

## Repercussões Cardíacas após Infarto do Miocárdio em Ratas Submetidas Previamente a Exercício Físico

*Cardiac Implications after Myocardial Infarction in Rats previously Undergoing Physical Exercise*

Eduardo Carvalho de Arruda Veiga<sup>1</sup>, Leslie Andrews Portes<sup>1,2</sup>, Danilo Sales Bocalini<sup>1,5</sup>, Ednei Luiz Antonio<sup>3</sup>, Alexandra Alberta dos Santos<sup>1</sup>, Marília Higuchi Santos<sup>4</sup>, Flavio André Silva<sup>1</sup>, Paulo José Ferreira Tucci<sup>1,3</sup>

Departamento de Medicina – Disciplina de Cardiologia – UNIFESP<sup>1</sup>, São Paulo; Centro Universitário Adventista de São Paulo (UNASP)<sup>2</sup>, São Paulo; Departamento de Fisiologia – UNIFESP<sup>3</sup>, São Paulo; Departamento de Patologia – InCor<sup>4</sup>, São Paulo; Departamento de Educação Física – Universidade Nove de Julho (UNINOVE)<sup>5</sup>, São Paulo, SP, Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Poucos estudos analisaram os efeitos cardíacos do exercício físico prévio à oclusão coronariana.

**Objetivo:** Avaliar, em ratas submetidas a exercício físico, as repercussões do infarto do miocárdio.

**Métodos:** Ratas foram submetidas à natação ou permaneceram sedentárias por oito semanas e foram randomizadas para oclusão coronariana ou cirurgia simulada, compondo quatro grupos: Sedentário (S), Exercício (E), Sedentário infarto (SIM) e Exercício infarto (EIM). Após seis semanas, foram analisados biometria, ecodopplercardiograma, hemodinâmica e mecânica miocárdica.

**Resultados:** Não foram observados cardioproteção nos animais EIM e diferença no tamanho do infarto (%VE) entre EIM (38,50 ± 4,60%) e SIM (36,58 ± 4,11%). Os teores de água pulmonar (%) de SIM (80 ± 0,59) e EIM (80 ± 0,57) foram maiores do que em S (78 ± 0,15) e E (78 ± 0,57). A pressão sistólica (mmHg) do ventrículo esquerdo (S: 130 ± 5; E: 118 ± 8; SIM: 91 ± 3; EIM: 98 ± 3) e a primeira derivada temporal (mmHg/s) positiva da pressão (S: 8.216 ± 385; E: 8.437 ± 572; SIM: 4.674 ± 455; EIM: 5.080 ± 412) de S e E foram maiores do que em SIM e EIM. As frações de encurtamento da área transversa (%) de SIM (27 ± 2) e EIM (25 ± 2) foram similares e menores do que E (65 ± 2) e S (69 ± 2). A relação E/A foi maior em SIM (5,14 ± 0,61) e EIM (4,73 ± 0,57) em relação a S (2,96 ± 0,24) e E (2,83 ± 0,21). Em estudos de músculos papilares isolados foi verificada depressão da capacidade contrátil semelhante em SIM e EIM, e não houve alteração da rigidez miocárdica.

**Conclusão:** O treinamento prévio por natação não atenuou as repercussões cardíacas em virtude do infarto do miocárdio. (Arq Bras Cardiol. 2013;100(1):37-43)

**Palavras-chave:** Infarto do Miocárdio; Condicionamento Físico Animal; Natação; Ratos.

### Abstract

**Background:** Few studies have analyzed the cardiac effects of exercise prior to coronary occlusion.

**Objective:** To evaluate the effects of myocardial infarction in rats undergoing physical exercise.

**Methods:** Female rats underwent swimming exercise or were kept sedentary for eight weeks and were randomized to coronary occlusion or sham surgery, in one of the following four groups: Sedentary (S), exercise (E), Sedentary myocardial infarction (SMI) and Exercise myocardial infarction (EMI). After six weeks, their biometrics, Doppler echocardiography, hemodynamics and myocardial mechanics were analyzed.

**Results:** No cardioprotection was observed in EMI animals and there was no difference in infarct size (%LV) between EMI (38.50 ± 4.60%) and SMI (36.58 ± 4.11%). Water content of the lung (%) of SMI (80 ± 0.59) and EMI (80 ± 0.57) was higher than that of S (78 ± 0.15) and E (78 ± 0.57) groups. Left ventricular systolic pressure (mmHg) (S: 130 ± 5, E: 118 ± 8; SMI: 91 ± 3; EMI: 98 ± 3) and the first time derivative (mmHg/s) positive pressure (S: 8216 ± 385; E: 8437 ± 572; SMI: 4674 ± 455; EMI: 5080 ± 412) of S and E were higher than those of SMI and EMI. The transverse fractional shortening (%) of SMI (27 ± 2) and EMI (25 ± 2) were similar and lower than that of E (65 ± 2) and S (69 ± 2). The E/A ratio was higher in SMI (5.14 ± 0.61) and EMI (4.73 ± 0.57) compared to S (2.96 ± 0.24) and E (2.83 ± 0.21). In studies of isolated papillary muscle, depression of the contractile capacity observed was similar to that of SMI and EMI, and there was no change in myocardial stiffness.

**Conclusion:** Previous training by swimming did not attenuate cardiac implications due to myocardial infarction. (Arq Bras Cardiol. 2013;100(1):37-43)

**Keywords:** Myocardial Infarction; Physical Conditioning, Animal; Swimming, Rats.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

**Correspondência:** Eduardo Carvalho de Arruda Veiga •

Avenida Bosque da Saúde, 854, apto 171 – Saúde – CEP 04142-081 – São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: Eduveiga56@gmail.com

Recebido em 24/03/12; revisado em 26/07/12; aceito em 31/07/12.

## Introdução

As doenças cardiovasculares permanecem como uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo<sup>1</sup> embora várias terapias tenham contribuído para maiores taxas de prevenção e tratamento. O exercício físico se destaca como terapia não farmacológica para a prevenção de doença coronariana e para a reabilitação dos pacientes já acometidos<sup>2,3</sup>. Sabe-se que indivíduos que praticam atividade física regularmente apresentam menor incidência de ataques cardíacos quando comparados com pessoas sedentárias<sup>4</sup>.

Embora os mecanismos bioquímicos e moleculares relacionados à proteção cardíaca contra o infarto do miocárdio (IM) ainda não sejam totalmente entendidos, estudos experimentais já confirmaram que o treinamento físico proporciona proteção contra os danos do IM<sup>5</sup>. Alguns benefícios descritos com a realização do exercício físico incluem melhora da sobrevida em camundongos com IM<sup>6</sup>, melhora da capacidade física e da contratilidade<sup>7,8</sup>, preservação do fluxo coronariano<sup>9</sup>, melhora dos parâmetros antioxidantes e inflamatórios<sup>10-12</sup>, assim como normalização do transiente do cálcio e melhora da função cardíaca<sup>13,14</sup>.

Contudo, poucos estudos experimentais<sup>15-17</sup> avaliaram os efeitos protetores do exercício físico realizado previamente ao IM utilizando a metodologia de oclusão coronariana permanente. Recentemente, foi mostrado em estudo realizado em nosso laboratório<sup>18</sup> que o exercício realizado previamente ao IM não mostrou diminuição do tamanho do infarto nem atenuação do processo de remodelamento miocárdico em animais estudados sete dias após oclusão coronariana. Não é de nosso conhecimento estudos que avaliaram a influência do exercício no processo de remodelamento ventricular tardio. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as repercussões estruturais e funcionais cardíacas tardias em ratas submetidas a exercício físico seguido de infarto agudo do miocárdio.

## Métodos

### Animais

Foram utilizadas ratas da linhagem Wistar-EPM, pesando entre 190 e 210 g, com três meses de idade, aparentemente saudáveis, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (Cedeme) da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (Unifesp – EPM). Após aprovação do comitê de ética (0341/08), os animais foram mantidos em caixas plásticas, em ambiente com controle de luz e temperatura, servindo-se de água e ração Nuvital (Nuvilab) *ad libitum*. Em cada caixa, foram mantidos, no máximo, cinco animais, distribuídos por casualização entre quatro grupos experimentais: sedentário cirurgia simulada (S: n = 8); exercício cirurgia simulada (E: n = 9); sedentário infarto (SIM: n = 12); exercício infarto (EIM: n = 10).

### Treinamento físico

O protocolo de exercício físico consistiu de natação em piscina construída utilizando-se caixa d'água de fibra de vidro com diâmetro de 130 cm e altura de 80 cm. O aquecimento da água foi feito por meio de termostato associado a sistema de aquecimento a gás para manutenção da temperatura entre 32 e

34°C. No primeiro dia de treinamento, as ratas nadaram durante 10 minutos, sendo o tempo aumentado em 10 minutos/dia até atingir 60 minutos no sexto dia. O treinamento foi continuado por período total de oito semanas, cinco dias por semana, 60 minutos/dia. Foram colocadas para nadar simultaneamente no máximo oito ratas. Os animais foram secados antes de serem colocados de volta em suas caixas plásticas<sup>19</sup>.

### Indução de cirurgia de infarto do miocárdio

A indução de IM seguiu protocolo bem estabelecido<sup>20-24</sup>. Brevemente, após anestesia intraperitoneal (Ketamina 50 mg/kg e Xilazina 20 mg/kg), intubação orotraqueal e ventilação artificial (Harvard Rodent Ventilador, Modelo 863; Harvard Apparatus, Holliston, MA) foi realizada toracotomia no hemitórax esquerdo de cada animal. O coração foi exteriorizado e a ligadura da coronária descendente anterior esquerda foi realizada por meio de fio de polietileno 6-0. O coração foi rapidamente reposicionado, e o tórax fechado após hiperinsuflação pulmonar. Os animais submetidos à falsa cirurgia passaram pelos mesmos procedimentos cirúrgicos, mas sem a ligadura da coronária. As ratas retornaram às suas caixas de plástico e permaneceram em observação por seis semanas, período que perfaz completa cicatrização do IM em ratos<sup>25</sup>. A confirmação diagnóstica do IM foi realizada por ecodopplercardiografia, seis semanas após a cirurgia de indução de IM.

### Teor de água no pulmão e análises biométricas

O conteúdo hídrico do pulmão foi obtido a partir de seus pesos úmidos e secos. Após a obtenção desse peso, o pulmão direito foi colocado em estufa e mantido durante 24 horas à temperatura de 80 °C. Obtido o peso seco do pulmão, o teor de água pulmonar (% H<sub>2</sub>O) foi definido pela equação:

$$\% \text{H}_2\text{O} = (\text{peso úmido} - \text{peso seco} / \text{peso úmido}) \times 100$$

O peso corpóreo (PC) de cada animal foi determinado ao final do protocolo experimental. As massas cardíacas foram normalizadas pelo PC: peso dos átrios (AT/PC), massa do ventrículo direito (VD/PC) e massa do ventrículo esquerdo (VE/PC).

### Ecodopplercardiograma

O ecodopplercardiograma foi realizado nas ratas anestesiadas pelo mesmo esquema anestésico citado anteriormente, após seis semanas da cirurgia para indução de IM. Os procedimentos foram realizados por um observador que desconhecia os grupos a que os animais pertenciam. Foi utilizado aparelho Sonos 5500 (Philips Medical System, Andover, MA, USA) com transdutor de 12-Mhz com profundidade entre 2 e 3 cm de acordo com metodologia previamente descrita<sup>20</sup>. Após tricotomia torácica, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. As imagens foram gravadas em fitas de vídeo VHS sendo o resultado final resultante da média obtida de três ciclos cardíacos diferentes. A avaliação do tamanho do IM foi obtida utilizando-se imagens bidimensionais nos planos transversais basal (na extremidade do folheto da valva mitral), médio (no nível do músculo papilar) e apical (distal ao músculo papilar) do ventrículo esquerdo, e o tamanho do IM foi identificado por meio da medição do perímetro endocárdico (PE) da cavidade ventricular na diástole e o comprimento do arco correspondente ao segmento infartado (SI). Em cada plano, foram obtidas três medidas, e a média

aritmética das medidas nos três planos foi considerada o tamanho do infarto (TI), expresso em porcentagem, pela equação:  $TI (\%) = SI/PE \times 100$ . Foi considerado infarto do miocárdio o segmento com alteração do espessamento e/ou anormalidade do movimento sistólico do miocárdio (acinesia ou discinesia). Foram considerados IM com segmento comprometido inferior a 40% e IM com tamanho igual ou superior a 40%. As áreas diastólicas (AD) e sistólicas (AS) do VE foram obtidas pelo modo bidimensional nos planos paraesternais transversais basal, médio e apical, sendo o valor final a média de três medidas em cada plano. A função sistólica foi avaliada pela fração de encurtamento da área transversa ( $FEAT = AD - AS / AD$ ), em %, sendo AD a área diastólica e AS a área sistólica, nos três planos transversais (basal, médio e apical); o valor final de cada animal foi a média de três medidas nos três planos. O Doppler pulsátil no nível da face ventricular da valva mitral forneceu a curva da velocidade de fluxo para análises dos parâmetros de função diastólica como velocidade das ondas E e A e a relação E/A.

### Estudo hemodinâmico

Após as avaliações ecocardiográficas, ainda sob anestesia, os animais foram colocados em ventilação mecânica (Harvard Rodent Ventilador, Modelo 863; Harvard Apparatus, Holliston, MA) com frequência ventilatória de 100 movimentos/minuto e volume corrente de 2,5 ml, enriquecida com oxigênio (0,6 a 0,8 L/min). A extremidade de cateter Millar (Microtip<sup>®</sup>, 2F, Millar Instruments, Inc. Houston, USA) foi posicionada no ventrículo esquerdo (VE) a partir de cateterismo da carótida comum direita. Os dados foram obtidos por software AcqKnowledge<sup>®</sup> 3.7.5 (Biopac System Inc, CA, USA) que possibilitou computar os valores instantâneos das pressões ventriculares (mmHg) sistólicas (PSVE) e diastólica final (PDF) do VE, frequência cardíaca (bpm), primeira derivada temporal (mmHg/s) positiva (+dP/dt) e negativa (-dP/dt) da pressão ventricular de cada animal.

### Mecânica do músculo papilar

A mecânica miocárdica foi avaliada como previamente descrito<sup>7</sup>. Brevemente, o músculo papilar foi dissecado cuidadosamente e inserido verticalmente em banho de órgãos aquecido a 29 °C e oxigenado. O músculo foi acoplado a transdutor de força isométrica (GRASS-FT 03, Astro-Med, Inc. RI, EUA) conectado a micrômetro para ajustes do comprimento muscular em repouso. A composição da solução de Krebs-Henseleit foi a seguinte (em mM): 135 NaCl; 4,69 KCl; 1,5 CaCl<sub>2</sub>; MgSO<sub>4</sub> 1,16; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,18; glicose 5,50; HEPES 20, tamponado a pH 7,4. As preparações foram estimuladas (12 vezes/min com onda quadrada de 5 ms de duração) por eletrodos de platina com tensões ajustadas a aproximadamente 10% a mais do que o mínimo necessário para produzir resposta mecânica máxima. Após 60 minutos de estabilização em condição de baixa carga, o músculo foi colocado para contrair isometricamente e estirado até o comprimento ótimo de sua curva comprimento-tensão ativa ( $L_{máx}$ ). Os testes foram realizados em  $L_{máx}$  e a tensão isométrica foi avaliada pela força normalizada para a área de secção transversa do músculo (g/mm<sup>2</sup>). Os seguintes parâmetros foram obtidos: pico da tensão desenvolvida (TD), tensão de repouso (TR), taxa máxima de desenvolvimento (+dT/dt) e de declínio da tensão (-dT/dt). Além da avaliação em condições basais, os seguintes protocolos foram colocados em prática:

1) relações estiramento/tensão: caracterizada pela determinação da TD (curva de Frank-Starling) e da TR (rigidez miocárdica) em condições basais (100%  $L_{máx}$ ) e a 98%, 96%, 94% e 92% do comprimento ótimo;

2) contração pós-pausa (CPP): foi determinada usando pausa com duração de 30 s. A CPP relativa foi expressa como percentual de mudança da TD verificada sob estimulação sequencial basal.

### Estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro-padrão da média e comparados por Anova duas vias e por teste post hoc de Tukey. Os valores do tamanho dos infartos do VE dos grupos SIM e EIM foram comparados por teste *t* de Student. As relações comprimento/tensão desenvolvida foram avaliadas por regressão linear e as inclinações das retas foram comparadas por Anova duas vias. As curvas de comprimento/tensão de repouso foram ajustadas por relação monoexponencial usando a seguinte equação:  $y = \beta_0 \times e^{Kx}$ , em que  $\beta_0$  e  $K$  são constantes da curva. Essas relações não lineares foram comparadas entre os grupos pelos valores das constantes de rigidez (K). As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do programa GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Softwares Inc., San Diego, CA, USA). Diferenças com  $p < 0,05$  foram consideradas significantes.

### Resultados

Ao final do período de 14 semanas do protocolo, o peso corpóreo não diferiu entre os quatro grupos estudados (Tabela 1).

### Tamanho do infarto

Os tamanhos do IM dos grupos SIM (36,58  $\pm$  4,11%) e EIM (38,50  $\pm$  4,60%) não diferiram entre si.

O exercício físico não reduziu o número de animais com IM grandes e moderados. Tendo em conta nossa experiência anterior – que infartos menores que 40% não acarretam modificações funcionais apreciáveis quando as análises ocorrem seis semanas após oclusão coronariana – nas avaliações funcionais que se seguem foram considerados, apenas, os animais portadores de IM maiores do que 40% do VE. Essa providência reduziu a amostragem dos grupos SIM (n = 10) e EIM (n = 8).

### Teor de água no pulmão e análises biométricas

Os animais infartados (SIM: 80  $\pm$  0,59%; EIM: 80  $\pm$  0,57%) exibiram teor de água pulmonar maior ( $p < 0,05$ ) do que os animais com cirurgia simulada (S: 78  $\pm$  0,15%; E: 78  $\pm$  0,27%), indicando edema pulmonar em consequência do infarto, edema esse não prevenido pelo exercício físico.

Os valores das massas cardíacas estão representados na Tabela 1. O IM resultou em significativo aumento das massas atriais e ventriculares ( $p < 0,001$ ) em relação às ratas submetidas à cirurgia simulada. O exercício físico resultou em hipertrofia do ventrículo esquerdo somente em relação aos animais S ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, o exercício associado ao IM não preveniu a hipertrofia das massas cardíacas.

### Estudo hemodinâmico

Os dados relativos à frequência cardíaca (FC) dos animais dos grupos SIM (319  $\pm$  12 bpm) e EIM (340  $\pm$  6 bpm) não diferiram dos animais S (349  $\pm$  11 bpm). Contudo, a FC dos

Tabela 1 - Parâmetros biométricos

	S (n = 8)	E (n = 9)	SIM (n = 10)	EIM (n = 8)
PC (g)	278 ± 4	270 ± 8	270 ± 8	270 ± 5
VE/PC (mg/g)	2,10 ± 0,04	2,55 ± 0,09 <sup>†</sup>	2,40 ± 0,05 <sup>†</sup>	2,56 ± 0,07 <sup>†</sup>
VD/PC (mg/g)	0,58 ± 0,01	0,75 ± 0,02	1,24 ± 0,13 <sup>†</sup>	1,18 ± 0,11 <sup>†</sup>
AT/PC (mg/g)	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,33 ± 0,05 <sup>†</sup>	0,31 ± 0,04 <sup>†</sup>

Valores (média ± epm) das massas cardíacas indexadas ao peso corpóreo dos animais dos grupos sedentário cirurgia simulada (S), exercício cirurgia simulada (E), sedentário infarto (SIM) e exercício infarto (EIM). Peso corpóreo (PC); peso do ventrículo esquerdo normalizado pelo peso corpóreo (VE/PC); peso do ventrículo direito normalizado pelo peso corpóreo (VD/PC); peso dos dois átrios normalizados pelo peso corpóreo (AT/PC). <sup>†</sup> p < 0,05 em relação ao grupo S por ANOVA duas vias seguida de teste de Tukey. <sup>†</sup> p < 0,001 em relação ao grupo E por ANOVA duas vias seguida de teste de Tukey.

animais do grupo E (388 ± 16 bpm) foi significativamente maior (p < 0,05) que a dos animais SIM e EIM.

Os valores da PSVE (Figura 1A) foram 31% (SIM) e 26% (EIM) menores que a PSVE do grupo S, respectivamente, e 25% e 19%, respectivamente, menores do que as do grupo E.

Os grupos SIM (4.674 ± 455 mmHg/s) e EIM (5.080 ± 412 mmHg/s) exibiram redução dos valores da +dP/dt (Figura 1B) em relação aos grupos S (8.216 ± 385 mmHg/s) e E (8.437 ± 572 mmHg/s). Resultados semelhantes foram observados com relação à -dP/dt (S: 6.151 ± 543 mmHg/s = E: 6.212 ± 540 mmHg/s > SIM: 3.463 ± 358 mmHg/s = EIM: 2.833 ± 343 mmHg/s) como pode ser visualizados na Figura 1C. Adicionalmente, a pressão diastólica final do VE (Figura 1D) foi significativamente maior (p < 0,001) nos animais infartados (SIM: 22,5 ± 3,3 mmHg e EIM: 17,6 ± 2,0 mmHg) em comparação aos animais não infartados (S: 3,7 ± 0,7 mmHg e E: 4,7 ± 1,0 mmHg). Em conjunto, os dados hemodinâmicos indicam disfunção sistólica e diastólica induzidas pelo IM e não prevenidas pelo exercício físico.

### Análises ecocardiográficas

As áreas diastólicas dos grupos infartados (SIM: 0,611 ± 0,041 cm<sup>2</sup>; EIM: 0,680 ± 0,028 cm<sup>2</sup>) foram significativamente maiores que as áreas dos grupos com cirurgia simulada (S: 0,342 ± 0,011 cm<sup>2</sup>; E: 0,416 ± 0,024 cm<sup>2</sup>). As áreas sistólicas dos grupos S (0,107 ± 0,007 cm<sup>2</sup>) e E (0,148 ± 0,012 cm<sup>2</sup>) foram

estatisticamente menores do que as áreas dos grupos infartados (SIM: 0,447 ± 0,034 cm<sup>2</sup>; EIM: 0,508 ± 0,021 cm<sup>2</sup>), como pode ser observado nas Figuras 2A e 2B. Os valores relativos à FEAT (Figura 2C) dos grupos infartados (SIM: 27 ± 2%; EIM: 25 ± 2%) foram significativamente menores em relação às dos animais dos grupos com cirurgia simulada (S: 69 ± 2%; E: 65 ± 2%). Adicionalmente, a razão E/A (Figura 2D) dos animais infartados (SIM: 5,14 ± 0,61; EIM: 4,73 ± 0,57) foram significativamente maiores (p < 0,001) em comparação aos animais dos grupos com cirurgia simulada (S: 2,96 ± 0,24; E: 2,83 ± 0,21). Os resultados, em conjunto, indicam dilatação do VE e confirmam os prejuízos hemodinâmicos sobre a função sistólica e diastólica decorrentes do IM, não atenuados pelo exercício físico.

### Mecânica miocárdica

Não houve diferença entre as áreas de secção dos músculos papilares (S: 0,75 ± 0,09; E: 0,76 ± 0,12; SIM: 0,81 ± 0,11; EIM: 0,92 ± 0,16; mm<sup>2</sup>). Entretanto, como observado na Tabela 2, os valores correspondentes a TD, +dT/dt, -dT/dt em L<sub>max</sub> para os grupos S e E foram estatisticamente maiores do que a dos grupos SIM e EIM. Não houve diferença estatística entre os grupos em relação à TR.

Como mostrado na Figura 3A, a TD foi projetada como uma função dos diferentes comprimentos do músculo. Houve relação linear entre o comprimento do músculo e a TD para todos os grupos (o menor valor de r foi 0,9010). Para os grupos SIM e EIM as relações comprimento/tensão desenvolvida foram rebaixadas

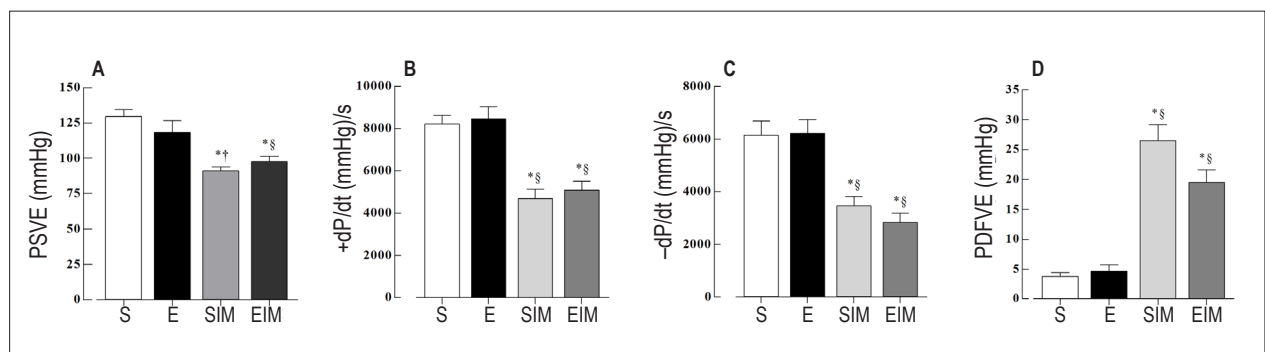
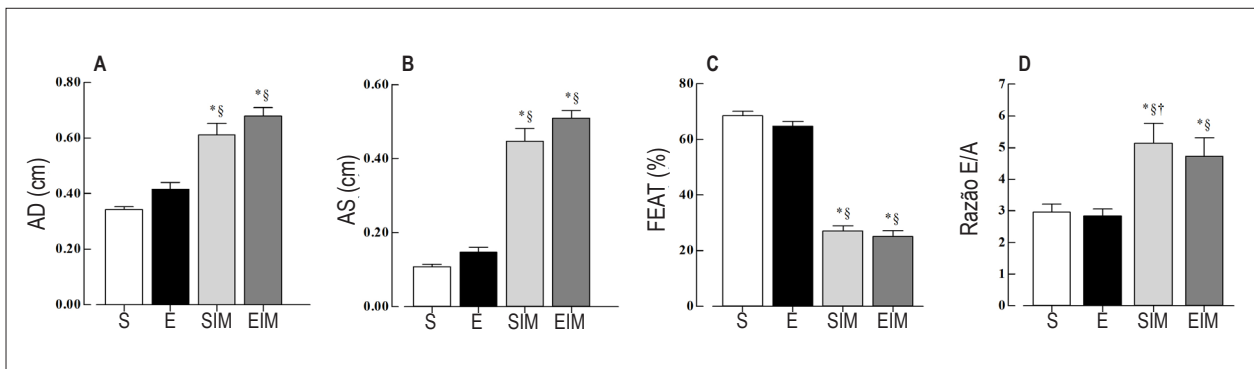


Figura 1 – Valores expressos em média ± epm dos parâmetros hemodinâmicos dos grupos sedentário cirurgia simulada (S), exercício cirurgia simulada (E), sedentário infarto (SIM) e exercício infarto (EIM). Painel A - pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE). Painel B - primeira derivada temporal positiva da pressão (+ dP/dt). Painel C - primeira derivada temporal negativa da pressão (- dP/dt). Painel D - pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE). \* p < 0,001 versus S; † p < 0,001 versus E; ‡ p < 0,01 versus E. por ANOVA duas vias seguida de teste de Tuckey.

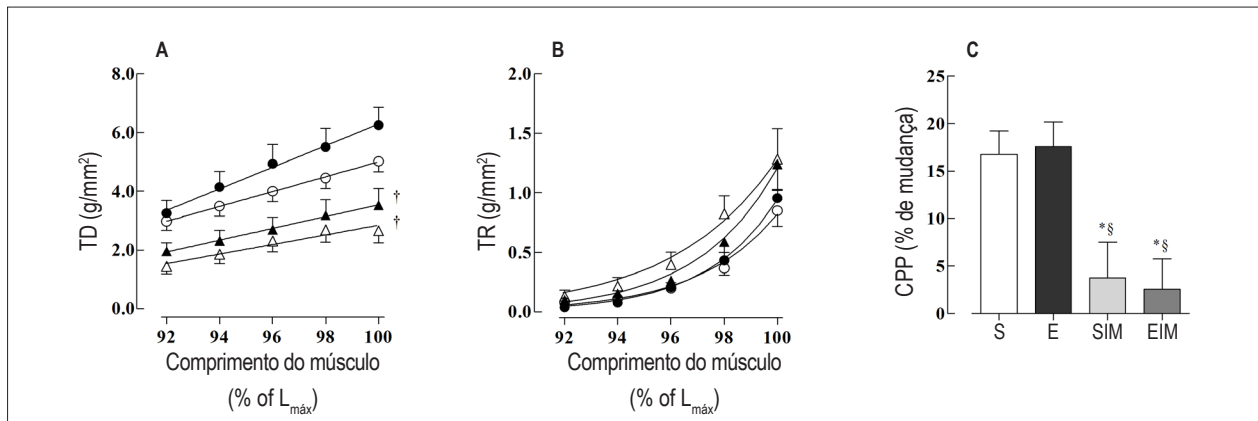


**Figura 2** – Valores (média ± epm) dos parâmetros ecocardiográficos dos grupos sedentário cirurgia simulada (S), exercício cirurgia simulada (E), sedentário infarto (SIM) e exercício infarto (EIM). Painel A - área do ventrículo esquerdo no final da diástole (AD). Painel B - área do ventrículo esquerdo no final da sístole (AS). Painel C - fração de encurtamento da área transversa (FEAT). Painel D - relação E/A (E/A). \*  $p < 0,001$  versus S; †  $p < 0,001$  versus E; ‡  $p < 0,01$  versus E por ANOVA duas vias seguida de teste de Tuckey.

**Tabela 2** - Mecânica do músculo papilar em  $L_{máx}$

	S (n = 8)	E (n = 9)	SIM (n = 10)	EIM (n = 8)
TD (g/mm <sup>2</sup> )	5,27 ± 0,28	6,24 ± 0,61	3,17 ± 0,48 <sup>†</sup>	2,65 ± 0,40 <sup>†</sup>
TR (g/mm <sup>2</sup> )	0,90 ± 0,12	0,95 ± 0,06	1,28 ± 0,25	1,24 ± 1,21
+dT/dt (g/mm <sup>2</sup> /s)	49 ± 4	58 ± 7	25 ± 4 <sup>†</sup>	27 ± 4 <sup>†</sup>
-dT/dt (g/mm <sup>2</sup> /s)	20 ± 2	29 ± 5	15 ± 2 <sup>†</sup>	17 ± 3 <sup>†</sup>

Valores (média ± epm) da tensão desenvolvida (TD); tensão de repouso (TR); taxa máxima (+dT/dt) de desenvolvimento da tensão e declínio (-dT/dt) nos grupos sedentário (S), exercício (E), sedentário infarto (SIM) e exercício infarto (EIM); \*  $p < 0,01$  em relação ao grupo S por ANOVA duas vias seguida de teste de Tukey; †  $p < 0,001$  em relação ao grupo E por ANOVA duas vias seguida de teste de Tukey.



**Figura 3** – Curvas estiramento/tensão ativa (Painel A) e tensão de repouso (Painel B) dos quatro grupos estudados: grupo sedentário (O), grupo exercício (●), grupo sedentário infarto (Δ) e grupo exercício infarto (▲). Painel C - Variação percentual da contração pós-pausa (CPP) em relação às contrações basais, após 30 segundos da pausa para sedentários (S), exercitados (E), sedentários infartados (SIM) e exercitados infartados (EIM). Valores expressos como média ± epm. \*  $p < 0,01$  versus S; †  $p < 0,01$  versus E; ‡  $p < 0,001$  versus E por ANOVA duas vias seguida de teste de Tuckey.

em comparação às dos grupos S e E, indicando que, para o mesmo nível de estiramento, maior força é gerada nos grupos S e E. A inclinação das curvas (g/mm<sup>2</sup>/L<sub>máx</sub>) do grupo E (0,3670 ± 0,394) foi maior do que as dos grupos SIM (0,2009 ± 0,0465) e EIM (0,1666 ± 0,0301). A inclinação de S (0,2527 ± 0,0256) não foi diferente das inclinações de E, SIM e EIM. Portanto, é possível considerar que para os mesmos comprimentos em repouso, os músculos papilares do grupo E são capazes de gerar

tensão maior, isto é, o recrutamento do mecanismo de Frank-Starling é mais acentuado nos animais submetidos a exercício. As curvas comprimento/tensão de repouso foram similares entre os grupos, demonstrando que o infarto e o exercício não afetaram a rigidez miocárdica (Figura 3B). Os valores da CPP (Figura 3C) foram estatisticamente reduzidos nos grupos SIM (4 ± 4%) e EIM (3 ± 3%) comparados com os grupos S (17 ± 2%) e E (18 ± 3%) indicando prejuízo da cinética do Ca<sup>2+</sup> nos grupos infartados.

## Discussão

Os resultados do presente estudo indicam que o exercício físico por natação, previamente ao IM, não atenuou as alterações induzidas pelo IM em ratas, tais como tamanho do IM, congestão pulmonar, remodelamento cardíaco e disfunções sistólica e diastólica. Esses resultados diferem daqueles observados por outros estudos<sup>15-17</sup>. McElroy e cols.<sup>15</sup> Dayan e cols.<sup>16</sup> e Freimann e cols.<sup>17</sup> descreveram que em ratos machos exercitados o tamanho do IM foi atenuado em relação aos sedentários. McElroy e cols.<sup>15</sup> descreveram, ainda, que esse achado foi acompanhado de aumento da densidade capilar. Estudos<sup>26,27</sup> mostram que é possível que diferença de gêneros tenha sido relevante para as diferenças verificadas no presente estudo. Paroo e cols.<sup>27</sup> divulgaram que o exercício depois do IM melhorou o desempenho ventricular e reduziu a pressão diastólica final do VE em machos mas não em fêmeas. Thorp e cols.<sup>28</sup> descreveram que o treinamento por esteira rolante de ratos machos aumentou a tolerância miocárdica à isquemia/reperfusão, ao passo que ratas não tiveram esse benefício.

Outra possibilidade se relacionaria à duração do protocolo de exercício<sup>29</sup>. Existem evidências de que quanto maior a duração do treinamento, maiores os benefícios. Por exemplo, camundongos submetidos a duas semanas de exercício voluntário<sup>30</sup> não por não exercerem influência alterações na área IM e no remodelamento. Os animais no estudo de Dayan e cols.<sup>16</sup> nadaram por três semanas e não exibiram atenuação do tamanho do IM nem da hipertrofia, mas exibiram melhora da geometria do VE e da função sistólica. Já os animais do estudo de McElroy e cols.<sup>15</sup> e Freimann e cols.<sup>17</sup> que nadaram cinco semanas e sete semanas, respectivamente, exibiram importantes reduções no tamanho do IM. Dado que nosso protocolo de exercício teve duração semelhante a desses dois autores e não foi encontrada cardioproteção pelo exercício, não é possível considerar que esse fator tenha interferido em nossos resultados.

Recentemente, em nosso laboratório, Bocalini e cols.<sup>7</sup> demonstraram que ratas saudáveis submetidas a oito semanas de natação exibiram completa perda do benefício da capacidade física, do remodelamento e da função mecânica miocárdica ao serem analisadas após duas semanas de destreino. A completa perda das alterações induzidas pelo exercício físico também foram notadas no nível celular<sup>31</sup>. Esses dados podem levantar a hipótese de que ao longo das seis semanas de recuperação após o IM, as ratas infartadas do presente estudo possam ter perdido as alterações benéficas que são promovidas pelo exercício de natação descritas por outros autores<sup>7,15-17,32</sup>. Contudo, esse raciocínio não se sustenta se considerarmos que em experimentos com período de quatro semanas de destreino<sup>16</sup>

foi verificado efeito benéfico do exercício prévio. Mais ainda, o condicionamento isquêmico, cuja cardioproteção é mais fugaz do que a obtida com exercício físico, tem seus efeitos benéficos bem identificados em análises procedidas semanas após o insulto isquêmico<sup>33</sup>.

Em nosso conhecimento, este parece ser o primeiro estudo a mostrar que o exercício realizado previamente ao IM não atenua o prejuízo da mecânica miocárdica em músculos papilares de ratos infartados. Nossos dados mostram que a resposta do músculo papilar de ratos infartados sedentários ou exercitados está deprimida. A CPP (Figura 3C) permite avaliar indiretamente a cinética do cálcio. No miocárdio normal de rato, a potenciação da CPP é em virtude do aumento adicional de  $Ca^{2+}$  no retículo sarcoplasmático (RS) durante a pausa mais longa, como resultado da atividade da RS  $Ca^{2+}$ -ATPase (SERCA2) e liberação fracionada aumentada<sup>34</sup> de  $Ca^{2+}$ . Por outro lado, a CPP é negativamente modulada pelo efluxo de  $Ca^{2+}$  por meio do trocador  $Na^+/Ca^{2+}$  (NCX). Reduções na SERCA2 ou aumentos no NCX podem reduzir a CPP. Recentemente, um estudo conduzido em nosso laboratório<sup>24</sup> mostrou que, após o infarto do miocárdio, houve redução da SERCA2 acompanhada de aumento do NCX, permitindo entender a redução da CPP verificada no presente trabalho.

Além disso, nossos resultados mostram mudanças nas inclinações das relações estiramento/tensão desenvolvida entre os grupos infartados e E, sugerindo influência na sensibilidade dos miofilamentos ao  $Ca^{2+}$ . Estudos mostraram o prejuízo do mecanismo de Frank-Starling em humanos<sup>35,36</sup> e cachorros<sup>37</sup> com corações infartados.

Concluimos que o exercício físico realizado por ratas, previamente ao IM, não reduziu o tamanho do infarto e não atenuou o comprometimento miocárdico tardio secundário ao infarto do miocárdio.

### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPESP, CNPq, CAPES e UNIFESP.

### Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Eduardo Carvalho de Arruda Veiga pela UNIFESP.

## Referências

1. Nabel EG, Braunwald E. A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. *N Eng J Med*. 2012;366(1):54-63.
2. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Bess H, et al.; American Heart Association Council on Clinical Cardiology Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention; American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Subcommittee on Physical Activity. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation*. 2003;107(24):3109-16.
3. Moholdt TT, Amundsen BH, Rustad LA, Wahba A, Lovo KT, Gullikstad LR, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: a randomized study of cardiovascular effects and quality of life. *Am Heart J*. 2009;158:1031-7.

4. Ignarro LJ, Balestrieri ML, Napoli C. Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: an update. *Cardiovasc Res*. 2007;73(2):326-40.
5. Vilahur G, Juan-Babot O, Pena E, Onate B, Casani L, Badimon L. Molecular and cellular mechanisms involved in cardiac remodeling after acute myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;50(3):522-33.
6. de Waard MC, Duncker DJ. Prior exercise improve survival, infarct healing, and left ventricular function after myocardial infarction. *J Appl Physiol*. 2009;107(3):928-36.
7. Bocalini DS, Carvalho EV, de Souza AF, Levy RF, Tucci PJ. Exercise training-induced enhancement in myocardial mechanics is lost after 2 weeks of detraining in rats. *Eur J Appl Physiol*. 2010;109(5):909-14.
8. Serra AJ, Santos MH, Bocalini DS, Antônio EL, Levy RF, Santos AA, et al. Exercise training inhibits inflammatory cytokines and more than prevents myocardial dysfunction in rats with sustained  $\beta$ -adrenergic hyperactivity. *J Physiol*. 2010;588(Pt 13):2431-42.
9. Brown DA, Jew KN, Sparagna GC, Musch TI, Moore RL. Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart. *J Appl Physiol*. 2003;95(6):2510-8.
10. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2005;98(4):1154-62.
11. Marini M, Lapalombella R, Margonato V, Ronchi R, Samaja M, Scapin C, et al. Mild exercise training, cardioprotection and stress genes profile. *Eur J Appl Physiol*. 2007;99(5):503-10.
12. Frederico MJ, Justo SL, Da Luz G, Da Silva S, Medeiros C, Barbosa VA, et al. Exercise training provides cardioprotection via a reduction in reactive oxygen species in rats submitted to myocardial infarction induced by isoproterenol. *Free Radic Res*. 2009;43(10):957-64.
13. Sugizaki MM, Leopoldo APL, Conde JS, Campos DS, Damato R, Soares AL, et al. Exercício e restrição alimentar aumentam o RNAm de proteínas do tráfego de  $Ca^{2+}$  miocárdico em ratos. *Arq Bras Cardiol*. 2011;97(1):46-52.
14. Medeiros A, Rolim NP, Oliveira RS, Rosa KT, Mattos KC, Casarini DE, et al. Exercise training delays dysfunction and prevents calcium handling abnormalities in sympathetic hyperactivity-induced heart failure mice. *J Appl Physiol*. 2008;104(1):103-9.
15. McElroy CL, Gissen SA, Fishbein MC. Exercise induced reduction in myocardial infarct size after coronary artery occlusion in the rat. *Circulation*. 1978;57(5):958-62.
16. Dayan A, Feinberg MS, Holbova R, Deshet N, Scheinowitz M. Swimming exercise training prior to acute myocardial infarction attenuates left ventricular remodeling and improves left ventricular function in rats. *Ann Clin Lab Sci*. 2005 winter;35(1):73-8.
17. Freimann S, Scheinowitz M, Yekutieli D, Feinberg MS, Eldar M, Kessler-Icekson G. Prior Exercise training improves the outcome of acute myocardial infarction in the rat. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(6):931-8.
18. Veiga EC, Antonio EL, Bocalini DS, Murad N, Abreu LC, Tucci PJ, et al. Prior exercise training does not prevent acute cardiac alterations after myocardial infarction in female rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(5):889-93.
19. Andrews Portes L, Magalhães Saraiva R, Alberta dos Santos A, Tucci PJ. Swimming training attenuates remodeling, contractile dysfunction and congestive heart failure in rats with moderate and large myocardial infarctions. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36(4):394-9.
20. Moisés VA, Ferreira RL, Nozawa E, Kanashiro RM, Campos FO, Andrade JL, et al. Structural and functional characteristics of rats hearts with and without myocardial infarction: initial experience with Doppler echocardiography. *Arq Bras Cardiol*. 2000;75(2):125-36.
21. Nozawa E, Kanashiro RM, Murad N, Carvalho AC, Cravo SL, Campos O, et al. Performance of two-dimensional Doppler echocardiography for the assessment of infarct size and left ventricular function in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2006;39(5):687-95.
22. dos Santos L, Antonio EL, Souza AF, Tucci PJ. Use of afterload hemodynamic stress as a practical method for assessing cardiac performance in rats with heart failure. *Can J Physiol Pharmacol*. 2010;88(7):724-32.
23. Saraiva RM, Kanashiro-Takeuchi RM, Antonio EL, Campos O, Tucci PJ, Moises VA. Rats with high left ventricular end-diastolic pressure can be identified by Doppler echocardiography one week after myocardial infarction. *Bras J Med Res*. 2007;40(11):1557-65.
24. Bocalini DS, Santos LD, Antonio EL, Santos AA, Alberta AP, Rossoni LV, et al. Myocardial remodeling after large infarcts in rats converts post rest-potentialization in force decay. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(3):243-51.
25. Anversa P, Loud AV, Levicky V, Guideri G. Left ventricular failure induce by myocardial infarction. I. Myocyte hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1985;248(6 Pt 2):H876-82.
26. Bupha-Intr T, Laosiripisan J, Wattanapernpool J. Moderate intensity of regular exercise improves cardiac SR  $Ca^{2+}$  uptake activity in ovariectomized rats. *J Appl Physiol*. 2009;107(4):1105-12.
27. Paroo Z, Haist JV, Karmazin M, Noble EG. Exercise improves postischemic cardiac function in males but not females: consequences of a novel sex-specific heat shock protein 70 response. *Circ Res*. 2002;90(8):911-7.
28. Thorp DB, Haist JV, Leppard J, Milne KJ, Karmazin M, Noble EG. Exercise training improves myocardial tolerance to ischemia in male but not in female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;293(1):R363-71.
29. Evangelista FS, Brum PC, Krieger JE. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Res*. 2003;36(12):1751-9.
30. de Waard MC, Duncker DJ. Prior exercise improves survival, infarct healing, left ventricular function after myocardial infarction. *J Appl Physiol*. 2009;107(3):928-36.
31. Kemi OJ, Haram PM, Wisløff U, Ellingsen Ø. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. *Circulation*. 2004;109(23):2897-904.
32. Freimann S, Kessler-Icekson G, Shahar I, Radom-Aizik S, Yitzhaky A, Eldar M, et al. Exercise training alters the molecular response to myocardial infarction. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(4):757-65.
33. Hausenloy DJ, Lecour S, Yellon DM. Reperfusion injury salvage kinase and survival activating factor enhancement prosurvival signaling pathways in ischemic postconditioning: two sides of the same coin. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14(5):893-907.
34. Bers DM. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu Rev Physiol*. 2008;70:23-49.
35. Kitzman D, Higginbotham M, Cobb F, Sheikh K, Sullivan M. Exercise intolerance in patients with heart failure and preserved left ventricular systolic function: Failure of the Frank-Starling mechanism. *J Am Coll Cardiol*. 1991;17(5):1065-72.
36. Schwinger R, Bohm M, Koch A, Schmidt U, Morano I, Eissner H, et al. The failing human heart is unable to use the Frank-Starling mechanism. *Circ Res*. 1994;74(5):959-69.
37. Gill R, Jones B, Corbly A, Ohad D, Smith G, Sandusky G, et al. Exhaustion of the Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure induced by chronic coronary microembolization. *Life Sci*. 2006;79(6):536-44.