

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**

**PEDRO LUIZ GARCIA BRAGA**

**“INFLUÊNCIA DA NATAÇÃO NA INDUÇÃO DE ARRITMIA,  
NA MODULAÇÃO AUTONÔMICA E NO  
REMODELAMENTO CARDÍACO DE RATO.”**

**Mogi das Cruzes – SP  
2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**

**PEDRO LUIZ GARCIA BRAGA**

**“INFLUÊNCIA DA NATAÇÃO NA INDUÇÃO DE ARRITMIA,  
NA MODULAÇÃO AUTONÔMICA E NO  
REMODELAMENTO CARDÍACO DE RATO.”**

Dissertação apresentada à Comissão de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC), para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica.

**Orientador: Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy**

**Mogi das Cruzes – SP  
2010**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Braga, Pedro Luiz Garcia

Influência da natação na indução de arritmia, na modulação autonômica e no remodelamento cardíaco de rato / Pedro Luiz Garcia Braga. – 2010.

95 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) -  
Universidade de Mogi das Cruzes, 2010

Área de concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

1. Indução de arritmias 2. Rato – átrio isolado 3.  
Modulação autonômica 4. Remodelamento cardíaco 5.  
Natação – exercício físico I. Godoy, Carlos Marcelo  
Gurjão de

CDD 619.93

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO  
EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

No dia 25/01/10 o candidato *Pedro Luiz Garcia Braga*, após realizar os créditos exigidos, ser aprovado no exame de Proficiência em Inglês, e no exame de Qualificação, apresentou o trabalho "*Influência da Natação na Indução de Arritmia, na Modulação Autonômica e no Remodelamento Cardíaco de rato*" para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Os membros da banca consideram o candidato:

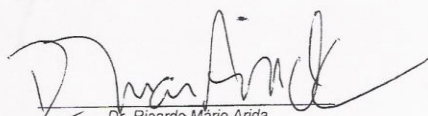
Dr. Ricardo Mário Arida  
Dr. Luciano Allegretti Mercadante  
Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

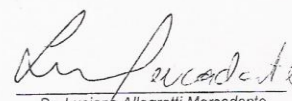
**Conceito**

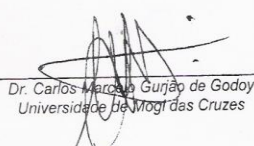
APROVADO

APROVADO

APROVADO

  
Dr. Ricardo Mário Arida  
Universidade Federal de São Paulo

  
Dr. Luciano Allegretti Mercadante  
Universidade Estadual de Campinas

  
Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy  
Universidade de Mogi das Cruzes

## DEDICATÓRIA

*As pessoas não se tornam especiais por sua maneira de pensar ou agir,  
mas pela profundidade com que atingem nossos sentimentos.*

*Por isso dedico esse trabalho de pesquisa a quem é para mim é fundamental  
na minha vida em minhas conquistas: Rita de Cássia, minha adorável mãe.*

## AGRADECIMENTOS

*“Não seria possível realizar este trabalho sozinho”.*

Por isso agradeço,

A Deus, que me possibilitou percorrer este caminho com êxito e proviu-me de sabedoria nos momentos difíceis para que nunca desistisse.

Aos meus pais *Rita de Cássia e Manoel*, que me deram a vida, e também aqui a *Henrique*, que juntos pelo amor me ensinam o valor da vida e como vivê-la com dignidade, sou muito grato. Vocês, que sempre orientaram os caminhos, mas deixando claro *“a escolha é sua”*, podem hoje comigo rir e até mesmo chorar de alegria por esta conquista, vocês têm participação fundamental nesta conquista. Mãe, a você, que se doou inteira, renunciando a muitas de suas vontades e sonhos, para que, muitas vezes, eu pudesse realizar o meu. Pelas noites em que ficou até tarde, mesmo após um exaustivo dia, corrigindo minhas lições, trabalhos, tarefa de casa, posso agora entregar este em mãos e ainda dizer que, é o mais importante e você novamente o corrigiu após um cansativo dia de trabalho, *muitíssimo obrigado*. A vocês meus pais (Dona Rita, Seu Nelo e Henrique), não apenas pais, mas também amigos, companheiros e até surfistas ou lutadores de Jiu-Jitsu, por natureza, por opção e amor, não bastaria dizer, que amo vocês, não tenho palavras para agradecer tudo isso. Mas é o que escrevo agora, pois só vocês sabem o quanto importante é mais esta conquista e o quanto duro ela foi. Vocês viam muitas vezes eu tendo que optar entre trabalho e estudo, querendo algumas vezes até desistir, mas estavam lá e falavam *“faça bem feito os dois”*. Serei eternamente grato a vocês.

Não posso deixar de agradecer quem é mãe duas vezes: Vó Dirce e Vó Jacyra. Graças à dedicação, empenho e carinho na criação podem colher esta conquista. Ao meu irmão José Renato por todas as experiências de amizade que partilhamos na vida familiar e por todo apoio.

A minha namorada, amiga, companheira Joyce por sua permanente tolerância, compreensão, respeito e principalmente, empenho profissional, a qual me espelho muito, foram fundamentais nesta trajetória.

Muitos outros fazem parte desta conquista. Tias, tios, primos, amigos, muito obrigado mesmo.

Contudo, alguns também merecem aqui um agradecimento especial:

Estas pessoas são aquelas que de alguma forma contribuíram para este trabalho. Amigos, que por muitas vezes rimos e brigamos juntos, trabalhamos muito e divertimos muito também, pessoas que simplesmente marcaram esta passagem e que sempre terei no meu coração, para sempre.

*Ao Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy*, um exemplo de vida. Paciente e sábio como poucos, um dia com muita suavidade me questionou no CECERFI “*o quanto o exercício faz bem?*” Nascia, então, o tema para este trabalho. Trabalho que com sua sabedoria foi sendo lapidado diariamente no laboratório. Persistente como poucos, me ensinou e motivou a contornar obstáculos e vencer desafios, retirando dos momentos de desilusão uma lição de vida e uma oportunidade de crescimento.

Sou muito grato ao *Prof. Dr. Afonso Caricati Neto* que, caminhando junto comigo, contribuiu duramente nesta pesquisa. Com sua sabedoria e experiência de pesquisador soube dar subsídios para a concretização deste trabalho.

Seria injusto se neste espaço deixasse de agradecer ao Prof. Dr. Ivarne Luís dos Santos Tersariol pelas inúmeras vezes em que dedicou seu tempo neste trabalho. Também aos amigos João Vianeí Effting Júnior, José Gustavo e Sergio Gomes, pois foram amigos em todas as horas, dias e noites, e mais do que ninguém trabalharam comigo neste trabalho.

Também agradeço humildemente a Kleber Magalães, Enio Vasques, Mauricio Marques, Frederico Vasconcelos, Douglas Moreira, Paulo Gomes, Adriessa dos Santos, Ivan Vivas, Beatriz Jordão, Marília Ferreira, Terezinha Lorena, Eduardo Santos e Jefferson Andrade e a todos os colegas, que com diferentes participações sempre me apresentaram um aporte positivo para a conquista do objetivo final. A todos.....

Serei imensamente GRATO!!!!



## EPÍGRAFE

*"A educação é aquilo que permanece depois que  
tudo o que aprendemos foi esquecido."*

*Burrhus Frederic Skinner*

## RESUMO

Alguns estudos recentes têm mostrado que o exercício físico (inclusive a natação) pode levar à chamada bradicardia de repouso por aumentar a atividade colinérgico-muscarínica. Por outro lado, outros estudos recentes mostram que o aumento (ou diminuição) da atividade colinérgico-muscarínica facilita (ou dificulta) a indução de arritmias atriais. Desta forma, neste trabalho, propusemos testar a hipótese de que o exercício físico poderia levar a uma facilitação na indução de arritmias atriais. Para testar esta hipótese duas abordagens experimentais foram adotadas: 1- análise *in vivo*, do efeito de um programa de exercício físico de natação (10 semanas) sobre a frequência cardíaca de repouso em ratos, considerando-se o papel da modulação autonômica no coração e; 2- análise, *in vitro*, das alterações morfológicas dos corações destes ratos (hipertrofia de câmaras cardíacas, aumento de colágeno e vascularização) e, análise da inducibilidade de arritmias de seus átrios isolados. Estas análises (*in vivo* e *in vitro*) foram feitas em grupos de animais controle (GC; sem natação), grupo estresse (GS; natação sem condicionamento físico) e grupo treinado (GT; programa completo de natação). Os resultados mostram que, para o GT, em relação aos outros grupos: (1) o programa de natação levou a uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) da frequência cardíaca de repouso; (2) a bradicardia de repouso, sobretudo nas 6<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup>, e 10<sup>a</sup> semanas de treinamento, está diretamente associada à maior atividade colinérgica-muscarínica; (3) as alterações morfológicas no tecido cardíaco ocorrem, sobretudo no ventrículo esquerdo e; (4) a indução de arritmia está facilitada. Concluímos que, em ratos: 1- um programa de 10 semanas de treinamento físico de natação leva à bradicardia de repouso. 2- esta bradicardia de repouso não está principalmente associada às alterações da modulação cardíaca simpática ou do nódulo sinusal, mas sim ao aumento do tônus nervoso vagal do coração; 3- o treinamento de natação altera a modulação cardíaca pelo sistema autonômico e leva ao remodelamento morfológico do coração e, finalmente, 4- a indução de arritmias atriais é facilitada pela alteração da modulação colinérgica-muscarínica de corações de ratos treinados. Em suma, nossos achados confirmam a hipótese levantada.

**Palavras-chave:** indução de arritmias; átrio isolado de rato; modulação autonômica, remodelamento cardíaco; exercício físico de natação.

## ABSTRACT

Some recent studies have shown that physical exercises (including swimming) can provoke rest bradycardia due to enhancement on cholinergic-muscarine activity. On the other hand, other recent studies have shown that enhancement (or attenuation) on cholinergic-muscarine activity facilitates (or blocks) atrial arrhythmia induction. Therefore, in this work we tested the hypothesis that physical exercises could lead to facilitation of atrial arrhythmia induction. Two experimental approaches were adopted in order to verify that hypothesis: 1- *In Vivo* evaluation of a 10 week-swimming exercise program on rest cardiac rhythm of rats, taking into account the role of the cardiac autonomic modulation and; 2- *In Vitro* evaluation of cardiac morphological alterations (hypertrophy and collagen and vascular enhancements) of those rats and, evaluation of arrhythmia inducibility on their right isolated atria. Those *In Vivo* and *In Vitro* evaluations were performed in Control Animal Group (CG; no swimming), Stressed Group (SG; swimming without physical conditioning) and Trained Group (TG; complete swimming program). The results show that: 1- as for the TG in relation to the other groups: 1- the swimming program led to a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in the rest cardiac rhythm; 2- the rest bradycardia, mainly in the 6<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> week of training, is directly associated to a higher cholinergic-murcarine activity; 3- cardiac morphological changes occurred mainly in the left ventricle and; 4- atrial arrhythmia induction is facilitated. We concluded that, in rats: 1- a 10 week-swimming exercise program leads to rest bradycardia; 2- the rest bradycardia is associated to enhancement on vagal tonus rather to alterations of sympathetic modulation and/or of the sinus node; 3- swimming exercise induces modifications on cardiac autonomic modulation and remodels the cardiac morphology and, finally; 4- atrial arrhythmia induction is facilitated by alterations on cardiac cholinergic modulation of trained rats. Therefore, as a whole, our results confirmed the hypothesis.

**Keywords:** arrhythmia induction; rat isolated atrium; autonomic modulation; cardiac remodeling; swimming exercise program.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Protocolos experimentais para indução de arritmias em átrio direito isolado de rato. Observam-se dois protocolos de estimulação com duas intensidades diferentes (250 pulsos – 66,7 Hz e 30 pulsos – 50 Hz) e a ação dos fármacos acetilcolina e atropina. Em A, o protocolo com maior intensidade induziu arritmia atrial; em B, ambos os protocolos induziram arritmia o que evidencia a ação da ACh na facilitação da indução de arritmia atrial; em C ilustra a ação do fármaco Atropina no bloqueio da arritmia atrial. (Adaptado de Godoy *et al*, 1999)..... 19
- Figura 2 Gráfico ilustrando a amplitude do estímulo mínimo utilizado para as tentativas de indução de taquiarritmia em átrios direitos isolados de rato em diferentes idades. Três condições experimentais são mostradas em cada faixa etária: ausência (controle) ou presença de carbacol ou atropina (1  $\mu$ M) na perfusão banho. Não há dispersão dos dados. O sinal “+” indica que não foi possível induzir a taquiarritmia. (Adaptado de Faria *et al*, 2008)..... 20
- Figura 3 Estrutura do coração e curso do fluxo sanguíneo nas câmaras cardíacas. Observamos a localização das veias cavas (superior e inferior), artéria aorta, átrios direito e esquerdo, ventrículos direito e esquerdo, veias e artérias pulmonares (Modificado de Moore & Persaud, 2000)..... 23
- Figura 4 Ilustração da inervação cardíaca pelo sistema nervoso autônomo. Observamos o trajeto das ramificações simpática, parassimpática e do nervo glossofaríngeo responsável pelas respostas reflexas cardíacas A- Ilustra-se a inervação colinérgica pelo ramos do nervo IX e X (Nervo Vago) responsável pelos efeitos cronotrópicos, inotrópicos e dromotrópicos negativos; B- elucida a inervação colinérgica pelo ramos do nervo IX e X (Nervo Vago) responsável pelos efeitos cronotrópicos, inotrópicos e dromotrópicos positivos. (Modificado de Neuroscience, 2001)..... 27
- Figura 5 Ilustração da Noradrenalina em: A- Estrutura molecular da Noradrenalina. Na ilustração observa-se as estruturas que geram a nomenclatura de acordo com União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) 4-[(1R)-2-amino-1-hydroxyethyl]benzene-1,2-diol. **Nomenclatura IUPAC** é um sistema de nomeação de compostos químicos e de se descrever a ciência química em geral; B- Fórmula química da noradrenalina..... 29
- Figura 6 Ilustração da modulação muscarínica colinérgica. A- ilustração da ação da ACh desde a sua produção no citoplasma do nervo pré-sináptico (a partir da fusão ente o Acetil-CoA e Colina pela ação da Colina Acetiltransferase) até sua degradação na fenda sináptica pela Acetilcolinesterase. B- Receptor Nicotínico, elucidando o sítio para o neurotransmissor e estrutura protéica pentamérica. (Modificado de Neuroscience, 2001)..... 31

Figura 7	Ilustração de um modelo de circuitos ou correntes reentrantes no tecido cardíaco.....	42
Figura 8	Possíveis mecanismos envolvidos na gênese da Torsades de Pontes.....	44
Figura 9	Foto da parte interna do tanque para treinamento de natação utilizado durante o período o programa de exercício com os animais do GT e o estímulo estresse com o GS.....	48
Figura 10	Esquema da montagem utilizada para monitorar a atividade elétrica cardíaca do animal.....	50
Figura 11	Representação esquemática, em perspectiva, da cuba experimental acrílica com sistema de circulação interno de água. Reproduzido com autorização de Duarte, (2007).....	54
Figura 12	Ilustração da montagem experimental utilizada para átrio isolado .....	56
Figura 13	Eletrograma atrial de rato submetido ao protocolo de indução de arritmias.....	58
Figura 14	Gráfico ilustrando o número de trens (250 pulsos, duração de 5ms, intervalo entre pulsos de 15ms) mínimos e máximos necessários para a indução de arritmias em função da amplitude de estímulo do trem (expresso com múltiplos do limiar atrial – x LA). Adaptado de Jordão, (2009).....	61
Figura 15	Imagem do corte transversal dos corações, na qual A, B e C representam respectivamente os animais do GC, GS e GT.....	66
Figura 16	Lâminas histológicas coradas com HE e Picrossírius Red em aumento de 200x. A região assinalada indica o colágeno perivascular.....	69
Figura 17	Lâminas histológicas coradas com HE e Picrossírius Red em aumento de 200x. A região assinalada indica a deposição de colágeno.....	70
Figura 18	Gráficos ilustrando a variação da FC, em relação ao tempo "zero" semanas de treinamento, dos grupos GC, GS e GT ao longo do período de 10 semanas de Treinamento.....	74
Figura 19	Gráficos ilustrando o comportamento autonômico sobre a FC em três momentos. A – participação do tônus vagal sobre a FC: Efeito Vagal; B – participação do tônus adrenérgico sobre a FC: Efeito Simpático; C - comportamento da FC intrínseca.....	77
Figura 20	Eletrograma atrial de rato do grupo GS (A) e GT (B).....	78
Figura 21	Gráfico ilustrando a média do Estímulo Mínimo Necessário (Amplitude do Pulso expressa em múltiplos inteiros do limiar atrial) necessários para a indução de Arritmias mostradas em três condições experimentais: Controle, Estresse, Treinado. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão (N=18). $p < 0,05$ . B- Gráfico ilustrando o número de trens necessários para induzir arritmias em três condições experimentais: Controle, Estresse, Treinado.....	79

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Programa de treinamento de natação aplicado aos animais do grupo GT .....	46
Tabela 2	Características da massa corpórea, peso do coração e peso das estruturas cardíacas dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).....	64
Tabela 3	Características do percentual de colágeno, razão capilar por fibra e diâmetro do cardiomiócito do ventrículo esquerdo dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).....	67
Tabela 4	Características da massa do átrio direito isolado, peso do átrio direito isolado em razão da massa corporal e a frequência atrial espontânea direita <i>in vitro</i> dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).....	71
Tabela 5	Frequência Cardíaca (bpm) intra-grupo pré e pós-treinamento durante as 10 semanas de natação dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).....	73
Tabela 6	Características da frequência cardíaca após o bloqueio farmacológico da modulação autonômica.....	76
Tabela 7	Características e Parâmetros para a indução de arritmias atriais nos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).....	79

## LISTA DE ABREVIÇÕES

AC	Adenilato cíclico
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
Ag/Cl	Prata Cloretada
bpm	Batimentos por minuto
Ca <sup>+2</sup>	Íons de Cálcio
°C	Grau Celsius
CEMEA	Comissão de Ética em Manipulação e Experimentação Animal
Cl <sup>-</sup>	Cloro
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
DPA	Duração do Potencial de Ação
ECG	Eletrocardiograma
FA	Fibrilação Atrial
FC	Frequência Cardíaca
G <sub>i</sub>	Proteína G Inibitória
G <sub>s</sub>	Proteína G Estimulatória
GC	Grupo Controle
GS	Grupo Estresse
GT	Grupo Treinado
Hz	Hertz
K <sup>+</sup>	Potássio
K-H	Krebs-Henseleit
L <sub>2</sub>	Segundo Segmento Medular Lombar
LEC	Laboratório de Eletrofisiologia Cardíaca
mM	Mile Molar
M <sub>2</sub>	Receptor Muscarínico Subtipo 2
Mg	Magnésio

min	Minuto
mAChR	Receptor de Acetilcolina Muscarínico
ml	Mililitros
NA	Noradrenalina
Na <sup>+2</sup>	Íons de Sódio
NAV	Nódulo Átrio Ventricular
NO	Oxido Nítrico
NSA	Nódulo Sinoatrial
NPT	Núcleo de Pesquisa Tecnológica
O <sub>2</sub>	Oxigênio
PA	Potencial de Ação
PKA	Proteína Kinase A
QT	Intervalo do Eletrocardiograma
SNP	Sistema Nervos Parassimpático
SNS	Sistema Nervos Simpático
TA	Taquiarritmia Atrial
T <sub>1</sub>	Primeiro Segmento Medular Torácico
T <sub>5</sub>	Quinto Segmento Medular Torácico
UMC	Universidade de Mogi das Cruzes
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
μM	Micro Molar



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS.....	21
<b>2.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	22
<b>2.1.1 Objetivos específicos</b> .....	22
3 ASPECTOS TEÓRICOS.....	20
<b>3.1 ANATOMIA DO SISTEMA CIRCULATÓRIO</b> .....	20
<b>3.2 SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO</b> .....	26
3.2.1 Aspectos Anatômicos Associados ao Coração.....	26
3.2.1.1 <i>Controle da Frequência Cardíaca pelo Sistema Nervoso Simpático</i> .....	32
3.2.1.2 <i>Controle da Frequência Cardíaca pelo Sistema Nervoso Parassimpático</i> .....	34
<b>3.3 INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO CONTROLE AUTONÔMICO SOBRE A FREQUÊNCIA CARDÍACA</b> .....	36
<b>3.4 GÊNESE DAS ARRITMIAS</b> .....	39
3.4.1 Influência do Sistema Autônomo sobre as arritmias atriais	39
<b>3.5 MECANISMO DE REENTRADA E DAS “TRIGGERED ACTIVITIES”</b> .....	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
<b>4.1 ABORDAGEM GERAL</b> .....	45
<b>4.2 PARTE EXPERIMENTAL <i>in Vivo</i></b> .....	45
4.2.1 Animais.....	45
4.2.2 Protocolo de Treinamento.....	46
4.2.3 Tanque para o treinamento de natação.....	47
4.2.4 Método para coleta e determinação da Frequência Cardíaca	49

4.2.5 Método para verificação da Modulação Autonômica.....	51
<b>4.3 PARTE EXPERIMENTAL <i>in Vitro</i>.....</b>	<b>53</b>
4.3.1 Preparação biológica para indução de arritmia.....	53
4.3.2 Solução Fisiológica.....	55
4.3.3 Montagem Experimental .....	56
4.3.4 Avaliação da Frequência Atrial. ....	57
4.3.5 Protocolo Experimental para Indução de Arritmia.....	57
4.3.6Análise do Remodelamento Cardíaco.....	62
4.3.7 Análise dos dados.....	63
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>64</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>82</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>88</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>89</b>

# 1 INTRODUÇÃO

Há longa data o exercício físico vem sendo empregado como meio de prevenção e/ou tratamento de inúmeras patologias, tais como as doenças auto-imunes (NIERMAN, PEDERSEN, 1999), doenças metabólicas (CDC, 2000), doenças relacionadas ao envelhecimento (YAFFE *et al*, 2001; FLORIDO *et al*, 2002), arritmias cardíacas (CORRADO *et al*, 2000; ANTZELEVITCH *et al*, 2005; CORRADO *et al*, 2005.) entre outras. Contudo, em virtude do aumento na incidência dos casos de doenças que envolvem o sistema cardiovascular, muitas são as pesquisas realizadas na tentativa de propor novos conceitos para tais enfermidades (STHEPHENSON, *et al*, 2000; LEON *et al*, 2005; ADAMS *et al*, 2006).

Estudos têm demonstrado que o exercício físico quando praticado de forma crônica, isto é, regular (FORJAZ *et al*, 1998; SELIG, *et al*, 2004 LIMA *et al*., 2008; HIYANE *et al*., 2008), contribui de maneira significativa na redução dos valores de frequência cardíaca, pressão arterial, liberação de hormônios, plasticidade neuronal e para as patologias que levam ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como, por exemplo, o Diabetes Mellitus (CHENG *et al* 2003; COLE *et al*, 2003). Para esses indivíduos, o exercício físico crônico promove benefícios à saúde de maneira global.

O exercício físico realizado cronicamente promove importantes alterações nas funções autonômicas cardíacas. Dentre os parâmetros cardíacos que sofrem modulação autonômica, destaca-se a frequência cardíaca por sofrer importantes modificações decorrentes do exercício físico. Essas alterações são moduladas pelo Sistema Nervoso Autônomo, via ação de seus ramos simpáticos e parassimpáticos sobre o nódulo sinusal (KUKIELKA, SEALS, BILLMAN, 2005; FREEMAN *et al*, 2006; BILLMAN, KUKIELKA, 2006).

Tais modificações no balanço simpato-vagal são documentados em modelos experimentais (FRIEDMAN *et al*, 1993), em indivíduos saudáveis (MACIEL *et al*, 1985; PUIG *et al*, 1993 WOOD, WELSCH, 2003) e em indivíduos com doenças cardíacas (ZIPES *et al*, 2006). As modificações simpato-vagal na frequência cardíaca estão relacionadas à variabilidade da frequência cardíaca, que FREEMAN *et al*. (2006) explicam ser variações batimento-a-batimento no intervalo R-R do eletrocardiograma. Alterações na frequência cardíaca em repouso em razão da alteração do tônus vagal cardíaco determinam o grau de preservação ou comprometimento do sistema nervoso autônomo cardíaco, tendo importante associação com o risco de mortalidade (LA ROVERE *et al*., 2002; BRAITH, EDWARDS, 2003).

Vários são os estudos disponíveis na literatura que relacionam as modificações autonômicas decorrentes do efeito fisiológico do exercício físico, como demonstrado pelo estudo *in vitro* de Evangelista Krieger e Brun (2003), que documentaram redução da frequência cardíaca de repouso de camundongos submetidos a treinamento físico de natação. Resultados semelhantes foram encontrados por Medeiros *et al* (2004) que observaram aumento da atividade vagal e bradicardia de repouso de ratos após seis de oito semanas de treinamento físico aeróbio de natação.

Paralelo a estes resultados, o Laboratório de Eletrofisiologia Cardíaca (LEC) do Núcleo de Pesquisas Tecnológicas (NPT) da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC), sob a responsabilidade do Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjão de Godoy e colaboração do Prof. Dr. Afonso Caricati Neto, vem investigando o papel do Sistema Nervoso Autonômico na fisiologia cardíaca, sobretudo na influência deste sistema sobre a indução e/ou bloqueio de arritmias atriais.

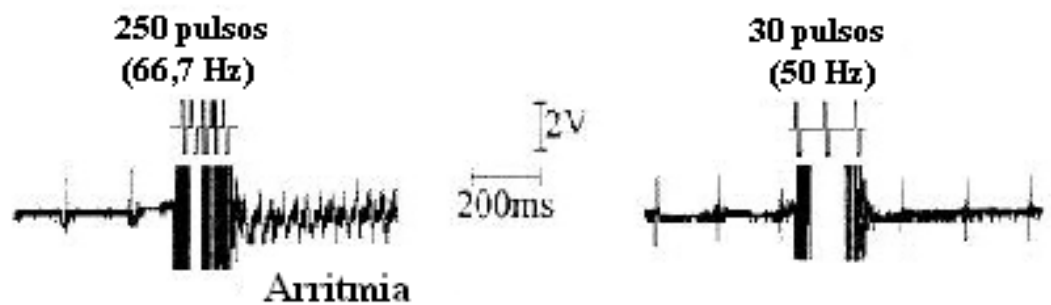
Dentre os resultados encontrados neste laboratório, Godoy *et al* (1999) documentaram que a arritmia atrial induzida eletricamente é facilitada via mecanismos muscarínico-colinérgico. Neste estudo, foram utilizadas duas intensidades diferentes para indução de arritmia e, verificou-se que, ao perfundir acetilcolina sobre tecido atrial foi possível induzir arritmia nas duas intensidades, o que não aconteceu no grupo controle (sem ação de drogas) e no grupo acetilcolina mais atropina. Assim concluiu-se a facilitação colinérgica na arritmia atrial induzida eletricamente (figura 1).

Já Faria e colaboradores (2008) também documentaram a participação do mecanismo colinérgico na inducibilidade de arritmias atriais. Nesta pesquisa foi determinado o número de trens de estímulos necessários para induzir a arritmia por estímulo elétrico (parâmetro indicador de inducibilidade de arritmia) considerando a ação do agonista colinérgico muscarínico Carbacol, e do antagonista Atropina, sobre este parâmetro, em ratos de diferentes idades. Os autores verificaram que o pré-tratamento do tecido por 30 min com Carbacol diminui significativamente o número de trens de estímulos necessários para induzir arritmia, enquanto que o contrário (bloqueio) foi observado ao realizar o pré-tratamento com Atropina, no qual houve o bloqueio da arritmia em todas as idades. Em suma, esta pesquisa sugere que a atividade colinérgica facilita a indução de arritmias induzidas eletricamente em átrio direito isolado de ratos tanto jovens como adultos (figura 2).

Sendo assim, tendo em vista que: 1º) resultados documentados por Medeiros (2000; 2004) e demais dados encontrados na literatura (CDC, 2000; Evangelista Krieger e Brun, 2003) indicam a importância do exercício físico no sistema cardiovascular, sobretudo em

relação à modulação colinérgica e 2º) que o mecanismo colinérgico é considerado um facilitador na inducibilidade de arritmias atriais em átrio direito isolados de ratos, o presente estudo se propõe a investigar se as modificações autonômicas decorrentes da realização de um programa de exercício físico aeróbio de natação em ratos podem alterar a inducibilidade de arritmias.

## CONTROLE



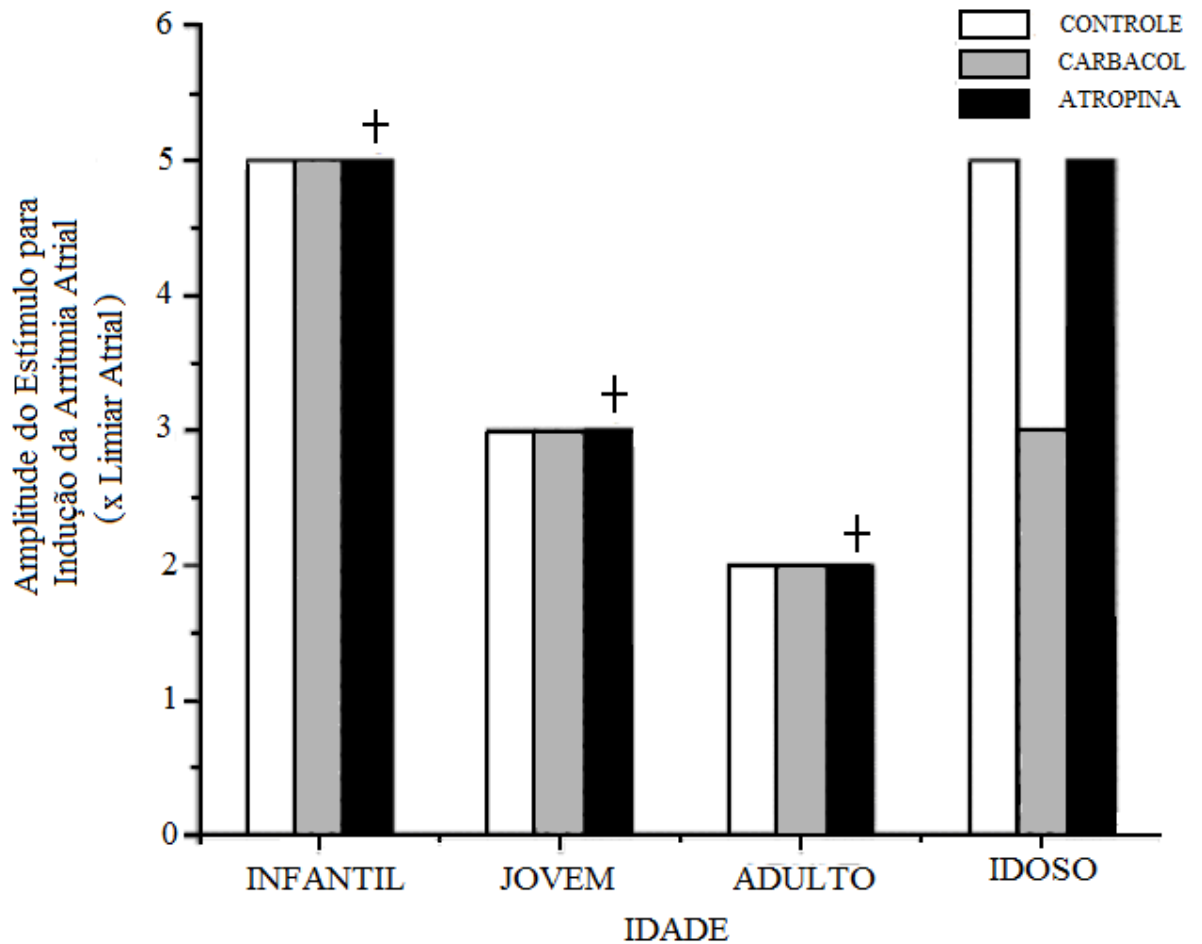
## ACh



## ACh + Atropina



**Figura 1:** Figura ilustrando os protocolos experimentais para indução de arritmias em átrio direito isolado de rato. Observam-se dois protocolos de estimulação com duas intensidades diferentes (250 pulsos – 66,7 Hz e 30 pulsos – 50 Hz) e a ação dos fármacos acetilcolina e atropina. Em A, o protocolo com maior intensidade induziu arritmia atrial; em B, ambos os protocolos induziram arritmia o que evidencia a ação da ACh na facilitação da indução de arritmia atrial; em C ilustra a ação do fármaco Atropina no bloqueio da arritmia atrial.



**Figura 2:** Gráfico ilustrando a amplitude do estímulo mínimo utilizado para as tentativas de indução de taquiarritmia em átrios direito isolados de rato em diferentes idades. Três condições experimentais são mostradas em cada faixa etária: ausência (controle) ou presença de carbacol ou atropina (1  $\mu$ M) na perfusão banho. Não há dispersão dos dados. O sinal "+" indica que não foi possível induzir a taquiarritmia. Adaptado de Faria *et al*, (2008).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a influência do exercício físico de natação sobre a inducibilidade de arritmia atrial.

#### **2.1.1 *Objetivos Específicos***

- 1- Analisar *in vivo* a influência de um programa de exercício físico de natação sobre a modulação autonômica e a frequência cardíaca de repouso.
- 2- Analisar as alterações morfológicas cardíacas decorrentes do treinamento por natação.
- 3- Analisar *in vitro* a influência do programa de exercício físico sobre a inducibilidade de arritmias atriais.

### **3 ASPECTOS TEÓRICOS**

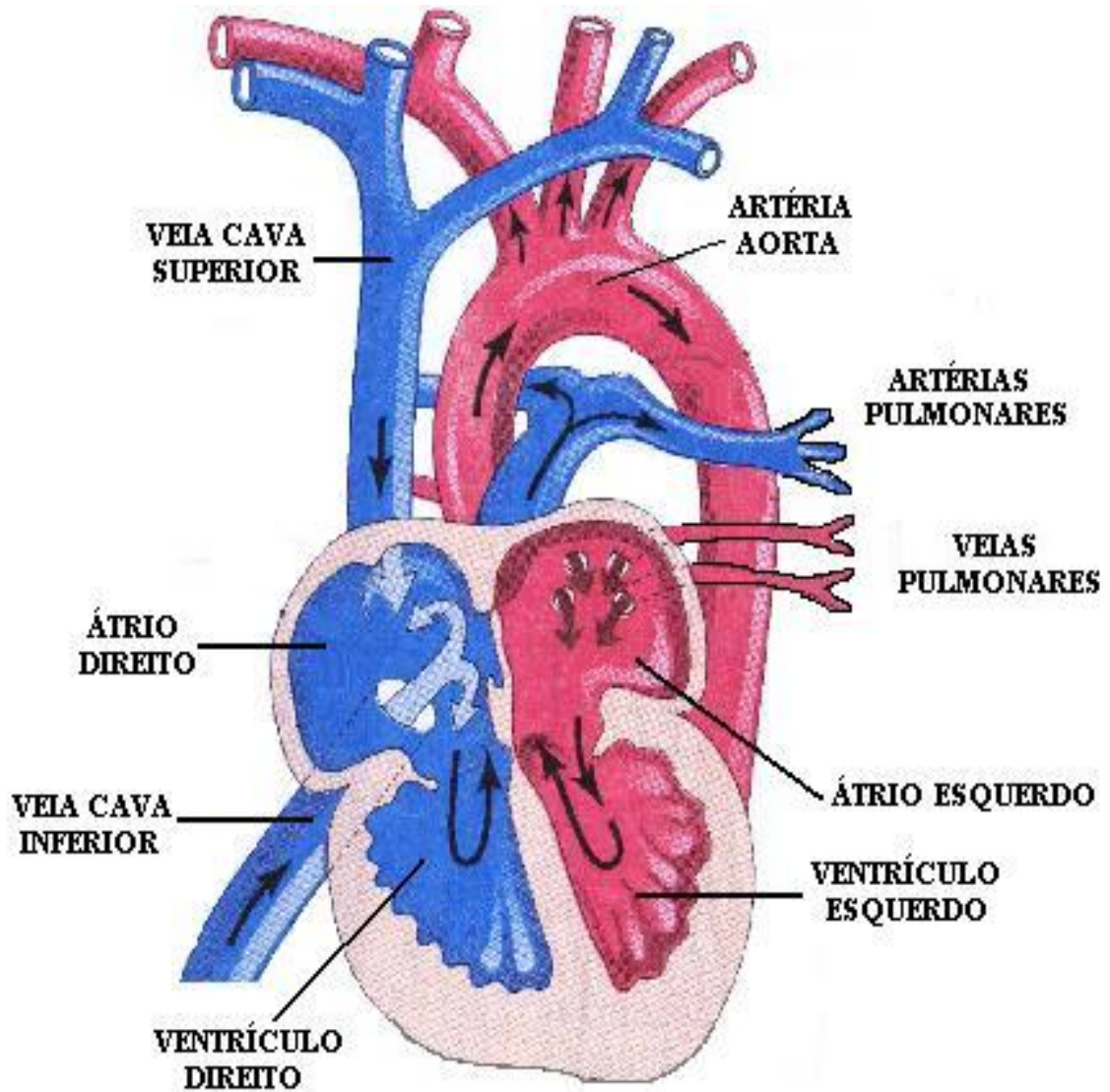
#### **3.1 ANATOMIA DO SISTEMA CIRCULATÓRIO**

O coração é o órgão central que compõe o sistema circulatório, sendo considerado o elo principal no sistema de integração do organismo de mamíferos. Anatomicamente, encontra-se localizado no centro do tórax, sendo que seu ápice é acentuadamente deslocado para a esquerda (TORTORA, GRABAWSKI, 2002).

O coração de mamíferos, incluindo o humano, é formado por duas partes, o coração direito e esquerdo, e por três tipos principais de músculos cardíacos, sendo estes o músculo atrial, o músculo ventricular e as fibras musculares especializadas excitatórias e condutoras (Figura 3). Cada uma dessas partes é formada por um átrio e um ventrículo. Os ventrículos são responsáveis por ejetar o sangue para os pulmões para que ocorra a hematose e também para nutrir o corpo, denominando assim circulações pulmonar e sistêmica, respectivamente. Os átrios, por sua vez, funcionam como uma fraca bomba de escorva para os ventrículos (para maior aprofundamento recomenda-se a leitura de BERNE, LEVY, 2000 e GUYTON, HALL, 2002).

Tendo como referência a sístole cardíaca e a função de nutrição que contempla o sistema circulatório, iniciamos a descrição pela circulação sistêmica, também chamada de grande circulação. Com a contração do ventrículo esquerdo, inicia-se esta circulação com o sangue carregando O<sub>2</sub>, sendo bombeado para os órgãos através da artéria aorta. A partir da aorta as artérias se ramificam até formar uma extensa rede de vasos capilares nos quais ocorrem as trocas gasosas entre o sangue e os tecidos. Após as trocas gasosas, o sangue desoxigenado (carregando CO<sub>2</sub>) retorna ao coração através das veias cava superior e inferior que desembocam no átrio direito, fechando assim esta circulação. Concomitante a esse processo, também tendo início com a sístole cardíaca, inicia a circulação pulmonar denominada pequena circulação. Com a contração do ventrículo direito, o sangue é conduzido aos pulmões pelas artérias pulmonares direita e esquerda. Após sofrer a hematose o sangue oxigenado retorna ao átrio esquerdo pelas veias pulmonares, que direciona o sangue para o interior do átrio esquerdo, fechando assim a pequena circulação.





**Figura 3** – Estrutura do coração e curso do fluxo sanguíneo nas câmaras cardíacas. Observamos a localização das veias cava (superior e inferior), artéria aorta, átrios direito e esquerdo, ventrículos direito e esquerdo, veias e artérias pulmonares (Modificado de Moore & Persaud, 2000).

O músculo cardíaco é dotado de um sistema especializado em gerar impulsos elétricos rítmicos capazes de promover a contração ritmada deste órgão e conduzir-se rapidamente para todo o coração. Desta forma, por meio da ativação elétrica dos miócitos cardíacos é que o coração exerce sua função mecânica de bombear o sangue para todo o organismo.

A ativação elétrica origina-se espontaneamente e ritmicamente no Nódulo Sino Atrial (NSA) e, a partir desta estrutura propaga-se pelo miocárdio atrial atingindo o Nódulo Atrioventricular (NAV). A partir do NAV, a ativação elétrica atinge o tecido especializado condutor dos ventrículos, representado pelo feixe de *His*, seus ramos e sub-ramos direito e esquerdo, terminando no sistema de *Purkinje*, e ativando seqüencialmente toda a musculatura ventricular do ápice para a base do coração.

Nos ventrículos, a ativação elétrica inicia-se pelo ramo direito do feixe de *His*, na região medial direita do septo interventricular, onde atinge as regiões medial e apical do ventrículo direito. Com pequeno retardo, o impulso elétrico conduzido pelo ramo esquerdo do feixe de *His*, ativa a região esquerda do septo interventricular e, a partir daí, as regiões médio-apical do ventrículo esquerdo. Finalmente, ativam-se as regiões basais ventriculares, pelo impulso conduzido pelos sub-ramos ântero-superiores direito e esquerdo.

Este processo de disparo da atividade mecânica de bombeamento de sangue através da atividade elétrica gerada e conduzida no próprio coração guarda uma rigorosa organização espaço-temporal, de modo a prover a adequada funcionalidade do coração. Fora de situações patológicas, os átrios contraem-se cerca de 170 ms antes dos ventrículos. Esse tempo maximiza o enchimento adicional dos ventrículos ajudando a troca gasosa pelos pulmões e a nutrição adequada ao sistema. Outra característica deste sistema é fazer com que ambos os ventrículos se contraíam de modo quase simultâneo, o que é essencial para a geração efetiva de pressão nas câmaras ventriculares.

Por essa razão, o desempenho da função de oferta e manutenção de um adequado fluxo sangüíneo tecidual pela bomba cardíaca está principalmente na dependência de quatro propriedades elementares, sendo três eletrofisiológicas e uma mecânica. As propriedades eletrofisiológicas são especialmente próprias do tecido excitocondutor do coração e incluem o *autorritmicidade*, a *condutibilidade* e a *excitabilidade*, enquanto que a propriedade mecânica é a *contractilidade*.

A *Autorritmicidade* é a propriedade de uma fibra gerar um impulso elétrico espontaneamente, sem a necessidade de uma estimulação prévia. Ou ainda, é a propriedade que tem o coração de gerar espontaneamente e ritmicamente sua própria ativação elétrica.

As fibras pertencentes ao sistema condutor do coração são passíveis de auto-excitação, contudo, a autorritmicidade não é igual em todas as fibras do sistema, obedecendo assim a uma hierarquia no automatismo cardíaco.

A *Condutividade* é a propriedade que o coração tem em conduzir a ativação elétrica gerada pelo próprio tecido cardíaco ou por eletro-estimulação.

A *Excitabilidade* é a propriedade que o coração tem em responder a estímulos elétricos naturais ou artificiais, promovendo a ativação elétrica do tecido.

A *Contratilidade* por sua vez é a propriedade que o tecido cardíaco e suas células têm em se contraírem em resposta à ativação elétrica ou química.

Para que o coração possa manter as atividades acima descritas, sobretudo sua atividade mecânica, o Sistema Nervoso Autônomo (SNA) age diretamente sobre as células cardíacas afetando suas propriedades eletrofisiológicas e mecânicas de modo a manter a homeostasia interna tanto no repouso quanto no exercício e pós-exercício. Sendo assim, no capítulo seguinte serão descritos o Sistema Nervoso Autônomo, sua divisão e ação no sistema cardiovascular.

## **3.2 SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO.**

### **3.2.1 Aspectos Anatômicos Associados ao Coração.**

O Sistema Nervoso Autônomo (SNA), uma subdivisão do Sistema Nervoso Central (SNC), é responsável pelo controle dos órgãos periféricos, que via comandos gerados por centros na medula espinal, tronco cerebral e hipotálamo, atua para manter um fino ajuste da homeostasia das funções do organismo. Porções do córtex cerebral, especialmente do córtex límbico, podem transmitir impulsos elétricos para os centros inferiores e, assim, influenciar o controle autonômico.

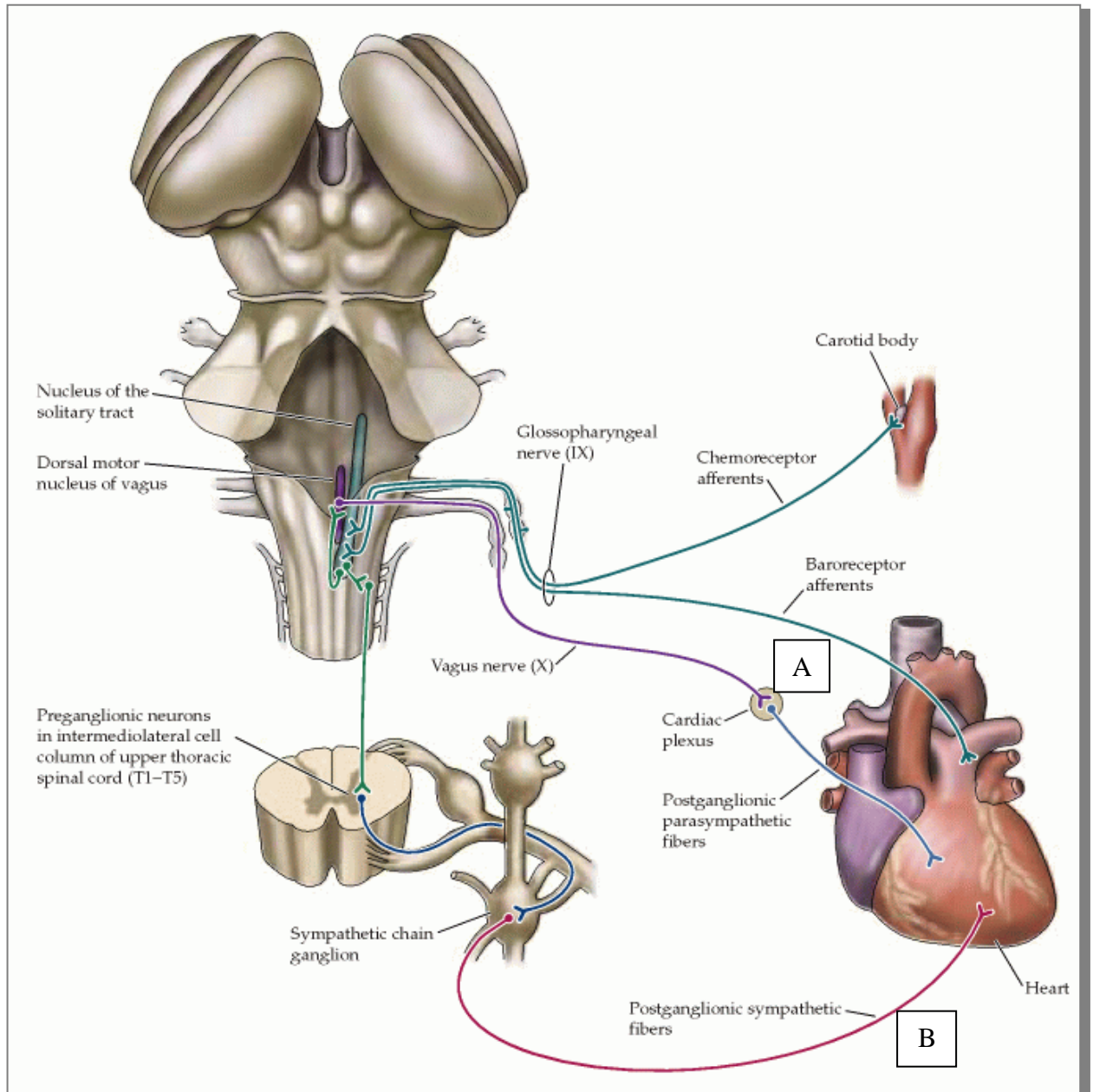
Conforme estabelecido por Kukanova e Mravec (2006), o SNA constitui-se de duas subdivisões, sendo o Sistema Nervoso Simpático (SNS) e o Sistema Nervoso Parassimpático (SNP). Estas subdivisões são distintas pela diferença anatômica e funcional, como ilustra a figura 4. No coração, estes sistemas inervam e modulam diretamente suas funções, contudo suas ações são antagônicas, porém coordenadas. Entre os ajustes realizados por esses sistemas inclui o controle da frequência cardíaca e da força de contração da musculatura cardíaca.

Nos nervos simpáticos, os corpos celulares das fibras pré-ganglionares estão dispostos nos cornos intermédios laterais do segmento espinal T1 à L2, as quais integram a saída toracolombar das cadeias simpáticas. As fibras nervosas pós-ganglionares estão posteriores aos gânglios deste sistema e sua terminação interage com o órgão executor (MOORE e DALLEY, 2001; SMELTZER e BARE, 2002; FREEMAN *et al*, 2006). Quanto à localização, distribui-se por todo o coração, com maior expressão no músculo ventricular (BOYETT *et al*, 2000).

Já os nervos parassimpáticos inervam o coração, as demais vísceras torácicas e abdominais através dos nervos Vagos (ou nervo craniano X). Entretanto, exceto no caso de alguns nervos parassimpáticos cranianos, as fibras pré-ganglionares passam, sem interrupção, por todo o trajeto, até o órgão a ser controlado, estando na parede deste órgão o neurônio pós-ganglionar (FREEMAN *et al*. 2006).

No coração, os nervos cardíacos superiores e inferior estão dispostos principalmente no NSA e NAV e em menor quantidade para os músculos dos dois átrios e no músculo ventricular. Carrió (2001) completa que a inervação parassimpática do coração é escassa se comparada com a simpática. Porém, apresenta uma densidade de fibras mais elevada na

região dos átrios, e menos elevada na dos ventrículos, com grande significância em ambos locais.



**Figura 4:** Ilustração da inervação cardíaca pelo sistema nervoso autônomo. Observamos o trajeto das ramificações simpática, parassimpática e do nervo glossofaríngeo responsável pelas respostas reflexas cardíacas A- Ilustra-se a inervação colinérgica pelo ramos do nervo IX e X (Nervo Vago) responsável pelos efeitos cronotrópicos, inotrópicos e dromotrópicos negativos; B- elucida a inervação colinérgica pelo ramos do nervo IX e X (Nervo Vago) responsável pelos efeitos cronotrópicos, inotrópicos e dromotrópicos positivos. (Modificado de Neuroscience, 2001).

De acordo com Carrió (2001), o Sistema Nervoso Simpático é um sistema vasoativo neurohormonal, tendo como seu principal neurotransmissor a Noradrenalina (NA) (figura 5). A síntese da NA, se dá a partir do aminoácido tirosina, que convertido para diidroxifenilalanina, resulta na formação da dopamina, precursora da noradrenalina na via sintética de catecolamina. Finalmente, por transporte ativo, a dopamina é transportada nas vesículas de armazenamento e transformada em noradrenalina pela enzima  $\beta$ -hidroxilase.

A NA interage com o coração por meio de receptores de membrana  $\alpha$  e  $\beta$  adrenérgicos. Sua ação nestes receptores é influenciada pela sua afinidade (seletividade). Desta forma temos, em ordem decrescente de afinidade, o receptor  $\beta_1$ -adrenérgico, seguido do  $\beta_2$ -adrenérgico e do  $\alpha_1$ -adrenérgico (BRAUNWALD, ZIPES e LIBBY, 2003).

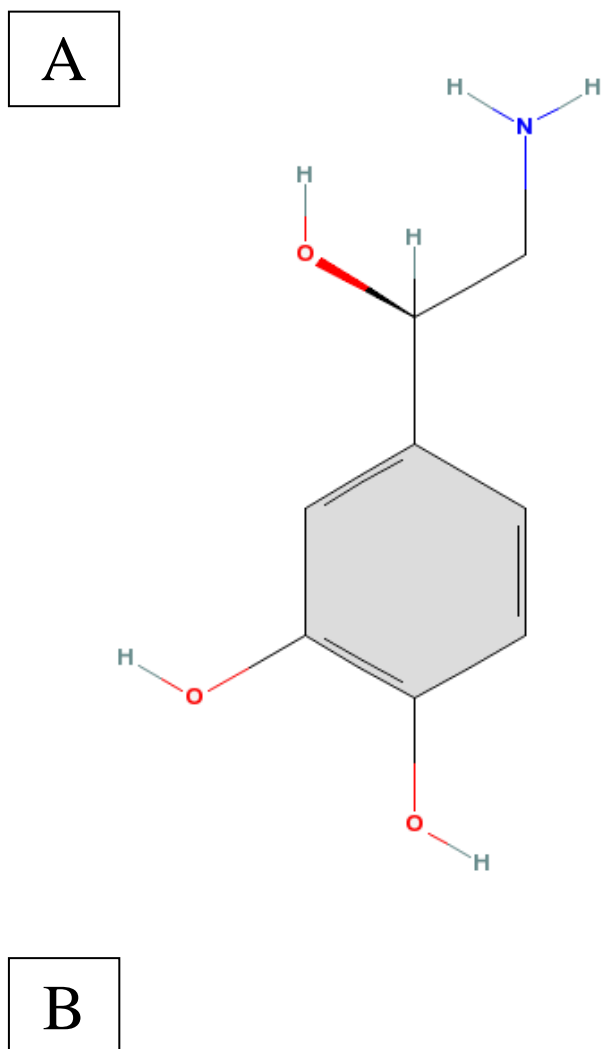
Corroborando com o que foi dito anteriormente, Braunwald *et al* (2003), relatam que são vários os subtipos de receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Porém os receptores  $\beta$ -adrenérgicos cardíacos de mamíferos são, na maioria, os dos subtipos  $\beta_1$ . Aproximadamente 20% do total da população de  $\beta$ -receptores estão no ventrículo esquerdo, sendo que desses, num ventrículo normal, apenas cerca de 20% dos receptores são do subtipo  $\beta_2$ .

Ainda quanto à localização, Boyett *et al.* (2000) completam que os  $\alpha$ -adrenoceptores estão presentes nos vasos coronarianos, nos miócitos atriais e ventriculares, enquanto que os  $\beta$ -adrenoceptores estão presentes, e em maior número que os  $\alpha$ -adrenoceptores, nas membranas plasmáticas das células do nódulo sinusal e do nódulo atrioventricular, nos miócitos atriais e nos ventriculares.

Nos átrios, há uma quantidade aproximadamente duas vezes maior dos  $\beta$ -adrenoceptores em relação à quantidade de  $\alpha$ -adrenoceptores.

Após liberados na fenda sináptica, a ação da NA é limitada principalmente por reabsorções nas terminações dos nervos pré-sinápticos. Porém a NA livre no citosol é degradada rapidamente em diidroxifenilglicol pela monoamina oxidase e passa da membrana das células pré-sinápticas para o espaço extracelular por difusão passiva.

Pokrovskii (2006) relata que a ativação simpática pelo SNA e/ou a elevação no nível de catecolaminas na fenda sináptica resulta na estimulação adrenérgica cardíaca e em mudanças subseqüentes na potência contrátil e eletrofisiológica do coração. Isto leva ao aumento da força e freqüência cardíaca. Já Schrier e Abraham (1999) completam que a



**Figura 5:** A figura ilustra a Noradrenalina em: A- Estrutura molecular da Noradrenalina. Na ilustração observa-se as estruturas que geram a nomenclatura de acordo com União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) 4-[(1*R*)-2-amino-1-hydroxyethyl]benzene-1,2-diol. **Nomenclatura IUPAC** é um sistema de nomeação de compostos químicos e de se descrever a ciência química em geral; B- Fórmula química da noradrenalina.

concentração de NA no sangue arterial fornece um índice da atividade desse sistema, que é crítico para a regulação normal do desempenho cardíaco.

Com função antagônica ao do sistema nervoso simpático, a inervação parassimpática resulta em inibição da frequência e da força de contração cardíaca. Estes efeitos são acionados pelo principal neurotransmissor produzido nas fibras nervosas parassimpáticas, a acetilcolina (ACh) elucidada na figura 6A. A ACh é sintetizada a partir da reação da colina e da acetilcoenzima A na presença da enzima colina acetiltransferase no citosol das terminações nervosas. A ACh é armazenada em vesículas e liberada na fenda sináptica durante a transmissão nervosa, tendo alta afinidade pelos receptores colinoceptores muscarínicos do tecido cardíaco (LÖFFELHOLZ & PAPPANO, 1985) (Figura 6A).

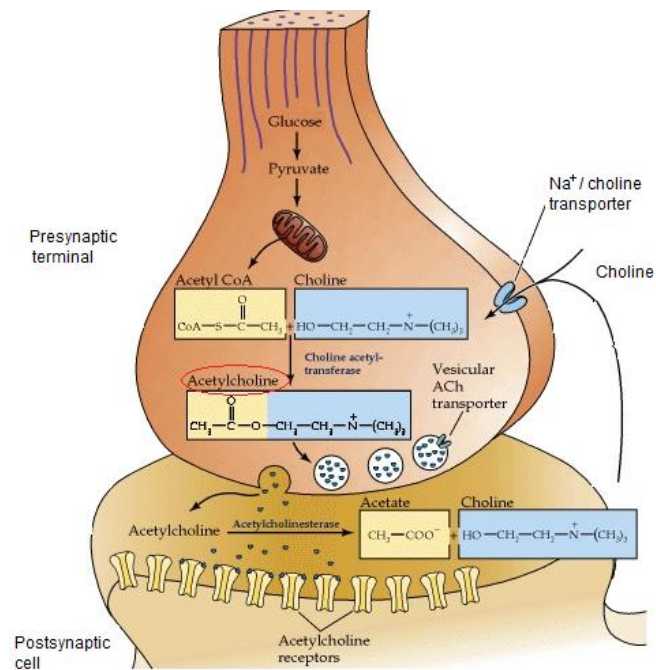
Quanto à subclasse, os colinoceptores têm sido farmacologicamente subdivididos pela ação dos alcalóides muscarína e nicotina, definindo assim, respectivamente, o Receptor Muscarínico (mAChR) e o Receptor Nicotínico (nAChR). Estes dois tipos de receptores são distintos em suas estruturas e funções.

O nAChR (figura 6B) é formado por uma estrutura protéica pentamérica (designadas  $2\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) que possui em sua estrutura os sítios para o agonista. As estruturas protéicas se arruam formando um canal para a passagem de íons. Já o mAChR é formado por uma única proteína com a mesma estrutura global comum das proteínas  $G_i$  ( $i$  para classe de proteínas inibitórias) acopladas a receptores (FELDER, 1995).

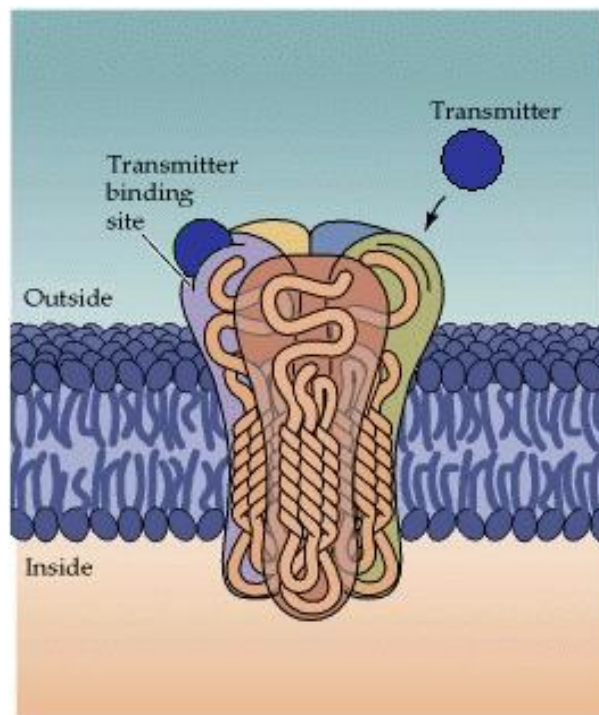
Os receptores muscarínicos desempenham um papel fundamental na função cardíaca pela ação vagal mediada pela regulação do SNA. Estudos recentes têm documentado a existência de cinco subtipos de mAChR, sendo designados  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$ ,  $M_5$ . Quatro desses subtipos ( $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$ ), foram caracterizados farmacologicamente e funcionalmente (WANG, SHI e WANG, 2004). Quanto à expressão desses subtipos, o coração humano expressa predominantemente o receptor muscarínico do subtipo  $M_2$  (CAUFIELD, 1993; BRODDE e MICHEL, 1999; DHEIN *et al.* 2001).



A



B



**Figura 6:** Figura ilustrando a modulação muscarínica colinérgica. A- ilustração da ação da ACh desde a sua produção no citoplasma do nervo pré-sináptico (a partir da fusão entre o Acetil-CoA e Colina pela ação da Colina Acetiltransferase) até sua degradação na fenda sináptica pela Acetilcolinesterase. B- Receptor Nicotínico, elucidando o sítio para o neurotransmissor e estrutura protéica pentamérica. (Modificado de Neuroscience, 2001).

### 3.2.1.1 Controle da Frequência Cardíaca pelo Sistema Nervoso Simpático.

No coração, maior atividade simpática resulta em aumento da frequência cardíaca, no aumento da contratilidade cardíaca e ainda realça a condução atrioventricular. Desta forma pode-se dizer que, no coração, a estimulação simpática leva a efeitos cronotrópico, inotrópico e dromotrópico positivos. Freeman *et al.* (2006) relatam que o resultado desta estimulação química nos receptores adrenérgicos está associado ao chamado modelo “Luta - Fuga” no comportamento animal. Neste modelo ocorrem respostas como aumentos da frequência cardíaca, do débito cardíaco e da pressão arterial. Braunwald *et al.* (2003) completam que a forma mais potente de aumentar a contratilidade do coração humano é via receptor  $\beta$ -adrenérgico, que operam por um mecanismo que regula a contratilidade e a frequência cardíaca batimento-a-batimento.

Jouven *et al.* (2005) citam que alterações no controle neural da função cardíaca simpática contribuem para o risco de morte súbita, e que entre as pessoas aparentemente saudáveis, a morte súbita é mais provável de ocorrer na presença de ritmo cardíaco anormal.

Nas fibras pré-ganglionares, o impulso elétrico oriundo do SNC, provoca a liberação da ACh da terminação nervosa destes nervos. Assim as fibras pré-ganglionares deste sistema, denominadas colinérgicas, estimulam os receptores colinérgicos-muscarínicos e/ou nicotínicos das fibras pós ganglionares. Esta estimulação resulta na liberação de NA da terminação nervosa destas fibras.

A maior atividade simpática que resulta em aumento da frequência cardíaca, no aumento da contratilidade cardíaca e ainda realça a condução atrioventricular ou efeitos cronotrópico, inotrópico e dromotrópico positivos, se dá pela sinalização entre o agonista NA e receptor adrenérgico. Essa interação agonista-receptor ativa a proteína G promovendo uma série de alterações no citosol (BRODDE e MICHEL, 1999). O efeito da ativação da proteína G e as reações que afetam a FC via excitação da proteína G são explicados abaixo.

A proteína G é um heterotrímero composto de  $G_\alpha$ ,  $G_\beta$  e  $G_\gamma$ . O acoplamento receptor/agonista estimula a proteína  $G_s$  (s para denominar excitatória) deslizando a subunidade  $\alpha$  ( $G_\alpha$  excitatória), dissociando esta subunidade das demais. Esta subunidade combina-se ao GTP facilitando a troca para difosfato de guanina (GDP), realçando a atividade da Adenilato Ciclase (FLEMING *et al.* 1992; NEUBIG, 1994). A adenilato ciclase, estimulada pela  $G_s$ , produz um segundo mensageiro, o AMPc, o qual age por intermédio de uma série de novos sinais intracelulares e especificamente, do terceiro mensageiro, a proteína cinase A

(PKA), para aumentar o cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) citolósico transitório, via canais de  $\text{Ca}^{++}$  tipo-L e Fosfolambam. A estimulação ocorre pela fosforilação (doação de um grupo fosfato para a enzima envolvida), dos canais  $\text{Ca}^{++}$  tipo-L, (KAUMANN e MOLENAAR, 1997), ocorrendo o influxo  $\text{Ca}^{++}$  e assim aumentando a contração do músculo cardíaco, em aumento da frequência cardíaca, o aumento da contratilidade cardíaca e ainda realça a condução atrioventricular, como já mencionado anteriormente efeitos cronotrópico, inotrópico e dromotrópico positivos. Desta forma evidencia-se o controle da FC pela interação agonista-receptor.

### 3.2.1.2 Controle da Frequência Cardíaca pelo Sistema Nervoso Parassimpático.

O componente parassimpático do sistema nervoso autônomo tem sua ação dominante na regulação fisiológica da função cardíaca, interpretando importante papel na propagação do impulso elétrico, capaz de regular a frequência cardíaca, a contratilidade cardíaca e, ainda, atenuar a condução atrioventricular. Os estímulos parassimpáticos levam a efeitos cronotrópico, inotrópico e dromotrópico negativos. (LÖFFELHOLZ e PAPPANO, 1985).

No Sistema Nervoso Parassimpático, a estimulação também ocorre por transmissão colinérgica muscarínica. Assim como no SNS, a ação da ACh do neurônio pré-ganglionar, estimula receptores específicos do neurônio pós-ganglionar. Esta estimulação ocasiona a liberação do neurotransmissor ACh na fenda sináptica o qual age diretamente nos receptores do órgão alvo. Este processo ocorre em todos, ou em quase todos, os nervos parassimpáticos, denominados nervos colinérgicos (MOORE e DALLEY, 2001; FREEMAN *et al*, 2006).

No coração, a ACh quando ligada aos receptores muscarínico  $M_2$ , promove a ativação da proteína  $G_i$  (i para inibitória) que inibe a ativação da adenilato ciclase. Durante esse sinal colinérgico, o receptor é estimulado e o GTP se liga a subunidade  $\alpha$ -inibidora ( $\alpha_i$ ) (NEER *et al*, 2002), desgarrando das demais subunidades, como na proteína  $G_s$ . Porém, neste processo, a ação ocorre pela subunidade  $\beta$  e  $\gamma$ . Pela estimulação da enzima GTPase, elas quebram as subunidades  $\alpha$  ativas ( $\alpha$ -GTP), de modo que a ativação da adenilato ciclase, em resposta a uma estimulação  $\alpha$  se torna menor (COLEMAN, BERGHUIS e LEE, 1994), diminuindo os níveis de AMPc no citoplasma. Esta diminuição leva à redução da fosforilação dos canais de  $Ca^{2+}$  tipo-L, diminuindo o influxo de cálcio por estes canais e, conseqüentemente, reduzindo a força de contração. (ISHIKAWA e HOMCY, 1997).

Por outro lado, as subunidades  $\beta$  e  $\gamma$  ativam o canal de potássio colinérgico dependente ( $K_{ACh}$ ) (LOGOTHETIS, 1987), que pela ativação vagal, no nódulo sinusal, leva à diminuição na taxa de despolarização diastólica lenta. Isto ocorre da seguinte forma: 1) a corrente de  $K^+$ , aumentada devido à ativação dos  $K_{ACh}$ , promove alteração no potencial de membrana de modo a opor-se a despolarização. Isto, por sua vez, leva a uma diminuição da frequência sinusal. Essa mesma ativação promove uma diminuição da corrente de  $Ca^{2+}$  em receptores do tipo L e, portanto, uma diminuição no platô do potencial de ação e do período refratário (AIRES, 1999). Estes processos associados à ação da ACh estão relacionadas aos efeitos cronotrópico, inotrópico e dromotrópico negativos, ou seja, a diminuição da frequência, força e condutibilidade cardíaca.

A diminuição da FC ou bradicardia é uma resposta da hiperestimulação vagal cardíaca, presente tanto em animais quanto em humanos. Fisher e cols. (2004), em experimento em camundongos nocaute de receptores do subtipo M2, mostraram “in vivo”, que a resposta bradicárdica induzida por mecanismo vagais foram totalmente abolidas, sugerindo o papel exclusivo deste subtipo na regulação da FC.

Em vista da importância da influencia do exercício físico na modulação autonômica, que por sua vez afeta a frequência cardíaca (FORJAZ *et al.*, 1998; CHENG *et al.* 2003; COLE *et al.*, 2003; SELIG, *et al.*, 2004; KUKIELKA, SEALS e BILLMAN, 2005; FREEMAN *et al.* 2006; BILLMAN e KUKIELKA, 2006), fazemos a seguir uma abordagem desses assuntos.

### **3.3 INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO CONTROLE AUTÔNOMICO SOBRE A FREQUÊNCIA CARDÍACA.**

São inúmeros os trabalhos que ressaltam as modificações no Sistema Nervoso Autônomo frente à prática de exercício físico (FORJAZ *et al.* 1998; CHENG *et al.* 2003; COLE *et al.* 2003; SELIG, *et al.* 2004). O Exercício Físico tem atuação significativa no controle das funções autonômica cardíacas tanto simpáticas quanto colinérgicas muscarínicas (TSUJI *et al.* 1994; COLE *et al.* 2000).

Dentre os parâmetros avaliados, a Frequência Cardíaca (FC) sofre importantes modificações decorrentes ao exercício físico. Essas modificações são controladas mediante a atuação do Sistema Nervoso Autônomo, executadas estas pelos ramos simpáticos e parassimpáticos sobre a auto-ritmicidade do nódulo sinotrial (KUKIELKA, SEALS e BILLMAN, 2005; FREEMAN *et al.* 2006; BILLMAN e KUKIELKA, 2006).

A FC de repouso de um adulto jovem saudável é de aproximadamente 72 batimentos por minuto (bpm), podendo ser considerado como normal a faixa de FC entre 50 a 90 bpm. Valores de FC de repouso abaixo de 50 bpm denominam-se Bradicardia enquanto valores acima de 90 bpm denominam-se Taquicardia.

Em se tratando da FC de repouso, estudos têm verificado que esta está em constante oscilação (COLE *et al.* 2000; BILLMAN e KUKIELKA, 2005, BILLMAN e KUKIELKA, 2006). Estas oscilações ou variações podem ser tanto de caráter temporário como aquelas advindas do restabelecimento da homeostasia do sistema, ou ainda, da constante alternância da FC em decorrência da estimulação adrenérgica e colinérgica (COLE *et al.* 2000; BILLMAN e KUKIELKA, 2005).

Sendo assim, a oscilação temporal entre consecutivas contrações do miocárdio dá-se o nome de Variabilidade da Frequência Cardíaca, ou ainda, de acordo com FREEMAN *et al.* (2006), variações batimento-a-batimento no intervalo R-R do eletrocardiograma é denominado Variabilidade da Frequência Cardíaca. Esta variabilidade deve-se ao balanço autonômico simpático e parassimpático. Este fenômeno foi inicialmente estudado por Hon e Lee (1965), e vem sendo cada vez mais explorado (MEDEIROS *et al.* 2000; EVANGELISTA, BRUM e KRIEGER, 2003; MEDEIROS *et al.* 2004).

A variabilidade da FC é mais evidente no repouso do que no exercício, admitindo assim que a variabilidade da FC seja um marcador da atividade autonômica colinérgica, ou

seja, quanto maior a oscilação da FC em repouso, maior a participação vagal (ALMEIDA e ARAUJO, 2003).

Atualmente a Variabilidade da FC tem sido associada à segurança do sistema cardiovascular. Modificações na FC em repouso pela alteração do tônus vagal cardíaco e, conseqüentemente, na variabilidade da FC, determinam a preservação ou comprometimento do sistema nervoso autônomo cardíaco, tendo importante associação com o risco de mortalidade (LA ROVERE *et al.* 2002; BRAITH e EDWARDS, 2003).

Nolan *et al.* (1998) e Bilchick *et al.* (2002), relatam que aumento da FC pela redução da atividade vagal cardíaca está paralelamente relacionado à disfunção autonômica, o que representa importante indicador do estado de saúde. Já Smith *et al.* (1989), citam que a redução na atividade cardíaca parassimpática está associada ao aumento no risco de morte súbita.

Para La Rovere *et al.* (1998), a diminuição isolada da variabilidade da FC expressa um aumento de três a cinco vezes do risco de mortalidade (LA ROVERE *et al.* 1998).

A prática regular de exercício aeróbio desloca o equilíbrio autônomo cardíaco em direção a dominância vagal (MEDEIROS *et al.* 2000; EVANGELISTA, BRUM e KRIEGER, 2003; MEDEIROS *et al.*, 2004, HAUTALA *et al.* 2006). Lee *et al.* (2003) verificaram que em indivíduos saudáveis que realizaram duas semanas de treinamento em ciclo ergômetro, sendo oito sessões neste intervalo determinado 4 vezes por semana por 40 minutos a uma intensidade de 80-85% da FC de reserva, apresentavam a atividade vagal cardíaca significativamente aumentada após o período de treinamento.

Contudo, tanto animais experimentais (MEDEIROS *et al.* 2000; EVANGELISTA, BRUM e KRIEGER, 2003; MEDEIROS *et al.* 2004), como indivíduos bem treinados ou com bom condicionamento aeróbio (COLE *et al.* 2000), possuem menor FC em repouso, tendo como conseqüência a bradicardia de repouso. Esse evento é, em parte, explicado pela maior atividade vagal. Freeman e colaboradores (2006) completam que o tônus vagal é de suma importância para a manutenção adequada da FC de repouso.

Outra característica da atividade vagal, e também outro marcador da Variabilidade da FC, é a recuperação da FC após o exercício físico. O atraso na recuperação da FC tem sido mostrado com uma importante referência da mortalidade, tanto em sujeitos saudáveis como em diferentes populações, estando bem estabelecida que o retorno lento da FC ao estado basal, após o exercício, está diretamente ligado a atenuação da atividade colinérgica (COLE *et al.* 2000). Corroborando com esta afirmação, tem-se verificado que este balanço vagal aumentado pode ser observado também em populações não saudáveis.

Em estudo feito em população com alterações cardiovascular demonstrou-se que a recuperação da FC pós-exercício a valores próximo aos basais melhora após treinamento de “endurance”, como o apresentado por Hao *et al.* (2002). Giallauria *et al.* (2006) investigando a reabilitação de 268 pacientes idosos pós Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) engajado num programa de reabilitação cardíaca com duração de três meses, constataram que o programa de exercício aeróbio resultou em melhora da recuperação da FC. Ambos os estudos associaram essa melhora a um aumento da atividade vagal colinérgica, estando correlacionados à Variabilidade da FC.

Ainda em pacientes pós IAM, Kleiger *et al.* (1987) constataram que os pacientes que exibiam a menor variabilidade na FC durante a recuperação tinham maior risco de morte súbita. O risco relativo de mortalidade foi 5,3 vezes maior em pacientes com 50 ms, no intervalo R-R do ECG, em comparação com doentes com variabilidade de 100 ms.

Tsuji *et al.* (1999) demonstraram a relação entre a variabilidade da FC em repouso e a prevenção de arritmias fatais e outras causas de óbito cardíaco. Os autores ressaltam a importância e o grande interesse em estudar a variabilidade da FC e a mortalidade por doenças do coração. Nesta mesma linha de raciocínio, Billman e Hoskins, (1989) e Collins e Billman, (1989) demonstraram, em cães, que a variabilidade da FC foi muito mais baixa nos animais suscetíveis a fibrilação ventricular, em comparação aos animais resistentes a estas arritmias malignas. Em resumo, cães suscetíveis exibiram uma maior redução da atividade vagal em razão aos exercícios submáximos, quando comparados aos animais resistentes.

Em vista do exposto, depreende-se que o exercício físico tem fundamental participação na minimização do risco de morte associado à modulação autonômica, principalmente a colinérgica a qual parece ter relação estreita com alterações na frequência e com a gênese de arritmias. Assim, a seguir abordaremos a influencia do Sistema Nervoso Autonômico sobre a gênese de arritmias.



## 3.4 GÊNESE DAS ARRITMIAS

### 3.4.1 Influência do Sistema Autônomo sobre as arritmias atriais.

Denomina-se arritmia cardíaca a perturbação da seqüência normal de propagação e/ou iniciação da ativação elétrica do coração.

A anormalidade na iniciação do impulso elétrico pode resultar em frequências cardíacas baixas, denominadas bradiarritmias, ou ritmos cardíacos anormalmente rápidos, denominados de taquiarritmias. Ambos são problemas clínicos comuns, que podem ser tratados com fármacos antiarrítmicos.

As arritmias atriais, incluindo a fibrilação atrial (FA) e a taquiarritmia atrial (TA), são as mais freqüentemente encontradas na prática clínica. Elas afetam aproximadamente 2,3 milhões de pessoas só nos Estados Unidos. Devido ao fato de a incidência das arritmias atriais aumentarem com a idade, estima-se que em 2030, mais de 4 milhões de pessoas estejam afetadas por esta doença (GO *et al.* 2001).

Quanto à incidência, ainda não é clara a prevalência da FA em relação ao gênero, mas sabe-se que esta enfermidade pode estar associada a outros distúrbios cardíacos, estes sim tendo maior significância em cada um dos gêneros (CARROLL e MAJEED, 2001; GO *et al.* 2001; DENUS *et al.* 2005).

Vários pesquisadores têm relacionado à participação da modulação autonômica na indução de arritmias. Quanto às arritmias induzidas pelas alterações simpato-vagal, sabe-se que tais alterações podem influenciar o desenvolvimento de arritmias, ocasionando instabilidade elétrica através de uma variedade de mecanismos eletrofisiológicos. Um exemplo deste fato ocorre no infarto do miocárdio, que pode interromper as transmissões neurais aferentes e eferentes e criar áreas de hipersensibilidade simpática que, por sua vez, podem levar ao desenvolvimento de arritmias (ZIPES *et al.* 2006).

Em se tratando do exclusivamente do Sistema Nervoso Periférico, sabe-se que a estimulação do nervo vago, ou a perfusão de acetilcolina, podem resultar em mudanças significativas no período refratário atrial, na condução atrioventricular e indução de fibrilação atrial, ou seja, na eletrofisiologia cardíaca normal. (SPEAR e MOORE, 1973; GOLDBERGER e PAVELEC, 1986; ZIPES *et al.* 2006).

Dados obtidos por Godoy *et al.* (1999) em modelo animal corroboram a informação acima. Seus resultados elucidam que a inducibilidade de arritmias em átrio direito isolado de

rato é abolida quando este é perfundido em 1 $\mu$ M de atropina (bloqueador colinérgico muscarínico). Corroborando estes resultados, Faria *et al.* (2008) relatam a participação do mecanismo colinérgico na facilidade de indução elétrica de arritmias atriais. Neste trabalho observou-se que o pré-tratamento do tecido atrial por 30 minutos com Carbacol (mimetizador da ação acetilcolina, mas que não sofre ação da colinesterase) levou a uma diminuição significativa no número de trens de pulsos elétricos necessários para induzir arritmia. Por outro lado, foi observado bloqueio da arritmia em animais recém nascidos, jovens, adultos e velhos ao realizar o pré-tratamento com bloqueio colinérgico muscarínico (Atropina), evidenciando a participação colinérgica no processo de indução das arritmias atriais.

Estes resultados podem estar indicando ser o aumento colinérgico um dos possíveis mecanismos que justificam o aumento na incidência de arritmias em atletas quando comparados aos não atletas. O racional para esta consideração baseia-se no trabalho de Zehender e colaboradores (1999) no qual se relata que, em seres humanos, tem sido documentada maior incidência de fibrilação atrial em atletas de alto nível, bem como no trabalho de Negrão e Barreto (2005) que explicam que a maior incidência de fibrilação atrial em atletas está associada à alteração do sistema nervoso autônomo, mais especificamente do tônus vagal. Em monitorações mais prolongadas do ECG, a incidência de FA em atletas fica em torno de 0,0063%, que é consideravelmente maior (aproximadamente 60%) que a incidência de 0,004% encontrada em pessoas sedentárias na mesma faixa etária.

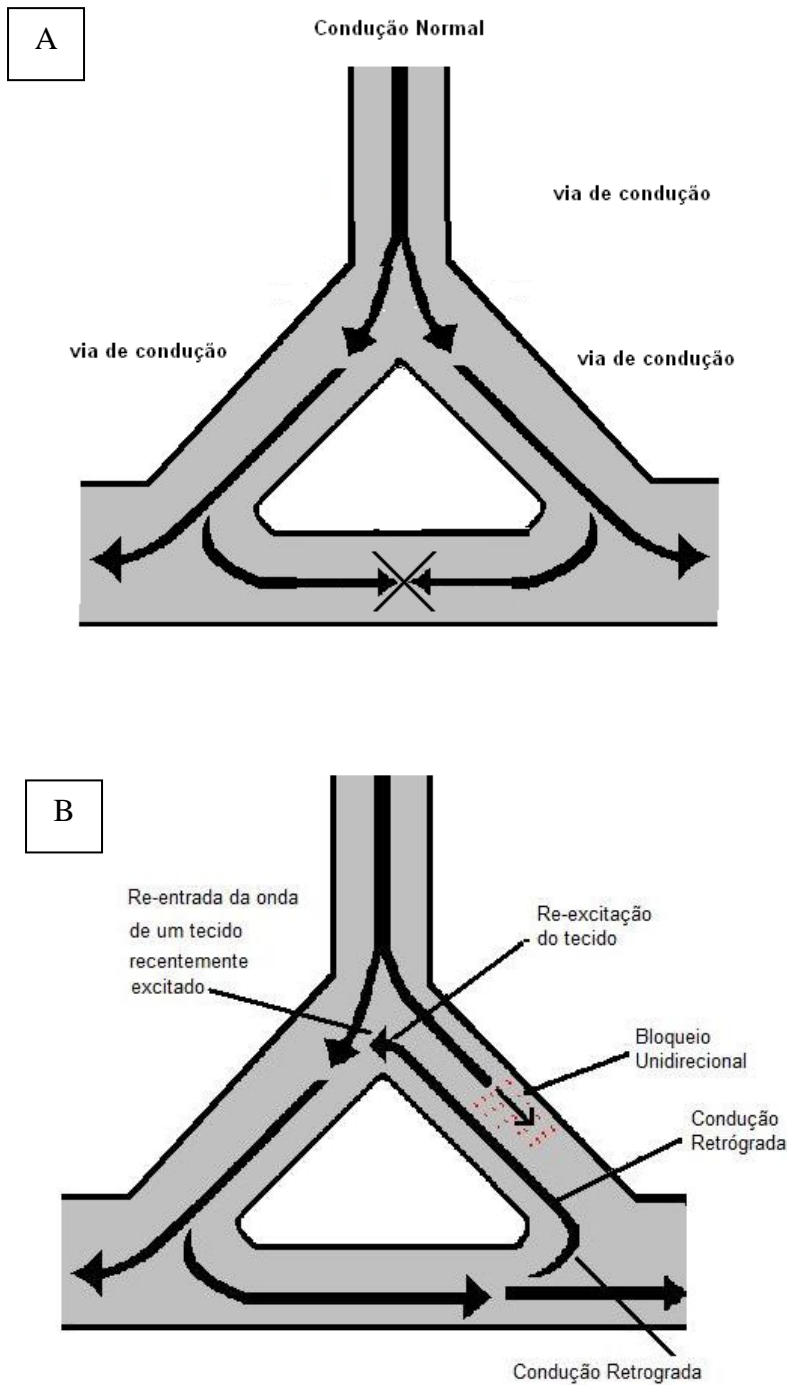
Assim como na eletrofisiologia normal, mecanismos de transportes iônicos intracelulares estão envolvidos na FA e na TA. Especificamente no que se refere ao íon Ca<sup>++</sup>, estudos têm indicado que alterações na homeostase de Ca<sup>++</sup> intracelular, com conseqüente aumento na atividade da membrana, poderiam ser fatores desencadeantes de arritmias atriais. Por exemplo, o aumento na concentração intracelular deste cátion produz um efeito de “*feedback*” negativo sobre a atividade dos canais de Ca<sup>++</sup> do tipo L (LEE, MARBAN e TSIEN, 1985). Este mecanismo celular está presente em cardiomiócitos de indivíduos que apresentam maior atividade vagal, como é o caso de atletas treinados para “*endurance*” (ZEHENDER *et al.* 1999; CAO, CHEN e KENKNIGHT, 2000; NEGRÃO e BARRETO, 2005).

Dois mecanismos fundamentais para a gênese de arritmias, denominados de Reentrância e “*Triggered Activity*”, são mediados de maneira importante pela sobrecarga de Ca<sup>++</sup> intracelular, e afetados significativamente pela modulação colinérgica. Assim, a seguir descrevemos mais profundamente estes mecanismos arritmogênicos.

### 3.5 MECANISMO DE REENTRADA E “TRIGGERED ACTIVITY”.

A atividade elétrica durante cada ciclo cardíaco normal tem início no nódulo sinusal e propaga-se pelo coração até que a totalidade das fibras cardíacas tenha sido ativada. Essa ativação elétrica se dá célula-a-célula, sendo que esta se extingue quando todas as fibras tiverem sido ativadas eletricamente e estiverem refratárias para responder a uma nova ativação elétrica. Durante esse período refratário, a ativação elétrica “não tem para onde ir” e, deste modo, extingue-se. Após um determinado período, o tecido cardíaco sai do período refratário, e a ativação elétrica pode então ser reiniciada no nódulo sinusal.

Entretanto, algumas alterações na condução da atividade elétrica podem levá-la a atingir uma parte do tecido cardíaco que deveria estar refratária naquele momento do ciclo cardíaco, dando subsídio ao que chamamos de reentrância (figura 7) (BRAUNWALD, ZIPES e LIBBY, 2003; Veenhuyzen *et al*, 2004). A reentrância (figura 7B) se estabelece quando a ativação elétrica atinge um ponto de ramificação de duas vias de condução distintas, propaga-se apenas por uma delas (bloqueio unidirecional da outra via) e retorna pela outra via re-excitando novamente o ponto de ramificação que deveria estar refratário. Desta forma, para que a reentrância ocorra, o ponto de ramificação deve exibir bloqueio unidirecional em uma das vias, e o ponto de ramificação deve estar fora de seu período refratário. Portanto, alterações na condutibilidade e na excitabilidade cardíaca são subsídios importantes para a formação de circuitos reentrantes. Este mecanismo é responsável pela gênese de taquiarritmias clinicamente importantes, tais como taquiarritmias e fibrilação.



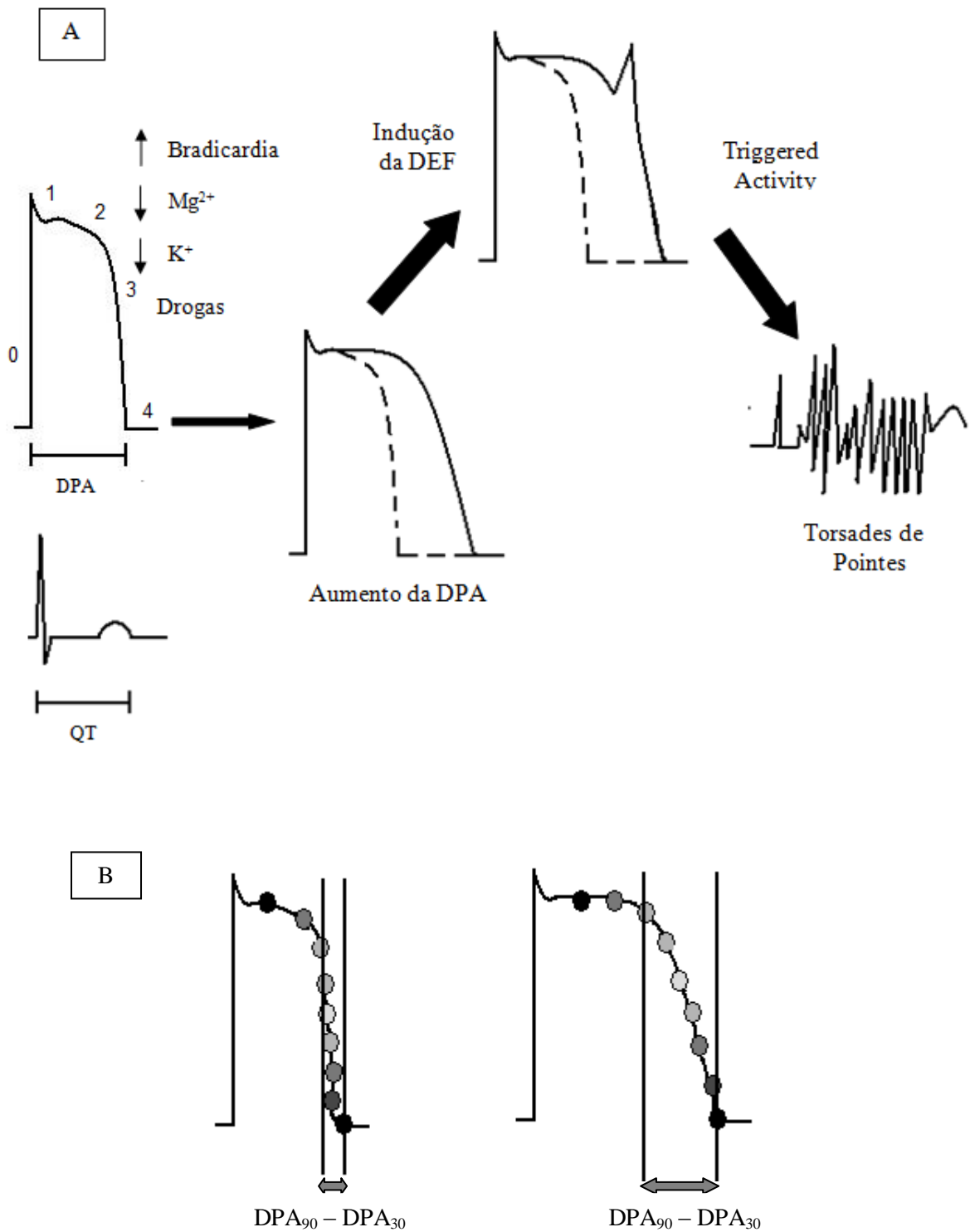
**Figura 7** - Ilustração de um modelo de circuitos ou correntes reentrantes no tecido cardíaco. A- Via de condução normal. A atividade elétrica percorre normalmente a via de condução. B- Via de condução anormal. Este circuito de condução anormal se estabelece quando a atividade elétrica atinge um ponto de ramificação de duas vias de condução distintas, propagando-se apenas por uma delas e retornando pela outra via re-excitando novamente o ponto de ramificação. Para que isto ocorra, a via de condução que re-excita o ponto de ramificação deve exibir bloqueio unidirecional e o ponto de ramificação deve estar fora de seu período refratário. A frequência da atividade reentrante é superior à normalmente mantida pelo nódulo sinusal, gerando arritmia cardíaca.

Desta forma, segundo a Diretriz de Fibrilação Atrial de 2003, na fibrilação atrial, são originados diversos circuitos de reentrada, e para que esta arritmia seja sustentada, é indispensável uma área mínima de tecido atrial envolvida, chamada de massa crítica. Isto explica, em parte, a maior ocorrência de fibrilação atrial em doenças que provocam distensão ou hipertrofia de tecido atrial.

Entretanto, outras alterações na eletrofisiologia podem resultar em arritmias cardíacas. Valentin *et al.* (2004) relatam que o prolongamento do intervalo QT do ECG, tem sido usado como um marcador para uma rara, mas potencialmente fatal arritmia ventricular conhecida como “*Torsades de Pointes*”. Os mesmos autores citam que, essa modificação no intervalo QT pode ser desencadeada por drogas farmacológicas, diminuição na corrente de magnésio e potássio, alterações na corrente de cálcio e também pela bradicardia, resultando em eventos denominados “*Triggered Activity*”, que originam as “*Torsades de Pointes*”.

As “*Triggered Activities*” consistem essencialmente de disparos espúrios da ativação elétrica cardíaca em decorrência da recuperação extemporânea da excitabilidade do coração no final do ciclo cardíaco. Descobertas recentes têm sugerido que alterações no aumento do da Duração do Potencial de Ação (DPA) ventricular, entre as fases 2 e 3, estão associados e estes eventos arrítmicos. O aumento na DPA pode ser explicado por duas razões: (1) aumentando o tempo da abertura da janela para corrente de  $\text{Ca}^{2+}$  pode ocasionar em despolarização extra facilitada (DEF) logo após iniciada a repolarização; (2) aumentando o tempo da abertura da janela para corrente de  $\text{Na}^+$  pode similarmente ocasionar DEF durante a recuperação do potencial de ação (HONDENGHEM e HOFFMANN, 2003). De qualquer forma, todos estes processos resultam em uma lentificação na repolarização ventricular que, por sua vez, viabiliza que canais de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  saiam da inativação e gerem ativação a elétrica extemporânea que denominamos “*triggered activity*” (figura 8).

Deste modo, verifica-se que os mecanismos eletrofisiológicos das arritmias são complexos e influenciados por diversos fatores, podendo ser tanto por reentrada quanto por “*triggered activity*”.



**Figura 8** – Possíveis mecanismos envolvidos na gênese de Torsades de Pointes. A- O diagrama ilustra a possível relação entre mudanças na duração do potencial de ação (DPA) e intervalo QT do eletrocardiograma com o desenvolvimento de Torsades de Pointes. B- Representação esquemática do potencial de ação cardíaco elucidando a janela para extra pulsos entre o  $DPA_{90} - DPA_{30}$ . (Adaptado de Valentim e col. 2004).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 ABORDAGEM GERAL.

Nesta pesquisa buscamos avaliar a influência do treinamento físico de natação sobre a modulação autonômica colinérgica muscarínica, a frequência cardíaca *in vivo*, a suscetibilidade a arritmias atriais e as alterações morfológicas no tecido cardíaco *in vitro*.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Eletrofisiologia Cardíaca (LEC) do Núcleo de Pesquisas Tecnológicas (NPT) da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Manipulação e Experimentação Animal (CEMEA/UMC). A seguir apresenta-se uma descrição detalhada destas abordagens, divididas em duas sessões (parte experimental *in vivo* e parte experimental *in vitro*) de acordo com o desenvolvimento da pesquisa e dos experimentos.

### 4.2 PARTE EXPERIMENTAL *In Vivo*

#### 4.2.1 Animais.

Para a realização dos experimentos foram utilizados ratos Wistar (machos, adultos - 60 dias, N= 18), provenientes do Biotério Central da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC).

Os animais foram mantidos em uma sala do Biotério Central sob condições ambientais estáveis (ventilação local diluidora, temperatura ambiental entre  $22 \pm 2^\circ \text{C}$ , umidade relativa entre 45% e 75% e duração do fotoperíodo no regime 12 horas escuro por 12 horas claro).

Para manter as condições de estabilidade necessárias para a espécie, os animais foram alojados em gaiolas de poliéster padronizado e cama de maravalha esterilizada, com não mais que quatro animais por gaiolas. A limpeza das gaiolas era realizada em dias alternados (3 vezes na semana). A água acidificada com HCl 1N (pH entre 2-3) e ração comercial peletizada foram fornecidas aos animais em regime *ad libitum*. Os animais utilizados, em todos os experimentos, foram pesados semanalmente em uma balança comercial (Ramuz, Ind. Com. Balanças Ltda).

Estes animais foram divididos aleatoriamente em três grupos sendo eles: Grupo Controle (GC), Grupo Estresse (GS) e Grupo Treinado (GT).

#### 4.2.2 Protocolo de Treinamento.

Para que os animais do GT pudessem cumprir o Protocolo de Treinamento, inicialmente estes passaram por um processo de adaptação no qual a duração do exercício (em minutos) e a intensidade (sobrecarga adicional ao peso corporal) foram aumentadas gradativamente, até que conseguissem realizar o treinamento como descrito a seguir. O treinamento físico teve início quando os animais alcançaram 60 dias de vida.

**Tabela 1- Programa de treinamento de natação aplicado aos animais do GT.**

	<b>Dom</b>	<b>Seg</b>	<b>Ter</b>	<b>Qua</b>	<b>Qui</b>	<b>Sex</b>	<b>Sab</b>
<b>Adap. 1</b>	0min	10min	20min	0min	30min	30min	40min
<b>Adap. 2</b>	0min	30min	30min	0min	40min	50min	50min
		2%	3%		3%	3%	4%
<b>Semana 1</b>	0min	60min	60min	0min	60min	60min	60min
		5%	5%		5%	5%	5%
<b>Semana 10</b>	0min	60min	60min	0min	60min	60min	60min
		5%	5%		5%	5%	5%

Programa de treinamento de natação realizado pelo GT, onde se indica os tempos treinamento ao longo das semanas. Observa-se as fases de adaptação 1 e 2, e de maneira resumida o programa de treinamento que compreendeu 10 semanas. Observa-se também que, na adaptação 1 e 2, os animais do GT foram sendo adaptados ao volume de exercício de maneira progressiva e que apenas na adaptação 2 foi utilizado o peso adicional ao peso corporal. Essa evolução ocorre até que os animais atingissem o volume de 60 minutos de exercício contínuo com intensidade de 5% de carga adicional ao peso corporal.



Após os animais serem adaptados ao meio líquido, à sobrecarga adicional e ao tempo de exercício, iniciou-se o protocolo de treinamento propriamente dito. O treinamento do GT consistia na realização de cinco sessões de natação por semana, com duração de 60 min cada, tendo o quarto e o primeiro dia da semana destinados ao descanso. A sobrecarga adicional (peso), importante para que o animal nadasse durante os 60 minutos, foi corrigida semanalmente e correspondeu a 5% do peso corporal. Para tal, este peso foi amarrado à cauda do animal, sem, contudo, oferecer risco de estrangulamento da mesma. O treinamento físico ocorreu sempre no período escuro dos ratos, totalizando 10 semanas. A escolha pelo modelo de natação foi devido praticidade para montagem do tanque de natação, maior praticidade na realização do treinamento, pois até nove animais eram treinados por hora e pela comprovação científica na resposta do treinamento à bradicardia de repouso. Em adição, este protocolo de treinamento tem sido caracterizado como sendo de leve para moderada intensidade, e de longa duração, o que promove aumento na capacidade muscular oxidativa e também por ser classificado como o método de exercício que melhor verifica a bradicardia de repouso (LANCHA Jr, 1999; MEDEIROS *et al.* 2000).

Com o objetivo de verificar se o estresse causado pelo modelo de exercício escolhido acarretava em alterações que pudessem comprometer os resultados, o GS realizou, durante todo o período de experimento do GT, apenas 2 sessões semanais, com duração de 15 minutos, e sem nenhum tipo de sobrecarga adicional. Esse modelo foi utilizado a fim de verificar a ocorrência de adaptações fisiológicas como as geradas pelo exercício físico.

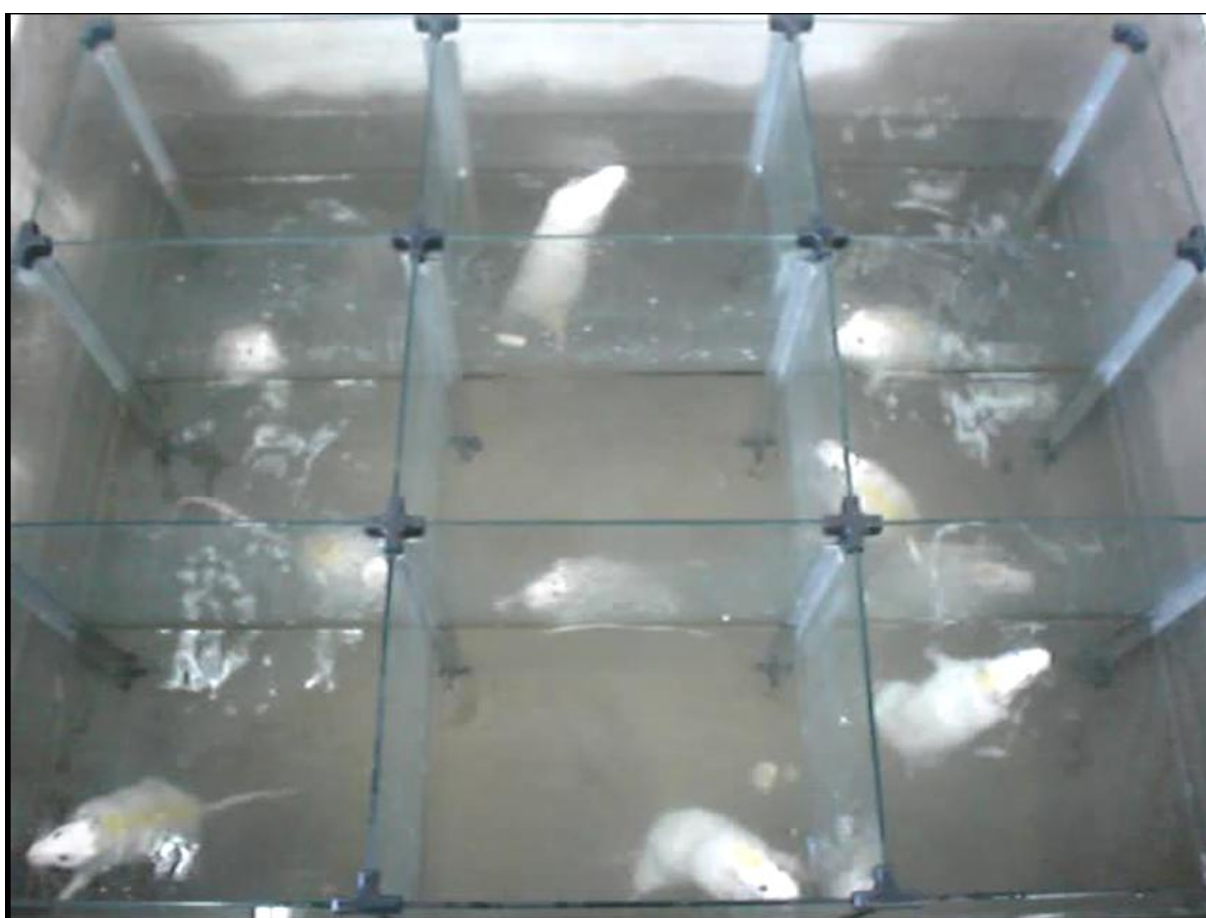
Para minimizar as variações de ambiente, o aparato para treinamento dos animais foi mantido numa sala do biotério. Durante o período de treinamento as luzes eram mantidas apagadas, tendo assim as condições mais próximas da sala onde os animais eram confinados.

No GC não houve nenhum tipo de treinamento ou modelo de estresse, apenas a mensuração da Frequência Cardíaca (ver item 3.2.4) e controle do peso dos animais.

#### **4.2.3 Tanque para o treinamento de natação.**

Para a realização do programa de treinamento, foi adaptado um tanque (caixa d'água de amianto) com dimensões de 1m x 1,20m x 0,8 m (altura x largura x profundidade). Neste tanque foram instaladas divisórias de vidro temperado com dimensões de 24 cm x 70 cm e espessura de 4 mm, formando um modelo em colméia, permitindo a realização simultânea do

treinamento de 9 animais (figura 9). Para que os animais tivessem maior adaptação ao meio líquido e também para minimizar o estresse, a água foi aquecida a uma temperatura de  $31^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por meio de resistências elétricas. A quantidade de água no interior da caixa, mantida constante, não permitia que os animais encostassem a ponta da cauda no fundo do tanque e nem que pudessem agarrar na parte superior da armação de vidros.



**Figura 9.** Foto da parte interna do tanque para treinamento de natação utilizado durante o período o programa de exercício com os animais do GT e o estímulo estresse com o GS. Ilustra-se a divisão dos animais no modelo em colméia.

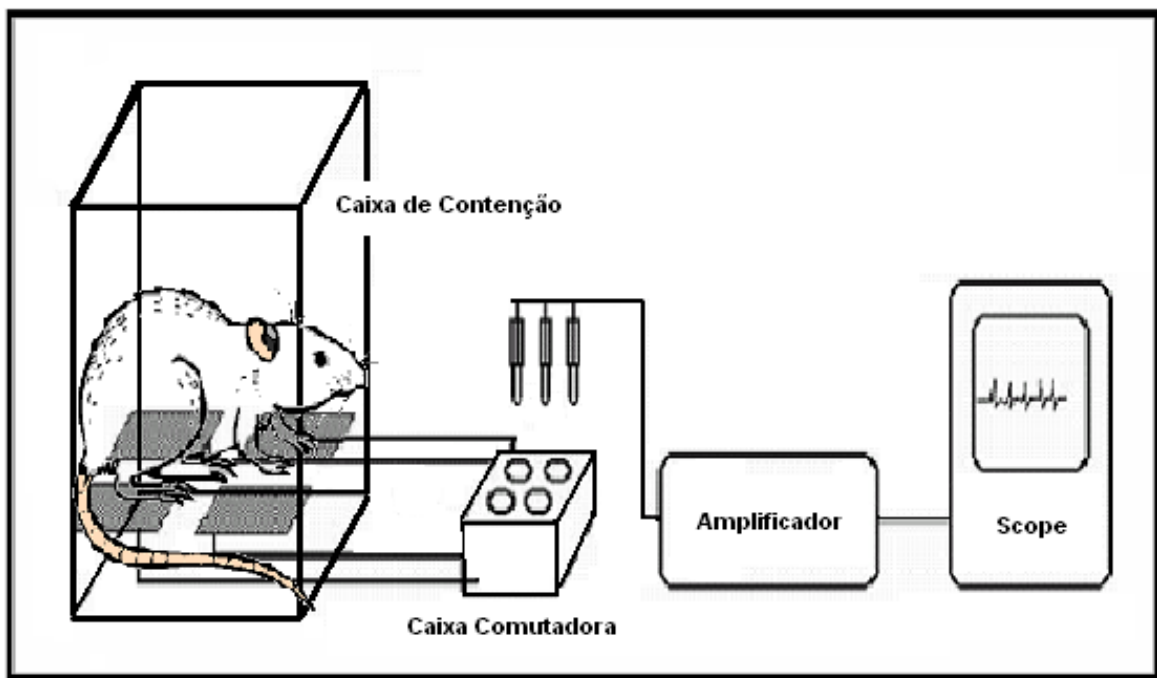
#### 4.2.4 Método para coleta e determinação da Frequência Cardíaca.

Para registrar a frequência cardíaca (FC) dos ratos, utilizou-se de uma montagem validada por COLUGNATI (2005), que monitora a atividade elétrica cardíaca do animal (figura 10). Com essa metodologia, que não utiliza eletrodos fixados ao corpo do animal, minimizou-se o estresse, reduzindo-se as possíveis alterações que poderiam ocorrer na FC. Esta montagem é composta basicamente por uma caixa de gesso revestido com vinil, plataformas de aço inoxidável, uma caixa comutadora de eletrodos, um amplificador de biopotenciais e um osciloscópio.

A caixa tem 150 mm de largura por 180 mm de profundidade por 240 mm de altura e possui 4 fendas laterais por onde os eletrodos de aço inox são introduzidos. Estes são peças cortadas de uma folha de 1mm de espessura, com 60 mm de largura e 170 mm de comprimento, dobradas de forma a se sustentarem na caixa com o peso do animal. Ligado a cada eletrodo temos um fio cuja terminação é conectada a um dos conectores da caixa de comutação. Esta caixa tem como função possibilitar que as entradas do amplificador sejam trocadas manualmente, de acordo com a posição do animal dentro da caixa. A situação ideal (melhor visualização da atividade elétrica do coração no osciloscópio) é aquela nas quais as duas patas dianteiras do animal estão ligadas às duas entradas do amplificador diferencial e uma das patas traseiras está ligada à referência do amplificador.

Para a coleta da FC, o animal foi colocado dentro da caixa previamente limpa com solução de 1mM de ácido acético. A higienização da caixa com ácido, seguida de secagem com papel toalha, teve como objetivo eliminar odores provenientes do animal anteriormente presente na caixa.

Depois de higienizada a caixa, foi realizada a adaptação dos animais com o procedimento. Cada rato permaneceu dentro da caixa por 10 minutos em um período de 10 dias. Nos primeiros minutos, ainda no processo de adaptação ao novo ambiente, o rato apresentou-se agitado, movimentando-se pela caixa e farejando o ambiente. Após o período de adaptação o rato deixou de se movimentar excessivamente.



**Figura 10.** Esquema da montagem utilizada para monitorar a atividade elétrica cardíaca do animal. Ilustram-se a Caixa de Contenção com as plataformas de aço inoxidável (eletrodos – para captação do ECG), a caixa comutadora dos eletrodos, o amplificador de biopotenciais e o osciloscópio.

No período de coleta da FC, que fora realizado semanalmente e sempre 24 horas após a sessão de exercício, cada rato permaneceu por 15 minutos no interior da caixa, tempo este estipulado para habituação à caixa. Em seguida teve início a comutação dos “*plugs*” dos cabos do amplificador na caixa de comutação, buscando-se obter um sinal que possibilitasse facilmente o reconhecimento dos picos do complexo QRS (despolarização ventricular) do Eletrocardiograma (ECG) do animal. Este procedimento foi simples, realizado em até 2 minutos. A FC instantânea, em Hz, foi calculada como sendo o inverso do intervalo RR (em segundos) do ECG.

#### **4.2.5 Método para verificação da Modulação Autonômica.**

Com o objetivo de analisar o efeito do treinamento de natação sobre o Sistema Nervoso Autonômico foi realizado, no final do período de treinamento físico, o bloqueio farmacológico dos Sistemas Nervoso Simpático e Parassimpático por meio dos fármacos Propranolol e Metilatropina (Sigma, St. Louis, MO, USA). Estes fármacos agem, respectivamente, fazendo os bloqueios simpático e colinérgico. Esse procedimento foi realizado 24 horas após o término da última sessão de exercício.

Para obter com exatidão o pico de ação, e também o tempo de duração do efeito dos fármacos, foi realizado um protocolo experimental em cinco “ratos teste”, animais estes que não faziam parte dos animais dos grupos descritos anteriormente. Essa estratégia possibilitou verificar que o Metilatropina apresenta um pico de ação entre 10 a 15 minutos e que, 30 minutos após a aplicação começa a ter diminuição gradativa do bloqueio.

O mesmo procedimento foi realizado para o Propranolol, porém o pico de ação ocorreu próximo aos 15 minutos. A partir destes resultados foi estipulado o tempo de aproximadamente 15 minutos para os fármacos referidos. Esses resultados estão em consonância com os encontrados por Medeiros e cols. (2004).

No primeiro dia de teste, antes de iniciar o bloqueio com os fármacos nos animais deste experimento, foi mensurada a FC de repouso, denominada FC controle, pelo mesmo processo descrito anteriormente para determinação da FC. O valor obtido foi estipulado como o basal para este dia de experimento.

Depois de obter a FC controle, os fármacos foram injetados, via intraperitônio, nas concentrações de 0,3 mg/kg de Metilatropina e 0,4 mg/Kg de Propranolol

Primeiramente, foi injetada a concentração de Metilatropina em relação ao peso corporal desse animal. Prontamente ao obter o valor da FC, foi injetada neste mesmo animal a concentração de Propranolol adequada à dose ao peso e, a FC foi novamente aferida. Esse processo totalizou 30 min aproximadamente.

O bloqueio colinérgico com Metilatropina e adrenérgico com Propranolol foi feito para determinar a frequência cardíaca intrínseca (sem modulação do SNA). No segundo dia, inverteu-se a ordem dos fármacos, obtendo a sequência inversa dos bloqueios adrenérgico e colinérgico.

O efeito vagal foi determinado como sendo a diferença do maior valor da FC após a infusão de Metilatropina e a FC controle. O efeito simpático foi determinado como sendo a diferença da FC controle e o menor valor da FC após a infusão do Propranolol. A terminologia “efeito vagal” e “efeito simpático” foram previamente empregados para expressar a contribuição simpática e vagal na homeostasia da FC (MEDEIROS *et al.* 2004). As fórmulas abaixo expressam como foi calculado o efeito vagal (EV) e o efeito simpático (ES) sobre a FC.

$$\mathbf{EV = FC (metilatropina) - FC controle}$$

$$\mathbf{ES = FC controle - FC (propranolol)}$$

Após a realização de todos os procedimentos descritos neste capítulo, os animais foram sacrificados e, tanto seus corações como partes deles foram estudados. Assim, a parte experimental *in vitro* é detalhada a seguir.

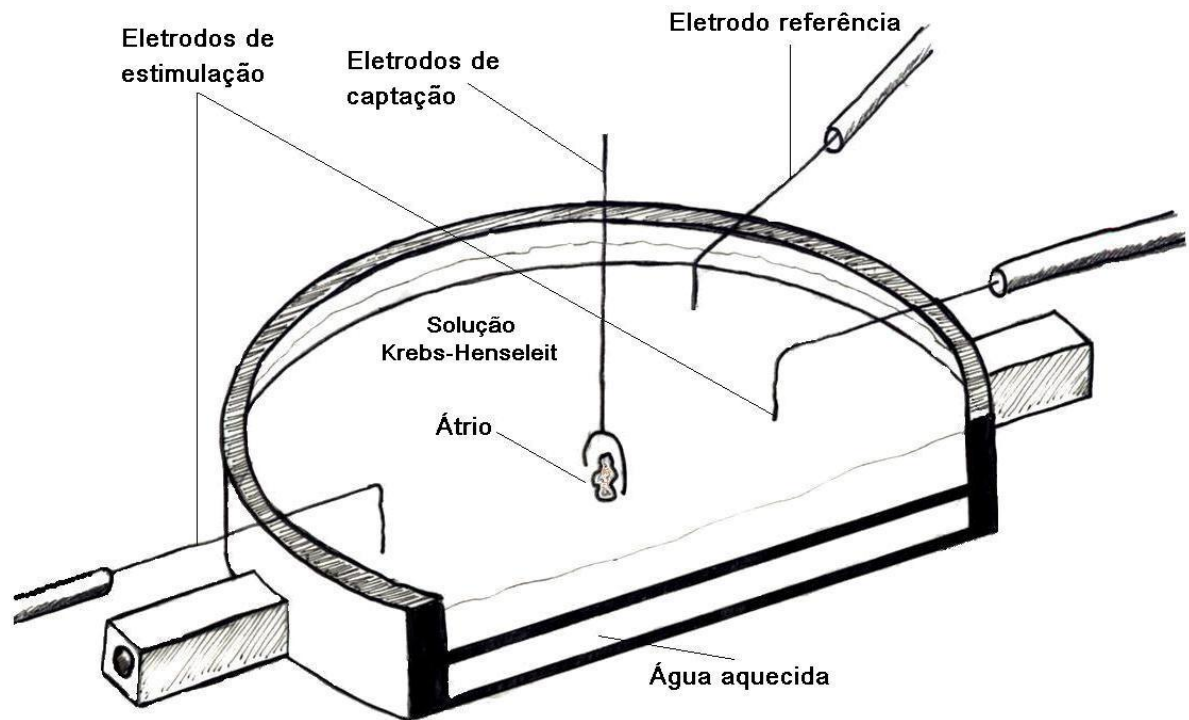
### **4.3 PARTE EXPERIMENTAL *In Vitro*.**

#### **4.3.1 Preparação biológica para indução de arritmia.**

Após a finalização da parte experimental *in vivo*, os átrios dos corações dos animais dos grupos GC, GS e GT foram isolados para dar seqüência aos experimentos *in vitro*. Assim, para que fosse possível determinar *in vitro* a vulnerabilidade a taquiarritmias, foi utilizada a preparação do tecido atrial direito isolado de rato.

Os animais foram eutanasiados por concussão cerebral seguida de decapitação. Este método está de acordo com o *Canadian Council on Animal Care Rules* (1993). Após a decapitação, foi realizada massagem torácica para promover a saída de sangue das câmaras cardíacas. Posteriormente, a caixa torácica do animal foi rebatida, seu coração removido e submerso em um béquer contendo solução Krebs-Henseleit (KH) a 36,5° C (ver item 4.3.2) para promover a saída de sangue de suas câmaras e vasos. Em seguida, o coração foi fixado em uma placa de Petri com solução de KH carbogenada. O átrio direito foi isolado e transferido para o centro da cuba de perfusão (figura 11). O restante do tecido cardíaco foi fixado em solução formolina tamponada a 10% para posterior análise do tecido cardíaco (ver item 4.3.5)

A cuba de perfusão consiste de um cilindro de acrílico com base de vidro, no qual o átrio é perfundido em solução de KH. A cuba foi mantida em temperatura estável devido ao sistema de circulação e aquecimento de água controlável (Gaymar Industries, Inc; TP-500). Esse sistema consiste em uma bomba circulatória contendo tubos e conexões que permitem a circulação de água destilada aquecida pelo interior da cuba de perfusão e seu retorno para a bomba. A solução em que o átrio é perfundido é proveniente de um equipo bureta graduado. O excedente da solução é removido através de um sistema de sucção à vácuo para que ocorra a troca da solução. O pH de 7,4 da solução é mantido através da infusão de carbogênio direto da solução contida na cuba de perfusão. A temperatura da preparação foi mantida constante a 36,5° C. O peso dos átrios utilizados nos experimentos foi obtido utilizando balança analítica (Ohaus Corporation, Explorer, EUA).



**Figura 11-** Representação esquemática, em perspectiva, da cuba experimental acrílica com sistema de circulação interno de água. Estão representados também os eletrodos de captação, de estimulação e a solução fisiológica (Krebs-Henseleit) em que estava submerso o átrio. Reproduzido com autorização de Duarte, 2007.



### 4.3.2 Solução Fisiológica.

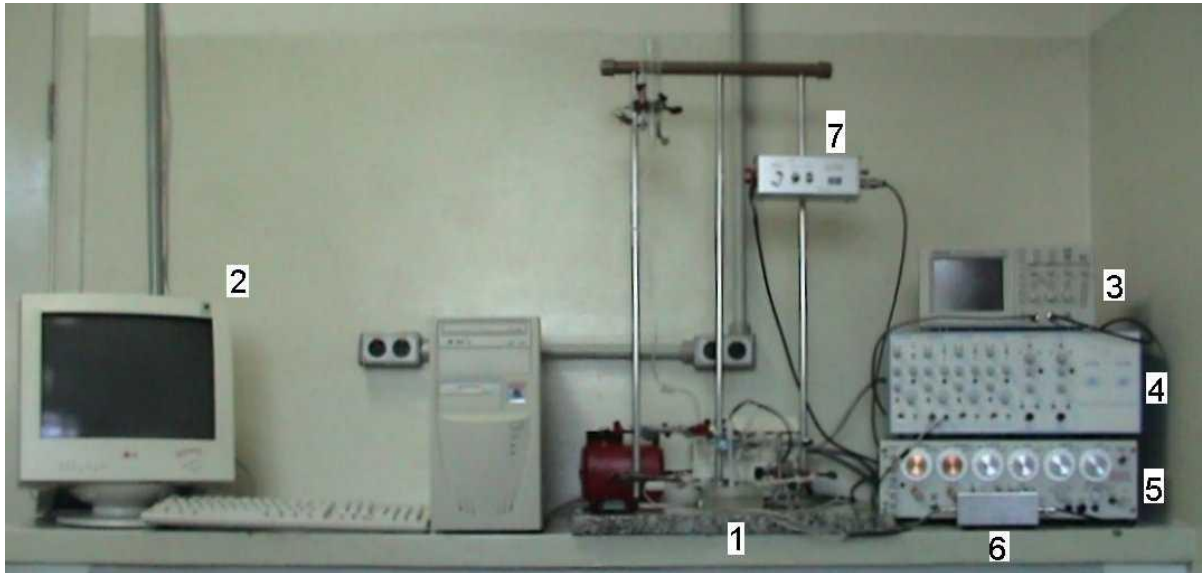
Durante o experimento o átrio foi perfundido com uma solução fisiológica de Krebs-Henseleit, com a seguinte composição (em mM): NaCl 126,4; KCl 4,6; KH<sub>2</sub>PO 1,2; MgSO<sub>4</sub> 1,2; NaHCO<sub>3</sub> 13,6; CaCl<sub>2</sub> 1,5; GLICOSE 11,11, sendo a solução saturada por meio do borbulhamento permanente de carbogênio (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>) e mantida a 36,5 °C.

O pH da solução de KH foi mantido a 7,4 e aferido no medidor de pH (Q.400A, Quimis Com. Ind. Ltda, São Paulo, SP - Brasil) toda vez que a mesma era preparada, e seu valor foi ajustado com a adição de NaHCO<sub>3</sub>. Portanto, a concentração de NaHCO<sub>3</sub> citada refere-se a um valor médio. A condutividade da solução de KH foi mensurada no condutivímetro (Meter-650, Analyser Com. Ind. Ltda, São Paulo, SP – Brasil); o valor médio da condutividade de KH a 36,5 °C em todos os experimentos foi 14 mS.

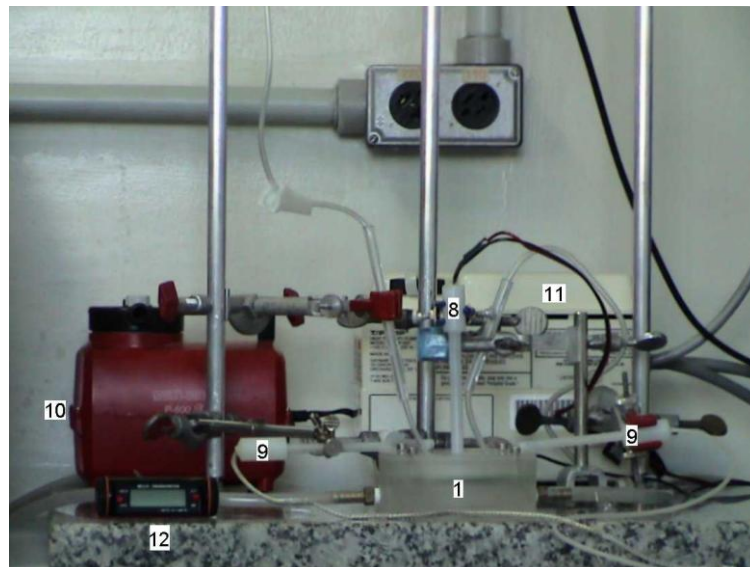
### 4.3.3 Montagem Experimental para átrio isolado.

A montagem experimental, previamente desenvolvida e testada no Laboratório de Eletrofisiologia Cardíaca (LEC), departamento do Núcleo de Pesquisas Tecnologias (NPT) da Universidade de Mogi das Cruzes está ilustrada na figura 12. Para a estimulação do tecido atrial dois eletrodos de platina são posicionados próximos ao átrio para aplicação de um campo elétrico externo. Os eletrodos ficam dispostos diametralmente na cuba de perfusão e conectados com uma unidade de estimulação isolada (Grass, SIU5 – Stimulus Isolation Unit; Grass Inst. Div; astro-Med Inc; W. Warwick, RI, USA) do estimulador elétrico de tensão (Grass S48 – Stimulator; Grass Inst. Div; Astro-Med Inc; W. Warwick, RI, USA). Para a captação da atividade elétrica atrial, utilizaram-se três eletrodos de prata cloretada, sendo um deles o de referência, localizado na borda da cuba de perfusão. Os eletrodos de captação foram posicionados na direção ortogonal ao eixo dos eletrodos de estimulação para minimizar artefatos de estímulo nos registros do eletrograma atrial. Os eletrodos são conectados a um amplificador diferencial (Word Precision Instruments, Inc; Iso-DAM8). O eletrograma atrial foi monitorado em um osciloscópio digital (Tektronics, modelo TDS-210). Este osciloscópio permite que o sinal apresentado em sua tela seja impresso em papel por meio de uma interface RS232 acoplada a uma impressora. O eletrograma atrial também foi monitorado, registrado e processado utilizando um microcomputador (LG<sup>®</sup> Processador Intel, Pentium Core Dual, 1.6 GHz e 100 GB RAM – com sistema operacional Windows XP<sup>®</sup>)

A



B



**Figura 12-** A) Foto ilustrando a montagem experimental utilizada para átrio isolado. Ao centro da foto observa-se à câmara de perfusão (1) o sistema digital de aquisição de dados (2), o sistema de captação da atividade elétrica atrial – osciloscópio (3) e amplificador (4), o sistema de estimulação elétrica artificial: estimulador elétrico (5), sincronizador de estímulos (6) e a unidade de estimulação isolada (7). B) “Zoom” da câmara de perfusão ilustrando os eletrodos de captação (8) e estimulação (9). Bomba de sucção (10), bomba de circulação e aquecimento (11) e termômetro (12). (Adaptado de Duarte, 2007)

acoplado via adaptador de rede Ethernet a um sistema de aquisição de sinais (conversor analógico/digital – placa A/D – Lynx AC 1160) O sinal captado foi acondicionado via programa de aquisição (AqDados<sup>®</sup> 7.02) sendo os registros analisados no software AqDanalysis<sup>®</sup> (Lynx Tecn. Electr. Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

#### 4.3.4 Avaliação da Frequência Atrial.

A frequência dos átrios (FA) foi expressa como número de batimentos por minuto (bpm) e calculada pela expressão:

$$FA = \frac{1}{T_{(s)}} \times 60 \quad (\text{bpm})$$

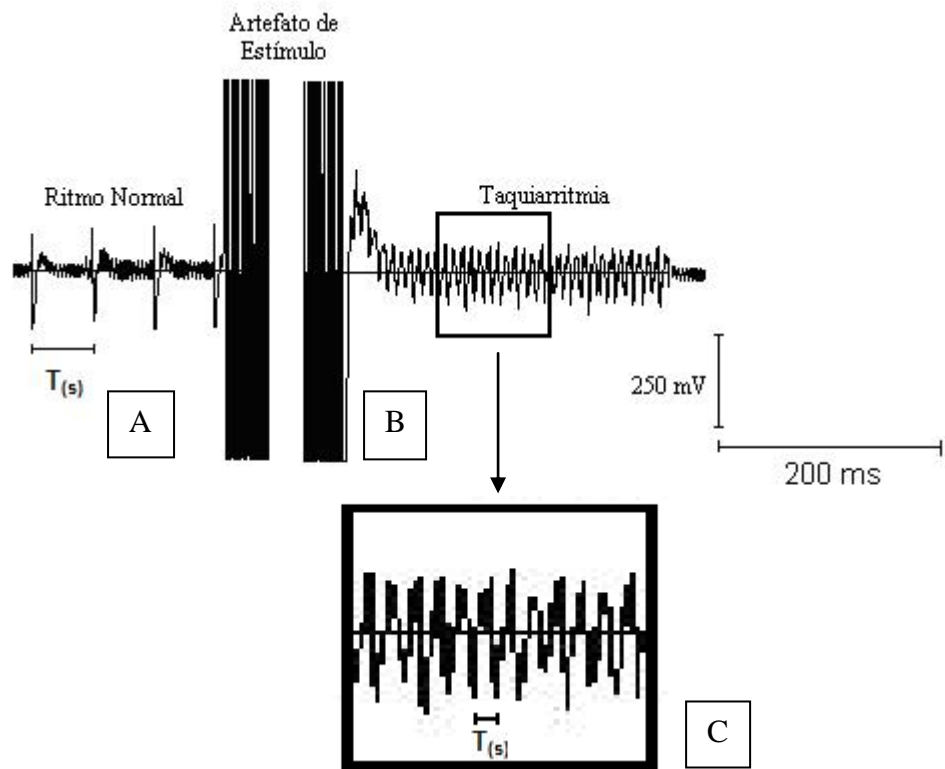
Onde, T é o intervalo em segundos (s) entre picos registrados no traçado do eletrograma (figura 13) do átrio isolado de rato, visualizado no osciloscópio e registrado no sistema de aquisição de dados.

Para testar a indução de arritmias atriais por estimulação elétrica transmural (EET) adotado nesta pesquisa, os átrios foram submetidos ao protocolo experimental (ver em 4.3.5), descrito por Godoy *et al.* (1996; 1999), Duarte (2005) e Faria *et al.* (2009).

#### 4.3.5 Protocolo Experimental para Indução de Arritmia.

O procedimento de indução de arritmias atriais por estimulação elétrica transmural (EET) adotado nesta pesquisa foi baseado no protocolo descrito por Godoy *et al.* (1996; 1999), Duarte (2005) e Faria *et al.* (2009), na qual se buscou reproduzir a metodologia para a indução da arritmia em átrio direito isolado de ratos adultos (de aproximadamente 120 dias). Assim realizaram-se os seguintes procedimentos:

1. Determinação da melhor configuração espacial dos eletrodos de captação. Para tal os eletrodos foram posicionados de modo que o ângulo entre o plano vertical formado pelos eletrodos de captação (fios de prata cloretada,



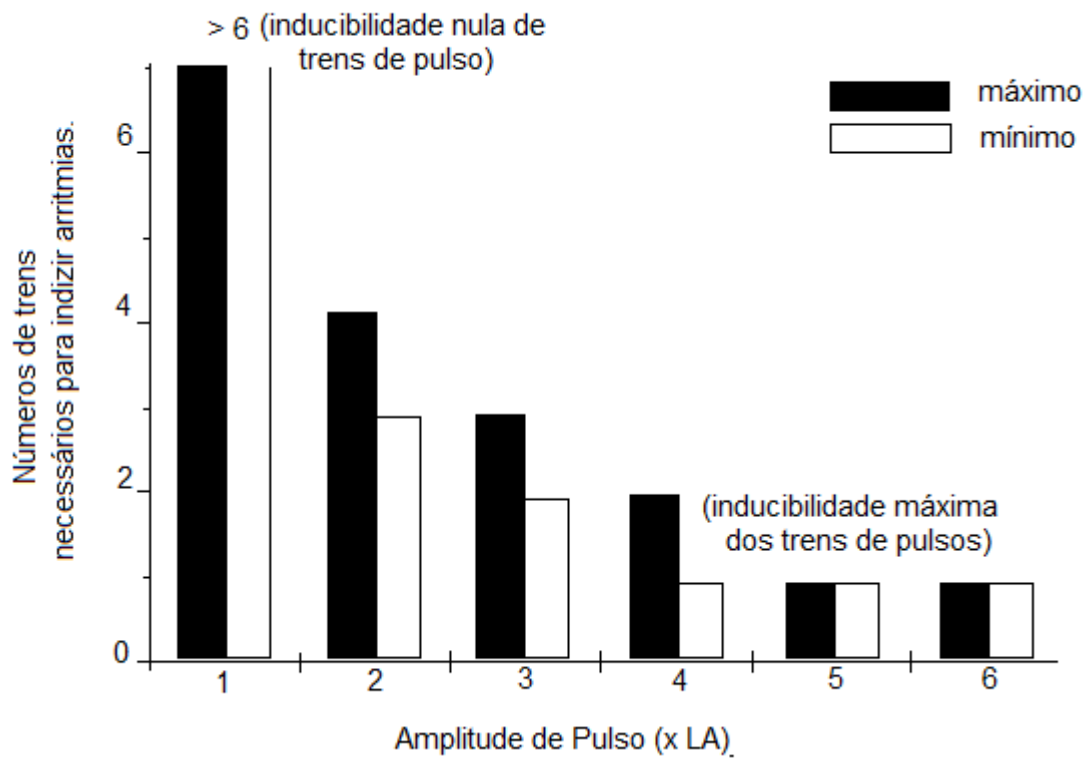
**Figura 13.** Eletrograma atrial de rato submetido ao protocolo de indução de arritmias. A- Observa-se o ritmo da frequência atrial normal -  $T(s)$  - em 162 bpm; B- o artefato de estímulo com 250 pulsos bifásicos de tensão, intervalo de 15 ms entre eles e duração 5ms de pulso; C- Taquiarritmia induzida por campo elétrico com frequência atrial -  $T(s_1)$  - de 900 bpm.

retilíneos e paralelos) e o plano vertical formado pelos eletrodos de estimulação (fios de platina retilíneos e paralelos) ficassem em torno de 90°. Nesta posição, a influência dos artefatos de estímulo no eletrograma atrial é minimizada (Galvão, 2003).

2. Estabilização da preparação por um período de 40 minutos foi aguardada antes do início dos experimentos para minimizar a influência do processo de isolamento e retirada de tecido não atrial. Na estabilização os átrios contraíam-se espontaneamente.
3. Determinação do intervalo espontâneo atrial (IE) foi mensurado através da medição do tempo entre picos espontâneos do eletrograma atrial exibido no osciloscópio.
4. Determinação do Limiar de Estimulação Atrial (LA) utilizando-se trem de pulsos com intervalo entre pulsos pouco menor que o IE atrial, isto é, com aproximadamente 80% do IE e amplitude superior ao limiar atrial (aproximadamente 40V). Neste procedimento diminuimos lentamente a amplitude do estímulo e monitoramos no osciloscópio o eletrograma atrial até observarmos atividade elétrica atrial espontânea entre os artefatos de estímulos. Foi considerado como sendo o LA a amplitude do estímulo que levou a aparecer a primeira atividade espontânea entre os artefatos de estímulos.
5. Segundo Faria *et al.* (2008) e Jordão (2009), na ausência de fármaco na solução de perfusão não foi possível induzir arritmias com trens de pulsos com amplitude igual a 1x o LA, mesmo aplicando mais de 6 trens de pulsos. Aumentando-se seqüencialmente a amplitude para 2x, 3x, 4x, 5x e 6x o LA a cada conjunto de 6 trens de pulsos, induziu-se arritmias, respectivamente com os seguintes números de trens: 3-4; 2-3; 1-2; 1 e 1 (vide figura 14). Este resultado foi reproduzível no mínimo três vezes para cada uma das amplitudes de estímulos testadas. Desta forma a aplicação de trens de pulsos com amplitude igual a 6x LA, implica em indução de arritmia com um

único trem (inducibilidade máxima do protocolo de indução), enquanto a aplicação de trens de pulsos com amplitude igual a 1x LA, implica em não indução de arritmia (inducibilidade nula do protocolo de indução).

6. Uma vez obtido o LA para duração de pulso de 5 ms, deu-se início às tentativas de indução de arritmia via protocolo, baseado em Godoy *et al.* (1996; 1999) Duarte (2005) e Faria *et al.* (2009), que consiste da aplicação de um conjunto de até 6 trens de pulsos, constituídos das seguintes características: 250 pulsos bifásicos de tensão com intervalo de 15 ms entre eles e duração 5ms de pulso. O intervalo entre picos do eletrograma atrial durante a arritmia foi mensurado diretamente no osciloscópio. Este intervalo foi utilizado para o cálculo da frequência da arritmia. A duração da arritmia foi mensurada por meio de cronômetro (Timex<sup>®</sup> EX).
7. Caso a taquiarritmia não fosse induzida após a aplicação do 6° trem de pulso a amplitude do estímulo era aumentada 1 unidade (x LA), até atingir o valor máximo de 6x LA.
8. O procedimento do item 7 foi repetido sucessivamente, aumentando-se a amplitude de estímulo até que se observasse a indução de taquiarritmia. Caso não fosse possível induzir taquiarritmia mesmo aplicando-se estímulo de 6x LA, o procedimento era interrompido, pois esta era a maior amplitude disponível pelo estimulador.



**Figura 14.** Gráfico ilustrando o número de trens (250 pulsos, duração de 5ms, intervalo entre pulsos de 15ms) mínimos e máximos necessários para a indução de arritmias em função da amplitude de estímulo do trem (expresso com múltiplos do limiar atrial – x LA). Para amplitude igual a 1x LA, não foi possível induzir arritmia (inducibilidade nula do trem de pulso). Para amplitudes de pulso iguais a 5x e/ou 6x LA, foram induzidas logo no primeiro trem (inducibilidade máxima do trem de pulso). Adaptado de Jordão, (2009).

#### 4.3.6 Análise do Remodelamento Cardíaco.

As análises descritas abaixo foram realizadas em colaboração com a Ms. Elice Carneiro Batista (aluna de doutorado UNIFESP, orientanda do Prof. Dr. João Bosco Pesquero e Co-orientada pelo Prof. Dr. Ronaldo de Carvalho Araújo). Para proceder às análises foram utilizados os tecidos cardíacos dos animais dos grupos GC, GS e GT deste experimento que estavam fixados em solução formalina tamponada a 10%.

Estes tecidos cardíacos tiveram suas câmaras separadas da seguinte forma: átrio direito e esquerdo separados, ventrículo direito e esquerdo separados. Primeiramente foi calculada a razão peso do coração e das câmaras em relação à massa corporal para estimar a hipertrofia cardíaca relacionada ao treinamento físico. Novamente os tecidos foram conservados em formaldeído a 10% para análise histológica. Nesta etapa, os tecidos foram corados em Hematoxilina-eosina (H/E) e também em Picrossírius Red para a análise quantitativa de colágeno (BORGES e cols. 2006).

Uma vez coradas as lâminas, estas foram avaliadas utilizando microscópio óptico Leica Quantimet 500, do Laboratório de Genética Molecular do Prof. Dr. Eduardo Krieger, no Instituto do Coração (InCor), na qual foi mensurado o diâmetro de 15 miócitos por lâminas. As células escolhidas para a quantificação estavam íntegras e apresentavam núcleos visíveis e centrais, e a medida foi obtida através de um traçado transversal passando pelo centro do núcleo da célula, verificando o grau de hipertrofia, em aumento de 200x (BORGES e cols. 2006).

O objetivo de realizar a coloração em Picrossírius Red e do H/E, que cora em vermelho, foi para analisar quantitativamente o colágeno e também contagem de capilares e cardiomiócitos. As alterações histológicas do tecido cardíaco, denominada fibrose, foram analisadas sob aumento microscópico de 200x.

Outra análise realizada foi a verificação da fração do volume de colágeno. Esta foi calculada pela razão percentual da área positivamente corada para as fibras colágenas (quantidade absoluta de colágeno no campo histológico) e a área total do tecido (quantidade absoluta de colágeno e miócitos no campo histológico) campo a campo, em 30 campos por lâmina. Esta análise teve como objetivo verificar as possíveis alterações histológicas desenvolvidas pelos animais e também o possível remodelamento obtido após o período do treinamento físico.

O número de capilares e fibras foi obtido a partir da média dos valores encontrados em 3 campos de  $206843\mu\text{m}^2$  cada, contados para cada animal.



#### 4.3.7 Análise dos dados.

Os resultados estão apresentados como média e desvio padrão da média. ANOVA ONE WAY de medidas repetidas e *post-hoc* de Tukey foram empregadas para comparar a frequência cardíaca pré e pós-treinamento em cada grupo e ANOVA TWO-WAY com *post-hoc* de Bonferroni foi empregada na comparação da variação (em delta:  $\Delta = FC_f - FC_o$ ) da frequência cardíaca nos momentos correspondentes entre os grupos (GS vs. GT vs. GC). As alterações do tecido cardíaco pré e pós-treinamento foram detectados pelo emprego da ANOVA ONE WAY e *post-hoc* de Tukey. Para comparação entre GS vs. GT vs. GC para Efeito Vagal, Efeito Simpático e FC Intrínseca foi utilizado Tese t Student e *post-hoc* de Tukey. A significância estatística foi considerada para  $p \leq 0,05$ . A escolha pelos métodos estatísticos acima empregados foi baseada nos estudos encontrados na literatura para assim poder comparar os resultados encontrados.

## 5 RESULTADOS

### A. Caracterização da amostra.

Na tabela 2 estão representados as médias e desvio padrão do peso corporal, do peso do coração e peso separados do ventrículo esquerdo e do ventrículo direito dos grupos controle, estresse e treinado. Todos os animais dos grupos estavam com idade de 130 dias. Os experimentos foram realizados após o período de 10 semanas de treinamento.

**Tabela 2: Características da massa corpórea, peso do coração e peso das estruturas cardíacas dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).**

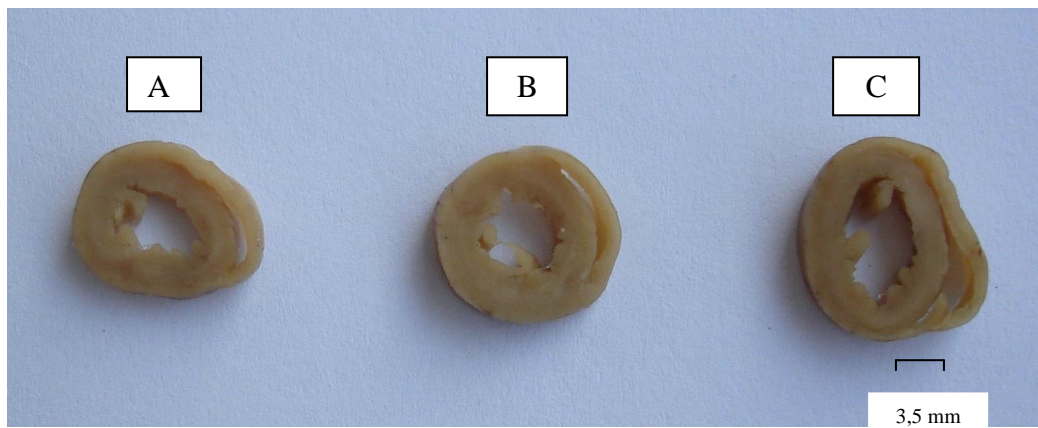
	N	Idade (dias)	PC (g)	PC (mg/g)	PVE (mg/g)	PVD (mg/g)
GC	6	130	357,5 ± 51,2	3,14 ± 0,5	1,94 ± 0,2	0,55 ± 0,1
GS	6	130	388,3 ± 48,6	3,23 ± 0,3	2,15 ± 0,2	0,56 ± 0,1
GT	6	130	362 ± 22,3	3,57 ± 0,3*	2,49 ± 0,3*	0,61 ± 0,06

Caracterização do Tecido Cardíaco dos animais GC, GS e GT após o período de treinamento de 10 semanas e idade de 130 dias. PC = peso corporal; PC = peso do coração; PVE = peso do ventrículo Esquerdo; PVD = peso do ventrículo direito. \*p < 0,05 em relação GC vs GT. Dados expressos como média ± desvio padrão.

Analisando os resultados apresentados na tabela 2, verifica-se que a massa corporal e o peso do ventrículo direito entre os grupos não foram significativamente diferentes.

Contudo, em relação ao peso do coração, empregado para quantificar a hipertrofia cardíaca, pode-se verificar que os animais do GT em relação ao GC apresentaram maior massa cardíaca ( $p > 0,05$ ) após as 10 semanas de exercício físico. Esta significativa hipertrofia representa 13,7% a mais de peso cardíaco. Embora tenha sido observado um aparente aumento de 10,5% em relação ao GT e o GS, este não foi estatisticamente significativo.

Concomitantemente, ao analisar o peso do ventrículo esquerdo, em relação ao peso corporal, verifica-se que o treinamento proposto ao GT foi determinante para o aumento do peso do ventrículo esquerdo. Nesta análise o grupo citado apresenta valor médio de 2,49mg, que é significativamente maior ( $p > 0,05$ ) quando comparado aos valores encontrados no GC com média de 1,94mg, ou seja, essa hipertrofia ventricular esquerda representa aumento de 28% em relação ao grupo controle. A figura 15 ilustra a imagem do corte transversal dos corações, na qual A, B e C representam respectivamente os animais do GC, GS e GT.



**Figura 15-** Imagem do corte transversal dos corações, na qual A, B e C representam respectivamente os animais do GC, GS e GT.

Na tabela 3 estão representados as médias e desvios padrões do percentual de colágeno, da razão capilar por fibra (R-C/F) e o diâmetro do cardiomiócito do ventrículo esquerdo (DMVE) dos grupos controle, estresse e treinado. Todos os animais dos grupos estavam com idade de 130 dias e os experimentos foram realizados após o período de 10 semanas de treinamento.

**Tabela 3: Características do percentual de colágeno, razão capilar por fibra e diâmetro do cardiomiócito do ventrículo esquerdo dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).**

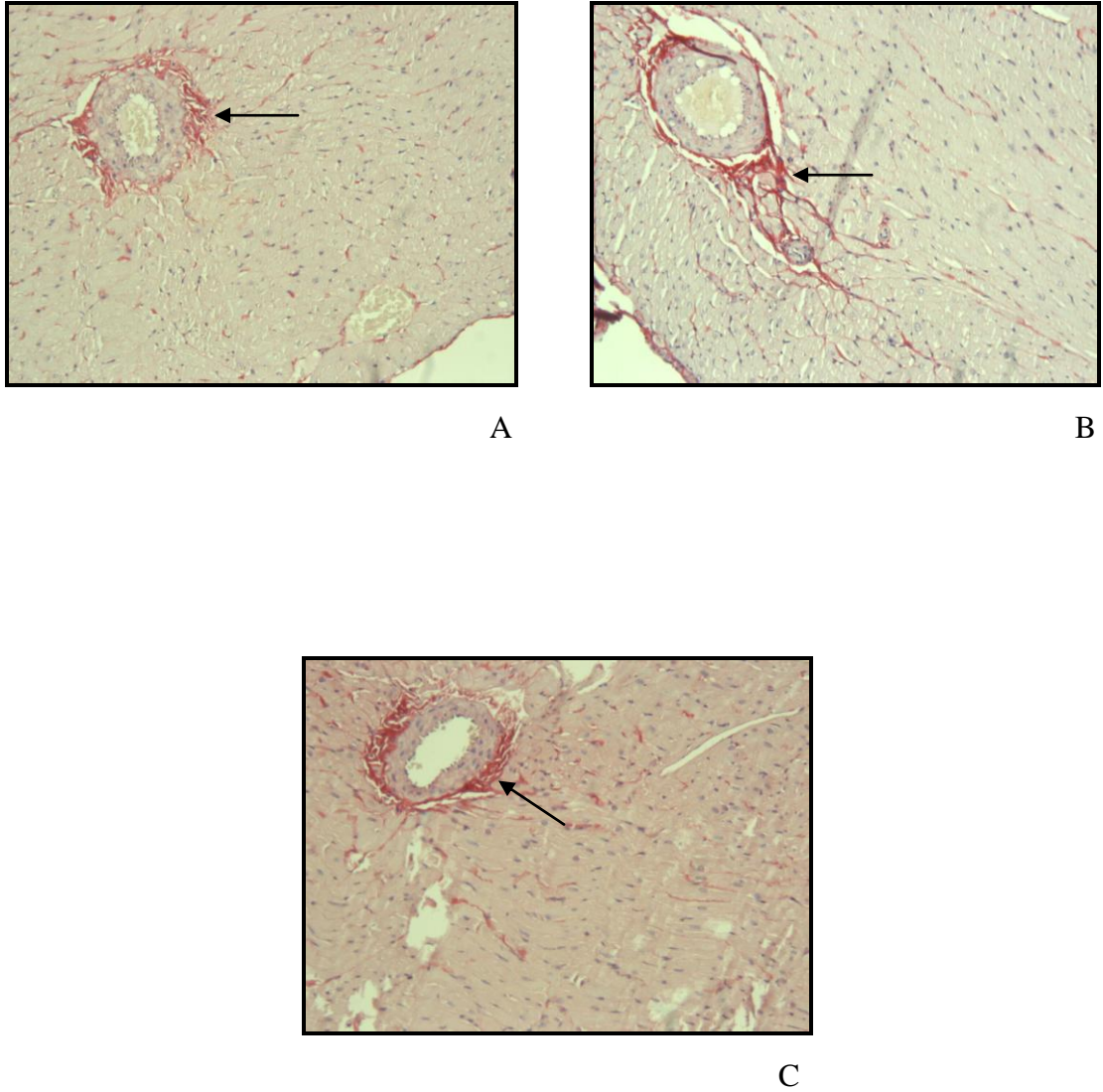
	N	Idade (dias)	COLÁGENO (%)	R-C/F	DMVE ( $\mu\text{m}$ )
GC	6	130	$0,95 \pm 0,04$	$1,07 \pm 0,02$	$10,7 \pm 1,7$
GS	6	130	$1 \pm 0,05$	$1,13 \pm 0,02$	$10,7 \pm 1,6$
GT	6	130	$1,15 \pm 0,03^{**}$	$1,38 \pm 0,02^{***}$	$13,2 \pm 1,8^*$

Caracterização do Tecido Cardíaco dos animais dos GC, GS e GT após o período de treinamento de 10 semanas e idade de 130 dias R-C/F= razão capilar por fibra; ; DMVE= diâmetro do cardiomiócito do ventrículo esquerdo. \*p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001 em relação ao GC vs GT. Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

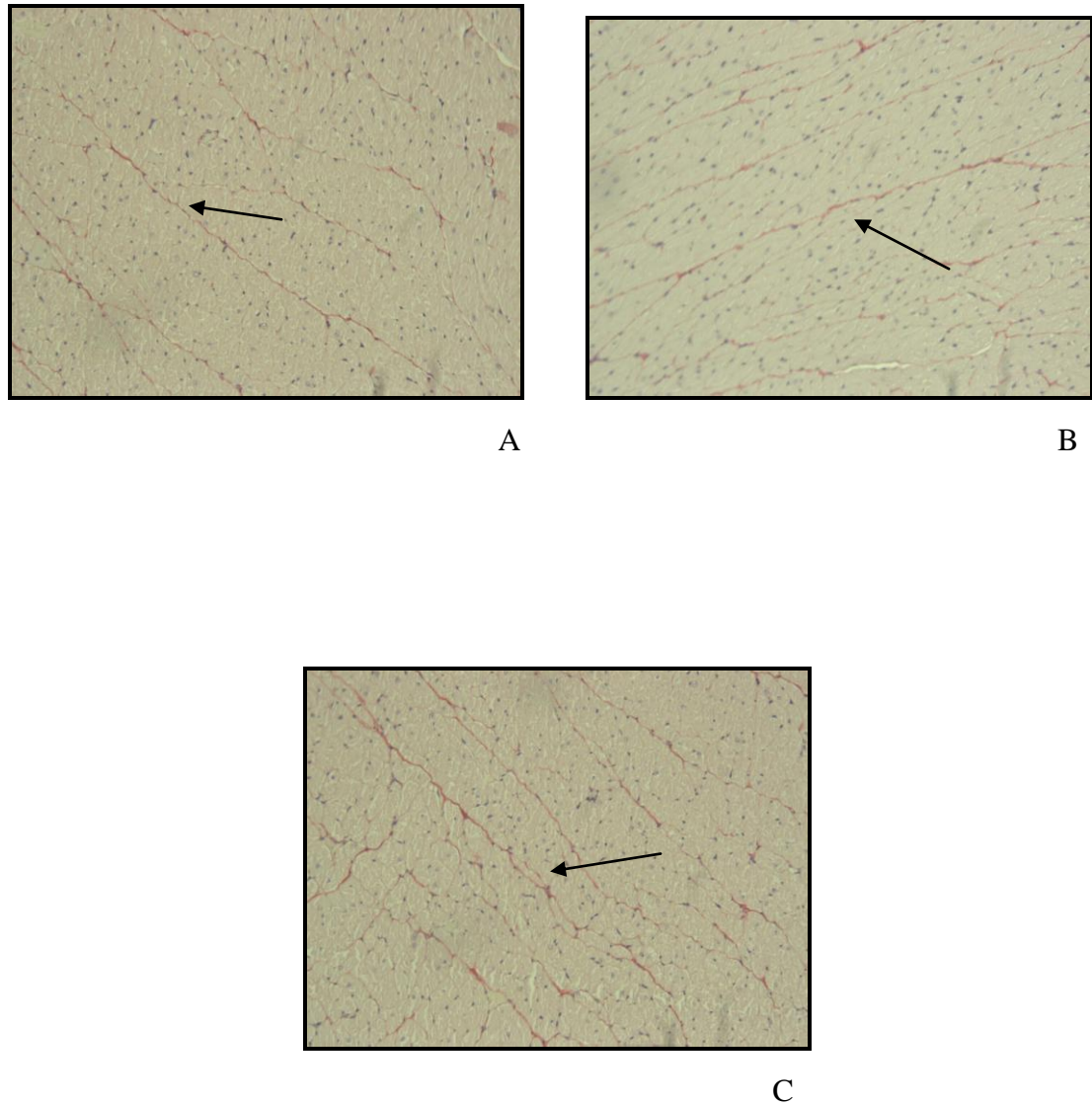
Ao analisar os resultados apresentados na tabela 3 verifica-se que o diâmetro do cardiomiócito do ventrículo esquerdo apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no GT quando comparado aos grupos GC e GS. O valor médio encontrado neste grupo foi de  $13,14\mu\text{m}$ , o que representa aumento de aproximadamente 23% para ambos os grupos.

Quanto à fração de colágeno, nota-se que o GT apresentou maior média quando comparado ao GC. O aumento de colágeno foi discreto, mas estatisticamente significativo ( $p < 0,01$ ).

Em adição, após o período de 10 semanas, verifica-se que a Razão Capilar por Fibra foi significativamente maior no GT em relação aos demais grupos experimentais ( $p < 0,001$ ). Ao comparar esse aumento observa-se diferença entre GC vs. GT de aproximadamente 29% e entre GS vs. GT de 22%. As figuras 16 e 17 ilustram, respectivamente, as lâminas histológicas coradas com HE e Picrossírius Red para colágeno perivascular e a deposição de colágeno dos animais deste trabalho.



**Figura 16-** Lâminas histológicas coradas com HE e Picrosirius Red em aumento de 200x. A região assinalada indica o colágeno perivascular. A- animais do grupo GC; B- animais do grupo GS; C animais do grupo GT. Verifica-se aumento discreto no GT ( $p > 0,01$ ).



**Figura 17-** Lâminas histológicas coradas com HE e Picrosirius Red em aumento de 200x. A região assinalada indica a deposição de colágeno. A- animais do grupo GC; B- animais do grupo GS; C animais do grupo GT. Verifica-se aumento significativo no GT ( $p > 0,001$ ).



Na tabela 4 apresentamos as médias e desvio padrão das massas dos átrios direito e a frequência do átrio direito isolado *in vitro* de cada grupo experimental.

**Tabela 4: Características da massa do átrio direito isolado, peso do átrio direito isolado em razão do peso corporal e a frequência atrial espontânea direita *in vitro* dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).**

	N	Idade (dias)	P Atr (mg)	P Atr / PC	FrA (Hz)
GC	6	130	37 ± 7,8	0,1 ± 0,05	3,8 ± 0,6
GS	6	130	42 ± 5,1*	0,1 ± 0,05	3,3 ± 0,5
GT	6	130	35 ± 5,1	0,09 ± 0,03	2,9 ± 0,3*

Caracterização do átrio direito isolado dos animais dos GC, GS e GT após o período de treinamento de 10 semanas e idade de 130 dias. Peso Atrial (PA) = peso do tecido do átrio direito isolado; PAtr / PC = peso do átrio direito em razão do peso corporal; FrA = frequência atrial. \*p < 0,05; em relação ao GS vs GC e GT. Dados expressos como média ± desvio padrão.

Os resultados apresentados na tabela 4 demonstram a massa do átrio direito isolado, a massa do átrio corrigida pelo peso corporal do animal e frequência atrial espontânea. Analisando os dados verifica-se que não houve diferença significativamente estatística entre os animais do GC vs. GT para o peso do átrio e o peso do átrio corrigido pelo peso corporal. Contudo, observa-se valor diferença significativamente maior ao comparar o resultado do peso do átrio direito isolado do GS vs. GC e GS vs. GT ( $p < 0,05$ ). Entretanto, ao corrigir este valor pelo peso corporal do animal não mais se encontram essa diferença estatisticamente significativa. Outro dado representado é a frequência espontânea do átrio direito *in vitro* que apresentou diferença significativa entre os grupos GT vs. GS e GT vs. GC ( $p < 0,05$ ).

*B. Frequência cardíaca ao longo do programa de natação.*

Na tabela 5 estão representadas as frequências cardíacas dos grupos experimentais controle (GC), estresse (GS) e de treinamento (GT) ao longo das 10 semanas de treinamento de natação.

**Tabela 5 - Frequência Cardíaca (bpm) intragrupo pré e pós-treinamento durante as 10 semanas de natação dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).**

Semanas de Treinamento	GC (bpm)	GS (bpm)	GT (bpm)
0	340,9 ± 7,2	327,4 ± 6,7	362,2 ± 7,8
1	355,5 ± 9,1	351,3 ± 3,9	375 ± 9,9
2	344,5 ± 6,4	349,7 ± 4,6	348,7 ± 6,7
3	342,7 ± 2,8	330,8 ± 6,1	333,5 ± 5,8
4	312,3 ± 5,9	320,8 ± 12,7	343 ± 10,2
5	332,7 ± 5,9	346,7 ± 6,2	342,3 ± 4,4
6	328,5 ± 6,9	304,3 ± 6,2	306,5 ± 6,5 <sup>***</sup>
7	337,2 ± 8,2	317,3 ± 8,9	321,2 ± 12,3 <sup>*</sup>
8	330,7 ± 7,9	316,8 ± 11,2	311,5 ± 4,2 <sup>**</sup>
9	314,7 ± 6,8	321,2 ± 5,0	295,5 ± 6,6 <sup>***</sup>
10	342,3 ± 12,6	318,8 ± 7,1	289,5 ± 9,1 <sup>***</sup>

Comparação da frequência cardíaca pré treinamento vs. treinamento de 10 semanas de natação. 0 é a semana pré-treinamento; 1-10 são as semanas de treinamento do grupo controle (para GC), grupo estresse (para GS) e grupo treinado (para GT). Valores após o período de treinamento de 10 semanas e idade de 130 dias \*p < 0,05; \*\* p < 0,01;\*\*\* p < 0,001. Dados expressos como média ± erro padrão.

Ao analisar os resultados apresentados na tabela 5, verifica-se que os valores da FC dos grupos GC e GS não sofreram variações estatisticamente significativas. Entretanto, a frequência cardíaca do GT do período de treinamento, comparada à frequência cardíaca pré-treinamento, foi reduzindo ao longo das semanas de natação, sendo esta redução significativa da sexta até a décima semana de treinamento, com reduções de até 20% da FC observada no pré-treinamento.

C. *Variação da frequência cardíaca ao longo do programa de treinamento.*

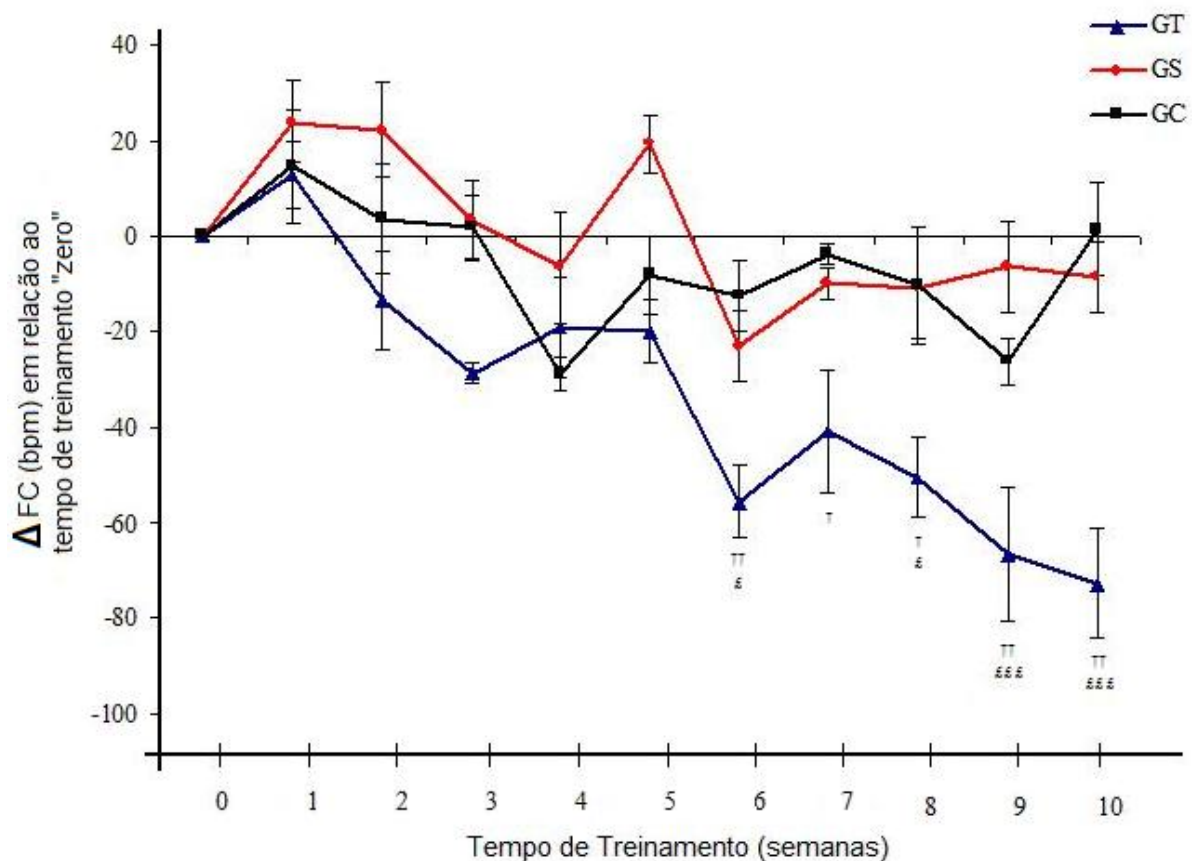
Na figura 18 ilustrada a variação da frequência cardíaca média de cada grupo ao longo das 10 semanas de treinamento em relação à frequência no tempo “zero” semanas. Estas variações da frequência cardíaca ( $\Delta FC$ ) foram calculadas para cada animal pela seguinte expressão:

$$\Delta FC = (FC_{\text{sem}} - FC_{\square}),$$

Onde,

$FC_{\text{sem}}$  representa a média e desvio padrão da FC na semana de treinamento;

$FC_{\square}$  representa a média e desvio padrão da FC no ponto zero de treinamento.



**Figura 18:** Gráficos ilustrando a variação da FC, em relação ao tempo “zero” semanas de treinamento, dos grupos GC, GS e GT ao longo do período de 10 semanas de Treinamento. O eixo das abscissas ilustra concomitantemente as semanas de treinamento com o respectivo dia de vida. (N=6). (delta:  $\Delta=t_f - t_0$ , na qual  $t_f$  representa a FC com 130 dias de vida e  $t_0$  a FC com 60 dias de vida);  $\delta$ GT vs. GS;  $\dagger$ GT vs. GC.

Com base nos resultados apresentados observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa na variação da frequência cardíaca entre os grupos GC vs. GS ao longo do treinamento. Entretanto, ao analisar os resultados obtidos pela comparação entre GC vs. GT encontra-se diferença estatisticamente significativa entre as variações de frequências cardíacas destes grupos no período que compreende a sexta e a décima e semana de treinamento. Resultado similar ocorreu entre GS vs. GT, na quinta, oitava, nona e décima semana. Outro resultado encontrado nesta figura é a comparação da FC do GT comparado a ele mesmo no tempo “zero”. Esta análise mostra diminuição estatisticamente significativa ao comparar a FC do tempo “zero” às semanas 6, 7, 8, 9 e 10.

*C. Variação da frequência cardíaca após bloqueio farmacológico.*

Na tabela 6 estão apresentadas à comparação do controle autonômico da FC por meio da variação entre FC inicial e FC com fármaco ( $\Delta FC$ ) após o bloqueio farmacológico dos grupos experimentais controle (GC), estresse (GS) e de treinamento (GT) ao longo das 10 semanas de treinamento de natação.

Para determinação do Efeito Vagal (EV) e Efeito Simpático (ES) sobre a FC foram utilizadas as seguintes equações:

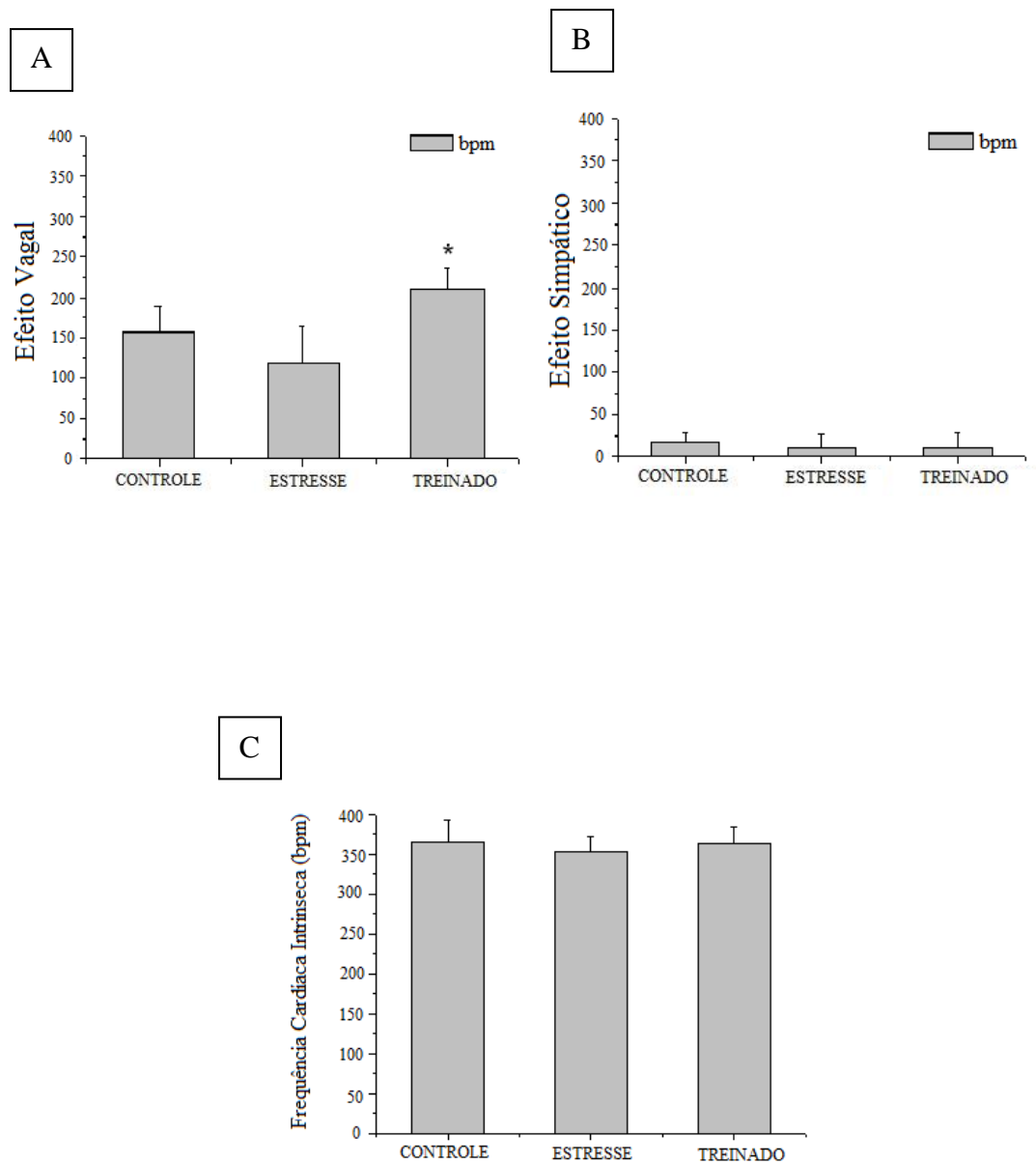
$$\begin{aligned} \text{EV} &= \text{FC}_{\text{atropina}} - \text{FC}_{\text{inicial do teste}}. \\ \text{ES} &= \text{FC}_{\text{inicial do teste}} - \text{FC}_{\text{propranolol}} \end{aligned}$$

**Tabela 6 – Comparação do Controle Autonômico da Frequência Cardíaca após o bloqueio farmacológico, entre os grupos, após as 10 semanas de natação dos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).**

	GC (bpm)	GS (bpm)	GT (bpm)
E V	157,6 ± 31,0	117,5 ± 46,0	209,9 ± 26,4*
E S	19,5 ± 12,6	11,1 ± 19,3	12,4 ± 20,2
FC Intrínseca	365,6 ± 27	353 ± 18,8	362,7 ± 21,5

Comparação do controle autonômico da FC (bpm) após o bloqueio farmacológico para os animais do GC, GS e GT após 10 semanas de exercício de natação. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \*p<0,05.

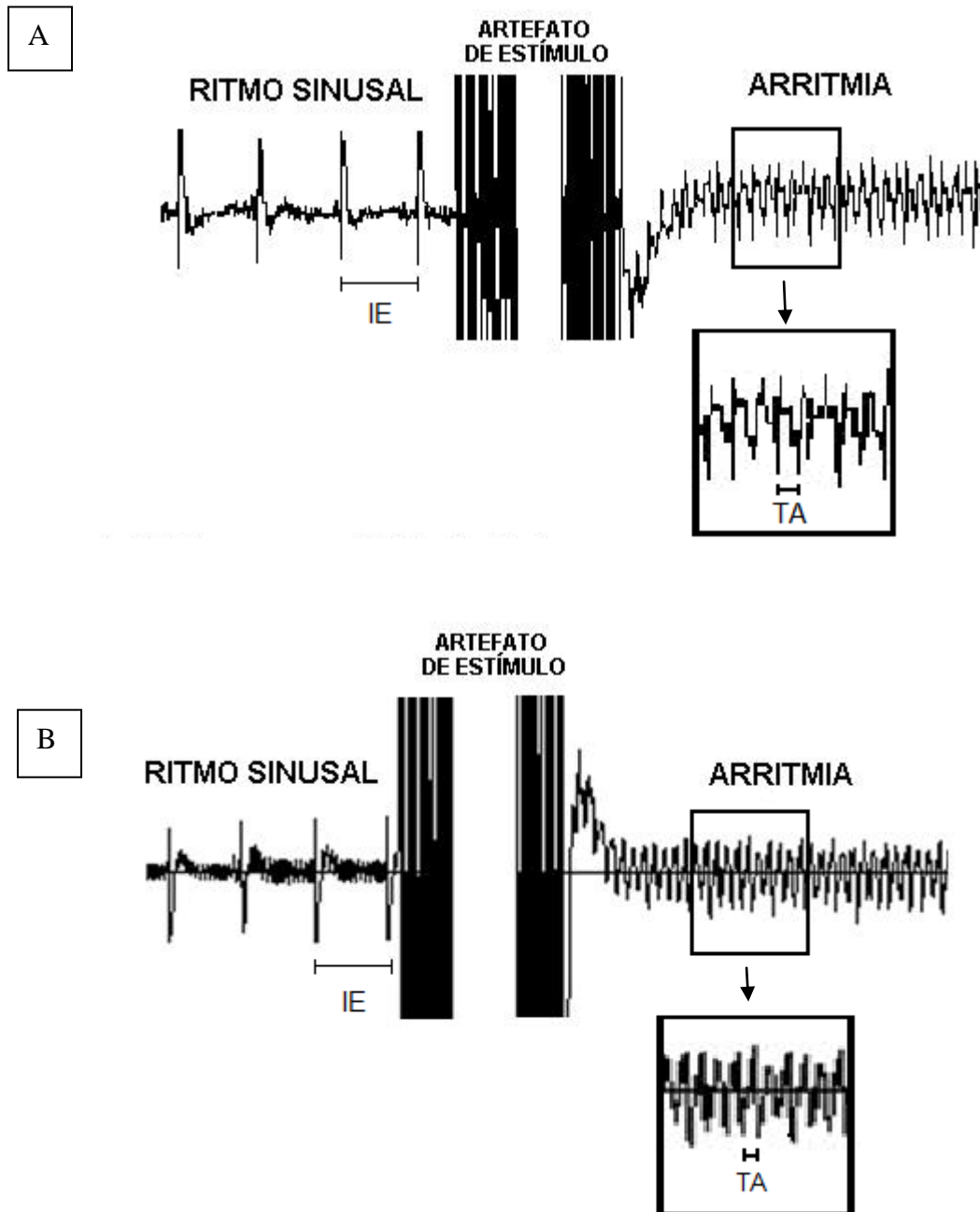
Ao analisar os dados apresentados na tabela 6, verifica-se que o valor do EV apresentado aos animais do GT foi significativamente maior quando comparado aos demais valores do GC e GS. Quanto aos valores de ES e FC intrínseca, estes não apresentaram variações significativas entre os grupos. A figura 19 ilustra o comportamento da FC neste experimento.



**Figura 19:** Gráficos ilustrando o comportamento autonômico sobre a FC em três momentos. A – participação do tônus vagal sobre a FC: Efeito Vagal; B – participação do tônus adrenérgico sobre a FC: Efeito Simpático; C - comportamento da FC intrínseca. Realizados nos grupos GC (N=6), GS (N=6) e GT (N=6) após período de 10 semanas de treinamento. \* $p > 0,05$ .

*D. Indução à arritmia em átrio direito isolado de rato.*

A figura 20 ilustra os eletrogramas atriais dos grupos GS e GT durante o protocolo de indução de arritmias.



**Figura 20.** Eletrograma atrial de rato do grupo GS (A) e GT (B). Observa-se o ritmo normal, o artefato de estímulo seguido da arritmia induzida. Frequência atrial natural em A 133 bpm; frequência da arritmia de 738 bpm. Em B, frequência atrial natural de 162 bpm; frequência da arritmia de 938 bpm.

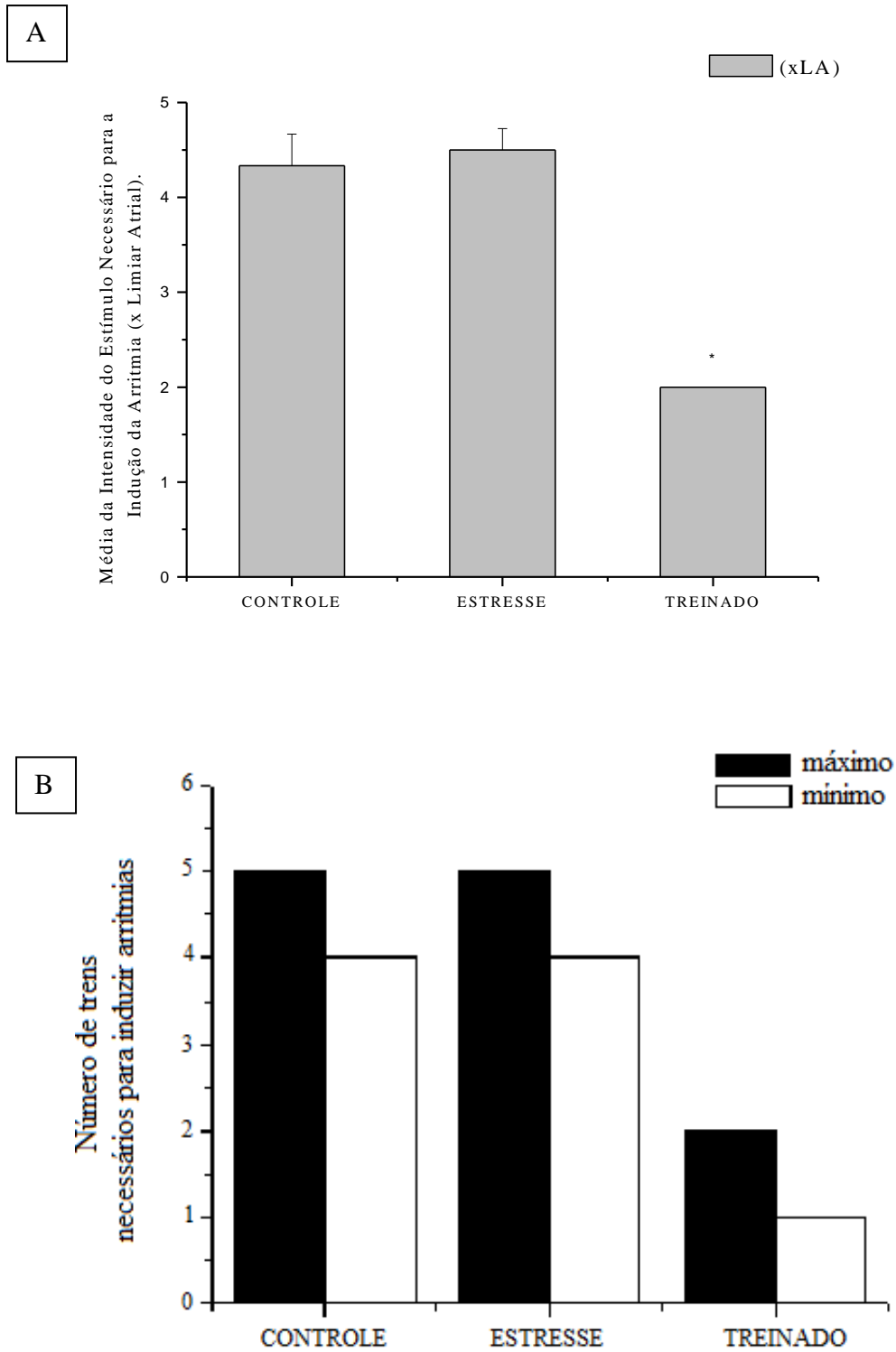


**Tabela 7: Características e Parâmetros para a indução de arritmias atriais nos animais dos grupos controle (GC), estresse (GS) e treinados (GT).**

	GC	GS	GT
Idade (dias)	130	130	130
Amplitude do Estímulo (x LA)	4,3 ± 0,8	4,5 ± 0,2	2*
Frequência Atrial <sup>a</sup> (Hz)	3,8 ± 0,6	3,3 ± 0,5	2,9 ± 0,3*
Número de trens <sup>b</sup>	4-5	4-5	1-2*
Frequência da Arritmia (Hz)	17,9 ± 2,4	24,6 ± 6,9*	18 ± 1,6
Duração da Arritmia (s)	38 a > 60	15 a > 60	25 a > 60

Características e Parâmetros na indução de arritmias atriais obtidas durante o processo experimental. Verifica-se a Idade; Amplitude do Estímulo (x LA); Frequência Atrial (Hz); Número de trens; Frequência da Arritmia (Hz); Duração da Arritmia (s). <sup>a</sup> Frequência Atrial – dado obtido após 40 min de estabilização do átrio. <sup>b</sup> Número de trens – quantidade de trens necessários para induzir arritmia, estes expressos com valor mínimo e máximo. Dado expressos em média ± desvio padrão. p > 0,05.

Na tabela 7 estão representados os dados referentes à indução de arritmia atrial nos animais dos grupos GC, GS e GT. Verifica-se que, a média da Amplitude de Estímulo (x LA) foi estatisticamente menor ao comparar este valor entre os dados obtidos para GC e GS, apresentando para GT valor de 2x LA, enquanto para GC e GS, obtiveram-se valores de 4,3 e 4,5 x LA respectivamente. Outro dado estatisticamente significativo foi a diminuição da média frequência atrial nos animais do grupo treinado, apresentado valor de 2,9 Hz, quando comparado a média frequência atrial do GC. Observa-se também que a média da frequência da arritmia dos animais do GS foi significativamente maior ao compará-la com a média da frequência atrial dos demais grupos deste trabalho. E finalizando, verifica-se que o número de trens ou a quantidade máxima e mínima de trens de pulsos necessários para induzir arritmias também apresentou diferença estatisticamente ao comparar GT vs. GS e GC. Nesta comparação, GT apresentou a quantidade mínima de 1 e máxima de 2 trens para induzir arritmia, enquanto para ambos GC e GS foi de 4 a 5 trens necessários. A seguir, a figura 21 ilustra a média do estímulo e o número de trens necessários para a indução de arritmia atrial nas três condições (GC,GS e GT).



**Figura 21.** A- Gráfico ilustrando a média do Estímulo Mínimo Necessário (Amplitude do Pulso expressa em múltiplos inteiros do limiar atrial) necessários para a indução de Arritmias mostradas em três condições experimentais: Controle, Estresse, Treinado. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão (N=18).  $p < 0,05$ . B- Gráfico ilustrando o número de trens necessários para induzir arritmias em três condições experimentais: Controle, Estresse, Treinado. Valores expressos em valor mínimo e máximo para induzir arritmias.

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo, desenvolve-se um aparato de natação para ratos jovens/adultos para que pudesse aplicar o programa de exercício físico por 10 semanas e então analisar as modificações na modulação autonômica do coração, na arritmogênese e no remodelamento do tecido cardíaco. A metodologia desenvolvida facilitou o controle da intensidade do exercício a qual foi controlada com cargas fixadas na cauda, evitando que o animal flutuasse e assim realizasse o treinamento por todo o tempo determinado.

Outra vantagem deste método foi disposição em colméia dos animais. Essa vantagem refere-se à quantidade de animais que treinavam na mesma sessão (nove animais por sessão) e a circulação da água pelo aparato, mantendo a temperatura controlada.

A escolha do modelo de natação, e não o exercício em esteira ou voluntário deu-se por sua eficiência em induzir o remodelamento do coração, resultando em maior volume diastólico final de ventrículo esquerdo (EVANGELISTA, BRUM e KRIEGER, 2003), e também por estar relacionado à bradicardia de repouso (MEDEIROS *et al.*, 2000; 2004). Contudo, outros modelos de exercícios também são utilizados para analisar o remodelamento cardíaco. Isto é confirmado pelos estudos de Schaible e Scheuer (1981), que demonstraram a hipertrofia cardíaca em ratos utilizando protocolos de treinamento em esteira. Em adição, estudos como o de Kemi *et al.* (2002) observaram hipertrofia cardíaca em ratos exercitados voluntariamente.

Verificou-se também se houve diferença no peso corporal dos ratos entre os grupos. No presente estudo não foram observadas diferenças no peso corporal entre os grupos de ratos, resultados estes similar ao que ocorreu nos estudo de Medeiros *et al.* (2000; 2004) que também não observaram diferenças no peso corporal dos animais sedentários e treinados após um período de treinamento de 8 semanas.

Verificou-se neste trabalho que o remodelamento cardíaco parece estar associado ao treinamento de natação pois somente foi verificado diferença significativa nos valores encontrados nos animais do GT. Esta análise também foi verificada por Medeiros e colaboradores (2000), que verificam que o treinamento físico de natação causou hipertrofia cardíaca de 13% nos animais que realizaram o treinamento por natação.

Neste mesmo trabalho de Medeiros e cols. (2000), os autores observaram que os animais submetidos a um programa de treinamento de 8 semanas apresentaram aumento de 12% na massa cardíaca quando comparada ao grupo controle. De maneira similar, em outro estudo de Medeiros *et al.* (2004), observou-se aumento de 13% a mais no peso total do coração de ratos submetidos a treinamento de 8 semanas de natação quando comparados ao peso total do coração de ratos controle pelo mesmo período. Entretanto, o grupo de ratos controle desses estudos citados são equivalentes aos ratos do grupo estresse (GS) do presente estudo.

Ao analisar as relações entre as câmaras cardíacas, separadamente, foi verificado no presente estudo, através dos dados do ventrículo esquerdo corrigido pelo peso corporal, a ocorrência de uma hipertrofia do ventrículo esquerdo ao comparar GT x GC. Schaible e Scheuer (1981), estudando a hipertrofia cardíaca em ratos treinados com natação, observaram que estes tinham um aumento do peso do ventrículo esquerdo em relação ao peso corporal. Medeiros *et al.* (2000) também encontraram aumento similar na massa ventricular esquerda em animais submetidos ao treinamento de natação, quando, ao analisar separadamente as câmaras cardíacas, observaram que essa hipertrofia ocorreu principalmente no ventrículo esquerdo (aumento de 13%;  $1,95 \pm 0,10$  vs.  $2,20 \pm 0,15$  mg/g PC). Em estudo posterior, os resultados encontrados por Medeiros *et al.* (2004) também demonstraram aumento significativo no peso ventrículo esquerdo entre o grupo treinado e o grupo sedentário. Desta forma, o modelo utilizado neste trabalho é viável e compatível, corroborando os dados da literatura.

Outro resultado encontrado neste estudo foi o aumento na fração do colágeno cardíaco nos animais treinados. Alguns fatores podem justificar tal alteração como os dados escritos por Feldman *et al.* (1998) evidenciam que desarranjo na modulação entre as Metaloproteinases (complexa família de enzimas proteolíticas responsáveis pela degradação do colágeno da matriz extracelular) e os inibidores teciduais de Metaloproteinases tem papel central no remodelamento. Desta forma, este trabalho corrobora nossos dados.

A hipertrofia cardíaca que resulta do treinamento físico se dá devido aos estímulos combinados de volume e intensidade. Evangelista, Brum e Krieger (2003) relatam que a duração do treino de natação é um fator importante para a indução de hipertrofia cardíaca em camundongos, e que camundongos que estão perto de seu limite de adaptação funcional, como elevado consumo de oxigênio e tônus simpático cardíaco, desenvolvem hipertrofia cardíaca em condicionamento de *endurance* pela natação.

No estudo realizado por Souza *et al.* (2007) que teve por objetivo analisar o bloqueio em curto prazo da síntese de Oxido Nítrico (NO) com o análogo Ng - monometil - L arginina (L-NAME) sobre as adaptações teciduais cardíacas em ratos submetidos à natação, foi verificado que tanto o grupo treinado quanto o grupo treinado L-NAME, este mais significativamente, apresentaram maior peso do coração (mg/g), área macroscópica (mm<sup>2</sup>) e percentual de fibrose cardíaca por área. Assim, verifica-se que outros fatores podem estar associados ao remodelamento cardíaco observados neste trabalho bem como nos encontrados na literatura.

Estas modificações no coração são adaptações características frente ao exercício, não apenas presente em ratos. Em seres humanos, o remodelamento é o conjunto de alterações genéticas, moleculares, celulares e intersticiais cardíacas, manifestadas clinicamente como modificações de tamanho, massa, geometria, e função do coração em determinada injúria aguda ou sobrecarga crônica (patológico) ou fisiológico-adaptativo. Em atleta altamente treinado, o remodelamento cardíaco é reconhecido há mais de um século e constitui um dos achados mais freqüentes do coração de maratonistas. No entanto, controvérsias ainda persistem sobre seu real significado (PONTES e LEÃES, 2004; GHORAYEB, 2005).

Sendo assim, verifica-se que os dados obtidos neste estudo corroboram dados encontrados na literatura, nos quais se verifica que, tanto em modelos experimentais como em atletas profissionais de ‘*endurance*’, o remodelamento cardíaco está presente e este ocorre em resposta do volume e da intensidade do esforço físico oferecido a esses atletas.

Em se tratando da freqüência cardíaca, pode-se verificar neste estudo no decorrer de 10 semanas de treinamento físico que a freqüência cardíaca de repouso do GT reduziu significativamente a partir da sexta semana quando os valores de freqüência cardíaca foram comparados com os valores de pré-treinamento. Também foi observado que a freqüência cardíaca do GT foi significativamente menor quando comparados aos demais grupos.

Nossos resultados corroboram os dados de Medeiros e cols. (2000) os quais verificaram que os animais submetidos ao treinamento físico de natação também apresentaram diminuição da freqüência cardíaca de repouso. Estes autores observaram que na sexta semana de treinamento houve queda significativa da FC por todos os métodos utilizados, sendo eles a medida da pressão arterial indireta obtida através do esfigmomanômetro de cauda (diminuição de 10% ou 31 batimentos por minuto na FC),

a partir do pulso de pressão arterial (redução de 18% ou 66 batimentos por minuto) e com uso do eletrocardiograma (redução de 8% ou 25 batimentos por minuto).

Resultados similares são encontrados em outro estudo de Medeiros *et al.* (2004) os quais demonstraram que a FC diminuiu significativamente após 6 semanas de treinamento de natação, em comparação com o período pré-exercício bem como ao comparar com a frequência cardíaca de animais sedentários, que permaneceu inalterada durante o estudo.

Evangelista, Brum e Krieger (2003), em contrapartida, relatam que após 3 semanas de exercício em diferentes volumes e intensidades, a FC diminuiu significativamente em todos os grupos estudados, tanto em comparação com o período pré-exercício, bem como para os animais sedentários. Em contraste, a FC permaneceu inalterada no grupo sedentário.

Somando a todas essas evidências, Souza *et al.* (2007) verificaram que o exercício físico de natação diminuiu significativamente a FC nos animais treinados e é mais significativa nos que tiveram o bloqueio do NO pelo análogo L-NAME. É válido ressaltar que os animais do grupo sedentário com bloqueio de NO tiveram maior FC em repouso em relação ao grupo controle, enfatizando assim que o exercício físico sobressai ao efeito do L-NAME.

Não apenas no exercício de natação é verificado a bradicardia de repouso. Esta modulação do sistema nervoso autônomo também foi observada em estudos realizados com eletrocardiograma de repouso em ratos submetidos ao treinamento físico em esteira rolante (NEGRÃO *et al.* 1992) e em humanos corredores (MACIEL *et al.* 1985; PUIG *et al.* 1993).

No estudo realizado com remadores profissionais foi observada relação direta do balanço simpático-vagal com a fase de treinamento desses atletas. Foi verificado neste estudo bradicardia progressiva com treinamentos acima de 75% da carga máxima permitida para cada atleta e que essa bradicardia estava associada a importante aumento do componente vagal e discreta queda do componente simpático da variabilidade da FC (IELLAMO *et al.* 2002).

De maneira convicta, os autores afirmam que o desenvolvimento de bradicardia de repouso decorrente do treinamento físico indica que o condicionamento aeróbico foi obtido sob as condições experimentais, e podem ser interpretados como adaptação autônoma necessária relacionada ao aumento da *performance* do atleta, com a finalidade de preparar o sistema cardiovascular para rápidas respostas da FC, de débito

cardíaco, de redistribuição de fluxo e de perfusão muscular exigidas pelas altas demandas nos esforços físicos (MACIEL *et al.* 1985; PUIG *et al.* 1993; NEGRÃO *et al.*; MEDEIROS *et al.* 2000; 2004; EVANGELISTA, BRUM e KRIEGER, 2003; SOUZA *et al.* 2007).

Em consonância com os dados obtidos com humanos, verificamos em nosso estudo que a bradicardia de repouso dos animais submetidos ao treinamento está relacionada ao aumento na atividade vagal. Em estudo realizado por Medeiros *et al.* (2000a; 2004b) e Evangelista, Brum e Krieger, (2003) a bradicardia apresentada após a sexta semana de exercício de natação não está relacionada com a diminuição da atividade simpática, mas, sobretudo ao aumento na atividade vagal.

Esta atividade vagal aumentada pode estar associada à facilitação na inducibilidade a arritmias atriais do GC vs. GT vs. GS apresentada neste estudo, uma vez que Godoy *et al.* (1999) documentou que a inducibilidade de arritmias em átrio direito isolado de rato é abolida quando este é perfundido em 1 $\mu$ M de atropina. Corroborando com o descrito, Faria *et al.* (2008) relatam a participação do mecanismo colinérgico na facilidade de indução elétrica de arritmias atriais, na qual o pré-tratamento do tecido por 30 minutos com Carbacol diminui significativamente o número de trens de pulsos necessários para induzir arritmia. Por outro lado foi observado bloqueio da arritmia em todas as idades ao realizar o pré-tratamento com Atropina. Em suma, os resultados encontrados nesta pesquisa somam aos demais relatados até aqui, indicando que a atividade colinérgica facilita a indução de arritmias induzidas eletricamente em átrio direito isolado de ratos tanto jovens como adultos.

Em seres humanos, tem sido documentada maior incidência de fibrilação atrial em atletas de alto nível. Em monitorações mais prolongadas do ECG, a incidência em atletas é em torno de 0,0063%, consideravelmente maior que a incidência de 0,004% encontrada em pessoas sedentárias de mesma faixa etária (ZEHENDER *et al.* 1999). Negrão e Barreto (2005) citam que a explicação para essa maior incidência em atletas está associada à alteração do sistema nervoso autônomo, mais especificamente do tônus vagal.

Entretanto estão bem documentados que fatores emocionais afetam o controle autonômico do coração. Emoções como raiva e ansiedade estão associados a aumento da atividade simpática, aumentando assim a FC e o risco de doença cardíaca coronária ou morte súbita cardíaca (AGELINK *et al.* 2002; NAHSHONI *et al.* 2004; WITTSTEIN *et al.* 2005). De maneira antagônica, sentimentos de medo e desesperança



resultam em bradicardia por ativação vagal, que pode levar à síncope vaso-vagal e assistolia (FRIEDMAN *et al.* 1993; ANGRILLI *et al.* 1997).

Sgoifo *et al.* (1999) avaliaram a ativação autonômica em resposta ao estresse experimental comumente utilizados paradigmas como derrota social, retenção, choque, e de natação forçada. Todos os estudos obtiveram ativação simpática, porém, apenas o modelo de natação forçada resultou em severa ativação vagal.

No estudo realizado por Wood *et al.* (2006), em que ratos nadavam a temperatura de 25°C ( $\pm$  0,5) por 2 horas, apresentaram bradicardia de repouso após o período de treinamento. Contudo é importante ressaltar que neste estudo não houve o incremento de carga adicional ao peso corporal dos animais, que a temperatura da água onde os animais realizaram o exercício de natação estava bem abaixo e o tempo que o animal ficava exposto ao meio líquido superior ao realizado neste estudo, o que difere da metodologia aplicada neste trabalho e dos demais citados neste capítulo. Vale ressaltar que a sobrecarga adicional ao peso do animal é fator primordial para a realização do exercício de natação, uma vez que sem o mesmo o animal apenas bóia.

Considerando os achados da literatura e os obtidos no presente trabalho, é possível depreender que ainda há muito a se elucidar acerca dos benefícios e malefícios de exercício físico em indivíduos normais ou em cardiopatas, sobretudo no que se refere à arritmogênese.

## 7 CONCLUSÃO

Concluimos que:

- 1) um programa de 10 semanas de treinamento físico de natação diminuiu significativamente a frequência cardíaca de repouso em ratos;
- 2) a bradicardia induzida pelo treinamento de natação não está associada à alteração da modulação cardíaca simpática ou de alterações no nódulo sinusal que controla a frequência cardíaca intrínseca, mas sim pelo aumento do tônus vagal cardíaco;
- 3) a Indução a arritmias é facilitada pela alteração da modulação cardíaca dos ratos treinados;
- 4) o treinamento de natação induz o remodelamento do sistema autonômico cardíaco e morfológico do coração em ratos.
- 5-) o modelo de exercício físico de natação proposto neste estudo constitui-se de uma ferramenta metodologia adequada para contribuir com o aprofundamento do estudo da influência do exercício físico na modulação autonômica do coração.

Em suma, os resultados encontrados neste trabalho indicam que, apesar de haver vários efeitos benéficos do exercício físico aeróbio para saúde, cautelas devem ser tomadas para evitar que o aumento do tônus vagal possa levar ao aumento de vulnerabilidade às arritmias atriais.

Desta forma, estudos adicionais ainda são necessários para melhor elucidar o mecanismo arritmogênico associado ao aumento da modulação colinérgica alterada pelo exercício físico.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, J; CLINE, M.J; HUBBARD, M; MCCULLOUGH, T; HARTMAN, J. A New Paradigm for Post-Cardiac Event Resistance Exercise Guidelines. **Am J Cardiol** 2006.
- AIRES, M.M. **Fisiologia**. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- ALLESSIE M, KONINGS K, WIJFFELS M. Electrophysiological mechanism of atrial fibrillation. In: Dimarco JP, Prystowsky EN, eds. Atria Arrhythmias: State of the Art. Armonk (NY): **Futura Publishing**,:155–61, 1995.
- ALMEIDA, M.B; ARAÚJO, C.G.S. Efeitos do treinamento aeróbio sobre a frequência cardíaca. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 9, p. 104 – 112, 2003.
- AGELINK, M.W; BOZ, C; ULLRICH, H; ANDRICH, J. Relationship between major depression and heart rate variability. Clinical consequences and implication for antidepressive treatment. **Psych Res**. v.113, p. 139–149, 2002.
- BILCHICK, K. C; FETICS ,B; DJOUKENG, R; FISHER, S.G; FLETCHER, R.D; SINGH, S.N. Prognostic value of heart rate variability in chronic congestive heart failure ( Veterans Affairs' s Survival Trial of Antiarrhythmic Therapy in Failure). **Am. J. Cardiol**, v. 90, p. 24-28, 2002.
- BILLMAN GE AND HOSKINS RS. Time-series analysis of heart rate variability during submaximal exercise. Evidence for reduced cardiac vagal tone in animals susceptible to ventricular fibrillation. **Circulation**. v. 80, p. 146 –157, 1989.
- BOYETT, M.R; HONJO, H; KODAMA, I. The sinoatrial node, a heterogeneous pacemaker struture. **Cardiovasc Res**, v. 47, p. 658-657, 2000.
- BRAITH, R.W; EDWARDS, D.G. Neurohormonal abnormalities in heart failure: impact of exercise training. **Congest Heart Fail**, v. 9, p. 70 – 76, 2003.
- BRODDE, O.E.; MICHEL, M.C. Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. **Pharmacol. Rev**. v.51, p. 651-690, 1999.
- CAO, J; CHEN, L.S; KENKNIGHT, B.H. Nerve sprouting and sudden cardiac death. **Circ. Res**. v. 86, p. 816 - 821, 2000.
- CARRIÓ, I. Cardiac neurotransmission imaging. **J Nucl Med** v.42, p. 1062-1076, 2001.
- CARROLL, K; MAJEED, A. Comorbidity associated with atrial fibrillation: a general practice-based study. **British Journal of General Practice**. v. 51, p. 884-891, 2001.

CAULFIELD MP. Muscarinic receptors characterization, coupling and function. **Pharmacol Ther.** v. 58, p.319 –379, 1993.

CENTER DISEASE OF PREVENTION AND CONTROL. **Promoting physical activity: a best buy in public health.** 2000.

CHENG Y.J; LAUER M.S; EARNEST C.P; CHURCH T.S; KAMPERT J.B; GIBBONS L.W; BLAIR S.N. Heart rate recovery following maximal exercise testing as a predictor of cardiovascular disease and all-cause mortality in men with diabetes. **Diabetes Care**, v. 26, p.2052–2057, 2003.

COLE C.R; FOODY J.M; BLACKSTONE E.H; LAUER M.S. Heart rate recovery after submaximal exercise testing as a predictor of mortality in a cardiovascularly healthy cohort. **Ann Intern Med.** v.132 , p. 552–555, 2000.

COLLINS MN; BILLMAN GE. Autonomic response to coronary occlusion in animals susceptible to ventricular fibrillation. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v. 257, p. H1886 –H1894, 1989.

COUMEL, P; ATTUEL, P; LAVALLEE, J; FLAMMANG, D; LECLERCQ, J. F; SLAMA, R. The atrial arrhythmia syndrome of vagal origin. **Arch Mal Coeur Vaiss.** v. 1, p.645 - 656, 1978.

DE DENUS, S; SANOSKI, C. A; CARLSSON, J; OPOLSKI, G; SPINLER, S.A. Rate vs Rhythm Control in Patients With Atrial Fibrillation: aMeta-analysis. **Arch Intern Med.** v.165, p. 258-262, 2005.

DHEIN, S.; VAN KOPPEN, C.J.; BRODDE, O.E. Muscarinic receptors in the mammalian heart. **Pharmacol. Res.** v.44, p. 161-182, 2001.

EKABLUM, B; HERMANSEN, L. Cardiac output in athletes. **J Appl Physiol.** v. 25, p. 619 – 625, 1968.

EVANGELISTA, F.S; BRUM, P.C; KRIEGER, J.E. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. **Braz Med Biol Res.** vol.36, n 12, p. 1751-1759, 2003.

FELDER, C.C. Muscarinic acetylcholine receptors: signal transduction through multiple effectors. **FASEB J**, v. 9, p. May 1995.

FISHER JT, VINCENT SG, GOMEZA J, YAMADA M, AND WESS J. Loss of vagally mediated bradycardia and bronchoconstriction in mice lacking M2 or M3 muscarinic acetylcholine receptors. **FASEB J**, v. 18, p. 711–713, 2004.

FLEMING, J.W; WISLER, P.L; WATANABE, AM. Signal transduction by G-proteins in cardiac tissue. **Circulation**, v. 85, p. 420-433, 1992.

- FLORIDO, A.A; LATORRE, M.R.D.O; JAIME, P.C; TANAKA, T; PIPPA, M.G.B; ZERBINI, C.A.F. Past and Present Habitual Physical Activity and its Relationship with Bone Mineral Density in Men Age 50 years old in Brazil. **Journal of Gerontology Medical Sciences**, v. 57A, N° 10. p. M654 – M657, 2002.
- FORJAZ,C.M.A; SANTAELLA,D.F; REZENDE,L.O; BARRETTO, A.C.P; NEGRÃO, C.E. A Duração do Exercício Determina a Magnitude e a Duração da Hipotensão Pós-Exercício. **Arq Bras Cardiol**. v 70 (n° 2), p. 99-104, 1998.
- FREEMAN, J.V; DEWEY, F.E; HADLEY, D.M; MYERS, J; FROELICHER, V.F. Autonomic Nervous System Interaction with the Cardiovascular System During Exercise. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 48, n 5, (march/April), p. 342-362, 2006.
- GIALLAURIA, F; LUCCI, R; PIETROSANTE, M; GARGIULO, G; DE LORENZO, A; D'AGOSTINO, M; GERUNDO, G; ABETE, P; RENGO, F; VIGORITO, C. Exercise-Based Cardiac Rehabilitation Improves Heart Rate Recovery in Elderly Patients After Acute Myocardial Infarction. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**. vol. 61, p. 713-717, 2006.
- GO, A. S; HYLEK E. M; PHILLIPS K.A; CHANG, Y; HENAULT, L.E; SELBY, J.E; SINGER, D.E. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. **JAMA**. v. 285, p. 2370 - 2375, 2001 .
- GOLDBERGER, A. L; PAVELEC, R. S. Vagally-mediated atrial fibrillation in dogs: conversion with bretylium tosylate. **Int J Cardiol**. v. 13, p. 47 - 55, 1986.
- GUYTON, A. C.; HALL, J.D. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, p. 99-113, 1997.
- ISHIKAWA, Y.; HOMCY, C.J. The adenylyl cyclases as integrators of transmembrane signal transduction. **Circ. Res**. v.80, p. 297-304, 1997.
- IELLAMO, F. *et al.* "Conversion from vagal to sympathetic predominance with strenuous training in high performance world class athletes. **Circulation**. vol 105, p. 2719 – 2724, 2002.
- HASKELL, *at al.* Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults From the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**. v.116, p.1081-1093, 2007.
- HAO SC, CHAI A, AND KLIGFELD P. Heart rate recovery response to symptom-limited treadmill exercise after cardiac rehabilitation in patients with coronary artery disease with and without recent events. **Am J Cardiol**. vol. 90, p.763–765, 2002.
- HIYANE W; SOUSA, M.V; MOREIRA, S.R; VALLE, G; OLIVEIRA, R.J; ARSA, G; FERREIRA, C.E.S; CAMPBELL C.S.G; SIMÕES HG. Blood Glucose Responses Of Type-2 Diabetics During And After Exercise Performed at Intensities Above and below

Anaerobic Threshold. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**. v. 10, p. 8 – 11, 2008.

HON, E.H; LEE, S.T. Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death: further observations. **Am. J. Obstet. Gynecol.** v. 87, p. 814 – 826, 1965.

KAUMANN, A. J; MOLENAAR, P. Modulation of human cardiac function through 4  $\beta$ -adrenoceptors populations. **Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.** v. 355, p. 667-681, 1997.

KEMI O. J; LOENNECHEN J. P; WISLOFF U; ELLINGSEN O. Intensitycontrolled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. **Journal of Applied Physiology**. v. 93, p. 1301-1309, 2002.

KLEIGER RE, MILLER JP, BIGGER JT JR, AND MOSS AJ. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **Am J Cardiol.** v. 59, p. 256 –262, 1987.

KUKANOVA, B.; MRAVEC, B. Complex intracardiac nervous system. **Bratisl Lek Listy**, v. 107, p. 45-51, 2006.

KUKIELKA, M; SEALS, D.R; BILLMAN, G.E. Cardiac vagal modulation of hearts rate during prolonged submaximal exercise in animals with healed myocardial infarction: effects of training. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** . v 290, p. H1680 – H1685, 2005.

KUKIELKA, M; BILLMAN, G.E. Effect of endurance exercise training on heart rate variability and susceptibility to sudden cardiac death: protection is not due to enhanced cardiac vagal regulation. **J Appl Physiol**. v. 100, p. 896 – 906, 2006.

LA ROVERE, M.T; BIGGER Jr, J.T; MARCUS, F.I; MORTARA, A; SCHWARTZ, P.J. For de ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Unfarction). Baroreflex sensitivity and heart rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. **Lancet**. v. 351, p. 478-484.1998.

LA ROVERE, M.T; BERSANO, C; GNEMMI, M; SPECCHIA, G; SCHWARTZ, P. J. Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognostic after myocardial infarction. **Circulation**. v. 106, p. 945 -949, 2002..

LEE, KS; MARBAN, E; TSIEN, R.W. Inactivation of calcium channels in mammalian heart cells: joint dependence on membrane potential and intracellular calcium. **J Physiol**. vol. 364 p. 395–411, 1985.

LEE, C,M; WOOD, R.H; WELSCH, M.A. Influence of short-term endurance exercise training on heart rate variability. **Med Sci Sports Exerc**. vol. 35 , p. 961–969, 2003.

LEON, A.S; FRANKLIN, B.A; COSTA, F; BALADY, G.J; BERRA, K.A; STEWART, K.J; THOMPSON, P.D; WILLIAMS, M.A; LAUER, M.S. Cardiac Rehabilitation and Secondary Prevention of Coronary Heart Disease. **Circulation**. v. 111, p. 369-376, 2005.

LIMA; L.C.J; ASSIS G.V; HIYANE W; ALMEIDA W.S; ARSA G; BALDISSERA V; CAMPBELL C.S.G; SIMÕES HG. Hypotensive effects of exercise performed around anaerobic threshold in type 2 diabetic patients. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 81, p. 216–222, 2008.

LÖFFELHOLZ, K; PAPPANO, A.J. The parasympathetic neuroeffector junction of the heart. **Pharmacol. Rev.** v.37, 1-24, 1985.

MACIEL, B.C; GALLO JR, L; MARIN NETO, J.A; TERRA FILHO, J; MANÇO, J.C. Parasympathetic contribution to bradycardia induced by endurance training in man. **Cardiovascular Research**. v. 19, p. 642 – 648, 1985.

MANTRAVADI, R; GABRIS, B; LIU, T; CHOI, B.R; DE GROAT, W;C; NG, G.A; SALAMA G. Autonomic nerve stimulation reverses ventricular depolarization sequence in rabbit hearts. **Circ Res**. v. 100 (7), p. 72–80, 2007.

MEDEIROS, A; GIANOLLA, R; KALLIL, L.M; BACURAU, R.F; ROSA, L.F.B.C; NEGRÃO, C.E; BRUN, P.C. Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. **Rev pau Educ Fis**. v. 14 (1), p.7-15, 2000.

MEDEIROS, A; OLIVEIRA, E.M; GIANOLLA, R; CASARINI, D.E; NEGRÃO, C.E; BRUN, P.C. Swimming Training increase cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Braz J Méd Biol Res**. v. 37 (12), p.1909-1917, 2004.

MOORE, K.L; DALLEY, A. F. **Anatomia orientada para a clínica**. 4 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

NEGRÃO, C.E; MOREIRA, E.D; SANTOS, M.C.L.M; FARAH, V.M.A; KRIEGER, E.M. Vagal function impairment after exercise training. **J Appl Physiol**, v. 72, p. 1749 – 1753, 1992.

NEGRÃO, C.E; BARRETO, A.C.P. **Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata**. São Paulo: Manole, 2005.

NEUBIG, R.R. Membrane organization in G-protein mechanism. **FASEB J**, v. 8, p. 939-946, 1994.

NAHSHONI, E; GUR, S; MAROM, S; LEVIN, J.B; WEIZMAN, A; HERMESH, H. QT dispersion in patients with social phobia. **J Affect Disord**. v. 78 p. 21–26, 2004.

NOLAN, J; BATIN, P.D; ANDREWS, R; LINDSAY, S.J; BROOKSBY, P; MULLEN, M. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure. Results of

the Kingdom Heart Failure Evaluation Assessment of Risk Trial (UK Heart). **Circulation**, v. 98, p. 1510 – 1516, 1998.

PUIG, J; FREITAS, J; CARVALHO, M.J; PUGA, N; RAMOS, J; FERNANDEZ, P; COSTA, O; FREITAS, A.F. Spectral analysis of heart rate variability in athletes. **Journal of Sport Medicine, Physiology & Fitness**. v. 33 (1), p. 44 – 48, 1993.

POKROVSKII, V.M. Hierarchy of the heart rhythmogenesis levels is a factor in increasing the reliability of cardiac activity. **Med. Hypotheses**. v.66, p. 158-164, 2006.

SELIG, S. E; CAREY, M. F; MENZIES, D. G; PATTERSON, J; GEERLING, R. H; WILLIAMS, A. D; BAMROONGSUK, V; TOIA, D; KRUM, H; HARE D, L. Moderate-Intensity Resistance Exercise Training in Patients With Chronic Heart Failure Improves Strength, Endurance, Heart Rate Variability, and Forearm Blood Flow. **Journal of Cardiac Failure**. v. 10, p. 22 - 30, 2004.

SCHAIBLE, T.F; SCHEUER, J. Cardiac function in hypertrophied hearts from chronically exercised female rats. **Journal of Applied Physiology**. vol 50, p. 1140-1145, 1981.

SCHRIER, R.W; ABRAHAM, W.T. Hormones and hemodynamics in heart failure. **N Engl J Med**, v. 341, p. 577-585, 1999.

SMELTZER S.C; BARE B.G. **Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgico**. Volume 4. 9 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SMITH ML, HUDSON DL, GRAITZER HM, AND RAVEN PB. Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. **Med Sci Sports Exerc**. v. 21, p. 40 – 44, 1989.

SGOIFO, A; KOOLHAAS, J.M; MUSSO, E; DE BOER, S.F. Different sympathovagal modulation of heart rate during social and nonsocial stress episodes in wild-type rats. **Phys Behav**. v.67, p. 733–738, 1999.

SPEAR, J. F; MOORE, E. N. Influence of brief vagal and stellate nerve stimulation on pacemaker activity and conduction within the atrioventricular conduction system of the dog. **Circ Res**. v. 32, p. 27 - 41, 1973.

STEPHENSON J, BAUMAN A, ARMSTRONG T, SMITH V, BELLEW B. **The costs of illness attributable to physical inactivity in Australia**. Canberra, Australian Commonwealth of Australia Department of Health and Age Care, and the Australian Sports Commission. 2000.

TAGGART P, SUTTON P, CHALABI Z, BOYETT MR, SIMON R, ELLIOTT D, GILL JS Effect of adrenergic stimulation on action potential duration restitution in humans. **Circulation**. v. 107, p. 285–289, 2003.



TSUJI H; VENDITTI JR FJ; MANDERS ES; *at al.* Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. **Circulation**. vol. 90, p. 878-883, 1994.

VALENTIN, J.P; HOFFMANN, P; DE CLERCK, F; HAMMOND, T.G; HONDEGHEM, L. *Review of the predictive value of the Langendorff heart model (Screenit system) in assessing the proarrhythmic potential of drugs.* **J Pharmacol Toxic Methods**. v.49, p. 171-181, 2004.

WANG, Z; SHI, H; WANG, H. Functional M<sub>3</sub> muscarinic acetylcholine receptors in mammalian hearts. **British Journal of Pharmacology**, v. 142 (3). May 2004.

WEIDMANN S. The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium-carrying system. **J. Physiol**. v. 118, p. 348-360, 1955.

WITTSTEIN, I.S; THIEMANN, D;R; LIMA, J.A.C; BAUGHMAN, K.L; SCHULMAN, S.P; GERSTENBLITH, G; *at al.* Neurohumoral features of myocardial stunning due to sudden emotional stress. **N Engl J Med**. v.352 p. 539–548, 2005.

YAFFE, K; BARNES, D; NEVITT, M; LUI, L; COVINSKY, K. A Prospective Study of Physical Activity and Cognitive Decline in Elderly Women. **Arch Intern med**. v. 161, 2001.

ZEHENDER, M. *et al.* ECG variants and cardiac arrhythmias in athletes: Clinical relevance and prognostic importance. **Am Heart J**. vol. 119 (6), p. 1378 – 1391, 1999.

ZIPES, D.P; *at al.* ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death—executive summary A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death) Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. **European Heart Journal**. v. 27, p. 2099-2140, 2006.

# 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](#)