
Educação Física

MARIANA GARCIA FERREIRA SILVA

**CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS CARDÍACAS DE
RATAS OVARIETOMIZADAS SUBMETIDAS AO
TREINAMENTO FÍSICO**



Rio Claro
2017

MARIANA GARCIA FERREIRA SILVA

**CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS CARDÍACAS DE RATAS
OVARIECTOMIZADAS SUBMETIDAS AO TREINAMENTO
FÍSICO**

Orientador: Adriano Polican Ciena

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biociências da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para
obtenção do grau de Bacharela em
Educação Física.

Rio Claro

2017

617.1027 Silva, Mariana Garcia Ferreira
S586c Características morfológicas cardíacas de ratas
ovariectomizadas submetidas ao treinamento físico / Mariana
Garcia Ferreira Silva. - Rio Claro, 2017
34 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Educação
Física) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro
Orientador: Adriano Polican Ciena

1. Medicina esportiva. 2. Ratas ovariectomizadas
exercitadas. 3. Cardiomiócitos. 4. Peptídeos natriuréticos
atriais. 5. Ovariectomia. 6. Exercício físico. I. Título.

Agradecimentos

Aos meus pais, por serem exemplos de conduta, respeito e dignidade. Por me colocarem sempre em primeiro lugar, acima de tudo e todos. Agradeço todos os dias por ter laços de sangue com as duas pessoas que mais admiro. Em especial a minha mãe por ser mãe-amiga, por ser exemplo da mulher moderna, independente e bem resolvida em tempos que nenhuma mulher era. Ao meu pai por estar sempre de braços abertos a nos duas, mesmo nas situações mais difíceis.

Aos meus irmãos por serem fora do comum. Abrirem mão de muitas coisas para dar asas aos meus anseios e sonhos, por manterem os corações abertos a novas experiências, batalhas próprias e alheias. Os dois corações mais doces que já conheci.

Ao meu esporte por me dar ar para respirar todas as manhãs.

Ao meu melhor amigo e amor eterno, Joacks, que me faz buscar ser uma pessoa melhor e me dá seu apoio incondicionalmente.

Ao Professor Dr. Adriano Polican Ciena, por ser um pesquisador excepcional e não perder o ânimo ao me orientar. Serei eternamente grata por estar ao seu lado nesses últimos anos.

Resumo

Os cardiomiócitos são células musculares cardíacas que apresentam grânulos secretores nas proximidades do núcleo. Estas células são abundantes na aurícula esquerda e armazenam os peptídeos natriuréticos atriais (PNA), hormônios capazes de alterar a pressão arterial. A ovariectomia é um procedimento cirúrgico de retirada bilateral dos ovários que reduz a produção de estrogênio e, conseqüentemente, altera as características ultraestruturais dos cardiomiócitos. A prática de exercícios físicos permite a expansão atrial devido ao fluxo sanguíneo, principal fator de liberação dos PNA. No entanto, poucos são os estudos que analisam essas alterações nas características morfológicas cardíacas em animais submetidos à ovariectomia associada à atividade física. O objetivo do presente estudo consistiu em analisar as características morfológicas cardíacas de ratas *Wistar* ovariectomizadas submetidas à natação e análises através dos métodos de microscopia de luz (ML), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Foram utilizadas 40 ratas *Wistar* com 90 dias, que permaneceram alojadas com ração e água “*ad libitum*”, à $23\pm 2^{\circ}\text{C}$. Foram divididas em 4 grupos (n=10): Grupo Sedentário (GS); Grupo Treinado (GT); Grupo Ovariectomizado (GO) e Grupo Ovariectomizado e Treinado (GOT). A massa corporal dos animais foi mensurada em 3 períodos: pré-cirúrgico (1), pós-cirúrgico e pré-treino (2) e pós-treino (3). Após esta etapa, os animais foram eutanasiados e os corações dissecados para as técnicas de ML, MEV e MET e análises morfométricas. Com os resultados, foi possível verificar o aumento da massa corporal expressivo no GO, os cardiomiócitos em conformidade celular estrutural em ML e tridimensional em MEV e o aumento expressivo dos diâmetros dos PNA do GT. Concluímos que os animais submetidos tanto à ovariectomia, quanto ao exercício físico assim como a associação de ambos apresentaram alterações na massa corporal e nas características ultraestruturais dos cardiomiócitos. Sendo que com o treinamento – natação promoveu aumento nos diâmetros dos PNA, conseqüentemente maior disponibilidade na corrente sanguínea.

Palavras-Chave: Cardiomiócitos, Peptídeos Natriuréticos Atriais, Ovariectomia, Exercício Físico.

Abstract

Cardiomyocytes presents secretory apparatus close to the nucleus. There are many granules in the left atrium that stored atrial natriuretic peptides (ANP), a hormone capable of regulate blood pressure. The ovariectomy is a bilateral ovary removal that reduces production of ovaries hormones. This surgery can change ultrastructural characteristics of cardiomyocytes. Physical exercises can cause an atrial expansion because of blood flow increase, which is the major factor of stimulation and secretion of ANP. However, a few studies analyzes cardiac morphological changes in ovariectomized rats submitted at physical exercises. The aim of the study is to analyze morphological cardiac characteristics of ovariectomized *Wistar* rats submitted to swimming practice using light microscopy (LM), scanning electron microscopy (SEM) and electronic transmission electron microscopy (TEM). Forty female *Wistar* rats were hosted with water and food “*ad libitum*” at $23\pm 2^{\circ}\text{C}$. The animals were divided into 4 groups (n=10): Sedentary Group (SG); Exercised Group (EG); Ovariectomized Group (OG) and Ovariectomized and Exercised Group (OEG). Body mass was measured in 3 periods: before surgery (1), after surgery and before exercise (2) and after exercise (3). After, all animals were euthanized and hearts were collected to preparing for LM, SEM, TEM technique and morphometric measurement. The results showed expressive bodymass increase in OG, the cardiomyocytes in structural cellular compliance in LM as the three-dimensional, besides the diameter enlargement in EG. We concluded that female *Wistar* rats submitted to ovariectomy, physical exercise or both can alterate bodymass, cardiac morphology and cardiomyocytes ultrastructural characteristics. Besides, exercise increased ANP diameter and consequent availability in blood flow.

Keywords: Cardiomyocytes, Atrial Peptides Natriuretics, Ovariectomy, Physical Exercise.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	6
1.1. Morfologia.....	6
1.2. Tecido muscular.....	10
1.3. Circulação Coronária.....	11
1.4. Complexo Estimulante do Coração	12
1.5. Exercício Físico.....	12
1.6. Peptídeo Natriurético Atrial.....	13
1.7. Ovariectomia.....	15
2.JUSTIFICATIVA.....	15
3.OBJETIVO	16
3.1. Objetivo Geral	16
3.2. Objetivos Específicos	16
4. MATERIAIS e MÉTODOS.....	17
4.1. Animais.....	17
4.2. Procedimento cirúrgico.....	17
4.3. Protocolo de treinamento	18
4.4. Massa Corporal.....	18
4.5. Microscopia de Luz.....	18
4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	19
4.7. Microscopia Eletronica de Transmissão	19
4.8. Análises Mofométricas.....	20
5. RESULTADOS.....	21
5.1. Massa Corporal.....	21
5.2. Microscopia de Luz.....	22
5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	23
5.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	24
6. DISCUSSÃO	26
7. CONCLUSÃO	29
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

1.1 Morfologia

O coração é o órgão muscular oco responsável por impulsionar sangue para os pulmões pela circulação pulmonar e para o restante do corpo pela circulação sistêmica. Seu peso pode oscilar entre 280 e 340gr ou mais naqueles indivíduos que exercem atividade física em função do aumento da força contrátil. Neste caso, ocorre uma hipertrofia do órgão, ou seja, a espessura e o comprimento das fibras musculares cardíacas aumentam (TORTORA; DERRICKSON, 2010). Este aumento representa um mecanismo adaptativo que permite que o órgão mantenha suas funções mesmo com o aumento da demanda em função do exercício físico (RIBEIRO et. al., 2003). O coração é dividido em quatro câmaras, duas inferiores, os ventrículos (esquerdo e direito) e duas superiores, os átrios (direito e esquerdo) que são separados entre si por tecido fibroso (ARAÚJO, 2007). Os átrios recebem sangue através de veias enquanto os ventrículos ejetam, através de artérias, sangue para todo o corpo. A porção esquerda do coração é mais espessa que a porção direita pela demanda de força contrátil maior em decorrência da circulação sistêmica (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O coração tem formato cuneiforme e apresenta um ápice, uma base e três faces. O ápice é a parte estreita voltada para a esquerda, sentido inferior e anterior na cavidade torácica. A base é voltada para a esquerda disposta no sentido posterior e superior. Apesar de não ter uma delimitação nítida, a base é caracterizada por uma área ocupada pelas raízes dos grandes vasos sanguíneos juntamente aos átrios, predominantemente o esquerdo. As três faces cardíacas são denominadas faces esternocostal, diafragmática e pulmonar. A face esternocostal situa-se profundamente às costelas e ao osso esterno. A face diafragmática repousa sobre o músculo diafragma e a face pulmonar é voltada para o pulmão esquerdo (DANGELO; FATTINI, 2011).

O coração está localizado próximo à linha média da cavidade torácica, no mediastino médio, que é a região anatômica da cavidade torácica que se estende do esterno à coluna vertebral. O órgão fica apoiado no músculo diafragma e entre as pleuras pulmonares. Cerca de dois terços do órgão fica localizado a esquerda da linha média e permanece na posição oblíqua com o

ápice direcionado à esquerda, voltado inferior e anteriormente enquanto a base se volta à direita, sentido superior e posterior (TORTORA; GRABOWSKI, 2000).

Pode-se dizer que o coração é formado por três tipos de músculo estriado cardíaco: o músculo atrial, o ventricular e o feixe de fibras excitatórias que estimulam a condução sanguínea do sistema circulatório (ARAÚJO, 2007). Internamente o coração apresenta, além do músculo cardíaco, revestimento por tecido conjuntivo denso. Juntos formam o esqueleto fibroso que divide o coração em quatro câmaras. Essas divisões são feitas pelos seguintes septos: o septo atrioventricular, o septo que divide o coração em partes superior (átrios) e inferior (ventrículos); o septo interatrial, que separa os átrios em direito e esquerdo e o septo interventricular, que divide os ventrículos em direito e esquerdo. Para que o sangue passe do átrio para o ventrículo sem que ocorra o refluxo, os óstios são as aberturas que possuem valvas atrioventriculares esquerda e direita para controlar a entrada do sangue nos ventrículos. Essas estruturas respondem às alterações de pressão na contração e relaxamento do coração. As valvas semilunares, que desempenham as mesmas funções das atrioventriculares, estão posicionadas entre os ventrículos e as artérias. Especificamente entre o ventrículo direito e o tronco pulmonar e entre o ventrículo esquerdo e a artéria aorta (TORTORA; DERRICKSON, 2010; DANIELO; FATTINI, 2011).

Os átrios possuem estruturas em sua parede que reforçam a contração muscular para ejetar o sangue para os ventrículos. São estes, os músculos pectíneos. Na face anterior dos átrios existe uma expansão em forma de “orelha”, a aurícula, que aumenta a capacidade de armazenamento do sangue atrial (GRAAF, 2003). Estudos indicam que a morfometria das cavidades auriculares possui semelhanças aos tecidos glandulares (GAMA, 1999). A aurícula, principalmente à esquerda é o local de maior incidência do peptídeo natriurético atrial. Estudos mostram que a aurícula possui maior capacidade de distensão do que a parede do átrio como um todo, situação adequada para receber o sangue em situações de hipervolemia sanguínea ou hipertensão (AL-SAADY, 1999). Além disso, pesquisas científicas experimentais demonstraram que a aurícula esquerda é capaz de influenciar a volemia. Indivíduos que realizam o procedimento cirúrgico de remoção desta estrutura sofrem influência direta na diurese. Este procedimento é realizado em pacientes que tiveram fibrilação atrial por cardiopatias. Pelo fato de ser conhecida por alojar coágulos sanguíneos, a

aurícula esquerda removida eliminaria uma potencial fonte de formação de trombos que poderiam desencadear um acidente vascular cerebral. No entanto, existem outras fontes de formação de trombos-embólicos, como o ventricular, o aórtico, o carotídeo, dentre outras. Este procedimento cirúrgico de remoção da aurícula esquerda tem sido questionado pela possível redução do volume sanguíneo e débito cardíaco, situação que poderia ocasionar em insuficiência cardíaca no indivíduo. A remoção da aurícula esquerda pode ser particularmente prejudicial naqueles indivíduos que já sofreram insuficiência cardíaca pela predisposição à congestão pulmonar (LARSEN, 2006).

*Entre os átrios, no septo interatrial, existe uma depressão denominada fossa oval. Esta estrutura representa o resquício do forame oval, a abertura que permitia a passagem do sangue pulmonar do átrio direito ao átrio esquerdo na fase fetal, já que os pulmões não são operacionais nesse estágio da vida. Logo após o nascimento, o forame se fecha. O átrio direito recebe o sangue venoso sistêmico através das veias cava superior, sangue proveniente da parte superior do corpo e cava inferior, sangue que provém da parte inferior do corpo humano. Este sangue chega ao ventrículo direito pelo óstio atrioventricular direito, guarnecido pela valva atrioventricular direita formada por três válvulas. Do ventrículo direito, o sangue é ejetado para fora do coração e conduzido pelo tronco pulmonar aos pulmões. O tronco pulmonar é o ramo arterial que se ramifica em artérias pulmonares direita e esquerda para direcionar separadamente a cada pulmão. Na base do tronco pulmonar a valva do tronco pulmonar é formada por três válvulas semilunares. Após atingir os pulmões e realizar a troca gasosa, o sangue retorna oxigenado para o coração, precisamente no átrio esquerdo, através de duas veias pulmonares esquerdas e duas veias pulmonares direitas. Com o bombeamento cardíaco, o sangue passa pelo óstio atrioventricular esquerdo para chegar ao ventrículo esquerdo. O óstio atrioventricular esquerdo é formado por duas válvulas que, juntas, formam a valva atrioventricular esquerda (Mitral). Do ventrículo esquerdo o sangue é novamente ejetado atingindo a parte ascendente da aorta. Na transição entre a câmara e a artéria existe a valva aórtica formada por três válvulas semilunares (GRAAFF, 2003).

Internamente, os ventrículos possuem a superfície irregular pela presença de projeções de feixes musculares. Os músculos papilares são uma

dessas projeções que, em geral, o ventrículo direito apresenta três destas e o ventrículo esquerdo, duas. Essa quantidade deve-se a fixação dos músculos papilares às cordas tendíneas. Ambas as estruturas são responsáveis pela abertura e fechamento das valvas atrioventriculares, formadas por três válvulas no ventrículo direito e duas no ventrículo esquerdo. As trabéculas cárneas também são projeções constituídas de feixes de fibras musculares. Algumas estão inseridas no sistema de condução cardíaca, a atuam no controle do rítmico cardíaco (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

O coração é constituído por três camadas: endocárdio, miocárdio e epicárdio. O Endocárdio é a túnica íntima do coração e é constituído por uma camada endotelial fina e uma camada delicada que oferece sustentação ao órgão. Sua constituição é predominantemente colágeno e contém vasos sanguíneos, nervos e ramos do sistema de condução. Em conjunto formam um revestimento endotelial liso, que minimiza os atritos na passagem sanguínea. O miocárdio, principal camada e a mais espessa, é responsável pelo bombeamento cardíaco. Esse tecido muscular é constituída por células especializadas, os cardiomiócitos, células essas envolvidas por tecido conjuntivo associado (endomísio, perimísio e epimísio). O epicárdio é composto por duas camadas: uma camada visceral do pericárdio seroso composta por mesotélio e mais externa e outra camada interna de tecido conjuntivo frouxo contendo veias, nervos e gânglios. Nesta camada também há acúmulo do tecido adiposo que envolve o coração (YOUNG; HEATH, 2000).

O envoltório cardíaco é constituído por uma membrana delgada de tecido conjuntivo denominada pericárdio. Essa lâmina protege o órgão ao limitar sua expansão na diástole ventricular e também possibilita uma contração rápida e vigorosa, o que permite liberdade à sua movimentação. O pericárdio consiste em duas camadas: o pericárdio fibroso e o pericárdio seroso. A camada fibrosa e mais externa fixa-se sobre o músculo diafragma e é composta por tecido conjuntivo denso, não modelado, resistente e inelástico. Fixa-se ao músculo, o pericárdio fibroso fica parcialmente fundido na porção do ápice do coração. Na respiração profunda, o movimento sanguíneo é facilitado em decorrência dessa fusão. O pericárdio seroso, apresenta duas lâminas: a parietal, fundida ao pericárdio fibroso e a lâmina visceral, que corresponde ao epicárdio. Entre as lâminas, existe uma cavidade do pericárdio, assim denominada, por alojar um

líquido lubrificante secretado pelas células pericárdicas. Este líquido, líquido pericárdico, reduz o atrito, fricção entre as membranas durante mudanças volumétricas do sangue no interior do órgão (DANGELO; FATTINI, 2011).

1.2 Tecido muscular

O músculo estriado cardíaco é constituído por células especializadas, os cardiomiócitos. Estas células formam camadas em arranjo variado e são orientadas em variadas direcções. Os cardiomiócitos apresentam estriações transversais e geralmente possuem apenas um núcleo centralizado. As células são alongadas, ramificadas e se conectam por junções intercelulares complexas exclusivas da musculatura cardíaca, denominada de discos intercalares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Os discos intercalares são faixas transversais de comprimento variável e características do músculo cardíaco. Estas estruturas representam o local de fixação entre as células e apresentam-se frequentemente em formato de degraus de uma escada. Os discos intercalares apresentam fascias de aderência, máculas de aderência (desmossomos) e junções comunicantes, responsáveis respectivamente por ancorar os filamentos de actina, evitar a separação dos cardiomiócitos sob tensão em função das repetidas contrações e permitir a continuidade iónica entre elas e condução dos potenciais de acção (ROSS; PAWLINA, 2011).

O tecido muscular cardíaco possui grande quantidade de mitocôndrias em seu citoplasma pela intensa atividade aeróbia. Armazena ácidos graxos no citoplasma sob forma de glicerídeos, pequena quantidade de glicogénio para fornecer glicose e podem apresentar próximo ao núcleo, lipofuscina. Este pigmento é característico de células de vida longa que não se multiplicam. Também apresentam grânulos secretores nas proximidades do núcleo juntamente ao aparelho de Golgi. Esses grânulos, abundantes no átrio esquerdo, armazenam a molécula precursora do peptídeo natriurético atrial (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

As estriações transversais características dos músculos estriados é devido às repetições de unidades iguais estruturais, os sarcômeros. No caso do músculo estriado cardíaco, os sarcômeros são delimitados por linhas Z e, de uma extremidade para a outra é formado por mais duas semibandas I e uma Banda A. No centro desta banda, existe uma zona mais clara, a zona H. Cada

miofibrila, analisada mediante microscopia eletrônica, mostra ser formada por filamentos finos de actina e grossos de miosina. Os filamentos são mantidos dessa forma por diversas proteínas, como a desmina, por exemplo, que une as miofibrilas umas com as outras. Os filamentos de actina partem da linha Z e vão até a borda externa da banda H, enquanto o filamento de miosina ocupa toda a banda A e a H, terminando na borda externa da banda I (ROSS; PAWLINA, 2011).

O retículo sarcoplasmático, responsável pela regulação da contração muscular através do armazenamento e liberação dos íons de Cálcio, no músculo cardíaco não é tão organizado quanto no músculo esquelético. Quando analisado ao microscópio de polarização, observamos faixas claras e escuras. Estas faixas representam a banda A e banda I, assim denominadas por serem anisotrópica e isotrópica respectivamente. Cada banda I apresenta uma linha transversal centralizada, a linha Z. Já os túbulos T cardíacos além de serem maiores que os do músculo esquelético, localizam-se na altura da banda Z ao invés de ficar entre a junção das bandas A e I. Essa estrutura é responsável pela contração uniforme das fibras musculares e constitui-se de uma rede de invaginações tubulares de sarcolema onde os ramos envolvem as junções das bandas A e I (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

1.3 Circulação Coronária

Para atender as necessidades vitais do coração, as paredes do órgão necessitam adquirir nutrientes pelo suprimento sanguíneo. Esse fluxo sistêmico irriga o miocárdio através da circulação coronária. As artérias coronárias e seus ramos estão localizadas numa reentrância entre os átrios e os ventrículos. Existem dois principais ramos arteriais: artéria coronária esquerda e artéria coronária direita, ambas se formam a partir da aorta ascendente. A artéria coronária esquerda divide-se em ramo interventricular anterior, situado no sulco de mesma denominação para irrigar os ventrículos, e o ramo circunflexo, que supre sangue para as paredes do átrio e ventrículo esquerdos. A artéria coronária direita também se divide em dois ramos: O ramo interventricular posterior, situado no sulco interventricular posterior, irriga também ambos os ventrículos, e o ramo marginal direito, que irriga a parede do átrio e do ventrículo direitos. Na parte posterior do coração, os troncos principais das artérias

coronárias direita e esquerda unem-se para irrigar partes específicas da mesma região (TORTORA; GRABOWSKI, 2002).

Após vascularizar todo o coração, o sangue fornece oxigênio e nutrientes para o miocárdio e capta resíduos metabólicos para continuar a circulação pelo transporte venoso. As veias cardíacas formam um trajeto paralelo às artérias. Existem duas principais veias: a veia interventricular anterior, que recolhe sangue da parte anterior do coração e a veia interventricular posterior, responsável por drenar a parte posterior. As veias cardíacas parva e magna formam uma tributária posteriormente que desemboca no seio coronário (GRAAF, 2003).

1.4 Complexo estimulante do coração

A contração do coração ocorre de forma intrínseca, ou seja, os estímulos para que os batimentos cardíacos aconteçam são conduzidos através do órgão mesmo que haja estimulação extrínseca (ARAUJO, 2007). Estas fibras autorrítmicas promovem a contração e relaxamento das câmaras cardíacas através dos potenciais de ação. Conjuntamente, as fibras formam uma rede especializada, o complexo estimulante do coração que fornece a via de propagação dos ciclos cardíacos. O potencial de ação se inicia pela excitação do nó sinoatrial, localizado na parede atrial direita logo abaixo e lateralmente à abertura da veia cava inferior. O estímulo percorre ambos os átrios até atingir o nó atrioventricular, situado no septo interatrial. Logo após, a excitação chega ao fascículo atrioventricular ou feixe de His, único local onde o esqueleto fibroso não isola eletricamente os átrios dos ventrículos, o que permite que o potencial de ação se propague de um para o outro. Posteriormente, esse fascículo divide-se em ramos direito e esquerdo em direção ao ápice do coração. Finalmente, emite ramos subendocárdicos denominados fibras de Purkinje para propagar o potencial de ação por todo o ventrículo e permitir a contração ventricular sentido às valvas arteriais para ejetar o sangue (DANGELO; FATTINI, 2011).

1.5 Exercício Físico

A isquemia do miocárdio foi considerada a maior causa de morbidade e mortalidade tanto em indivíduos jovens quanto idosos. Estudos revelam que a

prática de exercícios físicos pode ser considerada uma estratégia eficaz no tratamento de doenças cardiovasculares. Além de melhorar a eficácia do bombeamento cardíaco (contração muscular), diminui a pressão arterial sistólica e diastólica e possui ação protetora ao diminuir o índice de doenças do coração, principalmente com a prática de exercícios aeróbios (ARAÚJO, 2007). Os benefícios advindos dessa prática não estão apenas associados à redução de riscos à saúde cardiovascular do indivíduo, mas também a melhora da capacidade oxidativa e a viabilidade mitocondrial do tecido muscular cardíaco. Também acelera a atividade fisiológica do coração, o que pode mediar à hipertrofia não patológica do órgão através do desenvolvimento dos mecanismos celulares e moleculares no crescimento das fibras musculares cardíacas (WANG et. al., 2015).

Exercícios aeróbios como a corrida ou a natação são caracterizados por usar os grandes grupos musculares esqueléticos na dinâmica da atividade física, o que aumenta a pré-carga cardíaca para atender as demandas fisiológicas e induz a hipertrofia excêntrica do coração. Isto se manifesta principalmente no crescimento do ventrículo esquerdo, especificamente na espessura da parede ventricular com o intuito de normalizar a tensão do miocárdio gerada pelo exercício. Ao realizar a análise ultraestrutural dos cardiomiócitos, esses aumentam de comprimento devido ao desenvolvimento de novos sarcômeros. A prática de exercícios aeróbios pode ser utilizada para melhorar a função ventricular tanto de indivíduos cardiopatas quanto os saudáveis. Além disso, o treinamento aeróbio promove melhoras na contratilidade muscular e regulação de íons Cálcio, o que otimiza a performance (MELO, 2015).

1.6 Peptídeo Natriurético Atrial

O primeiro a identificar grânulos localizados no tecido muscular cardíaco foi A. J. de Bold, que notou que as células atriais eram capazes de se diferenciarem tanto em células contráteis como endócrinas (ANDRADE, 2010). Primeiramente, o peptídeo natriurético atrial foi descrito como um hormônio composto por 28 aminoácidos e, posteriormente, diferentes autores identificaram e descreveram de formas aleatórias de acordo com o tamanho da cadeia de aminoácidos. Já foi denominado cardiometrina, auriculina, atriopeptina, dentro outros (ARAÚJO, 2007). Atualmente o peptídeo natriurético atrial é descrito como um hormônio

polipeptídico sintetizado e secretado pelos cardiomiócitos. Esses hormônios ficam estocados em altas concentrações em grânulos específicos de armazenamento e possuem uma via que regula a excreção (PAN, 2008).

A secreção deste hormônio depende de componentes estruturais dos cardiomiócitos, incluindo o número de poros da membrana nuclear, a eucromatina, o complexo de Golgi e a mitocôndria, que agem conjuntamente para secretar o peptídeo natriurético atrial (SOUZA et al., 2014). Quando esta via é estimulada, que poderia ser através da distensão da parede do átrio, o peptídeo natriurético é secretado para o citoplasma (MIFUNE, 2012). As ações do peptídeo incluem natriurese, diurese, vasodilatação e modulação dos sistemas que podem aumentar o fluído extracelular e a pressão arterial, tanto o sistema renina-angiotensina quanto o sistema nervoso simpático (PAN, 2008). Possui, portanto, efeito contrário a Aldosterona, que retém água e promove o aumento da pressão sanguínea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A descoberta deste hormônio sugeriu uma nova concepção sobre a função do coração. O órgão não é apenas responsável pela circulação do sangue, mas também possui função endócrina (SOUZA et al, 2014). Atualmente, sabe-se que existem outros tipos de peptídeos natriuréticos. Além do atrial, também denominado tipo A pelo seu sítio de liberação, existe o tipo B liberado pelos ventrículos e atuante no sistema nervoso central e o tipo C liberado por células endoteliais (VILLACORTA et. al., 2002).

Nas últimas décadas, além do tecido estriado cardíaco, foram identificados outros sítios secretores do peptídeo natriurético atrial. Também foi possível demonstrar através de estudos que os hormônios atuam em outros sistemas, como o nervoso, respiratório e imune (ARAÚJO, 2007).

Durante o exercício físico, o peptídeo natriurético atrial é capaz de regular a resposta do sistema cardiovascular, a pressão arterial, dilatar a artéria coronária e também aumentar o fluxo sanguíneo da artéria. A atividade física promove a expansão do átrio devido à entrada de sangue, principal fator da liberação do peptídeo natriurético. Em função das melhoras cardiovasculares devido a pratica de exercícios físicos, suspeitava-se que este poderia influenciar a produção dos PNAs. Estudos já comprovaram esta influência direta, no entanto ainda não se sabe ao certo qual é o mais indicado para cada cardiopatia (PAM, 2010).

1.7 Ovariectomia

A ovariectomia é um procedimento cirúrgico de remoção bilateral dos ovários. Esse procedimento faz com que as mulheres sejam privadas dos hormônios ovarianos, como a progesterona e o estrogênio (FERRETTI et al., 2014). Os estrogênios pertencem a uma classe de hormônios esteróides que regulam as células alvo através dos receptores de membrana celular. Ao comprovar a existência de receptores estrogênicos nos cardiomiócitos foi possível observar que a ligação hormônio-receptor causa mudanças conformacionais nessas células. Estes hormônios esteróides também são capazes de estimular a produção e secreção dos peptídeos natriuréticos. Após a ovariectomia, ocorre a queda dos níveis de estrogênios. Nos cardiomiócitos de animais submetidos ao procedimento cirúrgico apresentaram densidade nuclear reduzida e queda nas frações volumétricas da eucromatina, da mitocôndria e também do complexo de Golgi. As alterações indicam uma possível influência dos estrogênios na secreção e produção dos peptídeos natriuréticos (SOUZA et. al., 2014). Dentre outras funções, o estrogênio também tem a capacidade de inibir a atividade osteoblástica, o que estimula o crescimento ósseo e a união das epífises dos ossos longos. Na menopausa praticamente não ocorre secreção de estrogênio. Esse fator causa uma diminuição da matriz óssea e também do depósito de cálcio e fosfato, o que pode resultar na osteoporose (GUYTON; HALL, 2006). Além disso, o estrogênio, além de estimular a síntese de proteínas juntamente a hormônios como a insulina, é responsável pelo desenvolvimento das estruturas genitais femininas, das glândulas mamárias e características sexuais secundárias. Esses hormônios também podem reduzir o nível de colesterol no sangue e, por isso, nos períodos da menopausa e pós-menopausa, mulheres correm risco de ter as taxas de colesterol sanguíneo elevadas (GUYTON; HALL, 2006).

2. JUSTIFICATIVA

A principal consequência da menopausa é a diminuição drástica na produção dos hormônios sexuais femininos, principalmente o estrógeno. Essa alteração hormonal gera consequências no sistema cardiorrespiratório, como o aumento da pressão sanguínea. Além da menopausa, existem outros fatores

que provocam a queda desses hormônios e consequente amenorreia e, desta forma, altera a função cardíaca. Quanto à prática de exercícios físicos, a literatura descreve uma série de benefícios, inclusive no sistema cardíaco-respiratório. Existem estudos que comprovam a queda da produção dos peptídeos natriuréticos atriais em decorrência da privação dos hormônios sexuais femininos. Também já existem análises que comprovam a atuação do estrogênio na produção e secreção dos peptídeos natriuréticos. No entanto, poucos são os estudos que analisam as alterações/adaptações nas características morfológicas cardíacas de ratas submetidas à ovariectomia e os benefícios que o treinamento físico, no caso, a natação, pode trazer em detrimento da privação dos hormônios sexuais femininos.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

O presente estudo consiste em analisar as características morfológicas do coração de ratas ovariectomizadas submetidas ao protocolo de natação.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar os aspectos estruturais do tecido cardíaco empregando métodos de microscopia de luz através da coloração de Hematoxilina e Eosina;
- Descrever os aspectos tridimensionais das fibras musculares e tecido conjuntivo associado, mediante as técnicas de microscopia eletrônica de varredura;
- Revelar as características ultraestruturais dos cardiomiócitos e dos peptídeos natriuréticos atriais empregando método de microscopia eletrônica de transmissão.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizadas 40 ratas adultas da linhagem *Wistar* com 90 dias de vida, divididas aleatoriamente em quatro grupos n=10:

- Grupo Sedentário (GS): os animais permaneceram na gaiola e não realizaram nenhum procedimento;
- Grupo Treinado (GT): os animais foram submetidos ao protocolo de natação;
- Grupo Ovariectomia/Sedentário (GO): os animais foram submetidos à ovariectomia e não ao protocolo de natação;
- Grupo Ovariectomia/Treinamento (GOT): os animais foram submetidos à ovariectomia e ao protocolo de natação.

Os animais são provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu-SP permaneceram em gaiolas de polipropileno coletivas no Biotério Setorial do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP – Campus Rio Claro-SP. Os animais receberam ração balanceada padrão (Purina) e água “ad libitum”, com 5 ratas em cada gaiola, à temperatura ambiente controlada à 23 ± 2 °C e controle fotoperíodo claro/escuro de 12 horas. Todos os procedimentos adotados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Animais (Comissão de Ética Uso de Animais – CEUA) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Campus de Rio Claro – SP, (nº processo 10/2015).

4.2. Procedimento Cirúrgico

Os animais dos Grupos GO e GOT foram anestesiados com Ketamina (50mg/kg) e Xilazina (10mg/kg) via intraperitoneal, em seguida à tricotomia e a assepsia cutânea da região ventral do abdome. Com auxílio de um bisturi a parede abdominal foi seccionada através de uma incisura vertical (laparotomia mediana) para que os ovários sejam expostos e dissecados. Após este

procedimento, a abertura da parede abdominal foi suturada em camadas, com linha de sutura de nylon nº 6.0. Após a sutura, a assepsia da região da incisão cirúrgica foi feita 3 vezes ao dia durante 7 dias (FERRETTI et al., 2014).

4.3. Protocolo de Treinamento

Os animais dos grupos GT e GOT foram submetidos ao protocolo de treinamento (natação), após o 30º dia pós-operatório. Foram realizadas sessões de treinamento por 60 minutos cada. Os animais foram individualizados por tubos de PVC (Cloreto de Polivinila) com 24 cm de diâmetro, 50 cm de comprimento, para que não haja aglomeração e dispersão, mergulhados em 40 cm de água aquecida a 31°C (PESTANA et al., 2012). As ratas foram pesadas semanalmente em uma balança semi-analítica, para a avaliação da massa corporal, durante todo o experimento. Para a obtenção das sobrecargas de treinamento, foram utilizados pesos de chumbo equivalentes a 5% da massa corporal, fixados ao tórax dos animais ao iniciar o protocolo de treinamento, através de uma cinta elástica. Estes pesos foram aferidos e corrigidos semanalmente. Foram realizadas 5 sessões semanais de 60 minutos cada, durante 4 semanas, totalizando 20 sessões de treinamento (CIABATTARI; DAL PAI; DAL PAI, 2005).

4.4. Massa Corporal

A massa corporal das ratas de ambos os grupos foram mensuradas em 3 períodos: 1º período, antes do procedimento cirúrgico – ovariectomia; 2º período, ao final do 1º mês pós-operatório e início do protocolo de treinamento; 3º período, ao término do protocolo de treinamento. Após esta etapa foram obtidas as médias e desvio padrão (*Microsoft Office Excel*®). Esses dados foram tratados estatisticamente através da análise de variância ANOVA *two way* e pós teste de *Bonferroni*, com auxílio do software *Graph Pad 5.0*, o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

4.5. Microscopia de Luz

Foram utilizados 5 animais de cada grupo experimental eutanasiados com overdose Ketamina (50mg/kg) e Xilazina (10mg/kg) via intraperitoneal. Em seguida foram dissecados os corações dos quatro grupos experimentais e

fixados em formol 10%, durante 48 horas. Após esta etapa, todas as amostras foram submetidas à desidratação em séries crescentes de álcoois (70% ao absoluto) e incluídas em parafina histológica. Foram realizados cortes transversais de 5 µm de espessura e, posteriormente, corados com as técnicas: Hematoxilina-Eosina para evidênciação dos componentes celulares e Picro-sírius para identificação do tecido conjuntivo associado (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). A aquisição das imagens será obtida através do microscópio de luz (Carl Zeiss Microimaging, Axiokop 40, Göttingen, Germany).

4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram utilizados 3 animais de cada grupo experimental, após a eutanásia com overdose de Ketamina (50 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via intraperitoneal, os corações foram dissecados e fixados na solução *Karnovsky* modificada (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2%, em solução de tampão de sódio a 0,1M, pH 7,4) durante 24h, a 4° C, de acordo com o método relatado por Watanabe e Yamada (1983). As amostras após a fixação foram submetidas à técnica de criofratura, mediante ao congelamento em nitrogênio líquido (BOLINA et al., 2013). Posteriormente, lavadas de 12 a 24 horas em solução tampão fosfato de sódio e, pós fixadas em solução aquosa de Tetróxido de Ósmio à 1%, submetidas à desidratação em série crescente de álcool (70% ao absoluto), seguida de imersão em solução de acetato de isoamila 3h, à 4°C, e secadas em aparelho ponto-crítico Balzers CPD-30, utilizando CO₂ líquido (DURO et al., 2012; BOLINA et al., 2013). As amostras foram montadas em bases metálicas apropriadas e cobertas com íons de ouro em aparelho Balzers SCD-040, e examinadas em microscópio eletrônico de varredura TM 3000–Hitachi, do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista-UNESP, campus Rio Claro-SP.

4.7. Microscopia Eletrônica de Transmissão

Serão utilizados 2 animais de cada grupo experimental, após a eutanásia com overdose de Ketamina (50 mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg) via intraperitoneal

e os corações dissecados e fixados na solução de *Karnovsky* modificada (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2%, em solução de tampão de sódio a 0,1M, pH 7,4) durante 24h, a 4° C, de acordo com o método relatado por Watanabe e Yamada (1983). Em seguida, amostras de 3mm dos átrios e ventrículos esquerdos foram, por três vezes, lavadas com solução de tampão fosfato de sódio e pósfixadas com a solução de Tetróxido de Ósmio a 1%, durante 2 horas, à 4° C (CIENA et al., 2010). Novamente, as amostras foram lavadas em solução de tampão fosfato de sódio e contrastadas com a solução aquosa de acetato de uranila à 0,5%, durante 12 horas, à temperatura ambiente e na ausência de luminosidade. Em seguida, submetidas à desidratação em série crescente de álcoois, a partir do 70%, 80% 90% e 95% (1x), álcool etílico absoluto (4x) com banhos de 15 minutos cada, e óxido de propileno (2x) por 15 minutos.

Após a desidratação, as amostras permaneceram por 4 horas em uma mistura de resina (Low Viscosity Embedding Média Spurr's Kit, Electron Microscopy Sciences, USA) e óxido de propileno na proporção de 1:1, sob agitação, em temperatura ambiente para gradativa infiltração de resina no material. Em seguida, a mistura foi trocada por resina pura, permanecendo por 12 a 18 horas, sob agitação, em temperatura ambiente. Após esse período, a resina foi novamente trocada por resina pura juntamente com as amostras e aquecidas por 1 hora em estufa a 37°C, com frasco aberto para total evaporação de líquidos das amostras e polimerização do bloco de resina.

Obtidos os blocos de resina, estes foram trimados para a realização de cortes ultrafinos (60 nanômetros) em ultramicrotomo, que foram coletados em telas de cobre de 200 “mesh” (Sigma-Aldrich, USA) e, contrastados com a solução de acetato de uranila à 4% e com a solução aquosa de citrato de chumbo à 0,4%, por 3 minutos (CIENA et al., 2012). As telas referentes aos átrios esquerdos foram examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão Philips CM 100, laboratório de microscopia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista-UNESP, campus de Rio Claro-SP.

4.8 Análises Morfométricas

Para análise morfométrica dos peptídeos natriuréticos atriais foram realizadas 53 mensurações dos seus diâmetros com o auxílio do software

ImageJ®. Ao definir o tamanho da barra em pixels com a ferramenta “Straight Line” foi determinada a escala da imagem na opção “Analyze” posteriormente “Set Escale” e então substituído o valor na caixa “Know Distance” para o valor na barra, unidade de escala em nm “Unit of Length”. Obtidas as médias e desvio padrão foi realizado o tratamento estatístico através da análise de variância ANOVA One-Way seguido por post-hoc test. A significância estatística foi considerada $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Massa corporal

Os resultados da mensuração da massa corporal dos animais estão apresentados na tabela 1 e gráfico 1 respectivamente.

GRUPOS:	1º PERÍODO	2º PERÍODO	3º PERÍODO
Sedentário	237,8±12,6	272,9±16,7	284,6±19,3
Treinado	225,8±21,9	262,3±21,3	268,3±38,1
Ovariectomizado	229,6±14,5	294,7±20,2 *	317,1±22,4 ●
Ovariectomizado/Treinado	242,6±15,2	300,8±29,6	296,8±29,6 #

Tabela 1 – Médias e Desvios Padrões das Massas Corporais dos Grupos S, T, O e OT.
($p < 0,05$ * O ≠ S, O ≠ T; ● O ≠ T; # OT ≠ S, OT ≠ T).

Em relação à massa corporal foi possível estabelecer diferenças entre as massas corporais dos grupos em cada período. No primeiro período (pré-operatório), não houve diferenças significativas entre os grupos. No segundo período (pós-operatório e pré-treinamento) houve um aumento significativo em cada grupo em relação ao primeiro período. Ao analisar o Grupo O com os grupos S e T, o aumento na massa corporal foi expressivo. No terceiro período (pós-treinamento), foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os grupos: O e T, a discrepância entre eles foi a maior de todo o experimento; e OT em relação aos grupos S e T.

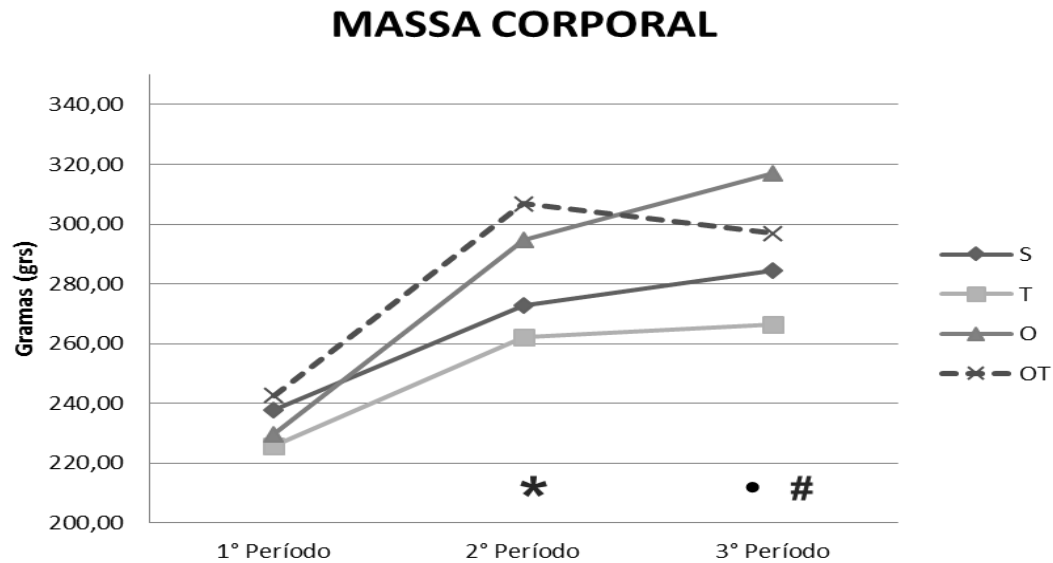


Gráfico 1. Massa corporal dos grupos S, T, O e OT em períodos distintos.
($p < 0,05$) * O $\neq$ S, O $\neq$ T; • O $\neq$ T; # OT $\neq$ S, OT $\neq$ T).

O gráfico apresenta o aumento expressivo da massa corporal de todos os animais do primeiro ao segundo período bem como o aumento acentuado das massas dos grupos submetidos à ovariectomia em relação aos não submetidos. Do segundo ao terceiro período, o grupo S, T e OT não apresentaram diferenças estatísticas relevantes. No entanto, a massa corporal do grupo O continuou a aumentar. No terceiro período, as diferenças estatísticas ficam evidentes entre os grupos O e T e entre o grupo OT em relação aos grupos S e T. Apesar do notável declínio de massa corporal do grupo OT no terceiro período, a diferença não foi significativa em relação aos outros grupos.

5.2. Microscopia de Luz

As características estruturais do tecido muscular estriado cardíaco (átrio esquerdo) estão demonstradas a partir da figura 1. Destaque para as células cardíacas alongadas e dispostas em diferentes direções, com evidência para os núcleos centralizados e alongados dos Grupos Sedentário, Grupo Treinado, o Grupo Ovariectomizado e do Grupo Ovariectomizado Treinado.

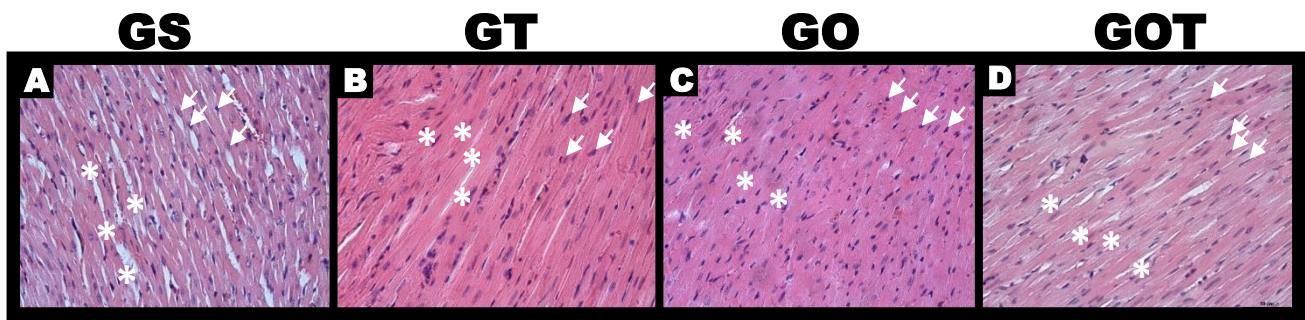


Figura 1 - Microscopia de Luz do Átrio Esquerda de ratas *Wistar*. Grupos: Sedentário (A), Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado/Treinado (D). Revelam o tecido muscular cardíaco e a disposição dos cardiomiócitos (*) orientados em diferentes direções. Em destaque aos núcleos (setas) centralizados. Ampliações: 40X.

5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

A partir da figura 2 é possível observar os aspectos tridimensionais da morfologia dos ventrículos em um corte transversal. Cada coluna da figura representa o corte de cada grupo experimental. Acima, em menor aumento e a baixo, maior aumento. A partir das figuras em menor aumento é possível identificar as três camadas cardíacas: o endocárdio, camada interna evidenciada pelas estruturas internas do ventrículo, como os músculos papilares e as trabéculas cárneas; o miocárdio, camada média e suas fibras musculares cardíacas orientadas em diversas direções e o epicárdio, camada externa que envolve o coração. Nas imagens A (Grupo Sedentário) e C (Grupo Ovariectomizado) é possível diferenciar os ventrículos a partir da espessura do envoltório. A parede mais espessa é característica do ventrículo esquerdo. A partir das imagens B (Grupo Treinado) e D (Grupo Ovariectomizado/treinado), destaque ao ventrículo esquerdo e as estruturas internas. Em maior aumento, a imagem E (Grupo Sedentário) permitiu observar a vascularização da camada muscular através da identificação de artérias, veias e capilares sanguíneos. Em F, destaque para as fibras musculares do coração do Grupo Treinado. A imagem G (Grupo Ovariectomizado) permite analisar em maior aumento as três camadas cardíacas. A Imagem H é do Grupo Ovariectomizado/Treinado. Nesta imagem é possível identificar as estruturas internas do coração, as trabéculas cárneas.

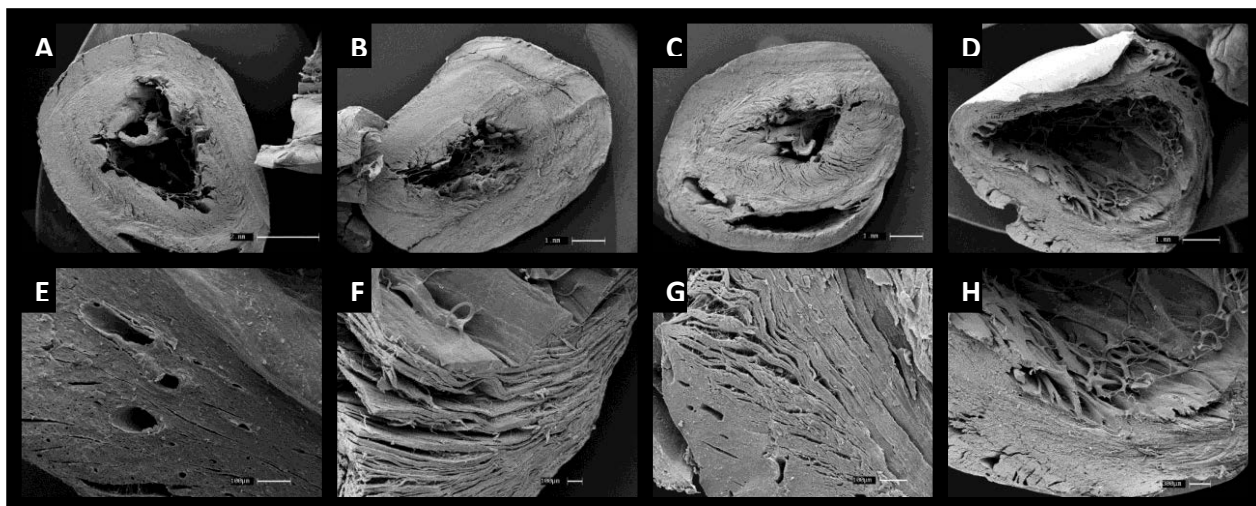


Figura 2 - Microscopia Eletrônica de Varredura do coração de ratas Wistar. **(A)** Grupo Seditário e a morfologia do coração em destaque ao revelar as três camadas cardíacas (endocárdio, miocárdio e endocárdio). Em maior aumento **(E)** a vascularização do miocárdio. **(B)** Grupo Treinado e **(F)** em maior aumento é possível visualizar as fibras musculares cardíacas. **(C)** Grupo Ovariectomizado e **(G)** as três camadas em maior aumento. **(D)** Grupo Ovariectomizado Treinado e em maior aumento **(H)** é possível observar as trabéculas cárneas no interior no ventrículo. Aumentos: **(A)** 2nm; **(B, C e D)** 1nm; **(E, F e G)** 100micrometros; **(H)** 300micrometros.

5.4. Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os aspectos ultraestruturais do átrio esquerdo, região de maior incidência do peptídeo natriurético atrial foi dissecado e processado para análise mediante a microscopia eletrônica de transmissão. A figura 3 permite descrever as células cardíacas de cada grupo experimental. Estas células, denominadas cardiomiócitos, apresentaram os sarcômeros em série, revelaram grupamentos mitocondriais intermiofibrilar e subsarcolemal, além do destaque para a organização e disposição dos peptídeos natriuréticos atriais (PNA) sempre situados adjacentes aos núcleos. A partir da figura A, foi possível identificar o cardiomiócito do grupo Sedentário em conformidade celular. Na figura B (Grupo Treinado), os peptídeos natriuréticos atriais em destaque acumulados e dispersos por toda fibra muscular e entre grupamentos de mitocôndrias. Em C (Grupo Ovariectomizado), o grupamento mitocondrial no centro da fibra muscular, com redução no diâmetro dos peptídeos dispersos ao redor deste grupamento. Na figura D (grupo Ovariectomizado/Treinado) foi possível observar a ocorrência de alta concentração e maiores diâmetros dos peptídeos agrupados próximos ao núcleo e as mitocôndrias dispostas adjacentes.

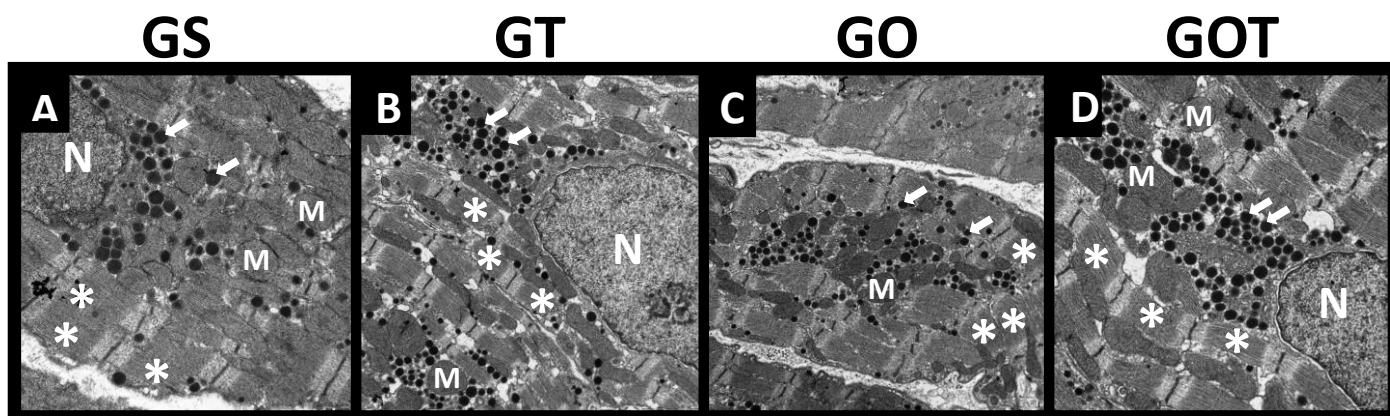


Figura 3 – Microscopia Eletrônica de Transmissão do átrio esquerdo de ratas Wistar. Grupos: Sedentário (A), Treinado (B), Ovariectomizado (C), Ovariectomizado/Treinado (D). Revelam as características ultraestruturais dos sarcômeros em série (*) dos cardiomiócitos. Grupamentos de mitocôndrias (M), núcleos (N) centralizados, em destaque os grupamentos dos peptídeos natriuréticos atriais (setas). Aumentos: 3.000X.

Na sequência, o gráfico da análise morfométrica dos diâmetros dos Peptídeos Natriuréticos Atriais de ratas *Wistar* coletados a partir das micrografias eletrônicas de transmissão:

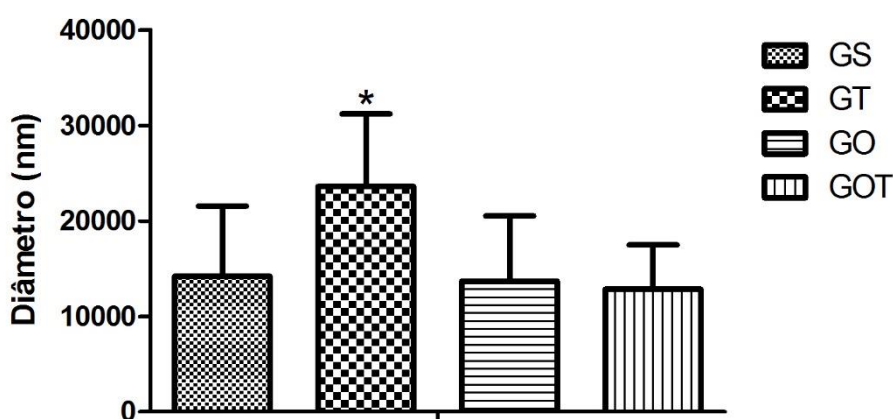


Gráfico 2 - Média ± desvio padrão dos diâmetros (nm) dos peptídeos natriuréticos atriais de ratas Wistar.
* GT ≠ GS, GT ≠ GO, GT ≠ GOT (p<0,05).

O gráfico apresentou a alteração de diâmetro dos peptídeos natriuréticos atriais de ambos os grupos. Aumento de diâmetro foi expressivo principalmente entre o GS e GT. Além destas diferenças, entre o GT e GO o aumento foi significativo bem como entre o GT e GOT. No entanto, entre os seguintes grupos: GS e GO; GS e GOT e o GO e GOT as diferenças estatísticas não foram relevantes.

6. DISCUSSÃO

A partir dos resultados, foi possível analisar as adaptações estruturais e ultraestruturais dos cardiomiócitos submetidos ao treinamento físico, a ovariectomia e a associação de ambos. Os grupos experimentais revelaram aumento da massa corporal em função do procedimento cirúrgico, bem como ocorre frequentemente no período da menopausa em função da queda na produção hormonal. O Grupo Ovariectomizado foi o único com aumento expressivo. O fato do Grupo Ovariectomizado/Treinado não alterar significativamente indica uma possível reversão das alterações por causa do exercício físico.

As micrografias de luz de ambos os grupos se apresentaram em conformidade celular. As fibras musculares multidirecionadas e os cardiomiócitos alongados bem como os núcleos centrais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). O estudo de Andrade, 2010 analisou os efeitos das dietas hiperlipídica e hipercalórica associadas a ovariectomia na pressão arterial e produção dos peptídeos natriuréticos atriais (PNA). Ao analisar a morfologia dos corações que foram processados para análise histológica, ficou evidente a hipertrofia ventricular e redução no lúmen cardíaco no grupo ovariectomizado submetido a dieta hiperlipídica. Isto indica que, apesar de não ser possível visualizar os PNA em microscopia de luz, ocorrem alterações morfológicas no coração de animais submetidos a ovariectomia, ao exercício físico ou a associação de ambos.

Neste mesmo estudo de ANDRADE (2010), a dieta hiperlipídica isolada aumentou três vezes a massa corporal em relação ao grupo controle, enquanto a dieta associada ao procedimento cirúrgico aumentou seis vezes, o que indica a alteração no acúmulo de gordura em função da queda na produção hormonal, bem como o presente estudo evidenciou a partir do Gráfico 1. Além disso, ao comparar a pressão arterial dos grupos experimentais ocorreu um aumento significativo com a dieta associada à cirurgia, ou seja, além das alterações na massa corporal, o sistema cardiovascular também pode ser prejudicado em função da queda hormonal. No caso dos PNA, tanto na dieta hiperlipídica quanto hipercalórica associadas a ovariectomia a queda na produção dos grânulos foi

expressiva. Este estudo indica que, além da atuação direta na pressão arterial o PNA também atua no tecido adiposo. Todos esses resultados indicam as consequências cardíacas em função da queda da produção de estrogênio associada ao aumento da massa corporal, ambos fatores decorrentes da menopausa.

A partir da análise do Gráfico 2 e a mensuração dos diâmetros dos PNA evidenciou o benefício do treinamento ao revelar a discrepância estatística entre os grupos GS e GT, com aumento dos seus diâmetros ao apresentar diferença significativa. Durante o exercício físico, o fluxo sanguíneo aumenta proporcionalmente ao débito cardíaco, aos movimentos respiratórios e a atividade muscular. Por consequência, ocorre a distensão da parede atrial. Esta distensão estimula a liberação dos peptídeos natriuréticos atriais. Os estudos de Endlich et. al. (2011) indicaram que o exercício agudo é acompanhado pela elevação dos peptídeos no plasma. Indivíduos submetidos a exercícios de alta intensidade até a exaustão, como maratonas ou ergoespirometria, revelaram um aumento expressivo das concentrações dos peptídeos no sangue.

Apesar da diferença estatística entre o GO e GOT não ser relevante no presente estudo, a pesquisa de Endlich et. al. (2011) dentre outras demonstraram que o exercício pode ser benéfico em detrimento da queda hormonal pós operatória. Nesse trabalho foram analisados dois grupos: o submetido a natação e o submetido a esteira. Em ambos o aumento na concentração sanguínea de PNA ocorreu. O interessante foi que o aumento acentuado ocorreu no protocolo de natação, o mesmo do presente estudo. No entanto, pouco se sabe sobre as adaptações ultraestruturais dos cardiomiócitos e seus peptídeos natriuréticos atriais durante a menopausa e a interferência das diferentes modalidades de exercício físico.

Os estudos já evidenciaram relações diretas entre as concentrações dos PNA e alterações cardiovasculares. Um estudo que submeteu 15 pacientes a circulação extracorpórea demonstrou que os níveis plasmáticos de PNA variaram de forma direta à pressão arterial esquerda e direita, o que indica a relação entre ambos os fatores. (FRANÇOIS et. al., 2002). Além das alterações cardiovasculares, sabe-se que existe uma relação entre o acúmulo de gordura

no tecido adiposo em função da queda na produção hormonal principalmente em função do período da menopausa. A deficiência do estrogênio, principal hormônio, interfere tanto no sistema cardiovascular e quanto no metabolismo celular. Isto porque é um importante regulador no depósito de gorduras além de interferir na quebra lipídica (AL-SAFI, 2015). Endlich et. al. (2013) analisou os efeitos do exercício físico em ratas ovariectomizadas e revelou que a prática de atividade física, além de auxiliar na regulação da pressão arterial possui papel importante na quebra e mobilização de lipídios. Neste estudo, a natação por 8 semanas reduziu o acúmulo de lipídio em ratas ovariectomizadas bem como o presente estudo que, ao realizar um protocolo de treinamento de apenas 4 semanas, atingiu resultados expressivos semelhantes.

O estudo de Richards (2007) demonstrou a associação inversa entre os níveis plasmáticos de peptídeos, tanto ao sobrepeso quanto a obesidade. Os níveis foram 1,4 a 3,5 menores nos casos de sobrepeso e 1,8 a 4,8 para obesos, o que indica que os PNA são um dos componentes do sistema cardiovascular que atua indiretamente no tecido adiposo. O presente estudo evidencia esta relação ao analisar a concentração de peptídeos, que foi menor nos grupos que aumentaram o peso corporal em função da ovariectomia, do sedentarismo ou a associação de ambos. Além da relação com o acúmulo de gordura, o estudo de Richards (2007) também analisou a relação entre a pressão arterial e os níveis plasmáticos de PNA. Neste caso, a proporção foi direta ao revelar níveis 6 a 27% maiores nos hipertensos. Este estudo esclarece que as alterações nos níveis de PNA indicam uma síndrome metabólica responsável por possíveis manifestações clínicas e fisiopatológicas. No entanto, os mecanismos que relacionam esses três fatores ainda não precisos (ANDRADE, 2010).

A ovariectomia é um procedimento que mimetiza as consequências do período da menopausa, fase em que ocorre uma queda abrupta na produção do hormônio estrogênio e acarreta em uma série de consequências, inclusive cardiovasculares. O estudo de Souza et. al. (2014), demonstrou que a ovariectomia além de reduzir a produção de hormônios específicos como o estrogênio diminui também a produção dos peptídeos natriuréticos atriais. Estas reduções afetaram o controle da pressão arterial nos animais submetidos à cirurgia, o que indica a atuação dos PNAs no controle da pressão arterial. Desta

forma, fica evidente a relação entre sistema cardíaco e sistema renal. Além disso, o estudo mostra que a reposição hormonal usualmente realizada para atenuar os efeitos da menopausa pode não ser o tratamento mais efetivo no controle da pressão arterial, o que comprova que o estrogênio não é o único componente que atua neste controle.

Dentre os efeitos da ovariectomia e menopausa em função da queda do estrogênio, pode ocorrer a sarcopenia. Apesar dos estudos indicarem que o exercício aeróbico seja o mais adequado para amenizar os efeitos da menopausa, o treinamento de força também pode ser benéfico. Estudos mostram que, além de reduzir os riscos cardiovasculares, podem ser adequados nestes casos por estimular a hipertrofia das fibras musculares. O estudo de LEITE, 2010, analisou o efeito do treinamento de força em 40 animais experimentais submetidos a ovariectomia. A diminuição dos depósitos de gordura intramusculares nos grupos submetidos ao treino foram expressivos, principalmente no não-ovariectomizado. Apesar dos perfis lipídicos das outras regiões (massa corporal, região mesentérica e cardíaca) não serem expressivas, as taxas sanguíneas de colesterol (LDL) foi menor no grupo não ovariectomizado e exercitado e houve diferença significativa entre este mesmo e o grupo submetido ao exercício e ovariectomia. Esta diferença significativa evidencia o benefício do exercício físico principalmente nos casos de redução da produção hormonal, como a menopausa. No entanto, seriam necessários mais estudos para analisar as alterações dos PNA com a prática de exercício físico de força.

Desta forma, a descoberta dos peptídeos natriuréticos atriais (PNA) mudou os conceitos em relação ao coração. Na nova concepção, o órgão além de ser responsável pela dinâmica sanguínea do corpo humano, possui função endócrina (SILVA et. al., 2003).

7. CONCLUSÃO

Concluímos que os animais submetidos tanto à ovariectomia, quanto ao exercício físico assim como a associação de ambos apresentaram alterações na massa corporal e nas características ultraestruturais dos cardiomiócitos. Sendo que com o treinamento – natação promoveu aumento nos diâmetros dos PNA, consequentemente maior disponibilidade na corrente sanguínea.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-SAADY, N. M.; OBEL, O. A.; CAMM, A. J. Left atrial appendage: structure, function, and role in thromboembolism. **Heart**, v. 82, n. 5, p. 547-554, 1999.
- AL-SAFI, Z. A.; POLOTSKY, A. J. Obesity and menopause. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v.29, n. 4, p. 548-553, 2015.
- ANDRADE, E. N.; Peptídeo Natriurético Atrial em um modelo de Obesidade e Hipertensão induzidas por uma dieta em ratas ovariectomizadas. Tese de Mestrado, 2010.
- ARAÚJO, E. M.; Efeito do exercício físico moderado sobre os grânulos do fator natriurético atrial nos cardiomiócitos da aurícula direita de ratos de meia idade: análise morfométrica, estereológica e ultraestrutural. Tese de Mestrado, 2007.
- BOLINA, C. S.; BOLINA-MATOS, R. S.; ALVES, P. H. M.; CURY, D. P.; CIENA, A. P.; WATANABE, I. Three-dimensional aspects of the structural characteristics and kidney angioarchitecture of adult and aged Wistar rats: a scanning electron microscopy study. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 5, p. 538-544, 2013.
- CIABATTARI, O.; DAL PAI, A.; DAL PAI, V., Efeito da natação associado a diferentes dietas sobre o músculo tibial anterior do rato: estudo morfológico e histoquímico, **Revista Brasileira da Medicina do Esporte**, v. 11, n. 12, p. - , 2005.
- CIENA, A. P.; DE ALMEIDA, S. R.; DIAS, F. J.; BOLINA, C. S.; ISSA, J. P.; IYOMASA, M. M.; OGAWA, K.; WATANABE, I. S. Fine structure of myotendinous junction between the anterior belly of the digastric muscle and intermediate tendon in adults rats. **Micron**, v. 43, n. 2-3, p. 258-262, 2012.
- DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A., **Anatomia Humana – Sistemica e Tegumentar**, ed° 3, p. 125-134, 2011.

DURO, C. C.; CIENA, A. P.; ALMEIDA, S. R. Y.; RIGHETTI, M. M.; GRISOLIA, D. F.; ISSA, J. P. M.; SILVA, M. C. P.; WATANABE, I. Qualitative study of young, adult, and aged Wistar rats temporomandibular synovial membrane employing light, scanning, and transmission electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 11, p. 1522-1527, 2012.

ENDLICH, P. W.; FIRMES, L. B.; GONÇALVES, W. L. S.; GOUVEA, S. A.; MOYSÉS, M. R.; BISSOLI, N. S.; REIS, A. M.; ABREU, G. R. Involvement of the atrial natriuretic peptide in the reduction of arterial pressure induced by swimming but not by running training in hypertensive rats. **Peptides**, v. 32, n. 8, p. 1706-1712, 2011.

ENDLICH, P. W.; CLAUDIO, E. R. G.; GONÇALVES, W. L. S.; GOUVÊA, S. A.; MOYSÉS, M. R.; ABREU, G. R. Swimming training prevents fat deposition and decreases angiotensin II-induced coronary vasoconstriction in ovariectomized rats. **Peptides**, v. 47, p. 29-35, 2013.

FERRETTI, M.; CAVANI, F.; MANNI, P.; CARNEVALE, G.; BERTONI, L.; ZAVATTI, M. ; PALUMBO, C. Ferutinin dose-dependent effects on uterus and mammary gland in ovariectomized rats. **Histology and Histopathology**, v. 29, n. 8, p. 1027-1037, 2014.

FRANÇOIS, L.M.G. *et al.* Relação das pressões atriais com o peptídeo natriurético atrial e seus efeitos na diurese e natriurese durante operação cardíaca com circulação extracorpórea. **Revista Brasileira de cirurgia cardiovascular**. v.17, n.3, p.258-65, jul. 2002.

GAMA E. F. Aspectos Mesoscópicos, Ultra Estrutural e Identificação e Localização do Fator Natriurético Atrial do Complexo Átrio-Auricular da Cobaia (*Cavia porcellus*). Tese de Doutorado, 1999.

GRAAFF, V. **Anatomia Humana**, ed°6, p. 537-581, 2003.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**, ed° 11, p. 1011-1024, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; BIGNOLAS G.; BRENTANI, R. R., Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections, **Histochem J.**, v. 11, n. 4, p. 447-455, 1979.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J., **Histologia Básica – Texto e Atlas**, ed°12, p 177-526, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J., **Histologia Básica – Texto e Atlas**, ed°12, p 177-526, 2008.

LARSEN, H. R. **Left Atrial Appendage: Useless or Priceless?** 2006. Disponível em: <<http://afibbers.org/resources/LAA.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2015.

LEITE, R. D. Efeito da Ovariectomia e Treinamento de Força no Conteúdo Lipídico no Músculo Esquelético, Fígado, Coração, Depósitos de Gordura e Perfil Lipídico. Tese de Mestrado, 2010.

MELO, S. F. S.; BARANA, V. G.; JÚNIOR, M. A. C.; BOZI, L. H. M.; DRUMMOND, L. R.; NATALI, A. J.; OLIVEIRA, E. M. Resistance Training Regulates Cardiac Function through Modulation of miRNA-214. **REVISTA**, v. 16, n. 4, p. 6855-6867, 2015.

MIFUNE, H.; NISHI, Y.; TAJIRI, Y.; YABUKI, A. Different A-Type Natriuretic Peptide Level in Five Strains of Mice. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 74, n. 4, p. 499-502, 2012.

PAN, S. S. Alterations of atrial natriuretic peptide in cardiomyocytes and plasma of rats after different intensity exercise. **Scandinavian Journal Of Medicine & Science In Sports**, v.18, n. 3, p. 346-353, 2008.

PAULSEN, F.; WASCHKE, J. SOBOTTA – **Atlas de Anatomia Humana – Órgãos Internos**, ed° 23, p. 4-27, 2012.

PESTANA, P. R. D.; ALVES, A. N.; FERNANDES, K. P. S.; JUNIOR, J. A. S.; FRANCA, C. M.; MARTINS, M. D.; BUSSADORI, S. K.; MESQUITA-FERRARI, R. A., Efeito da natação na expressão de fatores regulatórios miogênicos durante o reparo do músculo esquelético de rato, **Revista Brasileira Medicina do Esporte**, v. 18, n. 6, p. - , 2012.

RIBEIRO, H., B.; OKOSHI, K.; CICOONA, A., C.; BREGAGNOLLO, E., A.; RODRIGUES, M., A., M.; PADOVANI, C., R.; ARAGON, F., F.; JAMAS, E.; OKOSHI, M., P. Estudo Evolutivo da Morfologia e Função Cardíaca em Ratos Submetidos a Estenose Aórtica Supraaórtica. **Arq Bras Cardiol**. Botucatu, SP, v. 81, n. 6, p. 562-8, 2003.

RICHARDS, M. Natriuretic Peptides Update on Peptide Release, Bioactivity and Clinical Use. **Hypertension**. v. 50, n. 1, p. 25-30, 2007.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia: texto e atlas – em correlação com Biologia Celular e Molecular**, ed°6, p 318-418, 2011.

SILVA, L. B.; FERREIRA, C. A.; BLACHER, C.; LEÃES, P.; HADDAD, H. Peptídeo Natriurético Tipo-B e Doenças Cardiovasculares. **Arq Bras Cardiol**. Porto Alegre, v. 81, n. 5, p. 529-34, 2003.

SOUZA, R. R.; OLIVEIRA V. C.; CURI, T. C.; MALDONADO, D. C. Effects of ovariectomy on the secretory apparatus in the right atrial cardiomyocytes of middle-aged mice. **Clinics**, v. 69, n. 8, p. 554-558, 2014.

TORTORA, G. J.; NIELSEN, M. T. ; **Princípios da Anatomia Humana**, ed°. 12, p.489-501, 2013.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**, ed°. 9, p.579-606, 2002.

VILLACORTA, H.; DUARTE, A.; DUARTE, N. M.; Ângela Carrano, Evandro Tinoco Mesquita, Hans J. F. Dohmann, Francisco Eduardo G. Ferreira. Valor do Peptídeo Natriurético do Tipo B no Diagnóstico de Insuficiência Cardíaca Congestiva em Pacientes Atendidos com Dispneia na Unidade de Emergência. **Arq Bras Cardiol**, volume 79 (n° 6), 564-8, 2002

WANG, H.; BEI, Y.; LU, Y., SUN, W.; LIU, Q.; WANG, Y.; CAO, Y.; CHEN, P.; XIAO, J.; KONG, X. Exercise Prevents Cardiac Injury and Improves Mitochondrial Biogenesis in Advanced Diabetic Cardiomyopathy with PGC-1 α and Akt Activation. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 6, p 2159-2168, 2015.

WATANABE, I.; YAMADA, E. The fine structure of lamellated nerve endings found in the rat gingiva. **Arch Histol Jpn.** São Paulo, v. 46, n. 2, p. 173-182, 1983.

YOUNG, B.; HEATH, J. W. Wheater: **Histologia Funcional – Texto e Atlas em cores**, edº.4, p.97-148, 2000.