

**Artigo original**

# **Análise histomorfométrica e funcional do miocárdio de ratos wistar submetidos ao esforço físico crônico**

## ***Histomorphometric and functional analysis of the myocardium of wistar rats submitted to chronic physical effort***

Cynthia Kallás Bachur, M.Sc.\*, José Alexandre Bachur, M.Sc.\*\* , Érica Carolina Campos\*\*\*

.....  
\**Docente da Disciplina de Fisioterapia Cardiológica, Supervisora de estágio na disciplina de Fisioterapia Cardiovascular Ambulatorial na Universidade de Franca – SP, \*\*Docente da Disciplina de Fisioterapia Traumatologia e Patologia, Supervisor de estágio na disciplina de Fisioterapia Traumatológica na Universidade de Franca – SP, Diretor do curso de Fisioterapia da Universidade de Franca, \*\*\*Fisioterapeuta Especialista em Fisioterapia Cardiológica*

### **Resumo**

O esforço físico crônico é conhecido por induzir uma série de adaptações morfo-funcionais no sistema cardiovascular. As alterações funcionais podem ser observadas através do tempo médio de realização de um determinado protocolo de esforço físico com intensidade e duração pré-definidas ou não, como o de esforço físico exaustivo a 6% de sobrecarga corporal que foi utilizado neste estudo para avaliação funcional. Além das alterações funcionais, modificações anatômicas cardíacas como um aumento na massa ventricular, podem ser observadas, dependendo dos padrões de intensidade, duração e frequência do esforço físico crônico. Para analisar-se estas referidas alterações adaptativas, o esforço físico realizado em água por ratos é um bom modelo experimental. Este trabalho foi realizado com o objetivo de se analisar as possíveis respostas adaptativas decorrentes do esforço físico crônico breve, por quatro semanas, sob diferentes intensidades máximas, relativas às sobrecargas corpórea de 2%, 4% e 6%. Na análise morfométrica não houve alteração morfológica significativa em nenhum dos grupos estudados. Os resultados obtidos em função do esforço físico exaustivo indicaram um perfil adaptativo funcional do sistema cardiovascular significativo dos animais submetidos ao esforço físico crônico com sobrecarga máxima de 6%.

**Palavras-chave:** esforço físico, sobrecarga, morfologia, coração.

### **Abstract**

Chronic physical effort is known for inducing a serie of morpho-functional adaptations at the cardiovascular system. The functional alterations can be observed through the average realization time of a determined physical effort protocol with pre-defined, or not, intensity and duration, with tone of exhaustive physical effort at 6% of body overcharge, which was used in this study for functional evaluation. Besides the functional alterations, heart anatomic alterations like increase of ventricular muscle mass, we can observe, depending on the intensity, duration and frequency patterns of chronic physical effort. The physical effort made by rats inside the water is a good experimental model to analyze these adaptive alterations. This study was realized with the intention of analyzing the possible adaptive answers resulting from brief chronic physical effort, for four weeks, under different maximum intensities, related to body overcharges of 2%, 4% and 6%. At the morphometric analysis there was no significant alteration in any of the studied groups. The results obtained due to the exhaustive physical effort indicated a significant adaptive functional profile of the cardiovascular system in animals submitted to chronic physical effort with maximum overload of 6%.

**Key-words:** physical effort, overload, morphology, heart.

### **Introdução**

O esforço físico intenso e prolongado induz a adaptações cardiovasculares que permitem ao coração um desempenho fisiológico excepcional [1,2]. Como consequência do esfor-

ço físico vigoroso praticado durante longos períodos, essas adaptações provocam uma variedade de alterações funcionais e anatômicas, que podem se situar fora dos limites da normalidade e cujo significado clínico e prognóstico tem sido objeto de intensa discussão [3]. As modificações importantes

Recebido 16 de agosto de 2005; aceito em 15 de fevereiro de 2006.

**Endereço para correspondência:** Cynthia Kallás Bachur, Universidade de Franca - Clínica de Fisioterapia / Departamento de Reabilitação Cardiovascular, Av. Dr. Armando Salles Oliveira, 201 Parque Universitário 14404-600 Franca SP; Tel: (16)3711-8720/9967-7016, E-mail: jabachur@unifran.br

geradas no sistema cardiovascular através do exercício físico bem orientado são : aumento do  $VO_{2\text{ máx}}$ ; redução da frequência cardíaca concomitante ao aumento do volume sistólico; redução do nível das catecolaminas sanguíneas e urinárias (provavelmente por diminuição do tônus simpático); aumento de enzimas oxidativas, de capilares e de fibras de encurtamento lento (vermelhas) e elevação do glicogênio muscular; melhor tolerância ao esforço físico; aumento da capacidade aeróbia; melhora do transporte de  $O_2$  devido à maior densidade de capilares; redução do consumo de oxigênio pelo miocárdio ( $MVO_2$ ); redução da pressão arterial sistólica e diastólica de repouso; aumento de HDL-colesterol; redução de triglicérides e de LDL-colesterol; aumento da tolerância à glicose; aumento da motivação para perda de peso; redução da ansiedade e da depressão[4].

Estudando os efeitos do esforço físico crônico sobre a performance cardíaca [5], verificaram que o coração hipertrofiado dos ratos treinados desenvolveram, em diferentes níveis de pressão diastólica final, tensão significativamente maior do que o coração dos animais do grupo controle, e que as alterações associadas ao exercício resultaram em maior capacidade miocárdica para executar o trabalho mecânico.

As adaptações do sistema cardiovascular durante o exercício constituem um dos exemplos mais interessantes dos mecanismos de controle dos processos fisiológicos básicos. Os mecanismos responsáveis pelo controle da função cardiovascular durante o esforço físico são o exemplo típico de processo fisiológico multifatorial com funções redundantes, que permitem ao sistema operar de maneira sempre efetiva nas mais diversas circunstâncias [6].

O aumento da capacidade de trabalho do miocárdio visa garantir o débito cardíaco frente a uma sobrecarga com menor consumo de oxigênio. Tal situação pode ser encarada como adaptativa. Será benéfica enquanto durar a adaptação da atividade funcional à demanda aumentada [7].

Considerando o mecanismo de adaptação do coração à sobrecarga de trabalho, justifica-se o empenho na criação de modelos experimentais que visam explicar os mecanismos envolvidos na sua gênese e manutenção.

Este estudo tem como objetivo analisar o comportamento adaptativo do miocárdio frente ao esforço físico crônico realizado sob protocolo de intensidades progressivas (leve, moderada e intensa), associado à performance funcional e morfométrica frente ao esforço físico exaustivo.

## Material e métodos

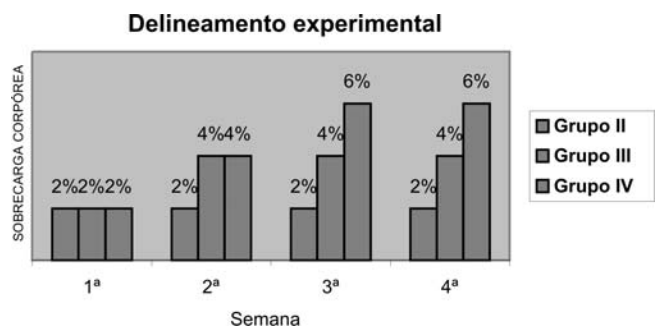
Foram utilizados 32 ratos machos da raça Wistar (*Rattus norvegicus*, Hannover, var. albina), pesando inicialmente 392 g em média. Estes animais foram mantidos em gaiolas plásticas (no máximo 03 ratos por gaiola), em sala climatizada com controle de temperatura (entre 24°C – 28°C), luminosidade (ciclo de 12 horas – claro, 12 horas – escuro) com água e ração fornecidas *ad libitum*.

## Delineamento experimental

Para se conhecer comparativamente o comportamento adaptativo do miocárdio ao esforço físico crônico realizado sob três diferentes níveis de intensidade (leve, moderada e intensa), foi necessário três grupos, além do grupo controle, compostos de 08 animais cada grupo.

O esforço físico crônico foi realizado pelo período de 04 semanas, em uma frequência de 05 vezes por semana com duração de 30 minutos. Porém, a progressividade da implementação da sobrecarga corpórea (SCC), para a determinação da intensidade, em cada um dos grupos de estudo, se deu da seguinte maneira (Figura 1):

**Figura 1** - Progressividade da implementação da sobrecarga corpórea (SCC), para a determinação da intensidade, em cada um dos grupos de estudo.



- Grupo I, controle, os animais foram mantidos em repouso, sob cuidados de higiene e alimentação;
- Grupo II, os animais foram submetidos ao esforço físico durante as 04 semanas com 2% de SCC;
- Grupo III, os animais foram submetidos ao esforço na primeira semana com 2% de SCC e, nas segunda, terceira e quarta semanas com 4% de SCC;
- Grupo IV, os animais foram submetidos ao esforço físico na primeira semana com 2% de SCC, na segunda com 4% e nas terceira e quarta semanas com 06% de SCC.

## Esforço físico crônico

O esforço físico crônico foi realizado em tanque de material sintético de polietileno com 100 cm de comprimento, 70 cm de largura e 80 cm de altura, contendo água numa profundidade de 50 cm, de maneira que impossibilitavam que os animais apoiassem sua cauda no fundo dos mesmos durante sua movimentação. A água era mantida numa temperatura de  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  por uma resistência elétrica submersa acoplada a um termostato.

Os animais foram submetidos ao esforço em sessões com duração de 30 minutos, numa frequência de 05 vezes por semana, durante um mês, e com uma intensidade progressiva

a cada semana através da implementação de sobrecarga corpórea de 2%, 4% e 6%, sendo estes pesos fixados no tronco dos animais, na região infra-axilar. As sobrecargas foram constituídas de fragmentos de chumbo envolvidos por fitas de esparadrapo com um elástico, sendo as medidas feitas em balança digital. Os animais eram pesados semanalmente, para que a sobrecarga corpórea fosse adequada individualmente. Este procedimento foi iniciado sempre no mesmo horário. Todos foram submetidos ao experimento após um período de jejum de 08 horas. Após o término das sessões de natação, os animais foram enxugados em sala com temperatura controlada de 25°C e colocados novamente nas suas respectivas gaiolas.

### Esforço físico exaustivo

Ao final do período experimental de quatro semanas, os ratos foram mantidos em repouso por 48 horas, novamente pesados individualmente, e logo após submetidos a um esforço exaustivo, com sobrecarga corpórea de 6% para todos os animais. O tempo de natação foi determinado pela capacidade de adaptação funcional de cada animal, obtendo respostas diferentes em tempos de esforço. Foi observado tempo de exaustão máxima quando os animais ficavam submersos no fundo do tanque em tempo superior à 08 segundos. Após o limite pré-determinado, os animais eram retirados e submetidos ao sacrifício.

### Coleta de material

Os animais foram sacrificados imediatamente após a realização do esforço físico exaustivo, por inalação contínua de éter etílico puro por  $\pm 1$  minuto com o intuito de sedação e posteriormente a uma indução de pneumotórax. No momento do sacrifício foi realizada a laparotomia mediana para a retirada do coração. O órgão cardíaco foi retirado, lavado em solução a 0,9% de cloreto de sódio (sol. salina) e, fixados em solução de formol a 10% durante 24 horas. O procedimento histológico foi realizado de forma habitual, corados com Hematoxila Eosina (HE), para posterior análise morfométrica.

Para análise morfométrica, as imagens da lâmina foram captadas utilizando uma câmera JVC-TK1270 com uma lente macro de 55 mm. Em seguida elas passam por um processo de binarização onde é realizado a detecção dos objetos por limiar de espectros de cor RGB e é feito a separação da alça superior do ventrículo direito e a alça inferior do ventrículo esquerdo, dando as medidas de espessura de cada raio e feito a média de raios.

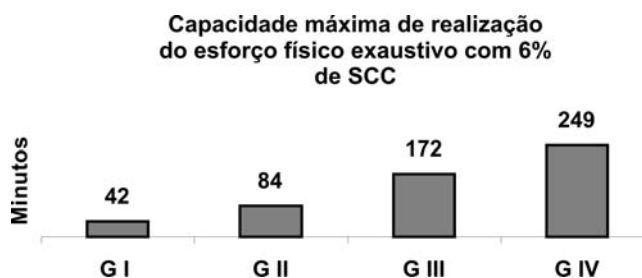
## Resultados

Os resultados da morfometria foram analisados estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA), e a com-

paração entre as médias empregou-se o Teste de Scheffé, ao nível de significância de  $\alpha = 0,05$ . Os dados são apresentados como média aritmética  $\pm$  desvio padrão da média.

A adaptabilidade funcional está representada pela capacidade máxima, expressa em minutos, de realização do esforço físico exaustivo com intensidade relativa a 6% de sobrecarga corpórea para todos os animais. De acordo com os dados demonstrados na figura 2, a capacidade de realização deste referido protocolo de esforço físico, após o período de estimulação, apresentada pelos animais de grupo IV e do grupo III foram significativamente maiores em relação ao grupo I (controle). Porém, a média obtida junto aos animais do grupo II não foi significativamente em relação ao grupo controle.

**Figura 2** - Capacidade máxima de realização do esforço físico exaustivo com 6% de SCC dos grupos: G I - controle, o qual não foi submetido ao esforço físico crônico; G II - representando os animais estimulados somente com SCC de 2%, durante todo o período; G III - grupo de animais submetidos ao esforço físico crônico com sobrecarga corpórea progressiva de 2% e 4%; e o G IV composto pelos animais submetidos ao esforço físico crônico com SCC de 2%, 4% e 6%.



G I = G II; G I < G III e G I < G IV; G II = G III e G III < G IV; G III = G IV, de acordo com o teste de Scheffé ( $\alpha = 0,05$ ).

Quanto à adaptabilidade morfológica, não houve diferença significativa em relação à espessura ventricular direita e esquerda entre os grupos II, III e IV em relação ao grupo controle - G I.

## Discussão

Sabe-se que o esforço físico determina estímulos significativos para o desenvolvimento da assim chamada hipertrofia ventricular esquerda "fisiológica". Porém, as alterações estruturais resultantes do esforço físico crônico dependem, ao menos parcialmente, da natureza ou tipo do esforço físico realizado [8]. A hipertrofia fisiológica pode ser desencadeada por uma determinada sequência de estímulos tidos fisiológicos, como os decorrentes do esforço físico realizado em água ou em esteira rolante [9]. Esse tipo de hipertrofia se desenvolve com a melhoria da atividade contrátil do miocárdio, não produzindo as alterações deletérias, comuns nas hipertrofias de natureza patológica, podendo ser considerada como uma adaptação

biológica fundamental do músculo a uma maior carga de trabalho [10]. Estudos feitos através de medidas ecocardiográficas, observaram rápido aumento da massa ventricular esquerda no início dos treinamentos [11].

A duração do esforço físico crônico afeta a estrutura do coração, porém, vários estudos não relataram qualquer mudança nas dimensões cardíacas com o treinamento a curto prazo, embora houvesse uma melhoria significativa tanto no  $VO_2$  máx. quanto na resposta do coração ao exercício submáximo [12]. Assim, como neste último relato, não foi observada a ocorrência significativa de hipertrofia cardíaca de corrente do protocolo proposto neste estudo, podendo estar relacionada principalmente às sobrecargas corpóreas utilizadas em função do período de duração (30 minutos). Ou seja, o protocolo proposto não sobrecarregou funcionalmente o coração, de forma suficiente para que tal remodelação estrutural se fizesse significativamente presente. Porém, apesar da inexistente modificação morfológica, observou-se que, a performance dos grupos III e IV, foi significativamente maior em relação ao grupo controle (figura 2), diferentemente do ocorrido com o grupo II.

## Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo, sugerem que o esforço físico crônico com natação foi eficiente para promover adaptações funcionais no sistema cardiovascular, sendo necessário uma sobrecarga corpórea maior que 2% do peso corporal.

Os dados confirmam que para esse tipo de protocolo utilizado, não houve aumento significativo da massa ventricular, sendo a metodologia para avaliar hipertrofia ventricular ineficaz.

## Referências

1. Bevegard S, Holmgren A, Johnson B. Circulatory studies in well-trained athletes at rest and during exercise, with special reference to stroke volume and the influence of body position. *Acta Physiol Scand* 1963;57:26-38.
2. Cumming GR. The heart and physical exercise. *Can Med Assoc* 1963;88:80-5.
3. Rost R. The athlete's heart. *Eur Heart J* 1982;3[Suppl A]:193-8.
4. Lucino D, Milani RV, Constantino G, Lavie CJ et al. Effects of cardiac rehabilitation and exercise training on autonomic regulation in patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 2002;143:977-83.
5. Crews J, Aldinger EE. Effect of chronic exercise on myocardial function. *Am Heart J* 1967;74:526-41.
6. Neto TLB. Fisiologia do exercício aplicada ao sistema cardiovascular. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo* 1996;6(1):6-9.
7. Mill JG, Vassallo DV. Hipertrofia cardíaca. *Rev Bras Hipertens* 2001;8:63-75.
8. Batlouni M. Coração de atleta. In: Ghorayeb N, Barros T, eds. *O exercício*. São Paulo: Atheneu; 1999.
9. Russell B, Motlagh D, Ashley WW. Form follows function: how muscle shape is regulated by work. *J Appl Physiol* 2000;88:1127-32.
10. McArdle, WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do exercício, energia, nutrição e desempenho humano*. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1998.
11. Wieling W, Borghols EAM, Hollander KP, Danner AS, Dunning AJ. Echocardiographic dimensions and maximal oxygen uptake in oarsmen during training. *Br Heart J* 1981;46:190-5.
12. Ricci G et al. Left ventricular size following endurance, sprint, and strength training. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:344.