

Regiane Rocha Costalonga

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO ASSOCIADO AO TABAGISMO
PASSIVO NA MUSCULATURA CARDÍACA DE FILHOTES DE RATOS
WISTAR PROVENIENTES DE MATRIZES TABAGISTAS**

Presidente Prudente

2013

Regiane Rocha Costalonga

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO ASSOCIADO AO TABAGISMO
PASSIVO NA MUSCULATURA CARDÍACA DE FILHOTES DE RATOS
WISTAR PROVENIENTES DE MATRIZES TABAGISTAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente, Área de Concentração “Avaliação e Intervenção em Fisioterapia” como requisito para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho

Presidente Prudente

2013

Costalonga, Regiane Rocha.
C878e Efeitos do exercício físico associado ao tabagismo passivo na musculatura cardíaca de filhotes de ratos wistar provenientes de matrizes tabagistas / Regiane Rocha Costalonga. - Presidente Prudente: [s.n], 2013
98 f.

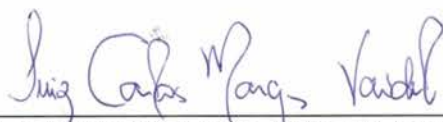
Orientador: José Carlos Silva Camargo Filho
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

1. Exercícios físicos. 2. Coração. 3. Tabagismo. I. Camargo Filho, José Carlos Silva. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III. Título.

BANCA EXAMINADORA



PROF. DR. JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO
(ORIENTADOR)



PROF. DR. LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI
(FCT/UNESP)



PROF. DR. PAULO HENRIQUE FERREIRA
(UNIVERSITY OF SIDNEY)



REGIANE ROCHA COSTALONGA

PRESIDENTE PRUDENTE (SP), 13 DE DEZEMBRO DE 2013.

RESULTADO: Aprovada

SUMÁRIO

Apresentação	15
Introdução	18
Artigo I: “Efeitos da exposição à poluição por fumaça de tabaco associada ao exercício físico no núcleo da fibra muscular cardíaca da segunda geração de ratos Wistar: um estudo cariométrico.”	21
Artigo II: “Efeitos do tabagismo passivo associado ao exercício físico no músculo cardíaco de ratos Wistar provenientes de matriz tabagista”	47
Conclusões	69
Referências	71
Anexos	74

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais Luiz e Rose, minha irmã Vanessa, minha avó Delcy e meus avós Juraci (in memorian) e Paulino (in memorian) por todo apoio, compreensão e paciência ao longo de toda minha jornada acadêmica.

Agradecimientos

Tão difícil agradecer resumidamente pessoas de fundamental importância e que tanto contribuíram para formar e lapidar o que sou hoje.

A Deus, minha infinita gratidão por me amparar nos momentos de fraqueza e dúvidas e, me proporcionar a oportunidade de ter grande aprendizado e crescimento.

A minha família, meu pai Luiz, minha mãe Rose, minha irmã Vanessa e minha avó Delcy pelo apoio incondicional por todos esses anos de estudo e dedicação à minha vida acadêmica.

Ao meu orientador, prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho e, a minha orientadora extraoficial, profa. Ms. Regina Celi Trindade Camargo, por terem me acolhido e ajudado a dar os primeiros passos na minha carreira como futura pesquisadora. Agradeço pela confiança, proporcionando-me a honrosa oportunidade de desenvolver esta dissertação. Muito obrigada pelos ensinamentos, amizade, atenção, dedicação e carinho a mim dispensados nesses anos de convivência. O apoio foi essencial para minha jornada acadêmica e desenvolvimento deste trabalho.

Ao prof. Dr. Luiz Carlos Marques Vanderlei pela sua prontidão em auxiliar sempre, por sua ética, profissionalismo, generosidade e pelas valiosas sugestões estatísticas.

Ao prof. Dr. Rômulo de Araújo Fernandes pelas sugestões no planejamento estatístico deste trabalho.

Ao queridíssimo Sidney, por todo carinho e atenção. Pelo auxílio no desenvolvimento de parte deste trabalho o qual foi de extrema importância. Por sempre ter a palavra certa no momento certo. Por contribuir positivamente para o meu

crescimento profissional e pessoal. Você me ajudou imensamente. Sempre será muito querido e um grande amigo.

A todos os integrantes do Laboratório de Histologia e Histoquímica, incluindo os que por aqui passaram: Alan, Alice, André, Bruna, Darlene, Glaucia, Guilherme, Jacqueline, Lidianne, Robson, Samira, Taíse e Tatiane, muito obrigada pelo convívio, por todos os momentos de descontração, aprendizado e trabalho.

À Jacqueline, Lidianne e Taíse pela colaboração durante os longos e “infundáveis” dias de treinamento e coletas.

À Taíse, minha recruta, grande amiga e companheira de trabalho e de sonhos. Menina incrível e extremamente esforçada. Agradeço imensamente todo o tempo que passamos juntas e o crescimento que conquistamos. Uma grande menina mulher com uma garra extraordinária. Muito obrigada por ter desfrutado de ótimos momentos ao seu lado e pela parceria.

À Bruninha por atender prontamente a todos os pedidos de socorro e a grande parceria de trabalho. Muito obrigada pela humildade em compartilhar os ensinamentos e a generosidade e disponibilidade em sempre ajudar.

Ao Alan, parceiro de trabalho, obrigada pelo companheirismo, generosidade em compartilhar o conhecimento adquirido e o desejo mútuo de crescer e aprender.

Às minhas amigas especiais, Juliana Morimoto e Marcela Marinho. À Ju, por sempre mostrar o lado prático das coisas, por passar as madrugadas acordada para que eu pudesse estudar e não dormir em cima dos livros. Por todos os momentos de companhia e descontração e por sempre oferecer o ombro mais que amigo. À Marcela, por

todas as mensagens de incentivo, pelo enorme carinho e companheirismo. Obrigada por todos os momentos de descontração, paciência e dedicação. Por se fazerem presentes mesmo na ausência. Por todos os momentos inesquecíveis e a certeza da eterna amizade.

À Naiara, parceira de todas as horas e todos os sufocos durante o mestrado. Por todas as vitórias e decepções compartilhadas. Por toda a ajuda incondicional, incentivo e “puxões de orelha” quando necessários. Por toda a amizade e companheirismo sem igual. Foram quase três anos de intensa convivência. Muito obrigada por tudo!

À Anne e Thaís que aos poucos foram tornando-se amigas muito queridas e de forma muito especial fazem parte da minha vida e também fizeram parte desta conquista. Obrigada por toda a amizade e companheirismo.

Ao casal “Ju e Mauris”, obrigada pela valiosa contribuição para me fazer entender bioestatística e por toda a amizade e carinho. Vocês são amigos muito queridos e especiais!

Às minhas queridas amigas Gisely, Cac’s (Glaucia), Aline, Marianne, Naty Turri, Laís, Renata e Arianne pela amizade e a torcida para que tudo desse certo.

Ao meu querido tio e padrinho Valdir que mesmo distante sempre torceu por mim.

Às amigas do Laboratório de Fisiologia do Estresse, Aline, Ana Clara, Ana Laura, Anne, Camila, Laís, Marianne, Naiara, Naty Turri, Rayana e Renata, pela amizade, confraternizações, risadas, conversas, chá, bolachas, bolo e todas as “gordices”.

Agradeço ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GEPFis), principalmente ao Rafael e ao Lucas, por todo auxílio e disposição nos dias de coletas e pela parceria na elaboração de outros projetos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da FCT-Unesp, pela contribuição em minha titulação.

Aos Funcionários da Pós Graduação, em especial ao André, Cinthia e Ivonete, por toda gentileza e apoio administrativo.

Aos Funcionários do Centro de Estudos e Atendimento de Fisioterapia e Reabilitação (CEAFIR), em especial a Ivone e a Elaine.

E por fim, agradeço a todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para a concretização e desenvolvimento deste trabalho. Muito obrigada!

Epígrafe

*Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja
apenas outra alma humana.*

Carl Jung

Esta dissertação é composta de uma introdução e de dois artigos científicos, originados de pesquisas realizadas no Laboratório de Histologia e Histoquímica do Departamento de Fisioterapia da FCT/UNESP – Presidente Prudente.

Em consonância com as regras do modelo alternativo do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, os artigos foram redigidos de acordo com as normas dos periódicos Revista Brasileira de Medicina do Esporte (anexo 1) e Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (anexo 2).

- Artigo I.

Costalonga RR, Camargo RCT, Urban JB, Biral TM, Macedo LA, Xavier da Cruz GC, Magalhães AJB, Camargo Filho JCS. Efeitos da exposição à poluição por fumaça de tabaco associada ao exercício físico no núcleo da fibra muscular cardíaca da segunda geração de ratos Wistar: um estudo cariométrico. Submetido à apreciação visando publicação no periódico Revista Brasileira de Medicina do Esporte.

pág. 21

- Artigo II.

Costalonga RR, Camargo RCT, Urban JB, Biral TM, Valsoni BCG, Magalhães AJB, Camargo Filho JCS. Efeitos do tabagismo passivo no músculo cardíaco de ratos Wistar provenientes de matriz tabagista. Submetido à apreciação visando publicação no periódico Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia.

pág. 47

O tabagismo, relacionado tanto a exposição à fumaça ativa quanto à passiva, é um dos hábitos sociais de grande prevalência e importante fator de risco para alterações cardiovasculares, morbidade e mortalidade¹. Segundo Kroeff², o hábito de fumar configura-se como uma epidemia relacionada a diversas doenças, direta ou indiretamente, constituindo-se um fator de risco evitável para a saúde. O tabagismo passivo é caracterizado pela exposição de indivíduos não fumantes aos derivados da combustão do cigarro em ambientes fechados³.

O tabagismo passivo aumenta o risco de doença coronária em aproximadamente 30%. Este efeito é maior do que os riscos associados ao tabagismo ativo e a relativa dose de nicotina a que os fumantes e não fumantes são expostos⁴.

Em relação à exposição e especificamente à fumaça do tabaco, verifica-se que esta contém um nível alto de radicais livres e moléculas oxidativas, e a exposição a ela aumenta o estresse oxidativo em humanos e animais de forma sistêmica⁵. A exposição à fumaça de cigarro, seja de forma ativa ou passiva, aumenta o risco de efeitos deletérios ao organismo e à ocorrência de doença cardíaca isquêmica. Em modelos experimentais expostos à fumaça de cigarro, foram encontrados aumento no número de casos de infarto devido à oclusão coronariana e reperfusão⁶.

Há uma preocupação especial com relação ao tabagismo durante a gestação devido a sua associação com retardo de crescimento intrauterino e baixo peso ao nascer em uma relação dose-dependente^{2,7,8}. Além de causar dano substancial às mulheres e ao desenvolvimento de seus fetos, o tabagismo

durante a gravidez representa um fator de risco significativo para o aumento da morbidade e mortalidade fetal⁹.

Além disso, são encontrados na literatura, relatos de alterações provocadas pelo tabagismo passivo no pulmão, placenta, rim e fígado de ratas prenhas, bem como na fertilidade, na produção de leite e no desenvolvimento dos filhotes, relacionado ao peso e comprimento^{3,8,10,11}.

São inúmeros os trabalhos que avaliam o tabagismo e suas consequências na população, porém poucos concentram análises do tabagismo em gestantes e as implicações na saúde dos filhos, além de ser necessário o incentivo para planejamento de intervenções de cessação do tabagismo principalmente em mulheres em idade fértil. A literatura apresenta estudos que enfatizam que a prática regular de um programa de exercício físico traz inúmeros benefícios e um efeito protetor ao sistema cardiovascular. Este efeito protetor se deve aos mecanismos antioxidantes e antiinflamatórios do exercício físico¹², porém é escasso o número de estudos que verificam o fator protetor promovido pelo exercício à segunda geração de animais submetidos à exposição à poluição do tabaco. A falta de trabalhos que avaliem o exercício físico no meio líquido, como a natação, e que abordem os efeitos deste tipo de treinamento na morfologia da fibra muscular cardíaca da segunda geração submetida à poluição por fumaça de tabaco justifica a realização deste estudo.

Este estudo está embasado na hipótese de que a exposição à poluição por fumaça de tabaco na prole de ratas submetidas ao tabagismo, desde o período gestacional à fase adulta da prole, possa acarretar danos ao tecido cardíaco bem como alterações morfológicas relacionadas à forma e tamanho

celular e que a associação a um programa de exercício físico em natação possa atenuar o desenvolvimento dessas alterações morfológicas já citadas¹³⁻¹⁶.

Além dos benefícios que o exercício físico promove na saúde geral da gestante, feto e recém-nascido, bem como maior peso fetal e do recém-nascido, encontramos adaptações na musculatura esquelética, as quais incluem adaptações no âmbito cardiovascular^{17,18}, incluindo modificações histológicas e morfológicas da estrutura cardíaca.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da exposição à poluição por fumaça de tabaco associado ao exercício físico em natação no músculo cardíaco de ratos provenientes de matriz tabagista, considerando suas alterações morfométricas.

Efeitos da exposição à poluição por fumaça de tabaco associada ao exercício físico no núcleo da fibra muscular cardíaca da segunda geração de ratos Wistar: um estudo cariométrico.

Effects of exposure to tobacco smoke pollution associated with exercise in the nuclei of cardiac muscle fiber of the second generation of rats: a karyometry study

Regiane Rocha Costalonga¹, Regina Celi Trindade Camargo¹, Jacqueline Bexiga Urban¹, Taíse Mendes Biral¹, Lidiane Aparecida de Macedo¹, Glaucia de Cassia Xavier da Cruz¹, Alan José Barbosa Magalhães¹, José Carlos Silva Camargo Filho¹.

Trabalho realizado na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Presidente Prudente (SP), Brasil.

¹ Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCT/UNESP), Campus de Presidente Prudente, SP, Brasil.

Endereço para Correspondência: Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho. Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCT/UNESP. Rua Roberto Simonsen, 305, Centro Educacional, Fone: (18)3229-5822. Fax:

(18)3223-4519. CEP: 19060-900 – Presidente Prudente (SP), Brasil. E-mail:
camargo@fct.unesp.br

RESUMO

OBJETIVO: Verificar o efeito da exposição à poluição por fumaça de tabaco associado ao exercício físico em natação na morfometria do núcleo da fibra muscular cardíaca de ratos provenientes de matrizes tabagistas passivas.

MÉTODOS: Onze ratas virgens, divididas em dois grupos: G1 (matriz controle) e G2 (matriz exposta à fumaça de tabaco) foram utilizadas para acasalamento. Os 42 animais gerados e incluídos neste estudo foram divididos em oito grupos: grupo controle, grupo natação, grupo tabaco e grupo tabaco natação e, a mesma divisão dos grupos diferindo-se pelo fato de serem provenientes de matrizes submetidas ou não a poluição por fumaça de tabaco. A prole foi submetida a um protocolo de natação e de exposição à poluição por fumaça de tabaco durante 30 dias, respeitando-se as divisões de grupo. Em seguida, após a eutanásia com 90 dias de vida dos animais, o coração foi removido rapidamente, fixado e submetido a processamento histológico e corado com hematoxilina-eosina para capacitar a análise morfométrica. A análise foi realizada por meio de microscopia de luz e cariometria, levando-se em consideração o maior e o menor diâmetro nuclear para substituição dos valores em fórmulas específicas para tal verificação.

RESULTADOS: Os animais prole controle de matriz tabagista apresentaram o tamanho do núcleo maior que a prole controle de matriz controle. Os grupos expostos à poluição por fumaça de tabaco apresentaram parâmetros nucleares, relacionados à forma e tamanho, maiores que os parâmetros analisados dos grupos controle. A comparação entre os grupos que foram submetidos à poluição por fumaça de tabaco e natação não apresentaram diferenças estatisticamente significantes para nenhum parâmetro analisado. **CONCLUSÃO:** A exposição à poluição por fumaça de tabaco durante a prenhez e lactação exerceu influência

negativa sobre os parâmetros nucleares da prole sendo observada por alterações de forma e tamanho dos núcleos do músculo cardíaco.

Palavras-chave: Miocárdio, poluição por fumaça de tabaco, exercício, cariometria.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To investigate the effect of exposure to tobacco smoke pollution associated with exercise in swimming in the morphometry of the nuclei of cardiac muscle fiber of rats from passive smoking mothers. **METHODS:** Eleven virgin rats were divided in two groups: G1 (control mother) and G2 (mother exposed to tobacco smoking pollution) were used for mating. The 31 animals generated and included in this study were divided in six groups: control group, tobacco smoke and group tobacco and swimming and the same division of the groups differed by the fact of being from mothers submitted or not to tobacco smoke pollution. The offspring was submitted to a protocol of swimming and exposure to tobacco smoking pollution for 30 days, respecting the divisions of the group. Then after euthanasia with 90 days of animal life, the heart was quickly removed, fixed and submitted to histological processing and stained with hematoxylin - eosin to enable morphometric analysis. The analysis was performed by light microscopy and karyometry, taking into account the highest and lowest nuclei diameter to replace the values in specific formulas for such verification. **RESULTS:** The offspring of tobacco control animals showed the array size larger than the control offspring control core mother. The groups exposed to tobacco smoke pollution showed nuclear parameters related to shape and size, larger than the analyzed parameters of the control group. Comparisons between groups were subjected to tobacco smoke pollution and swimming was no statistically significant differences for any parameter analyzed. **CONCLUSION:** Exposure to tobacco smoke pollution during pregnancy and lactation negatively influenced the nuclear parameters of the offspring was observed for changes in size and shape of the nuclei of cardiac muscle.

Keywords: Myocardial, tobacco smoke pollution, exercise, karyometry.

INTRODUÇÃO

A forma e função adequadas do músculo cardíaco são essenciais para o correto desempenho de todo o sistema cardiovascular, uma vez que, alterações em sua estrutura geram falhas e comprometem outros sistemas até afetar todo o organismo⁽¹⁾.

O exercício físico regular é capaz de melhorar a função cardíaca promovendo adaptações tais como vascularização cardíaca, hipertrofia cardíaca fisiológica resultando em aumento da massa do miocárdio e de dimensões das câmaras ventriculares proporcionando maior volume de ejeção do coração⁽²⁾. Outro ponto que merece análise é o processo de tabagismo, pois estudos sobre a sua ação mimetizam os processos de adaptações morfológicas, biológicas e fisiológicas, sendo um dos fatores resultantes dessas adaptações, o remodelamento cardíaco^(4,5). A exposição à fumaça de cigarro, seja de forma ativa ou passiva, aumenta o risco de efeitos deletérios ao organismo e favorece a ocorrência de doença cardíaca isquêmica. Em modelos experimentais expostos à fumaça de tabaco, observou-se aumento no número de casos de infarto devido à oclusão coronariana⁽⁶⁾.

Em humanos, a exposição materna à poluição por fumaça de tabaco duplica a chance de ocorrência da prole nascer com baixo peso, levando ao maior risco de partos prematuros, aborto espontâneo, malformação congênita, alterações no desenvolvimento do sistema nervoso e, até mesmo, de morte perinatal^(7,8,9). Sendo que, o risco é aumentado proporcionalmente ao número de cigarros consumidos⁽¹⁰⁾.

São inúmeros os trabalhos que verificam o tabagismo e suas consequências na população^(4,5,7,8,9), porém são escassos os que concentram análises em modelos experimentais expostos à poluição por fumaça de tabaco, suas implicações na saúde da prole^(6,12), bem como na associação ao exercício como fonte terapêutica de

incentivo ao planejamento de intervenções de cessação do tabagismo principalmente nas mulheres em idade fértil, nos período de gestação e de lactação.

Partindo do pressuposto de que o exercício físico regular promove adaptações fisiológicas benéficas, e que em contrapartida, a poluição do ar por fumaça de tabaco pode acarretar danos ao tecido cardíaco, conforme verificado em publicações anteriores pretende-se verificar os efeitos da associação entre a exposição à poluição por fumaça de tabaco e exercício físico em meio aquático na prole de matrizes expostas à poluição por fumaça de tabaco, pois não se encontram relatos em literatura, dos benefícios ou malefícios desta associação nesta população.

Nesse sentido, o modelo experimental do nosso estudo teve por objetivo avaliar o efeito da exposição à poluição por fumaça de tabaco associado ao exercício físico em natação no núcleo da fibra muscular cardíaca da prole de matrizes expostas à poluição por fumaça de tabaco.

MÉTODOS

Os procedimentos realizados durante a execução desta pesquisa seguiram aos “Princípios Éticos na Experimentação Animal” adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A pesquisa recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FCT/UNESP, Campus de Presidente Prudente, sob o Processo nº 06/2011.

Caracterização da amostra

Neste estudo foi utilizada a prole de ratas, nascida no biotério pertencente ao Departamento de Fisioterapia e ao Laboratório de Histologia e Histoquímica da FCT/UNESP. Para este propósito, foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade albina), sendo onze ratas virgens e quatro ratos machos procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu. Os machos foram mantidos no biotério somente com a finalidade de acasalamento e cada macho fecundou, no máximo, três ratas fêmeas durante o experimento.

Os animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Histologia e Histoquímica da FCT/UNESP em gaiolas plásticas coletivas de polietileno medindo 30x16x19 centímetros (cm), sob temperatura média de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade de $50\pm 10\%$, ciclo claro/escuro de 12 horas (7-19h), com água e ração *ad libitum* (ração balanceada padrão para ratos de laboratório).

Grupos experimentais e delineamento experimental das matrizes

Para a formação dos grupos experimentais, inicialmente as 11 ratas fêmeas (com 32 dias de idade) foram divididas em dois grupos sendo: GMC (matriz controle)

e GMF (matriz exposta à poluição por fumaça de tabaco), com cinco e seis animais respectivamente.

No momento em que as matrizes do GMF completaram 72 dias de idade, foram submetidas a um protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco. Aos 90 dias de idade, com o objetivo de homogeneizar os grupos, as 11 ratas virgens foram submetidas a um esfregaço vaginal para a verificação da fase do ciclo estral por meio da análise da celularidade vaginal, realizada diariamente, entre sete e nove horas. Em seguida, foram realocadas por proximidade das fases sendo o ciclo acompanhado por mais uma semana para confirmação da fase fértil (estro). Após a detecção do início da fase fértil, as ratas permaneceram em gaiolas individuais com um rato macho durante uma noite para cópula. Na manhã seguinte, a prenhez foi detectada pela presença de espermatozóides no esfregaço vaginal, caracterizando-se assim o início do período de prenhez^(7,10).

Durante o período de prenhez (21 dias) e lactação (21 dias) as matrizes do GMF continuaram sendo submetidas ao protocolo de exposição à poluição a fumaça de tabaco. Após o nascimento, a prole foi randomizada em seis subgrupos a partir das matrizes de origem (quadro 1), excluindo-se as fêmeas como meio preventivo de uma variável interveniente como as manifestações decorrentes de fatores hormonais característicos das fêmeas.

INSERIR QUADRO 1

Protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco

O protocolo de exposição à fumaça do tabaco seguiu o mesmo procedimento tanto para as matrizes tabagistas (GMF) como para a prole dos grupos PFS/MC, PFS/MF, PFN/MC e PFN/MF. Aos 37 dias de idade, a prole (com total de 23 animais) foi submetida à poluição por fumaça da combustão de tabaco em uma

câmara de fumo a uma temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ⁽¹³⁾ durante 30 minutos (min), duas vezes ao dia, cinco dias por semana, com 350 ppm de monóxido de carbono (CO) por exposição⁽¹⁴⁾ decorrente da queima de aproximadamente dois cigarros/animal/dia⁽¹⁵⁾, por quatro semanas consecutivas, perfazendo 30 dias e 60 sessões de exposição. A concentração de CO foi quantificada pelo detector de gás específico TxiPro[®] da Biosystems⁽¹⁰⁾.

O modelo de inalação empregado foi o descrito por Paiva et al.⁽¹⁶⁾ e Castardeli et al.⁽¹⁷⁾, incluindo uma caixa com estrutura de alumínio e vidro, medindo 100x44x44 cm, hermeticamente fechada e dividida em dois compartimentos por um tabique de vidro escuro com cinco pertuitos centrais de uma polegada de diâmetro, com adequações do espaço para a gaiola e válvulas, confeccionadas pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI) de Presidente Prudente-SP. O primeiro compartimento da caixa foi utilizado para a colocação de cigarros acesos em um suporte, de forma que ficaram na posição vertical. O segundo compartimento foi destinado a expor seis animais à fumaça de tabaco.

No compartimento em que foram colocados os cigarros, foi conectada à câmara, uma fonte de ar comprimido com um fluxo de 10 litros/minuto permitindo a combustão dos cigarros e propiciando a condução da fumaça para o outro lado da caixa, onde foi colocada a gaiola com os animais. O compartimento destinado aos animais continha um orifício de drenagem do ar, na qual estava adaptado a um *cooler* com função de exaustor da mistura. Desta forma, o protocolo experimental aproximou-se mais propriamente de uma situação de tabagismo passivo. Foram utilizados cigarros adquiridos comercialmente, com a composição descrita no maço pelo fabricante: mistura de fumos, açúcares, papel de cigarro, extratos vegetais,

agente de sabor; gerando para cada queima de um cigarro o valor de 0,8 mg de nicotina, 10 mg de alcatrão e 10 mg de monóxido de carbono.

Protocolo de exercício físico em meio aquático

No mesmo dia em que se iniciou o protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco (com 37 dias de idade), os animais dos grupos PFN/MC e PFN/MF também foram submetidos a um protocolo de exercício físico em meio aquático e os animais dos grupos PCN/MC e PCN/MF somente foram submetidos ao protocolo em meio aquático, descrito por Volpato et al.⁽¹⁸⁾, que compreendeu duas fases: adaptação ao meio líquido e programa de treinamento em natação.

A fase de adaptação caracterizou-se pelas cinco primeiras sessões de natação com aumento progressivo de 10 min de duração por dia, iniciando-se com 20 min na primeira sessão e chegando à quinta sessão com 60 min, temperatura da água em 31 ± 1 °C.

A fase do programa de treinamento em natação iniciou-se na sexta sessão, mantendo-se duração de 60 min até a 30ª sessão.

Os animais dos grupos PCS/MC, PFS/MC, PCS/MF e PFS/MF foram submetidos às mesmas condições dos animais submetidos ao protocolo de exercício físico realizado em meio aquático. Entretanto, para estes grupos citados, a profundidade da água foi de 10 cm durante 15 min com o intuito de que sofressem o mesmo estresse do meio, entretanto evitando-se o treinamento físico por meio da natação.

Tanto o protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco quanto o protocolo de treinamento em natação totalizaram 30 dias de procedimentos,

perfazendo um total de 60 sessões de exposição ao tabaco e 30 sessões de treinamento.

Coleta e preparo do material

As amostras foram obtidas de acordo com a metodologia descrita por Águila et al.⁽¹⁹⁾, que consistiu em injetar heparina por via intraperitoneal de 25.000 UI para intervir no processo de coagulação sanguínea. Em seguida, foi realizada a anestesia, com injeção abdominal de uma associação de dois anestésicos (cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina, 40mg/kg de peso corporal)²⁰, posteriormente sendo realizada uma toracotomia expondo o coração e injetando-se, pelo ventrículo esquerdo (VE), cerca de 1 ml de cloreto de potássio a 10% até a parada cardíaca em diástole. Na sequência, foi realizada perfusão, por meio do VE, com grande volume de líquido de Bouin alcoólico para fixação do tecido. O coração permaneceu por uma noite neste mesmo líquido fixador.

Técnica histológica

Para a obtenção dos preparos histológicos permanentes foram coletados os corações da prole das matrizes incluídas neste estudo. Posteriormente ao período de fixação, os corações foram retirados do líquido fixador e realizou-se uma secção transversal tomando-se como orientação as aurículas cardíacas ficando as câmaras ventriculares quase que totalmente em sua integridade. Posteriormente, estes foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina histológica. Os blocos contendo os fragmentos de tecido cardíaco foram cortados em micrótomo rotatório pelo método semi-seriado com espessura de 5 µm. Após este procedimento foram corados com hematoxilina-eosina para possibilitar a análise morfométrica⁽²¹⁾.

Análise morfométrica

Para as análises morfométrica e quantitativa, imagens de cortes longitudinais de feixes musculares do VE foram capturadas utilizando-se uma câmera de alta resolução acoplada ao microscópio óptico (Eclipse 50i H550S - Nikon®), com objetiva de imersão e aumento de 100 vezes, e observadas por meio de um sistema de análise computadorizada⁽²²⁾ (*software* NIS-Elements D3.0 - SP7 - Nikon®).

A cariometria foi utilizada como um instrumento para o estudo morfométrico com o objetivo de avaliar os parâmetros nucleares com relação à sua forma e tamanho. Os parâmetros os quais se referem ao tamanho do núcleo são: diâmetro maior, diâmetro menor, diâmetro médio, perímetro, relação diâmetro maior/menor, volume, área, relação de volume/área. E, os parâmetros referentes à forma são: o coeficiente de forma, o índice de contorno e a excentricidade dos núcleos das fibras musculares cardíacas⁽²¹⁾.

Para a avaliação dos dados nucleares dos cardiomiócitos foram obtidas 20 imagens de campos distintos de cada lâmina com objetiva de imersão e aumento de 100 vezes utilizando-se uma máscara reticular sobre a imagem para orientação das tomadas para que não houvesse duplicação de imagens. Posteriormente, foram mensurados o maior e o menor diâmetro de 50 núcleos, sendo os valores aplicados em uma planilha de Excel com fórmulas para a determinação e análise do tamanho e forma da estrutura analisada.

Para estimar os parâmetros nucleares foram aplicadas as seguintes fórmulas: Relação Diâmetro maior e menor: D/d ; Diâmetro médio: $M=(D+d)/2$; Perímetro: $P=(\pi/2) \cdot [3/2 \cdot (D+d) - M]$; Volume: $V=\pi \cdot 1/6 \cdot M^3$; Área: $A=\pi \cdot 1/4 \cdot M^2$; Relação volume/área: $V/A=3/2 \cdot M$; Coeficiente de forma: $F=4 \cdot \pi \cdot A/1/\pi^2$; Índice de contorno:

$I=\pi/(A)^{1/2}$; Excentricidade: $E=(D+d)^{1/2}/D$. A unidade de medida utilizada para os diâmetros é o micrômetro (μm), enquanto que para volume e área utiliza-se o micrômetro cúbico (μm^3) e o micrômetro quadrado (μm^2), respectivamente⁽²¹⁾.

Análise estatística

Após a obtenção dos dados, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. As comparações entre os grupos foram realizadas por análise de variância (ANOVA – One way) para medidas repetidas seguida pelo pós-teste de Tukey para os dados paramétricos, ou pelo pós-teste de Dunn para dados não paramétricos. As diferenças foram consideradas significativas para $p<0,05$. Todas as verificações estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* SPSS (versão 17.0 para Windows®).

RESULTADOS

A análise quantitativa dos dados coletados pela morfometria do núcleo das fibras musculares cardíacas foi obtida por meio da cariometria. Os parâmetros analisados foram referentes ao tamanho e a forma nuclear de todos os grupos incluídos nesta pesquisa levando-se em consideração o fator matriz, sendo ela exposta ou não à poluição por fumaça de tabaco.

A tabela 1 expressa os valores de média seguidos dos seus respectivos desvios-padrão dos dados referentes ao tamanho do núcleo da fibra muscular cardíaca de todos os grupos incluídos nesta pesquisa.

*** INSERIR TABELA 1 ***

Na comparação entre os grupos, não se observou diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados sugerindo que o tamanho nuclear da fibra cardíaca da prole não foi significativamente afetado pelo fator tabaco da matriz.

Na tabela 2 apresentam-se as comparações entre os parâmetros cariométricos referentes à forma do núcleo das fibras musculares cardíacas dos grupos controle, controle natação, exposto à fumaça de tabaco e, exposto à fumaça de tabaco e natação de matriz expostas ou não à poluição por fumaça de tabaco. A análise estatística dos dados não mostrou diferença significativa entre os grupos no coeficiente de forma, índice de contorno e excentricidade da prole de matriz tabagista em comparação à prole de matriz controle.

*** INSERIR TABELA 2 ***

DISCUSSÃO

Esta pesquisa teve por objetivo verificar o efeito da exposição à poluição por fumaça de tabaco associado ao exercício físico em natação no núcleo da fibra muscular cardíaca de ratos provenientes de matrizes tabagistas ou não, considerando suas alterações morfológicas.

Os resultados obtidos neste estudo por meio da cariometria mostraram que a exposição à poluição por fumaça de tabaco promove alterações morfológicas ao núcleo da fibra cardíaca e acredita-se que estas adaptações são, em parte, decorrentes do remodelamento sofrido pelo músculo cardíaco, porém, não são alterações estatisticamente significativas.

No presente trabalho, o tamanho do núcleo do grupo prole controle proveniente de matriz tabagista (PCS/MF) é significativamente maior em comparação ao tamanho do núcleo do grupo prole controle de matriz controle (PCS/MC). Pode-se entender e relacionar aos dados encontrados que a exposição à poluição a fumaça de tabaco está relacionada a modificações na manutenção da homeostase celular e que a exposição ao tabaco durante a gestação e lactação afeta as funções bioquímicas e fisiológicas em progenitoras, leite materno e prole.

Embora os detalhes da patogênese permaneçam ainda obscuros, a poluição por fumaça de tabaco envolve um complexo de causas multifatoriais pelo fato de que a fumaça de cigarro é uma mistura composta por mais de 4.700 substâncias e uma fonte rica de radicais livres que predispõe o organismo a diversas doenças pulmonares e cardiovasculares. Esses radicais livres possuem a capacidade de iniciar várias reações químicas levando a alterações irreversíveis que resultam em disfunção celular e citotoxicidade^(22,23).

Os dados do presente trabalho mostraram que o núcleo das fibras musculares cardíacas dos animais do PFS/MF apresentou adaptações não somente quanto ao tamanho como em sua forma estrutural. Existem evidências de que os cardiomiócitos são sensíveis ao acúmulo do estresse oxidativo, que alterações desse tipo modificam o seu metabolismo e conseqüentemente a sua forma estrutural e que o tabagismo está diretamente associado ao remodelamento das fibras musculares cardíacas e com o acúmulo do estresse oxidativo. Sendo o remodelamento do cardiomiócito decorrente de alterações geométricas e volumétricas do coração em resposta à agressão miocárdica^(24,25).

Por outro lado, Castardeli et al.⁽¹⁷⁾ e Zornoff et al.⁽⁴⁾ demonstraram que a exposição ao tabaco induz a hipertrofia cardíaca corroborando com os achados do presente estudo. Concluíram que a hipertrofia é uma resposta do processo adaptativo e ocorre como um efeito protetor do coração frente a vários estímulos estressantes e na tentativa de manter sua capacidade funcional⁽²⁶⁾. Além disso, estudos envolvendo modelos experimentais expostos à poluição por fumaça de tabaco evidenciaram o remodelamento cardíaco, redução da capacidade funcional do ventrículo esquerdo e aumento da parede ventricular^(17,27) além de alterações morfológicas e funcionais^(4,5).

Em relação aos grupos submetidos ao exercício físico associado à exposição à poluição por fumaça de tabaco observou-se que, não apresentaram diferença estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros nucleares de forma e tamanho analisados. Sabe-se que o exercício físico regular desempenha um papel importante no tratamento de diversas doenças cardiopulmonares além de promover melhora da saúde geral^(28,29) e confere efeitos benéficos para o coração⁽³⁰⁾. Podemos supor que, com uma intensidade ou duração do tempo de exercício maior possa

promover um efeito mais benéfico. O tabaco não causou alterações significativas entre os parâmetros analisados, podendo ser pelo fato de haver interferência de uma variável interveniente do exercício, porém que em uma intensidade diferente possa promover adaptações mais benéficas.

Um estudo de Rohini et al.⁽³¹⁾ afirma que o exercício físico promove uma hipertrofia fisiológica do músculo cardíaco em resposta a estímulos mecânicos e neuro-hormonais, permitindo uma melhora da função cardiovascular. Porém, no presente trabalho não foi possível interpretar a hipertrofia apresentada pelo núcleo do músculo cardíaco como sendo uma reação fisiológica adaptativa ao estresse ou uma condição inicial de um processo degenerativo a exposição à fumaça de cigarro. Levando-se em consideração essas premissas, uma possível alternativa é de que o esforço induzido pelo exercício não foi suficiente para desencadear mudanças fisiológicas inerentes ao estresse, permitindo assim interpretar os dados obtidos como sendo uma reação adaptativa.

Como limitações deste estudo, relatamos não ter sido prescrito à intensidade do exercício físico proposto por meio da análise do lactato sanguíneo dos animais.

Em resumo, o tabagismo pode comprometer o desempenho cardíaco independentemente de haver uma doença cardiovascular preexistente além de comprometer a função mecânica cardíaca, levando a um remodelamento cardíaco patológico e desfavorável. Isto é embasado pelos resultados obtidos neste trabalho e corrobora com os achados de Talukder et al.⁽³²⁾ e Hu et al.⁽²⁴⁾. Contudo, pelos dados analisados não podemos afirmar que o tabagismo tenha acarretado malefícios ao coração ou se o exercício físico pode ser um atenuador desses processos lesivos já mencionados.

CONCLUSÃO

A exposição à poluição por fumaça de tabaco durante a prenhez e lactação exerceu influência negativa sobre os parâmetros nucleares da prole sendo observada por alterações de forma e tamanho dos núcleos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vazzoler AM. Estudo morfoquantitativo do miocárdio do ventrículo esquerdo de ratas ooforectomizadas submetidas a exercício aeróbico. [Dissertação]. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2008.
2. Natali AJ, Wilson LA, Peckham M, Turner DL, Harrison SM, White E. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. *J of Physiology*. 2002, 541(3):863-875.
3. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo OS, Camapanha AO, Paiva SAR. A exposição à fumaça de cigarro intensifica a remodelação ventricular após o infarto agudo do miocárdio. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 86(4):276-282.
4. Mello PRB, Okay TS, Botelho C. Influência da exposição à fumaça lateral do cigarro sobre o ganho de peso e o consumo alimentar de ratas gestantes: análise do peso e do comprimento dos filhotes ao nascimento. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2006; 28(3):143-50.
5. Denipote F, Ardisson LP, Azevedo PS, Minicucci MF, Lima-Leopoldo AP, Chiuso-Minicucci F, Polegato BF, Matsubara BB, Matsubara LS, Novelli E, Paiva SAR, Zornoff LAM. Influence of Taurine on cardiac remodeling induced by tobacco smoke exposure. *Cell Physiol Biochem*. 2011; 27:291-298.
6. Varela-Carver A, Parker H, Kleinert C, Rimoldi O. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. *Curr Pharm Des*. 2010; 16(23):2551-8.
7. Galão AO, Soder AS, Gerhardt M, Faertes TH, Krüger MS, Diego FP, Borba CM. Efeitos do fumo materno durante a gestação e complicações perinatais. *Rev HCPA*. 2009; 29(3):218-224.
8. Seraphim PM, Nunes MT, Machado UF. GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. *Braz J Med Biol Res*. 2001; 34:1353-62.
9. Valsoni BCG, Bonfim MR, Urban JB, Kodama FY, Camargo RCT, Vanderlei LCM, Camargo Filho JCS. Influência do tabagismo passivo associado ao exercício físico realizado por ratas durante prenhez e lactação, sobre o desenvolvimento dos filhotes. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2011;33(7):150-7.

10. Korde VR, Bartels MH, Barton J, Ranger-Moore J. Automatic Segmentation of Cell Nuclei in Bladder and Skin Tissue for Karyometric Analysis. *Anal Quant Cytol Histol*. 2009; 31(2): 83–89.
11. Chertok IRA, Luo J, Anderson RH. Association between changes in smoking habits in subsequent pregnancy and infant birth weight in West Virginia. *Matern Child Health J*. 2011;15(2):249-254.
12. Czekaj P, Pałasz A, Lebda-Wyborny T, Nowaczyk-Dura G, Karczewska W, Florek E et al. Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke. *Int Arch Occup Environ Health*. 2002; 75:S27–S35.
13. Edirisinghe I, Yang S, Yao H, Rajendrasozhan S, Caito S, Adenuga D et al. VEGFR-2 inhibition augments cigarette smoke-induced oxidative stress and inflammatory responses leading to endothelial dysfunction. *The FASEB Journal*. 2008; 22:2297-2310.
14. Mello PRB, Okay TS, Dores EFG de C, Botelho C. Marcadores de exposição tabágica em ratas lactantes utilizando um modelo de exposição passiva desde o início da gestação. *Pulmão*. 2005; 14(4):289-293.
15. Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Cicogna AC, Campana AO. Comportamento de variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro. *Arq Bras Cardiol*. 2003; 81(3):221-4.
16. Castardeli E, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS et al. A exposição crônica à fumaça do cigarro resulta em remodelação cardíaca e prejuízo da função ventricular em ratos. *Arq Bras Cardiol*. 2005; 84(4):320-4.
17. Volpato GT, Damasceno DC, Campos KE, Rocha R, Rudge MVC, Calderon IMP. Avaliação do efeito do exercício físico no metabolismo de ratas diabéticas prenhes. *Rev Bras Med Esporte*. 2006; 12(5):229-33.
18. Águila MB, Apfel MIR, Mandarim-De-Lacerda CA. Comparação morfológica e bioquímica entre ratos envelhecidos alimentados com dieta hiperlipídica e com óleo decanola. *Arq Bras Cardiol*. 1997; 68(3):155-61.

19. Seraphim PM, Nunes MT, Machado UF. GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 34(10):1353-62.
20. Martins MRI, Azoubel R. Efeitos do aspartame no rim fetal de ratos – estudo cariométrico. *J Bras Nefrol.* 2006; 28(3):151-157.
21. Cabanelas LA, Carbonel AAF, Santos MA, Simões RS, Liberatori-Filho AW, Baracat EC, Soares Júnior JM. Morfologia dos cardiomiócitos e quantificação do colágeno no miocárdio de ratas tratadas com isoflavonas ou estrogênios. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012; 34(10):447-452.
22. Santos-Silva AP, Oliveira E, Pinheiro CR, Santana AC, Nascimento-Saba CC, Abreu-Villaça Y, Moura EG, Lisboa PC. Endocrine effects of tobacco smoke exposure during lactation in weaned and adult male offspring. *J Endocrinol.* 2013; 218(1): 13-24.
23. Charniot JC, Bonnefont-Rousselot D, Albertini JP, Dever S, Vignat N, Nataf P, et al. Oxidative stress implication after prolonged storage donor heart with blood versus crystalloid cardioplegia and reperfusion versus static storage. *J Surg Res.* 2010; 160(2):308-14.
24. Hu N, Han X, Lane EK, Gao F, Zhang Y, Ren J. Cardiac-specific overexpression of metallothionein rescues against cigarette smoking exposure-induced myocardial contractile and mitochondrial damage. *PLoSOne.* 2013; 8(2): e57151.
25. Duarte DR, Minicucci MF, Azevedo OS, Matsubara BB, Matsubara LS, Novelli EL, Paiva AS, Zornoff LA. The role of oxidative stress and lipid peroxidation in ventricular remodeling induced by tobacco smoke exposure after myocardial infarction. *Clinics.* 2009; 64(7):691-697.
26. Singh AP, Singh M, Balakumar P. Effect of mast cell stabilizers in hyperhomocysteinemia-induced cardiac hypertrophy in rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008; 51(6):596-604.
27. Castardeli E, Duarte DR, Minicucci MF, Azevedo OS, Matsubara BB, Matsubara LS, Campana AO, Paiva AS, Zornoff LA. Exposure time and ventricular remodeling induced by tobacco smoke exposure in rats. *Med Sci Monit.* 2008; 14(3):62-66.
28. Brassard P, Ferland A, Marquis K, Maltais F, Jobin J, Poirier P. Impact of diabetes, chronic heart failure, congenital heart disease and chronic obstructive

pulmonary disease on acute and chronic exercise responses. *Can J Cardiol.* 2007(Suppl B): 89B-96B.

29. Crimi E, Ignarro LJ, Cacciatore F, Napoli C. Mechanisms by which exercise training benefits patients with heart failure. *Nat Rev Cardiol.* 2009; 6(4): 292-300.

30. Kemi OJ, Wisloff U. High-intensity aerobic exercise training improves the heart in health and disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2010; 30(1): 2-11.

31. Rohini A, Agrawal N, Koyani CN, Singh R. Molecular targets and regulators of cardiac hypertrophy. *Pharmacol Res.* 2010; 61(4): 269-280.

32. Talukder MA, Johnson WM, Varadharaj S, Lian J, Kearns PN, et al. (2011) Chronic cigarette smoking causes hypertension, increased oxidative stress, impaired NO bioavailability, endothelial dysfunction, and cardiac remodeling in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300: H388–396.

Quadro 1 – Grupos Experimentais (Matrizes N= 11; Prole N= 42).

Matrizes (M)			
GMC = 5		GMF = 6	
Prole (P)			
Grupo	Descrição	Grupo	Descrição
PCS/MC = 4	Controle sedentário da matriz controle	PCS/MF = 4	Controle sedentário da matriz tabagista
PCN/MC = 6	Controle natação da matriz controle	PCN/MF = 5	Controle natação da matriz tabagista
PFS/MC = 5	Exposto à fumaça de tabaco da matriz controle	PFS/MF = 6	Exposto à fumaça de tabaco da matriz tabagista
PFN/MC = 6	Exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz controle	PFN/MF = 6	Exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz tabagista

Tabela 1 – Valores de média seguidos dos seus respectivos desvios-padrão dos dados referentes ao tamanho do núcleo das fibras musculares cardíacas, levando-se em consideração o fator matriz.

GRUPOS	Diâmetro Médio	Perímetro	D/d	Volume	Área	Volume/Área
PCS/MC	0,52±0,03	2,45±0,33	4,90±0,88	0,08±0,02	0,22±0,03	0,35±0,02
PCN/MC	0,59±0,04	2,72±0,14	4,81±0,39	0,12±0,02	0,28±0,03	0,39±0,02
PFS/MC	0,58±0,06	2,64±0,36	4,52±0,47	0,12±0,03	0,28±0,05	0,39±0,04
PFN/MC	0,57±0,04	2,58±0,12	4,64±0,35	0,11±0,02	0,26±0,04	0,38±0,02
PCS/MF	0,58±0,02	2,63±0,24	4,56±0,74	0,11±0,01	0,27±0,02	0,39±0,01
PCN/MF	0,60±0,06	2,74±0,29	4,77±1,10	0,12±0,04	0,29±0,06	0,40±0,04
PFS/MF	0,60±0,05	2,93±0,20	5,39±0,64	0,13±0,03	0,30±0,05	0,40±0,03
PFN/MF	0,59±0,07	2,65±0,30	4,62±0,50	0,12±0,04	0,28±0,06	0,39±0,04

PCS/MC= grupo controle sedentário da matriz controle; PCN/MC= grupo controle natação da matriz controle; PFS/MC= grupo exposto à fumaça de tabaco da matriz controle; PFN/MC= grupo exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz controle; PCS/MF= grupo controle sedentário da matriz tabagista; PCN/MF= grupo controle natação da matriz tabagista; PFS/MF= grupo exposto à fumaça de tabaco da matriz tabagista; PFN/MF= grupo exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz tabagista; D/d = relação entre o diâmetro maior e menor.

Tabela 2. Valores de média seguidos dos seus respectivos desvios-padrão dos dados referentes à forma do núcleo das fibras musculares cardíacas, levando-se em consideração o fator matriz.

GRUPOS	Coefficiente de forma	Índice de contorno	Excentricidade
PCS/MC	0,49±0,06	5,27±0,39	0,97±0,01
PCN/MC	0,50±0,03	5,23±0,18	0,96±0,01
PFS/MC	0,53±0,04	5,09±0,22	0,96±0,01
PFN/MC	0,50±0,03	5,15±0,17	0,97±0,01
PCS/MF	0,51±0,07	5,12±0,35	0,97±0,01
PCN/MF	0,50±0,08	5,21±0,50	0,96±0,01
PFS/MF	0,45±0,04	5,49±0,28	0,97±0,01
PFN/MF	0,51±0,04	5,15±0,23	0,96±0,01

PCS/MC= grupo controle sedentário da matriz controle; PCN/MC= grupo controle natação da matriz controle; PFS/MC= grupo exposto à fumaça de tabaco da matriz controle; PFN/MC= grupo exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz controle; PCS/MF= grupo controle sedentário da matriz tabagista; PCN/MF= grupo controle natação da matriz tabagista; PFS/MF= grupo exposto à fumaça de tabaco da matriz tabagista; PFN/MF= grupo exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz tabagista.

Efeitos do tabagismo passivo associado ao exercício físico no músculo cardíaco de ratos

Wistar provenientes de matriz tabagista

Effects of tobacco smoke pollution associated with exercise on heart of Wistar rats

offspring by smokers

Regiane Rocha Costalonga¹, Regina Celi Trindade Camargo¹, Jacqueline Bexiga Urban¹,
Taíse Mendes Biral¹, Valsoni BCG¹, Magalhães AJB¹, José Carlos Silva Camargo Filho¹.

¹ Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Presidente Prudente (SP), Brasil.

E-mail por ordem dos nomes dos autores: regiane_rc@yahoo.com.br,
rcamargo@fct.unesp.br, jac_bexiga@yahoo.com.br, taisemendes_@hotmail.com,
brucorral@ig.com.br, ajb_magalhaes@yahoo.com.br, camargo@fct.unesp.br

Correspondência:

Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho. Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FCT/UNESP. Rua Roberto Simonsen, 305, Fone: (18) 3229-5822. Fax: (18) 3223-4519. CEP: 19060-900 – Presidente Prudente (SP), Brasil.

Resumo:

Objetivo: Verificar o efeito da exposição à poluição por fumaça de tabaco associada ao exercício físico em natação nas propriedades morfométricas do miocárdio da prole de matrizes tabagistas. **Método:** Onze ratas virgens, divididas em dois grupos: G1 (matriz controle) e G2 (matriz exposta à fumaça de tabaco) foram utilizadas para acasalamento. Os 42 animais gerados e incluídos neste estudo foram divididos em oito grupos: grupo controle, grupo natação, grupo tabaco e grupo tabaco e natação e, a mesma divisão dos grupos diferindo-se pelo fato de serem provenientes de matrizes submetidas ou não a poluição por fumaça de tabaco. A matriz tabagista foi exposta à poluição por fumaça de tabaco por 70 dias consecutivos, excluindo-se os finais de semana. A prole foi submetida a um protocolo de natação e de exposição à poluição por fumaça de tabaco durante 30 dias, 2x/dia, respeitando-se as divisões dos grupos. Microscopia eletrônica foi utilizada para estudar o volume citoplasmático (V_{vcit}), o volume celular (V_{vcel}), a relação entre volume nuclear e citoplasmático (V_{vnuc} / V_{vcit}) e a densidade celular numérica (N_v) do músculo cardíaco de ratos Wistar com 90 dias de idade. **Resultado:** Comparando-se os parâmetros estereológicos dos grupos PCS/MC e PCS/MF, os resultados encontrados demonstram haver diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na relação entre volume nuclear e citoplasmático. Na comparação entre PFS/MC e PFS/MF notamos haver maior V_{vcit} , V_{vcel} e N_v no PFS/MC. Em relação ao PCN/MC, este apresenta valores significativamente maiores em relação ao PCN/MF. **Conclusão:** Os efeitos da exposição crônica à poluição por fumaça de tabaco das matrizes tabagistas durante o período de prenhez e lactação promoveu alterações morfométricas ao coração da prole podendo essas, serem responsáveis por aumento do risco ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: Miocárdio, poluição por fumaça de tabaco, estereologia, microscopia quantitativa.

Summary

Objective: To investigate the effects of exposure to tobacco smoke pollution associated with the exercise in swimming in morphometric properties of the myocardium of offspring of smoking mothers. **Methods:** Eleven virgin rats were divided into two groups: G1 (control) and G2 (exposed to tobacco smoking) were used for mating. The 42 animals generated and included in this study were divided into eight groups: control, swimming, tobacco smoke pollution and tobacco smoke pollution and swimming groups from mother submitted to pollution, and control, swimming, tobacco smoke pollution and tobacco smoke pollution and swimming groups from mother not exposed to tobacco smoke pollution. The mother was exposed to tobacco smoke pollution for 70 consecutive days, excluding weekends. The offspring were exposed to pollution by tobacco smoke for 30 days 2x/day, respecting the division of groups. We used electron microscopy to study the cytoplasmic volume (V_{vcit}), cell volume (V_{vcel}), the relationship between nuclear and cytoplasmic volume (V_{vnuc} / V_{vcit}) and the numerical cell density (N_v) of the heart muscle of rats at 90 days of age. **Results:** Comparing the stereological parameters of the PCS/PCS and MC/MF groups, the results demonstrate a statistically significant difference ($p < 0.05$) in the relationship between nuclear and cytoplasmic volume. In comparing PFS/MC and PFS/MF we looked largest V_{vcit} , V_{vcel} and N_v in PFS/MC group. Regarding PCN/MC group, this is significantly higher values compared to the PNC/MF group. **Conclusion:** The effects of chronic exposure to tobacco smoke pollution from smoking mothers during pregnancy and lactation promoted to the heart of offspring morphometric changes and these may be responsible for the increased risk to develop cardiovascular disease.

Keywords: Myocardium, tobacco smoke pollution, stereology, quantitative microscopy.

Efeitos do tabagismo passivo associado ao exercício físico no músculo cardíaco de ratos

Wistar provenientes de matriz tabagista

Effects of tobacco smoke pollution associated with exercise on heart of Wistar rats

offspring by smokers

INTRODUÇÃO

A exposição à poluição do ar por fumaça de tabaco é fundamentada na literatura por ser um importante contribuinte para a ocorrência de doenças cardiovasculares, tais como as doenças cardíacas isquêmicas⁽¹⁾, e aumento da morbi-mortalidade cardiovascular⁽²⁾.

Há também evidências de que o fumar materno pode ter um efeito adverso sobre a saúde da descendência e ter consequências prejudiciais clínicas para a saúde de pessoas expostas à poluição por fumaça de tabaco⁽³⁾. Sendo que, o risco é aumentado proporcionalmente ao número de cigarros fumados⁽⁴⁾, podendo incorrer em alterações no decorrer da vida, como por exemplo, baixo peso ao nascer, malformação congênita, alterações no desenvolvimento do sistema nervoso e predisposição a ocorrência de morte súbita após o nascimento⁽⁴⁻⁶⁾.

Outro ponto que merece análise é de que mesmo com exposição a baixo teor de alcatrão e nicotina, a interferência da fumaça pode aumentar a prevalência de doenças cardiovasculares em comparação ao não exposto⁽⁷⁾. Provavelmente por se tratar de um problema mundial, uma melhor compreensão de como a fumaça de cigarro pode contribuir para a patogênese de doenças cardiovasculares se faz necessário.

Em contrapartida, o exercício proporciona um efeito protetor, identificado pelos mecanismos antioxidantes e antiinflamatórios⁽⁸⁾, sendo capaz de melhorar a função

cardíaca promovendo adaptações tais como vascularização cardíaca, hipertrofia fisiológica resultando em aumento da massa do miocárdio e de dimensões das câmaras ventriculares proporcionando maior volume de ejeção do coração⁽⁹⁾

Em gestantes o exercício regular realizado em meio líquido favorece o aumento do retorno venoso devido à pressão hidrostática e diminui os níveis basais de frequência cardíaca e pressão arterial⁽¹⁰⁾. Existem trabalhos que utilizaram o exercício físico ou a exposição a fumaça de tabaco sobre o balanço oxidante-antioxidante⁽⁸⁾. No entanto, poucos estudos tem procurado avaliar os efeitos combinados do exercício físico e exposição ao tabaco na fibra muscular cardíaca.

Hipotetizamos que a exposição à poluição por fumaça de tabaco na prole de ratas submetidas à poluição por fumaça de tabaco, desde o período gestacional à fase adulta da prole, pode acarretar hipertrofia cardíaca desfavorável a função cardíaca normal e até alterações morfológicas significantes ao tecido cardíaco e que o exercício pode ser um atenuador dos processos lesivos ocasionados pela exposição ao tabaco. No presente estudo verificamos os efeitos da exposição à poluição por fumaça de tabaco associada ao exercício físico em meio líquido nas propriedades morfométricas do miocárdio da prole de matrizes tabagistas.

MÉTODOS

Os procedimentos realizados durante a execução desta pesquisa seguiram aos “Princípios Éticos na Experimentação Animal” adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A pesquisa recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FCT/UNESP, Campus de Presidente Prudente, sob o Processo nº 06/2011.

Caracterização da amostra

Neste estudo foi utilizada a prole de ratas, nascida no biotério pertencente ao Departamento de Fisioterapia e ao Laboratório de Histologia e Histoquímica da FCT/UNESP. Para este propósito, foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade albina), sendo onze ratas virgens e quatro ratos machos procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu. Os machos foram mantidos no biotério somente com a finalidade de acasalamento.

Os animais foram mantidos no biotério, sob temperatura média de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade de $50\pm 10\%$, ciclo claro/escuro de 12 horas (7-19h), com água e ração *ad libitum* (ração balanceada padrão para ratos de laboratório).

Grupos experimentais e delineamento experimental das matrizes

Para a formação dos grupos experimentais, inicialmente as 11 ratas (com 32 dias de idade) foram divididas em dois grupos sendo: GMC (matriz controle) e GMF (matriz exposta à poluição por fumaça de tabaco), com cinco e seis animais respectivamente.

No momento em que as matrizes do GMF completaram 72 dias de idade, foram submetidas a um protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco. Com o objetivo de homogeneizar os grupos, as 11 ratas virgens foram submetidas a um esfregaço vaginal para a verificação da fase do ciclo estral por meio da análise da celularidade vaginal, realizada diariamente, entre sete e nove horas. Em seguida, foram realocadas por proximidade das fases sendo o ciclo acompanhado por mais uma semana para confirmação da fase fértil (estro). Após a detecção do início da fase fértil, as ratas permaneceram em gaiolas individuais com um rato macho durante uma noite para cópula. Na manhã seguinte, a prenhez foi detectada pela presença de espermatozóides no esfregaço vaginal, caracterizando-se assim o início do período de prenhez⁽⁴⁾.

Durante o período de prenhez (21 dias) e lactação (21 dias) as matrizes do GMF continuaram sendo submetidas ao protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco. Após o nascimento, a prole foi randomizada em seis subgrupos a partir das matrizes de origem (quadro 1), excluindo-se as fêmeas como meio preventivo de uma variável interveniente como as manifestações de fatores hormonais característicos das fêmeas.

INSERIR QUADRO 1

Protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco

O protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco seguiu o mesmo procedimento tanto para as matrizes do grupo GMF como para a prole dos grupos PFS/MC e PFS/MF. Os animais foram submetidos à poluição por fumaça da combustão de tabaco em uma câmara de fumo a uma temperatura de $23\pm 1^{\circ}\text{C}^{(11)}$ durante 30 minutos (min), duas vezes ao dia, cinco dias por semana, com 350 partes por milhão (ppm) de monóxido de carbono (CO) por exposição⁽¹²⁾, por quatro semanas consecutivas, perfazendo 30 dias e 60 sessões de exposição. A concentração de CO foi quantificada pelo detector de gás específico TxiPro[®] da Biosystems⁽⁴⁾.

O modelo de inalação empregado foi o descrito por Paiva et al.⁽¹³⁾ e Castardeli et al.⁽¹⁴⁾, incluindo uma caixa com estrutura de alumínio e vidro, medindo 100x44x44 cm, hermeticamente fechada e dividida em dois compartimentos por um tabique de vidro escuro com cinco pertuitos centrais de uma polegada de diâmetro, com adequações do espaço para a gaiola e válvulas, confeccionadas pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI) de Presidente Prudente-SP. O primeiro compartimento da caixa foi utilizado para a colocação de cigarros acesos em um suporte, de forma que ficaram na posição vertical. O segundo compartimento foi destinado a expor seis animais à fumaça de tabaco.

No compartimento em que foram colocados os cigarros, foi conectada à câmara, uma fonte de ar comprimido com um fluxo de 10 litros/minuto permitindo a combustão dos cigarros e propiciando a condução da fumaça para o outro lado da caixa, onde foi colocada a gaiola com os animais. O compartimento destinado aos animais continha um orifício de drenagem do ar, que estava adaptado a um *cooler* com função de exaustor da mistura. Desta forma, o protocolo experimental aproximou-se mais propriamente de uma situação de tabagismo passivo. Durante o experimento foram utilizados cigarros da mesma marca e adquiridos comercialmente, com a composição descrita no maço pelo fabricante: mistura de fumos, açúcares, papel de cigarro, extratos vegetais, agente de sabor; gerando para cada queima de um cigarro o valor de 0,8 mg de nicotina, 10 mg de alcatrão e 10 mg de monóxido de carbono.

Protocolo de exercício físico em meio aquático

No mesmo dia em que se iniciou o protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco, os animais dos grupos PCN/MC, PCN/MF, PFN/MC e PFN/MF também foram submetidos a um protocolo de exercício físico em meio aquático, descrito por Volpato et al.⁽¹⁵⁾, que compreendeu duas fases: adaptação ao meio líquido e programa de treinamento em natação.

A fase de adaptação caracterizou-se pelas cinco primeiras sessões de natação com aumento progressivo de 10 min de duração por dia, iniciando-se com 20 min na primeira sessão e chegando à quinta sessão com 60 min.

A fase do programa de treinamento em natação iniciou-se na sexta sessão, mantendo-se duração de 60 min até a 30ª sessão.

Os animais dos grupos PCS/MC, PFS/MC, PCS/MF e PFS/MF foram submetidos às mesmas condições dos animais submetidos ao protocolo de exercício físico realizado

em meio aquático. Entretanto, para estes grupos citados, a profundidade da água foi de 10 cm durante 15 min com o intuito de que sofressem o mesmo estresse do meio, entretanto evitando-se o treinamento físico por meio da natação.

Tanto o protocolo de exposição à poluição por fumaça de tabaco quanto o protocolo de treinamento em natação totalizaram 30 dias de procedimentos, perfazendo um total de 60 sessões de exposição ao tabaco e 30 sessões de treinamento.

Coleta e preparo do material

Foram obtidas 48 horas após a 60^a sessão, amostras obtidas de acordo com a metodologia descrita por Águila et al.⁽¹⁶⁾, que consistiu em injetar heparina por via intraperitoneal de 25.000 UI para intervir no processo de coagulação sanguínea. Em seguida, foi realizada a anestesia, com injeção abdominal de uma associação de dois anestésicos; cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina, 40mg/kg do peso corporal⁽⁵⁾, foi realizada uma toracotomia expondo o coração e injetando-se, pelo ventrículo esquerdo (VE), cerca de 1 ml de cloreto de potássio a 10% até a parada cardíaca em diástole. Na sequência, foi realizada perfusão, por meio do VE, com grande volume de líquido de Bouin alcoólico para fixação do tecido e o coração permaneceu neste líquido fixador por uma noite.

Posteriormente o período de fixação, foi realizada uma secção transversal tomando-se como orientação as aurículas cardíacas ficando as câmaras ventriculares quase que totalmente em sua integridade. Logo após, estes foram desidratados em graduações crescentes de álcool, diafanizados e incluídos em parafina histológica. Os blocos contendo os fragmentos de tecido cardíaco foram cortados em micrótomo rotatório pelo método semi-seriado com espessura de 5 µm. Após este procedimento foram corados com hematoxilina-eosina para capacitar a análise morfológicas⁽¹⁷⁾.

Estereologia

Para capacitar a análise morfométrica e quantitativa, imagens de cortes longitudinais musculares do ventrículo esquerdo foram capturadas utilizando-se uma câmera de alta resolução acoplada ao microscópio óptico (Eclipse 50i H550S - Nikon®) com objetiva de imersão e aumento de 100 vezes, e observadas por meio de um sistema de análise computadorizada (*software* NIS-Elements D3.0 –SP7 - Nikon®)⁽¹⁸⁾.

A quantificação pela técnica da estereologia foi realizada por meio de imagens microscópicas obtidas de 15 campos distintos por coração com microscópio Nikon e objetiva de 100x sob imersão⁽¹⁹⁾, utilizando-se o programa Image J®, do *National Institute of Health* (USA), sendo o sistema de unidade μm^2 e utilizando-se uma máscara reticular sobre a imagem para orientação das tomadas para que não houvesse duplicação de imagens. Os parâmetros estereológicos analisados no coração foram: volume citoplasmático (Vvcit), volume celular (Vvcel), relação entre volume nuclear e citoplasmático ($V\nu\text{nuc} / V\text{vcit}$) e densidade celular numérica (N_v)⁽²⁰⁾ dos componentes do miocárdio de ratos Wistar com 90 dias de idade.

Os resultados foram obtidos pelo método de contagem de pontos, sobrepondo o sistema teste M42 à imagem histológica. Este sistema de contagem de pontos apresenta 21 segmentos de reta e 100 pontos-teste^(20,21).

Análise estatística

Inicialmente, efetuou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a tendência dos dados à distribuição normal (Gaus). Assim, foram utilizados testes paramétricos para dados normais e testes não paramétricos para os demais. A significância estatística foi considerada para os valores de p menores que 0,05. As análises estatísticas foram

realizadas com o auxílio do *software SPSS 13.0[®] (Statistical Package for Social Sciences)* para Windows.

RESULTADOS

Analisando os resultados dos grupos PCS/MC e PCS/MF, encontramos uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na relação entre volume nuclear e citoplasmático (tabela 1).

INSERIR TABELA 1

A análise estereológica revelou que o volume citoplasmático, o volume celular e a densidade celular numérica apresentam valores maiores para o PCS/MC sugerindo que o volume nuclear do PCS/MC é menor que o do grupo PCS/MF, porém não apresentou significância estatística entre os grupos.

Na comparação entre os grupos PFS/MC e PFS/MF (tabela 2) todos os parâmetros analisados apresentaram diferença estatisticamente significativa e notamos haver maior volume citoplasmático, volume celular e densidade celular numérica no grupo PFS/MC.

INSERIR TABELA 2

Com relação aos grupos submetidos a um protocolo de exercício físico por meio da natação (tabela 3) observamos que o grupo PCN/MC apresenta valores significativamente maiores em relação ao grupo PCN/MF.

INSERIR TABELA 3

A tabela 4 apresenta os resultados da relação entre o volume nuclear e o volume citoplasmático dos grupos submetidos ao exercício por meio da natação. Este parâmetro analisado mostra valores significativamente maiores para o grupo PCN/MF.

INSERIR TABELA 4

INSERIR TABELA 5

DISCUSSÃO

No presente estudo, o objetivo foi verificar os efeitos da exposição à poluição por fumaça de tabaco associada ao exercício físico em meio líquido nas propriedades morfométricas do miocárdio da prole de matrizes tabagistas.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a exposição à poluição por fumaça de tabaco promoveu alterações morfoquantitativas no músculo cardíaco. Os resultados mensurados por meio da estereologia demonstraram que a V_{vnuc}/V_{vcit} apresentou maior valor significativo para o grupo PCS/MF em comparação ao PCS/MC.

Para os resultados obtidos de volume citoplasmático, volume celular e densidade celular numérica não apresentaram diferença estatisticamente significativa sugerindo que o fator matriz influenciou negativamente a formação celular da prole, ou seja, os dados obtidos desses parâmetros avaliados foram semelhantes em ambas as proles, independente ao fator matriz tabagista. Um dos fatores predisponentes para a alteração da matriz pode ser a nicotina, principal composto do cigarro, atinge o feto por meio da placenta e se concentra no sangue fetal com níveis 15% maiores que os níveis maternos além de, ser eliminada também pelo leite materno e agir diretamente no sistema cardiovascular por estimulação dos receptores de acetilcolina liberando catecolaminas e outras substâncias vasoativas⁽²²⁾.

Em relação à comparação entre os grupos PFS/MC e PFS/MF, os resultados mostraram haver diferença estatisticamente significativa entre todos os parâmetros estereológicos analisados podendo essas alterações observadas serem decorrentes do processo oxidativo e lesivo da fumaça de cigarro. Isto se justifica pelo fato de que, na fase gasosa da fumaça existem altas concentrações de muitos oxidantes e radicais livres

podendo, em alguns casos, induzir danos às moléculas endógenas e reativas de oxigênio justificando os achados na presente pesquisa⁽⁸⁾.

Nos resultados observados entre os grupos PCN/MC e PCN/MF notam-se que os parâmetros celulares analisados são significativamente maiores no grupo PCN/MF sugerindo que o tabagismo materno causou adaptações celulares à prole. Sabe-se que o exercício físico regular proporciona efeitos benéficos e protetores ao coração⁽²³⁾. Diante do exposto, podemos supor que o exercício com uma intensidade e duração de tempo maior possa promover efeitos benéficos maiores ao coração.

Observações clínicas em estudos in vivo mostram que o exercício físico promove hipertrofia cardíaca fisiológica em resposta a estímulos mecânicos e neuro-hormonais, permitindo assim uma melhora da função cardiovascular. Essas considerações acima respaldam os resultados encontrados nos animais do grupo PCN/MC do presente trabalho. Isto justifica o resultado encontrado no presente trabalho no grupo PCN/MC.

Apesar de se conhecer relativamente bem a relação das patologias do sistema cardiovascular e as alterações no desenvolvimento fetal com o tabagismo materno, não foram encontrados relatos de experimentos que permitem quantificar as alterações ocasionadas pela exposição a poluição por fumaça de tabaco na morfometria do músculo cardíaco.

É possível que as alterações dos parâmetros de medidas de volume citoplasmático e volume celular dos cardiomiócitos da prole de ratas submetidas à poluição por fumaça de tabaco observados na estereologia do presente estudo, possam mimetizar mudanças estruturais que comprometam a homeostase do tecido. Embora os dados tenham sido significativos, há dificuldades na discussão, face a escassez de estudos que quantifiquem ou pontuem parâmetros estereológicos relacionados com o tabaco e assim possam sinalizar padrões visuais que tornem as análises mais reprodutíveis.

O delineamento das modificações na estrutura e função do coração e dos fatores que podem contribuir para reverter essas adaptações que ocorrem com a exposição à poluição por fumaça de tabaco se torna cada vez mais importante, considerando-se que o tabaco pode aumentar drasticamente a prevalência de doenças cardiovasculares⁽⁷⁾. Portanto, justifica-se a importância de mais estudos a acrescentar à literatura novas possibilidades para se aferir de forma mais precisa o grau de lesão produzida nos animais do grupo experimental, com isso facilitando a abertura de novos caminhos para eficácia das ações terapêuticas em doenças cardiovasculares decorrentes da exposição de indivíduos a fumaça de tabaco.

Finalizando, a exposição a poluição por fumaça de tabaco poderia contribuir para a ocorrência de alteração morfológica decorrente do tabagismo, independente de haver uma doença cardiovascular preexistente, como uma tentativa de adaptação à sobrecarga cardíaca podendo evoluir para uma possível hipertrofia muscular. Pode-se sugerir que esta hipertrofia seja característica de um remodelamento cardíaco patológico e desfavorável a função normal do coração.

CONCLUSÃO

Os efeitos da exposição crônica à poluição por fumaça de tabaco das matrizes tabagistas durante o período de prenhez e lactação promoveu alterações morfométricas ao coração da prole.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Varela-Carver A, Parker H, Kleinert C, Rimoldi O. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. *Curr Pharm Des.* 2010; 16(23):2551-8.
2. Gokulakrisnan A, Jayachandran Dare B, Thirunavukkarasu C. Attenuation of the cardiac inflammatory changes and lipid anomalies by (-)-epigallocatechin-gallate in cigarette smoke-exposed rats. *Mol Cell Biochem.* 2011; 354(1-2):1-10.
3. Maritz GS, Mutemwa M. Tobacco smoking: patterns, health consequences for adults, and the long-term health of the offspring. *Glob J Health Sci.* 2012; 4(4):62-75.
4. Valsoni BCG, Bonfim MR, Urban JB, Kodama FY, Camargo RCT, Vanderlei LCM, Camargo Filho JCS. Influência do tabagismo passivo associado ao exercício físico realizado por ratas durante prenhez e lactação, sobre o desenvolvimento dos filhotes. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011; 33(7):150-7.
5. Seraphim PM, Nunes MT, Machado UF. GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 34(10):1353-62.
6. Galão AO, Soder AS, Gerhardt M, Faertes TH, Krüger MS, Pereira DF et al., Efeitos do fumo materno durante a gestação e complicações perinatais. *Rev HCPA.* 2009; 29(3):218-224.

7. Hu N, Han X, Lane EK, Gao F, Zhang Y, Ren J. Cardiac-specific overexpression of metallothionein rescues against cigarette smoking exposure-induced myocardial contractile and mitochondrial damage. [online] PlosOne, 2013;8(2):e57151.
8. Toledo AC, Magalhães RM, Hizume DC, Vieira RP, Biselli PJ, Moriya HT, Mauad T, Lopes FD, Martins MA. Aerobic exercise attenuates pulmonary injury induced by exposure to cigarette smoke. *Eur Respir J*. 2012; 39(2):254-264.
9. Natali AJ, Wilson LA, Peckham M, Turner DL, Harrison SM, White E. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. *J of Physiology*. 2002; 541(3):863-875.
10. Finkelstein I, Bgeginski R, Peikriszwili Tartaruga M, Alberton CL, Kruel LFM. Comportamento da frequência cardíaca e da pressão arterial, ao longo da gestação, com treinamento no meio líquido. *Rev Bras Med Esporte*. 2006; 12(5):376-380.
11. Czekaj P, Pałasz A, Lebda-Wyborny T, Nowaczyk-Dura G, Karczewska W, Florek E et al. Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke. *Int Arch Occup Environ Health*. 2002; 75:S27–S35.
12. Edirisinghe I, Yang S, Yao H, Rajendrasozhan S, Caito S, Adenuga D et al. VEGFR-2 inhibition augments cigarette smoke-induced oxidative stress and inflammatory responses leading to endothelial dysfunction. *The FASEB Journal*. 2008; 22:2297-2310.

13. Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi MP, Cicogna AC, Campana AO. Comportamento de variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro. *Arq Bras Cardiol.* 2003; 81(3):221-4.
14. Castardeli E, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Minicucci MF, Azevedo PS et al. A exposição crônica à fumaça do cigarro resulta em remodelação cardíaca e prejuízo da função ventricular em ratos. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 84(4):320-4.
15. Volpato GT, Damasceno DC, Campos KE, Rocha R, Rudge MVC, Calderon IMP. Avaliação do efeito do exercício físico no metabolismo de ratas diabéticas prenhes. *Rev Bras Med Esporte.* 2006; 12(5):229-233.
16. Águila MB, Apfel MIR, Mandarin-De-Lacerda CA. Comparação morfológica e bioquímica entre ratos envelhecidos alimentados com dieta hiperlipídica e com óleo de canola. *Arq Bras Cardiol.* 1997; 68(3):155-61.
17. Martins MRI, Azoubel R. Efeitos do aspartame no rim fetal de ratos – estudo cariométrico. *J Bras Nefrol.* 2006; 28(3):151-157.
18. Cabanelas LA, Carbonel AAF, Santos MA, Simões RS, Liberatori-Filho AW, Baracat EC, Soares Júnior JM. Morfologia dos cardiomiócitos e quantificação do colágeno no miocárdio de ratas tratadas com isoflavonas ou estrogênios. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012; 34(10):447-452.

19. Moura MA, Pacheco ME, Simões HG, Moraes JF, Campbell CS. Estudo morfoquantitativo da parede da aorta de ratos wistar idosos treinados com exercício aeróbio. *Motricidade*. 2012; 8(4):71-79.
20. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc*. 2003; 75:469-86.
21. Weibel ER, Fleischner Lecture. Looking into the lung: what can it tell us? *AJR Am J Roentgenol*. 1979; 133:1021-31.
22. Müller JS, Antunes M, Behle I, Teixeira L, Zielinsky P. Efeitos agudos do fumo sobre a hemodinâmica da circulação feto-materno-placentária. *Arq Bras Cardiol*. 2002; 78(2):148-151.
23. Kemi OJ, Wisloff U. High-intensity aerobic exercise training improves the heart in health and disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2010; 30(1): 2-11.

Quadro 1 – Grupos experimentais (Matrizes N = 11; Prole N = 42).

Matrizes (M)			
GMC = 5		GMF = 6	
Prole (P)			
Grupo	Descrição	Grupo	Descrição
PCS/MC = 4	Controle sedentário da matriz controle	PCS/MF = 4	Controle sedentário da matriz tabagista
PCN/MC = 6	Controle natação da matriz controle	PCN/MF = 5	Controle natação da matriz tabagista
PFS/MC = 5	Exposto à fumaça de tabaco da matriz controle	PFS/MF = 6	Exposto à fumaça de tabaco da matriz tabagista
PFN/MC = 6	Exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz controle	PFN/MF = 6	Exposto à fumaça de tabaco e natação da matriz tabagista

Tabela 1. Miocárdio de prole controle de matriz controle e de matriz tabagista – estatística descritiva de parâmetros estereológicos.

Grupos / Parâmetros	N	Vvcit	Vvccl	Vvnuc / Vvcit	Nv
Média ± DP					
PCS/MC	4	0,46±0,05	0,54±0,06	0,18±0,03	1,48±0,15
PCS/MF	4	0,41±0,02	0,52±0,02	0,27±0,03	1,32±0,05
P valor		0,104	0,536	0,005*	0,094

Grupos: PCS/MC – prole controle sedentário da matriz controle; PCS/MF – prole controle sedentário da matriz tabagista; N – número total de animais; Vvcit – volume citoplasmático; Vvccl – volume celular; Vvnuc / Vvcit – relação entre volume nuclear e citoplasmático; Nv – densidade celular numérica; *diferença estatística significativa.

Tabela 2. Médias e desvios padrão dos parâmetros estereológicos analisados dos grupos submetidos à exposição à fumaça de tabaco.

Grupos / Parâmetros	N	Vvcit	Vvccl	Vvnuc / Vvcit	Nv
Média ± DP					
PFS/MC	5	0,56±0,06	0,67±0,07	0,21±0,05	1,80±0,19
PFS/MF	6	0,33±0,05	0,46±0,06	0,39±0,11	1,08±0,15
P valor		0,000*	0,000*	0,010*	0,000*

Grupos: PFS/MC – prole exposta à fumaça de tabaco da matriz controle; PFS/MF – prole exposta à fumaça de tabaco da matriz tabagista; N – número total de animais; Vvcit – volume citoplasmático; Vvcel – volume celular; Vvnuc / Vvcit – relação entre volume nuclear e citoplasmático; Nv – densidade celular numérica; *diferença estatística significativa.

Tabela 3. Médias e desvios padrão dos parâmetros estereológicos analisados dos grupos submetidos ao protocolo de natação.

Grupos / Parâmetros	N	Vvcit	Vvcel	Nv
Média ± DP				
PCN/MC	6	0,63±0,11	0,74±0,13	2,06±0,38
PCN/MF	5	0,44±0,09	0,56±0,11	1,41±0,30
P valor		0,014*	0,036*	0,012*

Grupos: PCN/MC – prole natação da matriz controle; PCN/MF – prole natação da matriz tabagista; N – número total de animais; Vvcit – volume citoplasmático; Vvcel – volume celular; Nv – densidade celular numérica; *diferença estatística significativa.

Tabela 4. Relação entre o volume nuclear e o volume citoplasmático de animais submetidos à natação.

	PCN/MC	PCN/MF	p-valor
Med (Vmin-Vmáx)			
Vvnuc / Vvcit	0,18 (0,49-1,21)	0,28 (1,18-1,45)	0,022*

Grupos: PCN/MC – prole natação da matriz controle; PCN/MF – prole natação da matriz tabagista; Vvnuc / Vvcit – relação entre volume nuclear e citoplasmático; *diferença estatística significativa

Tabela 5. Médias e desvios padrão dos parâmetros estereológicos analisados dos grupos submetidos aos protocolos de exposição à fumaça de tabaco e de natação.

Grupos / Parâmetros	N	Vvcit	Vvcel	Vvnuc / Vvcit	Nv
Média ± DP					
PFN/MC	6	0,50±0,03	0,60±0,03	0,21±0,06	1,61±0,11
PFN/MF	6	0,34±0,03	0,45±0,06	0,13±0,09	0,11±0,09
p- valor		0,000*	0,000*	0,017*	0,000*

Grupos: PFN/MC – prole exposta à fumaça de tabaco e natação da matriz controle; PFN/MF – prole exposta à fumaça de tabaco e natação da matriz tabagista; Vvcit– volume citoplasmático; Vvcel – volume celular; Vvnuc / Vvcit – relação entre volume nuclear e citoplasmático; Nv – densidade celular numérica; *diferença estatística significativa

Conclui-se, a partir dos achados que a exposição à poluição por fumaça de tabaco das matrizes durante o período de prenhez e lactação promoveu alterações na forma e tamanho do núcleo da fibra muscular cardíaca da prole provenientes de matriz tabagista.

1. Gokulakrisnan A, Jayachandran Dare B, Thirunavukkarasu C. Attenuation of the cardiac inflammatory changes and lipid anomalies by (-)-epigallocatechin-gallate in cigarette smoke-exposed rats. *Mol Cell Biochem.*2011; 354(1-2):1-10.
2. Kroeff LR, Mengue SS, Schmidt MI, Duncan BB, Favaretto ALF, Nucci LB. Fatores associados ao fumo em gestantes avaliadas em cidades brasileiras. *Rev Saúde Pública.* 2004; 38(2):261-7.
3. Mello PRB, Pinto GR, Botelho C. Influência do tabagismo na fertilidade, gestação e lactação. *J Pediatr (Rio J).* 2001; 77(4):257-64.
4. Kunitomo M, Yamaguchi Y, Kagota S, Yoshikawa N, Nakamura K, Shinozuka K. Biochemical evidence of atherosclerosis progression mediated by increased oxidative stress in apolipoprotein E-deficient spontaneously hyperlipidemic mice exposed to chronic cigarette smoke. *J Pharmacol Sci.* 2009; 110(3):354-61.
5. Varela-Carver A, Parker H, Kleinert C, Rimoldi O. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. *Curr Pharm Des.* 2010; 16(23):2551-8.
6. Barnoya J, Glantz SA. Cardiovascular effects of secondhand smoke: nearly as large as smoking. *Circulation.* 2005; 111(20):2684-98.
7. Lieberman E, Gremy I, Lang JM, Cohen AP. Low birthweight at term and the timing of fetal exposure to maternal smoking. *Am J Public Health.* 1994; 84(7):1127-31.
8. Mello PRB, Okay TS, Botelho C. The effects of exposing rats to cigarette smoke on milk production and growth of offspring. *J Pediatr (Rio J).* 2007; 83(3):267-73.
9. Coleman T. Reducing harm from tobacco smoke exposure during pregnancy. *Birth Defects Res (Part C).*2008; 84:73-9.
10. Czekaj P, Pałasz A, Lebda-Wyborny T, Nowaczyk-Dura G, Karczewska W, Florek E et al. Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke. *Int Arch Occup Environ Health.* 2002; 75:S27–S35.
11. Mello PRB, Okay TS, Botelho C. Influência da exposição à fumaça lateral do

cigarro sobre o ganho de peso e o consumo alimentar de ratas gestantes: análise do peso e do comprimento dos filhotes ao nascimento. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2006; 28(3):143-50.

12. Toledo AC, Magalhães RM, Hizume DC, Vieira RP, Biselli PJ, Moriya HT, Mauad T, Lopes FD, Martins MA. Aerobic exercise attenuates pulmonary injury induced by exposure to cigarette smoke. *Eur Respir J.* 2012; 39(2):254-264.

13. Näslund GK, Fredrikson M, Hellénus ML, de Faire U. Effect of diet and physical exercise intervention programmes on coronary heart disease risk in smoking and non-smoking men in Sweden. *J Epidemiol Community Health.* 1996; 50(2):131-136.

14. Ferrucci L, Izmirlian G, Leveille S, Phillips CL, Corti MC, Brock DB, Guralnik JM. Smoking, physical activity, and active life expectancy. *Am J Epidemiol.* 1999; 149(7):645-653.

15. Lee IM, Rexrode KM, Cook NR, Manson JE, Buring JE. Physical activity and coronary heart disease in women: is “no pain, no gain” passé? *JAMA.* 2001; 285(11):1447-1454.

16. Lee CD, Blair SN. Cardiorespiratory fitness and smoking-related and total cancer mortality in men. *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34(5):735-739.

17. Valsoni BCG, Bonfim MR, Urban JB, Kodama FY, Camargo RCT, Vanderlei LCM, Camargo Filho JCS. Influência do tabagismo passivo associado ao exercício físico realizado por ratas durante prenhez e lactação, sobre o desenvolvimento dos filhotes. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2001; 33(7):150-7.

18. Cavalcante SR, Cecatti JG, Pereira RI, Baciuk EP, Bernardo AL, Silveira C. Water aerobics II: maternal body composition and perinatal outcomes after a program for low risk pregnant women. *Reproductive Health.* 2009; 6(1):1-7.



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e Política](#)
- [Forma e preparação de manuscritos](#)
- [Envio de manuscritos](#)

ISSN 1517-8692 versão impressa

ISSN 1806-9940 versão on-line

Escopo e Política

A Revista Brasileira de Medicina do Esporte (RBME) é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte (SBME), com publicação bimestral. A missão da RBME é disseminar a produção científica nas áreas de ciências do exercício e do esporte, através da publicação de resultados de pesquisas originais e de outras formas de documentos que contribuam para o conhecimento fundamental e aplicado em atividade física, exercício e esporte no âmbito das ciências biológicas e da medicina.

Serão considerados para publicação artigos originais, artigos de opinião, artigos de revisão, relatos de experiência, relatos de casos ou cartas ao editor, sobre assuntos relacionados com as áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. Ser membro da SBME não representa um pré-requisito para publicação na RBME, nem influencia a decisão do Conselho Editorial. Serão aceitos artigos escritos na língua portuguesa e, a critério do Conselho Editorial, autores e grupos estrangeiros poderão publicar artigos escritos em inglês. Todos os artigos serão publicados na íntegra, sendo responsabilidade da RBME a produção das versões estrangeiras.

A RBME adota as regras de preparação de manuscritos da Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997; 126:36-47), cuja última atualização, realizada em 2010, está disponível na internet (<http://www.icmje.org>).

DUPLA SUBMISSÃO

Os artigos submetidos à RBME serão considerados para publicação somente com a condição de que não tenham sido publicados ou não estejam em processo de avaliação para publicação em outro periódico, seja na sua versão integral ou em parte. A RBME não considerará para publicação artigos cujos dados tenham sido disponibilizados na internet para acesso público. Se houver no artigo submetido algum material em figuras ou tabelas já publicado em outro local, a submissão do artigo deverá ser acompanhada de cópia do material original e da permissão por escrito para reprodução do material.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores deverão explicitar, através de formulário próprio (Divulgação de potencial conflito de interesses), qualquer potencial conflito de interesse relacionado ao artigo submetido, conforme determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 102/ 2000) e do Conselho Federal de Medicina (Resolução nº 1.595/2000). Esta exigência visa informar os editores, revisores e leitores sobre relações profissionais e/ou financeiras (como patrocínios e participação societária)

com agentes financeiros relacionados aos produtos farmacêuticos ou equipamentos envolvidos no trabalho, os quais podem teoricamente influenciar as interpretações e conclusões do mesmo. A existência ou não de conflito de interesse declarado estarão ao final de todos os artigos publicados.

BIOÉTICA DE EXPERIMENTOS COM SERES HUMANOS

A realização de experimentos envolvendo seres humanos deve seguir a resolução específica do Conselho Nacional de Saúde (nº 196/96) disponível na internet (<http://conselho.saude.gov.br/docs/Resolucoes/Reso196de96.doc>), incluindo a assinatura de um termo de consentimento informado e a proteção da privacidade dos voluntários.

BIOÉTICA DE EXPERIMENTOS COM ANIMAIS

A realização de experimentos envolvendo animais deve seguir resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

ENSAIOS CLÍNICOS

Os artigos contendo resultados de ensaios clínicos deverão disponibilizar todas as informações necessárias à sua adequada avaliação, conforme previamente estabelecido. Os autores deverão referir-se ao "CONSORT" (www.consort-statement.org).

REVISÃO PELOS PARES

Todos os artigos submetidos serão avaliados, por revisores com experiência e competência profissional na respectiva área do trabalho e que emitirão parecer fundamentado, os quais serão utilizados pelos Editores para decidir sobre a aceitação do mesmo. Os critérios de avaliação dos artigos incluem: originalidade, contribuição para corpo de conhecimento da área, adequação metodológica, clareza e atualidade. Considerando o crescente número de submissões à RBME, artigos serão também avaliados quanto à sua relevância no que tange à contribuição para o conhecimento específico na área. Assim, artigos com adequação metodológica e resultados condizentes poderão não ser aceitos para publicação quando julgados como de baixa relevância pelos Editores. Tal decisão de recusa não estará sujeita a recurso ou contestação por parte dos autores. Os artigos aceitos para publicação poderão sofrer revisões editoriais para facilitar sua clareza e entendimento sem alterar seu conteúdo.

CORREÇÃO DE PROVAS GRÁFICAS

Logo que prontas, as provas gráficas (layout) em formato eletrônico serão enviadas, por e-mail, para o autor responsável pelo artigo. Os autores deverão devolver, também por e-mail, a prova gráfica (layout) com as devidas correções em, no máximo, 48 horas após o seu recebimento. O envio e o retorno das provas gráficas por correio eletrônico visa agilizar o processo de revisão e posterior publicação das mesmas.

DIREITOS AUTORAIS

Todas as declarações publicadas nos artigos são de inteira responsabilidade dos autores. Entretanto, todo material publicado torna-se propriedade da SBME, que

passa a reservar os direitos autorais. Portanto, nenhum material publicado na RBME poderá ser reproduzido sem a permissão por escrito da SBME. Todos os autores de artigos submetidos à RBME deverão assinar um Termo de Transferência de Direitos Autorais (a seguir), que entrará em vigor a partir da data de aceite do trabalho. O autor responsável pelo artigo receberá, sem custos, a separata eletrônica da publicação (em formato PDF).

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Revista Brasileira de Medicina do Esporte - SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO EXERCÍCIO E DO ESPORTE - Avenida Brigadeiro Luis Antônio, 278 - 6º andar - 01318-901 - São Paulo, SP - Tel./fax: (11) 3106 7544 / Fax: (11) 3106 8611 - E-mail: sbme@medicinadoesporte.org.br

Forma e preparação de manuscritos

O artigo submetido deve ser digitado em espaço duplo, fonte arial 12, papel tamanho A4 ou ofício, com margens de 2,5cm, sem numerar linhas ou parágrafos, e numerando as páginas no canto superior direito. Gráficos e tabelas devem ser apresentados no final do artigo em páginas separadas, assim como as legendas das figuras. As figuras devem ser incluídas em arquivos individuais. No corpo do texto deve-se informar os locais para inserção dos gráficos, tabelas ou figuras. Os manuscritos que não estiverem de acordo com as instruções a seguir em relação ao estilo e formato serão devolvidos sem revisão pelo Conselho Editorial.

FORMATO DOS ARQUIVOS

◆ Para o texto, usar editor de texto do tipo Microsoft Word para Windows ou equivalente

◆ Não enviar arquivos em formato PDF ◆ As figuras deverão estar nos formatos jpg ou tif. Deverão estar incluídas no arquivo Word, mas também devem ser enviadas separadamente (anexadas durante a submissão do artigo como documento suplementar).

ARTIGO ORIGINAL

Um artigo original deve conter no máximo 30 (trinta) referências e 20 (vinte) páginas incluindo referências, figuras e tabelas, e ser estruturado com os seguintes itens, cada um começando por uma página diferente:

Página título: deve conter (1) o título do artigo, que deve ser objetivo, mas informativo; (2) nomes completos dos autores; áreas de formação dos autores; instituição(ões) de origem, com cidade, estado e país, se fora do Brasil; (3) nome do autor correspondente, com endereço completo e e-mail. A titulação dos autores não deve ser in-cluída.

Resumo: deve conter (1) o resumo em português, com não mais do que 300 palavras, estruturado de forma a conter: introdução e objetivo, métodos, resultados e conclusão; (2) três a cinco palavras-chave, que não constem no título do artigo. Usar obrigatoriamente termos do *Medical Subject-Headings, do Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>); (3) o resumo em inglês (abstract), representando a versão do resumo para a língua inglesa; (4) três a cinco palavras-chave em inglês (keywords).

Introdução: deve conter (1) justificativa objetiva para o estudo, com referências

pertinentes ao assunto, sem realizar uma revisão extensa; (2) objetivo do artigo.

Métodos: deve conter (1) descrição clara da amostra utilizada; (2) termo de consentimento para estudos experimentais envolvendo humanos; (3) identificação dos métodos, aparelhos (fabricantes e endereço entre parênteses) e procedimentos utilizados de modo suficientemente detalhado, de forma a permitir a reprodução dos resultados pelos leitores; (4) descrição breve e referências de métodos publicados, mas não amplamente conhecidos; (5) descrição de métodos novos ou modificados; (6) quando pertinente, incluir a análise estatística utilizada, bem como os programas utilizados. No texto, números menores que 10 são escritos por extenso, enquanto que números de 10 em diante são expressos em algarismos arábicos.

Resultados: deve conter (1) apresentação dos resultados em sequência lógica, em forma de texto, tabelas e ilustrações; evitar repetição excessiva de dados em tabelas ou ilustrações e no texto; (2) enfatizar somente observações importantes.

Discussão: deve conter (1) ênfase nos aspectos originais e importantes do estudo, evitando repetir em detalhes dados já apresentados na Introdução e nos Resultados; (2) relevância e limitações dos achados, confrontando com os dados da literatura, incluindo implicações para futuros estudos; (3) ligação das conclusões com os objetivos do estudo; (4) conclusões que podem ser tiradas a partir do estudo; recomendações podem ser incluídas, quando relevantes.

Agradecimentos: deve conter (1) contribuições que justificam agradecimentos, mas não autoria; (2) fontes de financiamento e apoio de uma forma geral. Referências: as referências bibliográficas devem ser numeradas na sequência em que aparecem no texto, em formato sobrescrito entre parênteses. As referências citadas somente em legendas de tabelas ou figuras devem ser numeradas de acordo com uma sequência estabelecida pela primeira menção da tabela ou da figura no texto.

O estilo das referências bibliográficas deve seguir as regras do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (International Committee of Medical Journal Editors. *Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*. Ann Intern Med 1997;126:36-47; <http://www.icmje.org>). Alguns exemplos mais comuns são mostrados abaixo. Para os casos não mostrados aqui, consultar a referência acima. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *Index Medicus* (*List of Journals Indexed*: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>). Se o periódico não constar dessa lista, deve-se utilizar a abreviatura sugerida pelo próprio periódico. Deve-se evitar utilizar "comunicações pessoais" ou "observações não publicadas" como referências. Um resumo apresentado deve ser utilizado somente se for a única fonte de informação.

Exemplos:

1) Artigo padrão em periódico (deve-se listar todos os autores; se o número ultrapassar seis, colocar os seis primeiros, seguidos por et al): You CH, Lee KY, Chey RY, Mrnguy R. Electrocardiographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4. Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2) Autor institucional: The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-

hepatitis marrow aplasia. Lancet 1977;2:742-4.

3) Livro com autor(es) responsáveis por todo o conteúdo: Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2 nd rev. ed. London: S. Paul, 1986.

4) Livro com editor(es) como autor(es): Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlag, 1988.

5) Capítulo de livro: Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974;457-72.

TABELAS

As tabelas devem ser elaboradas em espaço 1,5, devendo ser planejadas para ter como largura uma (8,7cm) ou duas colunas (18cm). Cada tabela deve possuir um título sucinto; itens explicativos devem estar ao pé da tabela. A tabela deve conter médias e medidas de dispersão (DP, EPM etc.), não devendo conter casas decimais irrelevantes. As abreviaturas devem estar de acordo com as utilizadas no texto e nas figuras. Os códigos de identificação de itens da tabela devem estar listados na ordem de surgimento no sentido horizontal e devem ser identificados pelos símbolos padrão.

FIGURAS

Serão aceitas fotos ou figuras em preto-e-branco. Figuras coloridas poderão ser publicadas quando forem essenciais para o conteúdo científico do artigo. Nestes casos, os custos serão arcados pelos autores. Para detalhes sobre ilustrações coloridas, solicitamos contactar diretamente a Atha Editora (atharbme@uol.com.br). Figuras coloridas poderão ser incluídas na versão eletrônica do artigo sem custo adicional para os autores. Os desenhos das figuras devem ser consistentes e tão simples quanto possível. Não utilizar tons de cinza. Todas as linhas devem ser sólidas. Para gráficos de barra, por exemplo, utilizar barras brancas, pretas, com linhas diagonais nas duas direções, linhas em xadrez, linhas horizontais e verticais. A RBME desestimula fortemente o envio de fotografias de equipamentos e animais. As figuras devem ser impressas com bom contraste e largura de uma coluna (8,7cm) no total. Utilizar fontes de no mínimo 10 pontos para letras, números e símbolos, com espaçamento e alinhamento adequados. Quando a figura representar uma radiografia ou fotografia sugerimos incluir a escala de tamanho quando pertinente.

ARTIGOS DE REVISÃO

Os artigos de revisão são habitualmente encomendados pelo Editor a autores com experiência comprovada na área. Artigos de revisão deverão abordar temas específicos com o objetivo de atualizar os menos familiarizados com assuntos, tópicos ou questões específicas nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido e o comprovado destaque dos autores na área específica abordada. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de revisão deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

REVISÃO SISTEMÁTICA

A RBME encoraja os autores a submeterem artigos de revisão sistemática da literatura nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca e os critérios para inclusão dos artigos. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de revisão sistemática deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

META-ANÁLISE

A RBME encoraja os autores a submeterem artigos de análise meta-analítica nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca de artigos, os critérios para inclusão dos artigos e o tratamento estatístico utilizado. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de meta-análise deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

ARTIGOS DE OPINIÃO

Serão encomendados pelo Conselho Editorial a indivíduos de notório saber nas áreas de Medicina do Exercício e do Esporte e das Ciências do Esporte, que emitirão sua opinião pessoal sobre assuntos de particular interesse. O artigo de opinião deve ter, no máximo, 20 (vinte) páginas e 20 (vinte) referências.

RELATOS DE EXPERIÊNCIA

A RBME estimula profissionais que possuam uma experiência relevante em algum aspecto especial, original ou inovador em Medicina do Exercício e do Esporte ou das Ciências do Esporte a partilhá-la, sob a forma de um Relato de Experiência. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O relato de experiência deve ter, no máximo, 15 (quinze) páginas e 15 (quinze) referências.

RELATO DE CASO

A RBME pode aceitar artigos de relato de caso, descrevendo casos clínicos específicos que tragam informações relevantes e ilustrativas sobre diagnóstico ou tratamento de um caso particular que seja raro na Medicina do Exercício e do Esporte. Os artigos devem ser objetivos e precisos, contendo os seguintes itens: 1) Um Resumo e um Abstract contendo as implicações clínicas; 2) Uma Introdução com comentários sobre o problema clínico que será abordado, utilizando o caso como exemplo. É importante documentar a concordância do paciente em utilizar os seus dados clínicos; 3) Um Relato objetivo contendo a história, o exame físico e os achados de exames complementares, bem como o tratamento e o acompanhamento; 4) Uma Discussão explicando em detalhes as implicações clínicas do caso em questão, e confrontando com dados da literatura, incluindo casos semelhantes relatados na literatura; 5) Referências bibliográficas. O relato de caso deve ter, no máximo, 20 (vinte) páginas e 30 (trinta) referências.

CARTA AO EDITOR

Cartas endereçadas ao Editor-Chefe da RBME serão consideradas para publicação se

promoverem discussão intelectual sobre um determinado artigo recentemente publicado. As cartas devem conter um título informativo e seguir as instruções acima para publicação. As cartas devem ter não mais do que 500 palavras. Se aceita, uma cópia será enviada ao autor do artigo original que suscitou a discussão, com um convite para submeter uma réplica que será publicada junto com a carta.

LIVROS PARA REVISÃO

A RBME estimula as editoras a submeterem livros para apreciação pelo Conselho Editorial. Devem ser enviadas duas cópias do livro ao Editor-Chefe (vide o endereço acima), as quais não serão devolvidas. O envio dos livros não garante a sua apreciação. Contudo, os livros recebidos e não apreciados serão listados no último número de cada ano da Revista. Os livros selecionados para apreciação serão encaminhados para revisores com experiência e competência profissional na respectiva área do livro, cujos pareceres deverão ser emitidos em até três meses e poderão ser adaptados pelos Editores da Revista, sem qualquer interferência das editoras dos livros apreciados. O resultado da apreciação será publicado na Revista juntamente com as informações editoriais do livro.

Envio de manuscritos

Todos os artigos deverão ser submetidos diretamente no site <http://submission.scielo.br/index.php/rbme>. Na submissão eletrônica do artigo, os autores deverão anexar como Documento Suplementar:

- Termo de Divulgação de Potencial Conflito de Interesses
- Termo de Transferência de Direitos Autorais (a seguir) Não serão aceitas submissões por e-mail, correios ou quaisquer outras vias que não a submissão eletrônica no site supramencionado.



ISSN 0100-7203 versão impressa

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e política](#)
- [Forma e preparação de manuscritos](#)
- [Envio de manuscritos](#)
- [Envio dos manuscritos](#)
- [Itens para a conferência do manuscrito](#)

Escopo e política

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Rev Bras Ginecol Obstet., ISSN 0100 7203), publicação mensal de divulgação científica da Federação das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (Febrasgo), é dirigida a obstetras, ginecologistas e profissionais de áreas afins, com o propósito de publicar contribuições originais sobre temas relevantes no campo da Ginecologia, Obstetrícia e áreas correlatas. É aberta a contribuições nacionais e internacionais. A revista aceita e publica trabalhos em português, inglês e espanhol.

O material enviado para análise não pode ter sido submetido simultaneamente à publicação em outras revistas nem publicado anteriormente. Na seleção dos manuscritos para publicação, são avaliadas originalidade, relevância do tema e qualidade da metodologia utilizada, além da adequação às normas editoriais adotadas pela revista. O material publicado passa a ser propriedade da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia e da Febrasgo, só podendo ser reproduzido, total ou parcialmente, com a anuência dessas entidades.

Os manuscritos submetidos à revista são analisados por pareceristas e o sigilo sobre a autoria e a identidade dos revisores é garantido durante todo o processo de edição. Os pareceres dos revisores e as instruções do editor serão enviados para os autores para que eles tomem conhecimento das alterações a serem introduzidas. Os autores devem reenviar o texto com as modificações solicitadas assim que possível, devendo justificar, na carta de encaminhamento, se for o caso, o motivo do não atendimento de alguma sugestão para modificação. Não havendo retorno do trabalho após três meses, presume-se que os autores não têm mais interesse na publicação. Os autores podem solicitar em qualquer ponto do processo de análise e edição do texto a sustação do processo e a retirada do trabalho. Os conceitos e as declarações contidos nos artigos são de responsabilidade dos autores.

A revista publica contribuições nas seguintes categorias:

1. Artigos Originais, trabalhos completos prospectivos, experimentais ou retrospectivos. Manuscritos contendo

resultados de pesquisa clínica ou experimental original têm prioridade para publicação.

2. Relatos de Casos, de grande interesse e bem documentados, do ponto de vista clínico e laboratorial. Os autores deverão indicar na carta de encaminhamento os aspectos novos ou inesperados em relação aos casos já publicados. O texto das seções Introdução e Discussão deve ser baseado em revisão bibliográfica atualizada. O número de referências pode ser igual ao dos trabalhos completos.
3. Técnicas e Equipamentos, para apresentação de inovações em diagnóstico, técnicas cirúrgicas e tratamentos, desde que não sejam, clara ou veladamente, propaganda de drogas ou outros produtos. Valem para essa categoria todas as normas aplicadas para trabalhos completos.
4. Artigos de Revisão, incluindo avaliação crítica e sistematizada da literatura, meta-análises ou revisões sistemáticas. A seleção dos temas e o convite aos autores têm como base planejamento estabelecido pela editoria. Contribuições espontâneas podem ser aceitas. Nesse caso, devem ser enviados inicialmente um resumo ou roteiro do texto, a lista de autores e as respectivas publicações sobre o tema. Se houver interesse da revista, será enviado convite para apresentação do texto definitivo. Todos os autores devem ter publicações em periódicos regulares, indexados sobre o tema da revisão. O número de autores é limitado a quatro, dependendo do tipo de texto e da metodologia empregada. Devem ser descritos os métodos e procedimentos adotados para a obtenção do texto, que deve ter como base referências recentes, inclusive do ano em curso. Tratando-se de tema ainda sujeito a controvérsias, a revisão deve discutir as tendências e as linhas de investigação em curso. Apresentar, além do texto da revisão, resumo, abstract e conclusões. Ver a seção "Preparo do manuscrito" para informações quanto ao texto principal, página de rosto, resumo e abstract;
5. Comentários Editoriais, solicitados pelo editor;
6. Resumos de Teses apresentadas e aprovadas nos últimos 12 meses, contados da data de envio do resumo. Devem conter, aproximadamente, 300 palavras e, para serem aceitos, devem seguir as normas da revista quanto à estruturação, à forma e ao conteúdo. Incluir título em português e inglês e, no mínimo, três palavras ou expressões-chave. Não há revisão do texto dos Resumos de Teses. No arquivo enviado, informar: nome completo do autor e do orientador; membros da banca; data de apresentação e

a identificação do serviço ou departamento onde a tese foi desenvolvida e apresentada. Lembramos que a publicação do resumo não impede a posterior publicação do trabalho completo em qualquer periódico.

7. Cartas dos Leitores para o Editor, versando sobre matéria editorial ou não, mas com apresentação de informações relevantes ao leitor. As cartas podem ser resumidas pela editoria, mas com manutenção dos pontos principais. No caso de críticas a trabalhos publicados, a carta é enviada aos autores para que sua resposta possa ser publicada simultaneamente.

Forma e preparação de manuscritos

Informações gerais

1. A revista não aceita material editorial com objetivos comerciais.
2. Conflito de interesses: devem ser mencionadas as situações que podem influenciar de forma inadequada o desenvolvimento ou as conclusões do trabalho. Entre essas situações, menciona-se a participação societária nas empresas produtoras das drogas ou dos equipamentos citados ou utilizados no trabalho, assim como em concorrentes da mesma. São também consideradas fontes de conflito os auxílios recebidos, as relações de subordinação no trabalho, as consultorias etc.
3. No texto, deve ser mencionada a submissão e a aprovação do estudo por um Comitê de Ética em Pesquisa reconhecido pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).
4. Artigo que trate de pesquisa clínica com seres humanos deve incluir a declaração, na seção Métodos, de que os sujeitos do estudo assinaram o termo de consentimento livre e informado. Os autores devem informar, também, que a pesquisa foi conduzida de acordo com a Declaração de Helsinque revisada em 2008.
5. No caso de trabalhos envolvendo experimentação animal, os autores devem indicar na seção Métodos que foram seguidas as normas contidas no CIOMS (Council for International Organization of Medical Sciences) Ethical Code for Animal Experimentation (WHO Chronicle 1985; 39(2):51-6) e os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA (www.cobea.org.br).
6. Todos os ensaios controlados aleatórios (randomized controlled trials) e clínicos (clinical trials) submetidos à publicação devem ter o registro em uma base de dados de ensaios clínicos. Essa é uma orientação da Plataforma

Internacional para Registros de Ensaios Clínicos (ICTRP) da Organização Mundial da Saúde (OMS), e do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). As instruções para o registro estão disponíveis no endereço eletrônico do ICMJE

(http://www.icmje.org/clin_trialup.htm) e o registro pode ser feito na base de dados de ensaios clínicos da National Library of Medicine, disponível em <http://clinicaltrials.gov/ct/gui>.

7. O número de autores de trabalhos completos e relatos de casos é limitado a sete. Trabalhos de autoria coletiva (institucionais) devem ter os responsáveis especificados. Trabalhos e estudos multicêntricos podem ter número de autores compatível com o número de centros (cada situação será avaliada pela editoria e pelos revisores). Os investigadores responsáveis pelos protocolos aplicados devem ser especificados. Todos os autores devem ter conhecimento do texto enviado para a revista.
8. O conceito de coautoria é baseado na contribuição de cada um, para a concepção e planejamento do trabalho, análise e interpretação dos dados, para a redação ou revisão crítica do texto. A inclusão de nomes cuja contribuição não se enquadre nos critérios citados ou que tenham fornecido apenas suporte material não é justificável.
9. Os autores serão informados, por correspondência eletrônica, do recebimento dos trabalhos. Os trabalhos que estiverem de acordo com as Instruções aos Autores e se enquadram na política editorial da revista serão enviados para análise por revisores indicados pelo editor. Os originais em desacordo com os objetivos da revista ou com essas instruções são devolvidos aos autores para as adaptações necessárias antes da avaliação pelo Conselho Editorial ou recusados sem análise por revisores.
10. Junto dos arquivos originais, deve ser enviada uma carta de encaminhamento, na qual deve ficar explícita a concordância com as normas editoriais, com o processo de revisão e com a transferência de copyright para a revista.
11. Para manuscritos originais, não ultrapassar 25 páginas de texto digitado ou aproximadamente 30.000 caracteres. Limitar o número de tabelas e figuras ao necessário para apresentação dos resultados que são discutidos (como norma geral, limitar a cinco). Para manuscritos do tipo Relato de Caso, não ultrapassar 15 páginas de texto ou 18.000 caracteres (ver "Preparo do manuscrito", "Resultados").
12. O trabalho deve ser enviado pelo sistema de submissão online no portal SciELO. O endereço eletrônico de todos os autores deve ser fornecido. Desta forma, os coautores receberão informação sobre a submissão do trabalho e, assim, não será necessária a assinatura de todos na carta de encaminhamento. O endereço eletrônico para

correspondência com a revista é rbgo@fmrp.usp.br. O arquivo correspondente ao trabalho deve ser único e deve conter texto, referências, tabelas e figuras.

Preparo dos manuscritos

As normas que seguem foram baseadas no formato proposto pelo ICMJE e publicado no artigo "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", atualizado em Outubro de 2008 e disponível no endereço eletrônico: <http://www.icmje.org/>.

Apresentação do texto

1. Os trabalhos devem ser digitados em espaço 2 em todas as seções, da página de rosto às referências bibliográficas, tabelas e legendas. Cada página deve conter aproximadamente 25 linhas em uma coluna. Usar preferencialmente o processador de texto Microsoft Word® e a fonte Times New Roman 12. Não dar destaque a trechos do texto: não sublinhar ou usar negrito. Numerar todas as páginas, iniciando pela de rosto.
2. Não usar maiúsculas nos nomes próprios (a não ser a primeira letra) no texto ou nas referências bibliográficas. Não utilizar pontos nas siglas (DPP em vez de D.P.P.). Quando usar siglas ou abreviaturas, descrevê-las por extenso na primeira vez que mencionadas no texto. Iniciar cada seção em uma nova página: página de rosto; resumo e palavras ou expressões-chave; abstract e keywords; texto; agradecimentos; referências; tabelas individuais e legendas das figuras.

Página de rosto

Apresentar o título do trabalho em português e em inglês; nomes completos dos autores sem abreviaturas; endereços eletrônicos válidos de todos os autores (opcional, em substituição à carta de encaminhamento); nome da instituição onde o trabalho foi desenvolvido; afiliação institucional dos autores; informações sobre auxílios recebidos sob forma de bolsas de estudos, financiamento, fornecimento de drogas, reagentes ou equipamentos. Obrigatoriamente deve ser fornecido o endereço da instituição onde o trabalho foi desenvolvido, o qual é publicado na página inicial do trabalho. Devem ser indicados nome, endereço, telefone/fax e e-mail do autor para o qual a correspondência deve ser enviada. Essas informações pessoais são empregadas apenas para correspondência com a revista e somente são publicadas se houver pedido do(s) autor(es).

Resumo

O resumo do trabalho deve aparecer na segunda página. Para trabalhos completos, redigir um resumo estruturado, que deve ser dividido em seções identificadas: objetivo, métodos, resultados e conclusões. Deve ter aproximadamente 300 palavras. O resumo deve conter as informações relevantes, permitindo que o leitor tenha uma ideia geral do trabalho. Deve incluir descrição resumida de todos os métodos empregados e da análise estatística efetuada. Expor os resultados numéricos mais relevantes, e não apenas indicação de significância estatística. As conclusões devem ser baseadas nos resultados do trabalho e não da literatura. Evitar o uso de abreviações e símbolos. Não citar referências bibliográficas no resumo.

Abaixo do texto do resumo indicar o número de registro e/ou identificação para os ensaios controlados aleatórios e ensaios clínicos (ver item 5 das "Informações Gerais").

Na mesma página do resumo, citar pelo menos três palavras ou expressões-chave que serão empregadas para compor o índice anual da revista. Devem ser baseadas nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) publicado pela Bireme, que é uma tradução do Medical Subject Headings (MeSH) da National Library of Medicine e está disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>.

O abstract deve ser versão fiel do texto do resumo estruturado (purpose, methods, results e conclusions). Deve ser também acompanhado da versão para o inglês das palavras ou expressões-chave (keywords). O resumo e o abstract dos Relatos de Casos e dos Artigos de Revisão e de Atualização não devem ser estruturados e são limitados a 150 palavras.

Introdução

Repetir, na primeira página da introdução, o título completo em português e inglês. Nessa seção, mostre a situação atual dos conhecimentos sobre o tópico em estudo, divergências e lacunas que possam eventualmente justificar o desenvolvimento do trabalho, mas sem revisão extensa da literatura. Para Relatos de Casos, apresentar um resumo dos casos já publicados, epidemiologia da condição relatada e uma justificativa para a apresentação como caso isolado. Expor claramente os objetivos do trabalho.

Métodos

Iniciar essa seção indicando o planejamento do trabalho: se prospectivo ou retrospectivo; ensaio clínico ou experimental; se a distribuição dos casos foi aleatória ou não etc. Descrever os critérios para seleção das pacientes ou Grupo Experimental, inclusive dos

Controles. Identificar os equipamentos e reagentes empregados (fabricante, cidade e país). Se a metodologia aplicada já tiver sido empregada, indicar as referências, além da descrição resumida do método. Descrever também os métodos estatísticos empregados e as comparações para as quais cada teste foi empregado. Os trabalhos que apresentam como objetivo a avaliação da eficácia ou a tolerabilidade de tratamentos ou drogas devem, necessariamente, incluir Grupo Controle adequado. Para informações adicionais sobre o desenho de trabalhos desse tipo, consultar ICH Harmonized Tripartite Guideline - Choice of Control Group and Related Issues in Clinical Trials (http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt/e10_e.html). Ver também itens 4 e 5 das "Informações Gerais".

Resultados

Apresentar os resultados em sequência lógica, no texto, nas tabelas e nas figuras. Expor os resultados relevantes para o objetivo do trabalho e que são discutidos. Não repetir no texto dessa seção todos os dados das tabelas e figuras, mas descrever e enfatizar os mais importantes, sem interpretação dos mesmos (ver também "Tabelas"). Nos Relatos de Casos, as seções "Métodos" e "Resultados" são substituídas pela "Descrição do caso", mantendo-se as demais.

Discussão

Devem ser realçadas as informações novas e originais obtidas na investigação. Não repetir dados e informações já mencionados nas seções "Introdução" e "Resultados". Evitar citação de tabelas e figuras. Ressaltar a adequação dos métodos empregados na investigação. Comparar e relacionar suas observações com as de outros autores, comentando e explicando as diferenças. Explicar as implicações dos achados, suas limitações e fazer as recomendações decorrentes. Para Relatos de Casos, basear a discussão em ampla e atualizada revisão da literatura. As informações sobre os casos já publicados podem ser tabuladas e exibidas nessa seção para comparações.

Agradecimentos

Dirigidos a pessoas que tenham colaborado intelectualmente, mas cuja contribuição não justifica coautoria, ou para aquelas que tenham provido apoio material.

Referências

Todos os autores e trabalhos citados no texto devem constar dessa seção e vice-versa. Numerar as referências bibliográficas por ordem de entrada no trabalho e usar esses números para as citações no

texto. Evitar número excessivo de referências, selecionando as mais relevantes para cada afirmação e dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregar citações de difícil acesso, como resumos de trabalhos apresentados em congressos, teses ou publicações de circulação restrita (não indexados). Não empregar referências do tipo "observações não publicadas" e "comunicação pessoal". Artigos aceitos para publicação podem ser citados acompanhados da expressão: "aceito e aguardando publicação" ou "in press", indicando-se periódico, volume e ano. Trabalhos aceitos por periódicos que estejam disponíveis online, mas sem indicação de fascículos e páginas, devem ser citados como "ahead of print". Outras publicações dos autores (autocitação) devem ser empregadas apenas se houver necessidade clara e forem relacionadas ao tema. Nesse caso, incluir entre as referências bibliográficas apenas trabalhos originais publicados em periódicos regulares (não citar capítulos ou revisões).

O número de referências bibliográficas deve ser aproximadamente 35. Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências bibliográficas.

Para todas as referências, citar os autores até o sexto. Se houver mais de seis autores, citar os seis primeiros, seguidos da expressão et al., conforme os seguintes modelos:

Formato impresso

- Artigos em revistas

Ceccarelli F, Barberi S, Pontesilli A, Zanca S, Ranieri E. Ovarian carcinoma presenting with axillary lymph node metastasis: a case report. Eur J Gynaecol Oncol. 2011;32(2):237-9.

Jiang Y, Brassard P, Severini A, Galeski V, Santos M, Leamon A, et al. Type-specific prevalence of Human Papillomavirus infection among women in the Northwest Territories, Canada. J Infect Public Health. 2011;4(5-6):219-27.

- Artigos com título em inglês e texto em português ou outra língua

Utilizar o título em inglês, entre colchetes e no final da referência, indicar a língua na qual o artigo foi publicado.

Prado DS, Santos DL. [Contraception in users of the public and private sectors of health]. Rev Bras Ginecol Obstet. 2011;33(7):143-9. Portuguese.

Taketani Y, Mizuno M. [Application of anti-progesterone agents for contraception]. *Rinsho Fujinka Sanka*. 1988;42(11):997-1000. Japanese.

- Livro

Baggish MS, Karam MM. Atlas of pelvic anatomy and gynecologic surgery. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2006.

- Capítulos de livro

Picciano MF. Pregnancy and lactation. In: Ziegler EE, Filer LJ, editors. Present knowledge in nutrition. Washington (DC): ILSI Press; 1996. p. 384-95.

Formato eletrônico

Apenas para informações estatísticas oficiais e citação de referências de periódicos não impressos. Para estatísticas oficiais, indicar a entidade responsável, o endereço eletrônico, o nome do arquivo ou entrada. Incluir o número de tela, data e hora do acesso. Termos como "serial", "periódico", "homepage" e "monography", por exemplo, não são mais utilizados. Todos os documentos devem ser indicados apenas como [Internet]. Para documentos eletrônicos com o identificador DOI (Digital Object Identifier), este deve ser mencionado no final da referência, além das informações que seguem:

Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS [Internet]. Informações de Saúde. Estatísticas vitais. Mortalidade e nascidos vivos: nascidos vivos desde 1994. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2008. [citado 2007 Fev 7]. Disponível em:
<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinasc/cnv/nvuf.def>>.

- Monograph on the Internet or e-book

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available at:
<http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

Tabelas

Apresentar as tabelas em páginas separadas, com espaço duplo e preferencialmente fonte Arial 8. A numeração deve ser sequencial, em algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. Todas as tabelas devem ter título e todas as colunas da tabela devem ser identificadas com um cabeçalho. A legenda deve conter informações que permitam ao leitor entender o conteúdo das tabelas

e figuras, mesmo sem a leitura do texto do trabalho. As linhas horizontais devem ser simples e limitadas a duas no topo e uma no final da tabela. Não empregar linhas verticais. Não usar funções de criação de tabelas, comandos de justificação, tabulações decimais ou centralizadas. Utilizar comandos de tabulação (tab) e não o espaçador para separar as colunas e, para nova linha, a tecla enter. No rodapé da tabela, deve constar legenda para abreviaturas e testes estatísticos utilizados.

Figuras (gráficos, fotografias e ilustrações)

As figuras devem ser apresentadas em páginas separadas e numeradas sequencialmente, em algarismos arábicos, conforme a ordem de aparecimento no texto. Todas as figuras devem ter qualidade gráfica adequada e apresentar título e legenda. Para evitar problemas que comprometam o padrão da revista, o processo de digitalização de imagens (scan) deve obedecer aos seguintes parâmetros: para gráficos ou esquemas, usar 300 dpi/bitmap para traço; para ilustrações e fotos (preto e branco), usar 300 dpi/RGB ou grayscale. Em todos os casos, os arquivos devem ter extensão .tif e/ou .jpg. Também são aceitos arquivos com extensão .xls (Excel), .eps, .psd para ilustrações em curva (gráficos, desenhos e esquemas). São aceitas, no máximo, cinco figuras. Se as figuras já tiverem sido publicadas, devem vir acompanhadas de autorização por escrito do autor/editor e constando a fonte na legenda da ilustração.

Legendas

Digitar as legendas usando espaço duplo, acompanhando as respectivas figuras (gráficos, fotografias e ilustrações). Cada legenda deve ser numerada em algarismos arábicos, correspondendo a cada figura, e na ordem em que foram citadas no trabalho.

Abreviaturas e siglas

Devem ser precedidas do nome completo quando citadas pela primeira vez no texto. Nas legendas das tabelas e figuras, devem ser acompanhadas de seu nome por extenso. As abreviaturas e as siglas não devem ser usadas no título dos artigos e nem no resumo.

Envio dos manuscritos

O trabalho deve ser enviado pelo sistema de submissão online no portal SciELO

<http://submission.scielo.br/index.php/rbgo/login>.

Outras correspondências deverão ser enviadas para:

Jurandyr Moreira de Andrade

Editor

Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia - Editoria -
Avenida Bandeirantes, 3.900, 8º andar - Campus Universitário
- CEP 14049-900 - Ribeirão Preto (SP) - Fone: (16) 3602-
2803 - Fax: (16) 3633-0946 - E-mail: rbgo@fmrp.usp.br.

Itens para a conferência do manuscrito

Antes de enviar o manuscrito, conferir se as Instruções aos Autores foram seguidas e verificar o atendimento dos itens listados a seguir:

1. carta de encaminhamento assinada por todos os autores (escaneada e anexada como documento suplementar ou enviada pelo correio) ou informação dos endereços eletrônicos válidos de todos os autores na página de rosto;
2. citação da aprovação do projeto do trabalho por Comissão de Ética em Pesquisa, assinatura do termo de consentimento livre e informado (na seção "Métodos") e informação sobre o atendimento das exigências para pesquisa em animais;
3. número ou código do registro do estudo, se necessário, na página de rosto (item 5 das "Informações Gerais");
4. conflito de interesses: informar se há ou não. Se houver, explicar sem omissão de informações relevantes;
5. página de rosto com todas as informações solicitadas;
6. resumo e abstract estruturados e compatíveis com o texto do trabalho;
7. três ou mais palavras-chave relacionadas ao texto e respectivas keywords baseadas no Decs;
8. verificar se todas as tabelas e figuras estão corretamente citadas no texto e numeradas, e se as legendas permitem o entendimento das mesmas;
9. referências bibliográficas: numeradas na ordem de aparecimento e corretamente digitadas. Verificar se todos os trabalhos citados estão na lista de referências e se todos os listados estão citados no texto.



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

**Av. das Américas, 8445, sala711 - Barra da Tijuca
22793-081 - Rio de Janeiro RJ - Brasil
Tel.: (55 21) 2487-6336
Fax: (55 21) 2429-5133**



publicações@febrasgo.org.br

Protocolo nº. 06/2011**Interessado:** Comissão de Ética no Uso de Animais**Assunto:** Parecer do Projeto de Pesquisa intitulado “Efeitos do exercício físico sobre os tecidos de ratos wistar expostos à fumaça de cigarro”, orientado pelo Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho.**PARECER**

Após a leitura do Projeto supramencionado, exponho meu parecer em cinco critérios que julgo essenciais, pautado pelos princípios éticos na experimentação animal editados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) em junho de 1991 (<http://www.ceunes.ufes.br/downloads/32/cep-PRINCIPIOS%20%C3%89TICOS%20NA%20EXPRIMENTA%C3%87%C3%83O%20ANIMAL%20COBEA.PDF>):

1. Espécie e qualidade apropriadas de animais utilizados: ratos da linhagem wistar, machos e fêmeas e em idade reprodutiva, e seus descendentes, acompanhados desde a concepção até o desmame.
2. Condições de saúde dos mesmos: condizentes com o objetivo e metodologia preconizados.
3. Quantidade utilizada restrita ao mínimo necessário sem prejuízo dos resultados esperados: o número de ratos é pequeno (11) e apropriado à análise estatística.
4. Grau de estresse e/ou de dor nos animais: não há como lidar com ausência de estresse animal, pois são exigências normais dos procedimentos técnicos até a eutanásia dos animais. O pesquisador responsável justifica os procedimentos e não há indicativo que os mesmos sofrerão dor antes e durante a anestesia.
5. Experiência prévia dos pesquisadores envolvidos: todos foram devidamente treinados e o responsável é extremamente competente para a condução da pesquisa.

Diante do exposto, considero o presente Projeto **aprovado** junto à Comissão de Ética no Uso de Animais local da qual sou membro.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Presidente Prudente

Presidente Prudente, 06 de fevereiro de 2012.

Ilmo.(a) Sr.(a)

Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho.

Ref. Projeto intitulado: "Efeitos do exercício físico sobre os tecidos de ratos wistar expostos a fumaça de cigarro", a ser desenvolvido por Taíse Mendes Biral, Camila Liyoko Suehiro, Regina Rocha Costalonga e Jacqueline Bexiga Urban. Colaboradora Profa. Dra. Alessandra Choqueta de Toledo, sob sua orientação.

Protocolo nº 06/2011

Recebemos o projeto, o qual foi examinado pelo relator, tendo recebido o parecer anexo.

Decorrente do exposto, o projeto foi **APROVADO**, *ad-referendum* da Comissão de Ética no Uso de Animais.

Diante do cronograma do desenvolvimento da pesquisa, fica estabelecido até a última terça-feira útil do mês de **Fevereiro de 2014** para encaminhamento de um **relatório final** sucinto à CEUA (vide modelo na página da FCT).

Informamos que eventuais emendas (proposta de modificação no projeto inicial) e extensões (proposta de prorrogação ou continuidade da pesquisa) devem ser apresentadas CEUA de forma clara e sucinta em duas vias impressas, identificando a parte do protocolo a ser modificado e suas justificativas. Entretanto, se houver modificações importantes de objetivos e métodos deve ser apresentado outro protocolo de pesquisa.

Atenciosamente,

PROFA. DRA. REGINA COELI VASQUES DE MIRANDA
COORDENADORA DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS