


**JACQUELINE BEXIGA URBAN**



**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS RECÉM  
NATOS GERADOS POR MATRIZES SUBMETIDAS AO TABAGISMO PASSIVO  
ASSOCIADO AO EXERCÍCIO**

**Presidente Prudente**

**2011**

**JACQUELINE BEXIGA URBAN**

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS RECÉM  
NATOS GERADOS POR MATRIZES SUBMETIDAS AO TABAGISMO PASSIVO  
ASSOCIADO AO EXERCÍCIO**

Trabalho apresentado ao Departamento de  
Fisioterapia da Faculdade de Ciências e  
Tecnologia – FCT/UNESP, Campus de  
Presidente Prudente, para aprovação em  
disciplina de Trabalho de Graduação II

**Orientador: Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho**

**Presidente Prudente**

**2011**

**JACQUELINE BEXIGA URBAN**

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS RECÉM  
NATOS GERADOS POR MATRIZES SUBMETIDAS AO TABAGISMO PASSIVO  
ASSOCIADO AO EXERCÍCIO**

Trabalho apresentado ao Departamento de  
Fisioterapia da Faculdade de Ciências e  
Tecnologia – FCT/UNESP, Campus de  
Presidente Prudente, para aprovação em  
disciplina de Trabalho de Graduação II

Presidente Prudente, 18 de novembro de 2011.

---

Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

---

Profa. Msa. Regina Celi Trindade Camargo  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

---

Msd. Alice Cristina dos Santos  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Dedico este trabalho a minha avó,  
Aparecida.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a meu Deus e a meu Senhor Jesus Cristo, que sonhou comigo e não mediu esforços para mudar minha vida e me salvar.

A minha mãe, Janete, que me ensinou a não medir esforços para alcançar meus sonhos e que em todos estes me apoiou e me deu condições para continuar. Sem você, mãe, não estaria aqui.

Ao meu irmão, Leonardo, por ser meu confidente e pelo apoio incondicional.

A minha família, tios e primos, pelas estadias, pelos passeios, e que mesmo distantes faziam suas as minhas vitórias.

Ao meu orientador, José Carlos, pela confiança extrema depositada, pela paciência e pelas grandes lições de vida.

A minha co-orientadora, Bruna, que me ensinou e ajudou, sempre com um sorriso no rosto. Este trabalho é muito mais seu do que meu.

A minha professora, Regina, que tantas vezes me aconselhou, me dando sempre ânimo e uma palavra amiga.

Ao para sempre técnico do laboratório de Histologia, Sidney, pelos puxões de orelha, pela colaboração e em especial, pelas orações.

As meninas do meu grupo de estágio, Dany, Ju, Leri e Rose, por ouvir minhas reclamações, por oferecer seu ombro, por estarem perto quando mais precisei, por se preocuparem comigo.

Aos amigos do LAPMUS e do Fisiologia do Estresse, sem mencionar nomes para não esquecer de ninguém, pelas horas de discussões científicas, pelas risadas, pelos horários de café.

Aos meus irmãos em Cristo, sem delimitar a igrejas, pelas intercessões e torcida.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio durante a realização deste trabalho.

E a todos que de alguma forma contribuíram com este singelo início de caminhada.

“É loucura odiar todas as rosas porque uma te espetou. Entregar todos os teus sonhos porque um deles não se realizou, perder a fé em todas as orações porque em uma não foi atendido, desistir de todos os esforços porque um deles fracassou. É loucura condenar todas as amizades porque uma te traiu, descrer de todo amor porque um deles te foi infiel. É loucura jogar fora todas as chances de ser feliz porque uma tentativa não deu certo. Espero que na tua caminhada não cometas estas loucuras. Lembrando que sempre há uma outra chance, uma outra amizade, um outro amor, uma nova força. **Para todo fim um recomeço!**”

(Le Petit Prince, do escritor francês Antoine de Saint-Exupéry).

## RESUMO

O tabagismo materno durante a gestação provoca modificações cardíacas, déficit do crescimento fetal, aborto espontâneo e baixo peso ao nascer. Mesmo em grávidas expostas a fumaça de cigarro essas alterações podem ser observadas. Porém, o exercício físico tem como respostas o aumento do peso fetal, além da melhora da condição cardiorrespiratória da grávida e do feto. O objetivo deste estudo foi analisar o músculo ventricular de filhotes de ratas submetidas ao tabagismo passivo associado ao exercício físico aquático. Para a realização dos experimentos foram utilizadas 24 ratas fêmeas divididas em quatro grupos com quatorze animais cada: GC (controle), GE (protocolo de exercício na água), GF (expostos à fumaça de cigarro) e GEF (protocolo de exercício na água e expostos à fumaça de cigarro). Neste mesmo dia foi realizada a 1ª sessão da fase experimental do protocolo de exposição à fumaça de cigarro, que consistiu de 30 minutos, duas vezes ao dia, seis dias por semana, durante três semanas, sendo acompanhada da 1ª sessão do programa de natação, que teve a partir da quinta sessão, 60 minutos de duração, com finalização do protocolo experimental no 21º dia de amamentação com o sacrifício dos filhotes, por meio de decapitação. Foi obtido o músculo ventricular, estas peças foram emblocadas em parafina, cortadas em micrótomo rotatório pelo método semi seriado e coradas pelo método Hematoxilina-Eosina, para a realização de um estudo histomorfométrico de cardiomiócitos, onde as observações das possíveis variações de tamanho. Foram analisadas por imagem computadorizada das lâminas coradas em HE. Não houve diferenças morfométricas estatísticas. Conclui-se que o tabagismo não foi capaz de alterar as medidas de diâmetro dos cardiomiócitos dos filhotes pós-desmame.

Palavras-chave: Prenhez. Lactação. Morfometria. Cardiomiócitos.

## ABSTRACT

Maternal smoking during pregnancy causes heart changes, impaired fetal growth, spontaneous abortion and low birth weight. Even in pregnant women exposed to cigarette smoke these changes can be observed. But the exercise is to answer the increased fetal weight, besides the improvement of cardiorespiratory fitness of the pregnant and the fetus. The objective of this study was to analyze the ventricular muscle of young rats subjected to passive smoking associated with aquatic exercise. For the experiments used 24 female rats were divided into: GC (control), GE (exercise protocol in the water), GF(exposed to cigarette smoke) and GEF (exercise protocol on water and exposed to cigarette smoke). On the same day was held the 1st session of the experimental phase of the protocol of exposure to cigarette smoke, which consisted of 30 minutes twice a day, six days a week for three weeks, followed by the first session of the swimming program, which was from the fifth session, 60 minutes, with completion of the experimental protocol on the 21st day of breastfeeding with the sacrifice of the young, through decapitation. Ventricular muscle was obtained, these pieces were embedded in paraffin, cut in half by the method rotary microtome series and stained using hematoxylin-eosin, to perform a histomorphometric study of cardiomyocytes, where the observations of the possible variations in size. Were analyzed by computerized image of the slides stained with HE. There were no differences morphometric statistics. It is concluded that smoking was not able to change the diameter of cardiomyocytes measures of offspring after weaning.

Key words: Pregnancy. Lactation. Morphometry. Cardiomyocytes.



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 – Média do número de filhotes dos grupos: exposto à fumaça de cigarro (GF), controle (GC), exposto à fumaça de cigarro e submetido ao programa de natação (GEF) e submetido ao programa de natação (GE), em quatro momentos distintos: no nascimento (M0), com sete dias de amamentação (M1), com 14 dias de amamentação (M2) e com 21 dias de amamentação (M3).....22

Gráfico 02 – A - Média do peso corporal dos filhotes; B - Média do comprimento corporal dos filhotes. Grupos: exposto à fumaça de cigarro (GF), controle (GC), exposto à fumaça de cigarro e submetido ao programa de natação (GEF) e submetido ao programa de natação (GE). Momentos: nascimento (M0), sete dias de lactação (M1), 14 dias de lactação (M2) e 21 dias de lactação (M3).....24

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01.</b> Peso e comprimento dos filhotes do nascimento ao desmame.....	23
<b>Tabela 02:</b> Pesos cardíaco e corporal e relação peso cardíaco e corporal dos filhotes após o desmame.....	25
<b>Tabela 03:</b> Média e desvio padrão do peso (g) e morfometria ( $\mu\text{m}$ ) do músculo ventricular dos filhotes.....	26

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>15</b>
2.1. GERAL.....	15
2.2. ESPECÍFICOS .....	15
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 ANIMAIS.....</b>	<b>15</b>
3.2. DIVISÃO DOS GRUPOS .....	16
3.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	16
3.4. PROTOCOLO DE EXPOSIÇÃO À FUMAÇA DE CIGARRO .....	17
3.3. PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO NA ÁGUA .....	18
3.4. FASES DO CICLO ESTRAL .....	19
<b>3.5. ANÁLISE DO PESO E COMPRIMENTO .....</b>	<b>20</b>
3.6 COLETA DO MATERIAL .....	20
<b>3.7. PREPARO DO MATERIAL HISTOLÓGICO.....</b>	<b>20</b>
3.8. ANÁLISE MORFOMÉTRICA.....	21
<b>4. ANÁLISE DE DADOS .....</b>	<b>21</b>
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>6.REFERÊNCIAS .....</b>	<b>29</b>

## 1. Introdução e Justificativa

O tabagismo é considerado uma pandemia, sendo responsável por 4 milhões de mortes/ano (NAKAMURA et al., 2004). No Brasil, 17,2% dos maiores de 15 anos são fumantes (WÜNSCH FILHO et al., 2010), dentre os quais 11,2 milhões são mulheres, com grande porcentagem de mulheres na idade reprodutiva, entre 20 a 49 anos (GALÃO et al., 2009).

Na fumaça do cigarro, 4720 elementos diferentes já foram identificados, sendo que dentre estes existem substâncias tóxicas e cancerígenas (MELLO et al., 2001; CAMPOS et al., 2008). Estas substâncias são encontradas na fumaça do cigarro, constituída principalmente por dois componentes: fumaça central e fumaça periférica (MELLO et al., 2006).

O fumo ativo é caracterizado pela fumaça central, gerada pelas altas temperaturas (acima de 950°C), produzida quando o fumante traga o cigarro, é lançada ao meio ambiente após ser aspirada pelo filtro do cigarro, entrando em contato com os pulmões, sendo exalada em seguida (MELLO et al., 2006).

Em contrapartida, o fumo passivo é composto em princípio pela fumaça periférica, uma mistura de gases e partículas em estado líquido e sólido, produzida em temperaturas mais baixas (próximas a 350°C), durante a lenta queima das extremidades do cigarro entre as tragadas do fumante ativo. Corresponde aproximadamente a 85% da fumaça de cigarro presente no ambiente, a constituição química é semelhante à da fumaça central, diferindo quantitativamente, pois esta não é filtrada (MELLO et al., 2006; CAMPOS et al., 2008).

Os tabagistas passivos podem absorver um sexto da quantidade de fumaça absorvida por um fumante ativo, em desacordo com o menor risco, para fumantes passivos em relação a fumantes ativos, a proporção de pessoas fumantes passivas é muito maior, sendo que os maiores riscos apresentam-se entre os fetos, recém-nascidos e lactentes (CHERTOK et al., 2010). NAKAMURA et al. (2004) descreveram o tabagismo passivo como um problema relevante à saúde pública em todo o mundo, por apresentarem maior risco de morbidade das doenças causadas pelo cigarro, a escala da exposição ao tabagismo é grande, incluindo mulheres grávidas (Wdowiak et al., 2009). No território brasileiro, a fumaça do cigarro está

presente em 27,9% dos domicílios e 24,4% dos ambientes de trabalho (Wünsch Filho et al., 2010).

Segundo Marcopito et al., 2007, o hábito tabágico apresentava prevalência de 19,9% no Brasil, tornando-se uma preocupação da saúde coletiva (Galão et al., 2009), sendo que esta porcentagem reflete diretamente no número de mulheres em idade fértil, potenciais grávidas fumantes, das quais 35% continuam fumando durante a gestação (BAYKAN et al., 2005). Em somatória, o tabagismo na mulher reduz globalmente a fertilidade, com evidente atraso da primeira gestação (MELLO et al., 2001). O tabagismo reduz a fertilidade, diminuindo 3,4 vezes a probabilidade de levar mais de um ano para a concepção em comparação a mulheres não fumantes (MELLO et al., 2001).

Durante o fumo, a mulher expõe seu feto tanto aos componentes contidos no cigarro, muitos capazes de difundirem-se pela placenta quanto as alterações metabólicas desencadeadas pelo tabagismo (NAKAMURA et al., 2008). Na literatura, diversos relatos sobre a relação entre o baixo peso ao nascer, déficit de crescimento, risco aumentado de aborto espontâneo, maior incidência de gestações ectópicas, além de descolamento prematuro de placenta e parto prematuro (MELLO et al., 2001 e NAKAMURA et al., 2008).

Todas as alterações citadas são, proporcionalmente, aumentadas com o número de cigarros consumidos por dia (MAINOUS E HEUSTON, 1994). Sendo estas alterações causadas pelo negativo impacto biológico do tabagismo materno na função placentária, como transferência de nutrientes, oxigênio, proteínas, além de mecanismo ainda desconhecidos (CHERTOK et al., 2010). Com destaque, observou-se que o fumo após o quarto mês é decisivo para a perda de peso fetal (CHIOLERO et al., 2005). Este parâmetro é relacionado com a morbimortalidade perinatal e infantil, com grande relevância em Saúde Pública (AZENHA et al., 2008). Chertok et al. (2010) sugerem que o baixo peso ao nascer seja decorrente de interações entre o genótipo metabólico materno e o hábito tabágico. Um estudo realizado por Wdowaik et al. (2009) demonstrou queda na porcentagem de peso entre filhos de gestantes fumantes ativas quando comparadas a fumantes passivas; sendo essa queda mais crítica em filhos de gestantes que consumiam acima de dez cigarros por dia (GALÃO et al., 2009).

O tabagismo materno impõe o feto a uma condição de hipóxia fetal, pela redução da capacidade da hemoglobina de liberar oxigênio (GALÃO et al., 2009),

além da vasoconstrição dos vasos umbilicais, mediada pela inibição da produção de vasodilatadores nas paredes destes vasos (MELLO et al., 2001). Estes mecanismos podem ser os responsáveis pela redução do crescimento em filhos de mulheres fumantes, quando comparados a filhos de mães não fumantes (GALÃO et al., 2009).

Em somatória, o parto prematuro (baixa idade gestacional) oferece a maior proporção dos casos de morte neonatal e morbidade a longo prazo, com destaque a mães com alta dependência da droga (CHERTOK et al., 2010). No recém-nascido, o tabagismo aumenta duas vezes o risco da síndrome da morte súbita em comparação com bebês não expostos (NEFF et al., 2004; SARTIANI et al., 2004; CAMPOS et al., 2008; NAKAMURA et al., 2004).

Além dos efeitos descritos, há relato da relação entre mal formações fetais, como fenda oro-labial (LEITE et al., 2002), efeitos nos sinais vitais no nascimento, segundo Nakamura et al. (2008), demonstrados por baixos escores Apgar<sup>1</sup>, a relação com problemas respiratórios, como redução do crescimento dos pulmões (MACHADO et al., 2009), comprometimentos do desenvolvimento do sistema nervoso central da criança (CAMPOS et al., 2008) e quadros de isquemia e hipóxia (CZEKAJ et al., 2002; NEFF et al., 2004; BAYKAN et al., 2005; CAMPOS et al., 2008)

Destacam-se nos componentes da fumaça do cigarro, a nicotina e o monóxido de carbono (MELLO et al., 2001). A nicotina é uma das mais perigosas substâncias do tabaco, pois é capaz de difundir-se pela placenta (CLARK et al., 1992), além de liberar, no organismo materno, catecolaminas, causando no organismo: vasoconstrição periférica, taquicardia, aumento da pressão arterial, elevação da resistência periférica, acidose, hipercapnia respiratória, redução da perfusão sanguínea uterina e hipóxia (CZEKAJ et al., 2002) resultando em uma pobre nutrição e oxigenação fetal (NAKAMURA et al., 2004) . O monóxido de carbono é produzido na queima incompleta do cigarro, e este realiza com a hemoglobina uma ligação estável. Weinberger & Weiss<sup>2</sup> (1996 apud Nakamura et al., 2004) relatam que fumantes, com consumo de 40 cigarros/dia, apresentavam elevação de 10% de carboxihemoglobina e a redução de 60% do fluxo fetal sanguíneo.

---

<sup>1</sup> É o método mais comumente empregado para avaliar o ajuste imediato do recém-nascido à vida extra-uterina, avaliando suas condições de vitalidade. Os aspectos avaliados são: frequência cardíaca, esforço respiratório, tônus muscular, irritabilidade reflexa e cor da pele.

<sup>2</sup> Weinberger, S. E., Weiss, S. T. Doenças pulmonares. In: Burrow GN, Ferris TF, editors. Complicações clínicas durante a gravidez. 4 th ed. São Paulo: Roca;p. 431-474, 1996.

O feto é extremamente sensível aos efeitos da hipóxia, causado pelo alto nível de carboxihemoglobina no sangue materno (SARTIANI et al., 2004). Um dos resultados da hipóxia causada pelo fumo em modelos animais é o colapso do sistema antioxidante do miocárdio (CLARK e IRION,1992), sistema alvo de pesquisas com foco em prevenção de doenças crônicas (ZORNOFF et al., 2006).

Além dos efeitos do hábito tabágico na mulher, as crianças e os recém-nascidos são particularmente vulneráveis aos efeitos perniciosos devido ao fato de estarem em desenvolvimento e à sua condição de criança, que a deixa sem opção perante a companhia de genitores tabagistas (CAMPOS et al, 2008).

Devido aos conhecidos efeitos nocivos do tabagismo ao feto, a fumante tende a interromper o hábito de fumar, a diminuir o número de cigarros fumados, ou a parar de fumar definitivamente (ALVES, 2006). Todavia, as grávidas, que param de fumar, podem se tornar fumantes passivas, pelo fumo do cônjuge ou das pessoas em seu ambiente de trabalho.

Para alcançar a prática de hábitos saudáveis durante a gravidez, recomenda-se alimentação equilibrada e atividade física (MEIRELLES e GONÇALVES, 2004; TAYLOR et al., 2005; DANIEL et al., 2006). Em contrapartida aos malefícios do cigarro, o exercício físico é considerado um importante hábito pelo seu efeito de bem estar, preventivo e terapêutico (ARAÚJO et al., 2010). Atualmente, há o reconhecimento dos profissionais da saúde que o exercício moderado não oferece risco a gestante, desde que esta não apresente sangramento vaginal, hipertensão arterial ou incompetência cervical<sup>3</sup> (FABRIN et al., 2011). Além destes efeitos, está associado a diversos benefícios metabólicos, cardiovasculares e neurovegetativos, com relevante redução na morbidade e mortalidade, e melhora na capacidade funcional global (ARAÚJO et al.,2010).

A prática da atividade física traz benefícios para a mãe e, conseqüentemente, para o feto, por melhorar a condição cardiorrespiratória (CAVALCANTE et al., 2009). Em especial, os exercícios de intensidade leve a moderada podem promover melhora na resistência e flexibilidade muscular, sem aumento no risco de lesões, complicações na gestação ou relativas ao peso do feto ao nascer. The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) orienta que a atividade física durante a gestação seja realizada sobre supervisão médica, com intensidade

---

<sup>3</sup> A incompetência cervical é a principal razão dos nascimentos precoces e perdas durante a gravidez. Pode resultar de uma dilatação forçada e precoce do colo do útero

moderada por 30 minutos ou mais, preferencialmente todos os dias da semana (FABRIN et al., 2011)

Os benefícios da atividade física em imersão em água relatados são diminuição da possibilidade do edema gravídico, prevenção ou melhora dos desconfortos músculos-esqueléticos, incremento da diurese, aumento da capacidade do organismo materno em eliminar calor, controle do estresse, relaxamento corporal, suportar melhor o aumento de peso e atenua as alterações posturais decorrentes desse período, maior gasto energético e aumento da capacidade cardiovascular. (PREDEVEL et al., 2003, LIMA et al., 2005; FINKELSTEIN et al., 2006). Os efeitos específicos da prática de exercícios físicos em ambiente aquático fazem com que a adesão à técnica seja cada vez mais procurada, tanto por parte das gestantes como dos profissionais que as acompanham no pré-natal (PREDEVEL et al., 2003). Além, do baixo impacto articular, principal característica do exercício, é reconhecido alterações cardiovasculares maternas como o aumento do retorno venoso, devido à pressão hidrostática, e comportamento de frequência cardíaca e pressão arterial mais baixos (FINKELSTEIN et al., 2006).

A resposta da pressão arterial durante a imersão, nas gestantes, pode ser explicada pelo aumento do tônus vagal, durante o repouso, e pela ação da pressão hidrostática que produz um redirecionamento sanguíneo (FINKELSTEIN et al., 2006). Este redirecionamento produz elevação do nível da diurese e natriurese, através da estimulação de receptores, que conduzem ajustes reflexos hormonais e neurais.

Embora os efeitos do fumo passivo e do exercício físico sejam conhecidos nas mulheres grávidas, não foram encontrados estudos conclusivos sobre o desenvolvimento do feto exposto intra-útero ao fumo passivo, em especial, com os efeitos do tabagismo passivo materno em relação ao desenvolvimento do coração fetal.

Desta maneira, o presente estudo pretendeu avaliar os efeitos do condicionamento físico aeróbio materno, por meio do exercício aquático, associado ao tabagismo passivo materno durante a prenhez e lactação no músculo ventricular de filhotes de ratas fumantes



## 2. Objetivo

### 2.1. Geral

Analisar aspectos morfológicos do músculo cardíaco ventricular de filhotes de ratas submetidas ao tabagismo passivo associado ao exercício físico por meio da natação, após o período de lactação.

### 2.2. Específicos

- Quantificar o número de nascimentos por ratas.
- Avaliar o peso e o comprimento dos filhotes.
- Analisar morfometricamente o tecido ventricular
- Mensurar aumento de volume de cardiomiócitos do tecido ventricular

## 3. Material e Métodos

### 3.1 Animais

Para a realização do experimento foram utilizados 24 ratas em idade reprodutiva (três meses) e oito ratos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. albina, Rodentia, Mammalia), fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual Paulista do Campus de Botucatu. Os animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Histologia e Histoquímica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da UNESP em gaiolas plásticas coletivas medindo 30x16x19 centímetros, com três animais em cada gaiola. Esses animais permaneceram no biotério, sob temperatura média de  $22 \pm 2$  °C e período claro/escuro de 12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às 7 horas. Os animais foram alimentados com ração padrão e água fornecida *ad libitum*.

Todos os procedimentos adotados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP (Proc. N°47/2009)

e seguiram os “Princípios Éticos na Experimentação Animal” adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

### **3.2. Divisão dos grupos**

As 24 ratas foram divididas em quatro grupos com seis animais cada, sendo: GC (controle), GE (submetido ao protocolo de exercício na água), GF (expostos a fumaça de cigarro) e GEF (submetido ao protocolo de exercício na água e expostos a fumaça de cigarro).

Os oito ratos foram mantidos somente com a finalidade do acasalamento, sendo que cada um fecundou três ratas durante o experimento.

### **3.3. Procedimento Experimental**

Quando as matrizes atingiram a idade adulta (90 dias), foi iniciada a análise do ciclo estral, avaliado por esfregaço vaginal; ao ser diagnosticada a fase estro, a rata foi colocada na mesma gaiola que um macho durante uma noite; no dia seguinte, foi realizado novamente o esfregaço vaginal para detecção da prenhez, mediante presença de espermatozóides (DIAS et al., 2001; MELLO et al., 2006).

Em paralelo ao processo de avaliação do ciclo estral, foi realizada a adaptação ao meio líquido das matrizes. Após a confirmação da prenhez, foi realizada a primeira sessão do treinamento aquático e a primeira sessão da exposição ao tabagismo passivo (PAIVA et al., 2003 e CASTARDELI et al., 2005).

Durante a prenhez, foi registrado: o dia do parto, número de filhotes, além dos pesos e comprimentos semanais dos filhotes.

Após o período de prenhez e lactação, foi realizada a eutanásia dos filhotes por meio da decaptação, seguida da realização de uma abertura cirúrgica no tórax para a obtenção do músculo ventricular; que posteriormente foi emblocado em parafina e cortado com micrótomo rotatório. As lâminas foram coradas em Hematoxilina-Eosina e foi realizado um estudo morfométrico de cardiomiócitos (SILVA et al, 2011).

### 3.4. Protocolo de exposição à fumaça de cigarro

O modelo de inalação utilizado foi descrito por Paiva et al. (2003), e Castardeli et al. (2005) com adequações do espaço para gaiola e válvulas realizadas pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI) de Presidente Prudente - SP.

Como câmara de inalação foi utilizada uma caixa, com estrutura de alumínio e vidro, medindo 100 x 44 x 44 cm. A câmara é hermeticamente fechada e dividida em dois compartimentos, por um tabique de vidro escuro com um pertuito central com uma polegada de diâmetro. Um dos compartimentos da caixa é utilizado para a colocação de cigarros acesos em um suporte, de forma que fiquem na posição vertical. Outro compartimento é destinado à exposição da gaiola com seis animais.

Do lado que ficaram os cigarros, foi conectada à câmara, uma fonte de ar comprimido com fluxo de 10 l/min permitindo a combustão dos cigarros e propiciando a condução da fumaça para o outro lado da caixa, onde ficaram os animais, dentro da gaiola. No compartimento dos animais há um orifício de drenagem de ar, onde foi adaptado um Cooler com função de exaustor da mistura. Desta forma, o arranjo experimental aproxima-se mais propriamente de uma situação de fumo passivo.

Foi utilizado cigarro adquirido comercialmente, com a composição descrita no maço pelo fabricante: mistura de fumos, açúcares, papel de cigarros, extratos vegetais, agentes de sabor, gerando para cada queima de cigarro o valor 0,7 mg de nicotina, 8 mg de alcatrão e 9 mg de monóxido de carbono.

Os animais dos grupos GF e GEF foram submetidos a um protocolo de exposição à fumaça de cigarro que compreendeu duas fases: adaptação e experimental.

**Fase de adaptação:** compreendeu os cinco primeiros dias de experimento, onde os animais dos grupos GF e GEF foram expostos à fumaça de cigarro na câmara de fumo a uma temperatura de  $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  (CZEKAJ et al., 2002), durante 10 minutos, uma vez ao dia, com 250 ppm (partes por milhão) de CO (monóxido de carbono) medido pelo detector de gás específico TxiPro<sup>®</sup> da Biosystems. Os animais dos grupos GC e GE foram submetidos à inalação de ar comprimido, com as mesmas características de tempo e periodicidade dos animais expostos ao fumo.

**Fase experimental:** consistiu na exposição dos animais dos grupos GF e GEF à fumaça da combustão de cigarro na câmara de fumo a uma temperatura de

23 °C ± 1 (CZEKAJ et al., 2002), durante 30 minutos, duas vezes ao dia, seis dias por semana, perfazendo 36 dias, com 350 ppm de CO por exposição (EDIRISINGHE et al., 2008). Os animais dos grupos GC e GE foram submetidos à inalação de ar comprimido em caixa similar, com as mesmas características de tempo e periodicidade dos animais expostos ao fumo.

### **3.3. Protocolo de exercício físico na água**

Os animais dos grupos GE e GEF foram submetidos a um protocolo de exercício físico na água, descrito por Volpato et al. (2006), que compreendeu duas fases: adaptação ao meio líquido e programa de natação.

**Adaptação ao meio líquido:** os animais dos grupos GC, GE, GEF e GEF foram colocados em um tanque, medindo 100 cm de comprimento x 50 cm de largura x 60 cm de profundidade, contendo água a 30°C no nível de 10 cm, durante 15 minutos ao dia por cinco dias consecutivos. Sendo, o suficiente para adaptação ao meio líquido, evitando o treinamento físico dos animais.

**Programa de natação:** os animais dos grupos GE e GEF foram colocados no mesmo tanque, com a mesma temperatura e com água no nível de 40 cm, para não apoiar a cauda no fundo do tanque, assim tendo o estímulo para nadar. Este programa consistiu de sessões diárias de natação, seis dias da semana durante seis semanas, perfazendo um total de 36 sessões.

*Fase de adaptação ao treinamento:* as cinco primeiras sessões de natação tiveram aumento progressivo de 10 minutos de duração por dia, começando com 20 minutos e chegando à quinta sessão com 60 minutos.

*Treinamento:* a partir da sexta sessão foi mantido o tempo de duração de 60 minutos até a 36ª sessão. A intensidade do treinamento foi moderada, visto que permitiu um esforço físico aeróbio entre 60 e 70%, pois a sobrecarga foi imposta pela prenhez, devido ao aumento progressivo de peso.

Os animais do grupo GC e GF foram colocados no mesmo tanque e nas mesmas condições da fase de adaptação (10 cm de coluna de água) durante o período do programa de natação, para que sofressem o mesmo estresse do meio líquido, entretanto não realizaram o treinamento físico aeróbio por meio da natação.

Ao término de cada sessão de natação, os animais foram colocados em uma caixa de madeira aquecida por luz, onde permaneceram por aproximadamente 20 - 30 min até estarem secos, retornando em seguida para suas gaiolas-moradia.

### 3.4. Fases do ciclo estral

A duração média do ciclo na rata fêmea é de quatro dias e a determinação da sua fase (proestro, estro, metaestro e diestro) é baseada na proporção de três tipos de célula (epiteliais, corneificadas e leucócitos), da seguinte forma (MARCONDES et al., 2002):

1. **Proestro:** predomínio de células epiteliais nucleadas;
2. **Estro:** constituída por células corneificadas anucleadas;
3. **Metaestro:** consiste na mesma proporção entre os leucócitos, células corneificadas e epiteliais;
4. **Diestro:** predomínio de leucócitos.

A análise da celularidade vaginal foi realizada por meio de um esfregaço da seguinte maneira:

1. Cada rata foi segura pelo dorso e foi introduzida na vagina uma pipeta contendo solução fisiológica, que foi instilada para dentro da vagina;
2. Em seguida, foram aspiradas algumas gotas dessa solução, que trouxeram em suspensão as células do epitélio vaginal, colocadas em uma lâmina de vidro lavada e sem gordura, examinada diretamente ao microscópio com aumento de 10x.

Sendo detectado o início da fase fértil (estro), as ratas foram colocadas em gaiolas separadas com um rato macho, onde permaneceram por uma noite (MELLO et al., 2006). E na manhã seguinte, a prenhez foi diagnosticada pela análise microscópica do esfregaço vaginal, onde a presença de espermatozóide caracterizava o dia zero da prenhez (DIAS et al., 2001).

O primeiro dia da prenhez foi o primeiro dia da fase experimental do protocolo de exposição à fumaça de cigarro, e neste dia também foi realizada a primeira sessão do programa de natação. Tanto o protocolo de exposição à fumaça de cigarro, quanto o de atividade física na água encerravam no 21º dia de amamentação, perfazendo 36 dias de intervenção dos 42 dias compreendidos entre início da prenhez e fim da amamentação.

### **3.5. Análise do peso e comprimento**

Foram registrados: o dia do parto, o número de filhotes nascidos vivos ou mortos, bem como o peso e o comprimento dos recém-nascidos imediatamente após o parto (M0), sete dias após o parto (M1), segunda semana de lactação (M2) e desmame (M3).

Para pesagem dos filhotes foi utilizada a balança semi-analítica eletrônica da marca Gehaka, com variação de 0,01 g, e para aferir o comprimento dos filhotes, foi considerado o corpo e a cauda dos mesmos, utilizando-se um paquímetro.

### **3.6 Coleta do Material**

Para a coleta do tecido cardíaco, os filhotes foram sacrificados por meio de decapitação utilizando-se uma guilhotina para os pequenos animais, e prontamente foi iniciado o procedimento cirúrgico.

Para a retirada do coração, o tórax foi cuidadosamente aberto, preservando-se as estruturas. Após este procedimento, o coração era retirado e imediatamente pesado em balança analítica eletrônica da marca Sauter e os dados foram anotados em uma ficha para posterior análise estatística.

### **3.7. Preparo do Material Histológico**

Foi realizado um corte transversal ao eixo maior do coração, obtendo-se apenas o ventrículo direito e esquerdo. Esses fragmentos do tecido cardíaco foram fixados em formalina a 10% por 24 horas, iniciando-se em seguida o processo de desidratação pela passagem das amostras em solução alcoólica com concentração crescente, seguindo-se a diafanização por xilol e inclusão em blocos de parafina.

Os blocos foram cortados em micrótomo rotatório pelo método semi seriado com espessura de 5 $\mu$ m e coradas pelo método Hematoxilina-Eosina para visualização em microscopia de luz.

### **3.8. Análise Morfométrica**

As lâminas coradas em Hematoxilina e Eosina (HE) foram utilizadas para avaliação das características do tecido cardíaco, conforme metodologia descrita na literatura (SILVA et al, 2011).

Foi realizado um estudo morfométrico de cardiomiócitos, observando-se de 50 a 60 células por campo, observando-se o diâmetro da fibra (SILVA et al, 2011). As observações, das possíveis variações do tamanho destes, foram realizadas por meio de um sistema de análise por imagem computadorizada (Image-Pro Plus®) das lâminas coradas em HE.

### **4. Análise de Dados**

Os dados obtidos foram analisados por um programa estatístico, primeiramente submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk). A partir dos resultados da normalidade, a diferença entre os grupos foi mensurada pela análise de variância (ANOVA-One Way) para dados normais, seguido do pós teste de Tukey. Para todas as análises foi utilizada nível de significância de  $p < 0,05$ .

### **5. Resultados**

No momento do nascimento (M0), o GE apresentou o maior número de filhotes e o GF o menor número. No M1 houve um número de mortes reduzido nos grupos GF e GEF, e pôde-se observar um maior número de mortes para o GE. No M2, o GE continuou apresentando maior mortalidade, seguido do GC que mostrou apenas algumas mortes. Já na semana que antecedeu o desmame (M3) não houve morte de filhotes, como pode ser observado no Gráfico 01. A partir da média do nascimento de filhotes das ratas dos diferentes grupos do presente estudo, foi verificada diminuição do número de filhotes do nascimento até o desmame, sendo observada maior porcentagem de mortes no GE no decorrer do tempo.

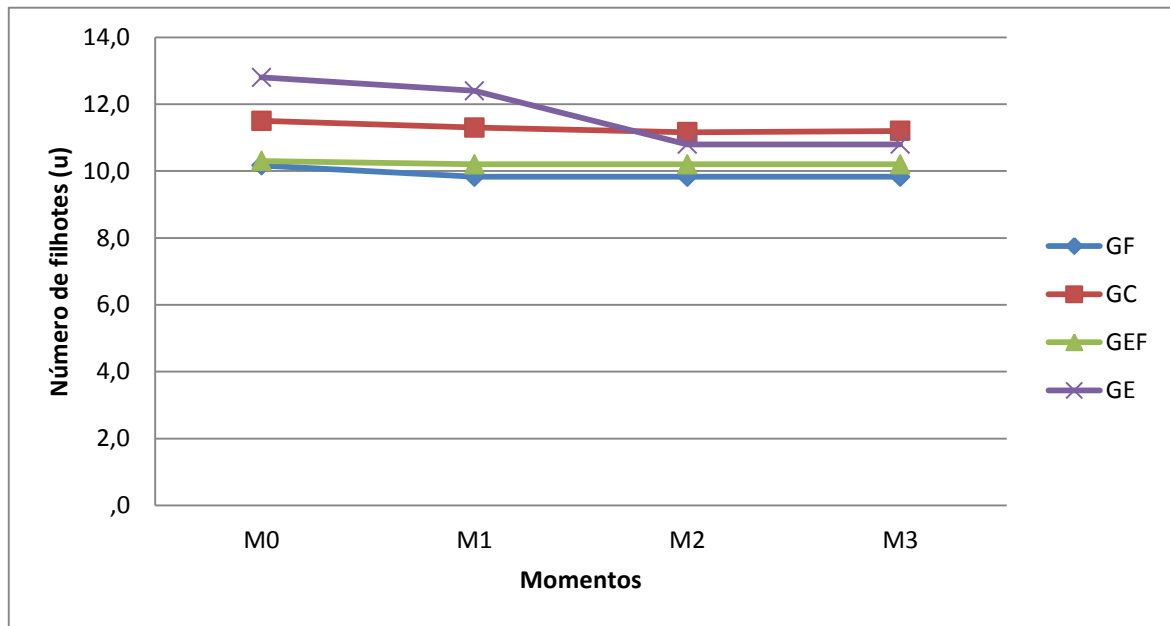


Gráfico 01 – Média do número de filhotes dos grupos: exposto à fumaça de cigarro (GF), controle (GC), exposto à fumaça de cigarro e submetido ao protocolo de exercício físico (GEF) e submetido ao protocolo de exercício físico (GE), em quatro momentos distintos: no nascimento (M0), com sete dias de amamentação (M1), com 14 dias de amamentação (M2) e com 21 dias de amamentação (M3). Considere:  $p < 0,05$ .

Em relação às mensurações de comprimento, todos os grupos apresentaram evolução em relação aos momentos. No momento do nascimento (M0), o GC apresentava-se significamente maior que o grupo GEF ( $p=0,026$ ), diferença que permaneceu no M1 ( $p=0,01$ ). Além destas diferenças, no momento M2 todos os grupos experimentais apresentavam-se significamente menores que o GC, tendo GF ( $p=0,001$ ), GEF ( $p=0,004$ ) e o GE ( $p=0,02$ ). No desmame, a diferença apresentou-se restrita aos grupos expostos a fumaça de cigarro, GF ( $p=0,003$ ) e GEF ( $p=0,001$ ), em comparação ao GC (Tabela 01 e Gráfico 02).

**Tabela 01.** Peso e comprimento dos filhotes do nascimento ao desmame.

Grupo	M0	M1	M2	M3
<b>Peso corporal (g)</b>				
<b>GC</b>	6.775 ± 0.6738 <sup>c</sup>	14.885 ± 1.596 <sup>b</sup>	22.598 ± 2.552 <sup>a, b</sup>	34.470 ± 7.810 <sup>b, c</sup>
<b>GE</b>	6.528 ± 0.6011	12.031 ± 1.736	18.496 ± 2.341	28.725 ± 3.782



<b>GF</b>	6.431 ± 0.7402	11.720 ± 1.257	16.797 ± 2.509	26.452 ± 4.595
<b>GEF</b>	5.858 ± 0.6153	11.716 ± 2.273	17.159 ± 2.748	22.547 ± 4.682
<b>Comprimento corporal (cm)</b>				
<b>GC</b>	6.865 ± 0.4259 <sup>c</sup>	10.340 ± 0.6833 <sup>c</sup>	13.819 ± 0.8154 <sup>a, b, c</sup>	18.285 ± 1.838 <sup>b, c</sup>
<b>GE</b>	6.8000 ± 0.3055	9.617 ± 0.6201	12.416 ± 0.7317	16.227 ± 1.160
<b>GF</b>	6.557 ± 0.4093	9.474 ± 0.5448	11.326 ± 0.7399	15.328 ± 1.054
<b>GEF</b>	6.359 ± 0.3476	9.301 ± 0.7890	12.063 ± 1.182	14.511 ± 1.492

Letras correspondem a presença de diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre: <sup>a</sup> GC e GE; <sup>b</sup> GC e GF; <sup>c</sup> GC e GEF, em quatro momentos distintos: no nascimento (M0), com sete dias de amamentação (M1), com 14 dias de amamentação (M2) e com 21 dias de amamentação (M3). Considere:  $p < 0,05$ .

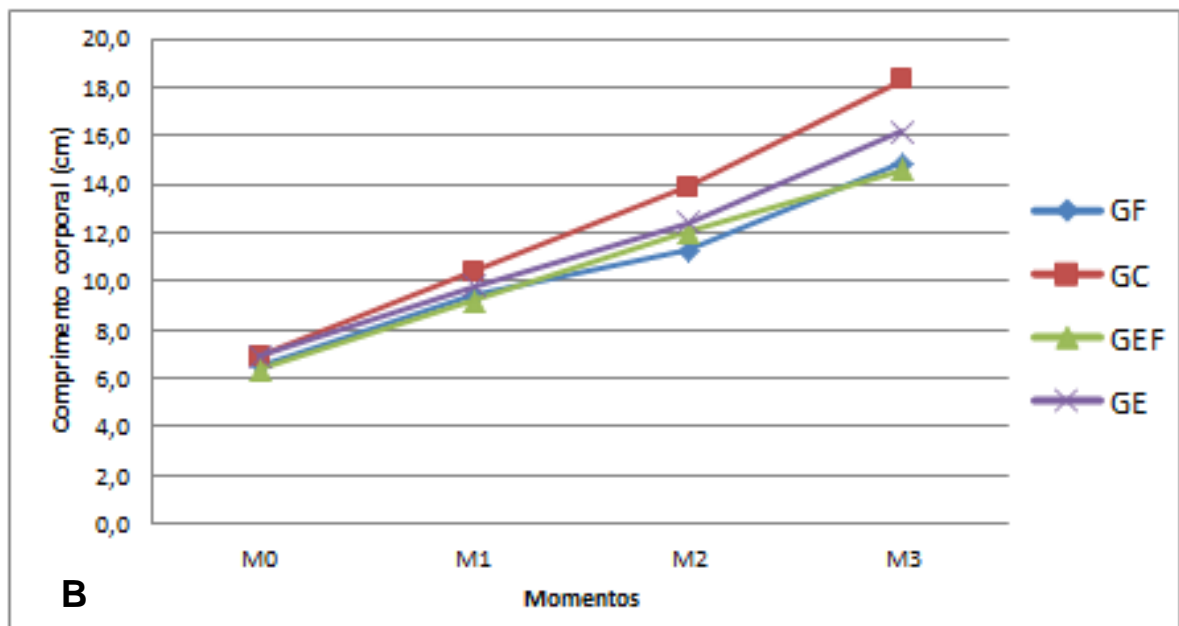
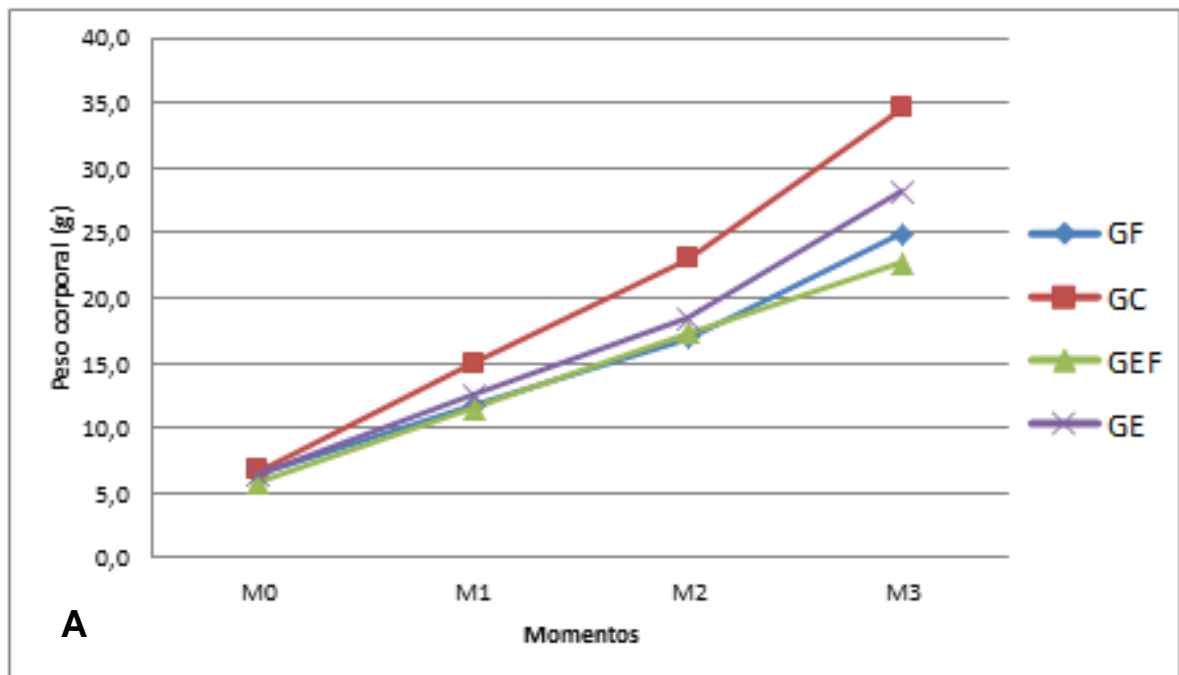


Gráfico 02 – A - Média do peso corporal dos filhotes; B - Média do comprimento corporal dos filhotes. Grupos: exposto à fumaça de cigarro (GF), controle (GC), exposto à fumaça de cigarro e submetido ao programa de natação (GFN) e submetido ao programa de natação (GN). Momentos: nascimento (M0), sete dias de lactação (M1), 14 dias de lactação (M2) e 21 dias de lactação (M3). Considere:  $p < 0,05$ .

Observou-se que todos os filhotes, independentemente do grupo, apresentaram evolução do peso corporal significativa, a partir dos valores médios da

mensuração da massa (Tabela 01 e Gráfico 02). Comparando-se o momento do nascimento (M0), o peso dos filhotes do GC era significativamente maior em relação ao GEF ( $p=0,01$ ); sendo que esta diferença permaneceu após M1 ( $p=0,005$ ), M2 ( $p=0,003$ ) e M3 ( $p=0,007$ ). Em somatória, o GC apresentava-se com peso corporal superior ao GF a partir do M1 ( $p=0,08$ ), M2 ( $p=0,003$ ) e M3 ( $p=0,03$ ). A diferença estatística entre os grupos GC e GE foram estatisticamente significantes a partir da segunda semana de lactação (M2) ( $p=0,023$ ), desaparecendo no momento do desmame.

Em contrapartida ao peso corporal, os filhotes do grupo GC apresentaram mensurações significativamente menores em relação aos demais grupos (GE, GF e GEF) no peso cardíaco, sendo que os filhotes do grupo GEF apresentavam mensurações de peso cardíaco significativamente menores que os filhotes do grupo GE.

Por outro lado, as alterações estatisticamente significantes, nas medidas de peso corporal e peso cardíaco, não modificaram significativamente a relação peso do coração/peso corporal, que não demonstraram diferenças importantes (Tabela 02).

**Tabela 02:** Pesos cardíaco e corporal e relação peso cardíaco e corporal dos filhotes após o desmame

Grupo	Peso cardíaco (g)	Peso corporal (g)	Relação peso cardíaco e corporal
<b>GC</b>	$0,2394 \pm 0,0480^{a, b, c}$	$34,470 \pm 7,8100^{a, b, c}$	$0,0070 \pm 0,0011$
<b>GE</b>	$0,1883 \pm 0,0331^d$	$28,7250 \pm 3,7820^d$	$0,0065 \pm 0,0012$
<b>GF</b>	$0,1755 \pm 0,0332^e$	$26,4526 \pm 4,5950^e$	$0,0066 \pm 0,0007$
<b>GEF</b>	$0,1572 \pm 0,0273$	$22,5471 \pm 4,6820$	$0,0070 \pm 0,0012$

Letras correspondem a presença de diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre: <sup>a</sup> GC e GE; <sup>b</sup> GC e GF; <sup>c</sup> GC e GEF; <sup>d</sup> GE e GEF; <sup>e</sup> GF e GEF.

Entretanto, na análise comparativa dos diâmetros médios dos cardiomiócitos não foram percebidas diferenças significativamente maiores nas fibras cardíacas dos filhotes entre os grupos (Tabela 03).

**Tabela 03:** Média e desvio padrão do peso (g) e morfometria do cardiomiócito ( $\mu\text{m}$ ) do músculo ventricular dos filhotes

Grupo	Músculo Ventricular	
	Peso (g)	Morfometria ( $\mu\text{m}$ )
<b>GC</b>	0,2394 $\pm$ 0,0480 <sup>a, b, c</sup>	6,784 $\pm$ 0,990
<b>GE</b>	0,1883 $\pm$ 0,0331 <sup>d</sup>	7,257 $\pm$ 1,104
<b>GF</b>	0,1755 $\pm$ 0,0332 <sup>e</sup>	7,090 $\pm$ 0,941
<b>GEF</b>	0,1572 $\pm$ 0,0273	7,115 $\pm$ 0,775

Letras correspondem a presença de diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre: <sup>a</sup> GC e GE; <sup>b</sup> GC e GF; <sup>c</sup> GC e GEF; <sup>d</sup> GE e GEF; <sup>e</sup> GF e GEF.

## 6. Discussão

O objetivo do deste estudo foi avaliar o efeito do tabagismo passivo e do exercício físico aquático na prole de ratas submetidas aos protocolos. Foi possível avaliar o efeito negativo do tabagismo passivo nas medidas de comprimento e pesos cardíaco e corporal dos filhotes, mesmo após a lactação. Todavia, não foi confirmada a hipótese que o exercício físico aquático poderia minimizar os efeitos deletérios do tabagismo passivo.

A média dos filhotes por ratas submetidas somente ao programa de exercício físico aquático foi superior a todos os grupos estudados. Provavelmente, devido a maior perfusão sanguínea desencadeada pelo exercício físico (WILLIAMS e KANAGASABI, 1984), promovendo diminuição do risco de aborto espontâneo. A mortalidade aumentada neste mesmo grupo pode ser justificada pelo maior gasto energético da matriz durante o período de lactação

Segundo Araújo et al. (2010), os períodos intrauterino e neonatal exercem maior influência sobre o crescimento e as condições de saúde pós-natal do indivíduo. Mello et al. (2006) propõem que a redução encontrada no peso e comprimento dos filhotes em seu estudo, semelhantemente ao presente estudo, é provavelmente decorrente da hipóxia fetal originada pela interação de dois mecanismos: o efeito agudo da liberação de catecolaminas induzido pela nicotina,

resulta em vasoconstrição materna e perfusão uterina reduzida provocando o aumento prolongado dos níveis de carboxihemoglobina fetal, promovendo Letras correspondem a presença de diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre: hipoxemia fetal crônica.

Além do efeito do tabagismo durante a prenhez, a nicotina interfere no acúmulo lipídico na gestação, podendo reduzir a capacidade da mãe de suprir as demandas energéticas próprias da lactação (MELLO et al., 2007). Em outro estudo, filhotes de matrizes submetidas a injeções de nicotina durante a prenhez e lactação apresentavam filhotes com mensurações significativamente menores na prenhez e na primeira metade da lactação. Em contrapartida, a retirada da administração da nicotina durante a amamentação foi capaz de normalizar o peso em relação ao grupo controle após os 21 dias (BECKER apud MELLO et al, 2007<sup>4</sup>).

Apesar de demonstrações na literatura do efeito negativo do tabagismo na fertilidade (Mello et al., 2006), nosso estudo pode verificar alteração significativa na fertilidade das ratas submetidas ao tabagismo passivo.

Com relação ao exercício físico, em nosso estudo as taxas de comprimento e peso foram menores nos grupos submetidos ao protocolo de exercício físico em comparação ao grupo controle. No estudo com matrizes submetidas ao exercício físico em esteira não houve alterações de peso em seus filhotes (Monteiro et al., 2010) em uma intensidade de 50% da velocidade máxima atingida em teste de desempenho máximo e 70% do volume de  $O_2$  absorvido pelo organismo ( $VO_{2max}$ ), diminuindo a intensidade conforme o desenvolvimento da prenhes. Considerando que no presente estudo, a intensidade do exercício físico foi entre 60 e 70%, e com a sobrecarga imposta pelo aumento de peso progressivo da prenhez, provavelmente, a alta intensidade do exercício físico seja determinante para a redução das medidas dos filhotes.

Há relatos da melhora da função cardiovascular implantada pelo exercício físico regular, esta resposta decorrente de processos adaptativos como a hipertrofia cardíaca, estas alterações sendo definidas por alterações no cardiomiócitos e manifestada por alterações de volume, massa, constituição, geometria e função cardíaca (Zornoff et al., 2007). Estes mecanismos foram amplamente estudados em

---

<sup>4</sup> Becker RF, Little CR, King JE. Experimental studies on nicotine absorption in rats during pregnancy. 3. Effect of subcutaneous injection of small chronic doses upon mother, fetus, and neonate. Am J Obstet Gynecol. v. 100, p. 957-68, 1968.

animais adultos, porém, encontram-se em déficit no período neonatal. Segundo Portes (2006), o exercício físico aquático induzem alterações benéficas para o sistema circulatório relacionadas com a atividade simpática, parassimpática, com o sistema renina-angiotensina e com a redução da pós-carga, além do aprimoramento da função mecânica miocárdica.

Não foi possível observar diferença significativa entre os grupos GF e GEF em relação ao diâmetro dos cardiomiócitos, indicando que o exercício foi insuficiente para alterar significativamente as modificações nas fibras em associação com a exposição à fumaça do cigarro. Mcdonough e Moffatt, 1999 concluíram que o fumo induz aumento no conteúdo de monóxido de carbono sanguíneo, o que pode reduzir a tolerância ao exercício e diminuir a capacidade aeróbia máxima. Além desta evidência, a exposição crônica ao monóxido de carbono, resulta em aumento da expressão gênica de endotelina-1 e induziu hipertrofia cardíaca, em um estudo experimental realizado por Loennechen (1999).

## **7. Conclusão**

O tabagismo passivo materno, durante prenhez e lactação, exerceu forte influência negativa sobre o número de filhotes, sobre o peso e comprimento corporal do nascimento ao desmame.

Por outro lado, o exercício por meio do programa de natação influenciou positivamente tais aspectos no momento do nascimento, mas que pelo maior gasto energético requerido não possibilitou os mesmos benefícios durante todo o período de lactação.

Associação do tabagismo passivo com o exercício físico gerou elevação do nível de estresse, que influenciou negativamente as medidas analisadas e, dessa forma, a hipótese levantada neste estudo não foi confirmada.

Em contraposição, não observou-se alterações morfométricas significantes entre os grupos submetidos aos protocolos, levando a uma perspectiva futura de análise histológica do tecido cardiovascular.

## 6.REFERÊNCIAS

ALVES, M. R. Influência da nicotina, durante a gestação e lactação, na cicatrização da parede abdominal de ratos lactantes: estudo tensionétrico, morfométrico e imunoquímico. 2006, 142f., Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

ARAÚJO, T. N.; QUEIROZ, L. V. C.; LIRA, K. D. S.; FRANCA, T. J. B. M.; MORAES, S. R. A. *Condicionamento físico aeróbio moderado promove redução no rápido ganho de peso de ratos adultos desnutridos nos períodos de gestação e lactação.* **Revista Nutr.**, v. 23, n. 2, p. 251-258, 2010.

AZENHA, V. M.; MATTAR, M. A.; CARDOSO, V. C.; BARBIERI, M. A.; DEL CIAMPO, L. A.; BETTIOLI, H. *Insufficient birth weight: factors associated in two cohorts of newborns in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil* **Rev Paul Pediatr**, v. 26, n.1, p. 27-35, 2008

BAYKAN, A.; NARIN, N.; NARIN, F.; AKGÜN, H.; YAVASCAN, S.; SARAYMEN, R. *The protective effect of melatonin on nicotine-induced myocardial injury in newborn rats whose mothers received nicotine.* **Anadolu Kardiyol Derg**, v. 8, p. 243-8, 2005.

CAMPOS, H.; PRECIOSO, J.; PEREIRA, M. G.; SAMORINHA, C. *Hábitos tabágicos dos pais de alunos do 1.º Ciclo do Ensino Básico: Implicações para a intervenção* **Análise Psicológica**, v. 2, p.193-208, 2008

CASTARDELI, S. A. R. P.; MATSUBARA, B. B.; MATSUBARA, L. S.; MINICUCCI, M. F.; AZEVEDO, P. S.; CAMPANA, A. O.; ZORNOFF, L. A. M. *Chronic cigarette smoke exposure results in cardiac remodeling and impaired ventricular function in rats.* **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, n.4, p.320-324, 2005.

CAVALCANTE, S.R.; CECATTI, J.G.; PEREIRA, R.I.; BACIUK, E.P.; BERNARDO A.L.; SILVEIRA, C. *Water aerobics II: maternal body composition and perinatal outcomes after a program for low risk pregnant women.* **Reproductive Health**, v.6, n.1, p. 1-7, 2009.

CHERTOK, I. R. A.; LUO, J.; ANDERSON, R. H. *Association Between Changes in Smoking Habits in Subsequent Pregnancy and Infant Birth Weight in West Virginia* **Matern Child Health Journal**, v. 15, p. 249-254, 2011.

CHIOLERO, A.; BOVET, P.; PACCAUD, F. *Association between maternal smoking and low birth weight in Switzerland: the EDEN study* **SWISS MED WKLY**, n. 135, p. 525-530, 2005.

CLARK, K. E.; IRION, G. L. *Fetal hemodynamic response to maternal intravenous nicotine administration.* **Am. J. Obstret. Gynecol.**, v. 167, p. 1009-13, 1992.

CZEKAJ, P.; PALASZ, A.; LEBDA-WYBORNÝ, T.; NOWACZK-DURA, G.; KARCZEWSKA, W.; FLOREK, E.; KAMINSKI, M. *Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke.* **Arch Occup Environ Health**, [S.I.], v. 75, p. 27-35, 2002.

DANIEL, J. Z.; CROPLEY, M.; FIFE-SCHAW, C. *The effect of exercise in reducing desire to smoke and cigarette withdrawal symptoms is not caused by distraction.* **Addiction**, v. 101, p. 1187-92, 2006.

DIAS, R.; RUDGE, M.V.C.; TRINDADE, J.C.S. *Hipertensão Arterial Experimental e Prenhez em Ratas: Repercussões no Peso da Placenta e no Índice Placentário.* **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 23, n. 2, p. 87-91, 2001.

EDIRISINGHE, I.; YANG, S.; YAO, H.; RAJENDRASOZHAN, S.; CAITO, S.; ADENUGA, D.; WONG, C.; RAHMAN, A.; PHIPPS, R.P.; JIN, Z.; RAHMAN, I. *VEGFR-2 inhibition augments cigarette smoke-induced oxidative stress and inflammatory responses leading to endothelial dysfunction.* **The FASEB Journal**, v. 22, p. 2297-2310, 2008.

FABRIN, E. D.; CRODA, R. S.; OLIVEIRA, M. M. F. *Influência das técnicas de fisioterapia nas algias posturais gestacionais.* **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**. V. 14, n. 2, p. 155-152, 2011

FINKELSTEIN, I.; BGEKINSKI, R.; TARTARUGA, M. P.; ALBERTON, C. L.; KRUELV, L. F. M. *Comportamento da frequência cardíaca e da pressão arterial, ao longo da gestação, com treinamento no meio líquido* **Revista Brasileira Medicina de Esporte** v. 12, n. 5, 2006

GALÃO, A. O.; SODER, S. A.; GERHARDT, M.; FAERTES, T. H.; KRUGER, M. S.; PEREIRA, D. F.; BORBA, C. M. *Effects of maternal smoking during pregnancy and perinatal complications* **Rev HCPA**, v. 29, n.3, p. 218-224, 2009.

LEITE, I. C. G.; PAUMGARTTEN, F. J. R. & KOIFMAN, S. *Exposição a agentes químicos na gravidez e fendas lábio-palatinas no recém-nascido* **Cad. Saúde Pública**, v. 18 n. 1, p. 17-31, 2002.



LIMA, F. R.; OLIVEIRA, N.. *Gravidez e exercício. Rev. Bras. Reumatol.*, vol.45, n.3, p. 188-190, 2005.

LOENNECHEN, J. P.; BEISVAG, V.; ARBO, I. et al. *Chronic carbon monoxide exposure in vivo induces myocardial endothelin-1 expression and hypertrophy in rat. Pharmacol Toxicol* v. 85, p. 192-7, 1999.

MACHADO, J. B., LOPES, M. H. I. *Approach of smoking in pregnancy Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 19, n. 2, p. 75-80, abr./jun. 2009.

MAINOUS, A. G.; HEUSTON, W. T. *The effect of smoking cessation during pregnancy on preterm delivery and low birth weight. J. Farm. Pract*, v. 38, p. 262-266, 1994.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. *Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful consideration. Braz. J. Biol.*, v. 62, n. 4<sup>a</sup>, p. 609-614, 2002.

MARCOPITO, L. F.; COUTINHO, A. P.; VALENCICH, D. M. O.; MORAES, M. A.; BRUMINI, R.; RIBEIRO, S. A. *Exposição ao tabagismo e Atitudes: Comparação entre inquéritos realizados na População Adulta do município de São Paulo em 1987 e 2002 Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 89, n.5, p.333-340, 2007

MEIRELLES, R.H.S.; GONÇALVES, C. M. C. *Abordagem cognitivo-comportamental do fumantes. J. Bras. Pneumol.*, v.30,n.2, p. 30-5, 2004.

MELLO, P. R. B., PINTO, G. R., BOTELHO, C. *The influence of smoking on fertility, pregnancy and lactation. J. Pediatria*, v. 77, n. 4, p. 257-263, 2001.

MELLO, P.R.B.; OKAY, T.S.; BOTELHO, C. *Influência da exposição à fumaça lateral do cigarro sobre o ganho de peso e o consumo alimentar de ratas gestantes: análise do peso e do comprimento dos filhotes ao nascimento. Rev Bras Ginecol Obstet.*, v. 28, n. 3, p. 143-50, 2006.

MELLO, P. R. B.; OKAY, T. S.; BOTELHO, C. *The effects of exposing rats to cigarette smoke on milk production and growth of offspring. Jornal de Pediatria*, v. 83, n.3, 2007.

MONTEIRO, A. C. T.; PAES, S. T.; SANTOS, J. A.; LIRA, K. D. S.; MORAES, S. R. A. *Effects of physical exercise during pregnancy and protein malnutrition during pregnancy*

*and lactation on the development and growth of the offspring's fêmur* **Jornal de Pediatria**. v. 86, n. 3, p.233-238, 2010.

NAKAMURA, M. U.; ALEXANDRE, S. M.; SANTOS, J. F. K.; SOUZA, E.; SASS, N.; BECK, A. P. A.; TRAYNA, E.; ANDRADE, C. M. A.; BARROSO, T.; JUNIOR, L. K. *Obstetric and perinatal effects of active and/or passive smoking during pregnancy* **Revista Paulista de Medicina**, v. 122, n.3, p. 94-8, 2004

NEFF, R. A.; SIMMENS, S.J.; EVANS, C.; MEDELOWITZ, D. *Prenatal nicotine exposure alters central cardiorespiratory responses to hypoxia in rats: Implications for Sudden Infant Death Syndrome*. **The Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 42, p. 9261-9268, 2004.

PAIVA, S.A.R.; ZORNOFF, L.A.M.; OKOSHI, M.P.; CICOGNA, A.C.; CAMPANA, A.O. *Comportamento de variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro*. **Arq. Bras. Cardiol.**, [S.l.], v. 81, p. 221-224, 2003.

PORTES, L. A.; TUCCI, P. J. F. *Swim Training Attenuates Myocardial Remodeling and the Pulmonary Congestion in Wistar Rats with Secondary Heart Failure to Myocardial Infarction*. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**.v. 87, n. 1, 2006.

PREVEDEL, T. T. S.; CALDERON, I. M. P.; DE CONTI, M. H.; CONSONNI, E. B.; RUDGE, M. V. C. *Repercussões Maternas e Perinatais da Hidroterapia na Gravidez* **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia** v. 25, n. 1, p. 53-59, 2003

SARTIANI, L.; CERBAI, E.; LONARDO, G.; DEPAOLI, P.; TATTOLI, M.; CAGIANO, R.; CARRATÙ, M. R.; CUOMO, V.; MUGELLI, A. *Prenatal exposure to carbon monoxide affects postnatal cellular electrophysiological maturation of the rat heart: A potential substrate for arrhythmogenesis in infancy*. **Journal of the American Heart Association**, v. 109, p. 419-23, 2004.

SILVA, M. F.; PELÚZIO, M. C. G.; AMORIM, P. R. S.; LAVORATO, V. N.; SANTOS, N. P.; BOZI, L. H. M.; PENITENTE, A. R.; FALKOSKI, D. L. BERFORT, F. G.; NATALI, J. N. *Exercício e disfunção contrátil em coração diabético* **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v. 97, n. 1, p. 33-39, 2011

TAYLOR, A.; KATOMERI, M.; USSHER, M. *Acute affect of self-paced walking on urges to smoke during temporary smoking abstinence*. **Psychopharmacology**, v. 181, p.1-7, 2005.

VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CAMPOS, K. E.; ROCHA, R.; RUDGE, M. V. E.; CALDERON, I. M. P. *Avaliação do efeito do exercício físico no metabolismo de ratas diabéticas prenhez*. **Ver. Bras. Med. Esporte**, v. 12, n.5, p. 229-33, 2006.

WDOWIAK, A.; WIKTOR, H.; WDOWIAK, L. *Maternal passive smoking during pregnancy and neonatal health* **Ann Agric Environ Méd**, v. 16, p. 309–312, 2009

WILLIAMS, C. M., KANAGASABAI T. *Maternal adipose tissue response to nicotine administration in the pregnant rat: effects on fetal body fat and cellularity*. **Braslian Journal Nutricional**. v.51, n. 1, p. 7-113, 1984.

WÜNSCH FILHO, V.; MIRRA, A. P.; LOPEZ, R. V. M.; ANTUNES, L. F. *Tabagismo e câncer no Brasil: evidências e perspectivas*. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 13, n. 2, p. 175-87, 2010.

ZORNOFF, L. A. M.; MATSUBARA, L. S.; MATSUBARA, B. B.; OKOSHI, M. P.; OKOSHI, K.; PAI-SILVA, M. D.; CARVALHO, R. F.; CICOONA, A. C.; PADOVANI, C. R.; NOVELLI, E. L.; NOVO, R.; CAMPANA, A.; PAIVA, S. A. R. *Beta-carotene supplementation attenuates cardiac remodeling induced by one-month tobacco-smoke exposure in rats*. **Toxicological Science**, v. 90, n.1, p.259-266, 2006.

ZORNOFF, L. A. M.; DUARTE, R. D.; MINICUCCI, M. F.; AZEVEDO, P. S.; MATSUBARA, B. B.; MATSUBARA, L. S.; CAMPANA, A. O.; PAIVA, S. A. R. *Effects of Beta-carotene and Smoking on Heart Remodeling after Myocardial Infarction*. **Arq Bras Cardiologia**, v. 89, n.3, p.135-141, 2007.