



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Câmpus de São José do Rio Preto

Igor Noll Guagnoni

**Controle autonômico dos ajustes cardíacos associados à digestão no lagarto herbívoro *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758)**

São José do Rio Preto  
2021

Igor Noll Guagnoni

**Controle autonômico dos ajustes cardíacos associados à digestão no lagarto herbívoro *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES – Proc.: 88887.342350/2019-00

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Diana Amaral Monteiro

São José do Rio Preto  
2021

Guagnoni, Igor Noll  
G897 Controle autonômico dos ajustes cardíacos associados à  
digestão no lagarto herbívoro Iguana iguana (Linnaeus, 1758)  
/ Igor Noll Guagnoni. -- São José do Rio Preto, 2021  
60 f. : il., tabs., fotos  
  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista  
(Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São  
José do Rio Preto  
Orientador: Luiz Henrique Florindo  
Coorientadora: Diana Amaral Monteiro  
  
1. Iguana Iguana. 2. Ajustes Cardiovasculares. 3. Digestão.  
4. Sistema Nervoso Autônomo. 5. Barorreflexo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca  
do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto.

Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Igor Noll Guagnoni

**Controle autonômico dos ajustes cardíacos associados à digestão no lagarto herbívoro *Iguana iguana* (Linnaeus, 1758)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES – Proc.: 88887.342350/2019-00

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto  
Orientador

Prof. Dr. André Luis da Cruz  
Instituto de Biologia – Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Prof. Dr. Classius de Oliveira  
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto  
31 de agosto de 2021

*Aos meus pais, Wagner e  
Judite, ao meu irmão, Marco, e  
à minha namorada e eterna  
companheira, Ynaiá, dedico  
esse trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

*Ao professor Luiz Henrique Florindo, meu amigo e orientador, pelos ensinamentos ao longo destes anos, pela confiança, liberdade e por todas as oportunidades.*

*A minha coorientadora, Diana Amaral Monteiro, por todos os ensinamentos, conhecimentos compartilhados, e por sempre ser compreensiva e muito atenciosa.*

*A minha família, Wagner, Judite e Marco, pelo amor incondicional, pelo conforto, carinho, paciência e compreensão durante essa caminhada. Sem vocês essa conquista não seria possível.*

*A minha namorada, Ynaiá, por todo o amor, carinho, paciência, atenção e incondicional apoio em todos os momentos desde que nos conhecemos. Agradeço por tornar cada momento mais do que especial e muito mais leve.*

*Aos meus Tios, Fernando e Maria Stela pelo amor e carinho e por estarem sempre presentes e dispostos a ajudar durante toda essa jornada.*

*Aos meus avós, por sempre acreditarem no meu potencial, além de incentivar e apoiar a realizar todos meus sonhos com tanto afeto e carinho.*

*Aos queridos, Marlene Sofia Arcifa Froehlich e Claudio Gilberto Froehlich, por terem me apoiado e ajudado desde muito cedo a trilhar este caminho.*

*Ao meu grande amigo Vinicius Araújo Armelin, por compartilhar e me ensinar sobre ciência e sobre a vida em nossos milhares de cafés no laboratório. Agradeço por tê-lo como exemplo de profissional e de pessoa, o qual tenho me espelhado desde o início da minha formação.*

*Ao meu grande amigo André Luis da Cruz, pela amizade, companheirismo, pelos bons momentos compartilhados e por todos os ensinamentos compartilhados.*

*Às minhas queridas amigas Paula Rosa e Ana Helena Cruciol, pela amizade, carinho e incondicional apoio desde o início da nossa graduação.*

*Aos amigos de laboratório, pelo acolhimento e por todas as risadas nesses últimos anos. Ana Rayssa, Ariela Crestani, Carlos Sousa, Gabrielle Pimentel, Isadora Anello, Leonardo Sanches, Mariana Teixeira, Natalia Troiano, Victor Braga e Vinicius Armelin.*

*O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 – Processo.: 88887.342350/2019-00.*

*Meus sinceros agradecimentos.*

*“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less.”*

*“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é a hora de entender mais para que possamos temer menos.”*

– Marie Curie

## RESUMO

Os ajustes cardiovasculares que ocorrem após a alimentação são essenciais para suprir as demandas da digestão em vertebrados. Répteis carnívoros, por exemplo, apresentam ajustes cardiovasculares de grande magnitude em resposta ao intenso incremento no metabolismo aeróbio. Dentre estes ajustes, o mais bem documentado é a taquicardia pós-prandial desencadeada pela redução da atividade vagal conjuntamente à atuação de fatores não-adrenérgicos e não-colinérgicos (NANC). Entretanto, os répteis estudados até o momento são carnívoros, que se alimentam infreqüentemente e que ingerem grandes presas em relação ao seu tamanho corporal, evidenciando uma lacuna no conhecimento acerca dos ajustes fisiológicos pós-prandiais dos répteis herbívoros. Considerando que as características alimentares dos animais possuem grande influência nas respostas fisiológicas pós-prandiais, o presente trabalho investigou as respostas do metabolismo aeróbio e do sistema cardiovascular, assim como seus respectivos mecanismos de controle autonômico, em um réptil herbívoro de alimentação freqüente submetido a alimentação voluntária com pequenas porções de alimento em relação ao seu tamanho corporal (3,5%) – o lacertílio *Iguana iguana* (Squamata: Lacertilia). Para isso, o consumo de oxigênio ( $VO_2$ ), a freqüência cardíaca ( $f_H$ ), a pressão arterial média ( $P_A$  média), a atividade do miocárdio (produto entre a  $f_H$  e a pressão arterial sistólica), o tônus autonômico cardíaco, a variabilidade da  $f_H$  e da  $P_A$  média e a eficiência do barorreflexo foram avaliados em animais em jejum e em digestão. Os resultados revelaram que 20 horas após a ingestão do alimento os lagartos atingiram com incremento máximo na  $VO_2$ . Os resultados também revelaram que a digestão em *I. iguana* é marcada por uma taquicardia de magnitude relativamente pequena, determinada exclusivamente por uma redução da atividade parassimpática cardíaca – sendo o primeiro caso reportado em vertebrados terrestres no qual os fatores NANC não auxiliam neste ajuste. Por fim, foi evidenciado que a digestão provoca uma redução na eficiência do barorreflexo, prejudicando a responsividade do nodo sinoatrial frente às oscilações na pressão arterial.

**Palavras-chave:** Répteis. Lagarto herbívoro. *Iguana iguana*. Digestão. Ajustes cardiovasculares. Sistema nervoso autônomo. Taquicardia pós-prandial. Barorreflexo.

## ABSTRACT

Cardiovascular adjustments that occur after feeding are essential to supply the demands of digestion in vertebrates. Carnivorous reptiles commonly exhibit cardiovascular adjustments of great magnitude to supply the intense increment in aerobic metabolism. The well-documented postprandial tachycardia on these animals is triggered by a withdrawal of vagal drive and by non-adrenergic non-cholinergic (NANC) factors. Most reptiles studied are carnivores that feed infrequently and ingest large prey, while the postprandial physiological adjustments in herbivorous reptiles are little known. Considering that feeding characteristics have a great influence on postprandial physiological responses, the present work investigated the responses of the aerobic metabolism and the cardiovascular system, as well as their mechanisms of autonomic control, in a frequently feeding herbivorous reptile submitted to voluntary feeding with small portions of food compared to their body size (3.5%) – the lizard *Iguana iguana* (Squamata: Lacertilia). For this, oxygen consumption ( $VO_2$ ), heart rate ( $f_H$ ), mean arterial pressure ( $P_A$  mean), myocardial activity (rate-pressure product), cardiac autonomic tones, variability of  $f_H$  and  $P_A$  mean, and baroreflex efficiency were assessed both in fasting and digesting animals. The results revealed that peak of  $VO_2$  in the lizards was reached 20 hours after meal ingestion. Also, digestion in *I. iguana* was associated with an unremarkable tachycardia of small magnitude mediated by a reduction in cardiac parasympathetic activity and no chronotropic effects of NANC factors – the first case reported in terrestrial vertebrates in which NANC factors do not participate in postprandial tachycardia. Finally, it was shown that digestion decreases the baroreflex efficiency, impairing the responsiveness of the sinoatrial node to changes in arterial blood pressure.

**Keywords:** Reptile. Herbivorous lizard. *Iguana iguana*. Digestion. Cardiovascular adjustments. Autonomic nervous system. Postprandial tachycardia. Baroreflex.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotografia de um exemplar de *Iguana iguana*. Fonte: Carlos Eduardo de Sousa – responsável técnico pelo Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados (LZCV).  
.....20
- Figura 2.** Ilustração esquemática representando o aparato experimental utilizado para realização da respirometria de sistema fechado. As setas pretas indicam fluxo de ar gerado através das bombas. Em A, a bomba de ar externo conectada a um timer configurado para realizar ciclos de liga/desliga a cada 45 minutos; em B, uma saída de ar de dentro do respirômetro para um recipiente com água (C), de forma a evitar aumentos de pressão durante a fase aberta; em D, uma bomba de ar interna continuamente ligada com intuito de gerar um fluxo contínuo de ar para uma coluna de sílica gel e para um analisador de O<sub>2</sub>, fazendo-o retornar ao respirômetro posteriormente (E); por fim, em F, uma segunda bomba de ar interna ligada continuamente promoveu constante circulação e mistura dos gases na câmara respirométrica. Fonte: o autor.....22
- Figura 3.** Esquema do protocolo experimental colocado em prática no presente trabalho, o qual foi utilizado para investigar os ajustes cardiovasculares pós-prandiais de *Iguana iguana* e os seus respectivos mecanismos de controle neural. Fonte: o autor. ....27
- Figura 4.** Consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>) de *Iguana iguana* em situações pré e pós-prandiais. Em A, médias de VO<sub>2</sub> (ml O<sub>2</sub> . h<sup>-1</sup>) calculadas animais em jejum (N = 5; coluna preta) e em digestão (N = 5; coluna cinza). Em B, representação das mudanças percentuais na VO<sub>2</sub> pós-prandial em relação ao consumo de oxigênio basal dos animais em jejum ao longo do tempo. A linha pontilhada representa uma linha de referência, ou seja, os pontos registrados acima dela representam incremento na VO<sub>2</sub> pós-prandial em relação ao jejum, abaixo representam decréscimo e quando alinhados a ela demonstram equilíbrio. Em C, estão representados valores brutos da VO<sub>2</sub> de animais representativos do Grupo Jejum (triângulos pretos) e do Grupo Digestão (círculos cinza) ao longo do tempo. O asterisco sobrescrito a barra de erro padrão médio indica diferença significativa em relação ao Grupo Jejum ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média ± E.P.M., exceto em C onde estão sendo apresentados animais representativos da média. Fonte: o autor. ....32

**Figura 5.** Frequência cardíaca ( $f_H$ ; A), pressão arterial média ( $P_A$  média; B) e produto pressão-frequência ( $PPF$ ; C) de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; colunas pretas) e digestão ( $N = 7$ ; colunas cinzas), (B) sob as condições não-tratado, após bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e sob duplo bloqueio autonômico estabelecido após administração de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor. .... 34

**Figura 6.** Tônus autonômico cardíaco colinérgico e adrenérgico calculado nos lagartos *Iguana iguana* do Grupo Jejum ( $N = 7$ ; colunas pretas) e do Grupo Digestão ( $N = 7$ ; colunas cinzas). O asterisco sobrescrito à barra de erro padrão médio indica diferença significativa da variável em questão em relação ao Grupo Jejum ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor. .... 35

**Figura 7.** Amplitude espectral média da variabilidade da frequência cardíaca (HRV) de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; área de cor preta) e digestão ( $N = 7$ ; área de cor cinza) na condição não-tratada (A), após o bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina (B;  $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), e após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco realizado com propranolol (C;  $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). A linha pontilhada separa e demarca as oscilações de baixa frequência na frequência cardíaca ( $0,00 \geq 0,10\text{Hz}$ ) das oscilações de alta frequência ( $\leq 0,10$ ). Fonte: o autor. .... 36

**Figura 8.** Potência espectral das bandas de baixa ( $HRV_{PLF}$ ) e alta ( $HRV_{PHF}$ ) frequência localizados nos espectros de variabilidade da  $f_H$  de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; barras de cor preta; A) e em digestão ( $N = 7$ ; barras de cor cinza; B), sob as condições não-tratado, após bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e sob duplo bloqueio autonômico estabelecido após administração de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor. .... 37

**Figura 9.** Amplitude espectral média da variabilidade da  $P_A$  média (BPV) de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; área de cor preta) e digestão ( $N = 7$ ; área de cor cinza) na condição não-tratada (A), após o bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina (B;  $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), e após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco realizado com propranolol (C;  $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). A linha pontilhada separa e demarca as oscilações de baixa frequência na frequência cardíaca ( $0,00 \geq 0,10\text{Hz}$ ) das oscilações de alta frequência ( $\leq 0,10$ ). Fonte: o autor.....38

**Figura 10.** Potência espectral das bandas de baixa ( $BPV_{PLF}$ ) e de alta ( $BPV_{PHF}$ ) frequência localizados nos espectros de variabilidade da  $P_A$  média de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; barras de cor preta; A) e em digestão ( $N = 7$ ; barras de cor cinza; B), sob as condições não-tratado, após bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e sob duplo bloqueio autonômico estabelecido após administração de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor. ....39

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Variáveis barorreflexas de *Iguana iguana* obtidas pelo Método da Sequência quando não-tratados, atropinizados e sob duplo bloqueio autonômico cardíaco em condições de jejum ( $N = 7$ ) e digestão ( $N = 7$ ). ..... 40
- Tabela 2.** Frequência cardíaca ( $f_H$ ) e pressão arterial média ( $P_A$  Média) de *Iguana iguana* anteriormente e posteriormente à administração intrarterial de solução salina (0,9% NaCl) em condições de jejum ( $N = 7$ ) e digestão ( $N = 5$ ). ..... 41
- Tabela 3.** Frequência cardíaca ( $f_H$ ) e pressão arterial média ( $P_A$  Média) de *Iguana iguana* sob duplo bloqueio autonômico e posteriormente à administração intrarterial de epinefrina e acetilcolina em jejum ( $N = 7$ ) e digestão ( $N = 7$ ). ..... 41

## LISTA DE ABREVIATURAS TEXTUAIS

$\Delta t_{\text{pico}}$	Tempo decorrido até o consumo máximo de O <sub>2</sub> durante a digestão
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>AMPc</b>	Monofosfato cíclico de adenosina
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina
<b>BPV</b>	Variabilidade da pressão arterial média
<b>BPV<sub>PHF</sub></b>	Potência espectral de alta frequência da variabilidade da pressão arterial média
<b>BPV<sub>PLF</sub></b>	Potência espectral de baixa frequência da variabilidade da pressão arterial média
<b>CEUA</b>	Comissão de ética no uso de animais
<b>cm</b>	Centímetros
$f_H$	Frequência cardíaca
<b>G</b>	Ganho barorreflexo
<b>G<sub>N</sub></b>	Ganho barorreflexo normalizado
<b>h</b>	Horas
<b>HF</b>	Alta frequência ( <i>High frequency</i> )
<b>HRV</b>	Variabilidade da frequência cardíaca
<b>HRV<sub>PHF</sub></b>	Potência espectral de alta frequência da variabilidade da frequência cardíaca
<b>HRV<sub>PLF</sub></b>	Potência espectral de baixa frequência da variabilidade da frequência cardíaca
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IEB</b>	Índice de eficiência barorreflexa
<b>IP</b>	Intervalo de pulso
<b>kg</b>	Quilograma
<b>kPa</b>	Quilopascal
<b>l</b>	Litros
<b>LF</b>	Baixa frequência ( <i>Low frequency</i> )
<b>m</b>	Metros
<b>mg</b>	Miligramas
<b>min</b>	Minutos

<b>ml</b>	Mililitros
<b>ms</b>	Milissegundos
<b>NANC</b>	Não-colinérgico e não-adrenérgico
<b><math>P_A</math></b>	Pressão arterial
<b><math>P_A</math> média</b>	Pressão arterial média
<b><math>PPF</math></b>	Produto pressão-frequência
<b><math>P_s</math></b>	Pressão sistólica
<b><math>Q_c</math></b>	Débito cardíaco
<b>SDA</b>	Ação dinâmica específica ( <i>Specific dynamic action</i> )
<b>s</b>	Segundos
<b><math>VO_2</math></b>	Consumo de oxigênio

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	19
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
3.1. OS ANIMAIS .....	20
3.2. DETERMINAÇÃO DO PICO METABÓLICO PÓS-PRANDIAL.....	21
3.2.1. <i>Protocolo experimental: respirometria de sistema fechado</i> .....	21
3.2.2. <i>Análise dos dados: cálculo do consumo de oxigênio pré e pós-prandial</i> .....	23
3.2.3. <i>Análise estatística</i> .....	23
3.3. INVESTIGAÇÃO DOS AJUSTES CARDIOVASCULARES PÓS-PRANDIAIS E SEUS MECANISMOS DE CONTROLE AUTONÔMICO .....	24
3.3.1. <i>Instrumentalização</i> .....	24
3.3.2. <i>Aquisição das variáveis cardíacas</i> .....	25
3.3.3. <i>Protocolo experimental</i> .....	25
3.3.4. <i>Análise de dados: cálculo dos tónus adrenérgico e colinérgico cardíacos</i> .....	27
3.3.5. <i>Análise de dados: avaliação da variabilidade da <math>f_H</math> e da <math>P_A</math> média</i> .....	28
3.3.6. <i>Análise de dados: avaliação da eficiência do barorreflexo pelo Método da Sequência</i> .....	28
3.3.7. <i>Análise estatística</i> .....	30
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
4.1. CONSUMO DE OXIGÊNIO PRÉ E PÓS-PRANDIAL E A DETERMINAÇÃO DO PICO METABÓLICO .....	31
4.2. VARIÁVEIS CARDIOVASCULARES PRÉ E PÓS-PRANDIAIS.....	33
4.3. EFEITOS DA INFUSÃO DE VEÍCULO NAS VARIÁVEIS CARDÍACAS .....	40
4.4. TESTE DA EFETIVIDADE DOS BLOQUEIOS FARMACOLÓGICOS.....	41
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
5.1. RESPOSTAS DO METABOLISMO AERÓBIO À DIGESTÃO.....	42
5.2. OS AJUSTES CARDIOVASCULARES PÓS-PRANDIAS E SEUS MECANISMOS DE CONTROLE AUTONÔMICO .....	44
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>52</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A digestão consiste em um processo complexo, caracterizado pela ingestão, quebra físico-química de biomoléculas e absorção dos macro e micronutrientes – transcurso que resulta em considerável incremento metabólico derivado principalmente das demandas energéticas gastrointestinais (ANDRADE et al., 2005; MCCUE, 2006; SECOR, 2009). Inúmeros ajustes fisiológicos ocorrem para suprir esse incremento metabólico, dentre os quais estão incluídos os ajustes cardiovasculares (ANDRADE et al., 2005; BRAGA et al., 2016). Esse conjunto de alterações fisiológicas associadas à digestão é comumente denominado Ação Dinâmica Específica (SDA – *Specific Dynamic Action*) (ANDRADE et al., 2005; SECOR, 2009).

Em relação aos ajustes cardiovasculares, estudos prévios com vertebrados documentaram aumentos na frequência cardíaca ( $f_H$ ), débito cardíaco ( $Q_C$ ) e, eventualmente, na pressão arterial ( $P_A$ ) associados aos períodos de digestão – conjunto de alterações que garantem um maior aporte de sangue para todo o organismo a fim de as demandas metabólicas do processo digestório, além de favorecer o transporte de biomoléculas do lúmen intestinal para o sangue (HICKS; WANG; BENNETT et al., 2000; WANG et al., 2001a; ALTIMIRAS et al., 2008; SECOR; WHITE, 2010; CLAËSSON et al., 2015; BRAGA et al., 2016; GUAGNONI et al., 2020). Tais ajustes podem ser controlados tanto pelo sistema nervoso autônomo (via neurotransmissores secretados diretamente nos órgãos-alvo por terminações nervosas ou via catecolaminas secretadas na corrente sanguínea por células cromafins) quanto pelos fatores não-adrenérgicos não-colinérgicos (NANC) (os quais geralmente são secretados na corrente sanguínea por inúmeras células endócrinas, mas que também podem ser eventualmente secretados por terminações nervosas diretamente nos órgãos-alvo) (NILSSON, 1983; WANG et al., 2001a; LI et al., 2006; SKOVGAARD et al., 2009; ENOK et al., 2012).

Os neurotransmissores autonômicos (acetilcolina e noradrenalina) secretados por terminações nervosas são os principais moduladores dos ajustes a curto prazo da  $f_H$ , enquanto os ajustes a médio e longo prazo são usualmente modulados por catecolaminas e fatores NANC circulantes – apesar de fatores NANC secretados por terminações nervosas também serem capazes de realizar ajustes rápidos nessas variáveis (NILSSON, 1983; ALTIMIRAS, 1999; WANG et al., 2001a; LI et al., 2006; WAALER et al., 2006; BRAGA et al., 2016).

Especificamente, a inervação parassimpática cardíaca (colinérgica) atua por meio da interação da acetilcolina com receptores muscarínicos colinérgicos no nodo sinoatrial. Ao estimular tais receptores, subunidades de proteína G promovem fechamento de canais de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) e abertura de canais de potássio ( $K^+$ ) celulares, reduzindo o influxo de  $Ca^{2+}$  e aumentando o efluxo de  $K^+$ , resultando em uma hiperpolarização de membrana que aumenta os intervalos

entre os potenciais de ação das células autoexcitáveis do nodo sinoatrial, diminuindo a  $f_H$  (TAYLOR et al., 1999; STANFIELD, 2011; TAYLOR et al., 2014). Por outro lado, a inervação simpática cardíaca (adrenérgica) atua por meio da interação da noradrenalina com receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos no nodo sinoatrial e nos cardiomiócitos. Ao estimular tais receptores, as subunidades da proteína G ativam enzimas adenilato ciclase, a qual converte o trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato cíclico de adenosina ( $AMP_C$ ) que, por sua vez, promove a abertura indireta de canais de sódio ( $Na^+$ ) e  $Ca^{2+}$ , aumentando o influxo desses íons nas células. Tal cascata de eventos resulta em uma elevação do potencial de membrana, facilitando a despolarização das células do nodo sinoatrial e dos cardiomiócitos, e aumentando a  $f_H$  e a força de contração do miocárdio (TAYLOR et al., 1999; STANFIELD, 2011; TAYLOR et al., 2014). Portanto, um aumento na  $f_H$  (e, conseqüentemente, no  $Q_C$  e na  $P_A$ ) pode ser consequência tanto de uma elevação na atividade simpática cardíaca quanto de uma redução na atividade parassimpática cardíaca – ou ambas alternativas (WANG et al., 2001a; TAYLOR et al., 2014; CLAËSSON et al., 2015; BRAGA et al., 2016). No entanto, como mencionado anteriormente, existem ainda as influências de fatores NANC (e.g., polipeptídios intestinais, insulina e histamina), que também modulam a atividade cardíaca em situação pós-prandial em diversos grupos de vertebrados (RIGEL, 1988; BARON, 1994; WAALER et al., 2006; SKOVGAARD et al., 2009; ENOK et al., 2012; CLAËSSON et al., 2015; BRAGA et al., 2016).

No teleósteo *Dicentrarchus labrax* (Robalo Europeu), a taquicardia pós-prandial é desencadeada exclusivamente por uma redução do tônus parassimpático cardíaco – sem influência de fatores NANC (IVERSEN et al., 2010). Já na Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*; Teleostei), tal ajuste é determinado tanto por uma redução do tônus parassimpático cardíaco quanto pela ação de fatores NANC (GUAGNONI et al., 2020) – mesmo padrão regulatório observado nos anfíbios anuros *Lithobates catesbeianus* e nos répteis da ordem Squamata estudados até a atualidade (*Boa constrictor*, *Python molurus*, *Python regius* e *Python bivittatus*) (WANG et al., 2001a; SKOVGAARD et al., 2009; SLAY et al., 2014; CLAËSSON et al., 2015). Em contrapartida, no crocodiliano *Caiman latirostris* (Jacaré-de-papo-amarelo), a taquicardia pós-prandial é resultado de um aumento do tônus adrenérgico cardíaco associado à ação de fatores NANC (BRAGA et al., 2016) – sendo essa modulação muito semelhante àquela presumida para mamíferos (*Canis lupus*, *Homo sapiens* e *Rattus norvegicus*) (ROTHWELL et al., 1982; YOUNG et al., 1982; ACHESON; JEQUIER; WAHREN, 1983; DIAMOND; LEBLANC, 1987; ASTRUP et al., 1989).

Com base no supramencionado, parece ter havido uma mudança na regulação da taquicardia pós-prandial ao longo da evolução dos vertebrados, passando de uma determinação

primariamente colinérgica em táxons mais primitivos (que usualmente apresentam inervação parassimpática cardíaca mais desenvolvida que a simpática; TAYLOR et al., 2014) para uma determinação primariamente adrenérgica em táxons mais derivados (que usualmente apresentam inervações parassimpática e simpática cardíacas bem desenvolvidas; TAYLOR et al., 2014) – acompanhada de um aumento na participação de fatores NANC. Porém, tal generalização ainda é prematura, visto que essa questão foi estudada em uma pequena diversidade de espécies. Notadamente, essa temática nunca foi abordada em espécies herbívoras, e apenas espécies pertencentes à subordem Serpentes foram investigadas dentro da ordem Squamata – o que configura lacunas importantes no conhecimento acerca da fisiologia e da evolução de vertebrados, especialmente ao considerarmos que a classe Reptilia é parafilética (MODESTO; ANDERSON, 2004).

Além das características morfofisiológicas dentro de um panorama evolutivo as quais são cruciais para as respostas fisiológicas da digestão, deve se levar em conta também nesta análise as características alimentares dos animais, como a quantidade e tamanho do alimento ingerido, sua composição nutricional (com destaque para sua carga proteica, visto que quanto maior a porcentagem de proteína ingerida mais ácido gástrico é necessário para a digestão e mais intensa será a alcalose metabólica decorrente do processo) e a frequência de ingestão de alimentos (relação direta com a quantidade de alimento ingerido, com o gasto energético necessário para manutenção da atividade do trato gastrointestinal e com a manutenção da taxa metabólica padrão) – características que possuem grandes influências sobre as respostas fisiológicas pós-prandiais (SECOR et al., 1997; SECOR, 2001; WANG et al., 2001b; ANDRADE et al., 2005; SECOR, 2009). Entretanto, os estudos sobre essa temática em ectotérmicos terrestres estão focados em investigar as respostas cardíacas pós-prandiais em animais que possuem características alimentares semelhantes entre si – sendo todos carnívoros, de alimentação infrequente e que ingerem presas relativamente grandes em relação ao seu tamanho corporal (HICKS; WANG; BENNETT et al., 2000; SECOR; HICKS; BENNETT, 2000; WANG et al., 2001a; STARCK et al., 2005; SKOVGAARD et al., 2009; SECOR; WHITE, 2010; ENOK et al., 2012; CLAËSSON et al., 2015; BRAGA et al., 2016). Dessa maneira, considerando que as características alimentares dos animais podem ter grande influência nas respostas fisiológicas durante o processo de digestão, é possível que os ajustes cardíacos pós-prandiais de espécies com outras características alimentares sejam diferentes daqueles observados nas espécies já estudadas.

Com base no exposto, o presente trabalho se propôs a investigar os ajustes cardiovasculares pós-prandiais e seus respectivos mecanismos de controle autonômico em um

réptil herbívoro de alimentação frequente e que ingere pequenas porções de alimento em relação ao seu tamanho corporal – o lacertílo *Iguana iguana* (Squamata: Lacertilia). As hipóteses que estruturaram o presente trabalho foram: (1) que a espécie em questão exibiria uma taquicardia pós-prandial de menor magnitude em comparação àquela dos demais répteis estudados por apresentar características alimentares completamente distintas, o que é presumível tendo em vista que o incremento metabólico associado ao trabalho gastrointestinal é menor nesses animais fazendo com que a demanda pelo aporte sanguíneo seja inferior; (2) que os mecanismos de controle da taquicardia pós-prandial seriam semelhantes aos observados nas outras espécies da ordem Squamata (redução da atividade vagal cardíaca associada à ação de fatores NANC), apontando para uma conservação evolutiva de tal característica no táxon em questão; e (3) que a digestão promoveria mais eventos de hipotensão corrigidos pelo barorreflexo conjuntamente ao aumento na eficiência deste ajuste, uma vez que a vasodilatação gastrointestinal necessária para suprir as demandas metabólicas deste processo pode causar um desequilíbrio pressórico ao sistema cardiovascular necessitando da atuação mais eficiente do barorreflexo para estabilizar a  $P_A$ .

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar os ajustes cardiovasculares pós-prandiais e os seus mecanismos de controle autonômico no lacertílio herbívoro *I. iguana*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Calcular o consumo de oxigênio em situações pré e pós-prandiais;
- b. Determinar o pico metabólico da SDA, bem como o momento de sua ocorrência;
- c. Verificar a ocorrência e a magnitude da taquicardia pós-prandial neste lacertílio;
- d. Verificar se a digestão ocasiona alterações na atividade do miocárdio;
- e. Avaliar a influência da digestão no controle autonômico cardíaco;
- f. Verificar se fatores NANC têm participação na taquicardia pós-prandial;
- g. Investigar se a digestão altera a pressão arterial e seus mecanismos de controle neural;
- h. Avaliar se a digestão impacta a eficiência do barorreflexo;
- i. Verificar a origem autonômica do barorreflexo.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de São José do Rio Preto (SP, Brasil) – Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados. Todos os procedimentos necessários para desenvolver o presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da referida instituição (Processo 200/2019).

#### 3.1. OS ANIMAIS

Foram utilizados 24 espécimes adultos de *I. iguana* (Linnaeus, 1758) (Figura 1), de ambos os sexos, com massa corporal igual a  $2,816 \pm 0,351$  kg, obtidos em criadouro científico devidamente regularizado (Jacarezário da UNESP, Câmpus de Rio Claro, SP, Brasil). Os animais foram mantidos em dois recintos (4x4 m) sob fotoperíodo natural, com acesso à água *ad libitum*, alimentação diária *ad libitum* com vegetais picados (couve, cenoura, abobrinha, maçã e banana) e sujeitos a oscilações de temperatura entre 25 e 30°C. Estes locais de manutenção eram cercados por telas gradeadas, as quais permitiram a penetração da luz solar em até 50% da área do recinto. Ademais, os animais tiveram a disposição diversos poleiros para facilitar sua exposição ao Sol, tocas para se refugiar e um tanque de 300 l abastecido com água limpa e potável.



**Figura 1.** Fotografia de um exemplar de *Iguana iguana*. Fonte: Carlos Eduardo de Sousa – responsável técnico pelo Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados (LZCV).

Anteriormente ao início dos experimentos, descritos doravante, todos os animais passaram por um período de aclimação de sete dias em caixas de polietileno (150x60x60 cm) sob as mesmas condições de fotoperíodo e alimentação proporcionadas nos recintos supracitados, porém, alocadas em uma sala com temperatura controlada a  $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  – visando eliminar vieses provocados por oscilações de temperatura no metabolismo dos animais (MOBERLY, 1968; WANG et al., 2002).

### 3.2. DETERMINAÇÃO DO PICO METABÓLICO PÓS-PRANDIAL

O aumento no metabolismo aeróbio é um dos ajustes fisiológicos mais marcantes que pode ser observado na transição do estado de jejum para o alimentado (SECOR, 2009). Ao longo desse processo, os ajustes cardiovasculares responsáveis por suprir as demandas metabólicas gastrointestinais e sistêmicas vão gradativamente se intensificando conjuntamente com a elevação do metabolismo, podendo perdurar até o fim da SDA (HICKS; WANG; BENNETT et al., 2000; SECOR; WHITE, 2010). Dessa maneira, é notável a importância de se conhecer o momento em que a taxa metabólica e/ou o consumo de  $\text{O}_2$  atingem seus valores máximos durante o período pós-prandial para que a investigação dos ajustes cardiovasculares e seus mecanismos de controle autonômico possa ser realizada de forma adequada (WANG et al., 2001a).

Dessa maneira, para que a avaliação dos ajustes cardiovasculares pós-prandiais fosse realizada no momento em que a taxa metabólica dos animais estivesse em seu valor máximo (i.e., pico metabólico da ADE), dez animais foram submetidos a respirometria de sistema fechado com objetivo de quantificar o consumo de oxigênio ( $\text{VO}_2$ ) sob as condições de jejum (Grupo Jejum;  $N = 5$ ) e digestão (Grupo Digestão;  $N = 5$ ).

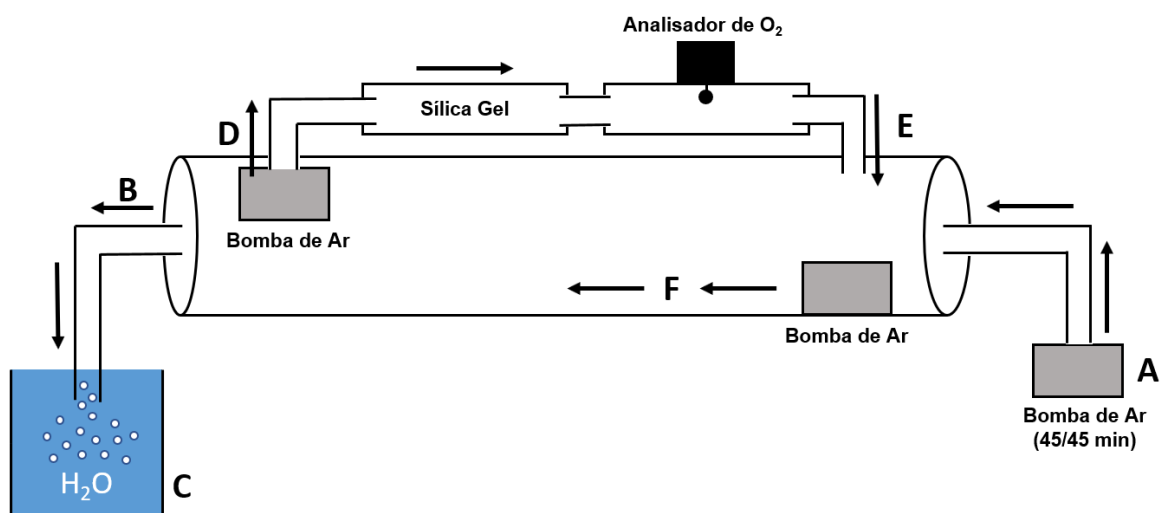
#### 3.2.1. *Protocolo experimental: respirometria de sistema fechado*

Anteriormente ao início dos experimentos, e após o período de aclimação de sete dias à temperatura de  $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , os dois grupos experimentais passaram por um período de jejum prolongado de 96 horas para padronizar o estado metabólico dos indivíduos (LICHTENBELT, 1992; MAXWELL et al., 2003). Após, o Grupo Jejum ( $N = 5$ ) foi mantido nessa condição, enquanto o Grupo Digestão ( $N = 5$ ) foi alimentado com vegetais picados (couve, cenoura, abobrinha, maçã e banana; proporção de 3,5% da massa corporal dos animais; NAGY, 1982; LICHTENBELT, 1992) imediatamente antes da realização dos experimentos.

Posteriormente, os animais foram transferidos para câmaras respirométricas (Figura 2) individuais seladas (45 l), as quais estavam alocadas em uma sala silenciosa com temperatura controlada à  $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . Então, o respirômetro foi acoplado a uma bomba de ar atmosférico

externo ( $1,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ ), que estava conectada a um *timer* configurado para realizar ciclos de liga/desliga a cada 45 minutos – renovando e umidificando o ar da câmara (Figura 2A). Dessa forma, ficou estabelecida uma *fase aberta* de 45 minutos na qual a bomba de ar externo permaneceu ligada, renovando o ar da câmara constantemente, e uma *fase fechada* de 45 minutos na qual a bomba de ar externo permaneceu desligada com intuito de registrar a depleção da quantidade do oxigênio no respirômetro por conta do consumo dos animais.

O respirômetro também dispunha de um tubo para saída de ar, de forma a evitar aumento da pressão interna durante os períodos em que a bomba de ar externa estava ligada (Figura 2B) – ressalta-se que para impedir entrada de ar na câmara através desse tubo durante os períodos em que a bomba de ar externa estava desligada, o mesmo foi mantido imerso em água (Figura 2C). O respirômetro também possuía uma bomba de ar interna ( $0,75 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ ), que bombeou continuamente o ar da câmara para uma coluna de sílica gel e para um analisador de  $\text{O}_2$  (Witrox 1, Loligo Systems), respectivamente – o qual mediu e registrou em um computador a quantidade de  $\text{O}_2$  dentro da câmara ininterruptamente (Figura 2D) através do software WitroxWiew 1.0 (Loligo Systems). Depois de passar pelo analisador, o ar movimentado por tal bomba retornou ao respirômetro, de forma a evitar queda da pressão interna durante os períodos em que a bomba de ar externa estava desligada (Figura 2E). Por fim, uma terceira bomba de ar ( $1,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ ), também localizada dentro do respirômetro, promoveu constante circulação e mistura do ar interno da câmara (Figura 2F), garantindo medições fidedignas pelo analisador de  $\text{O}_2$ .



**Figura 2.** Ilustração esquemática representando o aparato experimental utilizado para realização da respirometria de sistema fechado. As setas pretas indicam fluxo de ar gerado através das bombas. Em A, a bomba de ar externo conectada a um *timer* configurado para realizar ciclos de liga/desliga a cada 45 minutos; em B, uma saída de ar de dentro do respirômetro para um recipiente com água (C), de forma a evitar aumentos de pressão durante a *fase aberta*; em D, uma bomba de ar interna continuamente ligada com intuito de gerar um fluxo contínuo de ar para uma coluna de sílica gel e para um analisador de  $\text{O}_2$ , fazendo-o retornar ao respirômetro posteriormente (E); por fim, em F, uma segunda bomba de ar interna ligada continuamente promoveu constante circulação e mistura dos gases na câmara respirométrica. Fonte: o autor.

### 3.2.2. Análise dos dados: cálculo do consumo de oxigênio pré e pós-prandial

Os animais de ambos os grupos foram mantidos no aparato supracitado por 72 horas, e a medição da  $VO_2$  ocorreu durante os períodos de 45 minutos em que a bomba externa que renova o ar do respirômetro estava desligada – *fase fechada* (uma medição a cada uma hora e meia). Durante esses períodos, houve um decaimento notável na quantidade de  $O_2$  dentro da câmara devido ao consumo desse gás pelo animal e, então, a  $VO_2$  pôde ser calculada de acordo com a equação descrita abaixo:

$$VO_2(\text{ml } O_2 \cdot \text{h}^{-1}) = (V_R - V_A) \cdot (O_{2i} - O_{2f}) \cdot \Delta t^{-1}$$

Onde:  $V_R$  é o volume total do respirômetro (l);  $V_A$  é o volume do animal (l);  $O_{2i}$  é a quantidade de  $O_2$  ( $\text{ml.l}^{-1}$ ) aferida no momento inicial da *fase aberta*;  $O_{2f}$  é a quantidade de  $O_2$  ( $\text{ml.l}^{-1}$ ) aferida no momento final da *fase fechada*;  $\Delta t$  é o intervalo de tempo da fase fechada (h).

Após a obtenção dos valores do consumo de oxigênio ao longo das 72 horas de coleta de dados, foram calculadas médias aritméticas com os três menores valores consecutivos de  $VO_2$  registrados no Grupo Jejum, e com os três maiores valores consecutivos de  $VO_2$  registrados no Grupo Digestão (JACKSON et al., 2015). Em seguida, com intuito de possibilitar a visualização dos aumentos/reduções proporcionais entre a  $VO_2$  do Grupo Digestão em relação a do Grupo Jejum, os valores brutos da  $VO_2$  dos animais em digestão (A) obtidos a cada *fase fechada* da respirometria foram relativizados proporcionalmente pela média aritmética dos três menores valores consecutivos da  $VO_2$  registrada no Grupo Jejum (B), como descrito na equação abaixo:

$$VO_2(\%) = \left( \frac{A - B}{B} \right) \times 100$$

Onde: “A” representa os valores brutos de  $VO_2$  a registrados a cada uma hora e meia no Grupo Digestão; “B” representa o valor encontrado pela média aritmética dos três menores valores consecutivos de  $VO_2$  no Grupo Jejum.

Posteriormente, os dados percentuais de  $VO_2$  foram plotados em um gráfico em função do tempo para melhor visualização dos aumentos/reduções proporcionais na variável em questão, permitindo também verificar o momento exato em que ocorreu o pico da SDA (i.e., momento da digestão em que a  $VO_2$  atinge seu valor máximo;  $\Delta t_{\text{pico}}$ ).

### 3.2.3. Análise estatística

Com auxílio do software estatístico *Prism* 8.0 (GraphPad Inc.), as médias aritméticas dos três valores consecutivos mais altos da  $VO_2$  do Grupo Digestão e dos três consecutivos mais

baixos do Grupo Jejum foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e Levene. Em seguida, foi realizada uma comparação entre os grupos experimentais através do teste de Teste-t de Student não-pareado bicaudal a fim de elucidar as possíveis diferenças significativas entre a  $VO_2$  pré e pós-prandial. Para todos os testes foi considerado nível de significância  $p \leq 0,05$ . Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão médio (E.P.M.).

### 3.3. INVESTIGAÇÃO DOS AJUSTES CARDIOVASCULARES PÓS-PRANDIAIS E SEUS MECANISMOS DE CONTROLE AUTONÔMICO

#### 3.3.1. Instrumentalização

Anteriormente ao início da instrumentalização e após o período de aclimação de sete dias à temperatura de 25°C, os dois grupos experimentais passaram por um período de jejum prolongado de 96 horas para padronizar o estado metabólico dos indivíduos (LICHTENBELT, 1992; MAXWELL et al., 2003). Após, o Grupo Jejum ( $N = 7$ ) foi mantido nessa condição, enquanto o Grupo Digestão ( $N = 7$ ) foi alimentado com vegetais picados (couve, cenoura, abobrinha, maçã e banana; proporção de 3,5% da massa corporal dos animais; NAGY, 1982; LICHTENBELT, 1992) imediatamente antes da instrumentalização.

Em uma mesa cirúrgica veterinária, os lagartos foram anestesiados por inalação de isoflurano (3%) e  $O_2$  (97%) através de uma máscara até apresentarem perda de tônus muscular e ausência de resposta física à manipulação (MOSLEY, 2005; ARMELIN et al., 2019). Então, a glote dos animais foi entubada com uma sonda endotraqueal para ventilar diretamente seus pulmões com outra mistura gasosa de isoflurano (1%) e  $O_2$  (99%) a fim de manter a anestesia durante todo procedimento (MOSLEY, 2005). A ventilação foi mantida em uma taxa de 4 respirações.min<sup>-1</sup> com um volume corrente de 20 ml.kg<sup>-1</sup>, utilizando um aparato veterinário de anestesia ventilatória (Colibri, Brasmed) (MOSLEY, 2005; LOPES et al., 2017).

Subsequentemente, com os animais devidamente anestesiados, foi realizada uma incisão de 3 cm na região ventral da coxa esquerda dos indivíduos, expondo a artéria femoral para inserção oclusiva de uma cânula de polietileno (PE50) contendo solução salina heparinizada (100 UI.ml<sup>-1</sup>; 0,9% NaCl), a qual permitiu a realização de administrações farmacológicas e o registro da  $P_A$  na artéria femoral (TUCKER, 1966; HOHNKE, 1975; ACKERMAN; WHITE, 1980). Ademais, foi injetado o anestésico lidocaína (diluição de 2%; 2 mg.kg<sup>-1</sup>), via intramuscular, próximo ao local da incisão a fim de minimizar a dor e o desconforto do animal após a cirurgia (MOSLEY, 2005; FILOGONIO et al., 2019). Em seguida, os animais foram transferidos para tubos de contenção individuais, alocados em uma sala silenciosa com temperatura controlada ( $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ), no qual passaram por um período de recuperação de 20

horas até o momento do pico metabólico pós-prandial (como será demonstrado doravante na seção de resultados pela variável  $\Delta t_{\text{pico}}$ ).

### 3.3.2. *Aquisição das variáveis cardíacas*

Após o período de recuperação cirúrgica, a cânula arterial foi conectada a um transdutor de pressão (BIOPAC SS13L, BIOPAC Systems) previamente calibrado para adquirir e registrar continuamente, à 1000 Hz, os pulsos pressóricos da  $P_A$  na artéria femoral utilizando o sistema de aquisição de dados BIOPAC MP36 (BIOPAC Systems). A partir desse registro, a  $P_A$  média (kPa) dos animais foi obtida através da média aritmética da  $P_A$  e a  $f_H$  (bpm) foi obtida por meio da contagem dos pulsos da  $P_A$  que ocorrem a cada um minuto. Para acessar a medida representativa da atividade do miocárdio denominada produto pressão-frequência ( $PPF$ ;  $\text{kPa}\cdot\text{min}^{-1}$ ), a pressão sistólica ( $P_S$ ) média (kPa) foi obtida através da média aritmética dos maiores valores da  $P_A$ , e então foi multiplicada pela  $f_H$  (WHITE, 1999; DA SILVA et al., 2008; ZENA et al., 2016). Além disso, o intervalo de pulso cardíaco (IP; ms) foi obtido por meio da contagem do intervalo de tempo existente entre os pulsos da  $P_A$ . Essa variável foi necessária para calcular o tônus autonômico cardíaco, analisar a variabilidade da  $f_H$  e avaliar a eficiência do barorreflexo dos animais pelo Método da Sequência (métodos detalhados nas próximas seções).

### 3.3.3. *Protocolo experimental*

Após a conexão da cânula no transdutor de pressão e do preparo do sistema de aquisição de dados, as variáveis cardíacas dos animais do Grupo Jejum e do Grupo Digestão foram coletadas pelo período de uma hora com os animais não-tratados (sem influência de fármacos antagonistas autonômicos).

Ao término deste período, foi administrada solução salina (0,9% NaCl), via cânula arterial, para investigar as possíveis influências de alterações volêmicas nas variáveis estudadas causadas pelas aplicações dos fármacos administrados subsequentemente no protocolo experimental. Para isso, o maior volume de fármaco aplicado foi utilizado como referência para o volume de solução salina. O período de coleta dos dados após esta administração intrarterial foi de 30 minutos.

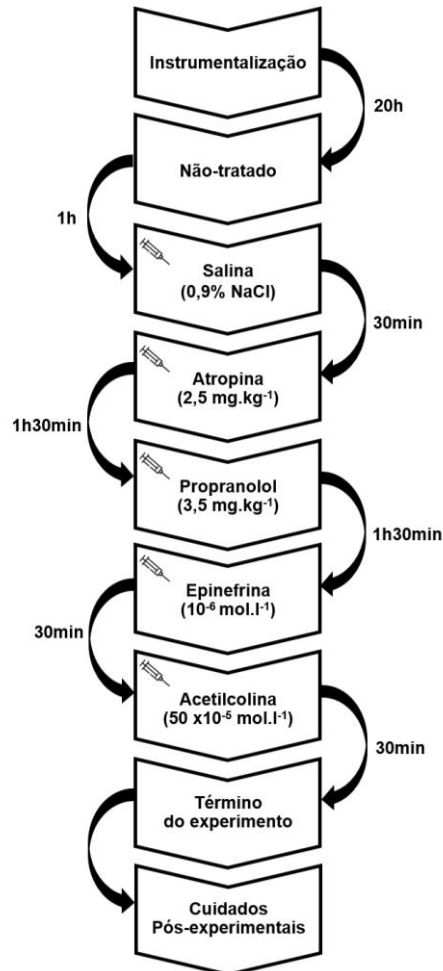
Em seguida, o antagonista muscarínico-colinérgico sulfato de atropina ( $2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; TROIANO et al., 2018) foi administrado via cânula arterial, seguido da infusão de 0,5 ml de solução salina heparinizada ( $100 \text{ UI}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; 0,9% NaCl) para evitar que o fármaco ficasse estagnado no interior da cânula. Então, foram aguardados 30 minutos para que a atropina

pudesse exercer seus efeitos, e as variáveis cardíacas foram novamente coletadas pelo período de uma hora com os animais sob bloqueio autonômico cardíaco parassimpático (TROIANO et al., 2018).

Posteriormente a coleta de dados com os animais atropinizados, o antagonista  $\beta$ -adrenérgico cloridrato de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ; TROIANO et al., 2018) foi administrado, via cânula arterial, seguido de uma infusão de 0,5 ml de solução salina heparinizada ( $100 \text{ UI.ml}^{-1}$ ; 0,9% NaCl) para que o fármaco ficasse contido no interior da cânula. Após 30 minutos para que o propranolol pudesse exercer seus efeitos, as variáveis cardíacas dos animais foram coletadas pelo período de uma hora. Ressalta-se que a administração de propranolol estabeleceu um duplo bloqueio autonômico no coração dos animais, visto que a atropina ainda estava bloqueando os receptores muscarínicos-colinérgicos cardíacos (SARTORI et al., 2015; TROIANO et al., 2018).

Ao término deste período de coleta, foi testada a efetividade dos bloqueios farmacológicos supracitados através da administração, via cânula arterial, de epinefrina ( $10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ; TROIANO et al., 2018) e de cloreto de acetilcolina ( $50 \times 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ ; MCKENZIE et al., 2007), respectivamente. Dessa forma, foi possível garantir e comprovar a ausência completa de regulação autonômica no coração dos animais após este tratamento (MCKENZIE et al., 2007; TROIANO et al., 2018). O período de coleta dos dados após a aplicação da epinefrina e do cloreto de acetilcolina foi de 30 minutos para cada um dos fármacos.

Finalizados os experimentos, os animais foram anestesiados com isoflurano exatamente como descrito nos procedimentos para instrumentalização (seção 3.3.1) e a cânula intrarterial foi removida. Após a recuperação da anestesia os animais foram encaminhados aos recintos de manutenção e acompanhados diariamente durante um mês. O analgésico lidocaína (diluição 2%;  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e o anti-inflamatório meloxicam ( $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) foram aplicados, via intramuscular, a cada dois dias por duas semanas a fim de minimizar a dor dos animais e conter possíveis reações inflamatórias pós-cirúrgicas (MOSLEY, 2005). Para facilitar a compreensão, todo o protocolo experimental encontra-se esquematizado na figura 3.



**Figura 3.** Esquema do protocolo experimental colocado em prática no presente trabalho, o qual foi utilizado para investigar os ajustes cardiovasculares pós-prandiais de *Iguana iguana* e os seus respectivos mecanismos de controle neural. Fonte: o autor.

#### 3.3.4. Análise de dados: cálculo dos tónus adrenérgico e colinérgico cardíacos

Para avaliar a influência da digestão no controle autonômico cardíaco, os tónus adrenérgico e colinérgico no coração dos animais foram calculados utilizando os IP (60000/f<sub>H</sub>; ms) observados anteriormente e posteriormente aos bloqueios autonômicos cardíacos, através das equações descritas abaixo propostas por Altimiras et al. (1997), e em seguida comparados entre o Grupo Jejum e o Grupo Digestão:

$$\text{Tônus adrenérgico cardíaco (\%)} = \left( \frac{\text{IP}_{\text{duplo bloqueio}} - \text{IP}_{\text{atropina}}}{\text{IP}_{\text{duplo bloqueio}}} \right) \times 100$$

$$\text{Tônus colinérgico cardíaco (\%)} = \left( \frac{\text{IP}_{\text{não-tratado}} - \text{IP}_{\text{atropina}}}{\text{IP}_{\text{duplo bloqueio}}} \right) \times 100$$

Onde: “IP<sub>não-tratado</sub>”, “IP<sub>atropina</sub>” e “IP<sub>duplo bloqueio</sub>” representam, respectivamente, os valores do intervalo de pulso dos animais na condição não-tratada, sob bloqueio muscarínico colinérgico cardíaco realizado com atropina e duplo bloqueio autonômico cardíaco.

### 3.3.5. *Análise de dados: avaliação da variabilidade da $f_H$ e da $P_A$ média*

Para analisar a variabilidade da  $f_H$  (HRV) e da  $P_A$  média (BPV) foram utilizados trechos de dados do IP (recíproco à  $f_H$ ) e da  $P_A$  média, respectivamente, contendo 256 ciclos cardíacos dos animais do Grupo Jejum e do Grupo Digestão nos três tratamentos estudados (não-tratados, atropinizados, e sob duplo bloqueio autonômico cardíaco). Então, estes trechos foram convertidos em tacogramas de IP e de  $P_A$  média no software BIOPAC Student Lab Pro v3.7 (BIOPAC Systems) e foram exportados como arquivos de texto (\*.txt) para o processamento no software CardioSeries v2.4, o qual fez uma reamostragem por meio da inserção de pontos a cada 333 ms via interpolação de *splines* cúbicas (3 Hz). As séries interpoladas foram divididas em segmentos de 256 pontos com sobreposição de 50%. Uma janela de Hanning foi utilizada para atenuar o vazamento espectral. Em seguida, os espectros de variabilidade foram calculados para todos os segmentos com uma Transformação Rápida de Fourier (FFT) e foram sobrepostos para a formação de um espectro final único. Com um espectro único gerado em cada tratamento para cada animal, foi possível calcular a amplitude espectral média de cada tratamento em ambos os grupos experimentais.

Dessa maneira, através dos espectros gerados para cada tratamento, foi possível localizar os picos de baixa (LF;  $\geq 0,1$  Hz) e de alta frequência (HF;  $\leq 0,1$  Hz) com base nos picos que vieram a ser consideravelmente reduzidos após os bloqueios farmacológicos. A partir dessa determinação, foi calculada a potência espectral de LF ( $HRV_{PLF}$  e  $BPV_{PLF}$ ; i.e., área abaixo do pico LF), e a potência espectral de HF ( $HRV_{PHF}$  e  $BPV_{PHF}$ ; i.e., área abaixo do pico HF), com o objetivo de avaliar a dinâmica simpátovagal pré e pós-prandial.

### 3.3.6. *Análise de dados: avaliação da eficiência do barorreflexo pelo Método da Sequência*

A eficiência do barorreflexo dos animais foi avaliada utilizando trechos contínuos com 300 ciclos cardíacos contendo o IP e a  $P_S$  média extraídas dos indivíduos do Grupo Jejum e do Grupo Digestão, anteriormente e posteriormente as infusões dos antagonistas autonômicos. Estes trechos foram convertidos em tacogramas no software BIOPAC Student Lab Pro v3.7 e exportados como arquivos de texto (\*.txt) para processamento no software CardioSeries – o qual identificou: (1) sequências de três ou mais ciclos cardíacos em que aumentos progressivos na  $P_S$  média foram acompanhados por aumentos progressivos no IP (redução na  $f_H$ ), e (2) sequências de três ou mais ciclos cardíacos em que reduções progressivas na  $P_S$  média foram acompanhadas por reduções progressivas no IP (aumento na  $f_H$ ) – as chamadas sequências barorreflexas (BERTINIERI et al., 1985; BERTINIERI et al., 1988; DI RIENZO et al., 2001a).

Os limiares para detecção de aumento ou redução na  $P_S$  média ou IP foram de  $>0,1$  kPa e  $>1,0$  ms, respectivamente. Assim, qualquer alteração nessas variáveis que superaram os

limiares impostos foi levada em conta pelo software na identificação de sequências barorreflexas. Além disso, o software foi configurado para identificar sequências barorreflexas com 01 ciclo cardíaco de atraso entre as oscilações na  $P_S$  média e as alterações reflexas no IP – o qual representa o tempo necessário para a ocorrência da alça barorreflexa (PICKERING E DAVIES, 1973; BORST E KAREMAKER, 1983; DAVIES et al., 2001; DI RIENZO et al., 2001a; LAUDE et al., 2009; FILOGONIO et al., 2019).

Após tal processo de identificação, o software fez regressões lineares entre a  $P_S$  média e o IP das sequências barorreflexas individualmente, e calculou o coeficiente de correlação e o coeficiente angular de cada uma das regressões (BERTINIERI et al., 1985; STAUSS et al., 2006). Para evitar que sequências geradas por mecanismos não-barorreflexos viessem os resultados, foram consideradas na análise apenas as sequências cuja regressão linear apresentou um coeficiente de correlação entre a  $P_S$  média e o IP igual ou superior a 80% ( $R^2 \geq 0,8$ ).

O número de sequências barorreflexas *Up* (aumento na  $P_S$  média acompanhada de aumento no IP) e a número de sequências barorreflexas *Down* (redução na  $P_S$  média acompanhada de redução no IP) foram contabilizadas como forma de mensurar o número de aumentos e reduções na  $P_S$  média que foram corrigidas via reflexo barostático. O número total de sequências barorreflexas (soma das sequências *Up* e *Down* – sequências *All*) foi calculado a fim de verificar a quantidade geral de perturbações pressóricas sofridas pelos animais e que foram corrigidas via barorreflexo. O ganho barorreflexo ( $G$ ; s.kPa<sup>-1</sup>) – representação da magnitude da resposta no IP por alteração na  $P_S$  média – foi calculado para cada animal como a média aritmética do coeficiente angular de todas as regressões lineares individuais (BERTINIERI et al., 1985; STAUSS et al., 2006). O índice de efetividade do barorreflexo (IEB; sem unidade) foi calculado para cada animal como a razão entre o número de sequências barorreflexas e o de rampas na  $P_S$  média (sequências de variação na  $P_S$  média acompanhadas ou não de alterações reflexas no IP) encontradas na série temporal analisada –recíproco a porcentagem de alterações na  $P_S$  média que causaram um barorreflexo (DIRIENZO et al., 2001b).

Por fim, considerando a influência da digestão no IP dos animais, o  $G$  foi normalizado para permitir uma comparação mais fidedigna entre o ganho barorreflexo observado em animais do Grupo Jejum e do Grupo Digestão. O  $G$  de cada animal foi normalizado em porcentagem de seu IP na condição não-tratada (basal) por alteração na  $P_S$  média ( $G_N$ ; % .kPa<sup>-1</sup>), de acordo com a equação abaixo:

$$G_N (\% \cdot \text{kPa}^{-1}) = (G \times 100) / \text{IP}_{\text{n\~{a}o-tratado}}$$

Onde:  $G_N$  representa o ganho barorreflexo normalizado;  $G$  como o ganho barorreflexo bruto; e o “ $\text{IP}_{\text{n\~{a}o-tratado}}$ ” representa os valores do intervalo de pulso dos animais na condição não-tratada.

A comparação entre os resultados da análise do barorreflexo pelo Método da Sequência observados no Grupo Jejum e no Grupo Digestão permitiu avaliar o impacto do processo digestivo na eficiência da regulação em curto prazo da  $P_A$  dos animais. Já os resultados observados nesses grupos posteriormente às administrações dos antagonistas autonômicos teve como objetivo possibilitar uma confirmação da origem regulatória das respostas estudadas. Todos os procedimentos experimentais relacionados ao método da sequência foram realizados de acordo com estudos e recomendações previamente publicadas (BERTINIERI et al., 1985; DI RIENZO et al., 2001a; LAUDE et al., 2009), e sua validade para répteis foi atestada recentemente por Filogonio et al. (2019).

### 3.3.7. Análise estatística

Primeiramente, todos os valores encontrados correspondentes a todas as variáveis cardiovasculares estudadas foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de Levene para verificar a normalidade e homocedasticidade do conjunto de dados.

Os valores obtidos para as variáveis cardiovasculares ( $f_H$ ,  $P_A$  média,  $PPF$ ,  $HRV_{PLF}$ ,  $HRV_{PHF}$ ,  $BPV_{PLF}$ ,  $BPV_{PHF}$ , nº de sequências barorreflexas  $Up$ , nº de sequências barorreflexas  $Down$ , nº sequências  $All$ ,  $G$ ,  $G_N$  e IEB) foram comparados entre os grupos experimentais (1º fator) e entre os tratamentos (2º fator) através de uma ANOVA two-way de medidas repetidas complementada pelo pós-teste de comparações múltiplas de Holm-Sidak. As comparações dos resultados de tônus autonômico cardíaco colinérgico e adrenérgico entre o Grupo Jejum e o Grupo Digestão foram realizadas por meio de uma ANOVA one-way complementada pelo pós-teste de comparações múltiplas de Holm-Sidak.

As possíveis alterações nas variáveis cardiovasculares basais ( $f_H$  e  $P_A$  média) induzidas pela administração de solução salina foram avaliadas por meio de um Teste-t de Student pareado bicaudal. Por fim, buscando verificar se o bloqueio autonômico do coração foi realmente efetivado, foi realizado um Teste-t de Student pareado bicaudal para comparar a  $f_H$  e a  $P_A$  média dos animais anteriormente e posteriormente às aplicações de acetilcolina e epinefrina dentro de cada grupo experimental.

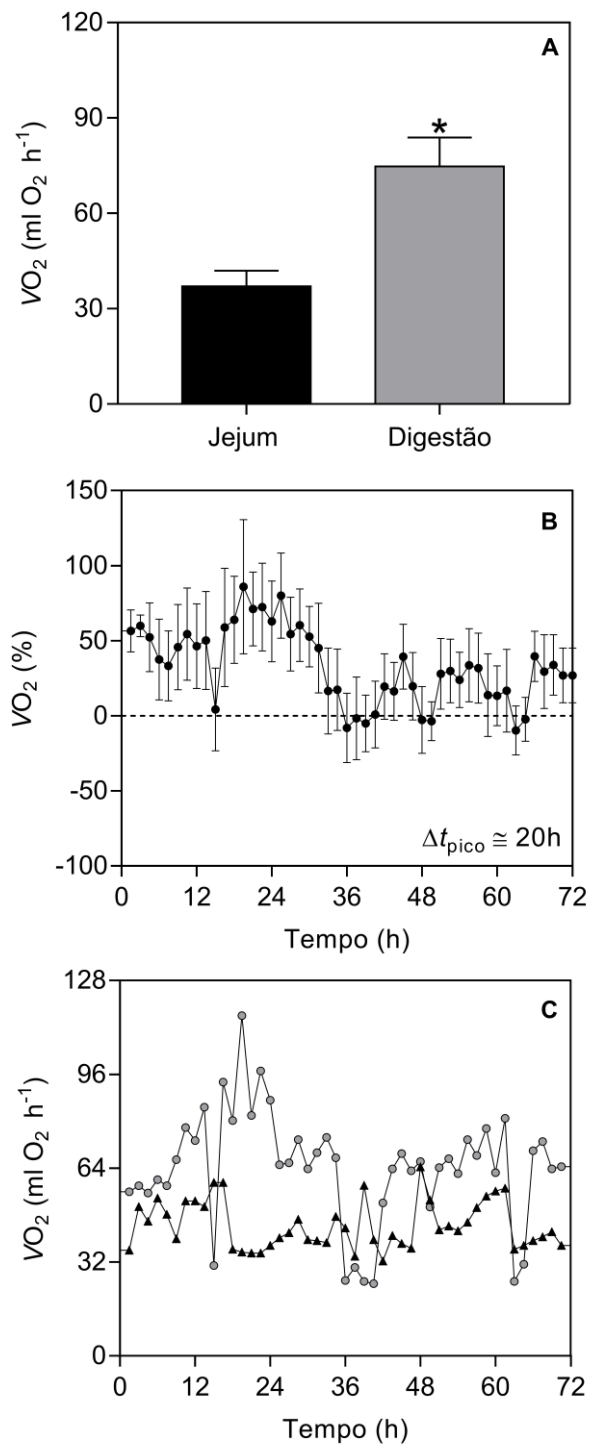
Para todos os testes descritos nesta seção foi adotado valor de  $p \leq 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas no *Prism* 8.0 (GraphPad Inc.), assim como a construção dos gráficos exibidos a seguir na seção de resultados. Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. O CONSUMO DE OXIGÊNIO PRÉ E PÓS-PRANDIAL E A DETERMINAÇÃO DO PICO METABÓLICO

A figura 4A mostra os valores médios da  $VO_2$  de *I. iguana* obtidos no Grupo Jejum e no Grupo Digestão. Como é possível observar através desta figura, a média da  $VO_2$  dos lagartos que foram submetidos a alimentação ( $74,73 \pm 9,17 \text{ ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1}$ ) se apresentou significativamente superior à dos indivíduos que foram mantidos em jejum ( $37,04 \pm 4,93 \text{ ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1}$ ). Esse aumento no consumo de oxigênio pós-prandial pode ser observado tanto nos valores relativizados em porcentagem na Figura 4B, como nos valores brutos da  $VO_2$  de animais representativos ilustrados na Figura 4C.

Através do registro percentual ilustrado na Figura 4B, é possível observar que a diferença percentual da  $VO_2$  registrada no tempo inicial (0h) entre os animais alimentados e os que permaneceram em jejum é de  $57 \pm 14\%$ , e que posteriormente essa diferença atinge seu pico próximo das 20 horas com uma diferença percentual de  $87 \pm 44\%$  ( $\Delta t_{\text{pico}} \cong 20\text{h}$ ). Por fim, deve-se destacar que após o pico metabólico os valores da  $VO_2$  do Grupo Digestão foram gradativamente decaindo e cada vez mais se assemelhando aos do Grupo Jejum, como pode ser observado às 36 horas quando os valores percentuais da  $VO_2$  intersectam a linha pontilhada na Figura 4B. O reflexo destas alterações em porcentagem pode ser observado claramente ao comparar a  $VO_2$  ( $\text{ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1}$ ) dos animais representativos (Figura 4C), uma vez que apresentam grande semelhança entre as alterações percentuais ponto a ponto ao longo do tempo.



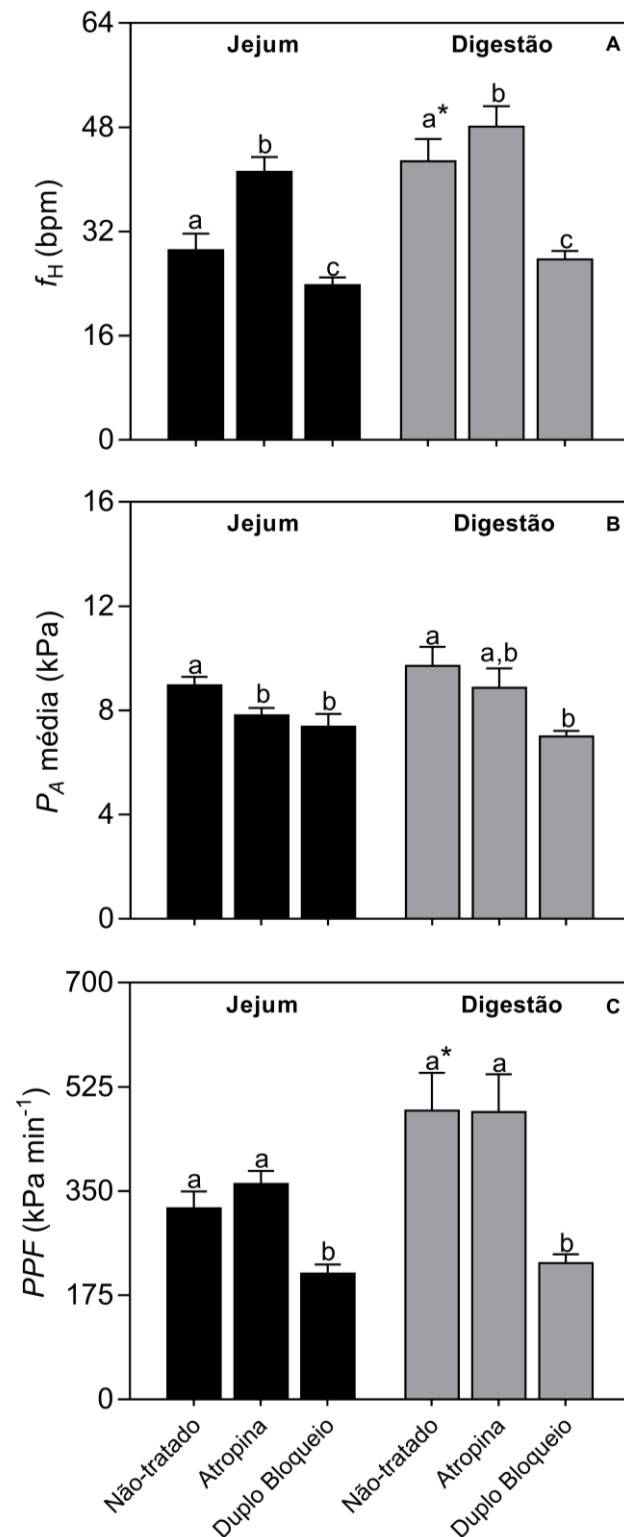
**Figura 4.** Consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) de *Iguana iguana* em situações pré e pós-prandiais. Em A, médias de  $VO_2$  (ml  $O_2 \cdot h^{-1}$ ) calculadas animais em jejum ( $N = 5$ ; coluna preta) e em digestão ( $N = 5$ ; coluna cinza). Em B, representação das mudanças percentuais na  $VO_2$  pós-prandial em relação ao consumo de oxigênio basal dos animais em jejum ao longo do tempo. A linha pontilhada representa uma linha de referência, ou seja, os pontos registrados acima dela representam incremento na  $VO_2$  pós-prandial em relação ao jejum, abaixo representam decréscimo e quando alinhados a ela demonstram equilíbrio. Em C, estão representados valores brutos de  $VO_2$  de animais representativos do Grupo Jejum (triângulos pretos) e do Grupo Digestão (círculos cinzas) ao longo do tempo. O asterisco sobrescrito a barra padrão médio indica diferença significativa em relação ao Grupo Jejum ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M., exceto em C onde estão sendo apresentados animais representativos da média. Fonte: o autor.

#### 4.2. VARIÁVEIS CARDIOVASCULARES PRÉ E PÓS-PRANDIAIS

A média da  $f_H$  (Figura 5A) dos animais do Grupo Jejum quando não-tratados foi de  $29,12 \pm 2,56$  bpm, a qual aumentou significativamente após o bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $41,17 \pm 2,29$  bpm), e decaiu significativamente em seguida para  $23,75 \pm 1,22$  bpm após o duplo bloqueio autonômico. Já no Grupo Digestão, foi registrada uma  $f_H$  média de  $42,77 \pm 3,45$  bpm nos animais não-tratados, valor significativamente maior que ao encontrado nos animais em jejum sob o mesmo tratamento. Ainda, foi observado um aumento significativo nesta variável para  $48,11 \pm 3,13$  bpm após a administração de atropina, e, subsequentemente, uma redução também significativa após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco ( $27,84 \pm 1,31$  bpm). Por fim, é importante salientar que a  $f_H$  dos animais atropinizados e sob duplo bloqueio autonômico cardíaco do Grupo Digestão não diferiu significativamente em relação a do Grupo Jejum sob estes mesmos tratamentos.

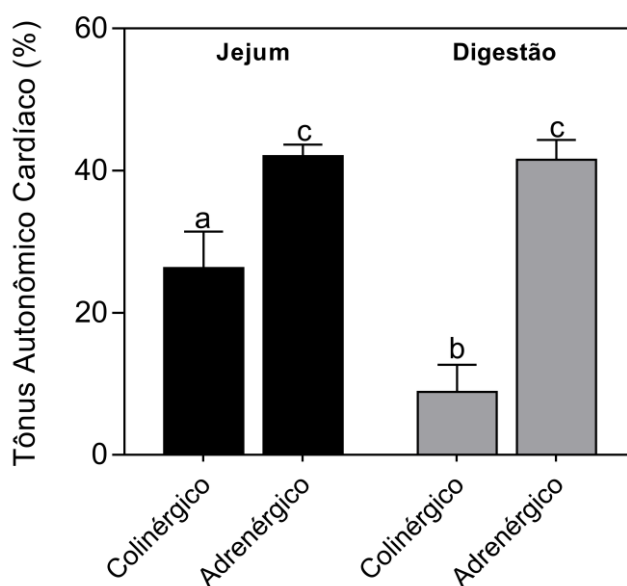
De maneira geral, a digestão não promoveu alterações significativas na  $P_A$  média (Figura 5B) dos animais em relação ao jejum sob os mesmos tratamentos. Especificamente, os animais não-tratados em jejum exibiram  $P_A$  média de  $8,96 \pm 0,33$  kPa, a qual sofreu uma redução significativa após o tratamento com atropina ( $7,80 \pm 0,28$  kPa) e esse valor manteve-se sem alterações significativas após o duplo bloqueio autonômico ( $7,37 \pm 0,49$  kPa). Os animais não-tratados em digestão apresentaram  $P_A$  média de  $9,70 \pm 0,74$  kPa, a qual manteve-se sem mudanças significativas após aplicação de atropina ( $8,86 \pm 0,75$  kPa) e, posteriormente ao duplo bloqueio, sofreu uma redução em seus valores médios para  $6,99 \pm 0,21$  kPa. Contudo, deve-se notar que essa redução na  $P_A$  média após o duplo bloqueio se mostrou significativa apenas em relação a condição não-tratada.

Os aumentos/reduções na  $f_H$  provocados pela digestão e pelos bloqueios autonômicos refletiram de maneira geral no indicador de atividade do miocárdio  $PPF$  (Figura 5C). No Grupo Jejum, os animais não-tratados apresentaram valor de  $PPF$  igual a  $320,80 \pm 28,37$  kPa.min<sup>-1</sup>, o qual se manteve sem diferenças significativas após o bloqueio muscarínico colinérgico ( $361,70 \pm 22,23$  kPa.min<sup>-1</sup>) e, após o duplo bloqueio autonômico, sofreu uma redução significativa para  $211,30 \pm 15,52$  kPa.min<sup>-1</sup>. Por outro lado, os animais não-tratados em digestão registraram  $PPF$  igual a  $485,10 \pm 63,55$  kPa.min<sup>-1</sup>, valor significativamente maior que o encontrado nos animais em do Grupo Jejum sob o mesmo tratamento. Ademais, os valores desta variável permaneceram sem alterações significativas após a administração de atropina ( $482,90 \pm 63,24$  kPa.min<sup>-1</sup>), contudo, sofreram uma redução significativa para  $228,90 \pm 14,91$  kPa.min<sup>-1</sup> após o duplo bloqueio autonômico cardíaco.



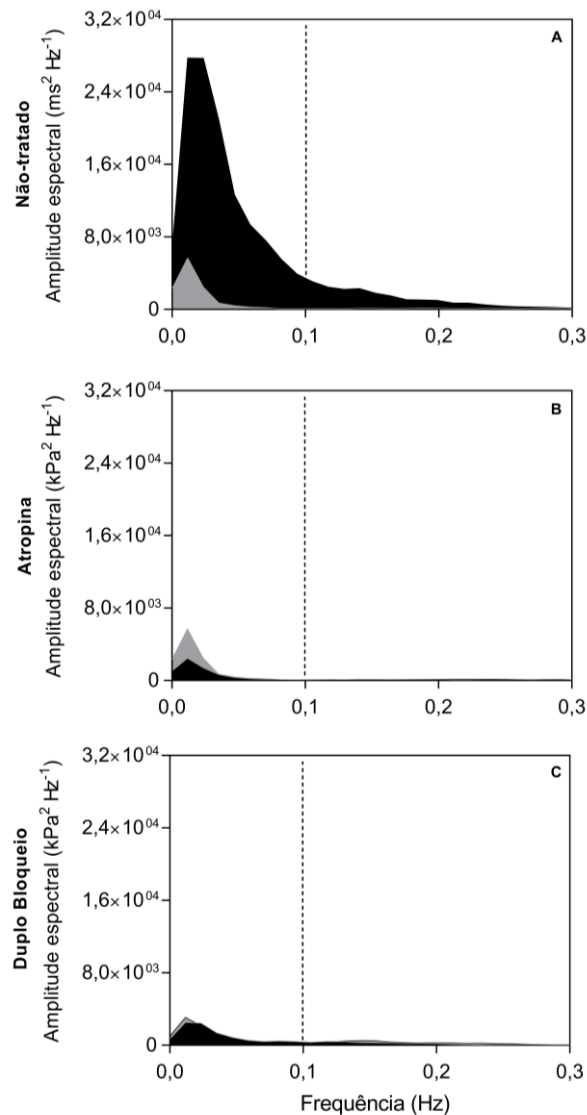
**Figura 5.** Frequência cardíaca ( $f_H$ ; A), pressão arterial média ( $P_A$  média; B) e produto pressão-frequência ( $PPF$ ; C) de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; colunas pretas) e digestão ( $N = 7$ ; colunas cinzas), (B) sob as condições não-tratado, após bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e sob duplo bloqueio autônomo estabelecido após administração de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor.

O processo digestivo também alterou o controle autonômico cardíaco dos animais (Figura 6). Houve uma redução significativa na atuação do tônus colinérgico dos animais alimentados ( $8,84 \pm 3,83\%$ ) em relação a dos animais em jejum ( $26,27 \pm 5,17\%$ ). Por outro lado, a atuação do tônus adrenérgico permaneceu sem alterações significativas ( $42,03 \pm 1,65\%$  no Grupo Jejum e  $41,54 \pm 2,79\%$  no Grupo Digestão). É importante ressaltar que o tônus adrenérgico cardíaco se mostrou significativamente maior que o colinérgico em ambos os grupos experimentais.



**Figura 6.** Tônus autonômico cardíaco colinérgico e adrenérgico calculado nos lagartos *Iguana iguana* do Grupo Jejum (N = 7; colunas pretas) e do Grupo Digestão (N = 7; colunas cinzas). O asterisco sobrescrito à barra de erro padrão médio indica diferença significativa da variável em questão em relação ao Grupo Jejum ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor.

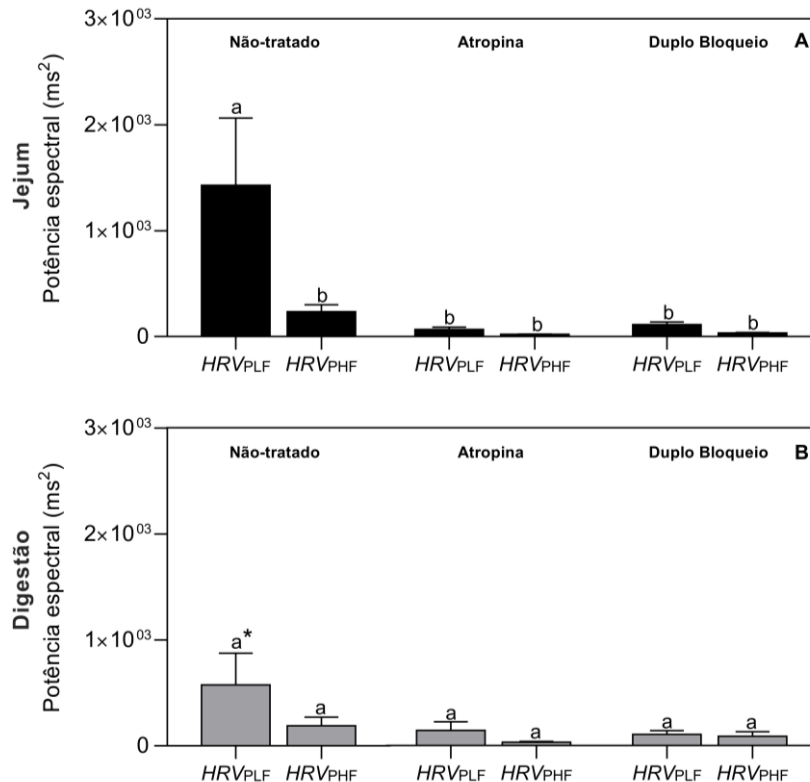
Os espectros do HRV de *I. iguana* apresentados na Figura 7 revelaram que os padrões das oscilações da  $f_H$  encontram-se essencialmente abaixo de 0,30 Hz. Foi possível identificar um pico de baixa frequência (LF) maioritário entre 0,00 e 0,10 Hz em ambos os grupos experimentais quando não-tratados, porém, apenas no Grupo Jejum foi possível verificar um pico de alta frequência (HF) minoritário acima de 0,10 Hz (Figura 7A). Ao comparar os espectros de ambos grupos experimentais sob a condição não-tratada, fica evidente que os animais em digestão apresentaram menor densidade espectral referente às oscilações de baixa frequência em relação aos animais em jejum (Figura 7A). Ademais, nota-se que o pico LF foi marcadamente reduzido no Grupo Jejum após o bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina (Figura 7B) e manteve-se sem alteração após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco (Figura 7C).



**Figura 7.** Amplitude espectral média da variabilidade da frequência cardíaca (HRV) de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; área de cor preta) e digestão ( $N = 7$ ; área de cor cinza) na condição não-tratada (A), após o bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina (B;  $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), e após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco realizado com propranolol (C;  $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). A linha pontilhada separa e demarca as oscilações de baixa frequência na frequência cardíaca ( $0,00 \geq 0,10\text{Hz}$ ) das oscilações de alta frequência ( $\leq 0,10$ ). Fonte: o autor.

Com base na localização dos picos de frequência nos espectros do HRV, foi realizado o cálculo da potência espectral das bandas  $HRV_{PLF}$  e  $HRV_{PHF}$  (Figura 8). Os animais do Grupo Jejum não-tratados apresentaram  $HRV_{PLF}$  igual  $1,429 \times 10^3 \pm 0,630 \times 10^3 \text{ ms}^2$  e  $HRV_{PHF}$  de  $0,236 \times 10^3 \pm 0,064 \times 10^3 \text{ ms}^2$ . Após o tratamento com atropina, o  $HRV_{PLF}$  sofreu uma redução significativa para  $0,067 \times 10^3 \pm 0,022 \times 10^3 \text{ ms}^2$ , enquanto o  $HRV_{PHF}$  se manteve sem alterações ( $0,020 \times 10^3 \pm 0,004 \times 10^3 \text{ ms}^2$ ). Por fim, os valores do  $HRV_{PLF}$  ( $0,113 \times 10^3 \pm 0,025 \times 10^3 \text{ ms}^2$ ) e  $HRV_{PHF}$  ( $0,033 \times 10^3 \pm 0,006 \times 10^3 \text{ ms}^2$ ) após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco não sofreram mudanças significativas em relação ao tratamento atropina.

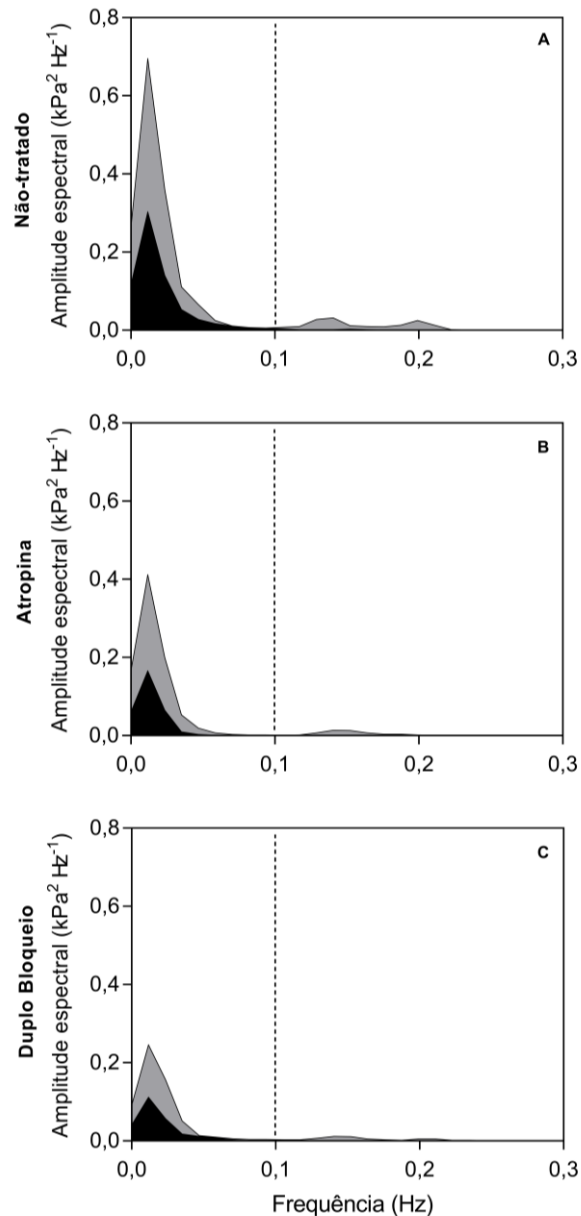
Os animais não-tratados do Grupo Digestão apresentaram  $HRV_{PLF}$  igual  $0,575 \times 10^3 \pm 0,300 \times 10^3 \text{ ms}^2$  (valor significativamente menor que o registrado nos animais não-tratados do Grupo Jejum) e  $HRV_{PHF}$  de  $0,189 \times 10^3 \pm 0,081 \times 10^3 \text{ ms}^2$ . Tais valores não sofreram alterações significativas após a administração com atropina ( $0,142 \times 10^3 \pm 0,082 \times 10^3 \text{ ms}^2$  e  $0,03 \times 10^3 \pm 0,007 \times 10^3 \text{ ms}^2$ , respectivamente) e após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico ( $0,105 \times 10^3 \pm 0,035 \times 10^3 \text{ ms}^2$  e  $0,087 \times 10^3 \pm 0,042 \times 10^3 \text{ ms}^2$ , respectivamente).



**Figura 8.** Potência espectral das bandas de baixa ( $HRV_{PLF}$ ) e alta ( $HRV_{PHF}$ ) frequência localizados nos espectros de variabilidade da  $f_H$  de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; barras de cor preta; A) e em digestão ( $N = 7$ ; barras de cor cinza; B), sob as condições não-tratado, após bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e sob duplo bloqueio autonômico estabelecido após administração de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor.

As análises espectrais do BPV de *I. iguana* revelaram que os padrões das oscilações da  $P_A$  média também se encontram essencialmente abaixo de 0,30 Hz (Figura 9). Foi possível identificar um pico de baixa frequência (LF) maioritário entre 0,00 e 0,10 Hz em ambos os grupos experimentais quando não-tratados (Figura 9A), porém, apenas no Grupo Digestão foi possível verificar um pico de alta frequência (HF) minoritário acima de 0,10 Hz. Ao observar os espectros de ambos os grupos sob a condição não-tratada, nota-se que os animais em digestão apresentaram maior densidade espectral referente às oscilações de baixa frequência em

comparação aos animais em jejum (Figura 7A). É importante notar que o pico maioritário LF sofreu pequenas reduções gradativas em sua amplitude em ambos os grupos experimentais após ao bloqueio muscarínico colinérgico (Figura 9B) e ao duplo bloqueio autonômico (Figura 9C).

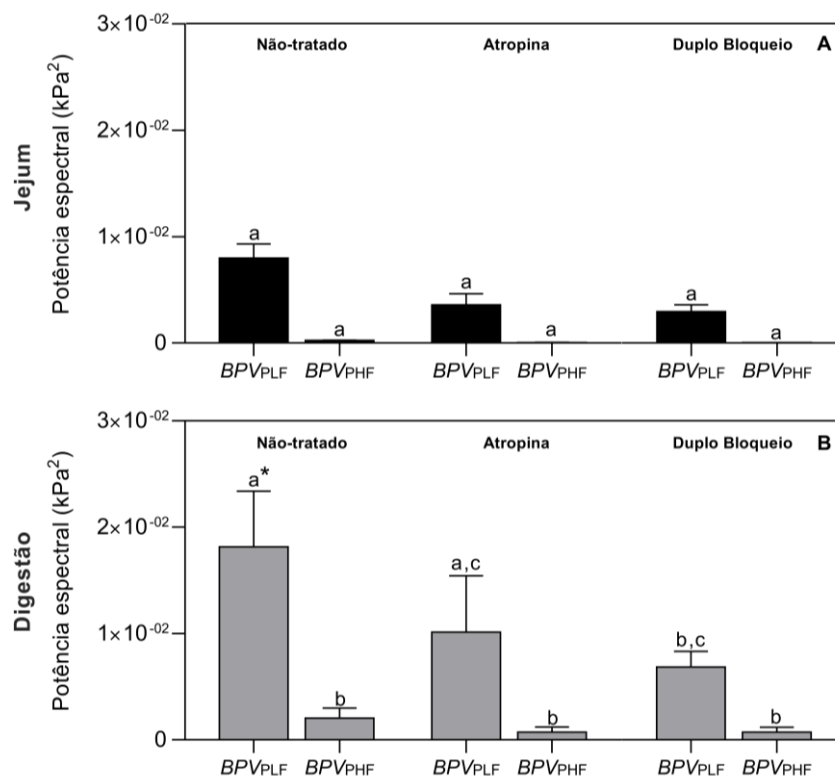


**Figura 9.** Amplitude espectral média da variabilidade da  $P_A$  média (BPV) de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; área de cor preta) e digestão ( $N = 7$ ; área de cor cinza) na condição não-tratada (A), após o bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina (B;  $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), e após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico cardíaco realizado com propranolol (C;  $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). A linha pontilhada separa e demarca as oscilações de baixa frequência ( $0,00 \geq 0,10\text{Hz}$ ) das oscilações de alta frequência ( $\leq 0,10$ ). Fonte: o autor.

Após localizar os picos de frequência nos espectros do BPV, o cálculo da potência espectral das bandas  $BPV_{PLF}$  e  $BPV_{PHF}$  foi realizado e encontra-se representado na Figura 10. Os resultados obtidos através destes cálculos evidenciaram que a digestão foi capaz de promover alterações nos padrões de oscilação de baixa frequência da  $P_A$  média. Os animais em

jejum não-tratados apresentaram  $BPV_{PLF}$  igual  $0,797 \times 10^{-2} \pm 0,134 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup> e  $BPV_{PHF}$  de  $0,024 \times 10^{-2} \pm 0,003 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup>. Após a administração de atropina e, em seguida, com o duplo bloqueio, não houve alterações significativas em  $BPV_{PLF}$  ( $0,360 \times 10^{-2} \pm 0,104 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup> e  $0,297 \times 10^{-2} \pm 0,061 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup>, respectivamente) e  $BPV_{PHF}$  ( $0,004 \times 10^{-2} \pm 0,001 \times 10^{-3}$  kPa<sup>2</sup> e  $0,003 \times 10^{-2} \pm 0,001 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup>, respectivamente).

Os animais não-tratados do Grupo Digestão apresentaram  $BPV_{PLF}$  igual a  $1,81 \times 10^{-2} \pm 0,52 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup> (significativamente maior que o registrado nos animais não-tratados do Grupo Jejum) e  $BPV_{PHF}$  de  $0,20 \times 10^{-2} \pm 0,09 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup>. Após o bloqueio muscarínico colinérgico com atropina, esses valores de  $BPV_{PLF}$  e  $BPV_{PHF}$  não sofreram alterações significativas em relação a condição não-tratada ( $1,01 \times 10^{-2} \pm 0,52 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup> e  $0,07 \times 10^{-2} \pm 0,04 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup>, respectivamente). Com o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico, foi registrada uma redução no  $BPV_{PLF}$  para  $0,68 \times 10^{-2} \pm 0,14 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup> (diferença não significativa em relação ao tratamento atropina, mas significativamente menor que a observada na condição não-tratada), enquanto  $BPV_{PHF}$  permaneceu sem mudanças significativas ( $0,07 \times 10^{-2} \pm 0,04 \times 10^{-2}$  kPa<sup>2</sup>).



**Figura 10.** Potência espectral das bandas de baixa ( $BPV_{PLF}$ ) e de alta ( $BPV_{PHF}$ ) frequência localizados nos espectros de variabilidade da  $P_A$  média de *Iguana iguana* em jejum ( $N = 7$ ; barras de cor preta; A) e em digestão ( $N = 7$ ; barras de cor cinza; B), sob as condições não-tratado, após bloqueio muscarínico colinérgico realizado com atropina ( $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e sob duplo bloqueio autonômico estabelecido após administração de propranolol ( $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M. Fonte: o autor.

As variáveis barorreflexas, derivadas pelo Método da Sequência, encontram-se detalhadas na Tabela 1. De forma geral, pode-se observar que tanto o número de sequências barorreflexas *Up*, *Down* e *All* como o IEB não sofreram alterações significativas em seus valores. Entretanto, observou-se que os valores de  $G$  e  $G_N$  dos animais não-tratados do Grupo Jejum ( $1,31 \pm 0,27$  s.kPa<sup>-1</sup> e  $62,37 \pm 14,76$  %.kPa<sup>-1</sup>, respectivamente) sofreram uma redução significativa após o tratamento com atropina ( $0,73 \pm 0,14$  s.kPa<sup>-1</sup> e  $34,77 \pm 7,53$  %.kPa<sup>-1</sup>, respectivamente) e após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico ( $0,79 \pm 0,20$  s.kPa<sup>-1</sup> e  $38,98 \pm 11,22$  %.kPa<sup>-1</sup>, respectivamente). Ademais, os valores de  $G$  e  $G_N$  dos animais não-tratados do Grupo Digestão apresentaram-se significativamente menores em comparação aos do Grupo Jejum sob o mesmo tratamento, sendo iguais a  $0,39 \pm 0,10$  s.kPa<sup>-1</sup> e  $26,47 \pm 6,39$  %.kPa<sup>-1</sup>, respectivamente. Por fim, não foram observadas alterações significativas nestas variáveis após ao bloqueio muscarínico colinérgico ( $0,68 \pm 0,22 \pm 0,14$  s.kPa<sup>-1</sup> e  $26,47 \pm 6,39$  %.kPa<sup>-1</sup>, respectivamente) e ao duplo bloqueio autonômico cardíaco ( $0,27 \pm 0,04$  s.kPa<sup>-1</sup> e  $19,03 \pm 3,40$  %.kPa<sup>-1</sup>, respectivamente).

**Tabela 1.** Variáveis barorreflexas de *Iguana iguana* obtidas pelo Método da Sequência quando não-tratados, atropinizados e sob duplo bloqueio autonômico cardíaco em condições de jejum ( $N = 7$ ) e digestão ( $N = 7$ ).

	Grupo Jejum			Grupo Digestão		
	Não-tratado	Atropina	Duplo Bloqueio	Não-tratado	Atropina	Duplo Bloqueio
Sequências <i>Up</i> ↑ (/300 batimentos)	10,71 ± 1,28 <sup>a</sup>	10,29 ± 1,44 <sup>a</sup>	9,28 ± 2,65 <sup>a</sup>	7,85 ± 1,48 <sup>a</sup>	8,57 ± 2,37 <sup>a</sup>	4,57 ± 1,02 <sup>a</sup>
Sequências <i>Down</i> ↓ (/300 batimentos)	10,71 ± 2,06 <sup>a</sup>	6,14 ± 1,16 <sup>a</sup>	9,00 ± 1,51 <sup>a</sup>	6,43 ± 0,72 <sup>a</sup>	5,43 ± 0,94 <sup>a</sup>	5,14 ± 1,16 <sup>a</sup>
Sequências <i>All</i> (/300 batimentos)	21,43 ± 2,94 <sup>a</sup>	16,43 ± 2,39 <sup>a</sup>	18,57 ± 4,28 <sup>a</sup>	14,29 ± 1,77 <sup>a</sup>	14,00 ± 1,86 <sup>a</sup>	9,71 ± 1,93 <sup>a</sup>
IEB (sem unidade)	0,35 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,05 <sup>a</sup>
$G$ (s kPa <sup>-1</sup> )	1,31 ± 0,27 <sup>a</sup>	0,73 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,79 ± 0,20 <sup>b</sup>	0,39 ± 0,10 <sup>a*</sup>	0,68 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,04 <sup>a</sup>
$G_N$ (% kPa <sup>-1</sup> )	62,37 ± 14,76 <sup>a</sup>	34,77 ± 7,53 <sup>b</sup>	38,98 ± 11,22 <sup>b</sup>	26,47 ± 6,39 <sup>a*</sup>	41,93 ± 10,95 <sup>a</sup>	19,03 ± 3,40 <sup>a</sup>

Sequências *Up*: sequências barorreflexas para cima (i.e., aumento da pressão arterial associada ao aumento do intervalo de pulso cardíaco); Sequências *Down*: sequências barorreflexas para baixo (i.e., redução da pressão arterial associada à redução do intervalo de pulso cardíaco); Sequências *All*: número total de sequências barorreflexas obtidas; IEB: índice de efetividade do barorreflexo;  $G$ : ganho barorreflexo;  $G_N$ : ganho barorreflexo normalizado em relação ao valores basais da  $f_H$  dos animais, na condição não-tratada. Os resultados encontrados em cada tratamento dentro de um mesmo grupo experimental que não compartilham mesma letra sobrescrita apresentam diferença significativa entre si ( $p \leq 0,05$ ). Os asteriscos sobrescritos às letras indicam diferença significativa em relação ao Grupo Jejum sob o mesmo tratamento ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados encontram-se expressos em Média ± E.P.M.

#### 4.3. EFEITOS DA INFUSÃO DE VEÍCULO NAS VARIÁVEIS CARDÍACAS

Os dados referentes às variáveis cardíacas basais observadas em *I. iguana*, anteriormente e posteriormente à administração intrarterial de solução salina, encontram-se

apresentados na Tabela 2. Esses resultados demonstraram que possíveis alterações volêmicas promovidas pelas administrações farmacológicas e seus respectivos veículos não induziram mudanças significativas na  $f_H$  e  $P_A$  média dos animais.

**Tabela 2.** Frequência cardíaca ( $f_H$ ) e pressão arterial média ( $P_A$  Média) de *Iguana iguana* anteriormente e posteriormente à administração intrarterial de solução salina (0,9% NaCl) em condições de jejum ( $N = 7$ ) e digestão ( $N = 5$ ).

	Grupo Jejum		Grupo Digestão	
	Não-tratado	Pré Salina Pós Salina	Não-tratado	Pré Salina Pós Salina
$f_H$ (bpm)	29,12 ± 2,56	28,04 ± 2,38	39,90 ± 4,22	38,97 ± 3,49
$P_A$ Média (kPa)	8,96 ± 0,33	9,20 ± 0,25	10,18 ± 0,97	10,63 ± 0,63

Considerando uma mesma variável, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os valores observados anteriormente e posteriormente à administração intrarterial de solução salina dentro de cada grupo experimental ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados encontram-se expressos em Média ± E.P.M.

#### 4.4. TESTE DA EFETIVIDADE DOS BLOQUEIOS FARMACOLÓGICOS

As variáveis cardíacas  $f_H$  e  $P_A$  média obtidas sob o duplo bloqueio autonômico anteriormente e posteriormente as administrações de epinefrina e acetilcolina encontram-se apresentadas na Tabela 3. Através destes resultados foi possível observar que tanto a aplicação de epinefrina como a de acetilcolina não provocaram alterações na  $f_H$  e na  $P_A$  média dos animais de ambos os grupos experimentais.

**Tabela 3.** Frequência cardíaca ( $f_H$ ) e pressão arterial média ( $P_A$  Média) de *Iguana iguana* sob duplo bloqueio autonômico e posteriormente à administração intrarterial de epinefrina e acetilcolina em jejum ( $N = 7$ ) e digestão ( $N = 7$ ).

	Grupo Jejum			Grupo Digestão		
	Duplo Bloqueio	Duplo Bloqueio Pós Epinefrina	Duplo Bloqueio Pós Acetilcolina	Duplo Bloqueio	Duplo Bloqueio Pós Epinefrina	Duplo Bloqueio Pós Acetilcolina
$f_H$ (bpm)	23,75 ± 1,22	23,42 ± 1,21	22,45 ± 1,22	27,73 ± 1,31	28,68 ± 1,50	28,61 ± 1,43
$P_A$ Média (kPa)	7,37 ± 0,49	7,57 ± 0,16	7,49 ± 0,39	6,99 ± 0,21	7,20 ± 0,23	6,87 ± 0,41

Considerando uma mesma variável, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os valores observados anteriormente e posteriormente à administração intrarterial de epinefrina e acetilcolina dentro de cada grupo experimental ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados encontram-se expressos em Média ± E.P.M.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. RESPOSTAS DO METABOLISMO AERÓBIO À DIGESTÃO

A resposta metabólica pós-prandial do lagarto herbívoro *I. iguana* foi caracterizada por um aumento lento e pouco acentuado da  $VO_2$ , a qual atingiu seu valor máximo de  $\sim 75 \text{ ml O}_2 \cdot \text{h}^{-1}$  (uma diferença de aproximadamente 87% em relação ao jejum) 20 horas após a ingestão do alimento (Figura 5). Esse resultado apresentou-se dentro do padrão observado em outros estudos realizados com lagartos alimentados com uma dieta baseada em vegetais. Especificamente, estudos anteriores mostraram que o lagarto herbívoro *Angolosaurus skoogi* apresentou um aumento de até 80% na taxa metabólica após a ingestão de farinha de cenoura em uma proporção igual a 7% da sua massa corporal (CLARKE; NICOLSON, 1994), enquanto o lagarto onívoro *Pogona vitticeps* apresentou um aumento de até 62% na taxa metabólica cerca de 24 horas após ingerir porções de aipo em uma proporção igual a 5% em relação a sua massa corpórea (BUDDEMEYER; ALEXANDER; SECOR, 2019). Além disso, também é interessante notar que existe semelhança entre as respostas metabólicas observadas no presente trabalho com as que já foram registradas em mamíferos herbívoros (e.g., camelos, caprinos, equinos e bovinos) alimentados com palha ou feno, os quais exibiram incrementos na taxa metabólica entre 40 a 100% (BRODY, 1945; SECOR, 2009).

Além da composição dos alimentos ingeridos, a frequência alimentar é um fator que pode impactar nas respostas metabólicas pós-prandiais dos vertebrados por ter uma relação direta com a quantidade de alimento ingerido em cada refeição e por ser determinante na modulação de características morfofisiológicas do trato gastrointestinal (SECOR; PHILLIPS, 1997; SECOR; DIAMOND, 2000; SECOR, 2001; IGLESIAS; THOMPSON; SEEBACHER, 2003). Lacertílios insetívoros forrageadores que se alimentam frequentemente podem aumentar a sua taxa metabólica após a alimentação em 30 até 300% (ROBERTS, 1968; BEAUPRE; DUNHAM; OVERALL, 1992; ROBERT; THOMPSON, 2000; IGLESIAS; THOMPSON; SEEBACHER, 2003; ROE; HOPKINS; TALENT, 2005; PAN et al., 2005; SECOR, 2009). Essa faixa de variação expressiva na resposta do metabolismo pós-prandial evidencia que mesmo uma dieta altamente proteica pode gerar incrementos consideravelmente pequenos (30%) no metabolismo até mesmo em relação aos registrados em lagartos herbívoros. Em contrapartida, espécies de lagartos carnívoros, como *Varanus albigularis*, *Varanus exanthematicus* e *Heloderma suspectum*, que podem passar por longos períodos de jejum (i.e., superiores a um mês) e que ingerem presas relativamente grandes em relação ao seu tamanho corporal apresentam respostas metabólicas pós-prandiais de maior magnitude, sendo capazes de sofrer

aumentos de 200 até 800% em sua taxa metabólica (SECOR; PHILLIPS, 1997; HICKS; WANG; BENNETT et al., 2000; HARTZLER et al. 2006; CHRISTEL; DENARDO; SECOR, 2007).

Alguns estudos trabalham com a hipótese de que as diferenças entre o metabolismo pós-prandial dos répteis de alimentação infrequente e frequente possam ser explicadas com base no custo da regulação e manutenção da atividade do trato gastrointestinal. Ao experimentar longos períodos de jejum, serpentes com hábito de emboscada sofrem significativa diminuição da atividade dos órgãos do trato gastrointestinal (SECOR; DIAMOND, 1995, 2000; STARCK e BEESE, 2001, 2002; LIGNOT; HELMSTETTER; SECOR, 2005). Essa condição pode levar a atrofia destes órgãos e, conseqüentemente, aumentar o custo energético para sua reestruturação durante a digestão (SECOR, 2001; KLEIN et al., 2006; IGLESIAS; THOMPSON; SEEBACHER, 2003). Por outro lado, a alimentação frequente evita a atrofia dos órgãos do trato gastrointestinal e os mantém funcionalmente ativos, evitando o custo energético necessário para reverter esses processos após a alimentação e requisitando respostas de menor magnitude na taxa metabólica para suprir as demandas da SDA (SECOR, 2001; KLEIN et al., 2006; IGLESIAS; THOMPSON; SEEBACHER, 2003). No entanto, estudos recentes realizados em serpentes de alimentação infrequente mostraram que a reestruturação intestinal teve uma contribuição pouco significativa nas respostas da SDA (STARCK; BEESE 2001, 2002; OVERGAARD; ANDERSEN; WANG, 2002; SECOR, 2003). Assim, parece pouco provável que a diferença na magnitude das respostas metabólicas da SDA entre os lagartos de alimentação frequente com os de infrequente esteja relacionada a remodelação do trato gastrointestinal durante a transição estado de jejum para o alimentado (KLEIN et al., 2006; IGLESIAS; THOMPSON; SEEBACHER, 2003).

De modo geral, os lagartos que se alimentam com frequência apresentam uma elevada taxa metabólica padrão em comparação com aqueles que passam por períodos longos de jejum (IGLESIAS; THOMPSON; SEEBACHER, 2003; KLEIN et al., 2006). Em razão disso, a magnitude das respostas no metabolismo pós-prandial tende a ser menor nestes animais quando comparados aos lagartos de alimentação infrequente – cuja baixa taxa metabólica padrão acaba aumentando a magnitude destas respostas, realçando-as (KLEIN et al., 2006). Essa explicação é suportada através da comparação do incremento metabólico pós-prandial de *Tupinambis merianae* (carnívoro de alimentação frequente) com o de *V. albigularis* (carnívoro de alimentação infrequente), a qual revela que embora ambas espécies atinjam o pico metabólico com valores muito semelhantes entre si, a taxa metabólica padrão de *T. merianae* é três vezes maior que a de *V. albigularis* – o que resulta em uma resposta de menor magnitude para *T. merianae* (SECOR; PHILLIPS, 1997; KLEIN et al., 2006). Assim, é notável que a alimentação com uma dieta exclusivamente vegetal conjuntamente ao hábito de se alimentar frequentemente

possam ser alguns dos fatores responsáveis pelo impacto relativamente pequeno no incremento da  $VO_2$  de *I. iguana* durante a transição do estado de jejum para o estado pós-prandial.

## 5.2. OS AJUSTES CARDIOVASCULARES PÓS-PRANDIAS E SEUS MECANISMOS DE CONTROLE AUTONÔMICO

Os valores das variáveis  $f_H$  e  $P_A$  média (Figura 5A, B) encontradas para *I. iguana* não-tratados em jejum foram similares aos reportados em estudos anteriores para indivíduos da mesma espécie submetidos às mesmas condições experimentais do presente estudo (MOBERLY, 1968; HOHNKE, 1975; CHINNADURA et al., 2010). No entanto, a  $P_A$  destes animais se mostrou notavelmente elevada em relação a grande maioria das outras espécies de répteis da ordem Squamata até então estudadas (BAKER; WEATHERS; WHITE, 1972; SEYMOUR; LILLYWHITE, 1976; DE VERA; GONZÁLEZ, 1997; LILLYWHITE, 1993; LILLYWHITE; DONALD, 1994; YOUNG; WASSERSUG; PINDER, 1997; SEYMOUR; ARNDT, 2004; BICEGO et al., 2011; ENOK et al., 2012, 2014; JENSEN; MOORMAN; WANG, 2014; SLAY et al., 2014; ARMELIN et al., 2019; FILOGONIO et al., 2016, 2020). Para fins comparativos, o alto valor da  $P_A$  média (~8,96 kPa) em *I. iguana* se assemelha ou até mesmo supera os valores registrados para serpentes e lagartos conhecidos por terem alta  $P_A$  sistêmica resultante da separação funcional da circulação pulmonar da circulação sistêmica, como no caso de *P. bivittatus* (~5,00 kPa), *P. regius* (~7,30 kPa), *P. molurus* (~7,30 kPa) e *V. exathematicus* (~9,30 kPa) (BURGGREN; JOHANSEN, 1981; ENOK et al., 2012; JENSEN et al., 2010, 2014; SLAY et al., 2014). Além disso, essa elevada  $P_A$  reportada no presente trabalho resultou em uma elevada atividade do miocárdio à espécie (Figura 5C; ~320,80 kPa.min<sup>-1</sup>), sendo superior à registrada no lagarto terrestre *Salvator merianae* (~86,00 kPa.min<sup>-1</sup>) e na serpente euritópica *P. bivittatus* (~150,00 kPa.min<sup>-1</sup>) (SLAY et al., 2014; ZENA et al., 2016). Acerca destes fatos, é possível que os valores tão elevados de  $P_A$  média e  $PPF$  obtidos em *I. iguana* estejam associadas à tolerância ortostática desta espécie relacionada ao seu hábito arborícola, facilitando o fluxo sanguíneo contra a gravidade durante o estresse ortostático e minimizando os efeitos das mudanças posturais na perfusão dos tecidos destes animais durante as escaladas (LILLYWHITE, 1993, 1996; SEYMOUR; HARGENS; PEDLEY, 1993; TROIANO et al., 2018; ARMELIN et al., 2019).

Vinte horas após a alimentação, a digestão ocasionou um aumento de ~45% na  $f_H$  dos animais não-trados (Figura 5A) – uma taquicardia pós-prandial similar a exibida pelo cágado da espécie *Chelydra serpentina* após a alimentação forçada com ração comercial para crocodilos (45% proteína) na proporção de 5% da massa corporal a 24°C (WEARING et al.,

2017). Contudo, este incremento na  $f_H$  tem uma magnitude bastante pequena comparativamente com a de répteis carnívoros até então estudados que se alimentaram de presas relativamente grandes em relação ao seu tamanho corporal, como no caso de *C. latirostris* (~66%), *Coluber constrictor* (~66%), *P. bivittatus* (~78%), *B. constrictor* (~100%), *V. exathematicus* (~137%), *P. regius* (~100 – 150%) e *P. molurus* (~150 – 238%) (STINNER; ELY, 1993; HICKS; WANG; BENNETT, 2000; WANG et al., 2001a; SKOVGAARD et al., 2009; SLAY et al., 2014; BRAGA et al., 2016).

Essas discrepâncias na magnitude dos ajustes da  $f_H$  se dão em virtude da maior demanda por fluxo sanguíneo gastrointestinal (hiperemia pós-prandial) causada em grande parte pelo elevado metabolismo aeróbio destes animais carnívoros que ingerem grandes presas (SECOR; WHITE, 2010; ENOK et al., 2016). Essa hiperemia na região gastrointestinal é alcançada através da redistribuição do fluxo sanguíneo por meio da redução da resistência vascular sistêmica, ocasionando o deslocamento do sangue de áreas com alta resistência para áreas com baixa resistência (SECOR; WHITE, 2010; ENOK et al., 2016). Em decorrência disso, há um grande aumento do débito cardíaco, o qual é suprido principalmente por incrementos na  $f_H$  (SECOR; WHITE, 2010; ENOK et al., 2016). No caso da espécie humana, por exemplo, a digestão de pequenas porções de alimento em relação a massa corporal (~0,4%) resulta em respostas metabólicas e cardiovasculares discretas, como aumentos de cerca de ~25% na taxa metabólica, ~71% no fluxo sanguíneo gastrointestinal, ~45% no débito cardíaco e ~50% na  $f_H$  (PERKO et al., 1998; SECOR, 2009). Em contrapartida, um cenário totalmente oposto é observado em serpentes *P. molurus* alimentadas com roedores equivalentes a 24% da sua massa corporal, as quais apresentam respostas metabólicas e cardiovasculares extremamente marcantes que são caracterizadas por incrementos de ~700% na taxa metabólica, ~1000% no fluxo sanguíneo da artéria mesentérica, ~1158% no fluxo sanguíneo da veia porta hepática, ~350% no débito cardíaco e ~238% na  $f_H$  (SECOR; HICKS; BENNETT, 2000; SECOR; WHITE, 2010).

Após a realização do bloqueio muscarínico colinérgico com atropina, os animais de ambos os grupos experimentais apresentaram um aumento na  $f_H$ , sendo de ~41% no Grupo Jejum e de ~14% no Grupo Digestão (Figura 5A). No entanto, após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico com propranolol foi observada uma redução da  $f_H$  em ambos os grupos, cerca de ~44% no Grupo Jejum e de ~43% no Grupo Digestão (Figura 5A). Assim, esses resultados obtidos com os bloqueios autonômicos conjuntamente à redução de ~69% do tônus colinérgico e a inalteração do tônus adrenérgico durante a digestão (Figura 6) são evidências de que a subdivisão parassimpática do sistema nervoso autônomo desempenha um papel

dominante na mediação da taquicardia pós-prandial em *I. iguana*. Além disso, o fato da  $f_H$  intrínseca (i.e.,  $f_H$  durante o duplo bloqueio autonômico cardíaco) dos animais em digestão não diferir da registrada nos animais em jejum indica a ausência da atuação dos fatores NANC na determinação da taquicardia pós-prandial nesta espécie – sendo este o primeiro caso registrado em répteis até o presente momento.

Os resultados do presente estudo acerca do controle da taquicardia pós-prandial em *I. iguana* se assemelham com os relatados na espécie de teleósteo *Dicentrarchus labrax*, na qual o ajuste na  $f_H$  também é mediado exclusivamente por uma redução da atividade vagal – sem a influência de fatores NANC (IVERSEN et al., 2010). Contudo, é notável a diferença entre o padrão de controle da taquicardia pós-prandial de *I. iguana* com o que é observado nas demais espécies de vertebrados estudadas até o momento. No peixe teleósteo *Oreochromis niloticus*, no anfíbio anuro *Lithobates catesbeianus* e nos répteis *B. constrictor*, *P. molurus*, *P. regius* e *P. bivittatus* da ordem Squamata, a taquicardia pós-prandial ocorre através da redução do tônus colinérgico conjuntamente à atuação de fatores NANC (WANG et al., 2001a; SKOVGAARD et al., 2009; SLAY et al., 2014; CLAËSSON et al., 2015; GUAGNONI et al., 2020), enquanto em crocodilianos (*Caiman latirostris*) e em mamíferos (*Canis lupus*, *Homo sapiens* e *Rattus norvegicus*) este ajuste na  $f_H$  é regulado por um aumento do tônus adrenérgico cardíaco associado a fatores NANC (ROTHWELL et al., 1982; YOUNG et al., 1982; ACHESON; JEQUIER; WAHREN, 1983; DEFRONZO et al., 1984; DIAMOND; LEBLANC, 1987; ASTRUP et al., 1989; KELBÆK et al., 1989; BARON, 1994; BRAGA et al., 2016).

O controle do sistema nervoso autônomo sobre a taquicardia pós-prandial parece ter um padrão ao longo da evolução dos vertebrados, passando de uma determinação primariamente colinérgica em táxons mais primitivos (que usualmente apresentam inervação parassimpática cardíaca mais desenvolvida que a simpática) para uma determinação primariamente adrenérgica em táxons mais derivados (que usualmente apresentam inerações parassimpática e simpática cardíacas bem desenvolvidas) (TAYLOR et al., 2014). Entretanto, nenhum padrão pode ser determinado para participação dos fatores NANC na estimulação cardíaca pós-prandial. No caso do lagarto *I. iguana*, os resultados de tônus autonômico cardíaco mostram um padrão intermediário de regulação cardíaca, uma vez que estes animais dependem majoritariamente do tônus colinérgico para mediar as respostas cardiovasculares pós-prandiais apesar de exibirem uma elevada atividade simpática. Contudo, deve-se salientar que essa alta atividade adrenérgica no coração de *I. iguana*, tanto em jejum como em digestão, auxilia na manutenção de uma elevada atividade miocárdica (Figura 5C) crucial para o suporte do débito cardíaco desta espécie.

As análises de HRV e BPV permitem investigar os padrões das oscilações cardíacas batimento-a-batimento e, conseqüentemente, complementam as análises de tônus autonômico no entendimento da dinâmica simpátovagal no controle dos ajustes cardíacos entre as condições pré e pós-prandiais. No caso da digestão, a vasodilatação responsável pela hiperemia do trato gastrointestinal conjuntamente à redução da resistência vascular sistêmica comumente observada em tetrápodes são fatores que podem acarretar na maior instabilidade da  $P_A$  por favorecer a ocorrência de eventos de hipotensão (ENOK et al., 2016; PARATI; BILO et al. 2014). Dessa forma, a homeostase da  $P_A$  a curto prazo depende basicamente do controle barorreflexo, o qual é modulado exclusivamente pelo sistema nervoso autônomo (PARATI et al., 1995; RIENZO et al., 2009). Esse reflexo tem início no monitoramento da  $P_A$  pelos barorreceptores, os quais emitem informações para o sistema nervoso central constantemente acerca desta variável em questão (PARATI et al., 1995; RIENZO et al., 2009). Os aumentos e reduções na  $P_A$  fora de seu ponto de funcionamento normal promovem respostas rápidas na vasomotricidade sistêmica (modificação da resistência vascular), na  $f_H$  e na força contrátil do coração, modulando o débito cardíaco (PARATI et al., 1995). Dessa forma, a eficiência deste ajuste depende basicamente das oscilações da  $P_A$  e da  $f_H$ .

As oscilações da  $f_H$  batimento-a-batimento descritas pelas análises do HRV são essencialmente determinadas pela liberação dos neurotransmissores noradrenalina/acetilcolina e de fatores NANC secretados por terminações nervosas que modulam a atividade cardíaca (AKSELROD et al., 1981; DEVERA; GONZÁLEZ, 1997; ALTIMIRAS, 1999; ZACCONE; MARINO; ZACCONE, 2011; CAMPBELL et al., 2006; LI et al., 2006), uma vez que fatores humorais são incapazes de produzir oscilações de curto-prazo na  $f_H$  (ALTIMIRAS, 1999). De modo geral, as oscilações lentas na  $f_H$  estão associadas tanto à atividade parassimpática quanto à atividade simpática no coração, enquanto as oscilações rápidas nesta variável estão associadas apenas à atividade parassimpática (ALTIMIRAS, 1999; PARATI et al., 1995). Essas diferenças no tempo de ação acontecem devido ao mecanismo de eliminação dos neurotransmissores na fenda sináptica e aos seus efeitos pós-sinápticos. A acetilcolina, por exemplo, é rapidamente hidrolisada nos terminais sinápticos, enquanto a noradrenalina pode ser recaptada nos terminais sinápticos ou lavada pela circulação coronariana (ALTIMIRAS, 1999). Ademais, os receptores  $\beta$ -adrenérgicos são acoplados a uma via de AMPc que conhecidamente promovem efeitos pós-sinápticos mais duradouros, enquanto os receptores muscarínicos colinérgicos são acoplados diretamente a canais de potássio da sarcolema capazes de desencadear a hiperpolarização da membrana em curtos período de tempo ( $\sim 100$  ms) após a estimulação vagal (ALTIMIRAS, 1999). Dessa maneira, ao utilizar atropina para erradicar as oscilações na  $f_H$  de origem

colinérgica é possível verificar se o tônus adrenérgico cardíaco dos animais é resultante da secreção de noradrenalina através da inervação do coração ou da ação de catecolaminas circulantes, ao passo que ao abolir as oscilações na  $f_H$  de origem adrenérgica e colinérgica através do estabelecimento do duplo bloqueio autonômico pode-se verificar se fatores NANC com efeitos cronotrópicos são secretados pela inervação cardíaca diretamente no coração (ALTIMIRAS, 1999; BRAGA et al., 2016; LOPES et al., 2017; TROIANO et al., 2018; ARMELIN et al., 2019; GUAGNONI et al., 2020).

De acordo com as análises de HRV realizadas nos lagartos *I. iguana* em jejum foi possível observar que as oscilações LF e HF na  $f_H$  são de origem parassimpática, uma vez que  $HRV_{PLF}$  e  $HRV_{PHF}$  foram reduzidos após a administração da atropina (Figuras 7A, B e 8A). Ademais, o fato de  $HRV_{PLF}$  não sofrer alterações após o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico (Figura 7C e 8A) indica que o tônus adrenérgico cardíaco de origem nervosa tenha uma ínfima participação na regulação batimento-a-batimento do coração destes animais. Dessa forma, é provável que o tônus autonômico adrenérgico cardíaco de *I. iguana* no presente estudo tenha origem majoritariamente de catecolaminas circulantes, pois caso sua origem fosse neural seriam registradas oscilações de baixa frequência na  $f_H$ , as quais não seriam abolidas com a aplicação de atropina (ALTIMIRAS, 1999). Por fim, o fato do bloqueio muscarínico colinérgico com atropina reduzir consideravelmente as oscilações LF e HF na  $f_H$  em ambos os grupos experimentais (Figura 7B e 8), e o estabelecimento do duplo bloqueio autonômico (Figura 7C e 8) não causar alterações nestas oscilações demonstra que fatores NANC de origem nervosa não estão envolvidos no controle cardíaco desta espécie, reforçando a conclusão de que a taquicardia pós-prandial é um ajuste exclusivamente controlado pela redução da atividade vagal (ALTIMIRAS, 1999; TROIANO et al., 2018; GUAGNONI et al., 2020).

No entanto, é importante salientar que estes resultados supracitados contrapõem o que foi observado em *I. iguana* por Troiano et al. (2018), estudo o qual a administração de atropina não aboliu as oscilações LF da  $f_H$ , revelando uma participação da atividade neural simpática neste componente do HRV. Essa dissimetria entre os estudos provavelmente ocorreu devido a diferença da temperatura em que os animais foram aclimatados (presente estudo:  $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ; Troiano et al., 2018: sem aclimação prévia) e submetidos aos protocolos experimentais (presente estudo:  $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ; Troiano et al., 2018:  $29,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$ ), bem como pela diferença entre o tempo de recuperação pós-cirúrgica (presente estudo: *overnight*; Troiano et al., 2018: 2 horas) – sendo notável que, em comparação com o presente trabalho, a elevada temperatura e o pequeno tempo de recuperação pós-cirúrgica (fator estressante) permitido aos animais por Troiano et al. (2018) podem ter contribuído para uma hiperestimulação da atividade simpática,

gerando efeitos nas oscilações de baixa frequência do HRV (BLANC et al., 1994; KENNEY et al., 1998; STAUSS, 2003; KENNEY; FELLS, 2002; CRANDALL et al., 2008; KIM et al., 2018).

No pico da SDA dos lagartos *I. iguana* quando não-tratados registrou-se um menor valor de  $HRV_{PLF}$  (Figura 8A) em comparação ao registrado para os animais não-tratados em jejum (Figura 8B), uma consequência da redução do tônus colinérgico cardíaco (Figuras 6) que resultou na diminuição da amplitude regulatória dos ajustes de curto prazo na  $f_H$  – similar ao observado no peixe teleósteo *O. niloticus* durante o período pós-prandial (GUAGNONI et al., 2020). Essa redução na amplitude regulatória dos ajustes de curto prazo na  $f_H$  pode ter contribuído para uma maior instabilidade da  $P_A$  durante a digestão, resultando em mais oscilações LF da  $P_A$  média (Figura 9A) e, conseqüentemente, um maior valor de  $BPV_{PLF}$  (Figuras 10A, B) em comparação ao observado no Grupo Jejum. A explicação para este contexto encontra-se no fato da estabilidade da  $P_A$  a curto prazo depender da atuação do barorreflexo, mecanismo o qual atua principalmente através de ajustes rápidos na  $f_H$  (PARATI et al., 1995).

Pelo fato do barorreflexo ser o principal mecanismo com a função de estabilizar a  $P_A$  a curto prazo, considera-se que o BPV seja inversamente proporcional à eficiência do barorreflexo (i.e., quanto maior a variabilidade da  $P_A$ , menor será a eficiência barorreflexa) (PARATI et al., 1995), enquanto o HRV é considerado diretamente proporcional a atividade do reflexo barostático por representar a atuação de mecanismos reflexos envolvidos no controle cardíaco (i.e., quanto maior a variabilidade da  $f_H$ , maior será a eficiência barorreflexa) (PARATI et al., 1995; ALTIMIRAS, 1999). Desse modo, através das análises do HRV (redução do  $HRV_{PLF}$ ) e BPV (aumento do  $BPV_{PLF}$ ) dos animais não-tratados em digestão é possível afirmar que a SDA tenha provocado uma redução da eficiência do barorreflexo. Essa afirmação pode ser confirmada através dos valores significativamente menores de  $G$  e  $G_N$  (Tabela 1) observados nos animais não-tratados do Grupo Digestão em relação aos do Grupo Jejum, sob o mesmo tratamento, evidenciando, assim, uma menor responsividade do nodo sinoatrial às alterações na  $P_A$  mediadas pelo barorreflexo durante a digestão.

O valor encontrado para a variável  $G$  nos animais não-tratados em jejum se mostrou elevado em relação ao que Filogonio et al. (2019) reportou em *I. iguana* à 35°C através do Método da Sequência utilizando as mesmas configurações de software que no presente estudo, contudo os valores do IEB se mostraram similares. É possível que essa diferença em  $G$  entre os estudos tenha ocorrido por conta da diferença na temperatura a qual os animais foram expostos, uma vez que à exposição a temperaturas mais elevadas podem reduzir a responsividade cardíaca às mudanças na  $P_A$  e, conseqüentemente, os valores de  $G$  (FILOGONIO et al., 2020). Em

seguida, os valores de  $G$  e  $G_N$  dos animais em jejum foram reduzidos significativamente após a administração de atropina e não se alteraram após o duplo bloqueio autonômico cardíaco, revelando que o controle autonômico do barorreflexo tem origem parassimpática. Em razão disso, os valores de  $G$  e  $G_N$  dos animais não-tratados em digestão não se alteram após o bloqueio muscarínico colinérgico, uma vez que o tônus colinérgico cardíaco destes animais se encontrava drasticamente reduzido e com a amplitude regulatória dos ajustes de curto prazo na  $f_H$  bastante limitados.

Por fim, é importante salientar que os valores do IEB e o número de sequências barorreflexas detectadas permaneceram inalteradas após duplo bloqueio autonômico, pois os fármacos atropina e propranolol são antagonistas competitivos e, portanto, podem não impedir diminutas alterações batimento-a-batimento na  $f_H$  que são mediadas pelo barorreflexo – alterações as quais podem gerar sequências barorreflexas (LEE et al., 2002; RANG et al., 2016; ARMELIN et al., 2021). A redução de  $G$  e  $G_N$  dos animais do Grupo Jejum sob duplo bloqueio autonômico cardíaco podem corroborar essa hipótese, pois é uma evidência de que os antagonistas atropina e propranolol prejudicam a responsividade do nodo sinoatrial às alterações mediadas pelo barorreflexo na atividade autonômica cardíaca (STAUSS et al., 2006; LAUDE; BAUDRIE; ELGHOZI, 2008a, 2008b).

## 6. CONCLUSÕES

A presente investigação demonstrou que o lagarto herbívoro *I. iguana* alimentado com 3,5% de sua massa corpórea atinge o pico da SDA cerca de 20 horas após a ingestão do alimento, apresentando incrementos na  $VO_2$  muito similares em comparação a outras espécies de animais herbívoras. Ademais, os resultados do presente estudo demonstraram que a espécie em questão exibe uma taquicardia pós-prandial de magnitude relativamente pequena em comparação a documentada na maioria dos vertebrados ectotérmicos terrestres, sendo o principal fator responsável pelo aumento da atividade do miocárdio. Este aumento na  $f_H$  durante a digestão foi mediado exclusivamente por uma redução da atividade do tônus parassimpático no coração (sem a atuação de fatores NANC) – diferentemente do padrão regulatório dos demais animais da ordem Squamata estudados até o momento, os quais contam com os efeitos cronotrópicos dos fatores NANC no controle da taquicardia pós-prandial. Essa redução no tônus colinérgico cardíaco conduz à uma diminuição e limitação da amplitude regulatória dos ajustes de curto prazo na  $f_H$ , reduzindo o HRV durante a SDA. Por fim, o presente trabalho também evidenciou que durante a digestão de *I. iguana* não há alteração da  $P_A$  média, indicando que grande parte da demanda sanguínea necessária para suprir o trato gastrointestinal é suficientemente fornecida através do ajuste realizado na  $f_H$ . Entretanto, a SDA desencadeou uma maior instabilidade da  $P_A$  (BPV), evidenciando uma redução na eficiência do barorreflexo através de uma menor responsividade do nodo sinoatrial às alterações na  $P_A$  via barorreflexo – comprovada pela redução de  $G$  e  $G_N$ .

## REFERÊNCIAS

- ACHESON, K.; JEQUIER, E.; WAHREN, J. Influence of  $\beta$ -adrenergic blockade on glucose-induced thermogenesis in man. **Journal of Clinical Investigation**, v. 71, p. 981–986, 1983.
- ACKERMAN, R. A.; WHITE, F. N. The effects of temperature on acid-base balance and ventilation of the marine iguana. **Respiration Physiology**, v. 39, p. 133–147, 1980.
- AKSELROD, S. et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. **Science**, v. 213, p. 220–222, 1981.
- ALTIMIRAS, J. et al. Cholinergic and adrenergic tones in the control of heart rate in teleosts. How should they be calculated? **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 118A, p. 131–139, 1997.
- ALTIMIRAS, J. Understanding autonomic sympathovagal balance from short-term heart rate variations. Are we analyzing noise? **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 124A, p. 447–460, 1999.
- ALTIMIRAS, J. et al. Gastrointestinal blood flow and postprandial metabolism in swimming sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 81, p. 663–672, 2008.
- ANDRADE, D. O. V. et al. Specific dynamic action in ectothermic vertebrates: a review of the determinants of postprandial metabolic response in fishes, amphibians and reptiles. In: STARCK, J. M.; WANG, T. **Physiological and ecological adaptations to feeding in vertebrates**. Primeira Edição. Enfield: Science Publishers, 2005.
- ARMELIN, V. A. et al. Autonomic control of cardiovascular adjustments associated with orthostasis in the scansorial snake *Boa constrictor*. **Journal of Experimental Biology**, v. 222, 2019.
- ARMELIN, V. A. et al. The nonpharmacological sequence method provides a reliable evaluation of baroreflex sensitivity in fish. **Journal of Experimental Zoology A**, v. 335, p. 348–358, 2021.
- ASTRUP, A. et al. Epinephrine mediates facultative carbohydrate-induced thermogenesis in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology**, v. 257, p. E340–E345, 1989.
- BAKER, L. A.; WEATHERS, W. W.; WHITE, F. N. Temperature induced peripheral blood flow changes in lizards. **Journal of Comparative Physiology**, v. 80, p. 312–323, 1972.
- BARON, A. D. Hemodynamic actions of insulin. **American Journal of Physiology**, v. 267, p. E187–E202, 1994.
- BEAUPRE, S. J.; DUNHAM, A. E.; OVERALL, K. L. Metabolism of a Desert Lizard: The Effects of Mass, Sex, Population of Origin, Temperature, Time of Day, and Feeding on Oxygen Consumption of *Sceloporus merriami*. **Physiological Zoology**, v. 66, p. 128–147, 1993.
- BERTINIERI, G. et al. A new approach to analysis of the arterial baroreflex. **Journal of Hypertension**, v. 3, p. S79–S81, 1985.

- BERTINIERI, G. et al. Evaluation of baroreceptor reflex by blood pressure monitoring in unanesthetized cats. **American Journal of Physiology**, v. 254, p. H377-H383, 1988.
- BICEGO, K. C. et al. Role of brain nitric oxide in cardiovascular control of tegu lizards. **The FASEB Journal**, v. 25, p. 1b533–1b533, abr. 2011.
- BORST, C.; KAREMAKER, J. M. Time delays in the human baroreceptor reflex. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 9, p. 399-409, 1983.
- BRAGA, V. H. S. et al. The effects of feeding on cardiac control of the broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*): the role of the autonomic nervous system and NANC factors. **Journal of Experimental Zoology**, v. 325A, p. 524–531, 2016.
- BRODY, S. **Bioenergetics and growth**. 1. ed. New York: Hafner Publishing Company.
- BUDDEMEYER, K.; ALEXANDER, A.; SECOR, S. Negative calorie foods: An empirical examination of what is fact or fiction. **bioRxiv**, v.00, p.00, 2019.
- BURGGREN, W.; JOHANSEN, K. Ventricular haemodynamics in the Monitor Lizard *Varanus Exanthematicus*: pulmonary and systemic pressure separation. **Journal of Experimental Biology**, v. 96, p. 343–354, 1982.
- CAMPBELL, H. A. et al. Evidence for a respiratory component, similar to mammalian respiratory sinus arrhythmia, in the heart rate variability signal from the rattlesnake, *Crotalus durissus terrificus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 2628–2636, 2006.
- CHINNADURAI, S. K. et al. Comparison of an implantable telemetry device and an oscillometric monitor for measurement of blood pressure in anaesthetized and unrestrained green iguanas (*Iguana iguana*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 37, p. 434–439, 2010.
- CLAËSSON, D.; ABE, A. S.; WANG, T. Autonomic regulation of heart rate during specific dynamic action associated with digestion in the bullfrog *Lithobates catesbeianus*. **Zoologia**, v. 32, p. 492–496, 2015.
- CLARKE, B. C.; NICOLSON, S. W. Water, Energy, and Electrolyte Balance in Captive Namib Sand-Dune Lizards (*Angolosaurus skoogi*). **Copeia**, v. 1994, p. 962, 19 dez. 1994.
- CHRISTEL, C. M.; DENARDO, D. F.; SECOR, S. M. Metabolic and digestive response to food ingestion in a binge-feeding lizard, the Gila monster (*Heloderma suspectum*). **Journal of Experimental Biology**, v. 210, p. 3430–3439, 2007.
- CRANDALL, C. G. Heat stress and baroreflex regulation of blood pressure. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, p. 2063–2070, dez. 2008.
- CURIE, M. S. Prêmio Nobel em Química e Física. [19--]
- DA SILVA, G. DOS S. F. et al. Aestivation in the South American lungfish, *Lepidosiren paradoxa*: Effects on cardiovascular function, blood gases, osmolality and leptin levels. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 164, p. 380–385, 2008.

- DAVIES, L. C. et al. Effect of altering conditions of the sequence method on baroreflex sensitivity. **Journal of Hypertension**, v. 19, p. 1279-1287, 2001.
- DEFRONZO, R. A. et al. Effect of beta- and alpha-adrenergic blockade on glucose-induced thermogenesis in man. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 73, p. 633–639, 1984.
- DE VERA, L.; GONZÁLEZ, J. Power spectral analysis of short-term RR interval and arterial blood pressure oscillations in lizard (*Gallotia galloti*): Effects of parasympathetic blockade. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 118, p. 671–678, 1997.
- DIAMOND, P.; LEBLANC, J. Role of autonomic nervous system in postprandial thermogenesis in dogs. **American Journal of Physiology**, v. 252, E719–E726, 1987.
- DI RIENZO, M. et al. Advancements in estimating baroreflex function. **IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine**, v. 20, p. 25-32, 2001a.
- DI RIENZO, M. et al. Baroreflex effectiveness index: an additional measure of baroreflex control of heart rate in daily life. **American Journal of Physiology**, v. 280, p. R744-R751, 2001b.
- DI RIENZO, M. et al. Baroreflex contribution to blood pressure and heart rate oscillations: time scales, time-variant characteristics and nonlinearities. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 367A, p. 1301–1318, 2009.
- ENOK, S. et al. Humoral regulation of heart rate during digestion in pythons (*Python molurus* and *Python regius*). **American Journal of Physiology**, v. 302, p. R1176–R1183, 2012.
- ENOK, S. et al. Intraspecific scaling of arterial blood pressure in the Burmese python. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 2232–2234, 2014.
- ENOK, S. et al. Digestive physiology in reptiles with special reference to pythons. In: DE ANDRADE, D.; BEVIER, C.; DE CARVALHO, J. (Eds.). **Amphibian and Reptile Adaptations to the Environment: Interplay Between Physiology and Behavior**. [s.l.] CRC Press, 2016. p. 81–114.
- FILOGONIO, R. et al. Vagal tone regulates cardiac shunts during activity and at low temperatures in the South American rattlesnake, *Crotalus durissus*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 186, p. 1059–1066, 2016.
- FILOGONIO, R. et al. Evaluation of the sequence method as a tool to assess spontaneous baroreflex in reptiles. **Journal of Experimental Zoology**, v. 331A, p. 374–381, 2019.
- FILOGONIO, R. et al. Baroreflex gain and time of pressure decay at different body temperatures in the tegu lizard, *Salvator merianae*. **PLoS ONE**, v. 15, n. 11, 2020.
- FLORINDO, L. H. et al. Control of air-breathing in fishes: central and peripheral receptors. **Acta Histochemica**, v. 120, p. 642-653, 2018.
- GUAGNONI, I. N. et al. Postprandial cardiorespiratory responses and the regulation of digestion-associated tachycardia in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 00, p. 00, 1 out. 2020.

- HARTZLER, L. K. et al. Metabolic and blood gas dependence on digestive state in the Savannah monitor lizard *Varanus exanthematicus*: An assessment of the alkaline tide. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 1052–1057, 2006.
- HICKS, J. W.; WANG, T.; BENNETT, A. F. Patterns of cardiovascular and ventilatory response to elevated metabolic states in the lizard *Varanus exanthematicus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, p. 2437–2445, 2000.
- HOHNKE, L. Regulation of arterial blood pressure in the common green iguana. **American Journal of Physiology**, v. 228, p. 386–391, 1975.
- IGLESIAS, S.; THOMPSON, M. B.; SEEBACHER, F. Energetic cost of a meal in a frequent feeding lizard. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 135, p. 377–382, 2003.
- IVERSEN, N. K. et al. Autonomic regulation of the heart during digestion and aerobic swimming in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 156A, p. 463–8, 2010.
- JACKSON, A. G. S. et al. Patterns of oxygen consumption during simultaneously occurring elevated metabolic states in the viviparous snake *Thamnophis marcianus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, p. 3570–3579, 2015.
- JENSEN, B. et al. How the python heart separates pulmonary and systemic blood pressures and blood flows. **Journal of Experimental Biology**, v. 213, p. 1611–1617, 2010.
- JENSEN, B.; MOORMAN, A. F. M.; WANG, T. Structure and function of the hearts of lizards and snakes. **Biological Reviews**, v. 89, p. 302–336, 2014.
- KELBAEK, H. et al. Central haemodynamic changes after a meal. **British Heart Journal**, v. 61, p. 506, 1989.
- KENNEY, M. J. et al. Regulation of the sympathetic nerve discharge bursting pattern during heat stress. **American Journal of Physiology**, v. 275, p.44-6, 1998.
- KENNEY, M. J.; FELLS, R. J. Sympathetic nerve regulation to heating is altered in senescent rats. **American Journal of Physiology**, v. 283, p. R513-20, ago. 2002.
- KIM, H. G. et al. Stress and heart rate variability: A meta-analysis and review of the literature. **Psychiatry Investigation**, 2018.
- KLABUNDE, R. E. Neurohumoral control of heart and circulation. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Cardiovascular Physiology Concepts**. Segunda Edição. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 117-139.
- KLEIN, W. et al. Metabolic Response to Feeding in *Tupinambis meriana*: Circadian Rhythm and a Possible Respiratory Constraint. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 79, p. 593–601, 2006.
- LAUDE, D.; BAUDRIE, V.; ELGHOZI, J. Applicability of recent methods used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity to resting mice. **American Journal of Physiology**, v. 294, p. R142-R150, 2008a.

- LAUDE, D.; BAUDRIE, V.; ELGHOZI, J. L. Effects of atropine on the time and frequency domain estimates of blood pressure and heart rate variability in mice. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2008b.
- LAUDE, D.; BAUDRIE, V.; ELGHOZI, J. Tuning of the sequence technique. **IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine**, v. 28, p. 30-34, 2009.
- LEE, J. S. et al. Isoflurane depresses baroreflex control of heart rate in decerebrate rats. **Anesthesiology**, v. 96, p. 1214–1222, 2002.
- LI, M. et al. Evidence for histamine as a neurotransmitter in the cardiac sympathetic nervous system. **American Journal of Physiology**, v. 291, p. H45–H51, 2006.
- LIGNOT, J. H.; HELMSTETTER, C.; SECOR, S. M. Postprandial morphological response of the intestinal epithelium of the Burmese python (*Python molurus*). **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 141, p. 280–291, 2005.
- LOPES, I. G. et al. The influence of midazolam on heart rate arises from cardiac autonomic tones alterations in Burmese pythons, *Python molurus*. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 208, p. 103–112, 2017.
- LICHTENBELT, W. D. Digestion in an ectothermic herbivore, the green iguana (*Iguana iguana*): effect of food composition and body temperature. **Physiological Zoology**, v. 65, p. 649–673, 1992.
- LILLYWHITE, H. B. Orthostatic intolerance of viperid snakes. **Physiological Zoology**, v. 66, n. 6, p. 1000–1014, 1993.
- LILLYWHITE, H. B.; DONALD, J. A. Neural Regulation of Arterial Blood Pressure in Snakes. **Physiological Zoology**, v. 67, p. 1260–1283, 30 set. 1994.
- LILLYWHITE, H. B. Gravity, blood circulation, and the adaptation of form and function in lower vertebrates. **Journal of Experimental Zoology**, v. 275, n. 2–3, p. 217–225, 1996.
- MAXWELL, L. K.; JACOBSON, E. R.; MCNAB, B. K. Intraspecific allometry of standard metabolic rate in green iguanas, *Iguana iguana*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 136A, p. 301–310, 2003.
- MCCUE, M. D. Specific dynamic action: a century of investigation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 144A, p. 381–394, 2006.
- MOBERLY, W. R. The metabolic responses of the common iguana, *Iguana iguana*, to walking and diving. **Comparative Biochemistry And Physiology**, v. 27, p. 21–32, 1968.
- MODESTO, S. P.; ANDERSON, J. S. The phylogenetic definition of reptilia. **Systematic Biology**, v. 53, p. 815–821, 2004.
- MOSLEY, C. A. Anesthesia and analgesia in reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 14, p. 243–262, 2005.
- NAGY, K.A. Energy requirements of free-living iguanid lizards. In: **Iguanas of the World: Their Behavior, Ecology, and Conservation**. Noyes Publications, p. 49-59, 1982.

NILSSON, S. Neurotransmission. In: NILSSON, S. **Autonomic nerve function in the vertebrates**. Primeira Edição. Heidelberg: Springer-Verlag, 1983.

OVERGAARD, J.; ANDERSEN, J. B.; WANG, T. The effects of fasting duration on the metabolic response to feeding in *Python molurus*: An evaluation of the energetic costs associated with gastrointestinal growth and upregulation. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 75, p. 360–368, 2002.

PAN, Z.-C. et al. Influence of food type on specific dynamic action of the Chinese skink *Eumeces chinensis*. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 140, p. 151–155, 2005.

PARATI, G. et al. Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in evaluating cardiovascular regulation: a critical appraisal. **Hypertension**, v. 25, p. 1276–1286, 1995.

PARATI, G.; BILO, G. Postprandial blood pressure fall: Another dangerous face of blood pressure variability. **Journal of Hypertension**, v. 32, p. 983–985, 2014.

PERKO, M. J. et al. Mesenteric, coeliac and splanchnic blood flow in humans during exercise. **The Journal of Physiology**, v. 513, p. 907–913, 1998.

PICKERING, T. G.; DAVIES, J. Estimation of the conduction time of the baroreceptor-cardiac reflex in man. **Cardiovascular Research**, v. 7, p. 213-219, 1973.

RANG, H. P. et al. **Rang and Dale's pharmacology**. Elsevier Churchill Livingstone, 2016.

RIGEL, D. F. Effects of neuropeptides on heart rate in dogs: comparison of VIP, PHI, NPY, CGRP, and NT. **American Journal of Physiology**, v. 255, p. H311–H317, 1988.

ROBERTS, L. A. Oxygen Consumption in the Lizard *Uta Stansburiana*. **Ecology**, v. 49, p. 809–819, 1968.

ROE, J. H.; HOPKINS, W. A.; TALENT, L. G. Effects of body mass, feeding, and circadian cycles on metabolism in the lizard *Sceloporus occidentalis*. **Journal of Herpetology**, v. 39, p. 595–603, 2005.

ROTHWELL, N. J.; SAVILLE, M. E.; STOCK, M. J. Sympathetic and thyroid influences on metabolic rate in fed, fasted, and refed rats. **American Journal of Physiology**, v. 243, p. R339–R346, 1982.

ROBERT, K. A.; THOMPSON, M. B. Influence of Feeding on the Metabolic Rate of the Lizard, *Eulamprus tympanum*. **Copeia**, v. 2000, p. 851–855, ago. 2000.

SARTORI, M. R. et al. The progressive onset of cholinergic and adrenergic control of heart rate during development in the green iguana, *Iguana iguana*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 188A, p. 1–8, 2015.

SECOR, S. M. Regulation of digestive performance: a proposed adaptive response. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 128, p. 563–575, 2001.

SECOR, S. M. Specific dynamic action: A review of the postprandial metabolic response. **Journal of Comparative Physiology**, v. 179B, p. 1–56, 2009.

SECOR, S.M., DIAMOND, J. Adaptive responses to feeding in Burmese pythons: pay before pumping. **Journal Experimental Biology**. v. 198, p. 1313–1325, 1995.

SECOR, S. M.; DIAMOND, J. M. Evolution of regulatory responses to feeding in snakes. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 73, p. 123–41, 2000.

SECOR, S. M.; HICKS, J. W.; BENNETT, A. F. Ventilatory and cardiovascular responses of a python (*Python molurus*) to exercise and digestion. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, p. 2447–2454, 2000.

SECOR, S. M.; PHILLIPS, J. A. Specific dynamic action of a large carnivorous lizard, *Varanus albigularis*. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 117, p. 515–522, 1997.

SECOR, S. M.; STEIN, E. D.; DIAMOND, J. Rapid up-regulation of snake intestine in response to feeding - a new model of intestinal adaptation. **American Journal of Physiology**, v. 266, p. G695–G705, 1994.

SECOR, S. M.; WHITE, S. E. Prioritizing blood flow: cardiovascular performance in response to the competing demands of locomotion and digestion for the Burmese python, *Python molurus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 213, p. 78–88, 2010.

SKOVGAARD, N. et al. Histamine induces postprandial tachycardia through a direct effect on cardiac H<sub>2</sub>-receptors in pythons. **American Journal of Physiology**, v. 296, p. R774–R785, 2009.

SLAY, C. et al. Reduction of blood oxygen levels enhances postprandial cardiac hypertrophy in Burmese python (*Python molurus*). **Journal of Experimental Biology**, v. 217, p.1784–1789, 2013.

SEYMOUR, R. S.; ARNDT, J. O. Independent effects of heart–head distance and caudal blood pooling on blood pressure regulation in aquatic and terrestrial snakes. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, p. 1305–1311, 2004.

SEYMOUR, R. S.; LILLYWHITE, H. B. Blood pressure in snakes from different habitats. **Nature** 1976 264:5587, v. 264, p. 664–666, 1976.

SEYMOUR, R. S.; HARGENS, A. R.; PEDLEY, T. J. The heart works against gravity. **American Journal Physiology**, v. 265, p. 34-4, 1993

STANFIELD, C. L. Cardiovascular system: cardiac function. In: STANFIELD, C. L. **Principles of human physiology**. Quinta Edição. Londres: Pearson Education, 2011.

STARCK, J. M. et al. Effects of digestion on the respiratory and cardiovascular physiology of amphibians and reptiles. **Ecology**, p. 279–303, 2005.

STARCK, J. M.; BEESE, K. Structural flexibility of the intestine of burmese python in response to feeding. **Journal of Experimental Biology**, v. 204, p. 325–335, 2001.

STARCK, J. M.; BEESE, K. Structural flexibility of the small intestine and liver of garter snakes in response to feeding and fasting. **Journal Experimental Biology**. v.205, p.1377–1388, 2002.

- STAUSS, H. M. Heart rate variability. **American Journal of Physiology**, v. 285, p. R927–R931, nov. 2003.
- STAUSS, H. M.; MOFFITT, J. A.; CHAPLEAU, M. W.; ABBOUD, F. M.; JOHNSON, A. K. Baroreceptor reflex sensitivity estimated by the sequence technique is reliable in rats. **American Journal of Physiology**, v. 291, p. H482–H483, 2006.
- STINNER, J. N.; ELY, D. L. Blood pressure during routine activity, stress, and feeding in black racer snakes (*Coluber constrictor*). **American Journal of Physiology**, v. 264, p. 33-1, 1993.
- TAYLOR, E. W. et al. The phylogeny and ontogeny of autonomic control of the heart and cardiorespiratory interactions in vertebrates. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 690–703, 2014.
- TAYLOR, E. W.; JORDAN, D.; COOTE, J. H. Central control of the cardiovascular and respiratory systems and their interactions in vertebrates. **Physiological Reviews**, v. 79, p. 855–916, 1999.
- TOLEDO, L. F. et al. Effects of season, temperature, and body mass on the standard metabolic rate of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 81, p. 158–164, 2008.
- TROIANO, N. M. et al. The autonomic control of upright posture tachycardia in the arboreal lizard *Iguana iguana*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 329A, p. 130–139, 2018.
- TUCKER, V. A. Oxygen transport by the circulatory system of the green iguana (*Iguana iguana*) at different body temperatures. **Journal of Experimental Biology**, v. 44, p. 77–92, 1966.
- WAALER, B. A. et al. Mechanisms behind the postprandial increase in cardiac output: A clue obtained from transplanted hearts. **European Journal of Applied Physiology**, v. 97, p. 516–520, 2006.
- WANG, T. et al. Autonomic control of heart rate during forced activity and digestion in the snake *Boa constrictor*. **Journal of Experimental Biology**, v. 204, p. 3553–3560, 2001a.
- WANG, T.; BUSK, M.; OVERGAARD, J. The respiratory consequences of feeding in amphibians and reptiles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 128A, p. 535–549, 2001b.
- WEARING, O. H. et al. Embryonic hypoxia programmes postprandial cardiovascular function in adult common snapping turtles (*Chelydra serpentina*). **Journal of Experimental Biology**, v. 220, n. 14, p. 2589–2597, 2017.
- WHITE, W. B. Heart rate and the rate-pressure product as determinants of cardiovascular risk in patients with hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 12, p. 50–55, 1999.
- YOUNG, J. B. et al. Effect of diet and cold exposure on norepinephrine turnover in brown adipose tissue of the rat. **Journal of Clinical Investigation**, v. 69, p. 1061–1071, 1982.

YOUNG, B. A.; WASSERSUG, R. J.; PINDER, A. Gravitational gradients and blood flow patterns in specialized arboreal (*Ahaetulla nasuta*) and terrestrial (*Crotalus adamanteus*) snakes. **Journal of Comparative Physiology B**. v. 167, p. 481–493, 1997.

ZACCONE, G.; MARINO, F.; ZACCONE, D. Intracardiac neurons and neurotransmitters in fish. In A. P. Farrell (Ed.), **Encyclopedia of fish physiology: From genome to environment** (pp. 1067–1072). San Diego, CA: Academic Press, 2011.

ZENA, L. A. et al. Winter metabolic depression does not change arterial baroreflex control of heart rate in the tegu lizard *Salvator merianae*. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, p. 725–733, 2016.