

VITOR BERTOLI NASCIMENTO

**ESTUDO DOS EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE ASPECTOS
MECÂNICOS E CELULARES DO MUSCULO ESTRIADO CARDÍACO DE RATOS**

Monografia apresentada como requisito parcial para conclusão do Curso de Licenciatura em Educação Física, do Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná. Turma "T" - Professor: Iverson Ladewig, PhD

**ORIENTADOR:
Prof. Dr. Carlos Estavam Nolf Damiani**

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Carlos Estevam Nolf Damiani, pela paciência, persistência e coragem em orientar, ensinar, por mostrar-me a dimensão e complexidade da pesquisa na área básica; conhecimento este, permite a compreensão de fenômenos globais.

A minha esposa Giuvana Casagrande Nascimento por me suportar nas madrugadas, e finais de semana.

Ao Paulinho, meu camarada, chefe e sócio, por entender minhas faltas.

EPÍGRAFE

Na noite do oitavo dia, sozinho com o filho sob a lua e as estrelas, Omoro completou o ritual da indicação do nome. Levou o pequeno Kunta em seus braços fortes até a beira da aldeia, ergueu-o com o rosto virado para o céu e disse suavemente:
-*Fend kiling dorong leh warrata ka iteh tee.* (Veja! É a única coisa maior do que você!)

Negras Raízes

Alex Haley

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMO.....	viii
1.0 INTRODUÇÃO.....	9
1.1 PROBLEMA.....	27
1.2 JUSTIFICATIVA.....	28
1.3 OBJETIVOS.....	29
2.0 REVISÃO DA LITERATURA.....	30
2.1 INÍCIO DOS TRABALHOS, FUNÇÃO CONTRÁTIL E BIOQUÍMICA.....	30
2.2 EXERCÍCIO E FUNÇÃO MECÂNICA DO MIOCARDIO.....	32
2.3 EXERCÍCIO E MOVIMENTOS DO Ca^{2+}	33
2.3.1 Retículo Sarcoplasmático.....	33
2.3.2 Sarcolema.....	34
2.4 MIOCITOS ISOLADOS - ASPECTOS MECÂNICOS E A INFLUÊNCIA DO Ca^{2+}	37
3.0 METODOLOGIA.....	40
4.0 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	GLICOCALICE.....	10
FIGURA 2 -	DISCOS INTERCALARES.....	12
FIGURA 3 -	CÁLCIO INDUZINDO LIBERAÇÃO DE CÁLCIO.....	14
FIGURA 4 -	SARCÔMERO, LINHA Z, TITINA, MIOSINA, ACTINA.....	16
FIGURA 5 -	INTERAÇÃO DOS MIOFILAMENTOS NO PROCESSO CONTRAÇÃO-RELAXAMENTO.....	18
FIGURA 6 -	FASES DO POTENCIAL DE AÇÃO E PADRÕES DE ATIVAÇÃO NAS FIBRAS DE PURKINJE.....	21
FIGURA 7 -	RELAÇÃO DE FORÇA E $[Ca^{2+}]$ ENTRE TREINADOS E CONTROLE.....	35
FIGURA 8 -	FOTOMICROGRAFIA DE MIÓCITOS VENTRICULARES.....	36
FIGURA 9 -	RELAÇÃO TENSÃO $[Ca^{2+}]$ CONTROLE vs TREINADOS.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	- Trifosfato adenosina
AMPc	- Adenosina monofosfato cíclica
[Ca ²⁺]	- Concentração de íons cálcio
DHPR	- Receptores diidropiridínicos
Em	- Potencial de membrana
HMM	- Meromiosina pesada
I _{Na} ⁺	- Influxo de íons sódio
I _{Ca}	- Influxo de íons cálcio
I _K	- Influxo de íons potássio
LMM	- Meromiosina leve
MLC1	- Cadeia leve de miosina 1
MLC2	- Cadeia leve de miosina 2
PMCA	- Membrana plasmática
RS	- Retículo sarcoplasmático
S1	- Subfragmento S1 da miosina
S2	- Subfragmento S2 da miosina
Tm	- Tropomiosina
Tn	- Troponina
TnT	- Troponina T
TnC	- Troponina C
TnI	- Troponina I

RESUMO

O presente trabalho se constitui numa revisão bibliográfica de estudos realizados objetivando um melhor esclarecimento sobre os efeitos do treinamento físico sobre o miocárdio, mais especificamente, sobre a contratilidade miocárdica. Estudos iniciais sugerem um aumento da contratilidade da musculatura cardíaca em animais submetidos a treinamento físico. Dentre as principais causas para este aumento da contratilidade, os autores sugerem: 1) possíveis alterações na atividade da ATPase miosínica; 2) possíveis alterações no transporte de Ca^{2+} pelo sarcolema e/ou retículo sarcoplasmático; 3) por meio de um provável aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} pelos elementos contráteis. Os resultados encontrados são controversos no que tange a alterações no transporte de Ca^{2+} pelo sarcolema. Na explicação para resultados tão divergentes, os pesquisadores sugerem como possíveis causas, variações no tipo de estímulo aplicado (natação vs corrida), tempo utilizado para cada sessão, e o tempo de duração total do treinamento físico. Todavia, o fato que se apresenta mais conclusivo em relação ao aumento da força contrátil, seria devido a um aumento na sensibilidade ao Ca^{2+} pelos elementos contráteis. Tais resultados e hipóteses levam a novas perspectivas sobre os efeitos de treinamento físico o que tem sugerido, também, a ocorrência de um aumento da expressão dos elementos contráteis.

1. INTRODUÇÃO

O aparelho cardiovascular surgiu e evoluiu, para através de um fluxo contínuo de sangue suprir as necessidades metabólicas do corpo, levando principalmente oxigênio e nutrientes e removendo gás carbônico e outros catabólitos, adaptando seu débito para manutenção da demanda para todas as células do corpo (GOTTSCHALL, 1995).

MÚSCULO CARDÍACO

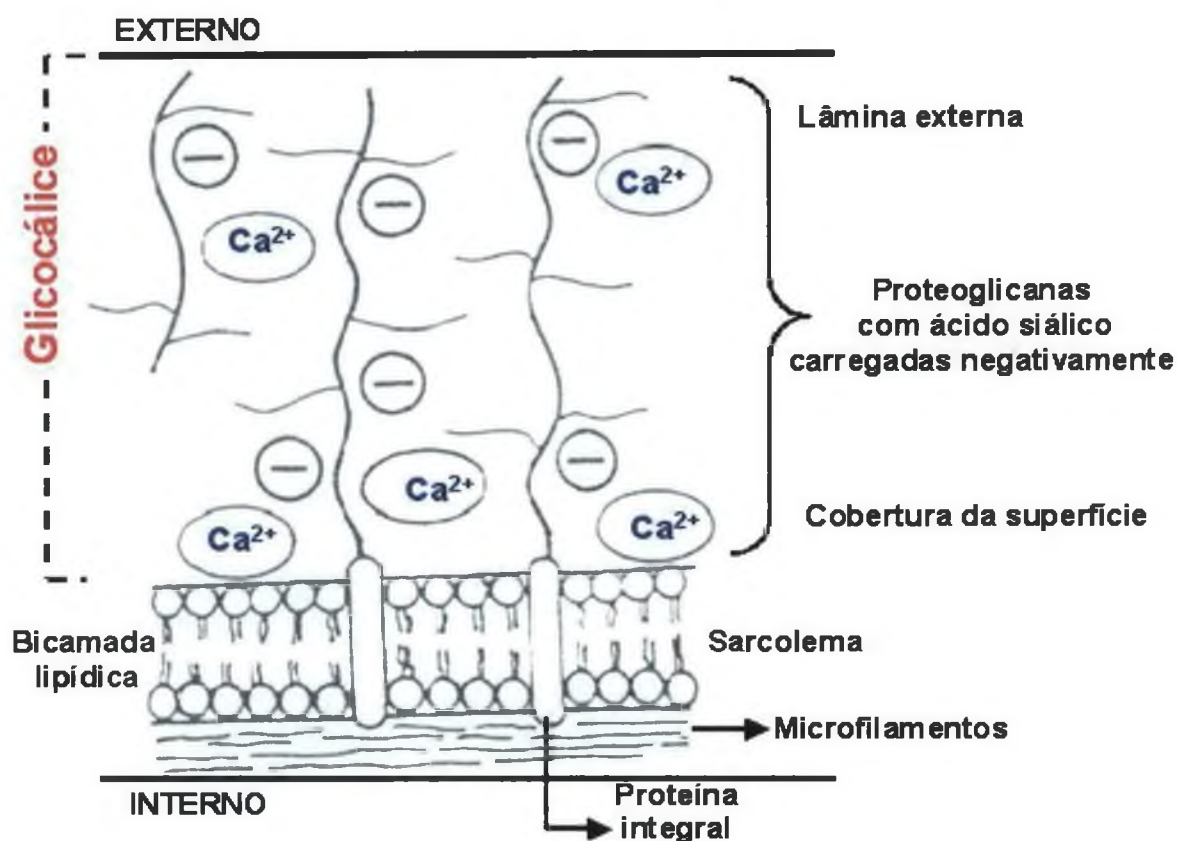
Grande parte do miocárdio é formada por células contráteis, chamadas de miócitos ou cardiomiócitos (OPIE,1998). Os miócitos constituem cerca de 75% do volume total do miocárdio sendo, o restante, formado por células especializadas na condução elétrica e por tecido conectivo (HURST,1986; OPIE,1998). Os cardiomiócitos são formados por estruturas membranosas envolvidas no processo contrátil entre as quais destacamos o sarcolema, túbulos transversos e o retículo sarcoplásmico (KATZ,1992).

GLICOCÁLICE, SARCOLEMA E TÚBULOS TRANSVERSOS

O Glicocálice é a camada mais externa da célula, constituída principalmente de carboidratos complexos denominados polissacarídeos e, freqüentemente associados com proteínas (glicoproteínas). Estas últimas apresentam carga elétrica negativa que atuam capturando íons carregados positivamente tais como os íons cálcio (OPIE,1998) (Figura 1).

A bicamada lipídica está imediatamente próxima ao glicocálice e é usualmente relacionada como o único verdadeiro componente do sarcolema constituindo-se, portanto, em um contorno de bicamada de moléculas fosfolipídicas (CURRY, 1986). A superfície do sarcolema é fisicamente contínua com a membrana do Túbulo-T e, como tal, as duas se combinam para formarem barreira de permeabilidade entre o interior da célula e o meio extracelular (SCALES, 1981; OPIE,1998).

FIGURA 1- GLICOCALICE



FONTE: OPIE, L.H. *The Heart. Physiology, from cell to circulation*. pg. 170. 3ª Edição. Lippincott Williams&Wilkins, 1998

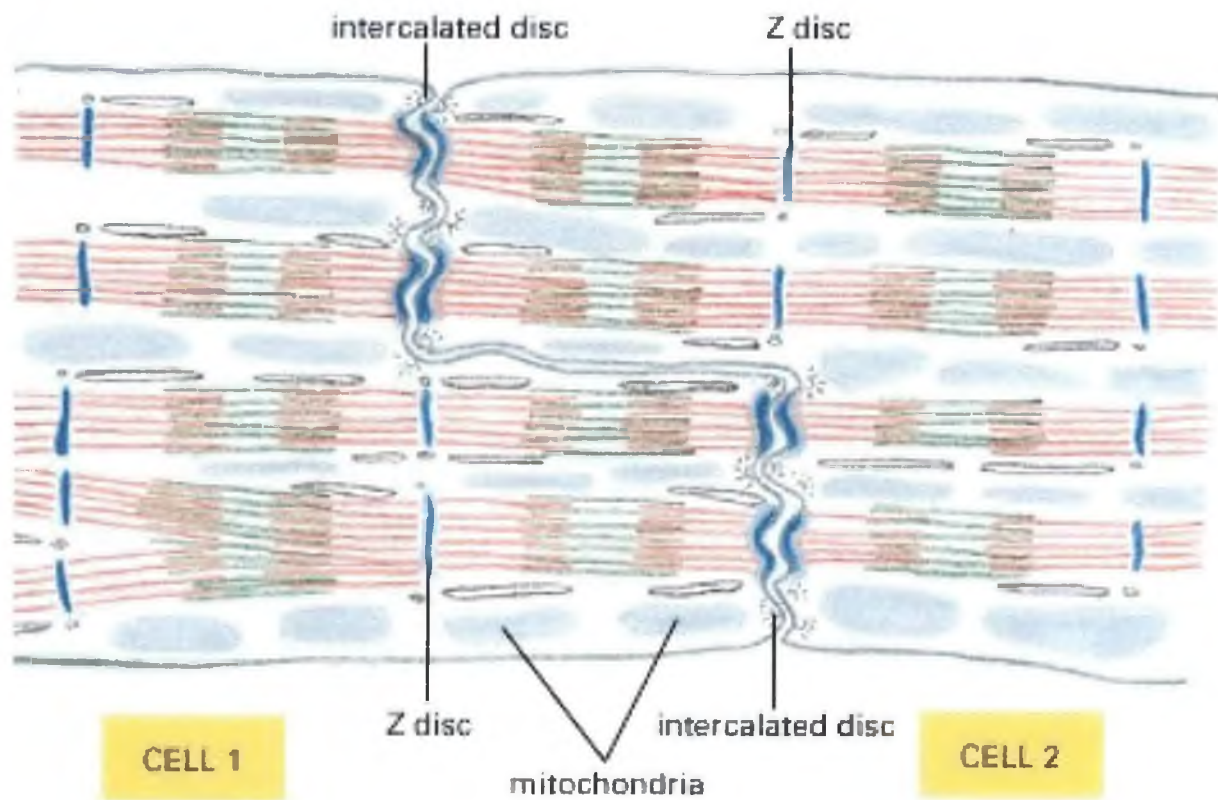
Pelo fato dos túbulos-T serem uma extensão e de apresentarem a mesma ultraestrutura da superfície celular, eles aumentam a área de superfície da célula em pelo menos 30%, assim facilitando que o estímulo excitatório se propague para dentro da célula (SCALES, 1981). A organização ultraestrutural do sarcolema cardíaco é importante porque este é o local através do qual o Ca^{2+} entra e sai da célula. Assim, a localização de relevantes sistemas de transporte é de importância funcional. Isto justifica a existência de distribuição diferenciada de canais iônicos, bombas e outras especializações da membrana (ALMERS & STIRLING, 1984).

A principal especialização estrutural do sarcolema é o acoplamento com o retículo sarcoplasmático (RS) (FABIATO & FABIATO, 1978; BERS, 1985). O sarcolema também exibe as cavéolas, as quais são invaginações em forma de garrafa (50-80nm de diâmetro) e que contribuem significativamente (~10%) para aumentar a área de superfície tanto do sarcolema de superfície como para o sarcolema do túbulo-T (LEVIN & PAGE, 1980).

Outra grande especialização do sarcolema é a região onde as células estão em íntima aposição em suas extremidades, conhecidas como discos intercalados. As extremidades finais das células do músculo cardíaco geralmente se interdigitam sendo descritas três diferenciações nesta região: 1) Nexus ou Gap Junctions; 2) Fascia adherens ou Intermediate Junction e 3) Macula adherens ou Desmosome (SJÖSTRAND *et al.*, 1958). A Fascia e a Macula adherens parecem ter importância fundamental na conexão mecânica de uma célula com a outra. As gap junctions estão predominantemente nas partes do disco intercalado paralela ao longo eixo da célula e serviriam como vias de baixa resistência elétrica, o que, possibilita o coração trabalhar como um sincício elétrico (OPIE, 1998).

RETÍCULO SARCOPLASMÁTICO

Anatomicamente, o retículo sarcoplasmático (RS) se constitui em uma rede espalhada através dos miócitos, demarcada por sua bicamada lipídica similar àquela do sarcolema (PAGE *et al.*, 1978). A principal função dessa organela parece ser o seqüestro e a liberação de cálcio para o mioplasma (KATZ, 1992). Uma primeira parte do RS se encontra próximo e, em aposição aos túbulos T. Aqui, os túbulos do

FIGURA 2 - DISCOS INTERCALARES.

FONTE: ALBERTS, B; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. Chapter 16. The Cytoskeleton. Part III. Internal Organization of the Cell. **Molecular Biology of the Cell, 3rd edn.** Orlando: Saunders College Publishing, 1994. p. 1159.

retículo sarcoplasmático se expandem em projeções em forma de bolsas, as quais se estendem ao longo da superfície interna do sarcolema ou estão dobrados em torno dos túbulos T. Essas áreas expandidas do RS recebem várias denominações: cisterna subsarcolemal ou componentes juncionais. As junções estabelecidas entre essas estruturas são chamadas tríades, díades ou acoplamento periférico, dependendo do número e da configuração de suas membranas constituintes (FRANZINI-ARMSTRONG & PROTASI, 1997). Exceto pelas junções entre o RS e o sarcolema, a membrana do retículo sarcoplasmático parece homogênea e contém principalmente a bomba Ca^{2+} -ATPase (KATZ, 1992). Assim, a maior parte da superfície do retículo sarcoplasmático parece funcionar basicamente para a remoção do Ca^{2+} do citoplasma (KATZ, 1992).

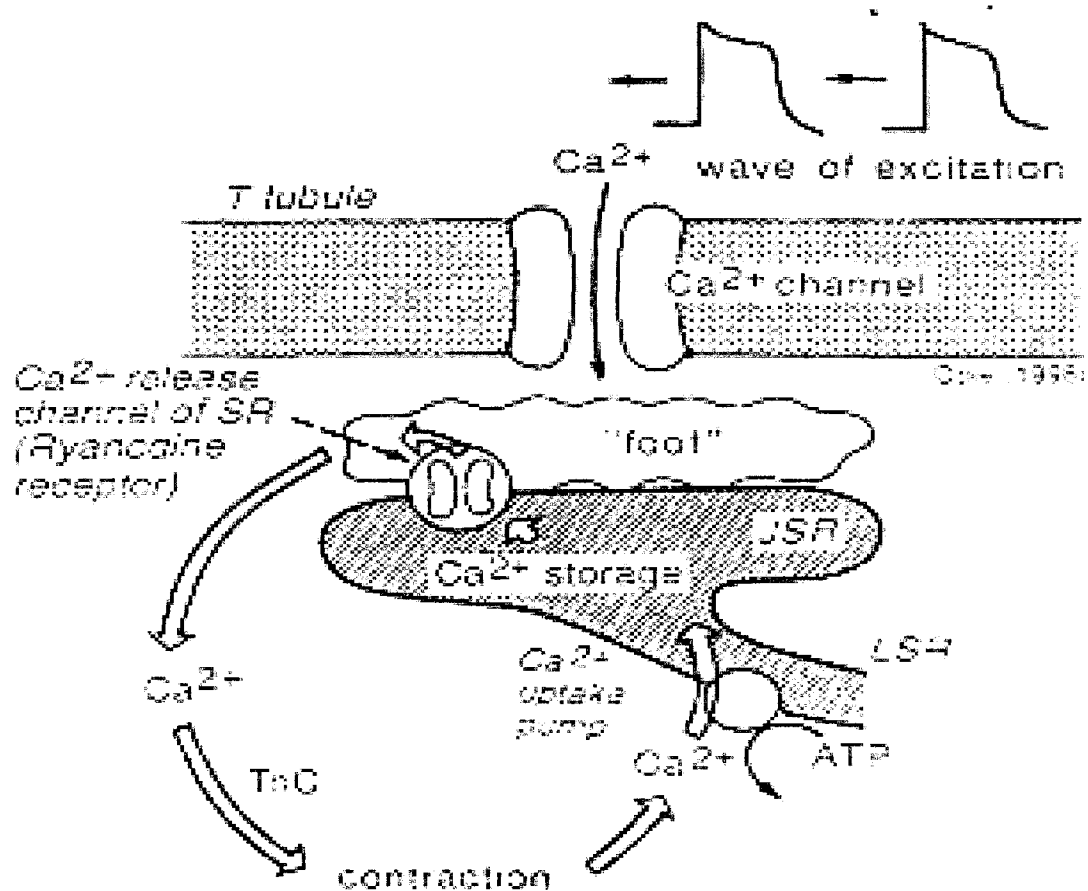
As junções do RS com o sarcolema (de superfície ou túbulo-T) são altamente especializadas e caracterizadas por estruturas de ligação as quais têm sido denominadas como “pés” por FRANZINI-ARMSTRONG (1970). Com bases em suas diferenças morfológicas e alta afinidade pelo alcalóide rianodina, os pés foram purificados e identificados no músculo cardíaco como canais liberadores de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático. Além do mais, esses pés são organizados num padrão distinto no RS imediato a membrana do túbulo-T e que estão em oposição a um organizado arranjo de partículas na membrana do túbulo-T semelhante a proteína de canal de Ca^{2+} do sarcolema (receptor diidropiridínico, *DHPR*). Esse arranjo em músculo cardíaco de mamífero, apresenta uma estequiometria RyR:DHPR 4:10 dependendo da espécie (BERS & STIFFEL, 1993).

O retículo sarcoplasmático também contém calsequestrina, uma proteína de grande capacidade de ligação ao Ca^{2+} a qual está especialmente concentrada na cisterna terminal (OPIE, 1992).

PROTEÍNAS CONTRATÉIS

A principal função dos miócitos cardíacos é o processo de contração e relaxamento muscular. O sarcômero é considerado como sendo a unidade contrátil básica do músculo estriado cardíaco. Delimitado por duas linhas Z, encontramos entre elas regiões claras, linhas I, e escuras, as linhas A, sendo que a região I é formada por filamentos finos de característica isotrópica, não desvia a luz larizada,.

FIGURA 3 - Ca^{2+} INDUZINDO LIBERAÇÃO DE Ca^{2+} .



FONTE: OPIE, L.H. *The Heart. Physiology, from cell to circulation*. pg. 190. 3ª Edição. Lippincott Williams & Wilkins, 1998.

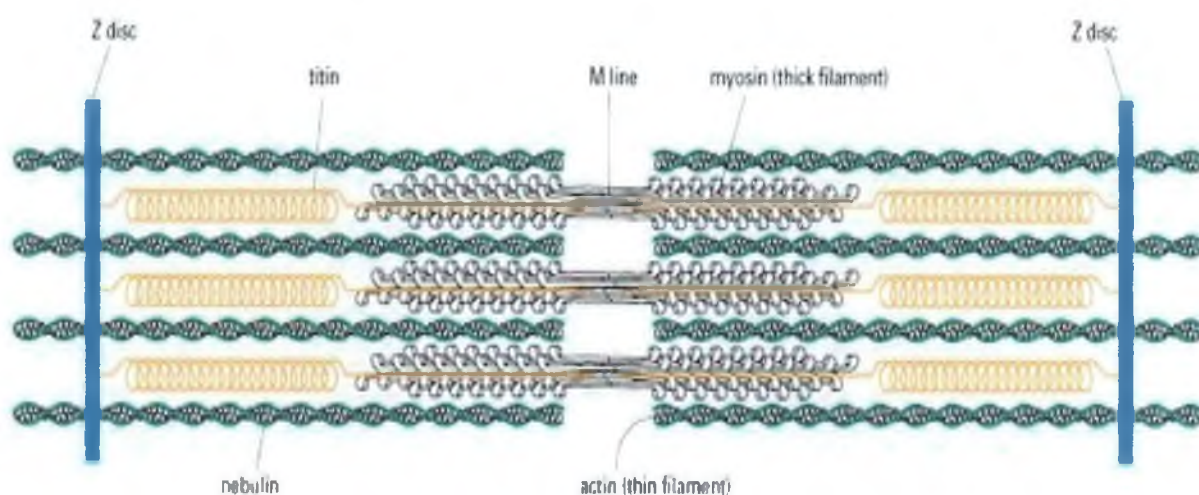
formada por filamentos grossos. Há uma região de superposição dos filamentos grossos e finos denominada de banda H (VASSALO & STEFANON, 1999). Dessa forma, são constituídos por miofilamentos, que, por sua vez, são constituídos pelos filamentos grossos contendo Miosina e pelos filamentos finos contendo Actina bem como pelos componentes contráteis do citoesqueleto.

Cada filamento grosso é constituído por ~300 moléculas de miosina, mas também contêm outras proteínas tais como a *titina* e a *proteína-C*. Cada cadeia pesada de miosina (MW ~450.000) tem uma longa (~130nm) cauda α -helicoidal e uma cabeça globular (VASSALO & STEFANON, 1999). As caudas da cadeia pesada de miosina formam o eixo principal do filamento grosso. As cabeças de miosina protruem a partir do longo eixo a um intervalo de 14,3 nm com o ângulo de protrusão apresentando uma rotação de 120° em cada ponto, de tal forma que num dado plano as cabeças parecem espaçadas a um intervalo de 43 nm uma da outra. Essas cabeças de miosina formam as *pontes cruzadas* que interagem com a actina para a geração da contração (SIECK & REGNIER, 2001). Essas cabeças contêm sítios para a hidrólise do ATP, e têm duas cadeias leves associadas com cada cabeça. Com base na susceptibilidade a proteases específicas, a cadeia pesada de miosina tem sido desdobrada em *meromiosina leve* (LMM, 2/3 dos 150 nm da cauda) e *meromiosina pesada* (HMM). A HMM é posteriormente dividida em *subfragmento 2* (S2, os 50 nm residuais da cauda) e *subfragmento 1* (S1, 20 nm do pescoço e longa cabeça. A região central do filamento grosso é desprovida de pontes cruzadas refletindo a relação cauda-a-cauda das moléculas de miosina. As duas cadeias leves de miosina (*MLC1* e *MLC2*) se ligam a cada cadeia pesada na base do domínio S1 ou na região do pescoço.

MLC1 é também referida como cadeia leve álcali ou essencial (ELC). *MLC2* é também chamada de cadeia leve fosforilável ou regulatória (RLC). Ambas as cadeias leves conferem estabilidade física ao filamento grosso. Entretanto, a cadeia leve regulatória (*MLC2*) pode também alterar a função em resposta a ligação do Ca^{2+} ou fosforilação (VASSALO & STEFANON, 1999).

O filamento fino é constituído por duas cadeias da proteína globular G-actina a qual forma a dupla hélice do polímero F-actina (SOLARO & RARICK, 1998). A Tropomiosina (Tm) é uma proteína longa e flexível, que se aloja na fenda formada pelos filamentos de actina e envolve cerca de sete monômeros de actina.

FIGURA 4 - SARCÔMERO, LINHA Z, TITINA, MIOSINA, ACTINA.



FONTE: ALBERTS, B; BRAY, D; LEWIS, J. MARTIN, R.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. The Cytoskel. In: **Molecular Biology of the Cell**. Third edition. New York: Garland Publishing, Inc., 1994, p. 855.

NOTA: A molécula de titina estende-se desde o disco Z até a linha M. Parte da molécula está intimamente ligada às moléculas de miosina.

A tropomiosina é também um duplo filamento formando uma α -hélice sendo que seus dois filamentos podem estar conectados por pontes dissulfídicas. A cada sétima actina existe um complexo Troponina (Tn) agregado a tropomiosina. Tal complexo troponina é formado por 3 subunidades: a) Troponina T (TnT, ou subunidade de ligação da tropomiosina), b) Troponina C (TnC, ou subunidade de ligação do Ca^{2+}) e c) Troponina I (TnI, ou subunidade inibitória, que também se liga a actina).

ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO

O acoplamento excitação-contração constitui-se num conjunto de mecanismos que são desencadeados pela excitação elétrica promovida pelo potencial de ação e que vão promover a contração. Podemos sintetizar o acoplamento excitação-contração como composto das seguintes etapas: a) excitação da membrana da célula muscular, quando inicia-se a entrada de Ca^{2+} na fibra; b) entrada do Ca^{2+} na fibra, proveniente do líquido extracelular; c) aumento da concentração do Ca^{2+} na fibra, desencadeando o processo contrátil (VASSALO, 1978).

Propriedades Eletrofisiológicas do Coração

O potencial de ação cardíaco é um evento de membrana que ocorre de forma transiente durando cerca de 200 a 800 ms, dependendo da espécie e da parte do coração da qual os potenciais de ação são registrados.

Por questões didáticas é conveniente se dividir o potencial de ação em cinco fases (0, 1, 2, 3 e 4). Tais fases podem ser visualizadas nos potenciais das fibras de Purkinje e são, rotineiramente adotadas como modelo.

a) FASE 0 ou Rápida Elevação do Potencial de Ação

A despolarização do cardiomiócito é normalmente iniciada pela propagação de uma corrente passiva a partir de uma região ativa a qual pode levar a célula a um ponto limiar onde um número suficiente de canais de Na^+ são ativados de tal forma

que a corrente de influxo de Na^+ (I_{Na}) exceda a corrente de efluxo de K^+ (I_{K}) (RODEN & GEORGE, 1997). A rápida elevação do potencial de ação nos miócitos atriais e ventriculares é basicamente devida à ativação regenerativa da I_{Na} . Isto é, quando o limiar de despolarização é atingido, a abertura dos canais de Na^+ leva a uma posterior despolarização a qual, por sua vez, ativa canais adicionais de Na^+ . A despolarização cessa, em parte, devido à inativação dos canais de Na^+ . Com a despolarização, o gradiente para I_{Na} diminui, enquanto para as correntes de K^+ o gradiente aumenta. Além disso, a condutância para o K^+ aumenta rapidamente para as correntes de K^+ ativadas por voltagem I_{to} & I_{Kur} (RODEN & GEORGE, 1997). No pico do potencial de ação, a I_{Na} cai para aproximadamente para 1% do seu valor de pico e a I_{Ca} está cerca de 43% do seu máximo. Nesse momento, podemos dizer que o pico do potencial de ação ocorre quando a corrente de influxo ($I_{\text{Na}} + I_{\text{Ca}}$) se iguala a corrente de efluxo (carreada, principalmente, pelo K^+).

b) FASE 1 ou Repolarização Inicial

Vários fatores contribuem para a fase inicial de repolarização incluindo-se aí, uma inativação adicional da I_{Na} e a ativação de correntes de K^+ (I_{to}) para fora e uma corrente de cloreto dependente de cálcio ($I_{\text{Cl (Ca)}}$). O mesmo cálcio liberado pelo retículo sarcoplasmático, o qual contribui para a ativação da corrente de cloreto dependente de cálcio ($I_{\text{Cl (Ca)}}$), também inativa a corrente de cálcio (I_{Ca}) e é responsável pela rápida diminuição inicial da $I_{\text{Ca, L}}$.

Entre as diferentes correntes de potássio, diferenciações podem ser feitas entre correntes ativadas por voltagem (I_{to} , I_{Kur} , I_{Kss} , I_{Kr} e I_{Ks}), correntes ligando-ativadas (I_{KAch} , I_{KATP} , I_{KNa} e I_{KAA}) e a corrente retificadora de influxo (I_{K1}) (CARMELIET, 1999). A corrente de K^+ ativada por voltagem (I_{Kur}) também se ativa muito rapidamente e pode contribuir para a repolarização inicial. Provavelmente, a corrente de K^+ ativada por voltagem (I_{to}) seja a de maior contribuição para a aparência pontiaguda do potencial de ação (Wickenden *et al.*, 1997). I_{to} é uma corrente de efluxo de potássio que é rapidamente ativada e inativada (CARMELIET, 1999) e é parcialmente responsável pela rápida repolarização inicial (fase 1) do potencial de ação cardíaco. Em alguns tecidos, esta corrente é composta de dois componentes independentes: um que ocorre mais precocemente, com cinética mais

rápida e denominado I_{to1} , I_A ou simplesmente I_{to} , e outro mais lento, I_{to2} , dependente de cálcio citoplasmático (CAMPOS DE CARVALHO, 1989). A corrente I_{to1} é ativada por despolarização a partir de -30 mV a -20 mV e apresenta inativação dependente de voltagem e de tempo.

c) FASE 2 ou Platô

A longa fase do platô do potencial de ação pode ser lisa, arredondada, com leve declive ou uma combinação dessas. Sua principal característica é a de que o potencial de membrana (E_m) não muda rapidamente. Isso se deve ao fato de que as correntes de influxo e efluxo estão bem balanceadas. Durante este tempo, a corrente de influxo é carregada, principalmente, pela corrente de cálcio tipo-L ($I_{Ca, L}$) e, a corrente de efluxo carregada pelas correntes de potássio retificador retardado, I_{Kr} , I_{Ks} e I_{Kur} (para “*rapid*”, “*slow*” and “*ultra-rapid*”). A corrente I_{Ks} se ativa mais lentamente e essas duas correntes de efluxo sustentam o platô. Existe um delicado equilíbrio de correntes durante a fase de platô de tal modo que pequenas alterações em qualquer delas pode modificar a duração deste platô.

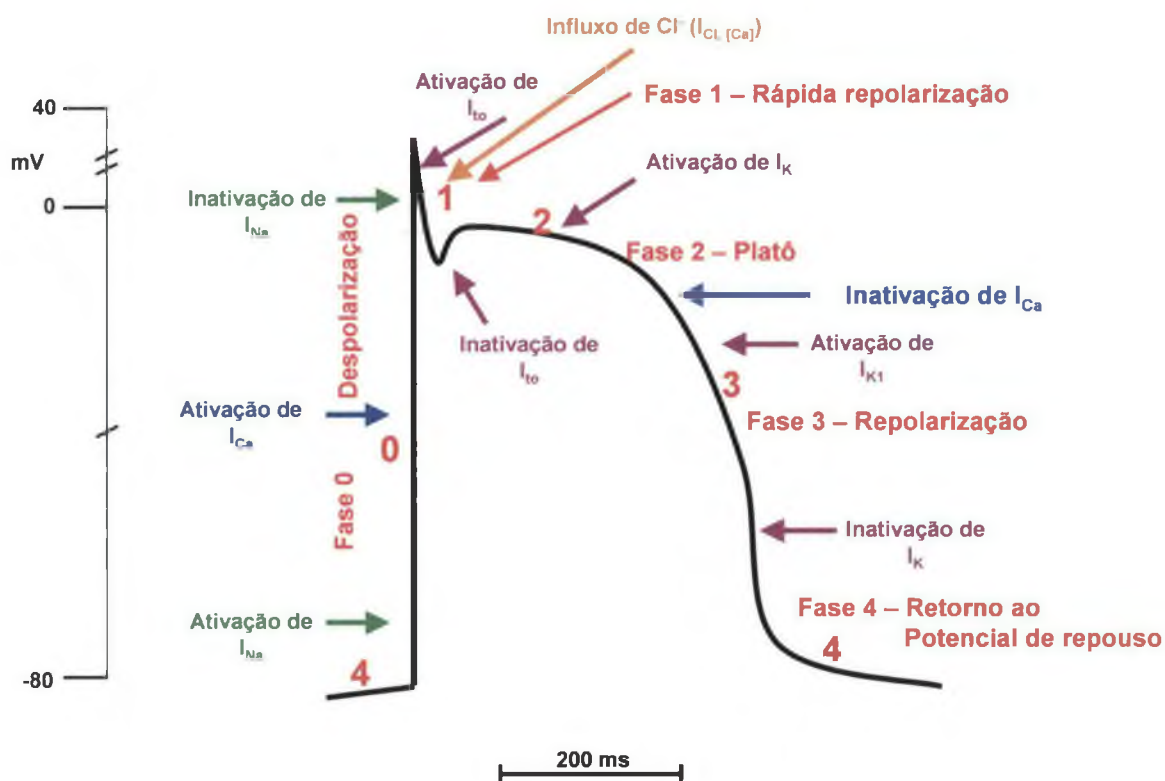
d) FASE 3 ou Repolarização Tardia

Num certo momento, a repolarização se acelera grandemente e E_m vai desde o platô até próximo a 0 mV retornando para o potencial de membrana (E_m) diastólico.

Ocorre um declive na relação corrente-voltagem de I_{Kr} e I_{K1} o que significa que da mesma forma que a repolarização prossegue a corrente de efluxo aumenta (causando mais repolarização).

Este tipo de feedback positivo resulta numa progressiva aceleração da repolarização. Desde que isso ocorra, a um E_m mais positivo para I_{Kr} , esta corrente torna-se particularmente importante na fase inicial dessa fase acelerada de repolarização tardia. Como a repolarização prossegue, I_{Kr} se desativa a um potencial de membrana (E_m) mais negativo. A um potencial de membrana abaixo de -30 mV I_{K1} aumenta com a repolarização, novamente acelerando a repolarização. Durante a repolarização a corrente promovida pelo trocador Na-Ca ($I_{Na/Ca}$) (extrusão de Ca^{2+})

FIGURA 6 - FASES DO POTENCIAL DE AÇÃO E PADRÕES DE ATIVAÇÃO NAS FIBRAS DE PURKINJE.



FONTE: Adaptado OPIE, L.H. *The Heart. Physiology, from cell to circulation.* pg. 215. 3ª Edição. Lippincott Williams&Wilkins, 1998.

NOTA: Fases do Potencial de Ação e Padrões de Ativação nas fibras de Purkinje. Em vermelho, podemos observar as 4 fase do potencial de ação. As fibras de Purkinje, adaptadas para a rápida condução do impulso cardíaco, apresenta uma fase 0 que é, relativamente, mais proeminente do que nas células ventriculares. Estas últimas, adaptadas para a contração, apresentam uma mais proeminente fase de platô com um mais prolongado influxo de cálcio. As correntes associadas com o potencial de ação nas fibras de Purkinje são as seguintes: I_{Na} , corrente de sódio; I_{Ca} , corrente de cálcio; I_{to} , corrente transiente de efluxo; I_K , corrente de potássio voltagem-dependente ou retardado; I_{K1} , corrente de potássio ou retificador anômalo

ainda é relativamente elevada e o potencial de membrana mais negativo (E_m) causa uma forte força direcional favorecendo a corrente de influxo $I_{Na/Ca}$ (BERS, 2002).

e) FASE 4 ou Retorno ao Potencial de Repouso

Na fase 4, há novamente um equilíbrio entre as correntes de efluxo e de influxo observando-se, então, uma corrente efetiva nula. A condutância aumentada dos canais que conduzem a corrente I_{K1} é refletida pela formação da lombada que aparece na fase 3 e situada nos registros de corrente-voltagem entre os valores de E_m de -20 mV a -70 mV. Assim, conforme E_m passa por essa faixa de valores, a corrente de efluxo de potássio aumenta e, portanto, acelera a repolarização. O excesso de sódio que entrou na célula, principalmente nas fases 0 e 2, é eliminado por uma Na^+/K^+ -ATPase, em grande parte, nas fases 2 e 3. De modo semelhante, o excesso de cálcio que entrou na célula durante a fase 2 é eliminado por um trocador Na^+/Ca^{2+} , embora uma pequena fração desse cálcio é eliminada pela bomba Ca^{2+} -ATPase sarcolemal lembrando que, essa bomba é pouco eficiente em ratos (BETT *et al.*, 1992).

Assim, podemos observar que os íons cálcio desempenham um papel central como transdutores de sinal em células de mamíferos. Assim, entrada de cálcio inicia uma variedade de processos no músculo cardíaco.

CICLOS DO CÁLCIO E SINALIZAÇÃO

Um duplo sistema de ativação regula a entrada de cálcio nas células excitáveis a fim de assegurar uma sinalização suficientemente rápida de cálcio e liberação de quantidades adequadas de cálcio para o interior da célula. Esses sistemas são constituídos por dois ciclos interdependentes: I) o Ciclo de Cálcio Extracelular e, II) o Ciclo de Cálcio Intracelular (KATZ, 1997).

Ciclo Extracelular do Cálcio

O ciclo extracelular se refere ao influxo e efluxo de cálcio através da membrana plasmática. Nas células excitáveis, a despolarização da membrana

desencadeia alterações conformacionais que abrem os canais de cálcio voltagem-dependentes, os quais possibilitam o cálcio a se difundir rapidamente para dentro da célula (KATZ, 1992). Apenas uma pequena quantidade de cálcio que entra no citosol a partir do espaço extracelular ativa o miocárdio adulto sendo que a maior parte deste cálcio se acumula logo abaixo da membrana plasmática, adjacente aos canais liberadores de cálcio no retículo sarcoplasmático. Esta área localizada, com alta concentração de cálcio, dispara a liberação de uma maior quantidade de cálcio a partir do retículo sarcoplasmático, o qual ativa os miofilamentos através de um mecanismo conhecido como liberação de cálcio induzida por cálcio (calcium-induced calcium release) (Fabiato, 1983).

O ciclo extracelular é completado pelo efluxo de cálcio a partir do citosol através da membrana plasmática. Para o relaxamento, energia precisa ser gasta para que ocorra a remoção do cálcio da célula contra o elevado gradiente eletroquímico. Isto ocorre, por meio de uma bomba de cálcio dependente de ATP, a qual utiliza a energia derivada da hidrólise da molécula de ATP e, por meio do trocador sódio-cálcio, o qual usa a energia do gradiente eletroquímico de sódio através da membrana plasmática para mover cálcio para fora da célula (KATZ, 1992).

Ciclo Intracelular do Cálcio

O ciclo intracelular do cálcio regula as concentrações do cálcio citosólico através da liberação e captação do cálcio ativador para dentro do retículo sarcoplasmático. O cálcio que entra no citosol através do ciclo de cálcio intracelular é liberado dos estoques de cálcio do retículo sarcoplasmático. A recaptação do cálcio para dentro do retículo sarcoplasmático é feita pelas bombas de cálcio dependentes de ATP do retículo sarcoplasmático (OPIE, 1992).

Proteínas Intracelulares de Ligação do Cálcio

Uma vez dentro do citosol, o cálcio se liga aos sítios de alta afinidade de proteínas intracelulares tais como troponina C, cadeias leves de miosina, e calmodulina, para iniciar a contração muscular. A ligação do cálcio a essas proteínas

faz a mediação de uma variedade de sinais intracelulares em diferentes tipos de células (KATZ, 1992).

No músculo cardíaco, a proteína de ligação do cálcio é a troponina C. O cálcio se ligando a troponina C causa uma alteração conformacional no filamento fino que leva a contração muscular (KATZ, 1992).

Proteínas que Removem o Cálcio do Citosol

Durante a diástole, o cálcio é transportado para o meio extracelular tanto contra um gradiente de concentração como contra um gradiente eletroquímico. Dessa forma, o efluxo de cálcio requer energia. Duas classes de proteínas extrusam ativamente o cálcio da célula, são as bombas de Ca^{2+} -ATPase e o Trocador Sódio-Cálcio. As Ca^{2+} -ATPase estão localizadas na membrana plasmática (PMCA) e no retículo sarcoplasmático (SERCA). Embora ambas estejam envolvidas no efluxo de cálcio elas são reguladas diferentemente. A PMCA é regulada pela proteína quinase cálcio-calmodulina-dependente (CARAFOLI, 1991). O complexo cálcio-calmodulina se liga a uma sequência do amino-ácido do c-terminal da PMCA localizado no citosol. A ligação direta do complexo a este sítio atenua o efeito inibitório da região C-terminal em, assim, estimula o transporte de cálcio para fora da célula. A PMCA é ativada pela elevação das concentrações intracelulares de cálcio a qual, aumenta tanto a sensibilidade ao cálcio como a velocidade máxima da bomba. A SERCA cardíaca, a qual transporta ativamente cálcio do citosol de volta para o RS, é regulada pela adenosina monofosfato cíclica (AMPc) ativada pela fosforilação do fosfolambam (BERS,2002). O fosfolambam é uma proteína que traduz o sinal produzido quando um agonista β -adrenérgico se liga a seu receptor e inicia a produção do segundo mensageiro AMPc. Esse mensageiro AMPc ativa a proteína quinase que fosforila o fosfolambam, o qual, por sua vez, ativa SERCA e aumenta a recaptação de cálcio do citosol (KATZ, 1992).

Cerca de 80% do efluxo de cálcio da célula miocárdica ocorre através do trocador sódio-cálcio. Localizado na membrana plasmática tal qual a PMCA, o trocador sódio-cálcio difere no fato de que ele é energizado pelo gradiente de sódio ao invés da hidrólise do ATP. O trocador conduz sódio para dentro enquanto transporta cálcio para fora resultando num movimento de carga através da

membrana plasmática numa direção oposta àquela do fluxo de cálcio. Isto possibilita o potencial de membrana influenciar a direção do fluxo de cálcio, de tal forma, que, o trocador favorece o efluxo de cálcio durante a diástole e o seu influxo durante a sístole (KATZ, 1992).

Proteínas que Regulam a Entrada de Cálcio para o Citosol

Duas famílias de proteínas regulam a entrada de cálcio para o citosol: 1) Uma família inclui os canais intracelulares de liberação de cálcio no retículo sarcoplasmático e, 2) a outra família é constituída pelos canais de cálcio da membrana plasmática.

Canais Intracelulares de Liberação de Cálcio

O ciclo de cálcio intracelular é regulado pelos canais intracelulares liberadores de cálcio que controlam a liberação de cálcio dos estoques do retículo sarcoplasmático dos músculos e de outros tipos de células. Nessa categoria se incluem os receptores da rianodina e os receptores do inositol trifosfato.

a) Receptores Rianodina

Canais de cálcio receptores rianodina, os quais estão predominantemente presentes nos músculos esquelético e cardíaco, são moléculas tetraméricas localizadas na cisterna subsarcolemal do retículo sarcoplasmático adjacente ao sistema transversal túbulo-T. No coração, os receptores de rianodina são responsáveis pela liberação de grandes quantidades de cálcio ativador para o ciclo intracelular de cálcio (Calcium-induced calcium-release) (FABIATO, 1983; KATZ, 1992; OPIE, 1998). No músculo cardíaco, os receptores de rianodina são abertos pelo cálcio que entra no citosol via canais de cálcio tipo-L. Como os canais de cálcio tipo-L são adjacentes ao canal receptor de rianodina, a entrada de cálcio através dos canais tipo-L ativa os receptores de rianodina. Dessa forma, o localizado aumento de concentração intracelular de cálcio produz um “*calcium spark*” que sinaliza a abertura dos canais intracelulares liberadores de cálcio o qual, por sua vez, fornece

cálcio ativador para as proteínas contráteis do miocárdio, dando início ao processo de acoplamento excitação-contração (KATZ, 1992).

b) Receptores Inositol Trifosfato

Como os receptores de rianodina, os receptores inositol trifosfato também são estruturas tetraméricas, cada uma das 4 subunidades constitui-se de um domínio citosólico e de 2 segmentos trans-membrana α -helicoidal. Apesar de apresentar um tamanho menor, o receptor inositol trifosfato é funcionalmente homólogo ao receptor de rianodina. As quatro subunidades, em ambos os receptores, formam um poro através do qual o cálcio ativador pode ser liberado quando o canal é aberto (KATZ, 1996).

Apesar do pequeno número de canais receptores inositol trifosfato estarem presente no músculo cardíaco, sua função nas células miocárdicas ainda não está esclarecida. O fato de que eles liberam uma pequena quantidade de cálcio no citosol sugere que eles não estejam envolvidos no acoplamento fásico excitação-contração do coração. Entretanto, eles podem estar envolvidos na regulação da tensão diastólica, no crescimento celular e diferenciação (KATZ, 1996).

1.1 PROBLEMA:

A despeito dos resultados já encontrados, ainda permanecem obscuros os mecanismos celulares que levariam a uma melhora da condição contrátil do miocárdio submetido a treinamento físico. Dentre as hipóteses aventadas pelos pesquisadores, podemos destacar: 1) possíveis alterações na atividade da ATPase miosínica; 2) possíveis alterações no mecanismo de transporte de Ca^{2+} tanto pelo sarcolema quanto pelo retículo sarcoplasmático; 3) ou ainda, devido a um possível aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} pelos elementos contráteis. Todavia, deve-se enfatizar; que o incremento da atividade contrátil poderia advir tanto como consequência de um destes fatores atuando de forma isolada como quanto resultante de uma ação somatória de dois ou mais destes fatores.

1.2 JUSTIFICATIVA:

No homem, os efeitos do treinamento físico sobre o estado funcional e contrátil do miocárdio são extensamente descritos na literatura (EHSANI *et al.*, 1991, JIN *et al.*, 1999; STRATON *et al.*, 1994; MEDEIROS *et al.*, 2000). Tais efeitos são observados, tanto homem, independentemente de raça, sexo ou idade (WILMORE *et al.*, 2000; EHSANI *et al.*, 1991; LEVY *et al.*, 1993; OGAWA *et al.*, 1992; BOUVIER *et al.*, 2001) quanto em animais experimentais (SCHAIBLE *et al.*, 1979; STARNES *et al.*, 1983; JIN *et al.*, 1999; MEDEIROS *et al.*, 2000; WISLÓFF *et al.*, 2000; ALLEN *et al.*, 2001; KEMI *et al.*, 2002). Apesar dos efeitos serem bem evidenciados, as adaptações celulares e/ou mecânicas que promovem tais resultados ainda não estão bem esclarecidas. Assim, a compreensão das adaptações e mecanismos que levam a esta melhora no estado funcional e contrátil do miocárdio, auxiliam no entendimento das adaptações celulares que, possivelmente, refletem em alterações morfológicas e funcionais observadas após treinamento físico.

1.3 OBJETIVOS:

OBJETIVO GERAL

Descrever sobre as possíveis adaptações do músculo estriado cardíaco ao treinamento físico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Descrever os possíveis eventos mecânico e celular envolvidos com a melhora funcional do músculo cardíaco após treinamento físico.

2. REVISÃO DE LITERATURA:

O interesse sobre os efeitos do exercício sobre o miocárdio vem desde a metade do século XX. Estudos iniciais sugerem um aumento da contratilidade da musculatura cardíaca em animais submetidos a condicionamento físico (WHITEHORN & GRIMMENG, 1956; HEARN & GOLLNICK, 1961; CREWS & ALDINGER, 1967). Desde a década de 70, inúmeros trabalhos exploraram este tema na tentativa de elucidar as alterações celulares relacionadas melhora da função contrátil do miocárdio (PENKPARGKUL & SCHEUER, 1970; WILKERSON & EVONUK, 1971; BHAN & SCHEUER, 1972; SCHEUER *et al.*, 1974; BHAN, *et al.*, 1975; PENKPARGKUL *et al.*, 1977; MOLÉ, 1978; TIBBITS *et al.*, 1978; SCHAIBLE & SCHEUER, 1979).

O exercício é o único estressor biológico capaz de produzir com uniformidade alterações centrais e periféricas no aparelho cardiovascular (MOORE & PALMER, 1999). Entretanto, os mecanismos moleculares envolvidos em tais alterações, ainda não estão perfeitamente elucidados (MOORE & KORZICK, 1995; DELGADO *et al.*, 1999; DIFEE & NAGLE, 2003). Nesse sentido, três principais sistemas bioquímicos são considerados responsáveis pelas características funcionais do miocárdio: 1) sistema metabólico; 2) sistema contrátil e 3) sistemas regulatórios do Ca^{2+} (BALDWIN, 1985; TIBBITS *et al.*, 1989; LAUGHLIN *et al.*, 1991). O presente estudo realiza uma revisão bibliográfica objetivando focar as possíveis adaptações celulares que podem contribuir para a ocorrência de alterações morfológicas e funcionais observadas no coração normal. Dentre estes, estaremos revendo possíveis adaptações relacionadas ao sistema cardíaco contrátil e aos sistemas regulatórios do Ca^{2+} .

2.1 INICIO DOS TRABALHOS, FUNÇÃO CONTRÁTIL E BIOQUÍMICA

O treinamento físico em endurance tem demonstrado um aumento na performance cardíaca tanto em humanos quanto em animais experimentais (SCHAIBLE *et al.*, 1979; STARNES *et al.*, 1983; EHSANI *et al.*, 1991; STRATON *et al.*, 1994; JIN *et al.*, 1999; MEDEIROS *et al.*, 2000; WISLØFF *et al.*, 2000; ALLEN *et al.*, 2001; KEMI *et al.*, 2002). Uma das principais adaptações nesse tipo de

treinamento é a geração de um aumento do débito cardíaco. Tal adaptação tem sido atribuída a: a) ao mecanismo de Frank-Starling resultante de um aumento do volume diastólico final; b) hipertrofia cardíaca; c) um aumento na contratilidade cardíaca e diminuição do volume sistólico final ou; d) uma combinação de todos esses fatores (CREWS & ALDINGER, 1967; JIN *et al.*, 1999; WISLÓFF *et al.*, 2000).

Ao longo das décadas de 60 e 70 pesquisas focaram na relação entre a atividade da ATPase miosínica e a performance cardíaca. Condições que demonstraram afetar a contratilidade miocárdica também demonstraram alterar a atividade da ATPase actomiosínica ou miosínica. Como resultado desses estudos, as atenções ficaram focadas nos efeitos do treinamento físico sobre a atividade da ATPase miofibrilar cardíaca (BARANY, 1967; KATZ, 1970; GOODKIND *et al.*, 1970).

Nesse sentido, já em 1961, HEARN & GOLLNICK, relatavam significativa elevação na atividade da ATPase no músculo cardíaco de animais treinados *versus* controles. Ao se avaliar o efeito do tipo de treinamento sobre a atividade da ATPase, os resultados mostraram uma elevação significativa tanto no treinamento moderado, quanto no treinamento exaustivo de natação (WILKERSON & EVONUK, 1971). Resultados semelhantes também foram descritos por BHAN & SCHEUER, 1972, onde a elevação na atividade da ATPase foi detectada em grupos de animais após treinamento moderado de natação com duração de 6 a 8 semanas, sendo que um aumento maior foi encontrado no grupo submetido a treinamento exaustivo de natação de 8 semanas. Tais resultados sugerem uma dependência da duração e da intensidade do estímulo.

Por outro lado, resultados controversos foram encontrados com treinamento de endurance em corrida, onde foram observados discretos aumentos na ATPase miosínica (BALDWIN *et al.*, 1975, 1977; TIBBITS *et al.*, 1978). Em 1981, TIBBITS *et al.*, submetem animais a treinamento de endurance de corrida, e observaram a ocorrência de melhora na função cardíaca, porém, sem um concomitante aumento na atividade ATPásica. Tais resultados são justificados face à dificuldade de comparação entre a intensidade do estresse provocado pelos protocolos experimentais (corrida vs natação), que por serem qualitativamente diferentes produziriam efeitos cardiovasculares não comparáveis (SCHAIBLE & SCHEUER, 1979; FLAIM *et al.*, 1979; TIBBITS *et al.*, 1981).

Assim sendo, aumentos da atividade da ATPase miosínica em animais submetidos a treinamento de corrida foram observados apenas em treinamento de alta intensidade (BALDWIN *et al.*, 1977). Tal fato sugere que apenas os protocolos de endurance de natação seriam capazes de produzir modificações na ATPase miosínica (TIBBITS *et al.*, 1978; FLAIM *et al.*, 1979; TIBBITS *et al.* 1981).

2.2 EXERCÍCIO E FUNÇÃO MECÂNICA DO MIOCÁRDIO

Dessa forma, podemos observar que apesar de vários trabalhos da década de 70 terem demonstrado um aumento da atividade da ATPase miosínica em consequência de treinamento físico, poucos são os que correlacionaram seu aumento com a melhora da contratilidade cardíaca (TIBBITS *et al.*, 1978). Os primeiros trabalhos experimentais correlacionando a função mecânica do miocárdio e o exercício, já haviam sido realizados em preparações de coração "*in situ*", quando foram avaliados aspectos hemodinâmicos tais como a tensão sistólica isométrica e a relação pressão-tempo (Dp/dt) (CREWS & ALDINGER, 1967; PENKPARGKUL & SCHEUER, 1970).

Mais tarde, objetivando esclarecer como o exercício poderia afetar a atividade mecânica do coração, pesquisadores avaliaram, em preparações de músculos papilares de ratos, entre outros parâmetros, a tensão máxima, o tempo de ativação e o tempo de relaxamento (TIBBITS *et al.*, 1978; MOLÉ, 1978). Assim, trabalhos utilizando os mesmos protocolos empregados até então, indicaram uma melhora na força de contração cardíaca e, tal efeito foi atribuído a um possível aumento na interação entre as pontes cruzadas (MOLÉ, 1978; Nutter *et al.*, 1981).

Em outros estudos, pesquisadores utilizando músculos papilares de ratos treinados em corrida, demonstraram não haver alteração tanto no tempo de ativação como no tempo de relaxamento. Entretanto, encontraram aumento significativo na tensão máxima desenvolvida (TIBBITS *et al.*, 1978).

Tais resultados foram justificados pelos autores como devidos a uma não necessária alteração na atividade da ATPase miosínica mas, possivelmente, devido a uma maior quantidade de íons Ca^{2+} disponibilizados para o aparato contrátil (TIBBITS *et al.*, 1978).

Assim, apesar dos diferentes protocolos de treinamento utilizados, natação e

corrida (MOLÉ,1978; TIBBITS *et al.*,1978) respectivamente, ambos os pesquisadores observaram aumento significativo na tensão máxima desenvolvida.

A partir desses trabalhos, os estudos relacionando exercício com melhora na performance cardíaca passaram a dar maior enfoque na compartimentalização e nos movimentos do íon Ca^{2+} .

2.3 EXERCÍCIO E MOVIMENTOS DO Ca^{2+}

Anteriormente, já abordamos o estudo sobre a compartimentalização e os movimentos do íon Ca^{2+} . As pesquisas que se seguiram, objetivaram estudar os efeitos do exercício sobre o retículo sarcoplasmático bem como sobre o sarcolema.

2.3.1 RETÍCULO SARCOPLASMÁTICO

FRANZINI-ARMSTRONG, 1970; NAKAJIME & ENDO, 1973; E FABIATO, 1983; demonstraram a liberação do Ca^{2+} induzido por despolarização do RS. Dessa forma, tanto o Ca^{2+} associado ao sarcolema como o Ca^{2+} armazenado no RS têm grande implicação no processo de acoplamento-contração do músculo cardíaco. Tanto assim, que quando o mecanismo de transporte de Ca^{2+} está comprometido, pode-se evidenciar possíveis processos patológicos tais como insuficiência cardíaca, hipertrofia, e isquemia (LINDENMAYER,1971; SULAKHE & DHALLA,1971). Em paralelo a tais descobertas, pesquisadores demonstraram uma melhora da função contrátil em animais submetidos a treinamento físico, o que possivelmente indicava uma provável correlação entre força desenvolvida e Ca^{2+} (WHITEHORN & GRIMMENG, 1956; HEARN & GOLLNICK, 1961; CREWS & ALDINGER, 1967).

Mais tarde, pesquisadores avaliaram os efeitos sobre o transporte e o armazenamento de Ca^{2+} pelo RS em ratos submetidos a treinamento com natação (PENPARGKUL *et al.*1977). Tais resultados mostraram melhora significativa nos animais treinados, tanto em relação ao armazenamento quanto ao transporte de Ca^{2+} pelo RS.

Resultados controversos foram encontrados em outros mamíferos (gatos) (SORDAHL *et al.*, 1977), todavia, o incremento do transporte e armazenamento do Ca^{2+} foi confirmado em estudos com ratos submetidos a treinamento intervalado de corrida (PENPARGKUL *et al.*,1980).

2.3.2 SARCOLEMA

TIBBITS *et al*, 1978, postularam que o aumento da tensão observada em animais submetidos a treinamento seria em consequência a adaptações no sarcolema que, de alguma forma, teria aumentado o transporte de Ca^{2+} . Esse efeito promoveria um aumento na concentração de Ca^{2+} no meio intracelular. Tal proposição foi confirmada, por este mesmo grupo, ao avaliarem a composição do sarcolema de animais treinados, onde observaram um aumento de até 50% na fosfatidil serina, um fosfolipídio responsável pelo transporte cálcio sarcolemal (TIBBITS *et al*, 1980).

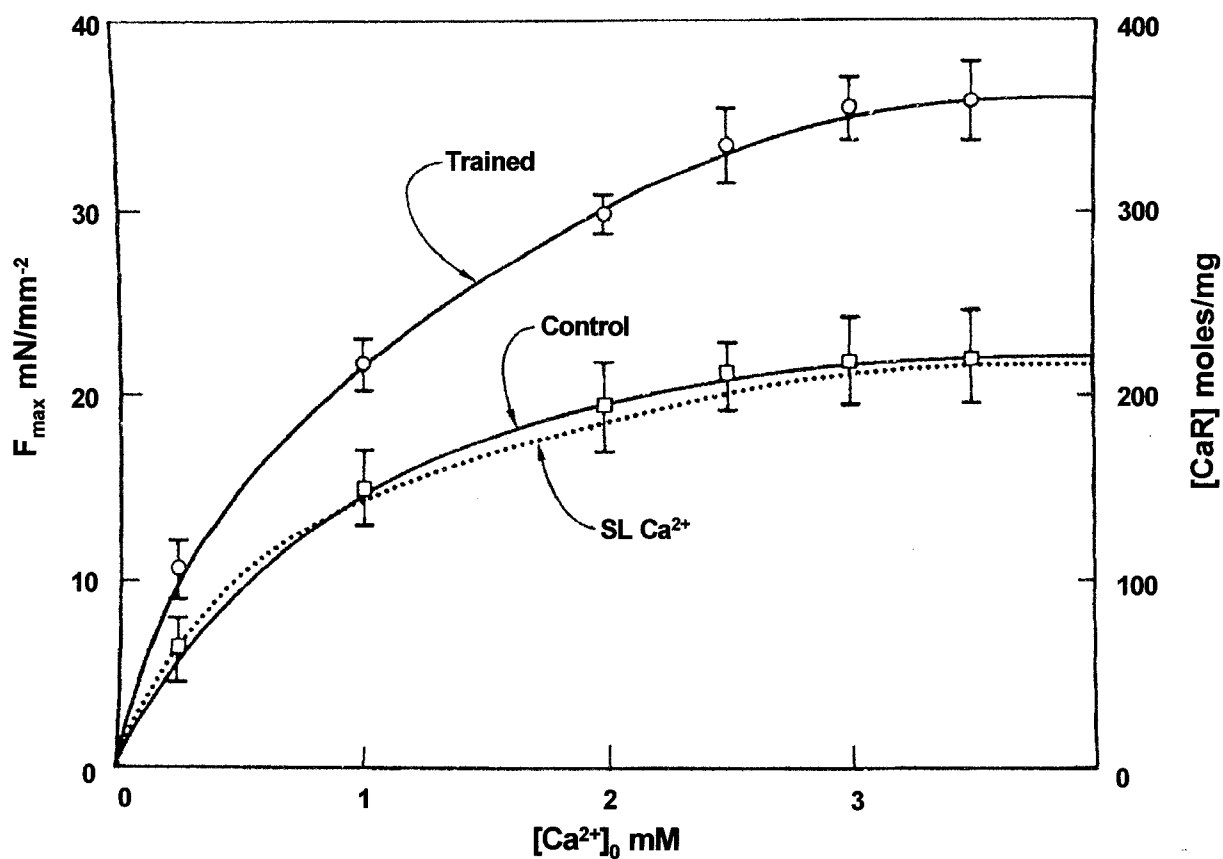
Maiores evidências sobre esta adaptação foram descritas em preparações com músculos papilares onde a função contrátil dos músculos de animais treinados foi maior em diferentes concentrações de Ca^{2+} (TIBBITS *et al*, 1981). A Figura 7 evidencia um aumento na magnitude da resposta contrátil em diferentes concentrações de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]$).

Todavia, dados controversos são encontrados na literatura, onde alterações na composição e função do sarcolema não foram observados apesar da elevada atividade da bomba sarcolemal de Ca^{2+} (PIERCE *et al*. 1989). Resultados tão diferentes podem ser justificados pela já citada diferença entre os protocolos de natação e corrida bem como, possivelmente, pela variação na técnica para se isolar o sarcolema.

Considerando o papel do RS dentro do processo de *calcium-induced-calcium release* (FABIATO, 1983) pode-se prever que a limitação dos trabalhos acima discutidos pode ser devida a dificuldade em se isolar a influência do RS em suas preparações.

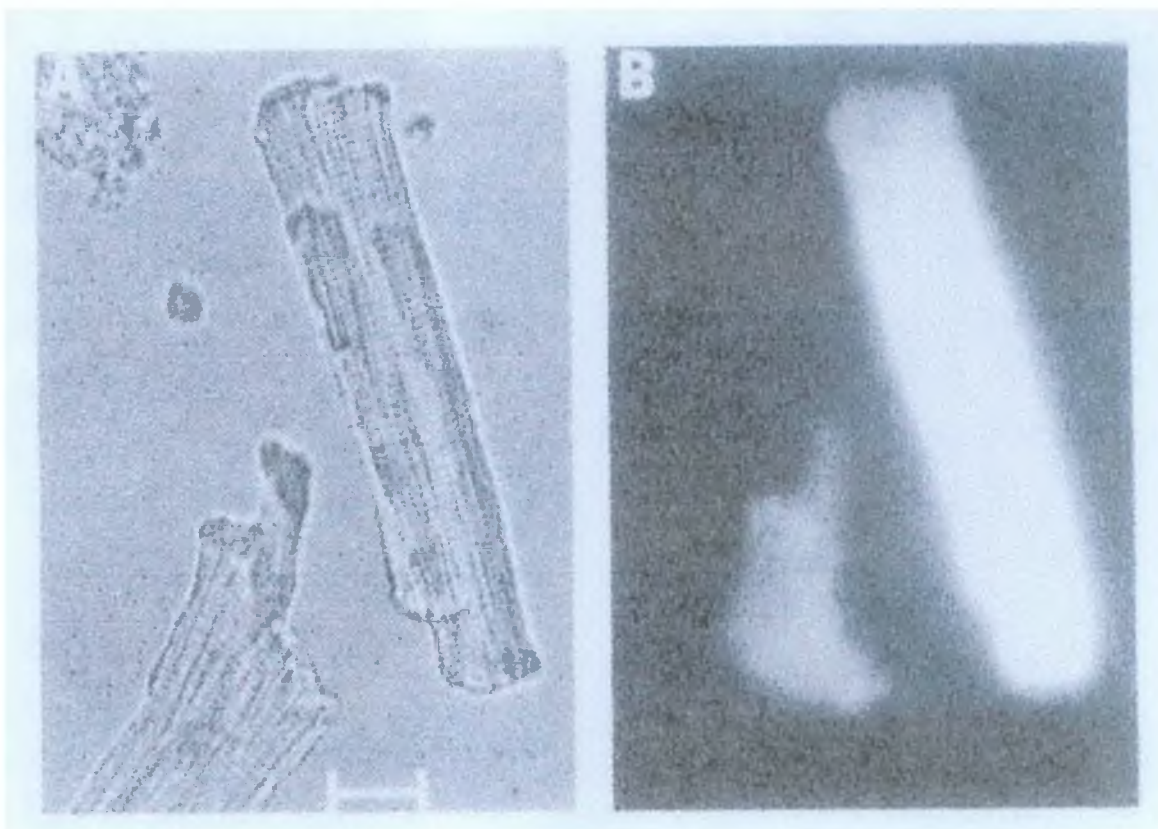
Dessa forma, seria óbvio deduzir que o próximo passo seria trabalhar com *skinned cells* ou células desmembranadas (sem o sarcolema), obtidas a partir de miócitos isolados por digestão enzimática do músculo ventricular. A Figura 8 mostra uma fotomicrografia de miócitos cardíacos isolados.

FIGURA 7 - RELAÇÃO DE FORÇA E $[Ca^{2+}]$ ENTRE ANIMAIS CONTROLE E TREINADOS



FONTE: TIBBITIS, G.F., BARNARD, R.J., BALDWIN, K.M., CUGALJ, N., ROBERTS, N.K. Influence of exercise on excitation-contraction coupling in rat myocardium. Am. J. Physiol., vol. 240 n^o9, pg. H474, 1981.

NOTA: Efeitos do treinamento físico sobre a função contrátil de músculo papilar em várias concentrações de cálcio ($[Ca^{2+}]$) e a comparação com a ligação com o Ca^{2+} sarcolemal.

FIGURA 8 – FOTOMICROGRAFIA DE MIÓCITOS VENTRICULARES

FONTE: LAUGHLIN, M.H; SCHAEFER, M.E; STUREK, **Effect of exercise training on intracellular free Ca^{2+} transients in ventricular myocytes of rats.** J. Appl. Physiol. Vol. 73, nº4, pg. 1442, 1992.

NOTA: Fotomicrografia de 3 miócitos cardíacos. (A) A célula em forma de bastonete representa o tipo de células usadas para medição do Ca^{2+} transiente e a contratilidade. (B) imagem fluorescente da mesma célula quando a célula com fura-2 é excitada por luz na faixa de 380-nm.

2.4 MIOCITOS ISOLADOS - ASPECTOS MECÂNICOS E INFLUÊNCIA DO Ca^{2+}

O propósito dos trabalhos desenvolvidos com a técnica de *skinned cells*, ou seja, sem sarcolema, é determinar os possíveis efeitos do íon Ca^{2+} nos miócitos sem influência dos elementos elásticos.

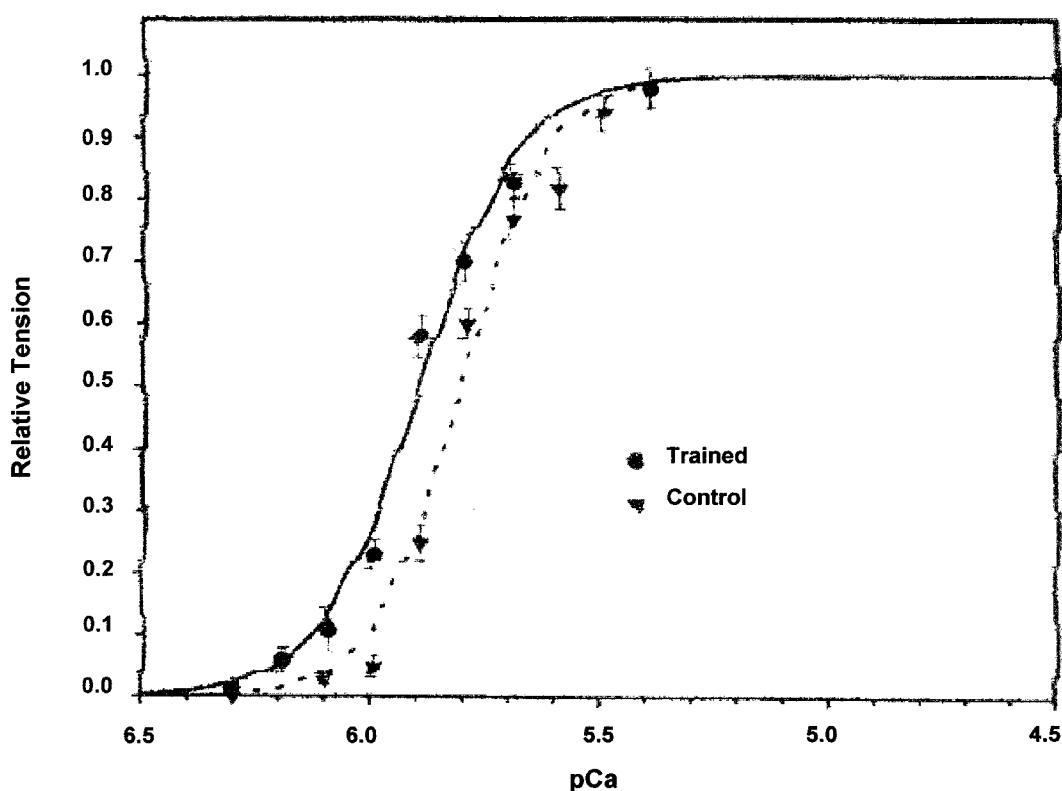
Contrário ao que até então vinha sendo sugerido (TIBBITS, 1981), LAUGHLIN *et al.*, 1992, não observaram aumento na sensibilidade ao Ca^{2+} em miócitos ventriculares de ratos submetidos a treinamento. Todavia, em 1993, MOORE *et al.*, observaram aumento na sensibilidade ao Ca^{2+} em ratos treinados em endurance. A diferença nos resultados apresentados por esses pode ser justificada pela técnica de fluorescência e pela estimulação utilizada (PALMER *et al.*, 1998).

Por outro lado, trabalhos demonstram que alterações de frequência e concentração de Ca^{2+} poderiam influir sobre a sensibilidade ao Ca^{2+} . Tanto assim, que LAUGHLIN *et al.*, 1992; MOORE *et al.*, 1993 e WISLØFF *et al.* 2001; ao utilizarem estimulação de 2hz e concentração de 2 mM, não evidenciaram diferenças na sensibilidade ao Ca^{2+} entre animais treinados e não-treinados. Em contrapartida, quando foram utilizadas outras frequências e concentrações de Ca^{2+} , foi significativa a diferença na força desenvolvida (MOORE *et al.*, 199; WISLØFF *et al.* 2001).

Trazendo maiores informações sobre as adaptações dos diferentes tipos de treinamento pesquisadores publicaram um trabalho com treinamento intervalado de alta intensidade. Seus resultados indicaram melhora significativa da sensibilidade ao Ca^{2+} , com encurtamento máximo dos miócitos para concentrações de 0,6 mM; 1,8 mM e 5 mM, respectivamente (XUE-QIAN *et al.*, 2001). Nesse mesmo estudo, os pesquisadores demonstraram que o tempo de relaxamento era maior nos animais treinados. Com indicação de que a melhoria da contratilidade seria em função do aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} , alguns pesquisadores investigaram esta hipótese (WISLØFF *et al.* 2001; DIFFE *et al.*, 2001).

Empregando outra metodologia para verificação do aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} , DIFFE *et al.*, 2003a, observaram, dentro de uma mesma concentração de Ca^{2+} , aumento da tensão gerada em animais treinados comparativamente aos não treinados. A Figura 9 mostra a relação entre a tensão gerada e a concentração de Ca^{2+} .

FIGURA 9 - RELAÇÃO TENSÃO $[Ca^{2+}]$ TREINADOS vs CONTROLES



FONTE: DIFFEE,G.M ; SERVENSEN,E.A. ; TITUS,M.M. **Exercise training increases the Ca^{2+} sensitivity of tension in rat cardiac myocytes.** J. App. Physiol., vol.91, pg. 313, 2001.

NOTA: A relação entre concentração de Ca^{2+} e tensão gerada em miócitos desmembrados. Os dados foram obtidos de 70 miócitos de animais. Os dados da tensão relativa para cada pCa constituem a média de todos os miócitos de cada grupo e são apresentados como média \pm DP. Os miócitos dos animais treinados mostraram um desvio da curva para a esquerda nas relações de tensão-pCa em comparação aos miócitos de animais controle.

Em outro trabalho, ao analisarem os efeitos mecânicos sobre os miócitos de ratos treinados, esses pesquisadores demonstraram a ocorrência de um aumento tanto no tempo de ativação como na tensão gerada dentro de uma mesma concentração de Ca^{2+} (DIFFEE *et al.*, 2003b). Tais resultados estão em concordância com os mesmos parâmetros analisados e obtidos em trabalhos anteriores em preparações de músculo intactos (MOLÈ, 1978).

Dentre as possíveis justificativas para este aumento de força, diferentes autores hipotetizaram serem devidos a um aumento na expressão da cadeia pesada da miosina (DIFFEE *et al.*, 2003c). Alguns trabalhos têm confirmado uma possível correlação entre os efeitos do exercício físico com o aumento da expressão da cadeia pesada da miosina (FARRAR *et al.*, 1988; JIN *et al.*, 2000; DIFFEE *et al.*, 2003c). Todavia, maiores estudos ainda são necessários para a confirmação ou não dessas observações.

3. METODOLOGIA:

Inicialmente será feita uma abordagem sobre a fisiologia das principais estruturas envolvidas no processo de acoplamento-excitação-contração do músculo estriado cardíaco. Na seqüência, utilizando-se de uma revisão bibliográfica, avaliaremos os possíveis eventos mecânicos e celulares envolvidos na melhoria do estado funcional e contrátil do músculo estriado cardíaco submetido a exercícios físicos.

4. CONCLUSÃO:

Seguindo uma linha cronológica de publicação dos trabalhos mostramos como se constituiu a construção do conhecimento em relação aos efeitos do treinamento físico sobre os aspectos mecânicos e celulares do músculo estriado cardíaco.

É consenso de que o treinamento físico induz uma melhor contratilidade tanto em animais quanto em seres humanos. Todavia, os mecanismos aí envolvidos não são conclusivos. Embora estudos sugerirem alteração no transporte de Ca^{2+} no sarcolema (TIBBTIS, 1978, 1981), não houve mensuração que o treinamento induz aumento do influxo de Ca^{2+} . Alguns trabalhos encontraram adaptações em relação ao transporte e ligação do Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático (PENPARGKUL *et al.*, 1977), resultados que não foram observados quando estímulo utilizado fora corrida (SORDAHL *et al.*, 1977). E por fim resultados recentes indicam aumento da tensão no miocárdio treinado sem a ocorrência de mudanças na $[Ca^{2+}]$ intracelular, ou seja aumento da sensibilidade ao Ca^{2+} (DIFFEE *et al.* 2003 a,b).

Podemos dizer que os resultados dos trabalhos que investigam os mecanismos celulares e moleculares que levam a melhoria da contratilidade no músculo estriado cardíaco treinado são inconclusivos e controversos. As perspectivas atuais levam a crer, que um potencial mecanismo para estas alterações, sejam conferida a alteração na maquinaria contrátil da célula do miocárdio. Sabemos que isoformas das proteínas cardíacas (meromiosina de cadeia pesada e leve, Troponina I, C e T) são alteradas com em condições patológicas (MORANO *et al.*, 1994; AKELLA *et al.*, 1995; ANDERSON *et al.*, 1995), sendo os efeitos do treinamento físico desconhecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALMERS, W.; SIRTILING, C. Distribution of proteins over animal cell membranes. **Journal of Membrane Biology**, vol. 77, pg. 169-186, 1984.

ALLEN, L.D.; HARRISON, C.B.; MAASS, A.; BELL, L.M.; BYRNES, C.W.; LEINWAND, A.L. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. **J. Appl. Physiol.** vol. 90, pg. 1900-1908, 2000.

BERS, D.M.; STIFFEL, V. M. Ratio of ryanodine to dihydropyridine receptors in cardiac and skeletal muscle and implications for E-C coupling. **Am. J. Physiol.**, vol. 264, pg. C1587-C1593, 1993.

BERS, D.M. Ca^{2+} influx and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release in cardiac muscle activation during post-rest recovery. **Am. J. Physiol.**, vol. 248, pg. H366-H381, 1985.

BERS, D.M. Cardiac excitation-contraction coupling. **NATURE**, vol. 415, pg. 198-205, 2002.

BETT, G.; NOBLE, D.; NOBLE, Y.; EARM, Y.; HO, W.K.; SO, I.S. Na-Ca exchange current during the cardiac action potential. **Ad. Exper. Med. Bio.**, vol. 311, pg. 453-454, 1992.

BHAN, A.K.; SCHEUER, J. Effects of physical training on cardiac actomyosin adenosine triphosphatase activity. **Am. J. Physiol.**, vol. 223, nº6, december, 1972.

BOUVIER, F.; SALTIN, B.; NEJAT, M.; JENSEN-URSTAD, M. Left ventricular function and perfusion in elderly endurance athletes. **Med. Sci. Sport. Exerc.** vol. 33, nº 5, 735-740, 2001.

CAMPOS DE CARVALHO, A.C. Potassium concentration influences the gating of K^+ channels from sarcoplasmic reticulum. **Braz. J. Med. Bio. Res.**, vol. 22, nº 1, pg. 107-109, 1989.

CARAFOLI, E. Calcium pump of the plasma membrane. **Physiol. Rev.**, vol. 71, pg 129-153, 1991.

CARMELIET, E. Cardiac ionic current and acute ischemia: From channels to arrhythmias. **Physiol. Rev.**, vol. 79, pg. 917-1017, 1999.

COOKE, R. Actomyosin interaction in striated muscle. **Physiol. Rev.** Vol77, pg. 671-697, 1997.

CREWS, J.; ALDINGER, E.E. Effect of chronic exercise on myocardial function. **Am. Heart J.**, vol. 74, october, pg. 536-542, 1967.

CURRY, F.E. Determinants of capillary permeability: a review of mechanisms based on single capillary studies in the frog. **Cir. Res.**, vol. 59, pg 367-380, 1986.

DIFEE, G.M ; SERVENSEN, E.A. ; TITUS, M.M. Exercise training increases the Ca^{2+} sensitivity of tension in rat cardiac myocytes. **J. App. Physiol.**, vol. 91, pg. 309-315, 2001a.

DIFEE, G.M ; NAGLE, D.F. Exercise training alters length dependence of contractile properties in rat myocardium. **J. Appl. Physiol.**, vol. 94, pg. 1137-1144, 2003 b.

DIFEE, G.M ; SEVERSEN, E.A. Microarray expression analysis of effects of exercise training reveals an increase in atrial myosin light chain in rat ventricle. **Am. J. Physiol. Heart Cir. Physiol.**, vol. 284, pg. H830-H837, 2003.

EHSANI, A.A; OGAWA, T; MILLER, T.R; SPINA, R.J.; JILKA, S.M. Exercise training improves left ventricular systolic function in older men. **Circulation**; vol. 83, pg. 96-103, 1991.

ENDO, M.; TANAKA, M.; OGAWA, M. Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibers. **Nature**, vol. 228, pg. 34, 1970.

FABIATO, A.; FABIATO, F. Calcium-induced release of calcium from sarcoplasmic reticulum of skinned cells from adult human, dog, cat, rabbit, rat, and frog hearts and from fetal and newborn rat ventricles. **Ann. NY Acad. Sci.**, vol. 307, pg. 491-522, 1978

FATT, P.; KATZ, B. The electrical properties of crustacean muscle fibers. **J. Physiol.**, vol. 120, pg. 171-204, 1953.

FARRAR, R.P. STARNES, J. W.; CARTEE, G.D. effect of exercise training on cardiac isozyme composition during the aging process. **J. Appl. Physiol.**, vol. 91, pg. 309-315, 2001.

FLAIM, S.F.; MINTEER, W.J.; CLARK, D.P.; ZELIS, R. Cardiovascular response to acute aquatic and treadmill exercise in the untrained rat. **J. Appl. Physiol.**, vol. 46, nº 2, pg. 302-308, 1979.

FLEG, J.L.; SHAPIRO, E.P.; O'CONNOR, F.; TAUBE, J.; GOLDBERG, A.P.; LAKATTA, E. G. Left ventricular diastolic filling performance in older male athletes. **JAMA**, vol. 273: p1371-1375, 1995.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. Studies of triad. Structure of the junction in frog twitch fibers. **J. Cell. Bio.**, vol. 47, pg. 488-499, 1970.

HURST, J.W. **O Coração**. 6ª Edição, Guanabara, 1990.

ISLÓFF, U.; HELGERUD, J.; KEMI, L.O.; ELLINGSEN, Ø. Intensity-controlled treadmill running in rats: Vo_{2max} and cardiac hypertrophy. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, vol. 280, H1301-H1310, 2001.

JIN, H.; YANG, R.; LI, W.; LU, H.; RYAN, M.A.; OGASAWARA, K.A.; PEBORGH, V.J.; PAONI, F.N. Effects of exercise training on cardiac function gene expression, and apoptosis in rats. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, v. 279: p. H2994-H3002, 2000.

KATZ,A.M. **Physiology of the Heart**. 2 ed, Raven Press, pg.20,1992.

KEMI,J.O.; LOENNECHEM,P.J; WISLØFF,U; ELLINGSEN,Ø. Intensity-controlled treadmill running in mice:cardiac and skeletal muscle hypertrophy. **J. Appl. Physiol**, vol 93, 1301-1309,2002.

LEVIN, K.R.;PAGE,E. Quantitative studies on plasmalemmal folds and caveolae of rabbit ventricular myocardial cells. **Cir. Res.**, vol. 46, pg. 244-255, 1980.

LEVINE,,S.N; KINASEWITZ,G.T. Exercise conditioning increases rat myocardial calcium uptake. **J. App. Physiol.**, vol.60,nº5, pg. 1673-1679,1986.

LEVY,W.C; CERQUEIRA,M.D; ABRASS,I.B.; SCHWARTZ,R.S; STRATTON,J.R. Endurance exercise training augments diastolic filling at rest and during exercise in healthy young and older men. **Circulation** 1993;88:116-126.

MALHOTRA, A.; BHAN,A.; SCHEUER,J. Cardiac actomyosin ATPase activity after prolonged physical conditioning and deconditioning. **Am. J. Physiol.**,vol. 230,nº6, 1976.

MEDEIROS,A.; GIANOLLA,R.M; KALIL,L.M.P; BACURAU,R.F.P; ROSA,L.F.B.C; NEGRÃO,C.E; BRUM,P.C. Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. **Rev. Paul. Educ.**, v.14,n 1: p 7-15,jan/jun, 2000.

MOLÉ, P.A. Increased contractile potential of papillary muscles from exercise-trained rat hearts. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, vol 3(4): h421-h425, 1978.

MOORE,R.L.; PALMER,B.M. Exercise training and cellular adaptations of normal and diseased hearts. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, vol 27,1999.

NAKAJIME,M; ENDO,M. Release of calcium induced by depolarization of Sarcoplasmic Reticulum membrane. **Nature**, vol.246, pg.216, 1973.

OGAWA,T.; SPINA,R.J.; MARTIN III,W.H; KOHRT,W.M; SCHECHTMAN,K.B.; HOLLOSZY,J.O.; EHSANI,A.A.. Effects of aging, sex and physical training on cardiovascular responses to exercise. **Circulation**, vol.86,p.494-503, 1992.

OPIE,L.H. **The Heart. Physiology, from cell to circulation.**3ª Edição. Lippincott Williams&Wilkins,1998.

PAGE,E. Quantitative ultrastructural analysis in cardiac membrane physiology. **Am. J. Physiol.**, vol 235,pg. C147-158, 1978.

PENPARGKUL,S. ; REPKE, D.I. ; KATZ, A.M; SCHEUER,J. Effect physical training on calcium transport by rat cardiac sarcoplasmic reticulum. **Circul. Res.**, vol.40, nº 2,pg. 134-138,1977.

PENPARGKUL,S.; SCHEUER,J. The effect of physical training upon the mechanical and metabolic performance of the rat heart. **The J. Clin. Invest.** Vol. 49, pg.1859-1867,1970

RODEN, D.M. Structure and function of cardiac sodium and potassium channels. **Am. J. Physiol.**, vol. 42, pg. H511-H525, 1997.

SCALES, D.J. Aspects of the mammalian cardiac sarcotubular system revealed by freeze-fracture electron microscopy. **J. Mol. Cell Cardiol.**, vol. 13, pg. 373-380, 1981.

SCHAIBLE,T ; SCHEUER, J. Effects of physical training by running or swimming on ventricular performance of rats hearts. **J. Appl. Physiol.** ,vol. 46, nº4, pg. 854-860,1979.

SCHAIBLE,F.T; SCHEUER,J. Effects of physical training by running or swimming on ventricular performance of rat hearts. **J. Appl. Physiol.** vol. 46, nº4,854-860,1979.

SCHAIRER,J.R.; STEIN,P.D; KETEVIAN,S.; FEDEL.F; EHRMAN,J.; ALAM,M.; SHAW,T. Left Ventricular Responses to Submaximal Exercise in Endurance- Trained

Athletes and Sedentary Adults. **Am. J. Cardiol**, vol 70, pg 930-933, 1992.

SCHIAFFIFINO,S; REGGIANI,C.G. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. **Phyol. Rev.** , vol. 76, pg. 371-423,1996.

SIECK,G.C.; REGNIER, M. Plasticity in Skeletal, Cardiac, and Smooth Muscle Inveted review: Plasticity and ernergetic demands of contraction in skletal and cardiac muscle. **J. Appl. Physiol.**, vol. 90, pg. 1158-1164, 2001.

SJÖSTRAND, F.S. The ultrastruture of the intercalated disc of frog, mouse and guinea pig cardiac muscle. **J. Ultra. Res.**, vol. 1, pg. 271-287, 1958

SOLARO,R,J.Troponin and tropomyisin – proteins that switch on and tune in the activity of crdiac myofilaments . **Cir. Res.**, vol. 83, pg. 471-480, 1998.

STARNES,W.J.; BEYER,E.R.; EDINGTON,W.D. Myocardial adaptations to endurance exercise in aged rats. **Am. J. Phyiol. Heart Cir. Physiol.**,vol. 14, H560-566,1983.

STRATTON,J.R.;LEVY,W.C;CERQUEIRA,M.D;SCHWARTZ,R.S;ABRASS,I.B. Cardiovascular responses to exercise. Effects of agging and exerxise training in heathy men. **Circulation**, vol.89, pg.1648-1655, 1994.

TIBBITIS,G.F., BARNARD,R.J., BALDWIN,K.M., CUGALJ,N., ROBERTS, N.K. Influence of exercise on ecitation-contractation coupling in rat myocardium. **Am. J. Physiol.**, vol. 240 n°9, pg. H472-H480,1981.

TIBBITS,G.F.; NAGATOMO,T.; SASAKI,M.B.; BARNARD,R.J. Cardiac sarcolemal: compositiom adaptation to exercise. **Science**, vol.213, pg. 1271-1273,1981.

TIBBTIS,G.F., KOZIOL,B.J., ROBERTS, N.K., BALDWIN,K.M., BARNARD,R.J. Adaptation of the rat myocardium to endurance training. **J. Appl. Physiol.**,vol. 44 n° 1, pg. 85-99,1978.

VASSALO,D.V; STEFANON,I. Contratilidade Miocárdica. In: **Fisiologia Médica**. Ed Guanabara-Koogan, Margarida de Melo Ayres, 2001, cap.34:368-391.

VASSALO,D.V. Acoplamento Excitação-Contração - Mecanismos e sua importância em Medicina. **Rev. Ass. Méd. RGS**,vol. 22, nº1, ,1978.

WHITEHORN,W.V; GIMMENGA, A.S. Effect of chronic exercise on properties of the myocardium. **J. Lab. Clin. Med.**, vol.48, 959, 1956.

WILKERSON,J.E. ; EVONUK, E. Changes in cardiac and skeletal muscle myosin ATPase activities after exercise. **J. Appl. Physiol.**, vol. 30, nº3, 1971.

WILMORE,J.H.; STANFORTH,P.R.; GAGNON,J.; RICE,T.; MANDELL,S.; LEON,A.S.; RAO,D.C.; SKINNER,J.S; BOUCHARD,C. Cardiac output and stroke volume changes with endurance training: The HERITAGE Family Study. **Med. Sci.Sports Exerc.**,vol.33,nº1,p. 99-106,2001.

WISLÓFF,U. ; LOENNECHEN, J. P. ; FALCK, G. ; BEISVAG,V. ;CURRIE, S. ; SMITH,G. ; ELLINGSEN,Ø. Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. **Cardiov. Res.** ,vol. 50, pg.495-508,2001.

ZHANG,X;SONG,J;CARL,L.L;SHI,W;QURESHI,TIAN,Q;CHEUNG,J.Y.Effects of sprint training on contractility and $[Ca^{2+}]$ transients in adult rat myocytes. **J. App.Physiol.** v.93: 1310-1317,2002.