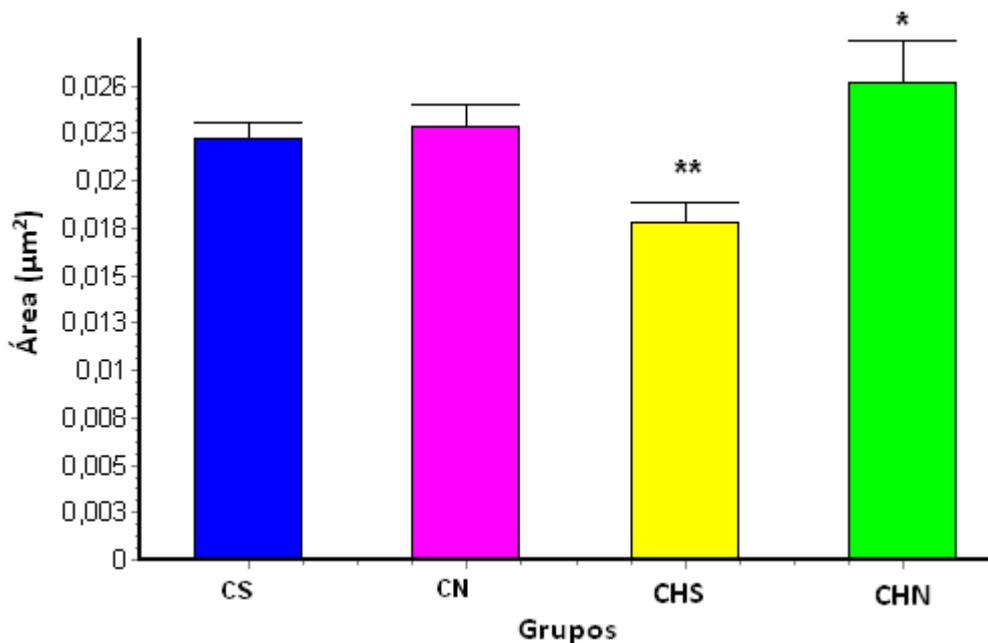


Figura 21. Valores médios (\pm EPM) das áreas dos grânulos atriais nos grupos CS, CN, CHS e CHN. *Significante ($p < 0,01$) em relação aos grupos CHS, CN e CS, **Significante ($p < 0,01$) em relação aos grupos CHN, CS e CN

O histograma apresentado na Figura 22 mostra a distribuição de frequência (%) dos grânulos quanto a sua área. Classificamos os grânulos que apresentaram área entre 0,01-0,02 μm^2 de tamanho pequeno, 0,03-0,04 μm^2 de tamanho médio e acima de 0,05 a 0,10 μm^2 de tamanho grande. Observamos que os grânulos do grupo CS se distribuíram em 65% pequenos, 30 (%) médio e 5 (%) de grandes. No grupo CN 59 (%) eram pequenos, 38 (%) médios e 3 (%) grandes. No grupo CHS 80 (%) pequenos, 19 (%) médios e 1 (%) grandes e no grupo CHN 58 (%) pequenos, 36 (%) médios e 6 (%) grandes.

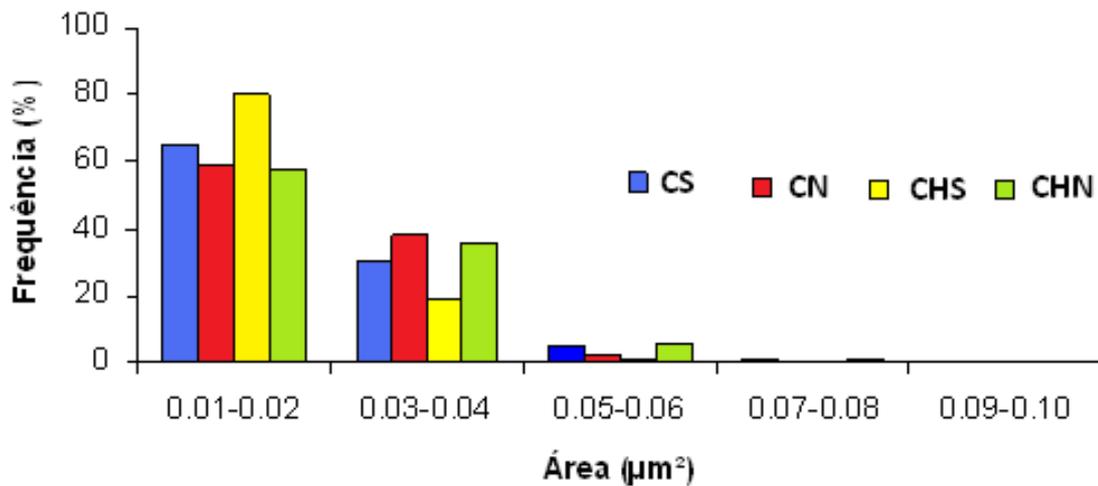


Figura 22. Histograma de frequência dos grânulos atriais quanto à área nos grupos CS, CN, CHS e CHN.

4.4.3. Densidade das organelas e interstício do cardiomiócito atrial por área

Ao analisarmos o átrio direito dos grupos estudados verificamos alterações significativas na densidade de algumas organelas estudadas após o protocolo de exercícios (natação) na Doença de Chagas.

4.4.3.1. Aparelho de Golgi

Analisando o gráfico de densidade do aparelho de Golgi por área (Figura 23 e 29), observamos aumento significativo no grupo CHS ($p < 0,001$) em relação aos outros grupos estudados. Entre os grupos CS, CN e CHN não foi observada diferença significativa. ($p > 0,05$).

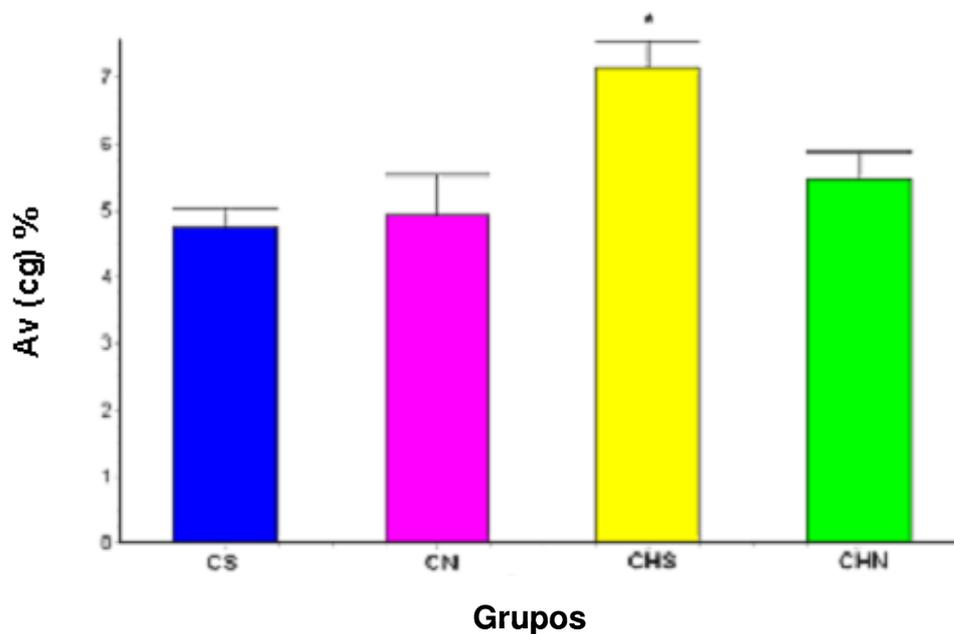
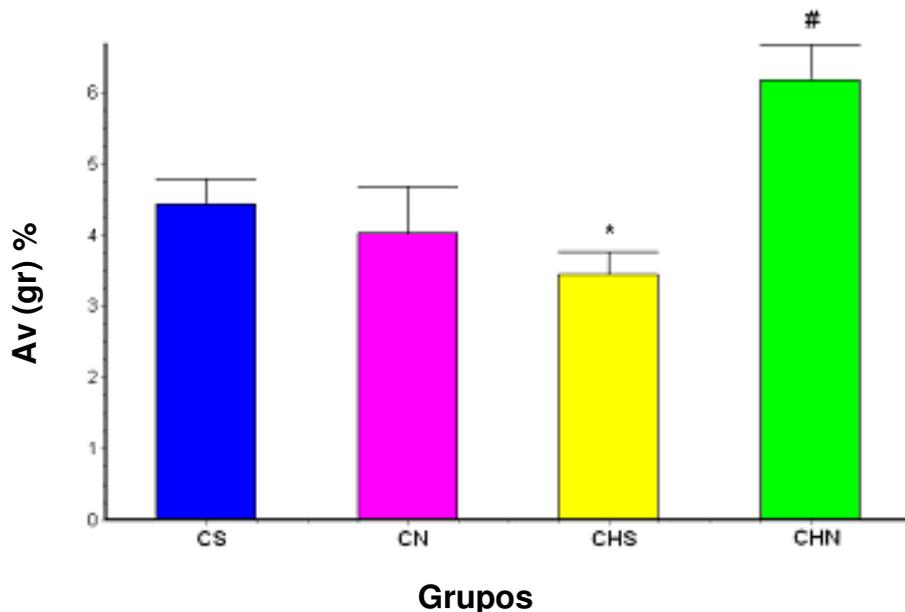


Figura 23. Densidade do Complexo de Golgi por área (%) nos cardiomiócitos dos grupos Controle Sedentário (CS), Controle Nadador (CN), Chagásico Sedentário (CHS) e Chagásico Nadador (CHN). * $p < 0,001$ em relação CS; $p < 0,01$ em relação CHN e $p < 0,05$ em relação CN.

4.4.3.2. Grânulos

Analisando o gráfico da densidade dos grânulos atriais por área (Figura 24 e 29), observamos que os grupos CS, CN e CHS não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre si. Na análise do grupo CHS em relação ao grupo CS houve aumento na densidade dos grânulos ($p<0,05$), Comparando os grupos CN, CHS e CHN não foi observada diferença significativa. ($p>0,05$). Entre os grupos CHS e CHN, observamos que o CHN apresentou uma maior densidade do grânulo por área quando comparado ao grupo CHS ($p<0,001$).



Figur. Sedentário (CS), Controle Nadador (CN), Chagásico Sedentário (CHS) e Chagásico Nadador (CHN). * $p<0,05$ em relação CHN; # $p<0,001$ em relação CHS.

4.4.3.3. Interstício

Na análise do gráfico de densidade de interstício por área (Figura 25 e 29), não foi encontrada diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$), apesar do grupo CN apresentar diminuição de 50% .

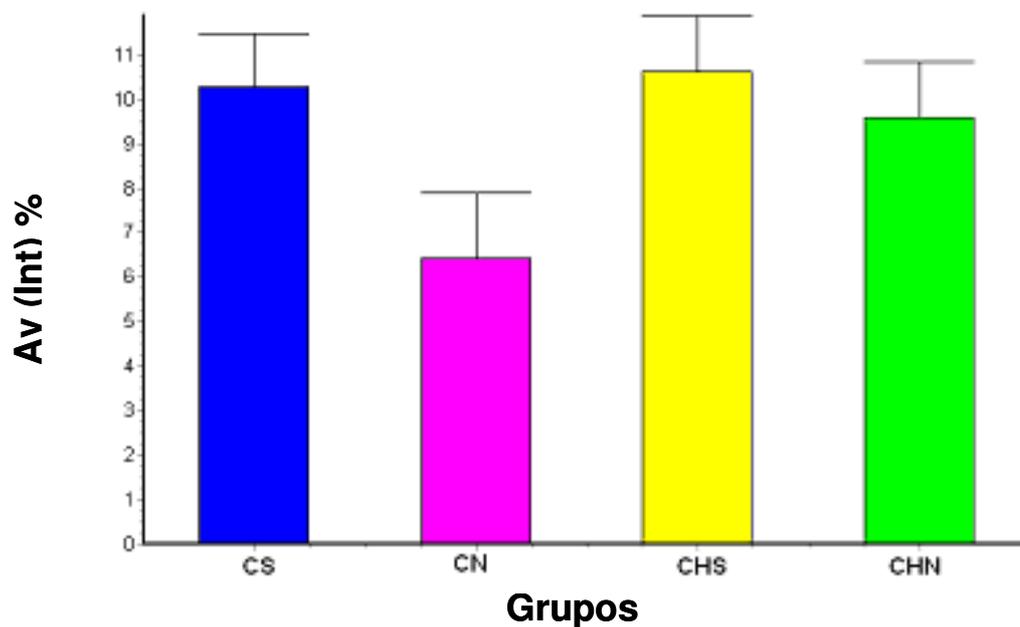


Figura 25. Densidade de interstício por área entre os cardiomiócitos dos grupos Controle Sedentário (CS), Controle Nadador (CN), Chagásico Sedentário (CHS) e Chagásico Nadador (CHN). Não houve significância nos resultados ($p > 0,05$) entre os grupos estudados.

4.4.3.4 Miofibrilas

Na análise do gráfico da densidade das miofibrilas por área (Figura 26 e 29), observamos que o grupo CHN apresentou redução significativa ($p < 0,001$) da densidade das miofibrilas por área em relação ao grupo CS. O grupo CHS apresentou aumento significativo ($p < 0,001$) em relação ao grupo CHN. Entre os grupos CS, CN e CHS não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$).

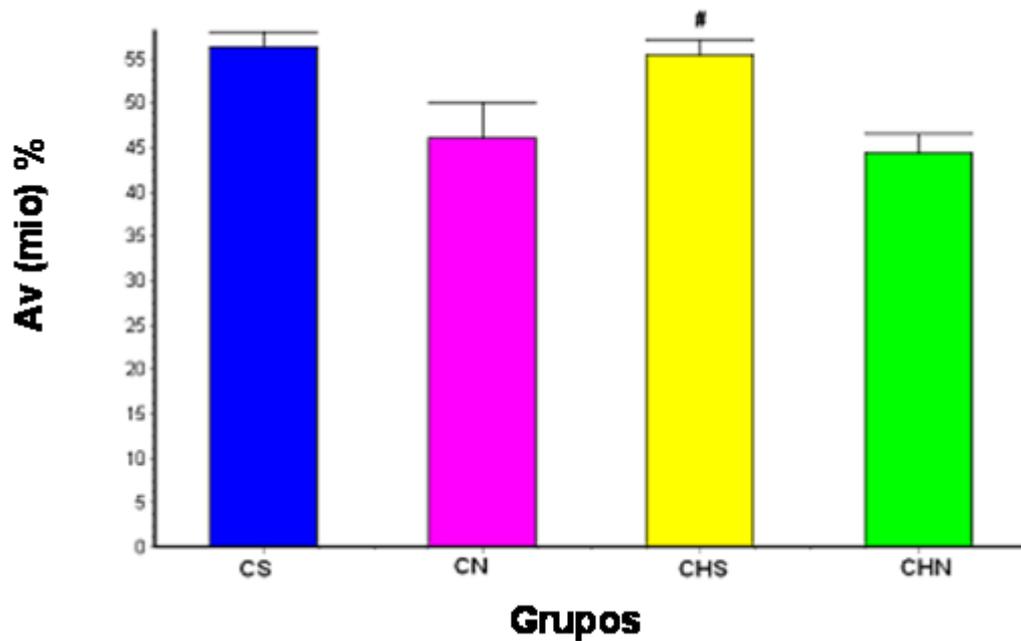


Figura 26. Densidade de área das miofibrilas (%) nos cardiomiócitos dos grupos Controle Sedentário (CS), Controle Nadador (CN), Chagásico Sedentário (CHS) e Chagásico Nadador (CHN). * $p < 0,05$ em relação CS; # $p < 0,001$ em relação CHN.

4.4.3.5 – Mitocôndria

Analisando o gráfico da densidade das mitocôndrias por área (Figura 27 e 29) observamos que os grupos que realizaram exercícios apresentaram maior número de mitocôndrias em comparação com os grupos sedentários.

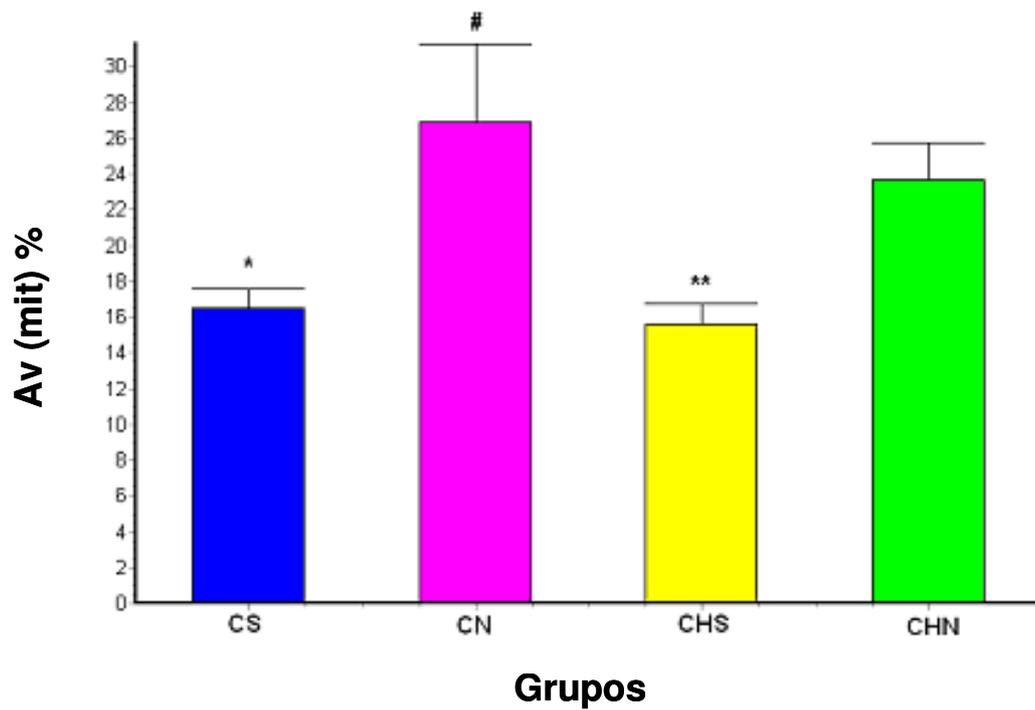


Figura 27. Densidade das mitocôndrias por área (%) nos cardiomiócitos dos grupos Controle Sedentário (CS), Controle Nadador (CN), Chagásico Sedentário (CHS) e Chagásico Nadador (CHN). * $p < 0,05$ em relação CN e CHN; # $p < 0,05$ em relação CHS; ** $p < 0,01$ em relação CHN.

4.4.3.6 – Núcleo

Na análise do gráfico da densidade dos núcleos por área (Figuras 28 e 29) não foi observada diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

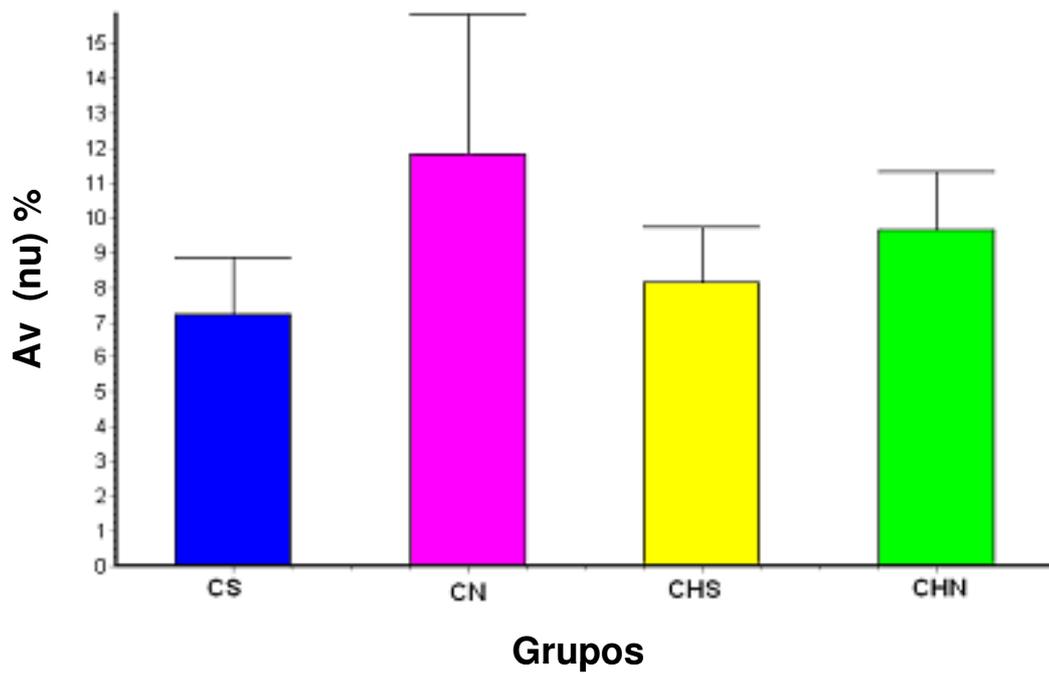


Figura 28. Densidade de núcleo por área (%) nos cardiomiócitos dos grupos Controle Sedentário (CS), Controle Nadador (CN), Chagásico Sedentário (CHS) e Chagásico Nadador (CHN). Não houve significância nos resultados ($p > 0,05$) entre os grupos estudados.

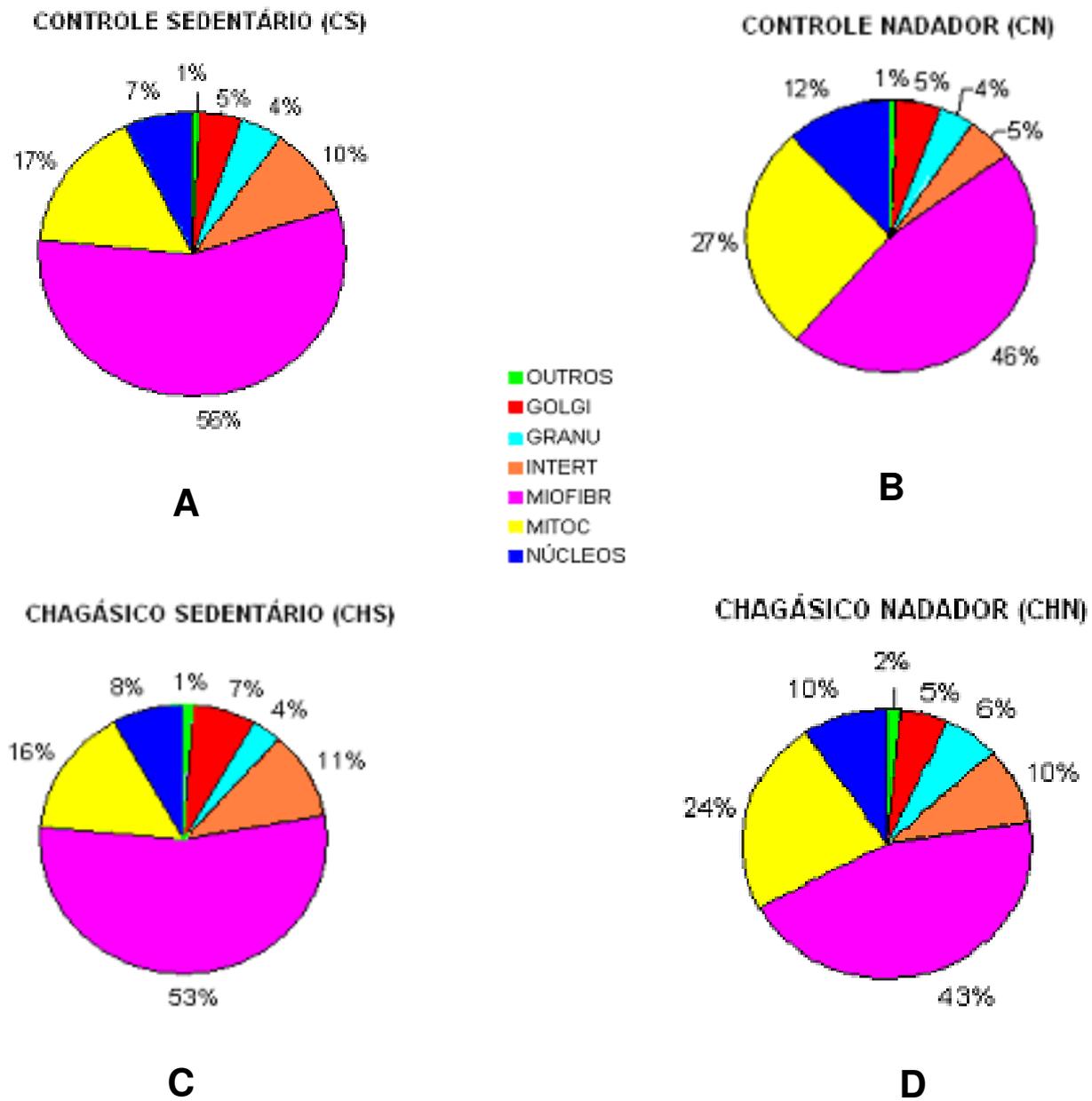


Figura 29. Distribuição das densidades das organelas citoplasmáticas por área entre os grupos CS, CN, CHS e CHN.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Sabemos que a concentração do fator natriurético atrial (ANP) no plasma aumenta durante o exercício principalmente na natação, porque na imersão, ocorre o estabelecimento de uma pressão negativa, devido à pressão da água exercida sobre a parede torácica e abdominal (EPSTEIN, 1976; KRISHNA et al., 1983, BRENNER et al., 1990; RAY et al., 1990), promovendo uma redistribuição do volume sangüíneo, aumento no volume sangüíneo central, inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona e da liberação de vasopressina.

Sabe-se que a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona na insuficiência cardíaca congestiva (ICC) resulta em retenção de sódio e líquido, ocorrendo aumento da volemia e pressão venosa central com conseqüente distensão da parede atrial (RIEGER et al., 1986; AWAZU et al., 1989). Alterações morfológicas e morfométricas são observadas nas organelas citoplasmáticas (CANTIN et al., 1990; RIEGER et al., 1988).

Na Doença de Chagas aguda observa-se uma intensa miocardite associada a alterações do complexo secretório nas células mioendócrinas atriais com conseqüente colapso cardíaco. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência de um modelo de tratamento não farmacológico, o exercício físico, sobre um componente específico do miocárdio, os grânulos de ANP em um modelo experimental de doença de Chagas crônica.

Na análise morfológica e ultra-estrutural do grupo CS, observamos morfologia normal de todas as organelas e cromatina nuclear com densidade homogênea. Os grânulos analisados tinham tamanho e eletrodensidade heterogênea distribuídos ao

redor do núcleo, junto das mitocôndrias e complexo de Golgi. Achados semelhantes ao nosso foi encontrado em ratos com protocolo de treinamento de diferentes intensidades de exercício (PAN, 2008).

Durante nosso estudo ficou demonstrado que o exercício físico moderado beneficia as atividades endócrinas e mecânicas do coração, quando comparamos os grupos dos animais exercitados e não exercitados. Nos animais exercitados observamos aumento na densidade de grânulos por área e no número das mitocôndrias, que de acordo com a literatura é sugestivo de possibilidade de aumento do ANP plasmático. Isto acontece devido ao aumento da pressão nas paredes atriais causada pela volemia durante o exercício físico e conseqüentemente induz ao aumento do ANP nos animais nadadores regulando a resposta cardiovascular. Estes achados estão compatíveis com os resultados encontrados por (MCGRANT et al., 2005; CLERICO et al., 2006), quando estudaram ratos submetidos a exercícios físicos e Shanshan et al. 2005, quando estudaram o efeito do exercício físico na expressão gênica do ANP nos receptores atriais. De acordo com a literatura o ANP é produzido nos cardiomiócitos do átrio direito, e armazenados em grânulos eletrodensos. É excretado por exocitose na periferia da membrana plasmática. Estas observações também foram preconizadas por Theron et al. (1978), Pagi et al. (1986) e Toshimori et al. (1990).

Analisando o peso corpóreo e peso do coração do início ao término do período dos experimentos, entre os grupos estudados, verificamos que nos grupos controle sedentário (CS) e chagásico sedentário (CHS) não houve diferença significativa. O grupo controle nadador (CN), não apresentou diferença significativa no peso corporal, comparado com o grupo chagásico nadador (CHN). Entre os

demais grupos, apesar do chagásico nadador (CHN) apresentar pequena diferença (19,7%) sobre os demais, esta não foi significativa ($p > 0,05$).

Durante a análise da morfologia ultra-estrutural do grupo CHS, encontramos algumas diferenças em relação ao grupo CS. Encontramos os grânulos com tamanho e eletrodensidade heterogênea dispersos no citoplasma de permeio ao sarcolema, condensação citoplasmática e alterações características na cromatina e envoltório nuclear apresentando várias reentrâncias no citoplasma, que falam a favor de um equilíbrio parasito/hospedeiro nesta fase e uma auto-regulação da inflamação pelo processo de apoptose das células efetoras da resposta imunológica, resultados semelhantes foram encontrados em cães por Andrade et al, 1997.

No estudo morfológico ultra-estrutural do grupo controle nadador CN, observa-se interstício reduzido e irregular, com algumas fibras colágenas, de permeio as membranas citoplasmáticas com invaginações geralmente contendo grânulos muito eletrodensos sugestivos de excitose. No citoplasma observa-se grande número de mitocôndrias e miofilamentos espessados formando sarcomeros com linha Z não bem definida. Foi observado que a maioria dos grânulos se apresentou dispersa no citoplasma. Este achado em nosso trabalho também foi observado por (HU et al. 2005), em seus estudos envolvendo animais e humanos.

No estudo morfológico e ultra-estrutural do grupo chagásico nadador CHN, observa-se interstício reduzido membrana plasmática de contorno irregular com inúmeras invaginações contendo grânulos eletrodensos. Foram observadas também, numerosas mitocôndrias, algumas com sinal de degeneração. A cromatina nuclear apresentou-se obscura e eletrodensa concentrada no envoltório nuclear e dispersa no interior do núcleo. Foi observado número de grânulos reduzido, com

predominância de grânulos pequenos e dispersos no citoplasma e ao redor do aparelho de Golgi e das mitocôndrias e na região periférica da membrana citoplasmática. Estes dados observados em nosso trabalho também foram vistos por (WALLACE et al. 1997; QUILES et al.2001) quando estudaram mitocôndrias, exercício físico e síntese de ANP em rato.

Quando comparamos o estudo da densidade numérica dos grânulos atriais dos quatro grupos de animais, verificamos que não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Analisando a área dos grânulos atriais, verificamos que os mesmos apresentam-se heterogêneo em relação ao tamanho. Somente os grupos CHS e CHN tiveram diferença estatística significativa sobre os demais. ($p < 0,01$).

Observamos também que a distribuição de freqüência dos grânulos quanto às áreas, o grupo CHS foi expressivo sobre os demais grupos apresentando 80% de grânulos pequenos e o CHN a maior porcentagem de grânulos grandes; 6,0% em relação aos demais grupos.

A análise estereológica dos grupos de animais, mostra que a densidade dos componentes do cardiomiócitos por área variou dependendo das organelas estudadas. O complexo de Golgi e granulos atriais apresentaram diferença significativa entre os grupos, corroborando com os resultados encontrados em trabalhos de Mifune et al. (1992), que compararam esta diferença entre os átrios de ratos exercitados e encontraram aumento de grânulos atriais. Quanto ao interstício não observamos diferença significativa entre os grupos sedentários se comparados com os grupos nadadores. Observamos diferença significativa nas miofibrilas dos

grupos não exercitados (CS e CHS) comparados com os grupos exercitados (CN e CHN). Observou-se também, diferença estatística significativa nas mitocôndrias dos grupos nadadores se comparados com os grupos não nadadores. Este aumento da densidade das mitocôndrias por área deve-se ao esforço físico durante o exercício para fornecimento de energia nos trabalhos do coração tanto mecânico quanto endócrino na produção do ANP tanto em coração normal quanto em cardiopatias inespecíficas. Estes achados foram observados por muitos autores como Toft et al. (1990) e Altenkirch et al. (1990) trabalhando com modelos humanos e animais sedentários e exercitados. Quanto à densidade dos núcleos não se observou diferença estatística significativa.

Os resultados referentes às densidades de organelas por área, são contraditórios entre os autores; Rine et al. (1986), Chiu et al (1994) atribuindo estas diferenças às espécies de animais modelos. Cantin et al. 1984, Skepper & Navaratnam (1989), Avramovitch et al. (1995) relataram também que o átrio direito é mais ativo ao esforço físico que o átrio esquerdo na produção do ANP. Ficou demonstrado por estes autores que as condições físicas de temperatura, desidratação, estado nutricional e diferentes metodologias podem modificar a densidade numérica e secreção do ANP dos grânulos atriais de um animal experimental.

Muitos autores preconizaram em suas experiências que durante o exercício além das catecolaminas e ANP, ocorre a lipólise fisiológica com ácidos gordurosos fornecendo importante nutrição para o coração (MORO et al., 2004; LAFONTAN et al., 2005) . HU et al. (1988) investigaram o efeito do exercício físico e a circulação do ANP nos pacientes com e sem doença cardíaca isquêmica e encontraram

desproporcional elevação do ANP após exercício físico na isquemia. Zhu et al, (2007) analisaram o ANP pericardial pós-morte com resultado negativo com a troponina cardíaca pericardial. Tanaka et al. 1986 , observaram que os cardiomiócitos do átrio direito são predominantes na produção do ANP. Muitas pesquisas foram realizadas com análise da relação existente entre a secreção do ANP estimulada pelo exercício físico (VOLGELSANG et al., 2006; HALLER et al., 1987; ENGELMANN et al., 2005; BARLETTA et al., 1998).

Nossos resultados sugerem que o exercício físico (moderado) realizado em animais chagásicos é benéfico ao coração, promovendo uma readaptação das seqüelas deixadas pelas lesões dos miócitos causadas durante a parasitemia no decorrer da fase aguda da doença. Este benefício provavelmente foi devido ao aumento da frequência cardíaca, que em resposta estimula a produção dos grânulos atriais eletrodensos e a produção do ANP, atribuindo maior volemia e pressão das paredes atriais e conseqüente aumento da secreção do ANP.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo sobre os efeitos do exercício físico (natação) nos grânulos atriais dos cardiomiócitos de camundongos com doença de chagas crônica, podemos concluir que:

- 1- Nem o exercício, nem a doença de Chagas influenciaram o número de grânulos por área;
- 2- O exercício não influenciou a área dos grânulos;
- 3- A doença de Chagas reduziu significativamente a área dos grânulos;
- 4- O exercício em chagásicos recuperou a perda de área dos grânulos ocorrida com a doença;
- 5- Nem a doença de Chagas, nem o exercício influenciaram o número de miofibrilas, mitocôndrias e interstício mas quando associados, reduziram o número de miofibrilas;
- 6- A doença de Chagas aumentou o complexo de Golgi.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON C.C.; MCCALLY, M.; FARREL, G.L. The effects of atrial stretch on aldosterone secretion. **Endocrinology**, v. 64, p. 202-7, 1959.
- ANDRADE, Z. ; ANDRADE, S. G. ; VJ, W. J. H. S. F. . The indeterminate phase of Chagasdisease: ultrastructural characterization of cardiac changes in the canine model.. **Amer J Trop Med Hyg**, v. 57, p. 328-336, 1997.
- ALTENKIRCH, H.U.; GERZER, R.; KIRSCH, K.A.; WEIL, J.; HEYDUCK, B.; SCHULTES, I.; ROCKER, L. Effect of prolonged physical exercise on fluid regulating hormones. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 61, p. 209-213, 1990.
- AWAZU, M.; IMADA, T.; KON, V.; INAGAMI, T.; ICHIKAWA, I. Role of endogenous atrial natriuretic peptide in congestive heart failure. **Am J Physiol**, v. 257, p. R641-R646, 1989.
- ARETZ, H. T. Myocarditis: the Dallas criteria. **Hum Pathol.**, v. 6, p. 619-624, 1987.
- AVRAMOVITCH, N.; HOFFMAN, A.; WINAVER, J.; HARAMATI, A.; LEWINSON, D. Morphometric analysis of atrial natriuretic peptide-containing granules in atriocytes of rats with experimental congestive heart failure. **Cell Tissue Res**, v. 279, p. 575-583, 1995.
- BARLETTA, A.; STEFANI, L.; DEL BENE, R.; FRONZAROL, C.; VECCHIARINO, S.; LAZZER, C.; FANTINI, F.; LA VILLA, G. Effects of exercise on natriuretic peptides ad cardiac functi in man. **International Journal of cardiology**, v. 65, p. 217-225, 1998.
- BERGER, J.M.; RONA, G. Functional and fine structural heterogeneity of atrial cardiocytes. **Methods Achiev Exp Pathol**. v. 5, p. 540–590, 1971.
- BESTETTI, R.B; DALBO, C.M.R.; FREITAS, O.C.; TENO, L.A.C.; CASTILHO, O.T.; OLIVEIRA, S.M.O. Noninvasive predictors of mortality for pacientes with Chagas' heart disease: a multivariate stepwise logistic regression study. **Cariology**, Basel, v. 84, n. 4-5, p. 261-7, 1994.
- BESTETTI, R.B.; MUCCILLO, G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparasion with dilated cardiomyopathy. **Int J Cardiol**, Sidney, v.60, p.1871-193, 1997.
- BIANCHI, C.; GUTKOWSKA, J.; THIBAUT, G.; GARCIA, R.; GENEST, J.; CANTIN, M. Radioautographic localization of I-atrial natriuretic factor (ANF) in rat tissues. **Histochemistry**, v. 82, p-441-452, 1985.
- BLOCH, K.D.; SEIDMAN, J.G.; NAFTILAN, J.D.; FALLON, J.T.; SEIDMAN, C.E. Neonatal atria and ventricles secrete atrial natriuretic factors via tissue-specific secretory pathways. **Cell**, v.47, p. 695-702, 1986.
- BRADY, A.J. Mechanical properties of isolated cardiac myocytes. **Physiol**, v. 71, p. 413, Rev, 1991.

BRAUNWALD, E. Congestive heart failure: a half century perspective. **European Heart Journal**, London, v.22, p.825-836, 2001.

BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Rev Inst Med Trop**, v. 4, p.389-396, 1962.

BRENNER, B.M.; BALLERMANN, B.J.; GUNNING, M.E.; ZEIDEL, M.L. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. **Physiol Rev**, v. 70, p. 665-699, 1990.

BRENNAN, L.A.; MALVIN, R.L.; JOCHIM, K.E. Influence of right and left atrial receptors on plasma concentrations of ADH and renin. **Am J Physiol**, v. 221, p. 273-8, 1971.

BRUEL A, OXLUND H, NYENGAARD JR. Growth hormone increases the total number of myocyte nuclei in the left ventricle of adult rats. **Growth Horm & IGF Res**, 2002.

CALIARI, M.V.; TAFURI, W.L. O coração endócrino. A descoberta do peptídeo natriurético atrial. **Arq Bras Cardiol**, v.61, n.5, p. 283-286, 1993.

CANÇADO, J.R.; CHUSTER, M.; PEDROSA, R.C. Aspectos evolutivos da cardiopatia aguda. *In*: CANÇADO, J.R.; CHUSTER, M. Cardiopatia chagásica, **Fundação Carlos Chagas**, Belo Horizonte, p. 134-40, 1985.

CANTIN, M. Immunocytochemical localization of atrial natriuretic factor and salivary glands. **Histochemistry**, v.80, p. 113-127, 1984.

CANTIN, M.; THIBAUT, G.; HAILE-MESKEL, H.; BALLAK, M.; JASMIM, G.; GENEST, J. Immuno-electron microscopy of atrial natriuretic factor secretory pathways in atria and ventricles of control and cardiomyopathic hamsters with heart failure. **Cell Tissue Res**, v. 261, p.313-322, 1990.

CHAGAS, C. Nova Tripanossomíase humana. **Mem Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.1; p.159-218,1909.

CHAPEAU, C.; GUTKOWSKA, J.; SCHILLER, P.W.; MILNE, R.W.; THIBAUT, G.; GARCIA, R.; GENEST, J.; CANTIN, M. Localization of immunoreactive synthetic atrial natriuretic factor (ANF) in the heart of various animal species. **J Histochem Cytochem**, v. 33(6), p. 541-550, 1985.

CHIU, I.S.; CHIANG, F.T. HOW, S.W. Atrial natriuretic peptide is produced less in the intercaval sinus than in the pectinated right atrium. **J Thorac Cardiovas Surg**, v. 42, p. 158-161, 1994.

CHO, K.W.; SEUL, K.H.; KIN, S.H.; SEUL, K.M.; KOH, G.Y. Atrial pressure, distention, and pacing frequency in ANP secretion in isolated perfused rabbit atria. **Am. J. Physiol**, v.260, p.R39-R46, 1991.

CLERICO, A.; RECCHIA, F.A.; PASSINO, C.; EMDIN, M. Cardiac endocrine function is an essential component of the homeostatic regulation network: physiological and clinical implications. **Am J Physiol Heart Circ Physio**, v.290, p. H17-H29, 2006.

COLUCCI, W.S.; BRAUNWALD, E. Pathophysiology of heart failure. In: BRAUNWALD, E (ed) **Heart Disease**. A textbook of cardiovascular medicine 5th ed, Philadelphia, WB Saunders, cap 13, p. 394-420, 1997.

CUBILLOS-GARZON, L.A.; CASAS, J.P.; MORILLO, C.A. Congestive heart Failure *in*: Latin América: The next epidemic. **Am Heart J**, London, v.147 n. 3: p. 412-7, mar. 2004.

DE BOLD, A.J. Atrial natriurético factor: a hormone produced by the heart. **Science**, v. 230, p. 767-770, 1985.

DE BOLD, A.J.; BORENSTEIN, B.H.; BERESS, A.T., SONENBERG, H. A rapid and potente natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. **Life Science**, v. 28, p.89-94, 1981.

DE SOUZA, R.R.; GAMA, E.F.; MACEDO, E. Estudo quantitativo dos grânulos atriais e sua relação com o fator natriurético em ratos corredores. In: XXVIII Simpósio Internacional de Ciência do Esporte, 2005, São Paulo. Revista Brasileira de Ciência e Movimento, 2005. v. 13. p. 167-167.

DE WARDENER, H.E.; MACGREGOR, G.A.; CLARKSON, E.M.; ALAGHBAND-ZADEH, J.; BITENSKY, L.; CHAYEN, J. Effect of sodium intake on ability of human plasma to inhibit renal Na⁺ -K⁺ -adenosine triphosphatase in vitro. **Lancet**, v. 1, p. 411-12, 1981.

DIAS, J.C.P. Historia natural da cardiopatia chagásica. *In*: CANÇADO, J.R.; CHUSTER, M. Cardiopatia chagásica. **Fundação Carlos Chagas**, Belo Horizonte, p.99-113, 1985.

DIAS, J.C.P. The indeterminate form of human cronic Chagas disease. A clinical epidemiological review. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.22, p.147 – 56, 1989.

ENGELMANN, M.D.; NIEMANN, L.; KANSTRUP, I.L.; SKAGEN, K.; GODTFREDSSEN, J. Natriuretic peptide response to dynamic exercise in patients with atrial fibrillation. **Int J Cardiol**, v.105, p.31-39, 2005.

EPSTEIN, M. Cardiovascular and renal effects of head-out water immersion im man. Application of the model in assessment of volume homeostasis. **Circ. Res**, v.39, p.619-28, 1976.

FORSSMANN, W.G.; HOCK, D.; LOTTSPREICH, F.; HENSCHEN, A.; KREYE, V.; CHRISTMANN, M.; REINECKE, M.; METZ, J.; CARLQUIST, M.; MUTT, V. The right auricle of the heart is na endocrine organ: cardilatin as a peptide hormone candidate. **Anat. Embryol**, v.168, p.307-313, 1983.

FRANCHINI, K.G. Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares. **Brás Hipertens**, v.8, n.1, janeiro/março, 2001.

GARDNER, D.G.; DESCHEPPER, C.F.; GANONG, W.F.; HANE, S.; FIDDES, J.; BASTER, J.D.; LEWICKI, J. Estra-atrial expression of the gene for atrial netriuretic factor. **Proc Nat Acad Sci**, v. 83, p. 6697-6701, 1986.

GAUER, O.H.; HENRY, J.P.; SIEKER, H.O. Cardiac receptors and fluid volume control. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 4, p. 1-26, 1961.

GHEORGHIADÉ, M.; BONOW, R.O. Introduction and overview: beta-blocker therapy in the management of chronic heart failure. **Am J Med**, New York, v.110 (suppl 7A), p. 1S-5S, 2001.

GHORAYEB, N.;BATLOUNI, M.; PINTO, I.M.F.; DIOGUARDI, G.S. Hipertrofia ventricular esquerda do atleta: Resposta adaptativa fisiológica do coração. **Arq. Brás.de Card**, v.83, p.3, 2005.

GILLOTEAUX, J.; JENNES, L.; MENU, L.; VANDERHAEGHEN, J.J..Ultrastructural immunolocalization of the atrial natriuretic factor pathways in fetal, neonatal, and adult Syrian hamsters: from the atrial cardiomyocytes to the circulation via the endocardium, atrial capillaries and epicardium. **J Submicrosc Cyto. Pathol**, v. 23 (1), p. 75-91, 1991.

GOETZ, K.L.; WANG B.C.; GEER, P.G. Atrial stretch increases sodium excretion independently of release of atrial peptides. **Am J Physiol**, 250: R946-50, 1986

GOIN, J.C.; BORDA E.; LEIROS, C.P.; STORINO, R.; STERIN-BORDA, L. Identification of antibodies with muscarinic cholinergic activity in human Chagas' disease. **J Auton Nerv Syst**, [s.l.] v. 47: p. 45-52, 1994.

GOODMAN, J.M.; LOGAN, A.G.; MCLAUGHLIN, P.R.; LAPRADE, A.; LIU, P.P. Atrial Natriuretic Peptide during Acute and Prolonged Exercise in Well-Trained Men. **Int J Sports Med**, v. 14, p. 185-190, 1993.

HALLER B.G.; ZUST, H.; SHAW, S.; GNADINGER, M.P.; UEHLINGER, D.E.; WIENDMANN, P. Effect of posture and ageing on circulatory atrial natriuretic peptide level in man. **Hypertension**, v. 5, p. 551-556, 1987.

HENRY, J.P.; GAUER, O.H.; REEVES, J.L. Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. **Circ Res**, v. 4, p.85-90, 1956.

HIGUCHI, M.L.; BENVENUTI, L. A.; REIS, M.M.; METZGER, M. Pathophysiology of the heart in chagas' disease: current status and new developments. **Cardiovascular Research**, London, v. 60, p.96-107, 2003.

HU, D.C.; WONG, E.F.; WONG, N.L. The differential response in atrial natriuretic peptide release during exercise in patients with and without ischemic heart disease. **Am J Med Sci**, v.269, p. 111-113, 1988.

HU, Y.Z.; CHENG, B.C.; WANG, H.P.; HU, S. The ultrastructure change of cardiomyocyte in Athlete's Heart. **Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi**, v. 33, p. 936-939, 2005.

IIDA, H.; BARRON, W.M.; PAGE, E. Monensin turns on microtubule-associated translocation of secretory granules in cultured rat atrial myocytes. **Circ Res**, v. 62, p. 1159-1170, 1988.

JAMES, T.N. Anatomy of the human sinus node. **Anat Rec**, New York, v. 141, p. 109-135, 1961.

JAMIESON, J.D.; PALEDE, G.E. Specific granules in muscle cells. Rockefeller Institute. **The Journal of Cell Biology**, v.93, 1964.

KISCH, B. Electron Microscopy of the Atrium of the Heart. I. Guinea Pig. **Exp. Med. Surg.**, v.14, p. 99-112, 1956.

LI, CH.; PAN, L.; LI, CY.; ZHU, CL.; XU, WX. Localization of ANP synthesizing cells. In rat stomach. **World J Gastroenterol**, v.12(35), p.5674-9, 2006.

KRISHNA, G.G.; DANOVITCH, G. M.; SOWERS, J. R. Catecholamine Responses to Central Volume Expansion Produced by Head-Out Water Immersion and Saline Infusion. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 56, n. 5, p. 998-1002, 1983.

LANFONTAN, M.; MORO, C.; SENGES, C.; GALITZKY, J.; CRAMPES, F.; BERLAN, M. An unsuspected metabolic role for atrial natriuretic peptides. The control of lipolysis, lipid mobilization, and systemic nonesterified fatty acids levels in humans. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.25, p. 2032, 2005.

MAACK, T. The broad homeostatic role of natriuretic peptides. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.50, n.2, p.198-207, 2006.

MADY, C.; CARDOSO, R.H.; BARRETTO, A.C.; DA LUZ, P.L.; BELLOTTI, G. PILEGGI, F. Survival and predictors of survival in patients with congestive heart failure due to chagas'cardiomyopathy. **Circulation**, Dallas, v.90, n.6, p.3096-102, 1994.

MAGUIRE, J.H.; Chagas disease – can we stop the deaths? **N Engl. J. Med**, Boston, v.355, n.8, p.760-61, 2006.

MARIN-NETO, J.A.; SIMÕES, M.V.; SARABANDA, A.V.L. Cardiopatia Chagásica. **Arq Brás Cardiol**, v.72, p.247-63, 1999.

MASSON-PÉVET, M.A.; BLEEKER, W.K.; BESSELSSEN, E.; TREYTEL, B.W.; JONGSMA, H.J.; BOUMAN, L.N. Pacemaker cell types in the rabbit sinus node: a correlative ultrastructural and electrophysiological study. **J Mol Cell Cardiol**, London, v.16, p.53-63, 1984.

MCGRATH, M.F.; DE BOLD, M.L.; DE BOLD, A.J. The endocrine function of the heart. **Trends Endocrinol Metab**, v. 16, p. 469-477, 2005.

MCGRATH, M.F.; MERCEDES, L.; DE BOLD, K.; DE BOLD, A. J. The endocrine function of the heart. **Trends endocrinol Metab**, v.16, n.10, p. 469-477, 2005.

MELO-DA-SILVA, A.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Morfologia e reconstrução anatômica do nó e da artéria do nó sinoatrial no coração de *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Ciências Morfofisiológicas**, Ribeirão Preto, v. 11, p. 82-87, 1994.

MERCEDES, L.; DE BOLD, K.; DE BOLD, A.J. Stretch-secretion coupling in atrial cardiocytes: dissociation between atrial natriuretic factor release and mechanical activity. **Hypertension**, v. 18 (suppl III), p. III169-III178, 1991.

MIFUNE, H.; SUZUKI, S.; NODA, Y.; HAYASHI, Y.; MOCHIZUKI, K. Fine structure of atrial natriuretic peptide (ANP)-granules in the atrial cardiocytes in the hamster, guinea pig, rabbit, cat and dog. **Jikken Dobutsu**, v. 41, p. 321-328.

MOLKENTIN J.D. A friend within the heart: Natriuretic peptide receptor signaling. **J Clin Invest**, United States, p. 1275-1277, 2003.

MORO, C.; GRAMPES, F.; SENGENES, C.; DE GLISEZINSKI, I.; GALITZKY, J.; THALAMAS, C.; LAFONTAN, M.; BERLAN, M. Atrial natriuretic peptide contributes to physiological control of lipid mobilization in humans. **FASEB J**, v. 18, p. 908-910, 2004.

OHBA, H.; TAKADA, H.; MUSHA, H.; NAGASHIMA, J.; MORI, N.; AWAYA, T.; OMIYA, K.; MURAYAMA, M. Effects of prolonged strenuous exercise on plasma levels of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in healthy men. **Am Heart J**, Japan, v.141, n.5, p.751-758, 2001.

OKAMOTO, K.Y.; YAMORI, Y.; NAGAOKA, A. Establishment of the Stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). **Circ Res**, v. 34/35 (Suppl. I), p. 143-153, 1974.

OTSUKA, N.; OKAMOTO, H.; TOMISAWA, M. Electron and fluorescence microscopic study of specific granules in rat atrial muscle cells. **Arch Histol Jap**, v. 30, p. 367-374, 1969.

OPS – ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAUDE, 2006.

PAGE, E.; GOINGS, G.E.; POWER, B.; UPSHAW-EARLEY, J. Ultrastructural features of atrial peptide secretion. **Am J Physiol**, v. 251, p. H340-H348, 1986.

PAGE, E. AND SHIBATA, Y. Permeable junctions between cardiac cells. **Anu. Rev. Physiol**, v.43, p.431, 1981.

PALADE, G.E. Secretory granules in the atrial myocardium. **Anat.Rec**, v.39, p.262, 1961.

PIAZZA, L.A.; RUBIOLO, E.R.; HLIBA, E.; SANTAMARINA, N. Atrial natriuretic factor in experimental acute chagas' disease. **Men.Inst. Oswaldo Cruz**, v.87, p.323-324, 1992.

QUILES, J.L.; HUERTAS, J.R.; MANAS, M.; OCHOA, J.J.; BATTINO, M.; MATAIX, J. Sietary FAtype and regular exercise affect mitochondrial composition and function depending on specific tissue in the rat. **J Bioenerg Biomembr**, v. 33, p. 127-134, 2001.

RAY, C.A.; DELP, M.D.; HARETLE, D.K. Interactive effect of body posture on exercise-induced atrial natriuretic peptide release. **Am J Physiol**, v. 258, p. E775-E779.

RICHARDS, A.M. Natriuretic peptides. Update on peptide release, bioactivity, and clinical use. **Hypertension**, v.50, n.1, p.25-30, 2007.

RIEGGER, G.A.J.; ELSNER, D.; KROMER, E.P.; DAFFNER, C.; FORSSAMANN, W.G.; MUDERS, F.; PASCHER, E.W.; KOCHSIEK, K. Atrial natriuretic peptide in congestive heart failure in the dog: plasma levels, cyclic guanosine monophosphate, ultrastructure of atrial myoendocrine cells, and hemodynamic, hormonal, and renal effects. **Circulation**, v. 77, p. 398-406, 1988.

- RIEGGER, G.A.J.; KROMER, E.P.; KOCHSIEK, K. Atrial natriuretic peptide in patients with severe heart failure. **Klin wochenschr**, v.64, p. 89-92, 1986.
- RINNE, A.; VUOLTEENAHO, O.; JÄRVIENEN, DORN, A.; ARJAMAA, O. Atrial natriuretic polypeptides in the specific atrial granules of the rat heart: immunohistochemical and immunoelectron microscopical localization and radioimmunological quantification. **Acta Histochem**, v. 80, p. 19-28, 1986.
- ROCHA, M.O.C.; RIBEIRO, A.L.P.; TEIXEIRA, M.M. Clinical management of chronic chagas cardiomyopathy. **Front Biosci**, Basel, v.1, n.8, p.44-54, jan. 2003.
- ROFFE, C. Ageing of the heart. **Br J Biom Sci**, v.55, p. 136-148, 1998.
- SHANSHAN, P.; YAN, Z.; AIYUN, L.; CHEN, P. Effect of exercise on gene expression of atrial natriuretic peptide receptor of kidney. **Life Sci**, v. 76, p. 1921-1928, 2005.
- SCHIEBEINGER, R.J.; GREENING, K.M. Interaction between stretch and hormonally stimulated atrial natriuretic peptide secretion. **Am J Physiol**, v.262, p. H78-H83, 1992.
- SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, v.26(1), p.57-60, 1970.
- SILVA, L.B.; FERREIRA, C.A.; BLACHER, C.; LEÃES, P.; HADDAD, H. Peptídio Natriurético Tipo-B e Doenças Cardiovasculares, **Arq Brás Cardiol**, v.81, n.5, p. 529-34, 2003.
- SKEPPER, J.N. AND NAVARATMAN, N. Analysis of the apparent heterogeneity of specific heart granules in rat atrial myocytes; an ultrastructural study including immunocytochemistry. **Histochem. J**, v.20, p. 1-10, 1988.
- STERIN-BORDA, L.; COSSIO, P.M.; GIMENO, M.F.; GIMENO, A.L. DIEZ, C.; LAGUENS, R.P.; MECKERT, P.C.; ARANA, R.M. Effect of chagasic sera on the rat isolated atrial preparation: immunological, morphological and function aspects. **Cardiovasc Res**, London, v.10, n.6, p.613-22, 1976.
- TAFURI, W.L. Pathogenesis of *Trypanosoma cruzi* infection. In: LUMSDEN, W.; EVANS, D. (eds) *Biology of the kinetoplastida*, vol.2. Academic Press, London, p.117-196, 1979.
- TANAKA, H.; SHINDO, M.; GUTKOWSKA, J.; KINOSHITA, A.; URATA, H.; IKEDA, M.; ARAKAWA, K. Effect of acute exercise on plasma immunoreactive atrial natriuretic factor. **Life Science**, v. 39, p. 1685-1693, 1986.
- THERON, J.J.; BIAGIO, R.; MEYER, A.C.; BOEKKOOI, S. Ultrastructural observations on the maturation and secretion of granules in atrial myocardium. **J Mol Cell Cardiol**, v. 10, p. 567-572, 1978.
- THIBAUT, G.; GARCIA, R.; CARRIER, R.; SEIDAH, N.G.; LAZURE, C. CHRÉTIEN, M.; GENEST, J. Structure-activity relationship of atrial natriuretic factor (ANF). I. Natriuretic activity and relaxation of intestinal smooth muscle. **Biochem Biophys Res Commun**, v.125, p. 938-946, 1984.

TOFT, E.; ERNST, E.; ESPERSEN, G.T; KALUND, S. Plasma atrial natriuretic peptide in elite runners. **Int J Sports Med**, v. 11, p. 215-217, 1990.

TORRES, F.W.; ACQUATELLA, H.; CONDADO, J.A.; DINSMORE, R.; PALACIOS, I.F. Coronary vascular reactivity is abnormal in patients with Chagas heart disease. **Am Heart J**, New York, v.129, p.995-1001, 1993.

THOSHIMORI, H.; THOSHIMORI, K.; MINAMINO, N.;KANGAWA, K.; OURA, C.; MATSUKURA, S.; MATSUO, H. Chicken atrial natriuretic peptide (chANP) and its secretion. **Cell Tissue Res**, v. 259, p. 293-298, 1990.

VOGELSANG, T.W.; YOSHIGA, C.C.; HOJGAARD, M.; KJAER, A.; WARBERG, J.; SECHER, N.H.; VOLIANITIS, S. The Plasma ANP response to arm and leg exercise: effect of posture. **Exp Physiol**. v.91(4), p.765-71, 2006.

WALLACE, K.B.; EELLS, J.T.; MADEIRA, V.M.; CORTOPASSI, G.; JONES, D.P. Mitochondria-mediated cell injury. **Symposium overview. Fundam Appl Toxicol**, v. 38, p. 23-37, 1997.

WILDEY, G.M. FISCHMAN, A.J.; FALLON, J.T.; MATSUEDA, G.R.; ZISFEIN, J.B.; PREIBISCH, G.; SEIPKE, HOMCY, C.J.; GRAHA, R.M. Cellular processing of Pro-Atrial Natriuretic Factor (Pro-ANF): studies using an antiserum that selectively binds ANF- (99-126) after its cleavage form Pro-ANF. **Endocrinology**, v.123, p. 2054-2061, 1988.

WINGRAD, S. Regulation of cardiac contractile proteins. Correlations between physiology and biochemistry. **Circ. Res**, v.55, p.565, 1984.

ZHU, B.L.; ISHIKAWA, T.; MICHIEUE, T.; LI, D.R.; ZHAO, D.; TANAKA, S.; KAMIKODAI, Y; TSUDA, K.; OKAZAKI, S.; MAEDA, H. Postmortem pericardial natriuretic peptides as markers of cardiac function in medico-legal autopsies. **Int J Legal Med**, v.121, p. 28-35, 2007.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)