

LUCIANA MARA PINTO KALIL

**Treinamento físico e frequência cardíaca em ratos idosos:
avaliação da frequência cardíaca intrínseca e da
modulação autonômica, do repouso ao exercício de
intensidade progressiva escalonada**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Doutora em Ciências

Área de Concentração: Cardiologia

Orientadora: Profa. Dra. Denise Tessariol Hachul

SÃO PAULO
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kalil, Luciana Mara Pinto

Treinamento físico e frequência cardíaca em ratos idosos : avaliação da frequência cardíaca intrínseca e da modulação autonômica, do repouso ao exercício de intensidade progressiva escalonada / Luciana Mara Pinto Kalil. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientadora: Denise Tessariol Hachul.

Descritores: 1.FREQÜÊNCIA CARDÍACA 2.SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO 3.SISTEMA NERVOSO PARASSIMPÁTICO 4.SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO 5.EXERCÍCIO 6.EXERCÍCIO/fisiologia 7.IDOSO 8.ENVELHECIMENTO 9.RATOS 10.ANTAGONISTAS ADRENÉRGICOS 11. ANTAGONISTAS MUSCARÍNICOS 12.AGONISTAS ADRENÉRGICOS 13.AGONISTAS MUSCARÍNICOS 14.NÓ SINOATRIAL 15.SIMPATOMIMÉTICOS

USP/FM/SBD-018/06

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao eterno e querido orientador e amigo, **Prof. Dr. Maurício Wajngarten**, que acreditou em mim e me apoiou, mesmo nos momentos mais difíceis; por todas as oportunidades oferecidas e, principalmente, pela amizade e pela orientação *paternal-like* que foi, além da elaboração deste estudo, um direcionamento da minha vida profissional.

À querida **Profa. Dra. Denise Tessariol Hachul**, por ter aceitado, tão pronta e dignamente, participar da conclusão deste trabalho, assumindo mui dedicadamente a minha orientação; pela paciência, compreensão e auxílios, valiosos e constantes, sem os quais seria impossível a finalização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas, que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste estudo, em especial:

Aos meus pais, irmãos e cunhados, pelo incansável apoio na conquista de meus ideais.

A Carlos Martingo da Costa, meu marido, por estar sempre presente, como companheiro e amigo, nas horas mais variadas, abrindo mão de muitos momentos de sono, convívio familiar e diversão para poder me ajudar na concretização deste objetivo.

A todos meus alunos, que auxiliaram no meu desenvolvimento, contribuindo para meu aprendizado e aplicação do conhecimento adquirido.

À Karime Kalil Machado que, dentre tantas possibilidades, optou por realizar sua iniciação científica executando parte do Projeto no qual esta tese está inserida, e ao amigo Dr. João Batista Serro-Azul que, com tanto carinho e dedicação, a orientou.

À Jussara, minha "general", pela dedicação, carinho e apoio incondicional.

Aos amigos Ana Paula, Jane, Guilherme, Pierri, Angela, Amit, Otávio, Thereza, Márcia Lucila, João Jorge, Chagas e Lia Marta... pelo apoio.

Aos Profs. Drs. Luis Gastão de Serro-Azul e Luiz Venere Décourt, pelo exemplo, orientação e incentivo.

Ao Prof. Dr. Antonio Franchini Ramires, grande incentivador da pesquisa de excelência no Brasil, pela oportunidade de realização deste estudo junto ao InCor.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão, mentor desta linha de estudo, por ter me iniciado no mundo da pesquisa, sendo um verdadeiro exemplo de consciência científica e crescimento junto à vida acadêmica.

À Profa. Dra. Patrícia Chakur Brum, sem cujo apoio total e irrestrito este estudo não se teria concretizado.

A Edson Dias Moreira, um exemplo de perseverança e amor à pesquisa, pelos ensinamentos, coleguismo e entusiasmo pelo nosso trabalho e sem cujos ratos teria sido impossível o término deste estudo.

Aos Prof. Drs. Antônio Carlos Pereira Barreto, Eduardo Moacyr Krieger e Giovanni Bellotti (*in memoriam*), exemplos de seriedade científica, pelas críticas e pelo constante apoio.

À Neusa, Eva e Juliana, que conduzem tão bem a tarefa árdua de secretariar um Curso de Pós-graduação, pela amizade e atenção ao escutarem pacientemente nossos problemas, compreendê-los e ainda, a seguir, orientarem tão bem com relação às soluções.

A Amilton, Marcelle e Júlia, pelos serviços de análise dos dados.

A todos os funcionários e colegas das Unidades de Cardiogeriatrics e de Bioengenharia, da Unidade de Hipertensão - Laboratório de Experimentação do Instituto do Coração do HCFMUSP, pelo carinho com que realizaram os mais diversos e incontáveis favores, especialmente: à Neide, pela paciência e carinho com que me ensinou as técnicas experimentais; ao Fumio, à Mara, à Márcia e à Katt, pelos *HELPS*; à Rosana, Elenice, Airton e Silvia, mais amigos do que propriamente secretários.

A todos os funcionários e colegas da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, pelo carinho com que também sempre realizaram os mais diversos e incontáveis favores, especialmente: aos colegas Lancha Jr., Cláudia Lúcia, Maria Urbana, Paulo e Newton, pela disposição em ceder seus equipamentos para coleta e análise de dados; à "Tia" Celina e à Deusuítia, pelo carinho com que cuidaram dos ratinhos estudados.

A todos os colegas pós-graduandos e docentes da Faculdade de Medicina, com quem tantos momentos de aprendizado, crescimento e luta para alcance dos objetivos foram divididos ao longo do período do Curso.

À Didia e Ruslana, pela eterna amizade.

A todos os amigos e colegas, enfim, que, pelo espaço físico ser tão restrito, não puderam estar aqui listados, a certeza de presença em meu coração.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ANEXOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	14
3 MATERIAL.....	16
4 MÉTODOS.....	19
4.1 Considerações sobre métodos de estudo.....	20
4.2 Cronograma experimental.....	27
4.3 Protocolo de Treinamento Físico.....	28
4.4 Protocolos experimentais.....	29
4.4.1 Experimentos realizados e variáveis estudadas	29
4.5 Descrição das técnicas e dos Experimentos.....	31
4.5.1 Técnica para implantação de eletrodos.....	31
4.5.2 Técnica para implantação de cânula venosa.....	32
4.5.3 Experimento 1 Estudo do comportamento da FC ao exercício físico dinâmico de intensidade progressiva escalonada.....	33
4.5.4 Experimento 2 Estudo da responsividade da FC a doses crescentes do agonista adrenérgico, isoproterenol, com o rato em repouso na gaiola.....	35
4.5.5 Experimento 3 Estudo da responsividade da FC a doses crescentes do agonista muscarínico, metacolina, com o rato em repouso na gaiola.....	36
4.5.6 Experimento 4 Estudo do comportamento da FC, determinação da FC sob ação da atropina, do EV, da FCI e do TS, em repouso, na esteira, e ao exercício dinâmico de intensidade progressiva escalonada.....	37
4.5.7 Experimento 5 Estudo do comportamento da FC, determinação da FC sob ação do propranolol, do ES, da FCI e do TV em repouso, na esteira, e ao exercício dinâmico de intensidade progressiva escalonada.....	39
5 ANÁLISE	
ESTATÍSTICA.....	41
5.1 Análises prévias à verificação do efeito do treinamento físico.....	42

5.2 Análise do efeito do treinamento físico sobre o comportamento: da frequência cardíaca, da frequência cardíaca intrínseca, da frequência cardíaca sob ação da atropina, do efeito vagal, do tônus vagal, da frequência cardíaca sob ação do propranolol, do efeito simpático e do tônus simpático, em repouso, prévio ao exercício, na esteira, e ao exercício físico dinâmico de intensidade progressiva escalonada.....	44
5.3 Análise do efeito do treinamento físico sobre a responsividade ao isoproterenol e à metacolina.....	45
6 RESULTADOS	46
6.1 Sumário dos resultados.....	48
6.1.1 Repouso.....	48
6.1.2 Exercício de Intensidade Progressiva.....	50
6.2 Efeito do treinamento físico sobre o comportamento da frequência cardíaca e da frequência cardíaca intrínseca durante o exercício.....	54
6.2.1 Frequência cardíaca controle.....	54
6.2.2 Frequência cardíaca intrínseca.....	56
6.3 Efeito do Treinamento físico sobre a atividade vagal para o coração (efeito vagal e tônus vagal).....	58
6.4 Efeito do treinamento físico sobre a atividade simpática para o coração (efeito simpático e tônus simpático).....	60
6.5 Efeito do treinamento físico sobre a frequência cardíaca em resposta a doses crescentes de Isoproterenol e Metacolina.....	64
6.5.1 Isoproterenol.....	64
6.5.2 Metacolina.....	66
7	
DISCUSSÃO	
.	68
7.1 Características da amostra.....	69
7.2 Considerações sobre os métodos.....	70
7.3 Principais achados.....	75
7.4 Frequência cardíaca de repouso.....	77
7.4.1 Frequência cardíaca de repouso e envelhecimento.....	78
7.4.1.1 Envelhecimento e determinantes da frequência cardíaca, frequência cardíaca intrínseca, tônus vagal e tônus simpático.....	80
7.4.2 Frequência cardíaca de repouso e treinamento físico.....	85
7.4.2.1 Mecanismos envolvidos na bradicardia de repouso com treinamento físico.....	88
7.4.2.2 Mecanismos não envolvidos na bradicardia de repouso.....	96
7.5 Frequência Cardíaca ao exercício.....	101
7.5.1 Adaptações ao envelhecimento.....	101

7.5.1 Treinamento físico e envelhecimento.....	103
7.5.3 Frequência cardíaca intrínseca e determinantes autonômicos da frequência cardíaca ao exercício submáximo, com o envelhecimento.....	107
7.5.4 Adaptações ao exercício de intensidade pgressiva.....	110
7.5.5 Mecanismos envolvidos na atenuação da frequência cardíaca ao exercício.....	113
7.6 Considerações Finais.....	120
8 CONCLUSÕES.....	122
9 ANEXOS.....	124
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	137

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AMP_{CICLICO}	Adenosina Monofosfato cíclica
β	beta
Ca²⁺	cálcio
bpm	batimentos por minuto
ES	Efeito Simpático
et al.	e outros
EV	Efeito Vagal
FC	Frequência Cardíaca
FCA	Frequência Cardíaca sob ação da Atropina
FCI	Frequência Cardíaca Intrínseca
FCP	Frequência Cardíaca sob ação de Propranolol
HR	Heart Rate
I	corrente iônica
I_f	corrente iônica ativada pela hiperpolarização
IHR	Intrinsic Heart Rate
I_{kr}	corrente retificadora lenta de K ⁺
i.p.	intraperitoneal
i.v.	endovenoso
kg	quilograma
m	metro
m.min⁻¹	metro por minuto
mg	miligrama
mg.kg⁻¹	miligrama por quilograma
min	minuto
mL	mililitro

mm	milímetro
<i>n</i>	número de amostragem
Na⁺Ca²⁺	sódio e cálcio
NaCl	cloreto de sódio
ng	nanograma
P	nível de significância estatística (probabilidade de erro)
p.	página
r	coeficiente de correlação estatística
RS	Rato Sedentário
RT	Rato Treinado
S	Ratos Sedentários-controles
SD	desvio padrão da média
SE	Sympathetic Effect
sec.	second
seg	segundo
ST	Sympathetic Tone
T	Ratos Treinados
TF	Treinamento Físico
TS	Tônus Simpático
TV	Tônus Vagal
µg	microgramas
VE	Vagal Effect
VT	Vagal Tone
vs.	versus

LISTA DE ANEXOS

Anexo A –	Dados individuais de idade e massa corporal, dos animais incluídos nos grupos Sedentário e Treinado.....	125
Anexo B –	Frequência cardíaca controle, de repouso na esteira, observada nos Experimentos 4 e 5, nos 15 minutos prévios à injeção de fármacos, e frequência cardíaca média dos experimentos, nos grupos Sedentário e Treinado.....	126
Anexo C –	Frequência cardíaca controle, ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado.....	127
Anexo D –	Frequência cardíaca intrínseca observada no repouso e durante o exercício nos Experimentos 4 e 5, e média dos dois experimentos, nos grupos Sedentário e Treinado.....	128
Anexo E –	Frequência cardíaca sob ação da atropina e efeito vagal, em repouso e ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado.....	129
Anexo F –	Tônus vagal em repouso e ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado.....	130
Anexo G –	Frequência cardíaca sob ação do propranolol e efeito simpático, em repouso, nos grupos Sedentário e Treinado.....	131
Anexo H –	Tônus simpático, em repouso e ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado.....	132
Anexo I –	Frequência cardíaca no pico de ação de oito doses crescentes de isoproterenol, no Experimento 2, nos grupos Sedentário e Treinado.....	133
Anexo J –	Variações da frequência cardíaca em resposta a oito doses crescentes de isoproterenol, no Experimento 2, nos grupos Sedentário e Treinado.....	134
Anexo K –	Frequência cardíaca a quatro doses crescentes de metacolina, no Experimento 3, nos grupos Sedentário e Treinado.....	135
Anexo L –	Variações da frequência cardíaca observadas em resposta a quatro doses crescentes de metacolina, no Experimento 3, nos grupos Sedentário e Treinado.....	136

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Sumário dos resultados, na condição de repouso volitivo, na esteira (FC, FCI, TV e TS).....	49
Figura 2 –	Efeito vagal, efeito simpático e frequência cardíaca controle, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	51
Figura 3 –	Tônus vagal, tônus simpático e frequência cardíaca intrínseca em repouso volitivo (15 segundos prévios ao exercício), na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	53
Figura 4 –	Frequência cardíaca controle e frequência cardíaca intrínseca, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício de intensidade progressiva(30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	55
Figura 5 –	Efeito vagal e tônus vagal, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	59
Figura 6 –	Efeito simpático e tônus simpático, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	59
Figura 7 –	Frequência cardíaca no pico de ação de doses crescentes de isoproterenol (I1 à I8) e variação da frequência cardíaca às mesmas doses, nos grupos Sedentário e Treinado.....	62
Figura 8 –	Frequência cardíaca no pico de ação de doses crescentes de metacolina (M1 à M4) e variação da frequência cardíaca às mesmas doses, nos grupos Sedentário e Treinado.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Esquema demonstrativo do cronograma experimental adotado.....	27
Quadro 2 –	Esquema demonstrativo do protocolo de Treinamento Físico, em esteira rolante.....	29
Quadro 3 –	Esquema demonstrativo da seqüência de protocolos experimentais.....	31
Quadro 4–	Esquema de registros da freqüência cardíaca realizada durante o Experimento 1.....	35
Quadro 5 –	Esquema de registros da freqüência cardíaca realizados durante os Experimentos 2 e 3.....	36
Quadro 6 –	Esquema de registros da freqüência cardíaca realizados durante os Experimentos 4 e 5.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Idade e massa corporal nos grupos Sedentário e Treinado.....	18
Tabela 2 –	Freqüência cardíaca dos grupos Sedentário e Treinado, em repouso volitivo, nos Experimentos 4 e 5, e em média dos dois experimentos.....	50
Tabela 3 –	Freqüência cardíaca controle, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	56
Tabela 4 –	Freqüência cardíaca intrínseca média dos Experimentos 4 e 5, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	56
Tabela 5 –	Efeito vagal, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	58
Tabela 6 –	Tônus vagal, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	60
Tabela 7 –	Efeito simpático, em repouso e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	61
Tabela 8 –	Tônus simpático, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15m.min ⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado.....	63

RESUMO

Kalil LMP. *Treinamento físico e frequência cardíaca em ratos idosos: avaliação da frequência cardíaca intrínseca e da modulação autonômica, do repouso ao exercício de intensidade progressiva escalonada* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

Estudou-se o efeito do treinamento físico sobre a frequência cardíaca (FC), a frequência cardíaca intrínseca (FCI), o efeito vagal (EV), o tônus vagal (TV), o efeito simpático (ES) e o tônus simpático (TS), de ratos idosos em repouso volitivo, na esteira, e durante o exercício de intensidade progressiva (4 estágios de 5 min à 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹). Verificaram-se, também, as respostas da FC à doses crescentes de agonistas β -adrenérgico (isoproterenol) e muscarínico (metacolina). Utilizaram-se 20 ratos *Wistar* machos, aleatoriamente divididos em dois grupos: Treinado (T, 28 \pm 2 meses, 460 \pm 36 g), submetido a 10 semanas de treinamento físico de moderada intensidade; e Sedentário-controle (S, 28 \pm 2 meses, 461 \pm 43 g), apenas manipulado, três a cinco vezes por semana, durante nove semanas, e submetido a cinco minutos de exercício diário, na décima semana, para habituação ao pesquisador e ao ambiente experimental. Utilizaram-se duplos bloqueios farmacológicos (propranolol/atropina e atropina/propranolol) para determinação da FCI, bem como bloqueios farmacológicos autonômicos unilaterais que permitiram a medida do EV, do TV, do ES e do TS. Definições: EV = FC após atropina – FC controle, ES = FC controle – FC após propranolol, TV = FCI – FC após propranolol, TS = FC após atropina – FCI. Registros: batimento-a-batimento, 500Hz (AT/CODAS). Para comparação realizou-se análise de variância de dois caminhos para medidas repetidas, com contraste. Significância estatística, $P \leq 0,05$. FC e FCI foram menores em T que S, em repouso e nos quatro estágios estudados: **FC** = 296 \pm 6, T vs. 325 \pm 16, S; 374 \pm 33, T vs. 420 \pm 29, S; 380 \pm 39, T vs. 423 \pm 29, S; 407 \pm 46, T vs. 434 \pm 25, S; 441 \pm 48, T vs. 455 \pm 30, S; e **FCI** = 288 \pm 28, T vs. 312 \pm 18, S; 302 \pm 27, T vs. 332 \pm 24, S; 301 \pm 30, T vs. 339 \pm 26, S; 308 \pm 30, T vs. 344 \pm 30, S; 316 \pm 31, T vs. 348 \pm 31, S. Não houve diferença na atividade vagal entre T e S, tanto considerando o EV, como o TV, em nenhuma das condições estudadas. A influência simpática para o coração se mostrou semelhante entre T e S, tanto se considerando o ES quanto o TS, em todas as condições estudadas. T e S responderam de forma semelhante aos agonistas muscarínico e adrenérgico. Tanto a FC, quanto a FCI aumentaram do repouso para o exercício, e com o aumento da intensidade do mesmo. A atividade vagal diminuiu do repouso para o exercício, mas apenas em intensidade elevada. A atividade simpática aumentou na passagem do repouso para o exercício, e com o aumento da intensidade do mesmo. Concluiu-se que, em ratos idosos: a) o treinamento físico de moderada intensidade promoveu bradicardia de repouso e atenuação da taquicardia induzida pelo exercício essencialmente à custa de redução da FCI; e b) independentemente da condição de treinamento físico, a estimulação simpática contribuiu para o aumento da FC, em resposta ao exercício, de leve à alta intensidade, enquanto a retirada vagal o fez, apenas em alta intensidade.

Descritores: 1. FREQUÊNCIA CARDÍACA 2. SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO 3. SISTEMA NERVOSO PARASSIMPÁTICO 4. SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO 5. EXERCÍCIO 6. EXERCÍCIO/fisiologia 7. IDOSO 8. ENVELHECIMENTO 9. RATOS 10. ANTAGONISTAS ADRENÉRGICOS 11. ANTAGONISTAS MUSCARÍNICOS 12. AGONISTAS ADRENÉRGICOS 13. AGONISTAS MUSCARÍNICOS 14. NÓ SINOATRIAL 15. SIMPATOMIMÉTICOS.

SUMMARY

Kalil LMP. *Exercise training and heart rate in old rats: intrinsic heart rate and autonomic modulation assessment from rest to progressive intensity exercise* [thesis]. São Paulo: Faculty of Medicine, University of São Paulo, SP (Brazil); 2006.

We studied the effect of exercise training on heart rate (HR), on intrinsic heart rate (IHR), on vagal effect (VE), on vagal tone (VT), on sympathetic effect (SE) and on sympathetic tone (ST) during both treadmill resting and exercise of progressive intensity (four 5-min stages at 5, 7.5, 10 and 15 m.min⁻¹) in old rats. HR responses to crescent doses of β -adrenergic (isoproterenol) and muscarinic (metacholine) agonists were also verified. We used 20 male *Wistar* rats randomly assigned to two groups: trained (T, 28 \pm 2 months, 460 \pm 36 g) and sedentary control (S, 28 \pm 2 months, 461 \pm 43 g) rats. T was submitted to a ten-week moderate intensity exercise training program, while S was just handled, three to five times a week, for nine weeks and submitted to five-min bouts of daily exercise during the tenth week for taming and to become accustomed to experimental environment. Double pharmacological blockades (propranolol/methylatropine and methylatropine/propranolol) were performed in order to determine IHR. Autonomic influences on heart rate were evaluated using also unilateral autonomic pharmacological blockade, which allowed us to measure VE and VT as well as SE and ST. Definitions: VE = HR after atropine - control HR, SE = control HR - HR after propranolol, VT = IHR - HR after propranolol, ST = HR after atropine - IHR. HR was recorded on a beat-to-beat basis with a 500 Hz acquisition frequency (AT/CODAS). For statistical analysis we used two-way ANOVA for repeated measurements with contrast, considering a $P \leq 0.05$ as statistically significant. T rats had lower HR as well as IHR than their sedentary counterparts both at rest and during all progressive exercise stages: **HR** = 296 \pm 6,T vs. 325 \pm 16,S; 374 \pm 33,T vs. 420 \pm 29,S; 380 \pm 39,T vs. 423 \pm 29,S; 407 \pm 46,T vs. 434 \pm 25,S; 441 \pm 48,T vs. 455 \pm 30,S, respectively; and **IHR** = 288 \pm 28,T vs. 312 \pm 18,S; 302 \pm 27,T vs. 332 \pm 24,S; 301 \pm 30,T vs. 339 \pm 26,S; 308 \pm 30,T vs. 344 \pm 30,S; 316 \pm 31,T vs. 348 \pm 31,S, respectively. Vagal activity was not significantly different between groups, either considering VE or VT. Sympathetic influence was also similar between S and T considering both SE and ST in all of the studied conditions. T and S responded similarly to both muscarinic and β -adrenergic agonists. Both HR and IHR increased from rest to exercise and with increasing exercise intensity. Vagal activity decreased from rest to exercise but only in high intensity exercise. Sympathetic activity increased from rest to exercise and also with increasing exercise intensity. We concluded that in old rats: a) exercise training of moderate intensity led to resting bradycardia and attenuation of exercise tachycardia essentially due to the decrease in IHR; and b) independently from exercise training status, sympathetic stimulation contributed to HR increase from light to high intensity exercise while vagal withdrawal became important only at high intensity exercise.

Descriptors: 1. HEART RATE 2. AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM 3. PARASYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM 4. SYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM 5. EXERCISE 6. EXERCISE/PHYSIOLOGY 7. AGED 8. AGING. 9. RATS 10. ADRENERGIC ANTAGONISTS 11. MUSCARINIC ANTAGONISTS 12. ADRENERGIC AGONISTS 13. MUSCARINIC AGONISTS 14. SINOATRIAL NODE 15. SYMPATHOMIMETICS

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida já é uma realidade, e, portanto, existe uma crescente população idosa que necessita de garantia de manutenção da qualidade de vida (PINÃ et al., 2003). É neste sentido que a adoção de um estilo de vida saudável pode fazer diferença e o exercício físico pode desempenhar um papel importante.

Por definição, atividade física é todo movimento corporal voluntário que causa um gasto energético acima dos níveis de repouso, ou seja, qualquer atividade do cotidiano; já o exercício físico é a seqüência sistematizada de movimentos de diferentes segmentos corporais (KALIL & NUNES-ALVES, 2005). O exercício realizado de forma planejada, ou Treinamento Físico (TF), é fundamental para o desenvolvimento e manutenção da capacidade física e garante a realização das atividades do cotidiano com menor exigência do organismo. Os exercícios têm intensidade leve, moderada, alta ou máxima, tendo-se em vista o estresse metabólico por eles causado, e podem ser necessários a qualquer momento da vida. Em geral, as atividades físicas indispensáveis para se sobreviver são de intensidade submáxima.

Devido à importância do TF, para promoção e manutenção da saúde, os mecanismos envolvidos na facilitação da realização de atividades físicas após TF e seus determinantes fisiológicos têm sido alvo de intensa pesquisa. Enquanto o sedentarismo e a baixa aptidão física são fatores de risco isolados para o desenvolvimento de doença arterial coronariana (BANZ et al., 2003; SCHNOHR et al.,

2002), o TF é essencial para a prevenção e o controle de diversas condições nosológicas que ameaçam a saúde no decorrer da vida, especialmente em se tratando do sistema cardiovascular (BANZ et al., 2003; BRANDÃO RONDON et al., 2002; KALIL & NUNES-ALVES, 2005; WHELTON et al., 2002), podendo, inclusive, reduzir a mortalidade (ERIKSSEN, 2001), e em ratos, aumentar a longevidade (HOLLOSZY, 1993). É papel do fisiologista do exercício desvendar e esclarecer os mecanismos envolvidos nas adaptações promovidas pelo TF e, que, em última instância, resultam nestes melhores desfechos (ERIKSSEN, 2001; MANSON et al., 2002).

Por exemplo, muito se fala a respeito do efeito protetor do exercício sobre o coração, especialmente das adaptações da Frequência Cardíaca (**FC**) em repouso e ao exercício de intensidade submáxima. Mas, as alterações autonômicas ou de capacidade de despolarização do nó sinoatrial, que podem figurar como mecanismos responsáveis pela adaptação da FC e, conseqüentemente, conferir tal efeito protetor, ainda não foram elucidadas, particularmente na idade avançada. Isto é compreensível diante da complexidade dos possíveis fatores envolvidos e de suas interações.

Não há dúvida, o efeito do TF sobre a FC é bem conhecido, inclusive em populações idosas (HUANG et al., 2005; LEMURA et al., 2000). Independentemente da idade ou da espécie animal estudada, ocorre bradicardia, em repouso, e atenuação da taquicardia induzida pelo exercício (ALONSO et al., 1999; BRANDÃO et al., 1993; BRUCE et al., 1963; BRUM, 1995; DILL et al., 1958; DONALD & SHEPHERD, 1963; FORJAZ et al., 1995; HAGBERG et al., 1985; MACIEL et al., 1986; NEGRÃO et al., 1992b; ROBINSON, 1938; ROBINSON et al., 1953; SCHEUER & TIPTON, 1977; SEALS et al., 1994; STRANDELL, 1964; TODA & SHIMAMOTO, 1968; WARNER & COX, 1962), mas, os mecanismos envolvidos nesta redução da FC são controversos.

Sabe-se que a FC é resultante da atuação do sistema nervoso autônomo sobre a frequência espontânea máxima de disparo do nó sinoatrial, que independe das influências simpática e parassimpática (SEALS et al., 1994). A frequência máxima de disparo das células do nó sinoatrial pode ser revelada pela privação da influência de ambos os ramos autonômicos, a partir de bloqueio farmacológico ou de desnervação cirúrgica, sendo, então, denominada Frequência Cardíaca Intrínseca (**FCI**) (JOSÉ, 1966). As influências autonômicas atuam de modo simultâneo e oposto sobre o coração, de forma que a estimulação dos nervos vagos reduz a FC enquanto a estimulação simpática, ao contrário, induz o seu aumento (LAKATTA, 1993). Os mecanismos de redução da FC com TF envolvem, portanto, aumento da atividade vagal e/ou atenuação da atividade simpática, para o coração, e/ou diminuição da FCI.

Realmente, no organismo sadio, têm-se verificado modificações da modulação autonômica em repouso (BELL et al., 2001; GIANOLLA et al., 1998; IWASAKI, 2003; LEWIS et al., 1980; MEDEIROS et al., 2000; MELANSON, 2001; SANDERCOCK, 2005; TIPTON et al., 1977) e ao exercício (GALLO JUNIOR et al., 1989; NEGRÃO et al., 1992a; SEALS, 1994), com aumento da atividade parassimpática (DE ANGELIS, 2004; IWASAKI, 2003; MYSLIVECK, 2002; SANDERCOCK et al., 2005) e/ou ligeira diminuição da atividade simpática (DE ANGELIS, 2004; NEGRÃO et al., 1992b) e/ou, também, diminuição na FCI (BOLTER et al., 1973; LEWIS et al., 1980; MEDEIROS et al., 2004; NEGRÃO et al., 1992b; STEIN et al., 2002), inclusive com o envelhecimento (CARTER et al., 2003; CATAI et al., 2002; KALIL et al., 1997; LUCINI, 2004). Os resultados parecem depender da condição estudada, se repouso ou exercício, ou ainda, da modalidade (MEDEIROS et al., 2000) e da intensidade do TF (DE ANGELIS et al., 1997; GAVA et al., 1995; IWASAKI, 2003; LEICHT, 2003 A ; LEICHT, 2003 B, UUISTALO, 2004). Vale citar que a FC de ratos, em repouso volitivo na esteira, pode

ser maior que a de ratos, em repouso na gaiola (NEGRÃO et al., 1992a, b), possivelmente devido à resposta antecipatória da FC frente ao exercício iminente. Pode haver, portanto, uma modificação no balanço autonômico nesta situação. O estado de repouso volitivo, na esteira, ainda não foi estudado em ratos idosos.

Embora a diminuição da FCI seja freqüentemente proposta como mecanismo da bradicardia de repouso vista em atletas e indivíduos ou animais submetidos a TF (BOLTER et al., 1973; CATAI et al., 2002; EVANGELISTA et al., 2005; LEWIS et al., 1980; MEDEIROS et al., 2004; NEGRÃO et al., 1992; STEIN et al., 2002), o efeito cardioprotetor do exercício tem sido atribuído, em geral, a um aumento na atividade vagal para o coração (LAKATTA, 1993; SEALS et al., 1994).

Há que se considerar, entretanto, que tanto em seres humanos quanto em animais, há indícios de aumento, mas também de não-alteração e até de diminuição do tônus parassimpático para o coração após TF (DE MEERSMAN, 1993; KATONA et al., 1982; LA ROVERE et al., 1986; LA ROVERE et al., 1992; LEWIS et al., 1980; LOIMALAA, 2000; REILING & SEALS, 1988; SHANNON et al., 1979; TULPPO et al., 1998; UUISTALO, 2004). Em ratos jovens, a diminuição da atividade parassimpática foi elegantemente demonstrada, a partir de diferentes metodologias, incluindo bloqueios farmacológicos, estimulação elétrica e estimulações farmacológicas, direta e reflexa (NEGRÃO et al., 1992b). Em ratos idosos, submetidos a TF, sem redução de FCI não se observou alteração da atividade vagal para o coração (DE ANGELIS et al., 1997), mas, em presença de diminuição da FCI, em repouso, com TF, observou-se tendência à atenuação da mesma (KALIL, 1997).

A observação de redução do tônus parassimpático associada a uma menor FCI, em atletas (KATONA et al., 1982) e também em ratos jovens treinados fisicamente (EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b), ou mesmo de não-alteração da

atividade parassimpática com TF (DENAHAN et al., 1993; LOIMALAA, 2000) é surpreendente, pois parece conflitante com o conceito atual de que o exercício e a melhora da capacidade física são benéficos para saúde, por oferecerem efeitos cardioprotetores (MANSON, 2002), que diminuem a mortalidade (ERIKSSEN, 2001). Isto porque a diminuição da atividade vagal para o coração tem sido associada a aumento de mortalidade por eventos coronarianos (BUCH et al., 2002; TAPANAINEN et al., 2002), não parecendo ser interessante, particularmente para um organismo idoso, em que o Tônus Vagal (TV) já se encontra diminuído pela própria idade (KUGA et al., 1993; LAKATTA, 1993; SEALS, 1994; TULPPO et al., 1998).

À luz da literatura, não existe, portanto, consenso sobre o efeito do TF sobre a atividade vagal para o coração. Embora uma diminuição adicional da atividade vagal para o coração com TF na senescência não pareça conveniente, esta possibilidade não pode ser excluída e deve ser melhor investigada.

Há carência de estudos que avaliem simultaneamente a modulação autonômica da FC e a FCI na idade avançada (DE ANGELIS et al., 1997; HUANG et al., 2005; KALIL et al., 1996; LAKATTA, 1979; SEALS et al., 1994). De fato, a maior parte do conhecimento necessário para proposição desta investigação provém de estudos realizados em populações jovens (LEWIS et al., 1980; NEGRÃO et al., 1992a; NEGRÃO et al., 1992b; SCHEUER & TIPTON, 1977; SMITH et al., 1976), embora ratos idosos já tenham sido parcialmente estudados em repouso (DE ANGELIS et al., 1997; KALIL et al., 1997).

Técnicas não invasivas de avaliação autonômica, entre elas, a análise espectral da variabilidade da FC, permitiram que seres humanos em envelhecimento (CATAI et al., 2002; LEVY et al., 1998; TULPPO et al., 1998) ou idosos (SCHUIT et al., 1999; STEIN et al., 1999), fossem também estudados, inclusive durante o exercício

(TAYLOR et al., 1995; TULPPO et al., 1998). Para estudo do exercício dinâmico esta metodologia tem-se mostrado, entretanto, pouco eficaz (CASADEI et al., 1995; PERINI et al., 2002), levando a resultados equivocados e de difícil interpretação, além de não fornecer dados concernentes à FCI. De fato, quando não se encontra aumento do espectro de alta freqüência, que é indicador da atividade vagal, ou diminuição do espectro de baixa freqüência, que é indicador misto de atividade vagal e simpática, ou da razão entre alta freqüência e baixa freqüência, que infere atividade simpática, sugere-se que a adaptação da FC deve envolver mecanismos não-autonômicos, intrínsecos ao marcapasso cardíaco, como por exemplo, a adaptação da FCI (DENAHAN et al., 1993).

Neste sentido, a utilização de bloqueios e estímulos farmacológicos, embora possua limitações, parece propiciar a obtenção de um continente de informações mais abrangente e, portanto, mais esclarecedor. De fato, utilizando-se esta metodologia foi possível demonstrar a redução da FCI pelo TF, a qual é apenas sugerida quando da utilização de análise espectral da variabilidade da FC. É importante notar, contudo, que um bloqueio farmacológico ineficaz pode levar a resultados conflitantes e à interpretações errôneas (KALIL LMP, 1997; DE ANGELIS et al., 1997). Assim, possivelmente devido à diferença na eficácia do bloqueio β -adrenérgico, observou-se (KALIL LMP, 1997), ou não (DE ANGELIS et al., 1997), redução da FCI, em repouso, com TF, em ratos idosos. A FCI ao exercício, até onde se tem conhecimento, não foi previamente estudada em populações idosas submetidas a TF.

Curiosamente, tanto cães (ORDWAY et al., 1982) quanto ratos (SIGVARDSSON et al., 1987), cujos corações foram desnervados antes do TF, não desenvolveram bradicardia ou diminuição da FCI, respectivamente. Assim, mesmo que não ocorram

alterações autonômicas com TF, é provável que um sistema autônomo funcionando seja necessário para desenvolvimento das adaptações eletrofisiológicas.

Embora a diminuição da atividade simpática sobre o coração também apareça como um mecanismo de atenuação da FC em repouso (DE ANGELIS et al., 2004; EVANGELISTA et al., 2005; GAVA et al., 1995; NEGRÃO et al., 1992b), e ao exercício (NEGRÃO et al., 1992a), sua importância relativa parece pequena, haja vista que, de forma geral, o balanço autonômico, principalmente em repouso, é vagotônico (ROSENBLUETH & SIMEONE, 1934). Em ratos idosos, esta variável ainda necessita ser melhor investigada, especialmente na condição de exercício (KALIL, 1997).

A influência do TF sobre a atividade simpática, em repouso e ao exercício, tem sido estudada, preferencialmente, a partir da medida das concentrações de catecolaminas plasmáticas (LAKATTA, 1993) ou da atividade nervosa muscular periférica. A atividade simpática sistêmica ou periférica, a qual se tem mostrado, em geral, diminuída com TF e aumentada pelo envelhecimento (LAITINEN et al., 2004) pode diferir, entretanto, da cardíaca (LUCINI et al., 2004). Neste sentido, a atividade simpática sobre o coração tem sido estudada, entre outros métodos, a partir de análise da variabilidade da FC que não permite isolar a influência simpática da parassimpática (HAYANO & YASUMA, 2003), e, a partir de bloqueios farmacológicos, que podem fornecer dados reveladores (NEGRÃO et al., 1992a; NEGRÃO et al., 1992b), mas também equivocados (DE ANGELIS et al., 1997), dependendo da eficácia do bloqueio e da influência do bloqueio de um ramo autonômico sobre a atividade do ramo que permanece atuante (RIBEIRO et al., 2005). Os resultados fornecidos têm sido, portanto, conflitantes e pouco esclarecedores.

Entre os possíveis mecanismos de alteração da atividade autonômica sobre o coração com TF estão as diminuições na sensibilidade e densidade dos receptores

adrenérgicos e muscarínicos (BARBIER et al., 2004; KHORT et al., 1993; LEOR-LIBRACH et al., 1999; MEREDITH et al., 1991; NEGRÃO et al., 1992b; SCARPACE, 1986; SCHAEFER et al., 1992; SVEDENHAG et al., 1986, 1991). Esta avaliação tem sido, na maioria das vezes, baseada na resposta a fármacos que induzem a ação simpática ou parassimpática (LAKATTA, 2001), ou então, na medição do número de receptores atriais e ventriculares (BARBIER et al., 2004; SCHAEFER et al., 1992). Não foram encontrados estudos que incluíssem ratos idosos submetidos a TF.

Certamente, deve-se considerar que os mecanismos das adaptações da FC ao TF na condição de repouso não são necessariamente os mesmos das adaptações durante o exercício (NEGRÃO et al., 1992a; NEGRÃO et al., 1992b). Da mesma forma, as adaptações ao exercício não necessariamente são as mesmas em baixa e alta intensidade.

Em uma situação de estresse, como o exercício, são necessárias alterações adaptativas imediatas da FC, as quais parecem depender primariamente de modificações da modulação autonômica em resposta a metaboloreflexos. Há que se considerar, portanto, as condições intrínsecas do marcapasso cardíaco bem como a capacidade de estimulação e responsividade do sistema.

Durante o exercício, o controle autonômico direto da FC parece obedecer a um padrão de modulação dependente da intensidade do exercício, tanto no animal (BOYETT et al., 2000; TODA & SHIMAMOTO, 1968; WARNER & COX, 1962) quanto no homem (MACIEL et al., 1986; TULPPO et al., 1998).

Assim, com a progressão da intensidade de exercício, a participação parassimpática parece decrescer, e a simpática, ao contrário, se tornar mais importante e evidente (HUNTER et al., 2001; ISHIDA et al., 2000; SVEDENHAG et al., 1991; TULPPO et al., 1998).

De modo geral, a atenuação da taquicardia induzida pelo exercício pós TF parece estar relacionada a modificações no controle autonômico direto (BOLTER et al., 1973; GALLO JUNIOR et al., 1989; KENNEY, 1985; NEGRÃO et al., 1992a; SCHEUER & TIPTON, 1977; SMITH et al., 1989; TAYLOR et al., 1995) ou reflexo da FC (BRUM et al., 1995; BRUM et al., 2000; NEGRÃO et al., 1992a; ROBINSON et al., 1966; ROWELL, 1993) e também a alterações na responsividade do sistema ao estímulo autonômico (KHORT et al., 1993; NEGRÃO et al., 1992a; PAVLIK et al., 1981; SPINA et al., 1998; SVEDENHAG et al., 1986, 1991) embora alguns investigadores (HUGHSON et al., 1977) a tenham relacionado à redução da FCI. Também quanto a esse aspecto, há carência de estudos envolvendo populações em idade avançada (CAMERON et al., 1999; CONWAY et al., 1971; TULPPO et al., 1998).

As alterações fisiológicas vistas na idade avançada sugerem que a modulação autonômica da FC, em repouso (KUGA e YAMAGUSHI, 1993) e ao exercício (ISHIDA et al., 2000) de intensidade progressiva, pode ser modificada pelo envelhecimento. De fato, KUGA e YAMAGUSHI (1993) verificaram que, com o envelhecimento, o balanço autonômico, que costuma ser predominantemente vagal, passa a ser praticamente balanceado, ou seja, com participações quase equivalentes de ambos os ramos autonômicos. Além disso, na senescência, tanto o tônus parassimpático quanto a FCI estão significativamente reduzidos (CRAFT & SCHWARTZ, 1995; STANLEY et al., 1996; JOSE, 1966), sendo que a redução da FCI pode estar associada às, bem descritas, alterações degenerativas intrínsecas do nó sinoatrial do idoso (KUGA & YAMAGUCHI, 1993), na celularidade (DAVIES et al., 1983; DAVIES & POMERANCE, 1972; LAKATTA, 1993; LEV, 1954), no interstício (LAKATTA, 1993; LEV, 1954; SHIRAISHI et al., 1992) e também nas correntes iônicas envolvidas na sua regulação (JU & ALLEN, 2000; LAKATTA, 2001). As alterações morfométricas do nó sinoatrial

idoso tais como a sua degeneração ou diminuição de volume, com redução do número de células e uma mudança no interstício, com aumento de conteúdo de colágeno e infiltração de gordura, no entanto, nunca foram relacionadas diretamente a alterações funcionais, como a diminuição da FCI. Não obstante, sugeriu-se que o TV pode diminuir com a idade, com intuito de compensar as perdas ocorridas no nó sinoatrial (KUGA & YAMAGUSHI, 1993).

Ainda, existem alterações ao exercício já bem conhecidas, como a diminuição da FC máxima com o aumento da idade (WILSON & TANAKA, 2000). Esta modificação tem sido atribuída primariamente à redução na responsividade adrenérgica (KREIDER et al., 1984; LEHMAN & KEUL, 1986; SCARPACE, 1986; STRATTON et al., 1992), principalmente no nível dos receptores adrenérgicos cardíacos (LAKATTA, 1986; VESTAL et al., 1979; YIN et al., 1976; YIN et al., 1979), além da reconhecida diminuição da FCI (LAKATTA, 2001).

Têm-se mostrado que o envelhecimento também é acompanhado de modificação na atividade simpática central e periférica, o que normalmente é verificado a partir das altas concentrações de catecolaminas sangüíneas (LAKATTA, 1993) da diminuição da resposta da FC a estímulos adrenérgicos (XU et al., 1999), da diminuição da afinidade/sensibilidade e da densidade dos receptores adrenérgicos (HARDOUIN et al., 1998), da disfunção nos mecanismos pós-receptores (VINOGRADOVA et al., 2002) e do aumento da atividade simpática neuromuscular periférica (BISQUOLO et al., 2005; LAKATTA, 1993; ROVEDA et al., 2003).

Estudos recentes demonstraram que a origem do batimento cardíaco parece estar relacionada à liberação cíclica de cálcio pelo retículo sarcoplasmático via receptores de rianodina (BOGDANOV, 2001; LAKATTA, 2003; VINOGRADOVA et al., 2005) nas células nodais sinoatriais. Adicionalmente, a atuação simpática sobre o

coração parece ocorrer sobre esta liberação (VINOGRADOVA et al., 2002). Assim, a atuação dos receptores de rianodina parece essencial não somente para a origem do batimento cardíaco, mas também para determinação da frequência máxima de disparo do nó sinoatrial. Estes são os mais prováveis sítios de adaptação da FCI e de diminuição da FC máxima com o envelhecimento (LAKATTA, 2001).

Mais especificamente, sugeriu-se que o principal mecanismo de atenuação da FC máxima, própria da idade avançada, é a oscilação cíclica de cálcio que ocorre via receptores de rianodina, que liberam cálcio do retículo sarcoplasmático para o citoplasma das células do nó sinoatrial (VINOGRADOVA et al., 2002).

À medida que o envelhecimento resulta em modificações fisiológicas no marcapasso cardíaco (BILLMAN et al., 1984; DAVIES, 1975; KREIDER et al., 1984; LAKATTA, 1979; PFEIFER et al., 1983; ROWE & TROEN, 1980; SCARPACE, 1986; SCHWARTZ et al., 1991; SHANNON et al., 1987; SIMPSON & WICKS, 1988; WADDINGTON et al., 1979; WAJNGARTEN et al., 1994) e na modulação autonômica da FC (CRAFT & SCHWARTZ, 1995; KUGA & YAMAGUSHI, 1993; LAITINEN et al., 2004; STANLEY et al., 1996), não se pode descartar a possibilidade de diferenças nos mecanismos responsáveis pelos efeitos do TF sobre a FC, em condição de repouso e também ao exercício, entre jovens e idosos (KALIL et al., 1996; SEALS & CHASE, 1989; SEALS et al., 1994). De fato, a diminuição da FCI com o avançar da idade e a sua diminuição adicional, em repouso, com o TF (KALIL, 1997), acompanhada de relativa manutenção da resposta cronotrópica ao exercício submáximo (SEALS et al., 1994), sugere alteração da participação de um ou de ambos os ramos autonômicos na modulação da FC ao exercício.

Sumariamente, com base na literatura consultada, o TF causa bradicardia e atenuação da taquicardia induzida pelo exercício. Os mecanismos se afiguram controversos e envolvem modificações autonômicas e/ou intrínsecas ao nó sinoatrial.

Alterações na responsividade β -adrenérgica, no tônus parassimpático, na FCI e também na estrutura do nó sinoatrial, com o envelhecimento, associadas à manutenção da FC em repouso e ao exercício submáximo, bem como à diminuição da FC máxima, sugerem que na idade avançada, o efeito do TF sobre a FC e seus determinantes autonômicos e intrínsecos, pode ser diferente do observado em faixas etárias menores, tanto em repouso quanto ao exercício. Conquanto o modelo de comportamento da FC ao exercício e de controle autonômico da taquicardia induzida pelo mesmo pareça bem definido, assim como a metodologia para seu estudo, através de bloqueios farmacológicos, os estudos pertinentes ao TF são restritos, principalmente em populações idosas. Até onde se tem conhecimento, o estudo simultâneo da FCI e da modulação autonômica da FC, em ratos idosos, ainda não foi realizado. Acredita-se que a contribuição autonômica para a elevação da FC ao exercício de intensidade progressiva possa, inclusive, obedecer a um padrão diferente do observado em jovens. Como a modificação da responsividade a agonistas adrenérgicos e muscarínicos com o TF é controversa, especialmente considerando a idade avançada, faz-se necessário verificá-la.

Esta pesquisa experimental fornecerá dados de real valor, que poderão elucidar os mecanismos envolvidos nos efeitos do TF sobre o comportamento da FC e seus determinantes autonômicos, bem como sobre a FCI na idade avançada, considerando a condição de relativo repouso, mas também de estresse fisiológico leve ou intenso, natural ao cotidiano, do nascimento à senescência, e que pode ser mimetizado pelo exercício físico de intensidade progressiva.

2. OBJETIVOS

Estudar, em ratos idosos, o efeito do treinamento físico sobre:

- a) o comportamento da frequência cardíaca e da frequência cardíaca intrínseca, bem como a participação autonômica simpática e parassimpática na determinação da frequência cardíaca, em repouso volitivo, na esteira, e durante o exercício de intensidade progressiva e escalonada, avaliando o tônus vagal, o efeito vagal, o tônus simpático e o efeito simpático; e
- b) a responsividade da frequência cardíaca à doses crescentes de isoproterenol e metacolina.

3. MATERIAL

Foram utilizados 20 ratos "*Wistar*", machos, com 24 a 30 meses de vida, provenientes do biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, envelhecidos junto ao Biotério da Escola de Educação Física da Universidade de São Paulo ou do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, os quais foram mantidos em gaiolas, à razão de 3:1, em biotério com ciclo de claro-escuro de 12-12 horas, invertido, e temperatura relativamente controlada entre 21 e 23°C. Foram fornecidas ração padrão "Purina" (Lobina) e água para consumo *ad libitum*.

Os ratos foram aleatoriamente divididos em dois grupos: Ratos Treinados (T) e Ratos Sedentários-controles (S). A idade dos 20 animais inclusos nos grupos S ($n=10$) e T ($n=10$), bem como sua massa corporal na data de preparação para o Experimento 1, não diferiram significativamente (Tabela 1). Dados individuais no Anexo A.

O grupo T foi submetido a dez semanas de TF em esteira rolante.

O grupo controle foi manipulado de três a cinco dias durante as nove primeiras semanas e submetido a 5 min diários de caminhada na esteira durante a décima semana, objetivando habituação ao pesquisador e ao ambiente experimental.

É importante ressaltar que para se obter esta amostra de 20 ratos, foi necessária uma amostra inicial de 80 ratos. Dos 80 ratos, apenas 20 conseguiram completar

todos os protocolos experimentais. O período decorrente entre o recebimento dos animais e o final dos experimentos foi de no mínimo 25 meses e no máximo de 31 meses. Entre as exclusões, podem ser consideradas as seguintes causas: perdas e mortes acidentais ou por causas externas de morbidade e mortalidade ($n=6$); mortes por causas desconhecidas, podendo ser inclusas, embora não se tenha feito biópsia *post-mortem*, doenças do aparelho circulatório, neoplasias (tumores), doenças do aparelho respiratório, doenças do aparelho digestivo, doenças infecciosas e parasitárias e doenças do aparelho geniturinário, especialmente quando os ratos já estavam idosos ($n=44$), mas ainda não haviam sido divididos em grupos. Alguns animais não puderam ser inclusos na amostra devido ao desenvolvimento de doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas, que podem ter gerado obesidade, doenças osteo-mio-articulares, do sistema nervoso, transtornos mentais e comportamentais, doenças do ouvido e do olho, que impediam os ratos de completarem os protocolos de exercício ($n=9$). Além disso, houve desenvolvimento de arritmia (fibrilação atrial) que impediria a comparação da FC ($n=1$).

Tabela 1 – Idade e massa corporal nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	IDADE (meses)	MASSA (gramas)
Sedentário ($n = 10$)	28 \pm 2	461 \pm 43
Treinado ($n = 10$)	28 \pm 2	460 \pm 36
Valores de “P”	0,933	0,832

NOTAS: **Massa**= massa corporal; **n** = número de amostragem; **P**= nível de significância estatístico. Dados apresentados em média \pm desvio padrão da média.

COMENTÁRIO: Observe-se que a amostra foi homogênea quanto a ambos os parâmetros e que os animais eram realmente idosos; média de vida do rato: 30 – 36 meses (Knoll et. al, 1984)

4. MÉTODOS

4.1 Considerações sobre métodos de estudo

Existem diversos métodos para estudo do controle autonômico da FC, bem como da FCI, *in vivo*. É possível bloquear, separada ou conjuntamente, o ramo simpático e o parassimpático, e quantificar, objetivamente, a contribuição de um ou outro ramo para a manutenção da FC ou sua capacidade de atuação. Para tanto, utilizam-se fármacos que antagonizam a ação dos neurotransmissores naturais.

Entre os fármacos mais usuais está a metil-atropina, um antagonista muscarínico que, por impedir a ação da acetilcolina, provoca aumento da FC, o propranolol, um antagonista β -adrenérgico não cardio-seletivo e o metoprolol, um antagonista β -adrenérgico predominantemente cardio-seletivo. Ambos os fármacos são eficientes no bloqueio da ação simpática sobre o coração (JOSE, 1966), sendo que a seletividade do β -bloqueador não influencia diferentemente as respostas cardíacas e pressóricas ao β -bloqueio (LEWIS et al., 1980). Em geral, os bloqueadores β -adrenérgicos provocam redução da FC ou a impedem de aumentar, no caso de situações de estresse, por exemplo.

O registro da FC sob estes bloqueios farmacológicos permite a quantificação distinta das influências simpática e parassimpática. Além disso, sua administração conjunta possibilita a determinação da FCI *in vivo*.

Por propiciar o estudo autonômico e da FCI, conjuntamente, este método é deveras vantajoso.

Existem diversas formas de utilização dos dados provenientes dos bloqueios farmacológicos para quantificação da atividade autonômica. Em nosso meio (EVANGELISTA et al., 2005; KALIL, 1997; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005), a quantificação da influência autonômica sobre a FC tem sido realizada a partir do cálculo dos Efeitos Vagal e Simpático (EV e ES, respectivamente) e também dos Tônus Simpático e Vagal (TS e TV, respectivamente).

O EV é resultante da diferença entre a FC máxima atingida após uma injeção de atropina (FCA) e a FC controle, prévia à injeção. Indica quantos batimentos estão sendo bloqueados pela ação parassimpática sobre o coração, para a manutenção da FC controle de determinada situação, mas deve-se atentar que o ramo simpático permanece ativo, podendo, portanto, colaborar para superestimulação da atividade parassimpática.

O ES é resultante da diferença entre a FC controle e a FC mínima após uma injeção de propranolol (FCP). Indica quantos batimentos da FC controle estavam sendo produzidos pela estimulação simpática sobre o coração, mas, com o ramo parassimpático ativo. A exacerbação da atividade parassimpática pelo β -bloqueio poderia colaborar para subestimulação da influência simpática.

Assim, a desvantagem do uso dos efeitos (ES e EV) como quantificadores é que, ao se bloquear unilateralmente um ramo autonômico, o outro permanece ativo e pode ter sua atividade exacerbada, o que pode gerar erro de interpretação.

O TV, de determinada condição, é dado pela diferença entre a FCI e a FCP.

O TS é resultante da diferença entre a FCA e a FCI.

Enquanto os efeitos quantificam a utilização de um ramo autonômio, com o outro ramo ativo, os tónus indicam a capacidade de atuação de cada ramo autonômico, naquele determinado momento. A vantagem da medida do “tónus”, em relação ao “efeito”, é que ela exclui a atividade do outro ramo autonômico, uma vez que se utiliza a FCI, e não a FC, para cálculo. É necessário, entretanto, que o duplo bloqueio seja efetivo, a fim de que a FCI seja corretamente determinada. Caso o bloqueio, adrenérgico principalmente, não seja efetivo os resultados levarão à conclusões equivocadas. Outra forma de utilização das informações provenientes dos bloqueios farmacológicos, para cálculo das influências simpáticas e parassimpáticas, é através de modelos matemáticos. Um dos mais utilizados, em estudos do efeito do TF (KATONA et al., 1982; KUGA & YAMAGUSHI, 1993; STEIN et al., 2002), é o de ROSENBLUETH e SIMEONE (1934). Segundo este modelo, $R=m.nR_0$, sendo $R=FC$, m = tónus simpático (≥ 1), n = tónus parassimpático (≤ 1), e $R_0=FCI$.

Assume-se que uma dada dose de atropina bloqueia os efeitos parassimpáticos sem mudar a atividade eferente simpática, o mesmo se aplicando para o propranolol, que elimina a atividade simpática sem alterar a atividade parassimpática eferente. O modelo prediz que, independentemente de qual fármaco for administrado primeiro, os valores de “ m ” e “ n ” deverão ser os mesmos. Segundo o modelo, “ m ” e “ n ” são descritores numéricos dos tónus simpático e parassimpático, respectivamente. Seu produto, sendo menor que 1, indica que o controle parassimpático domina. Para realização do cálculo de “ m ” e “ n ”, são realizados experimentos em dois dias seguidos, sendo que no primeiro dia efetua-se bloqueio farmacológico parassimpático, seguido de bloqueio farmacológico simpático, o que permite a determinação da FCI. No

segundo dia, efetua-se o bloqueio em ordem inversa. Bloqueia-se a atividade simpática e em seguida a parassimpática, a fim de se obter nova medida da FCI.

Este modelo matemático é interessante por permitir a análise do balanço autonômico, se vagotônico ou simpatotônico.

A metodologia de bloqueios farmacológicos, independentemente da forma de utilização dos dados, tem sido amplamente utilizada em populações jovens, inclusive no homem, mas não em homens idosos submetidos a TF. Ratos idosos (KALIL, 1997) e em envelhecimento (DE ANGELIS et al., 1997) foram assim estudados, mas apenas em repouso, em sua própria gaiola. O repouso volitivo, na esteira, na iminência de início de exercício, ainda não foi estudado em ratos idosos. Os bloqueios farmacológicos já foram utilizados, também, em homens idosos saudáveis (CRAFT & SCHWARTZ, 1995; KUGA & YAMAGUCHI, 1993), mas com intuito de verificar o efeito do envelhecimento, e não do TF. De fato, na idade avançada, têm-se utilizado primariamente medições menos invasivas da atividade autonômica, particularmente devido as ações indesejadas dos fármacos nesta faixa etária.

KUGA e YAMAGUCHI (1993) calcularam a percentagem de cronotropia, para estimativa do balanço autonômico, em indivíduos idosos. Para tal, utilizaram-se da FCI, obtida a partir de bloqueio farmacológico simultâneo de ambos os ramos autonômicos e, também, da FC repouso. De acordo com os autores, um valor positivo de percentagem da cronotropia indica que o tônus simpático é predominante, enquanto um valor negativo indica que o tônus parassimpático é predominante. A desvantagem desta metodologia é o desconhecimento das influências de cada ramo separadamente, e, portanto, impossibilidade de quantificação destas atuações.

Outro método utilizado, para estimativa da ação autonômica no coração, é a análise da variabilidade da FC, sendo esta, atualmente, a metodologia

preferencialmente empregada para estudo em humanos idosos. A vantagem deste método é não ser invasivo. Por outro lado, não fornece informações concernentes à FCI, as quais são particularmente importantes para o estudo das ações do TF sobre os mecanismos de atenuação da FC.

Durante a inspiração ocorre uma redução da FC, o oposto ocorrendo durante a expiração. Este fenômeno é conhecido como arritmia sinusal respiratória. Tem-se demonstrado que a redução da FC é mediada pela via eferente vagal, já que 80-90% da variação reduz após bloqueio com atropina ou vagotomia (HAYANO et al., 1991; TAYLOR et al., 1998). Por esta razão, a arritmia sinusal respiratória, ou variação no período cardíaco com a respiração, tem sido reconhecida como uma medida não-invasiva da atividade parassimpática para o coração.

A variabilidade da FC pode ser medida a partir de diversos métodos, lineares e não-lineares. Calculam-se índices baseados em métodos estatísticos, derivados dos intervalos R-R ou da diferença entre eles (análise do domínio do tempo); realiza-se análise espectral (domínio da freqüência); ou, utilizam-se métodos geométricos de análise do intervalo R-R. As análises são feitas em períodos curtos, de 0,5-5 min (LEVY et al., 1998; MACIEL et al., 1985), ou longos (SEALS & CHASE, 1989), por até 24 horas (AKSELROD et al., 1985; TASK FORCE, 1996).

No domínio do tempo são calculados índices que refletem ambas atuações parassimpática e simpática sobre a variabilidade da FC (BIGGER et al., 1989; KLEIGER et al., 1992; LEVY et al., 1998). A análise espectral mostra a amplitude das flutuações da FC presentes em diferentes freqüências de oscilação. O sinal do intervalo R-R é desintegrado em numerosas funções sinusoides, de diferentes freqüências, e um espectro de potência é criado, no qual a amplitude é plotada em função de cada freqüência. Os métodos de análise espectral são baseados em

técnicas não-paramétricas (transformação rápida de Fourier) ou paramétricas (estimativa do modelo auto-regressivo). Na maior parte dos casos, os resultados são comparáveis, independentemente da técnica aplicada. O componente espectral de alta frequência representa a atividade parassimpática e o componente de baixa frequência é indicativo das influências do ramo simpático e do parassimpático. Não há um indicativo preciso de atividade simpática (HAYANO & YASUMA, 2003).

Como a FC não é gerada por simples oscilações periódicas, havendo fenômenos não-lineares envolvidos na gênese deste processo (PENG et al., 1995a; IVANOV et al., 1999; MAKIKALLIO et al., 1998) desenvolveram-se técnicas de análise que detectam características do comportamento da FC que não são detectáveis pelos métodos tradicionais de análise da variabilidade da FC. Os métodos geométricos são técnicas nas quais os intervalos R-R são convertidos em várias formas geométricas. Há a análise de Poincaré, por exemplo, em que cada intervalo R-R é plotado em função do intervalo R-R precedente (HUIKURI et al., 1996b; TULPPO et al., 1996). Esta análise tem sido utilizada principalmente durante o exercício, já que revela as mudanças na flutuação dos intervalos R-R batimento-a-batimento que são mediadas pelo vago, e que não são facilmente detectáveis por medidas lineares da variabilidade da FC (TULPPO et al., 1996; TULPPO et al., 1998b). Vale citar também, a Análise da Flutuação sem tendência, técnica não-linear para detectar modificações qualitativas na dinâmica da FC (PENG et al., 1995a; IYENGAR et al., 1996), que quantifica as propriedades de correlação fractal dos intervalos R-R (PENG et al., 1995b).

Apesar de ter a vantagem de ser um método não invasivo, a desvantagem da análise da variabilidade da FC é que a estimativa da atividade simpática é precária e não se tem a determinação da FCI, particularmente importante para o presente estudo. Além disso, a análise durante o exercício tem fornecido resultados contraditórios,

especialmente em exercício de intensidade crescente (ARAI et al., 1989; YAMAMOTO et al., 1991; NAKAMUR et al., 1993; CASADEI et al., 1995, 1996; PERINI & VEICSTEINAS, 2003; TULPPO et al., 1998b; WARREN et al., 1997). Embora não forneça tantas informações como a utilização dos bloqueios farmacológicos, esta metodologia tem-se mostrado mais viável para estudo do homem idoso que os bloqueios farmacológicos. Ainda, esta metodologia tem-se mostrado sensível o suficiente para detectar alterações autonômicas, não só com o TF, mas também se comparando pessoas ativas em seus períodos recreacionais com pessoas mais inativas (RENNIE et al., 2003).

É também possível avaliar a responsividade do coração aos estímulos autonômicos. Neste caso, são, em geral, utilizados fármacos que mimetizam a ação dos neurotransmissores naturais. Entre os mais empregados estão a metacolina, um agonista muscarínico, que compete com a acetilcolina pelos sítios receptores; o isoproterenol, um agonista β -adrenérgico não-cardio-seletivo e a isoprenalina, um agonista β_1 -adrenérgico. São efetuadas injeções de doses variadas, em geral, crescentes, e avaliadas as respostas aos diferentes estímulos, através da construção de curva dose-resposta. Estas metodologias têm sido empregadas tanto em animais quanto no homem (MARTIN et al., 1991; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005; SPINA et al., 1998; SPINA et al., 2000).

Outra forma de verificar a responsividade do coração ao estímulo parassimpático é a partir da estimulação elétrica direta do nervo vago (NEGRÃO et al., 1992b), realizada especificamente em animais anestesiados. Similarmente à utilização dos agonistas farmacológicos, são efetuados estímulos de intensidade crescente e construída curva estímulo-resposta. O inconveniente desta medida é a necessidade de realização do procedimento sob anestesia e que estudo ulterior, com o animal

acordado, é inviabilizado; o mesmo acontece com as diferentes técnicas de desnervação autonômica.

Na presente investigação optou-se pela utilização de bloqueios farmacológicos autonômicos unilaterais e bilaterais, para estudo da FCI e das influências autonômicas sobre a FC, e de estimulação farmacológica adrenérgica e muscarínica para verificação da responsividade do sistema.

4.2 Cronograma experimental

O estudo da FC, em repouso volitivo, na esteira, e durante o exercício, o qual incluiu sua regulação autonômica, a FCI e a resposta da FC aos agonistas adrenérgico e muscarínico, obedeceu ao cronograma esquematizado no Quadro 1.

Quadro 1 – Esquema demonstrativo do cronograma experimental adotado

	TEMPO ZERO	SEMANA 10	SEMANA 11
	↓	↓	↓
GRUPO SEDENTÁRIO	Início da Manipulação	Adaptação na Esteira	Experimentos
GRUPO TREINADO	Início do Treinamento Físico	Fim do Treinamento Físico	Experimentos

Assim, o grupo S foi estudado dez semanas após um tempo zero, durante as quais foram manipulados de três a cinco vezes por semana, com intuito de acostumá-

los ao convívio humano. Durante a última semana os ratos controles foram colocados para caminhar na esteira rolante, em velocidade de $5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, por 5 min, todos os dias, com intuito de serem habituados ao ambiente experimental.

O grupo T foi estudado dez semanas após um tempo zero, durante as quais foi submetido a TF, que seguiu protocolo descrito a seguir.

4.3 Protocolo de Treinamento Físico

O TF foi realizado em esteira rolante "Funbec, ESD-01", com divisão de 10 raias individuais. Foi utilizado o protocolo de TF de moderada intensidade para ratos idosos, previamente descritos por RAAB et al. (1990), adaptado ulteriormente por THOMAS et al. (1992), e também, em nosso meio (KALIL, 1997).

Os ratos treinaram cinco dias por semana, durante dez semanas, com aumento progressivo de velocidade e de duração da sessão. O treinamento iniciou com velocidade de $5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e 0% de inclinação, por 10 a 15 min, durante cinco dias. A partir da segunda semana, a duração da sessão progrediu em aproximadamente 15 min por semana, até que os ratos andassem continuamente por 60 min. A velocidade aumentou de forma que na quarta ou quinta semana os ratos podiam andar em velocidade de $12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$. A partir da quarta ou quinta semana, a duração e a velocidade foram mantidas constantes em 60 min e $12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$, respectivamente. Para melhor visualização do protocolo, foi elaborado o esquema demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2 – Esquema demonstrativo do protocolo de Treinamento Físico, em esteira rolante

	S E M A N A S									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Velocidade (m.min ⁻¹)	5	5-8	8-10	10-12	12	12	12	12	12	12
Inclinação (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Duração (min)	10-15	15-30	30-45	45-60	60	60	60	60	60	60

NOTAS: m.min⁻¹=metros por minuto; min=minuto.

Adaptado do protocolo descrito por RAAB et al. (1990), para ratos idosos.

4.4 Protocolos experimentais

4.4.1 Experimentos realizados e variáveis estudadas

Para cumprimento dos objetivos propostos na presente investigação foram realizados os seguintes experimentos, que serão descritos detalhadamente na próxima seção:

Experimento 1. Estudo do comportamento da FC controle ao exercício físico dinâmico de intensidade progressiva escalonada.

Experimento 2. Estudo da responsividade da FC a doses crescentes do agonista adrenérgico, isoproterenol, com o rato em repouso na gaiola.

Experimento 3. Estudo da responsividade da FC a doses crescentes do agonista muscarínico, metacolina, com o rato em repouso na gaiola.

Experimento 4. Estudo do comportamento da FC, determinação da FC sob ação da atropina, do EV, da FCI e do TS, em repouso, na esteira, e ao exercício dinâmico de intensidade progressiva escalonada.

Experimento 5. Estudo do comportamento da FC, determinação da FCP, do ES, da FCI e do TV em repouso, na esteira, e ao exercício dinâmico de intensidade progressiva escalonada.

Na realidade, embora os Experimentos 4 e 5 permitam medir o TS e o TV, distinta e respectivamente, estes foram calculados somente após a realização do Experimento 5 pois, para tal cálculo foi utilizada a média da FCI dos dois experimentos.

Para realização destes experimentos foi necessária implantação de eletrodos, para monitorização da FC, e de cânula venosa para injeção de fármacos. Os fármacos utilizados foram o isoproterenol, agonista adrenérgico, metacolina, agonista muscarínico, propranolol, antagonista β -adrenérgico e a metil-atropina, antagonista muscarínico. As técnicas utilizadas, as doses dos fármacos e os protocolos experimentais são detalhados na próxima seção.

Foi considerado como EV (DE ANGELIS et al., 1997; DE ANGELIS et al., 2004; EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005) a diferença entre a FCA e a FC controle nas condições de repouso, na esteira, ou de exercício.

Foi considerado como ES (DE ANGELIS et al., 1997; DE ANGELIS et al., 2004; EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005) a diferença entre a FC controle e a FCP nas condições de repouso, na esteira, ou de exercício.

Foi considerado como TV (EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005) a diferença entre a FCI média dos Experimentos 4 e 5 e a FCP, nas condições de repouso na esteira, ou de exercício.

Foi considerado como TS (EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005) a diferença entre a FCA e a FCI média dos experimentos 4 e 5 das condições de repouso na esteira, ou de exercício.

Os protocolos experimentais foram realizados seqüencialmente de acordo com o esquema demonstrado no Quadro 3.

Quadro 3 – Esquema demonstrativo da seqüência de protocolos experimentais

Dia	Protocolo Experimental Executado
1 ^o	Pesagem, Implantação de Eletrodos e de Cânula Venosa
2 ^o	Experimento 1
3 ^o	Experimento 2
4 ^o	Experimento 3
5 ^o	Experimento 4
6 ^o	Experimento 5

4.5 Descrição das técnicas e dos Experimentos

4.5.1 Técnica para implantação de eletrodos

Foram implantados três eletrodos de aço inoxidável, cujo comprimento (6 a 9 cm) dependeu do tamanho do rato. Para isto, o animal foi anestesiado através de inalação de éter, em eterizador apropriado (200mL de base e 300mL de altura). Foi realizada

tricotomia da região torácica, cervical e dorsal. Foram realizados dois cortes de aproximadamente 5 mm na região torácica, na altura do coração e laterais ao mesmo. Também foram realizados cortes de igual tamanho na região cervical anterior medial e dorsal medial. O tecido subcutâneo foi então divulsionado até que o tecido subcutâneo se tornasse aparente. A partir do corte na região cervical, foi introduzido trocater, através do qual foram levados os eletrodos para as regiões torácicas direita e esquerda bem como para a região dorsal. Foram então pinçadas porções tissulares destas regiões nas quais foram fixadas duas terminações dos eletrodos, em forma de argola (aproximadamente 1,5 mm), com fio de nylon (4.0 ou 5.0). Após este procedimento foi realizada sutura dos cortes e fixação das extremidades externas dos eletrodos junto à pele, na região dorsal. Durante o procedimento o animal foi mantido anestesiado com utilização de chumaço de algodão embebido de éter. Após o término da cirurgia foi administrado antibiótico Keflin (20mg), ou pentabiótico veterinário, e o animal foi colocado em gaiola individual para recuperação.

4.5.2 Técnica para implantação de cânula venosa

Logo após a implantação dos eletrodos, já descrita, foi implantada uma cânula na veia jugular, sendo esta confeccionada em Tygon (0,05 mm de diâmetro interno, 7 cm de comprimento) soldado a um segmento de policloreto de vinila (0.05 mm de diâmetro interno, 2,0 cm de comprimento), e preenchida com salina (NaCl, 0,9%). O animal já havia sido anestesiado através de inalação de éter, e foi mantido neste estado com utilização de chumaço de algodão embebido em éter, durante todo o procedimento.

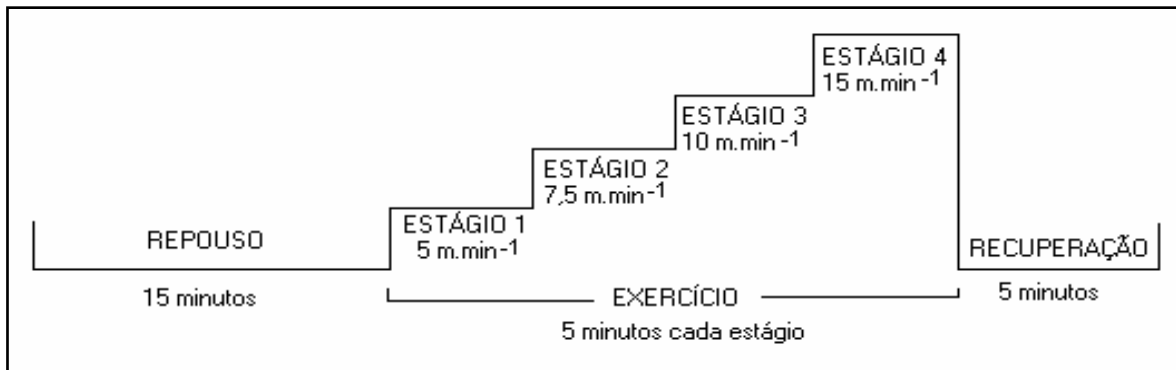
Imediatamente após a tricotomia da região torácica e dorso-cervical, foi realizado corte de aproximadamente 5 mm na região cervical e o animal foi posicionado em decúbito dorsal, tendo suas patas dianteiras e traseiras fixadas à mesa de operação. As presas também foram fixadas com intuito de manter o pescoço hiperestendido e facilitar a visualização da veia jugular. Foi então realizado corte de aproximadamente 5 mm na altura do esterno, entre este e a cabeça do úmero do rato, imediatamente acima da região em que foi visualizada a veia. O tecido subcutâneo foi divulsionado até a veia ser alcançada, quando então foi isolada. Foram colocados dois fios de sutura (4.0) sob a veia. Um deles foi usado para obstruir a veia distalmente e, juntamente com o outro, serviu ulteriormente à canulação, para fixar a cânula à veia. Foi realizado corte parcial e transversal da veia, objetivando a exposição da luz do vaso para introdução de aproximadamente 2,0 cm da extremidade de policloreto de vinila da cânula. Somente após este procedimento a cânula foi levemente amarrada à veia para que não escapasse durante o teste que foi realizado a seguir. Para testar o fluxo através da cânula foram injetadas pequenas quantias de salina (NaCl, 0,9%). A cânula foi, então, melhor fixada à veia, e, através de um trocater, a extremidade de Tygon foi levada até a região dorso-cervical, onde foi exteriorizada. Os cortes foram, então, suturados e a cânula levemente fixada à pele com fio de algodão (3.0). Após o término da cirurgia foi administrado antibiótico Keflin (20mg), ou pentabiótico veterinário e o animal foi colocado em gaiola individual para recuperação.

4.5.3 Experimento 1. Estudo do comportamento da frequência cardíaca ao exercício físico dinâmico de intensidade progressiva escalonada

Após 24 horas da implantação dos três eletrodos de aço inoxidável, com o animal posicionado em sua gaiola, os eletrodos foram conectados, por meio de cabo apropriado, a um amplificador de sinais biológicos (HEWLETT-PACKARD, 8805C). Após conversão do sinal analógico em digital (STEMTECH, INC) este foi registrado em um computador (GATEWAY 2000, 4DX2, 66MHz) provido de programa para aquisição e análise de sinais biológicos em tempo real (AT/CODAS). A frequência de amostragem foi de 500 Hz. A visualização dos dados convertidos em valores numéricos, assim como todos os cálculos necessários para análise ulterior dos dados, foram realizados, utilizando-se o programa Excel para WINDOWS.

Com o animal posicionado na esteira rolante, a FC foi monitorizada pelo tempo necessário para que o rato se adaptasse ao equipamento. Ao estar estável e compatível com valores conhecidos para o estado de repouso foi efetuado o registro da FC controle, durante o repouso e o exercício. Como um dos animais teve seu registro de repouso perdido, o repouso deste experimento não foi considerado para análise, haja vista que a análise de variância para medidas repetidas não permite exclusão de dados, pois as amostras devem ser semelhantes em número de animais e de medidas, entre os grupos. Para a análise do repouso utilizaram-se os dados provenientes dos Experimentos 4 e 5. O exercício foi realizado em esteira rolante "Funbec, ESD-01" e compreendeu quatro estágios de 5 min cada um, nas velocidades 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹. Para registro da passagem do repouso para o exercício a FC foi registrada continuamente dos 15 seg prévios ao exercício ao final do mesmo, o qual foi seguido de 5 min de recuperação, como esquematizado no Quadro 4.

Este experimento permitiu a análise da condição de repouso, na esteira, e de todos os instantes do exercício, da intensidade leve à intensidade mais elevada (5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹).

Quadro 4 - Esquema de registros da frequência cardíaca realizada durante o Experimento 1

NOTA: Velocidade em metros por minuto (m.min⁻¹).

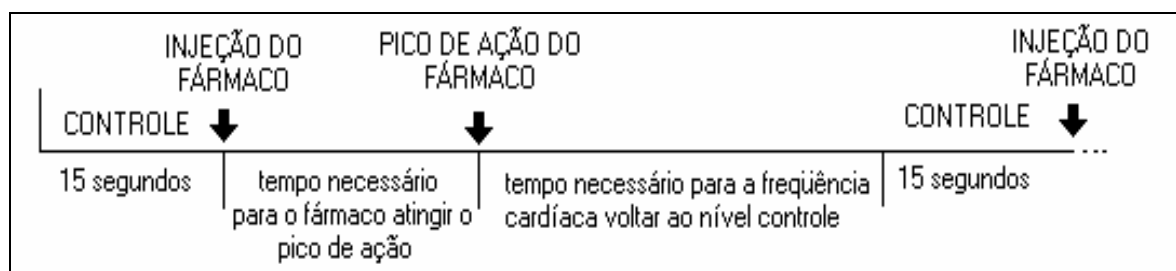
4.5.4 Experimento 2. Estudo da responsividade da frequência cardíaca a doses crescentes do agonista adrenérgico, isoproterenol, com o rato em repouso na gaiola

Vinte e quatro horas após a realização do Experimento 1, com o animal posicionado em sua gaiola para registro, os eletrodos foram conectados, por meio de cabo apropriado, a um amplificador de sinais biológicos (HEWLETT-PACKARD, 8805C). Após conversão do sinal analógico em digital (STEMTECH, INC) o sinal foi registrado em um computador (GATEWAY 2000, 4DX2, 66MHz) provido de programa para aquisição e análise de sinais biológicos em tempo real (AT/CODAS). A frequência de amostragem também foi de 500 Hz. A FC foi monitorizada por alguns minutos e ao estar estável e compatível com valores já conhecidos para o estado de repouso foi efetuado registro da FC controle. Logo após, foram realizadas oito injeções i.v. de isoproterenol em doses crescentes (2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 e 256 ng (Sigma Aldrich Corporation, São Paulo, SP, Brasil). Estas doses corresponderam a aproximadamente 4,3; 8,7; 17,4; 34,8; 65,6; 139,1; 278,3 e 556,5 ng.kg⁻¹. Quando do peso do rato foi inferior a 450g ou superior a 500g uma correção na dosagem foi feita, com intuito de manter, ao máximo, a proporção de fármaco para a massa corporal. Foram realizados

registros contínuos da FC dos 15 seg prévios a cada injeção até a FC retornar aos níveis prévios à injeção, isto incluiu, portanto um controle, prévio a cada injeção, e o alcance do pico de ação de cada dose, segundo o esquema demonstrado no Quadro 5. Só foi efetuada nova injeção de isoproterenol quando do retornar da FC ao nível controle basal.

Aproximadamente 2 horas após os experimentos, os animais treinados andaram na esteira por 30 min, em sua velocidade normal de TF ($12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) e os ratos sedentários andaram na esteira por 5 min em velocidade de $5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$.

Quadro 5 – Esquema de registros da frequência cardíaca realizados durante os Experimentos 2 e 3



4.5.5 Experimento 3. Estudo da responsividade da frequência cardíaca a doses crescentes do agonista muscarínico, metacolina, com o rato em repouso na gaiola

Vinte e quatro horas após a realização do Experimento 2, o animal foi preparado para o Experimento 3, conforme descrito na seção prévia, para o Experimento 2. A FC foi monitorizada por alguns minutos e ao estar estável e compatível com valores já conhecidos para o estado de repouso foram realizadas quatro injeções i.v. de metacolina em doses crescentes (1,2; 2,4; 4,8; e 9,6 μg). Estas doses representaram, aproximadamente, 2,6; 5,2; 10,4 e 20,9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Sigma Aldrich Corporation, São Paulo, Brasil). Quando a massa corporal do animal foi menor que 450g, ou maior que 500g,

procedeu-se correção da dosagem a fim de manter a proporção de fármaco para a massa corporal. Foram realizados registros contínuos da FC dos 15 seg. prévios a cada injeção até que a FC retornasse aos níveis prévios à injeção, isto incluiu, portanto, um controle, prévio a cada injeção, e o alcance do pico de ação de cada dose, segundo o esquema do Quadro 5. É importante ressaltar que após rápida resposta bradicárdica, ocorreu taquicardia reflexa, a qual demorou para cessar. Só foi efetuada nova injeção de metacolina quando a FC retornou ao nível controle basal. Aproximadamente 2 horas após os experimentos, os animais treinados andaram na esteira por 30 min, em sua velocidade normal de TF ($12 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) e os ratos sedentários andaram na esteira por 5 min em velocidade de $5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.5.6 Experimento 4. Estudo do comportamento da frequência cardíaca, determinação da frequência cardíaca sob ação da atropina, do efeito vagal, da frequência cardíaca intrínseca e do tônus simpático, em repouso, na esteira, e ao exercício dinâmico de intensidade progressiva escalonada

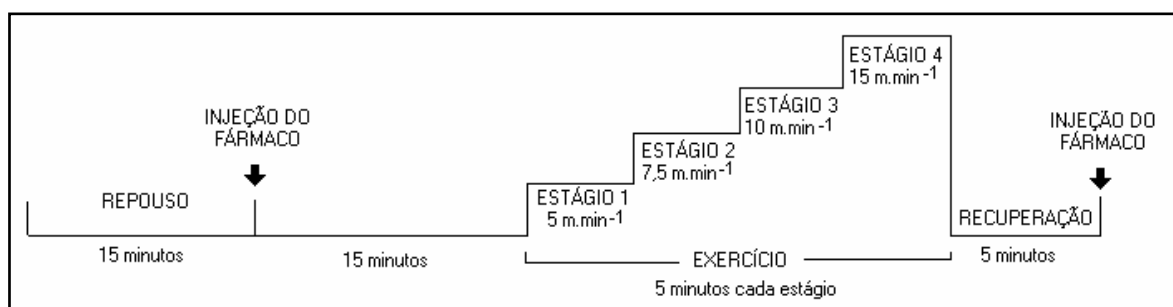
Vinte e quatro horas após o Experimento 3, procedeu-se o estudo da FREQUÊNCIA CARDÍACA em repouso na esteira, e durante o exercício de intensidade progressiva e escalonada. O exercício foi realizado em esteira rolante "Funbec, ESD-01" e compreendeu quatro estágios de 5 min cada um, nas velocidades 5; 7,5; 10 e $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$. Para registro, os eletrodos foram conectados, por meio de cabo apropriado, a um amplificador de sinais biológicos (HEWLETT-PACKARD, 8805C). Após conversão do sinal analógico em digital (STEMTECH, INC) o sinal foi registrado em um computador (GATEWAY 2000, 4DX2, 66MHz) provido de programa para

aquisição e análise de sinais biológicos em tempo real (AT/CODAS). A frequência de amostragem também foi de 500 Hz.

Com o animal posicionado na esteira rolante, a FC foi monitorizada pelo tempo necessário para que o animal se adaptasse ao equipamento. Ao se apresentar estável e compatível com os valores já conhecidos para o estado de repouso, a FC controle foi registrada durante 15 min. Logo após, foi realizada injeção i.v. de metil-atropina (3mg.kg^{-1} de massa corporal, Sigma Aldrich Corporation, São Paulo, SP, Brasil). A FC foi registrada continuamente até os 15 min após a injeção, quando o fármaco atingiu seu pico de ação. O animal foi, então, submetido aos quatro estágios de exercício previamente citados. A FC foi registrada continuamente dos 15 seg prévios ao exercício, ao final do mesmo, sendo seguido de 5 min de recuperação (Quadro 6).

Após o registro de recuperação, com a esteira parada, foi realizada injeção i.v. de propranolol (7 mg.kg^{-1} de massa corporal, Sigma Aldrich Corporation, São Paulo, SP, Brasil), com novo registro contínuo da FC, em repouso, durante 15 min, ou seja, até o fármaco ter atingido seu pico de ação. O animal foi novamente submetido ao protocolo de exercício ($5; 7,5; 10$ e 15 m.min^{-1}) e recuperação (Quadro 6). Este experimento permitiu a análise da condição de repouso, na esteira, e de todos os instantes, do início ao final do exercício, da intensidade leve à intensidade mais elevada.

Quadro 6 – Esquema de registros da frequência cardíaca realizados durante os Experimentos 4 e 5



NOTA: Velocidade em metros por minuto (m.min^{-1}).

4.5.7 Experimento 5. Estudo do comportamento da frequência cardíaca, determinação da FC sob ação do propranolol, do ES, da frequência cardíaca intrínseca e do tônus vagal em repouso, na esteira, e ao exercício dinâmico de intensidade progressiva escalonada

Vinte e quatro horas após o Experimento 4, o animal foi submetido ao mesmo procedimento, porém com inversão da ordem de administração dos fármacos. Assim, procedeu-se novo estudo da FC em repouso e durante o exercício.

O exercício foi realizado em esteira rolante "Funbec, ESD-01" e compreendeu quatro estágios de 5 min cada um, nas velocidades 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹. Foram realizados registros conforme descrito na seção prévia (Quadro 6). O animal foi posicionado em raia individual na esteira rolante. Para registro, os eletrodos foram conectados, por meio de cabo apropriado, a um amplificador de sinais biológicos (HEWLETT-PACKARD, 8805C). Após conversão do sinal analógico em digital (STEMTECH, INC) o sinal foi registrado em um computador (GATEWAY 2000, 4DX2, 66MHz) provido de programa para aquisição e análise de sinais biológicos em tempo real (AT/CODAS). A frequência de amostragem também foi de 500 Hz.

A FC foi monitorizada pelo tempo necessário para que o animal se adaptasse às condições de experimento. Ao estar estável e compatível com valores já conhecidos para o estado de repouso foi efetuado registro da FC controle. Logo após, foi realizada injeção i.v. de propranolol (7 mg.kg⁻¹ de massa corporal, Sigma Aldrich Corporation, São Paulo, SP, Brasil), com registro contínuo da FC, até 15 min após a injeção, quando o fármaco atingiu seu pico de ação. O animal foi então submetido aos quatro estágios de exercício (5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹). Após o registro de recuperação, com a esteira parada, foi realizada injeção i.v. de metil-atropina (3 mg.kg⁻¹ de massa corporal, Sigma Aldrich Corporation, São Paulo, SP, Brasil). Realizou-se novo registro contínuo

da FC por 15 min, ou seja, até o fármaco ter atingido seu pico, e o animal foi novamente submetido ao protocolo de exercício e recuperação (Quadro 6).

Este experimento permitiu a análise da condição de repouso, na esteira, e de todos os instantes, do início ao final do exercício, da intensidade leve à intensidade mais elevada.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.1 Análises prévias à verificação do efeito do treinamento físico

Para verificar a homogeneidade da amostra foram comparadas a massa corporal e a idade dos animais no dia do Experimento 1. Os dados foram comparados a partir de teste-t de Student para dados não pareados, e são apresentados na seção *MATERIAL*. Os dados individuais podem ser verificados no Anexo A.

Com intuito de assegurar a realização das medidas nas mesmas condições de repouso na esteira, durante os experimentos, como descrito detalhadamente em seção prévia, a FC precedente ao exercício foi sempre observada e registrada. Antes da análise do efeito do TF foi necessário, portanto, verificar se as frequências cardíacas de repouso na esteira foram semelhantes, nos diversos experimentos. Escolheram-se os dados obtidos nos Experimentos 4 e 5 para comparação a partir de teste-t de Student para dados pareados. Não foi utilizada a FC de repouso medida no Experimento 1 porque o arquivo das medidas de 15 min de repouso de um dos ratos utilizados no estudo foi perdido, o que impossibilitou a análise de variância para medidas repetidas. Para este rato, entretanto, restou um registro de 15 seg de repouso, imediatamente prévio ao início do exercício, que permitiu verificar que o repouso foi compatível com o dos outros ratos.

Devido ao rigoroso controle das condições experimentais, não houve diferença significativa entre as frequências cardíacas em repouso na esteira, prévias às intervenções. Foi considerada, portanto, como FC controle de repouso na esteira, a FC média dos Experimentos 4 e 5. Os dados individuais encontram-se no Anexo B.

O modelo experimental permitiu também, duas medidas da FCI em dias separados. Antes da análise do efeito do TF, foi necessário verificar se as FCIs foram semelhantes nos Experimentos 4 e 5. A média dos 15 seg prévios ao exercício, em cada experimento, foi considerada como FCI de repouso, já que ambos fármacos já haviam atingido seus picos de ação. Os dados de repouso e exercício foram comparados, em conjunto, a partir de análise de variância para medidas repetidas, com contraste. Não houve diferença significativa entre as frequências cardíacas intrínsecas observadas após os bloqueios duplos atropina-propranolol (Experimento 4) e propranolol-atropina (Experimento 5), em repouso, ou exercício. Para análise do efeito do TF foi considerada, portanto, como FCI de repouso e de cada estágio de exercício, a média dos dois experimentos. Os dados individuais encontram-se no Anexo D.

Embora a significância estatística tenha sido fixada em $p \leq 0,05$ alguns valores de "P" podem ser encontrados no texto de apresentação dos resultados, a fim de que se possa ter noção da real probabilidade, mesmo quando não se atingiu o nível de significância estabelecida.

Com intuito de responder às questões concernentes a cada objetivo, realizaram-se os seguintes testes estatísticos:

5.2 Análise do efeito do treinamento físico sobre o comportamento: da frequência cardíaca, da frequência cardíaca intrínseca, da frequência cardíaca sob ação da atropina, do efeito vagal, do tônus vagal, da frequência cardíaca sob ação do propranolol, do efeito simpático e do tônus simpático, em repouso, prévio ao exercício, na esteira, e ao exercício físico dinâmico de intensidade progressiva escalonada

Foi utilizada análise de variância de dois caminhos para medidas repetidas, com contraste, para análise do efeito do TF sobre a FC, a FCI, a FCA, o EV, o TV, a FCP, o ES e o TS (MORRISON, 1967), nas condições conjuntas de repouso prévio ao exercício, na esteira, e de exercício. O exercício, de intensidade progressiva, compreendeu quatro estágios, cada um com 5 min de duração, e com velocidades de 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹, do estágio 1 ao 4, respectivamente. O conjunto da FC média em repouso e das FCs controles de exercício foi utilizado para análise do efeito do TF sobre o comportamento da FC em repouso na esteira, na passagem do repouso para o exercício, e durante o exercício de intensidade progressiva. Conforme detalhado anteriormente, foi considerada como FC de repouso a média dos Experimentos 4 e 5. As FCs ao exercício, consideradas como controles, foram as médias dos últimos 30 seg de cada um dos quatro estágios de exercício estudados no Experimento 1. No caso da FCI, foi considerada a média, do repouso e dos últimos 30 segundos de cada estágio de exercício, dos Experimentos 4 e 5.

O teste permitiu verificar se os perfis de comportamento foram paralelos; quando paralelos, se foram coincidentes; quando foram paralelos, mas não coincidentes, o contraste foi feito para ambos os grupos, em conjunto; quando não foram paralelos, foi efetuado contraste para cada grupo, separadamente, a fim de determinar se, apesar do perfil não ter sido paralelo, houve diferença em algum momento. A significância estatística foi fixada em $P \leq 0,05$.

5.3 Análise do efeito do treinamento físico sobre a responsividade ao isoproterenol e à metacolina

A FC no pico de ação de cada dose de isoproterenol e metacolina bem como as variações, da FC imediatamente prévia a injeção do fármaco ao pico de ação do mesmo, foram comparadas, entre o grupo S e o T, através análise de variância de dois caminhos para medidas repetidas, com contraste. O teste permitiu verificar se os perfis de comportamento foram paralelos, e em, sendo paralelos, se foram coincidentes. Como foram paralelos e coincidentes, o contraste foi feito para ambos os grupos em conjunto. A significância estatística foi fixada em $P < 0.05$.

6. RESULTADOS

Os resultados encontram-se dispostos conforme a ordem de objetivos estabelecidos. São apresentados na forma de figuras, para facilitar a visualização, e de tabelas, para identificação rápida de valores. Os dados individuais de cada animal são apresentados em anexo, possibilitando detalhamento. Por se tratar de variáveis que representam frequência cardíaca ou variações da mesma, optou-se pela apresentação de valores médios acompanhados do desvio padrão da média, por este representar a variação real de batimentos cardíacos por minuto (bpm) sobre a média. A significância estatística foi estabelecida em nível de $P \leq 0,05$. No entanto, os valores de “P” podem ser encontrados no texto de apresentação dos resultados.

Com intuito de visualizar o panorama geral dos resultados, apresenta-se, primeiramente, SUMÁRIO DOS RESULTADOS, que contempla o estado de REPOUSO, volitivo, na esteira; e a mesma situação de repouso associada ao EXERCÍCIO DE INTENSIDADE PROGRESSIVA. Nas seções subseqüentes, os resultados referentes ao exercício estão pormenorizados.

Pretende-se mostrar que o TF diminuiu a FC em repouso e ao exercício de intensidade submáxima, da leve à alta intensidade, à custa de diminuição da FCI, em ratos idosos. Ainda, que, em ratos idosos, independentemente de seu estado, de TF ou sedentarismo, a FC aumentou, em resposta ao exercício de intensidade

progressiva e submáxima, à custa de estimulação simpática, da baixa à alta intensidade; e que, somente em alta intensidade, a retirada da influência vagal foi importante para este aumento.

6.1 Sumário dos resultados

A condição de repouso, dos grupos S e T, está resumida em gráfico que agrega a FC controle, a FCI, o TV e o TS (Figura 1).

O conjunto de repouso e exercício de intensidade progressiva, dos grupos S e T, está representado de duas formas: associando a FC controle, o EV e o ES (Figura 2); e associando o comportamento da FCI, do TV e do TS (Figura 3).

6.1.1 Repouso

No presente estudo a FC de repouso foi menor em T que em S, como esperado, mesmo com esta medida tendo sido feita sobre a esteira, em repouso volitivo, prévio à realização dos protocolos de exercício (Figura 1).

Verificou-se a FC imediatamente prévia à injeção de fármacos bloqueadores da ação autonômica, com os ratos quietos sobre a esteira. Assim, existiram dois registros de 15 min (Experimentos 4 e 5).

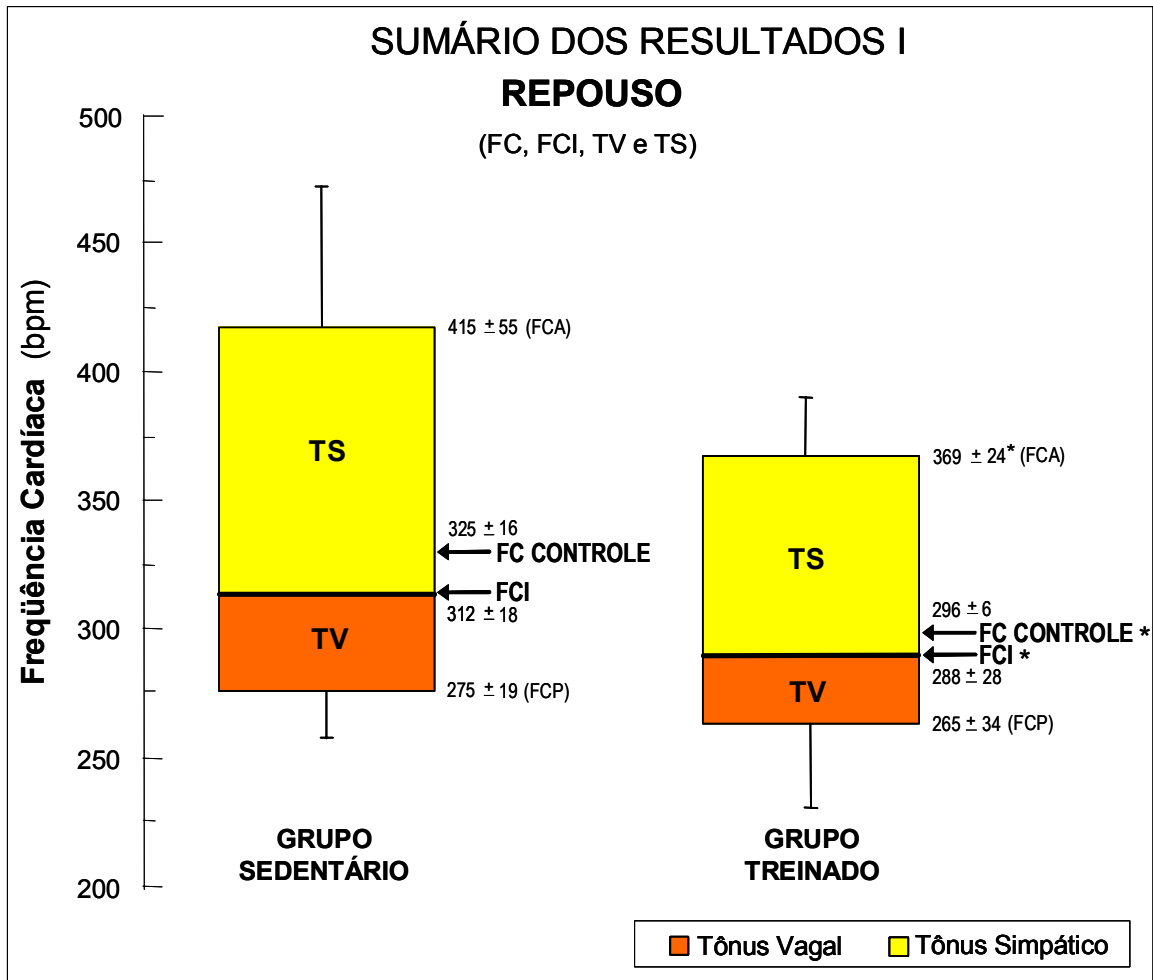


Figura 1 – Sumário dos resultados, na condição de repouso volitivo, na esteira (Frequência Cardíaca, Frequência Cardíaca Intrínseca, Tônus Vagal e Simpático)

COMENTÁRIO: *Notar que tanto a FC controle quanto a FCI foram menores no grupo Treinado que no grupo Sedentário. Não houve diferença nos determinantes autonômicos da FC. Assim, TS e TV foram similares entre os grupos. Das variáveis utilizadas para cálculo do TS, tanto a FCI quanto a FCA foram diferentes entre os grupos. Das variáveis utilizadas para cálculo do TV, apenas a FCI foi diferente entre os grupos.*

* Estatisticamente significativo em relação ao grupo sedentário. $P \leq 0,05$.

NOTAS: **Bpm**=batimentos por minuto; **FCA**=frequência cardíaca sob ação da atropina; **FC**=frequência cardíaca; **FCI**=frequência cardíaca intrínseca; **FCP**=frequência cardíaca sob ação do propranolol; **TS**=tônus simpático; **TV**=tônus vagal.

Dados apresentados em média ± desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos em cada grupo, $n = 10$.

Não houve diferença entre os registros obtidos nos Experimentos 4 e 5 e o grupo T apresentou FC, em repouso, menor que o grupo S, tanto no Experimento 4 quanto no Experimento 5 (Tabela 2). Tal diferença foi também observada ao se calcular a FC controle média dos dois experimentos (Figura 1, Tabela 2). Para cálculo dos efeitos vagal e simpático, bem como para análise conjunta dos dados de repouso e exercício

foi utilizada a FC controle média do repouso. Os dados individuais de FC controle, em repouso, são apresentados no Anexo B.

Entre os mecanismos estudados, que poderiam explicar a bradicardia de repouso encontrada (9%), a FCI foi a única variável que apresentou comportamento que pudesse justificar tal adaptação, pois foi 8% menor em T que em S (Figura 1). Não se observou aumento da atividade vagal com o TF. Ao contrário, o TV tendeu a ser menor em T que em S ($P=0,068$). A atividade simpática, avaliada a partir do TS, não foi modificada pelo TF ($P=0,392$) (Figura 1).

Tabela 2 – Frequência cardíaca dos grupos Sedentário e Treinado, em repouso volitivo, nos Experimentos 4 e 5, e em média dos dois experimentos

GRUPO	FC REPOUSO (bpm)			P (Exp.4 vs. Exp.5)
	Exp. 4	Exp. 5	Média	
Sedentário	327±19	322±16	325±17	0,319
Treinado	296±8	297±4	296±6	0,514
P (entre grupos)	<0,001*	<0,001*	<0,001*	

* Significância estatística entre grupos, $P \leq 0,05$

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **Exp.**= experimento; **FC**= frequência cardíaca; **P**= nível de significância estatística; **vs.**= versus.

Dados apresentados em média ± desvio padrão da média, em bpm.

Nº ratos de cada grupo, $n = 10$.

COMENTÁRIO: Observe-se que a FC em repouso foi menor no grupo treinado, em ambos os experimentos, e que a diferença foi mantida ao se fazer a média entre eles. Não houve diferença entre os experimentos, em nenhum dos grupos.

6.1.2 Exercício de Intensidade Progressiva

O principal achado do presente estudo foi a menor FCI em T que em S. Este resultado foi encontrado não apenas na condição de repouso, mas também em todas as sobrecargas de exercício estudadas (Figura 3).

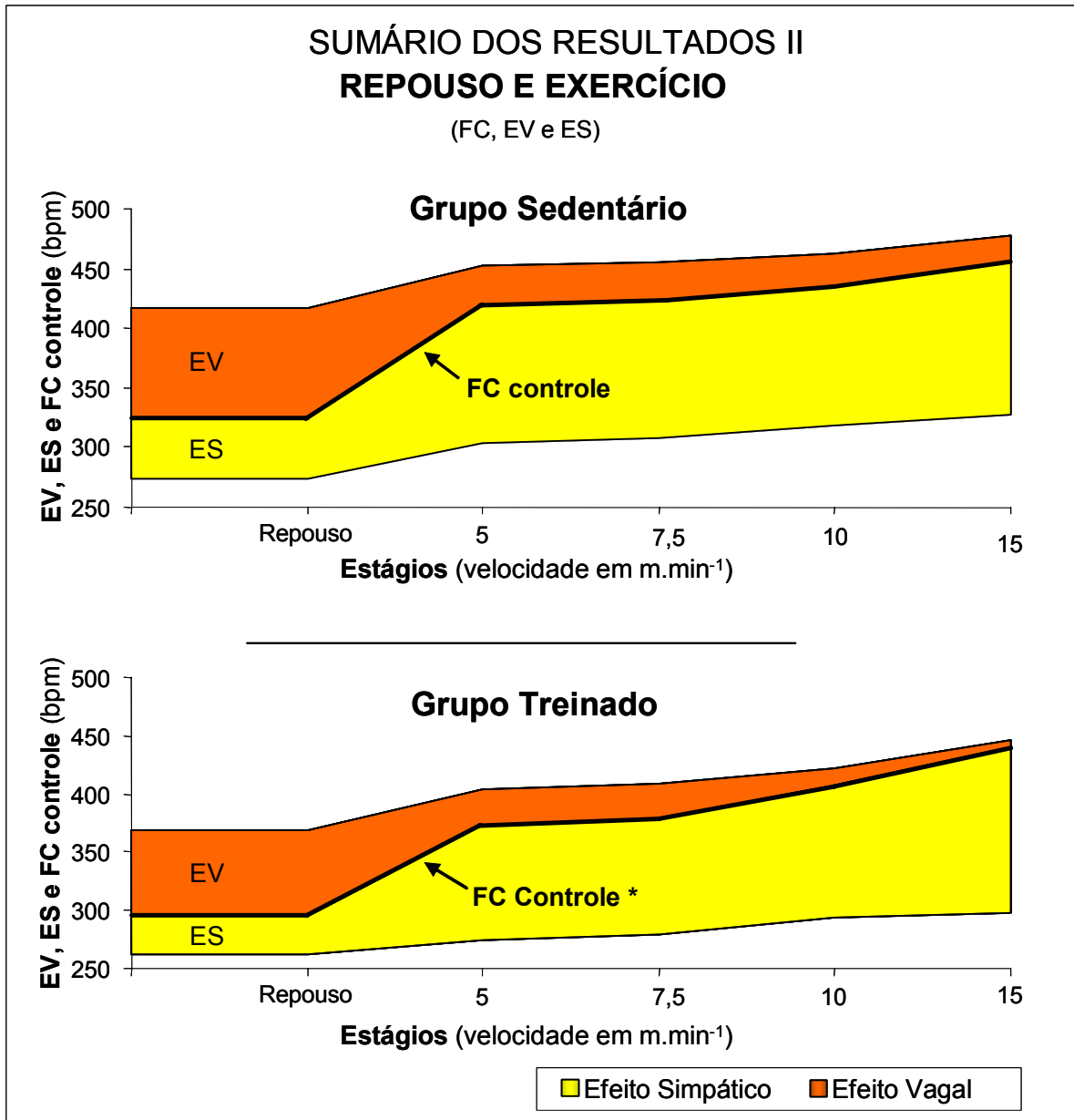


Figura 2 – Efeito vagal, efeito simpático e frequência cardíaca controle, em repouso voluntário, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: Os níveis de FC controle foram sempre mais baixos no grupo Treinado que no Sedentário, mas o EV e o ES, não foram diferentes entre os grupos. Notar que o ES aumentou abruptamente do repouso para o exercício e, novamente, no estágio de maior intensidade. O EV diminuiu, mas apenas na passagem do repouso para o exercício.

* Estatisticamente significante em relação ao grupo sedentário. P≤0,05.

NOTAS: **Bpm**=batimentos por minuto; **ES**=efeito simpático; **EV**=efeito vagal, **FC controle**=frequência cardíaca controle; **m.min⁻¹**= metros por minuto.

Dados apresentados representam médias de cada estágio, em bpm.

Número de ratos em cada grupo, n = 10.

No presente estudo não foi observada diferença na atividade vagal que pudesse justificar a menor FC do grupo T. Ao contrário do que se supunha, o TV tendeu a ser menor em T que em S, tanto no repouso quanto no exercício (Figura 3). A medida do

TV ($P=0,068$) se mostrou mais sensível para detecção de diferenças que a medida do EV ($P=0,440$); (Figura 2). Adicionalmente, a resposta à estimulação colinérgica não foi diferente entre os grupos.

O TF não modificou nenhum dos índices de atividade simpática estudados (Figura 2, Figura 3). Tanto o ES quanto o TS foram similares entre os grupos; o mesmo acontecendo com a resposta ao estímulo adrenérgico. Encontrou-se, entretanto, interessante resultado concernente à contribuição autonômica para aumento da FC ao exercício.

No presente estudo, em ratos idosos, a atividade simpática contribuiu de forma importante para o aumento da FC ao exercício, da baixa à alta intensidade, independentemente do estado de treinamento físico ou sedentarismo. Este achado foi confirmado tanto pela análise do ES (Figura 2) quanto do TS (Figura 3). Já a atividade vagal pareceu ser importante apenas para o aumento da FC em alta intensidade, pois só houve redução significativa do TV, em relação ao repouso, a partir do terceiro estágio de exercício (Figura 3), quando a intensidade já era elevada. No presente estudo, a medida do EV (Figura 2) contrariou o resultado obtido pela medição do TV (Figura 3); houve diminuição do EV, mas apenas na passagem do repouso para o exercício. Nem mesmo os resultados alusivos ao exercício de alta intensidade foram concordantes entre “efeito e tônus”. Conseqüentemente, a importância da retirada vagal para o aumento da FC, em intensidade de exercício elevada, também só pôde ser identificada fazendo-se análise do TV (Figura 3).

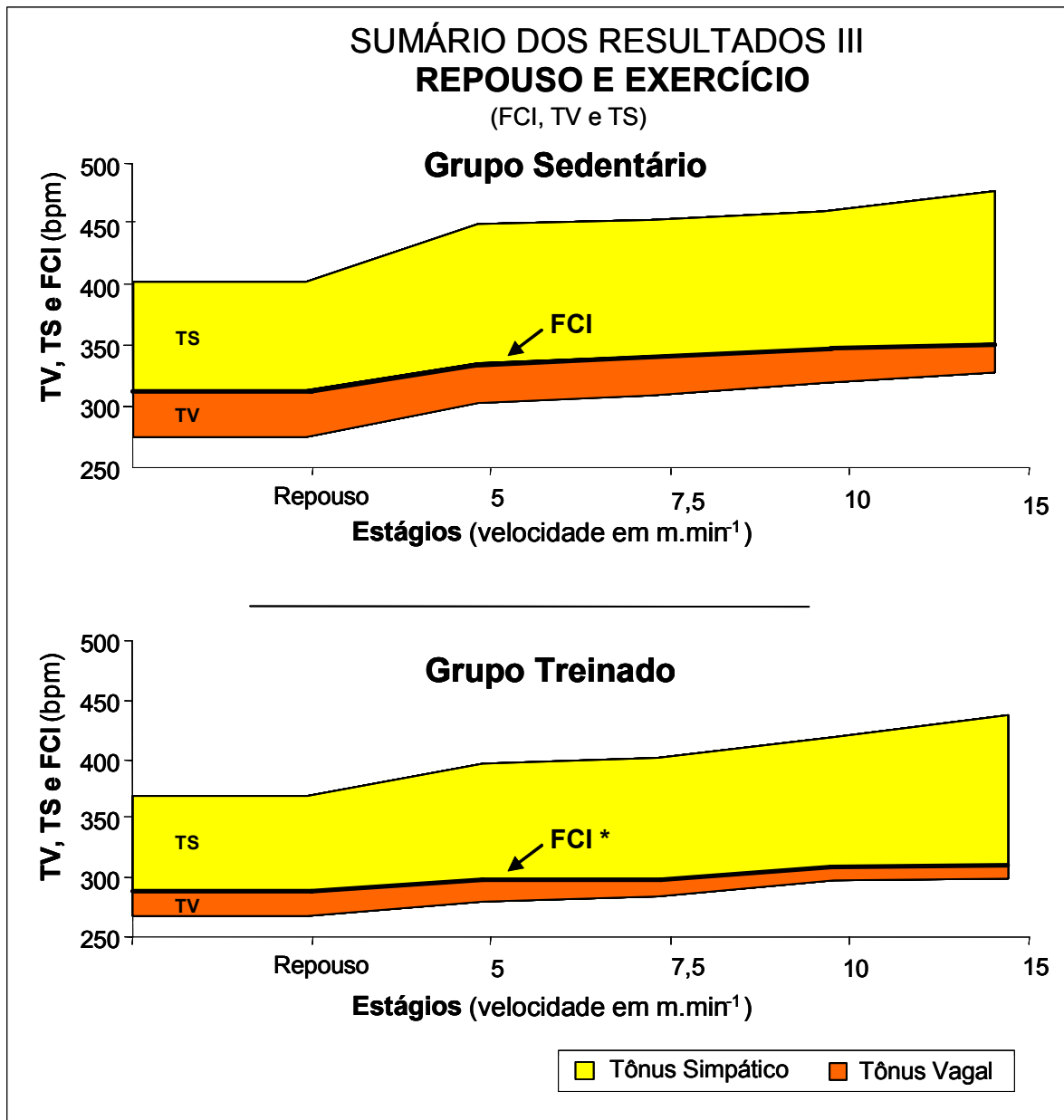


Figura 3 – Tônus vagal, tônus simpático e frequência cardíaca intrínseca, em repouso volitivo (15 segundos prévios ao exercício), na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: Notar o reduzido TV, em ambos os grupos, especialmente no grupo Treinado, e o elevado TS, em ambos os grupos, da condição de repouso ao final do exercício; a FCI foi menor no grupo Treinado que no grupo Sedentário, em todos os estágios do exercício ($P < 0,05$), mas os tônus vagal ($P = 0,068$) e simpático ($P = 0,392$) não diferiram entre os grupos. O TS aumentou na passagem do repouso para o exercício, mais abruptamente no grupo sedentário; e, novamente, no estágio de maior intensidade; o TV diminuiu em relação ao repouso, mas apenas a partir do terceiro estágio do exercício, mostrando que a retirada vagal só contribuiu para o aumento da FC em alta intensidade.

* Estatisticamente significativa em relação ao grupo sedentário. $P \leq 0,05$.

NOTAS: **Bpm**=batimentos por minuto; **FCI**=frequência cardíaca intrínseca; **m.min⁻¹**=metros por minuto; **TS**=tônus simpático; **TV**=tônus vagal.

Dados apresentados representam médias de cada estágio, em bpm.

Número de ratos em cada grupo, $n = 10$.

6.2 Efeito do treinamento físico sobre o comportamento da frequência cardíaca e da frequência cardíaca intrínseca durante o exercício

6.2.1 Frequência cardíaca controle

Os perfis de comportamento da FC dos grupos S e T foram paralelos ($P=0,072$) e não-coincidentes ($P=0,030$). Os dados individuais encontram-se no Anexo C.

T apresentou médias de FC controle menores que S (Figura 4; Tabela 3). A diferença média, considerando todos os intervalos, em conjunto, do repouso ao final do exercício, foi de 31 bpm, ou ainda, 8%. Entretanto, com o aumento da intensidade do exercício, as diferenças entre os grupos diminuíram (50 bpm, 11%; 43 bpm, 20%; 27 bpm, 6%; e 14 bpm, 3%; nos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$, respectivamente), mas continuaram significantes.

Quanto à modificação da FC entre os estágios (Figura 4), esta aumentou no início do exercício ($P<0,001$), permaneceu estável até o segundo estágio ($P=0,106$), e voltou a subir, até final do exercício ($P\leq 0,001$). O acréscimo na FC, do repouso ao último estágio de exercício, foi de 130 bpm em S e 145 bpm em T. Em S, 75% deste aumento ocorreram na passagem do repouso para o exercício, enquanto em T, 41% do aumento total de FC ocorreram nesta fase. Do primeiro (5 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$) para o segundo estágio (7,5 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$), o aumento de FC não foi significativo (2% em S; 4% em T); do segundo para o terceiro estágio (10 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$) houve 4% do acréscimo em S e 19% em T; e do terceiro para o quarto estágio (15 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$) ocorreram 16% do aumento em S e 23% em T.

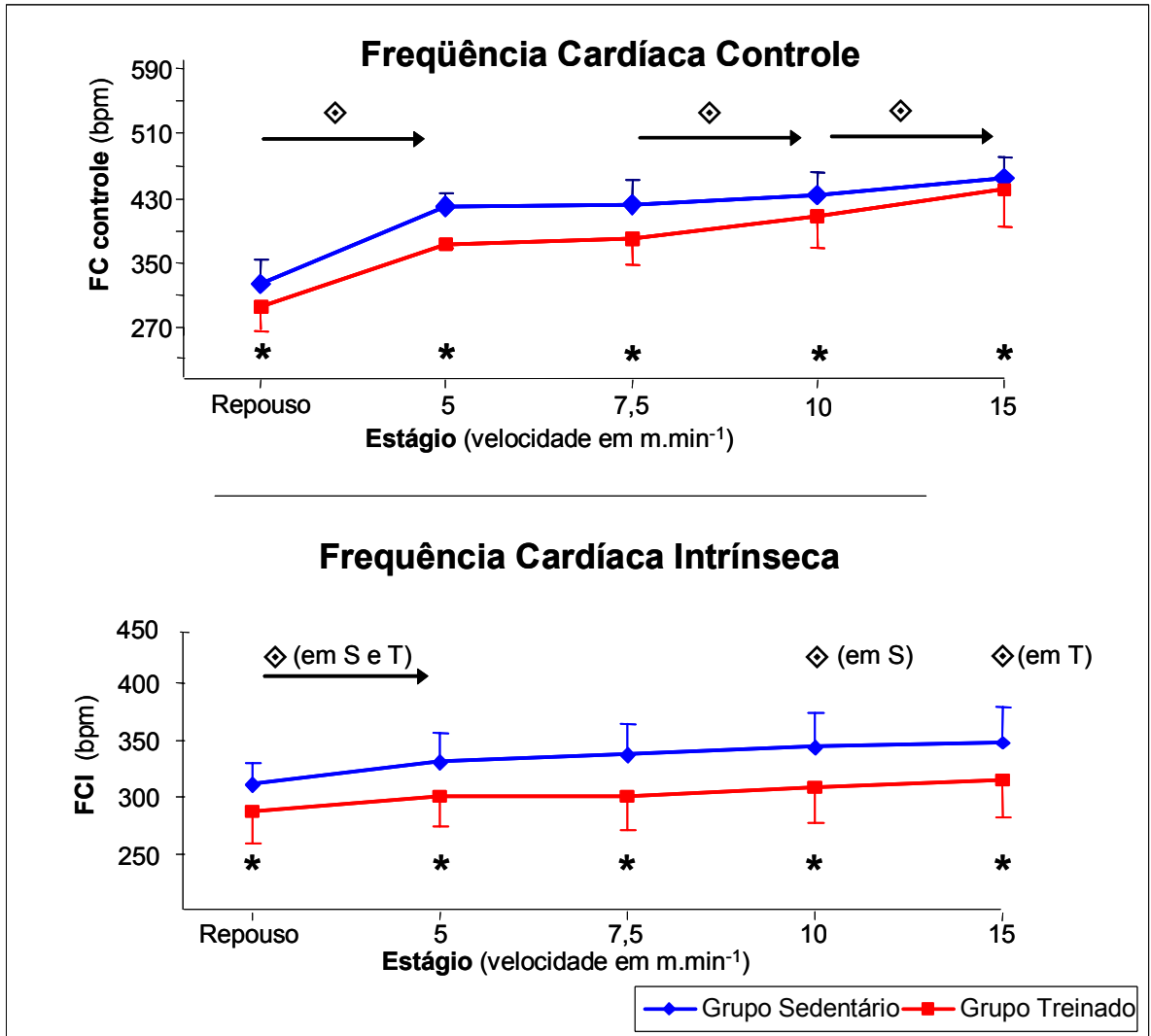


Figura 4 – Frequência cardíaca controle e frequência cardíaca intrínseca, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício de intensidade progressiva (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: Observe-se que a FC controle do grupo T foi menor em repouso e durante todo o exercício. A FC controle aumentou do repouso para o primeiro estágio de exercício, se manteve estável até o segundo estágio e voltou a aumentar, do terceiro estágio até o final do exercício. Notar também que a FCI foi menor no grupo Treinado, em repouso e em todos os estágios do exercício, e que esta diferença não foi atenuada pelo aumento da intensidade do exercício, como aconteceu com a FC controle. A FCI modificou-se de estágio para estágio, em ambos os grupos.

◇ Aumento significativo entre estágios, P < 0,05.

* Estatisticamente significativo em relação ao grupo sedentário, P < 0,05.

NOTAS: **Bpm**=batimentos por minuto; **FC controle**=frequência cardíaca controle; **FCI**=frequência cardíaca intrínseca média dos experimentos 4 e 5; **m.min⁻¹**=metros por minuto; **S**=grupo sedentário; **T**=grupo treinado.

Dados apresentados em média ± desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, n = 10.

Tabela 3 – Frequência cardíaca controle, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	FC CONTROLE (bpm)				
	Repouso	5 m.min ⁻¹	7,5 m.min ⁻¹	10 m.min ⁻¹	15 m.min ⁻¹
Sedentário	325±16	420±29	423±29	434±25◇	455±30◇
Treinado	296±6*	374±33*	380±39*	407±46*	441±48*

* Significância estatística entre grupos, $P \leq 0,05$.

◇ Diferença entre estágios, em ambos os grupos.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **FC**= frequência cardíaca; **m.min⁻¹** = metros por minuto.

Dados apresentados em média± desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, $n = 10$.

Para o repouso foi considerada a média de dois períodos de 15 minutos nos Experimentos 4 e 5.

COMENTÁRIO: Observe-se que a FC controle foi menor no grupo treinado, em todos os estágios. Houve aumento do repouso para o exercício, estabilização, e novo aumento a partir do terceiro estágio até o final do exercício, em ambos grupos.

6.2.2 Frequência cardíaca intrínseca

Tabela 4 – Frequência cardíaca intrínseca média dos Experimentos 4 e 5, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	FREQUÊNCIA CARDÍACA INTRÍNSECA (bpm)				
	Repouso	5 m.min ⁻¹	7,5 m.min ⁻¹	10 m.min ⁻¹	15 m.min ⁻¹
Sedentário	312±18◇	332±24	339±26	344±30◇	348±31
Treinado	288±28*◇	302±27*	301±30*	308±30*	316±31*◇

* Significância estatística entre grupos, $P \leq 0,05$.

◇ Diferença entre os estágios, em cada grupo, separadamente, $P \leq 0,05$.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **m.min⁻¹** = metros por minuto.

Dados apresentados em média ± desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, $n = 10$.

Para o repouso foi considerada a média de dois intervalos dos 15 segundos prévios ao exercício, nos Exp. 4 e 5.

COMENTÁRIO: Observe-se que a FCI foi menor no grupo treinado, em todos os estágios. Houve aumento entre o repouso e o exercício, em ambos os grupos; no terceiro estágio (sedentário) e no quarto estágio (treinado).

Os valores individuais de FCI nos Experimentos 4 e 5, bem como os valores individuais da média deles, encontram-se no Anexo D.

Nos Experimentos 4 e 5, a comparação da FCI mostrou perfis de comportamento paralelo ($P=0,219$ e $P=0,089$, respectivamente) e não coincidente ($P=0,023$ e $P=0,015$, respectivamente). Ou seja, as FCIs observadas foram menores em T que em S, em ambos os Experimentos 4 e 5 ($P=0,023$ e $P=0,015$, respectivamente). Ao se fazer a média dos dois experimentos, a diferença entre os grupos permaneceu significativa ($P<0,001$), no repouso e em todas as sobrecargas de exercício. No entanto, os perfis deixaram de ser paralelos ($P=0,044$). Neste caso, como os comportamentos da FCI média não foram paralelos, o contraste foi aplicado separadamente para cada grupo, e os grupos foram comparados entre si, estágio a estágio ($P<0,001$ em todos os estágios). As FCIs de todos os estágios em conjunto, em T, foram, em média, 30 bpm menores que em S, ou seja, 9% menores.

Quanto às diferenças entre os estágios, tanto em S quanto em T houve aumento da FCI, do repouso para o exercício e também entre os estágios de exercício. No grupo S a FCI aumentou a partir do terceiro estágio de exercício ($10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$), enquanto em T este aumento só foi significativo no quarto estágio ($15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$). Esta foi a razão pela qual o comportamento dos grupos não foi paralelo ($P=0,044$; Figura 4).

Notar que, em contraste com o padrão de comportamento da FC, que mostrou atenuação das diferenças entre os grupos, com o aumento da intensidade do exercício (Figura 4), a FCI mostrou diferenças constantes ao longo de todo exercício: 8% no repouso; 11% no primeiro estágio de exercício ($5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$); 11% no segundo ($7,5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$); 10% no terceiro ($10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$); e 9% no último ($15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$).

6.3 Efeito do Treinamento físico sobre a atividade vagal para o coração (efeito vagal e tônus vagal)

Os perfis de comportamento de ambos FCA e EV foram paralelos ($P=0,610$ e $0,803$, respectivamente) entre os grupos, mas a FCA não foi coincidente ($P=0,006$) e o EV o foi ($P=0,440$). Os dados individuais da FCA e do EV encontram-se no Anexo E.

Assim, embora a FCA tenha sido menor em T que em S ($P=0,006$), tanto em repouso quanto durante o exercício, o EV não foi diferente entre T e S ($P=0,440$), em nenhuma das condições (Tabela 5, Figura 5). Os dados individuais da FCA podem ser consultados no Anexo E.

Tabela 5 – Efeito vagal, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 $m.min^{-1}$), nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	EFEITO VAGAL (bpm)				
	Repouso	5 $m.min^{-1}$	7,5 $m.min^{-1}$	10 $m.min^{-1}$	15 $m.min^{-1}$
Sedentário	91 ₊₆₁	33 ₊₃₆	33 ₊₃₀	29 ₊₂₇	23 ₊₂₂
Treinado	73 ₊₂₃ ◇	30 ₊₄₂	29 ₊₄₀	15 ₊₄₂	5 ₊₅₇

◇ Diferença entre estágios, em ambos os grupos.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **m.min⁻¹**= metros por minuto.

Dados apresentados em média \pm desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, $n=10$.

COMENTÁRIO: Observe-se que não houve diferença entre os grupos. O efeito vagal diminuiu apenas na passagem do repouso para o exercício

Quanto à diferença entre os estágios, a FCA aumentou, em ambos os grupos, na passagem do repouso para o exercício ($P<0,001$); manteve-se relativamente estável até o terceiro estágio, com velocidade de 10 $m.min^{-1}$ ($P=0,980$, do primeiro estágio para o segundo, e $P=0,162$, do segundo estágio para o terceiro); aumentando no último estágio, de 15 $m.min^{-1}$ ($P=0,011$).

O EV diminuiu apenas na passagem do repouso para o exercício ($P < 0,001$). Os dados de EV e TV não se mostraram concordantes (Figura 5).

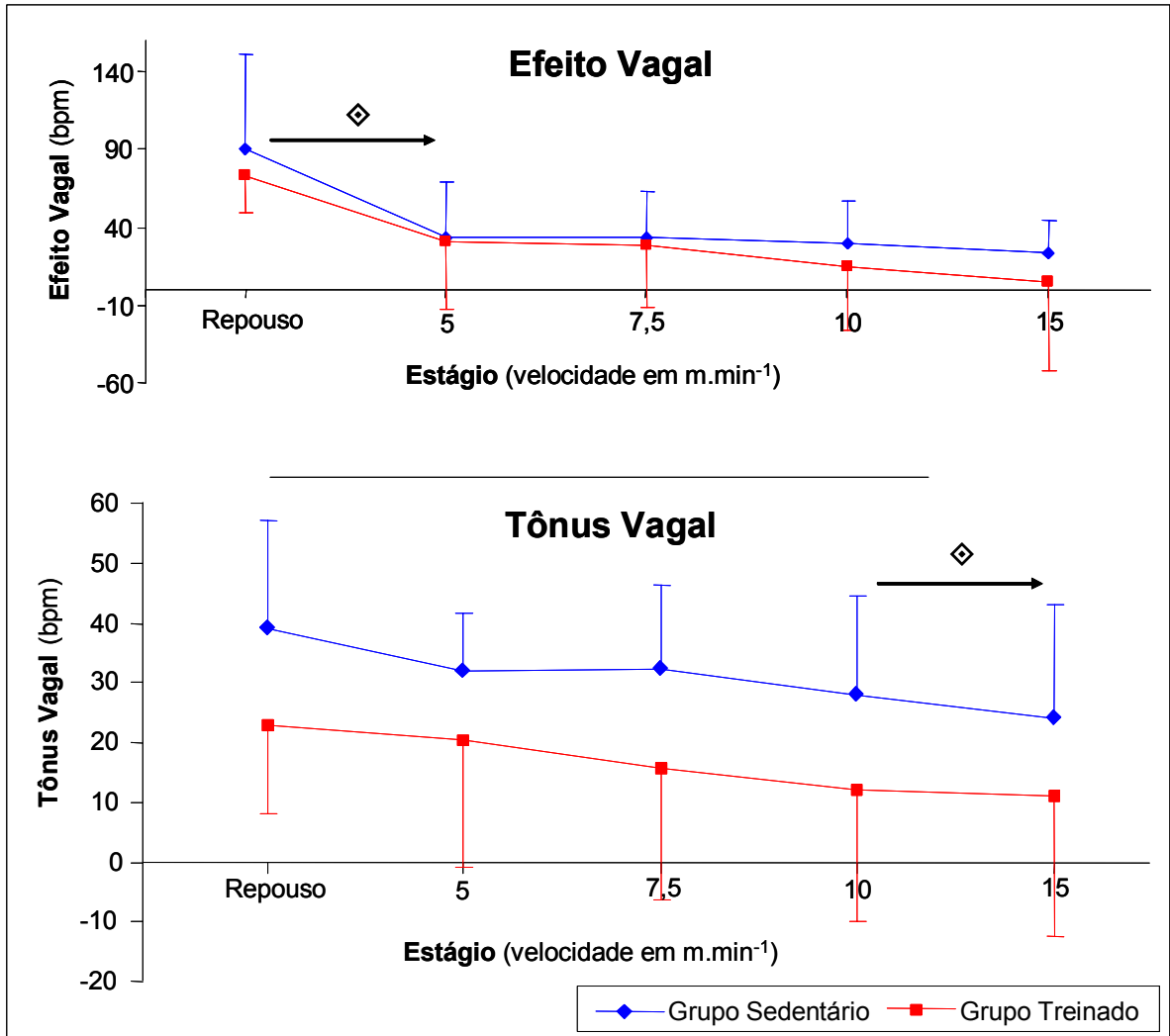


Figura 5 – Efeito vagal e tônus vagal, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: Notar que o comportamento entre os grupos foi paralelo, em ambas as variáveis, e que não houve diferença entre os grupos, em nenhuma das variáveis estudadas. Embora o tônus vagal não tenha sido significativamente menor no grupo Treinado que no Sedentário, houve tendência à redução ($P=0,068$), diferentemente do efeito vagal ($P=0,440$). O efeito vagal reduziu apenas na passagem do repouso para o exercício ($P < 0,001$). Já, o tônus vagal diminuiu significativamente, em relação ao repouso, apenas a partir do terceiro estágio de exercício (10 m.min⁻¹, $P=0,008$). Durante o exercício, o tônus vagal permaneceu estável do primeiro ao terceiro estágio e reduziu na última e mais intensa carga de exercício ($P=0,030$).

◇ Redução significativa entre os estágios, em ambos os grupos, $P < 0,05$.

NOTAS: Bpm= batimentos por minuto; m.min⁻¹=metros por minuto.

Dados apresentados em média \pm desvio padrão da média, em bpm.

Numero de ratos em cada grupo, $n = 10$.

As frequências cardíacas intrínsecas foram semelhantes nos Experimentos 4 e 5.

Assim, para cálculo do TV, foi utilizada a FCI média dos dois experimentos.

Os perfis de comportamento do TV foram paralelos ($P=0,916$) e coincidentes ($P=0,068$), ou seja, o TV não diferiu significativamente entre os grupos S e T (Figura 5, Tabela 6). Os dados individuais são mostrados no Anexo F.

Quanto às diferenças entre os estágios, o TV, em resposta ao exercício, só diminuiu, em relação ao repouso, a partir do terceiro estágio ($10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $P=0,008$). Durante o exercício, o TV se manteve estável do primeiro ($5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) ao terceiro estágio ($10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $p>0,2$), diminuindo no final do exercício ($15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; $P=0,030$).

A redução total no TV, do repouso ao final do exercício, foi de 12 bpm em T e 13 bpm em S. Durante o exercício, esta queda foi de 9 bpm em T e 8 bpm em S.

Tabela 6 – Tônus vagal, em repouso volitivo, na esteira e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$), nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	TÔNUS VAGAL (bpm)				
	Repouso	5 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$	7,5 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$	10 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$	15 $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$
Sedentário	37 \pm 17	32 \pm 10	32 \pm 14	28 \pm 16	24 \pm 19
Treinado	23 \pm 15	20 \pm 21	16 \pm 22	12 \pm 22	11 \pm 23 \diamond

\diamond Diferença entre estágios, em ambos os grupos.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **m.min⁻¹**= metros por minuto.

Dados apresentados em média \pm desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, $n = 10$.

COMENTÁRIO: Observe-se que não houve diferença entre os grupos ($P=0,068$), mas o tônus vagal tendeu a ser menor no grupo treinado. Só diminuiu, em relação ao repouso, no quarto estágio de exercício ($15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$).

6.4 Efeito do treinamento físico sobre a atividade simpática para o coração (efeito simpático e tônus simpático)

Como as FCs controles de repouso foram semelhantes nos Experimentos 4 e 5, para cálculo do ES foi utilizada, como FC controle, a FC média dos dois experimentos.

Os perfis de comportamento da FC sob bloqueio farmacológico com propranolol foram paralelos ($P=0,410$) e coincidentes ($P=0,182$), não havendo, portanto, diferença entre os grupos. Da mesma forma, o ES (Figura 4, Tabela 7) também apresentou perfil paralelo ($P=0,056$) e não foi diferente entre os grupos ($P=0,548$). Os dados individuais da FCP e do ES são mostrados no Anexo G.

Embora a FCP tenha aumentado no início do exercício e, de estágio para estágio, a partir do segundo estágio ($P\leq 0,001$), o efeito simpático aumentou abruptamente na passagem do repouso para o exercício ($P\leq 0,001$), permaneceu estável nos estágios intermediários ($P>0,8$) e aumentou novamente no estágio de maior intensidade ($P=0,014$). Assim, o ES aumentou 78 bpm em S e 113 bpm em T. Na passagem do repouso para o exercício, de intensidade leve ($5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$) ocorreram os maiores aumentos do ES (60% em T, e 86% em S). O segundo maior aumento aconteceu do terceiro para o quarto estágio de exercício, entre $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ e $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ (27% em T; 17% em S).

Tabela 7 – Efeito simpático, em repouso e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e $15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$), nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	EFEITO SIMPÁTICO				
	(bpm)				
	Repouso	$5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$	$7,5 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$	$10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$	$15 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$
Sedentário	50 ± 14	$117\pm 22\blacklozenge$	114 ± 22	115 ± 28	$128\pm 30\blacklozenge$
Treinado	31 ± 34	$99\pm 42\blacklozenge$	101 ± 40	113 ± 34	$144\pm 39\blacklozenge$

\blacklozenge Diferença entre estágios, em ambos os grupos.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **m.min⁻¹** metros por minuto.

Dados são apresentados em média \pm desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, $n = 10$.

COMENTÁRIO: Observe-se que o efeito simpático não foi diferente entre os grupos. Houve aumento na passagem do repouso para o exercício, estabilização nos estágios intermediários, e novo aumento no último estágio.

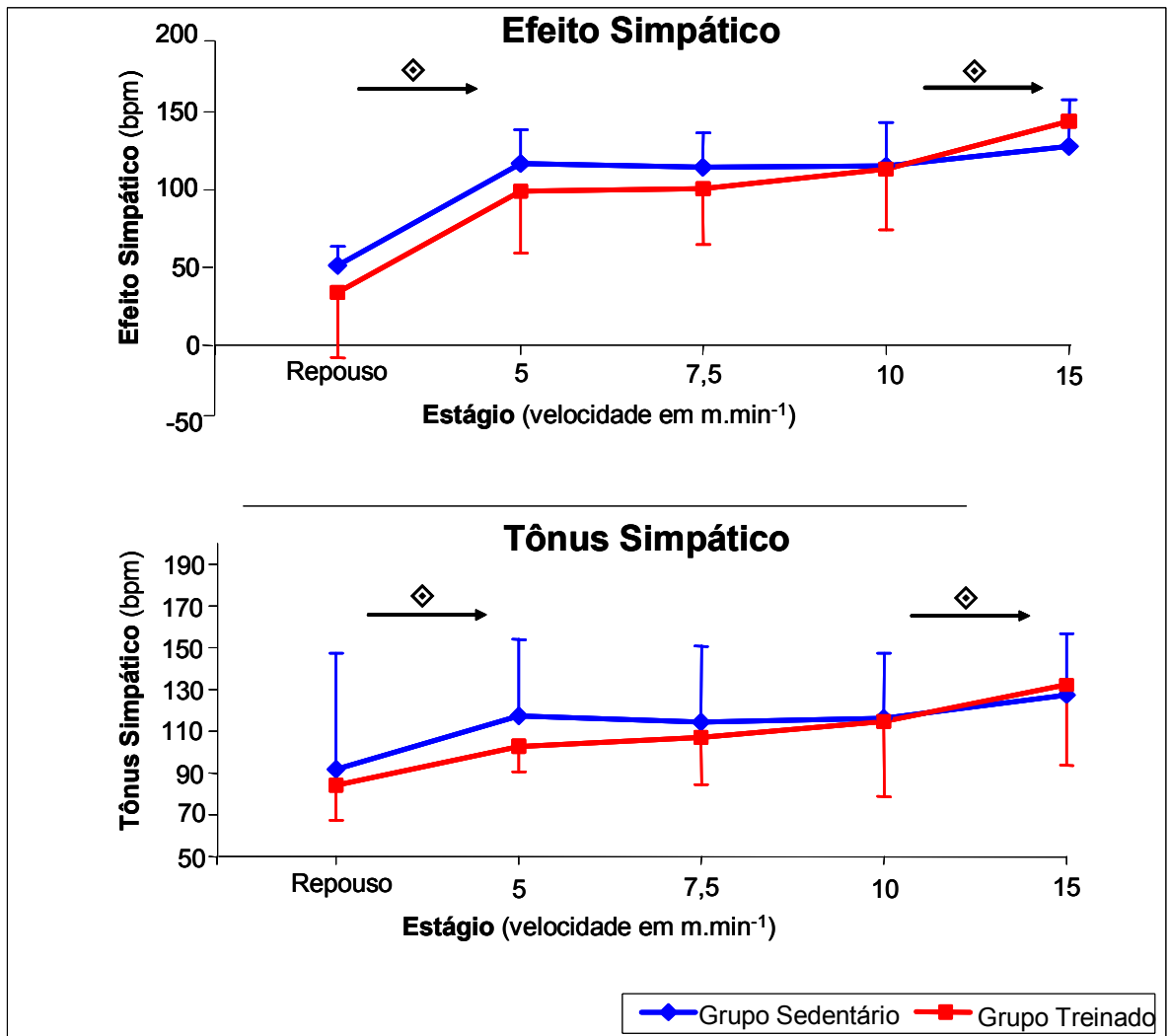


Figura 6 - Efeito simpático e tônus simpático, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: *Notar que o comportamento entre os grupos foi paralelo e coincidente, tanto para o efeito quanto para o tônus simpático. Houve aumento abrupto na passagem do repouso para o exercício, estabilidade nos estágios intermediários e novo aumento no estágio de maior intensidade, em ambas as variáveis.*

◆ Aumento significativo entre os estágios, em ambos os grupos $P \leq 0,05$.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **m.min⁻¹**=metros por minuto.

Dados apresentados em média \pm desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos em cada grupo, $n = 10$.

Como as frequências cardíacas intrínsecas foram semelhantes nos Experimentos 4 e 5, para cálculo do TS, foi utilizada a FCI média dos dois experimentos. Os dados individuais são mostrados no Anexo H.

Corroborando os resultados do ES, o TS apresentou perfil paralelo ($P=0,376$) e coincidente ($P=0,392$), não diferindo, portanto, entre os grupos (Figura 6, Tabela 8).

Tabela 8 – Tônus simpático, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício (30 segundos finais dos quatro estágios de exercício estudados: 5; 7,5; 10 e 15m.min⁻¹), nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO	TÔNUS SIMPÁTICO				
	(bpm)				
	Repouso	5 m.min ⁻¹	7,5 m.min ⁻¹	10 m.min ⁻¹	15 m.min ⁻¹
Sedentário	92±55	117±37◇	115±36	116±31	128±29◇
Treinado	84±17	103±12◇	107±23	115±36	132±38◇

◇ Diferença entre estágios, em ambos os grupos.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **m.min⁻¹**= metros por minuto.

Dados apresentados em média ± desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos de cada grupo, $n = 10$.

COMENTÁRIO: Observe-se que não houve diferença entre os grupos. Houve aumento do repouso para o exercício, estabilização nos estágios intermediários, e novo aumento no último estágio.

As variações entre os estágios também apresentaram comportamento semelhante ao do ES. Houve aumento na passagem do repouso para o exercício ($P=0,021$); estabilização nos estágios intermediários; e novo aumento, apenas no último estágio de exercício ($P=0,049$).

O aumento do TS, do repouso ao final do exercício, foi de 48 bpm em T e 36 bpm em S. Corroborando os resultados do ES, este aumento foi distribuído da seguinte forma: maior aumento na passagem do repouso para o exercício (40% em T; 69% em S); modificações não significantes, do primeiro (5m.min⁻¹) para o segundo (7,5m.min⁻¹) (8% em T; -2% em S) e do segundo para o terceiro (10m.min⁻¹) estágios (17% em T; 3% em S); e aumento, do terceiro para o último estágio de exercício (15m.min⁻¹, 35% em T e 33% em S).

Desta forma, o maior aumento de atividade simpática ocorreu em resposta ao início do exercício de leve intensidade e só houve novo aumento da ação simpática, no final do exercício.

6.5 Efeito do treinamento físico sobre a frequência cardíaca em resposta a doses crescentes de Isoproterenol e Metacolina

No presente estudo, entretanto, não foi observada modificação na resposta da FC a estímulos adrenérgicos ou mesmo muscarínicos, corroborando os achados dos efeitos e tônus, que também não foram diferentes entre os grupos.

6.5.1 Isoproterenol

A resposta a oito doses crescentes de isoproterenol foi comparada usando-se a variação entre a FC no pico de ação do fármaco e a FC controle, imediatamente prévia a cada injeção (Figura 7). Para tanto, primeiramente, verificou-se a FC no pico de ação do fármaco (Figura 7) e desta se subtraiu a FC controle, imediatamente prévia à injeção.

A FC no pico de ação de doses crescentes de isoproterenol, em T apresentou perfil paralelo ($P=0,407$) e coincidente ($P=0,764$) com S. Houve aumento da resposta, de dose para dose, em todas as doses estudadas. Esta medida, no entanto, não é corrigida para a FC prévia à injeção, logo, não indica precisamente a responsividade do sistema.

A variação entre a FC no pico de ação do fármaco e a FC controle, imediatamente prévia à injeção, em T, também apresentou perfil de comportamento paralelo ($P=0,919$) e coincidente ($P=0,446$) com S. Não houve aumento da resposta da dose 1 para a dose 2 ($P=0,056$) e nem da dose 7 para a dose 8 ($P=0,099$).

A responsividade ao isoproterenol, portanto, não foi diferente entre os grupos.

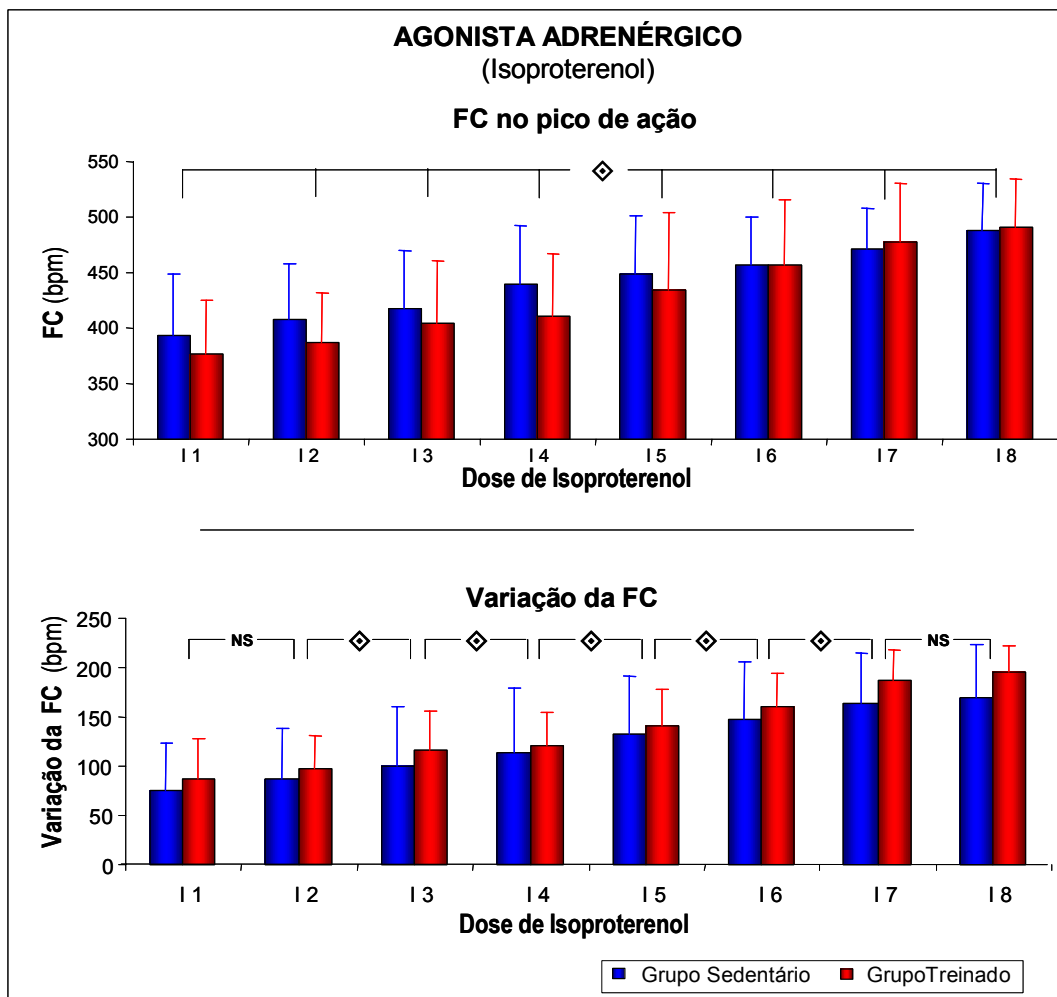


Figura 7 – Frequência cardíaca no pico de ação de doses crescentes de isoproterenol (I1 à I8) e variação da frequência cardíaca às mesmas doses, nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: Notar que a FC no pico de ação do isoproterenol foi semelhante entre os grupos, com aumento significativa da mesma em relação ao aumento da dose, em todas as doses ($P<0,001$), em ambos os grupos. A variação da FC em resposta ao isoproterenol também foi semelhante entre os grupos. Não houve, entretanto, aumento de resposta, em função do aumento da dose, da dose 1 para a dose 2, e da dose 7 para a dose 8, em nenhum dos grupos. Houve aumento significativa da resposta em relação ao aumento da dose, da dose 2 até a dose 7 ($P<0,001$), em ambos os grupos.

◇ Diferença significativa entre as doses, em ambos os grupos.

NS Não significativa entre as doses ($P>0,05$).

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **FC**=frequência cardíaca; **I**=dose de isoproterenol;

Dados apresentados em média \pm desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos em cada grupo, $n = 10$.

6.5.2 Metacolina

A resposta a quatro doses crescentes de metacolina foi comparada considerando-se a variação entre a FC controle, imediatamente prévia a cada injeção e a FC no pico de ação do fármaco (Figura 8). Para isto, primeiramente a FC no pico de ação do fármaco (Figura 8) foi identificada.

A FC no pico de ação de doses crescentes de metacolina, em T apresentou perfil paralelo ($P=0,770$) e não coincidente ($P=0,018$) com S, sendo que as médias de T foram menores que as médias de S (Figura 8). Não houve aumento de resposta de dose para dose, em nenhuma das doses estudadas ($P=0,996$).

A variação entre a FC controle, imediatamente prévia a cada injeção, e a FC no pico de ação do fármaco, em T, apresentou perfil de comportamento paralelo ($P=0,230$) e coincidente ($P=0,984$) com S. Não houve aumento da resposta de dose para dose ($P=0,338$).

Apesar da FC no pico da ação da metacolina ter sido menor em T que em S, a responsividade à metacolina, não foi diferente entre os grupos, pois, quando se calculou a variação da FC controle para a FC no pico de ação, a diferença desapareceu.

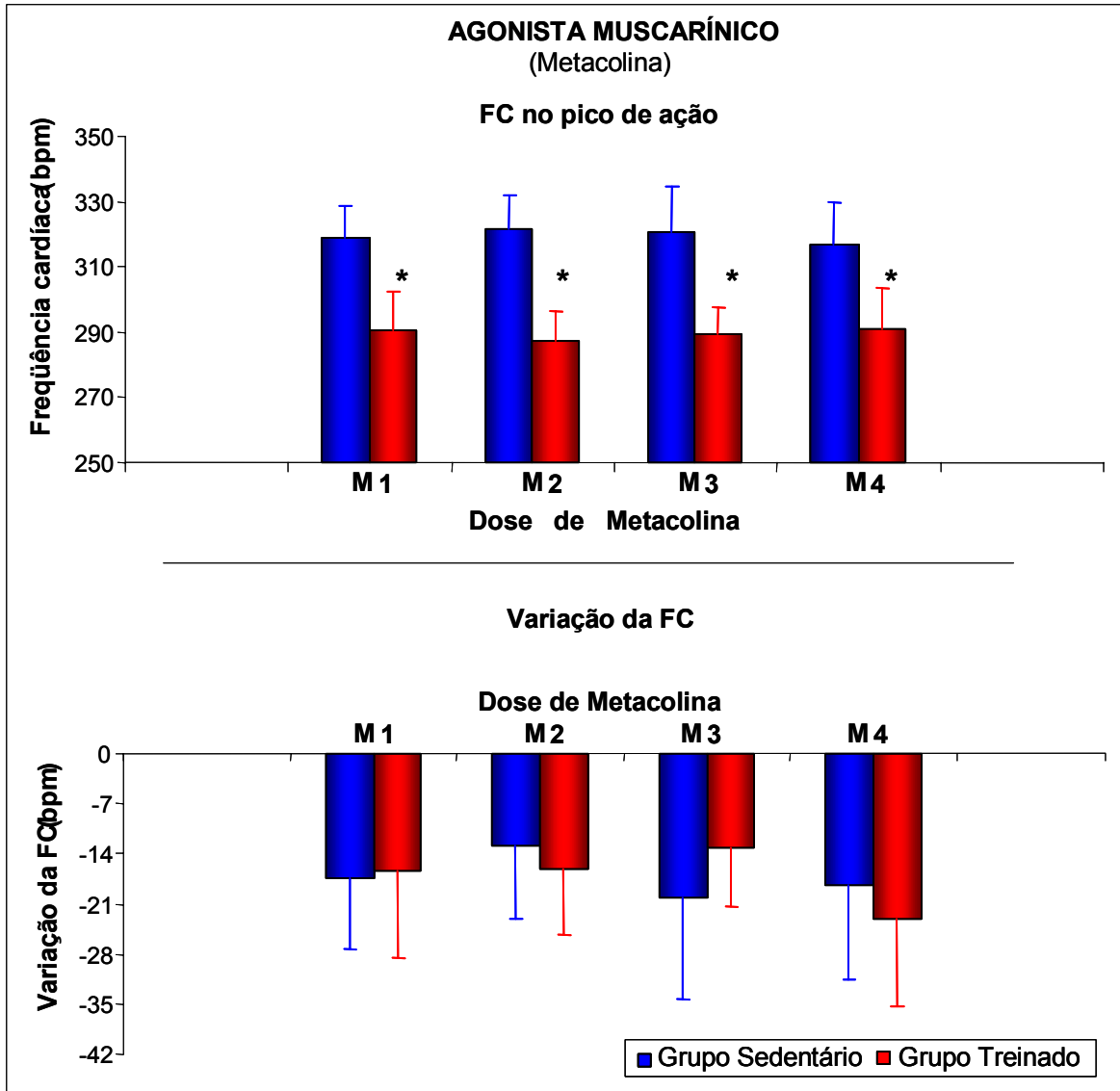


Figura 8 – Frequência cardíaca no pico de ação de doses crescentes de metacolina (M1 à M4) e variação da frequência cardíaca às mesmas doses, nos grupos Sedentário e Treinado

COMENTÁRIO: *Notar que a FC no pico de ação de metacolina foi menor no grupo treinado, em todas as doses estudadas (P= 0,018), e que não houve diferenças entre as doses. A variação da FC à metacolina foi semelhante entre os grupos, e não houve aumento significativo da resposta em função do aumento da dose.*

*Estatisticamente significativo entre os grupos, P ≤ 0,05.

NOTAS: **Bpm**= batimentos por minuto; **FC**=frequência cardíaca; **M**=dose de metacolina.

Dados apresentados em média ± desvio padrão da média, em bpm.

Número de ratos em cada grupo, n = 10.

7. DISCUSSÃO

7.1 Características da amostra

A idade dos animais, 28 ± 2 meses (2,4 anos), em ambos os grupos, S e T, caracterizou a amostra como verdadeiramente idosa. Os ratos vivem em média de 2,5 a 3 anos (30-36 meses) (KOHN et al., 1984) ou 1000 dias (32 meses; 2,7 anos) (BAKER et al., 1979). Em estudo húngaro sobre a longevidade de ratos (KNOLL et al., 1989), o animal mais velho do grupo controle viveu 41 meses, e a média de vida foi de $147 \pm 0,6$ semanas (37 meses; 3 anos). Curiosamente, um estudo americano mostrou uma média menor, de 599 dias (20 meses) de vida em ratos neofóbicos vs. 701 dias (23 meses) em ratos neofílicos (CAVIGELLI & MCCLINTOCK, 2003).

Por conseguinte, pode-se assumir que a amostra, do presente estudo, pode ser considerada como idosa, já que a média de idade correspondeu a aproximadamente 80 – 90% do tempo de vida natural do rato, considerando-se uma média de 2,5 – 3 anos (BAKER et al., KOHN et al., 1984, 1979; KNOLL et al., 1989). Encontraram-se, entretanto, estudos sobre os efeitos do TF na idade avançada, que incluíam ratos com apenas 18 meses (DE ANGELIS et al., 1997), o que representa entre 50 e 60% do tempo de vida do rato. Com intuito de estudar uma população certamente senescente, a idade mínima para inclusão no presente estudo foi de 24 meses. Supondo que a

razão do tempo de vida do rato para o tempo de vida do homem seja de um para 30, então, os ratos, na presente investigação, tinham idade proporcional a homens entre 70 e 80 anos, idade em que o homem é considerado como idoso, independentemente do país. De fato, segundo relatório de Desenvolvimento Humano das Nações Unidas (2001), a média mundial de expectativa de vida ao nascer está em 66,7 anos, muito próxima da expectativa de vida Brasil, variando entre 33,4 anos na Zâmbia e 81,3 anos no Japão.

A média de idade foi a mesma nos dois grupos, principalmente pelo cuidado que se teve na separação dos animais. Assim, cada rato, para ser incluso em T, deveria ter pelo menos um outro rato, da mesma ninhada, para ser incluso em S, e vice-versa. O pareamento só não foi perfeito devido à mortalidade de animais, em ambos os grupos, e a freqüente inexistência de animais da mesma ninhada para substituição. Por não ter sido feita biópsia *post mortem* e grande parte dos animais ter morrido antes da separação em T e S (10 semanas antes dos experimentos) não feita análise estatística quanto à morbi-mortalidade.

A massa corporal também não foi diferente entre os grupos, o que caracterizou a amostra como homogênea, também em relação a este parâmetro.

7.2 Considerações sobre os métodos

No presente estudo, foram empregados bloqueios farmacológicos para determinação da FCI e da participação de cada um dos ramos autonômicos na modulação da FC de ratos idosos, em repouso. Este método foi utilizado previamente, neste laboratório, para estudo de ratos jovens, mas necessitou de algumas

adaptações nas dosagens utilizadas (NEGRÃO et al., 1992a, b). Assim, a dose do antagonista adrenérgico utilizada foi maior que a utilizada previamente (4 vs. 7mg.kg^{-1}), enquanto a de atropina foi similar (3 mg.kg^{-1}). A dosagem de propranolol utilizada, entretanto, foi similar à usada por outros autores (HUGHSON et al., 1977; LIN & HORVATH, 1972). Para adequação destas dosagens, foi realizado estudo-piloto em que se observou a dose de propranolol necessária para que uma dose de 125 ng de isoproterenol, agonista adrenérgico, não aumentasse a FC. Observou-se, também, a dose necessária de atropina para que uma dose de $2,4\text{ }\mu\text{g}$ de metacolina, agonista muscarínico, não reduzisse a FC. Para garantir que o bloqueio seria eficaz durante todo o período experimental, os testes foram efetuados ao término de protocolo de exercício, similar ao utilizado na presente investigação. A dose de isoproterenol utilizada para teste da eficácia do bloqueio β -adrenérgico foi escolhida por induzir aumento de FC ligeiramente maior ($471\pm 53\text{ bpm}$; S vs. $471\pm 31\text{ bpm}$; T) que o realmente observado durante o exercício de alta intensidade ($455\pm 33\text{ bpm}$; S vs. $441\pm 48\text{ bpm}$; T; 15 m.min^{-1}). Assim, garantiu-se que a dosagem de propranolol seria capaz de bloquear uma resposta de igual magnitude, sem, contudo, prejudicar a circulação periférica e diminuir a capacidade física (HUGHSON et al., 1977; JOSE & STITT, 1967; LIN & HORVATH, 1972).

É possível que a dessensibilização dos receptores adrenérgicos (MAZZEO et al., 1997; JOHANSSON & HJALMARSON, 1988) decorrente do envelhecimento fisiológico (SEALS et al., 1994), a qual é acompanhada de um aumento da concentração plasmática de catecolaminas (FLEG et al., 1985; LAKATTA., 1993; PUGH & WEY, 2001), torne necessária a utilização de uma dose maior do antagonista adrenérgico para seu completo bloqueio (JOSE & STITT, 1967). É interessante notar que estudo (DE ANGELIS et al., 1997) envolvendo ratos idosos, ainda que mais jovens

que os estudados por nós (18-24 meses vs. 24-31 meses), utilizou a mesma dosagem de propranolol usada para ratos jovens (4 mg.kg^{-1}), e obteve FCI muito maior que a observada no presente estudo (374 ± 11 vs. 288 ± 28 bpm; T; 381 ± 11 vs. 312 ± 18 bpm; S). Mesmo considerando que os ratos utilizados no presente estudo eram mais velhos que aqueles e que o envelhecimento causa diminuição da FCI (JOSE, 1966; JOSE & STITT, 1967; LAKATTA, 2001), os valores observados por aqueles autores também foram maiores que os encontrados, em ratos jovens sedentários (369 ± 5 bpm) e treinados (329 ± 4 bpm), estudados previamente neste laboratório (NEGRÃO et al., 1992b). Não se pode, portanto, excluir a possibilidade do bloqueio simpático não ter sido efetivo naquele estudo, o que justificaria a discordância de resultados, além de apontar a importância de um bloqueio farmacológico efetivo neste tipo de estudo.

A utilização de registro batimento-a-batimento da FC permitiu que se verificasse o comportamento da FC durante todo o período de ação dos fármacos e, também, dos registros de repouso e exercício, o que permitiu a real verificação do momento em que os fármacos atingiram o pico de ação, bem como a detecção do momento em que a FC atingiu o valor máximo relativo a cada sobrecarga. Para que não houvesse influência da manipulação, no momento da administração dos fármacos, foram realizadas injeções i.v. ao invés de i.p. A forma de administração dos fármacos, neste e em outros laboratórios, até alguns anos atrás, era esta, e foi, portanto, utilizada em alguns dos estudos aqui revistos (NEGRÃO et al., 1992a, b); mas não em outros mais recentes (EVANGELISTA et al., 2005; MEDEIROS et al., 2004; RIBEIRO et al., 2005).

Admitindo-se que o envelhecimento não diminui a FC de repouso (FLEG et al., 1990; LAKATTA, 1993; MCGUIRE et al., 2001), a proximidade dos valores de FC entre ratos sedentários jovens (308 ± 3 bpm) em repouso, na sua gaiola, estudados previamente neste laboratório (NEGRÃO et al., 1992b), e idosos sedentários do

presente estudo (325 ± 17 bpm), mostra que não houve influência expressiva da cânula, da esteira e do restante do ambiente experimental, no comportamento da FC de repouso. Esta confirmação é feita pela comparação com seis ratos sedentários idosos, previamente estudados, em sua gaiola (311 ± 17 bpm), neste laboratório (KALIL et al., 1997).

De fato, a semelhança entre as FCs de repouso nos Experimentos 4 e 5 foram resultado de condições ambientais bem controladas (temperatura e silêncio), além da realização de experimentos sempre no mesmo horário do dia, para evitar variações circadianas. Já a semelhança das FCIs, observada nos Experimentos 4 e 5 mostrou que o duplo bloqueio foi reprodutível e que não houve influência da ordem de injeção dos fármacos bloqueadores autonômicos na sua determinação.

Sabe-se que o bloqueio de um ramo autonômico pode influenciar a atividade do outro, que permanece ativo (EKBLÖM et al., 1972); entretanto, esta influência, se existiu, não interferiu na determinação da FCI. Mais ainda, a reprodutibilidade da FCI, em repouso e ao exercício, possibilitou cálculos mais precisos (TS, TV) da atividade autonômica, em ambas condições, do que os cálculos que não se utilizam desta variável (ES, EV).

O EV é medido a partir de bloqueio farmacológico parassimpático e assume que o bloqueio unilateral não influencia significativamente a atividade do outro ramo autonômico (Rosenblueth & Simeone, 1934), que, no entanto, é importante lembrar, permanece ativo. Subtrai-se da FCA (com simpático ativo) a FC controle (com simpático e parassimpático ativos). Caso a influência simpática seja exacerbada quando do bloqueio vagal, a interpretação de aumento da atividade vagal por esta variável será superestimada. Faz-se necessário, portanto, considerar outras medidas da atividade vagal que possam minimizar tal erro e elucidar os resultados.

O TV é medido a partir de bloqueio simpático (com parassimpático ativo, e reduzido pelo envelhecimento), também assumindo que o bloqueio unilateral não influencia significativamente a atividade do outro ramo autonômico. Ao invés de se utilizar, para seu cálculo, a FC controle, utiliza-se a FCI (FC máxima de despolarização do nó sinoatrial, privada de ação autonômica). O TV é calculado subtraindo-se a FCP (com parassimpático ativo) da FCI. Sua perfeita medida depende, portanto, da eficácia do bloqueio β -adrenérgico e também do duplo bloqueio autonômico; de outra forma, ocorrerão erros de interpretação.

Paralelamente, a correta medida da atividade simpática depende do completo bloqueio autonômico, mais especificamente do bloqueio β -adrenérgico. Ainda, é necessário que não haja influência do bloqueio parassimpático sobre a atividade simpática remanescente, quando do bloqueio parassimpático, pois a FC resultante será utilizada para cálculo do TS, que é feito subtraindo-se a FCI da FCA. Se a influência simpática for exacerbada pelo bloqueio parassimpático, a atividade simpática avaliada pelo TS poderá ser superestimada.

O ES é medido subtraindo-se a FCP da FC controle. No caso do envelhecimento, é possível que a medida do ES seja mais precisa que a medida do TS. Mesmo que o bloqueio autonômico simpático exacerbe a atividade parassimpática (que continua ativa quando do bloqueio unilateral β -adrenérgico), a consequência não será de grande magnitude. A atividade parassimpática é deveras reduzida na idade avançada e influencia, em menor grau, a manutenção da FC controle que é utilizada para este cálculo, e que compreende ambas as influências, simpática e vagal.

Teoricamente, enquanto o ES mede quantos batimentos da FC controle estão sendo estimulados pela ação simpática, o TS mede a capacidade de contribuição do sistema para o aumento da FC.

No presente estudo, o TF mostrou-se eficaz em causar alterações na FC de repouso, mesmo com medida tendo sido feita na esteira; e também ao exercício submáximo; o mesmo acontecendo com a FCI.

Existe uma controvérsia na literatura quanto à necessidade de aumento da capacidade aeróbia máxima para que ocorra redução isolada do risco morbidade e mortalidade por doença coronariana ou de mortalidade total (SNELL & MITCHELL, 1999; TALBOT et al., 2002). Entretanto, na idade avançada tanto a capacidade aeróbia máxima quanto o treinamento físico diário parecem reduzir o risco de evento coronariano igualmente (ERIKSSEN, 2001).

Desta forma, entende-se que a metodologia empregada foi adequada para estudo das adaptações da FC, da FCI e também da modulação autonômica da FC ao TF, mesmo não se tendo a medida do ganho de capacidade aeróbia máxima dos ratos, com TF, e que não se saiba a exata intensidade relativa à capacidade máxima utilizada para TF. Vale destacar que o exercício mais comumente prescrito pelos médicos para seus pacientes e que tem se mostrado eficaz para promoção da saúde populacional (BARINAGA, 1997; HAKIM et al., 1999; SNELL & MITCHELL, 1999) tem sido o aeróbio, de intensidade leve à moderada, de três a cinco vezes por semana, como caminhada em esteira por 30-60 min, por exemplo.

7.3 Principais achados

A bradicardia de repouso é considerada como um marcador fisiológico da adaptação ao TF aeróbio (GOLDSMITH et al., 2000), inclusive na idade avançada (HUANG et al., 2005). Na realidade, com base em revisões detalhadas da literatura

existente, pode-se aceitar que tanto a FC em repouso como a FC em resposta ao exercício submáximo, em estado de equilíbrio metabólico (*steady-state*), é substancialmente reduzida em consequência de TF aeróbio (LEWIS et al., 1980; NEGRÃO et al., 1992a; SCHEUER & TIPTON, 1977; SEALS & CHASE, 1989)

Assim, como esperado, a FC de repouso foi menor no grupo treinado (T) que no grupo sedentário (S), tanto no repouso (-29 bpm; 9%) como em todas as quatro sobrecargas de exercício (5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹) estudadas (-50 bpm, 11%; -43 bpm, 10%; -27 bpm, 6%; e -14 bpm, 3%, respectivamente).

A principal contribuição desta investigação foi a demonstração do principal mecanismo envolvido nesta adaptação em ratos idosos: o TF atenuou a FC em repouso e ao exercício de intensidade submáxima, da leve à alta intensidade, à custa de redução da FCI.

Um segundo e importante achado foi quanto aos determinantes da FC em resposta ao exercício de intensidade progressiva: a taquicardia induzida pelo exercício em ratos idosos, sedentários e treinados, é surpreendentemente dependente da estimulação simpática, desde o início do exercício, de intensidade leve, até a alta intensidade, quando tanto a estimulação simpática quanto a retirada vagal passam a contribuir para o aumento apropriado da FC.

Não foram encontradas diferenças nas influências simpática e parassimpática entre ratos sedentários e treinados que pudessem explicar a bradicardia de repouso e a atenuação da taquicardia induzida pelo exercício observadas nos ratos treinados. Estes resultados foram confirmados pelas respostas a agonistas e antagonistas adrenérgicos e muscarínicos, assim como pela determinação da FCI, do TV e do TS.

7.4 Frequência cardíaca de repouso

A bradicardia pós TF, no presente estudo, foi da ordem de 9%; 1% maior do que a observada previamente, com os ratos repousando livremente, na tranqüilidade de suas gaiolas (KALIL et al., 1997).

Embora ligeiramente maiores, os valores medidos na esteira foram compatíveis com os observados naqueles ratos, sendo eles treinados (296 ± 6 bpm, atual vs. 286 ± 12 bpm, prévio) ou sedentários (325 ± 17 bpm, atual vs. 311 ± 17 bpm, prévio). A adaptação observada no presente estudo também se assemelhou à resposta ao TF em ratos *Wistar* jovens treinados (9%), recentemente relatada por este mesmo laboratório (EVANGELISTA et al., 2005,1999).

Curiosamente, a FC dos ratos sedentários, no presente estudo, foi ligeiramente menor que a encontrada em ratos sedentários considerados como idosos (336 ± 16 bpm), estudados em suas próprias gaiolas (DE ANGELIS et al., 1997). Já a FC dos ratos treinados em tal estudo (298 ± 7 bpm) foi similar à observada na presente investigação (296 ± 6 bpm). Tal comparação assegura a qualidade do ambiente e dos procedimentos experimentais no presente estudo, assim como satisfatória recuperação do procedimento cirúrgico. Estas evidências também permitem confiar nos presentes valores como verdadeiramente representativos do repouso e indicam que o TF foi eficaz, especialmente considerando que este repouso foi registrado na esteira, e não com o rato em sua própria gaiola.

Por outro lado, em estudo prévio envolvendo medidas da FC em repouso, sobre a esteira, em ratos jovens, alguns pesquisadores deste laboratório não conseguiram demonstrar bradicardia de repouso com TF. A falta de diferença (370 ± 5 vs. 379 ± 7 bpm em S e T, respectivamente), entretanto, foi atribuída à sobrepujança da resposta

antecipatória da FC, frente à iminência de início do exercício (NEGRÃO et al., 1992a). De fato, ratos jovens treinados da mesma linhagem, sujeitos ao mesmo protocolo de TF, livres, em suas próprias gaiolas, apresentaram valores de FC bem menores que os observados na esteira, e foram 3% menores (299 ± 3 bpm) que seus pares sedentários (308 ± 3 bpm). Estes valores foram compatíveis com os encontrados no presente estudo que, de forma geral, concordam com os dados de repouso da literatura.

Há que se considerar, entretanto, que sabíamos qual a FC repouso esperada (KALIL et al., 1997) e, portanto, aguardávamos pelo tempo que fosse necessário para que o rato se adaptasse à esteira, até que os valores estivessem compatíveis com os conhecidos para o repouso. Este tempo pode ter chegado a duas ou até três horas, dependendo das condições de silêncio e temperatura no laboratório.

A diversidade de magnitude dos efeitos do TF sobre a FC pode ser decorrente de diferenças nos protocolos de TF utilizados, bem como de diferenças de idade entre os animais. Se as adaptações e os benefícios forem dependentes da capacidade física inicial do animal (ERIKSEN, 2001; SNELL & MITCHELL, 1999), é interessante notar que o animal idoso permaneceu sedentário por um período mínimo de dois anos, enquanto o animal jovem, por apenas aproximadamente três a cinco meses.

7.4.1 Frequência cardíaca de repouso e envelhecimento

Em geral, acredita-se que o envelhecimento fisiológico não cause bradicardia em repouso. Este tema é, entretanto, controverso. Têm-se demonstrado que a frequência cardíaca sofre reduções (ARORA et al., 1987; CHEFER et al., 1997; SCHWARTZ et

al., 1991; SIMPSON & WICKS, 1988), ou não (FLEG et al., 1985; LAKATTA, 1992), à medida que o organismo envelhece.

No presente estudo, a FC foi ligeiramente menor que a observada em ratos jovens em alguns estudos (CORRE et al., 1976; EVANGELISTA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2005), mas não em outros (GAVA et al., 1995; NEGRÃO et al., 1992b). Curiosamente, a FC dos ratos sedentários da presente investigação foi semelhante à registrada, em ratos jovens treinados, em suas gaiolas (EVANGELISTA et al., 2005), mas menor que de seus pares jovens sedentários (342 ± 12 bpm). Por outra, os valores de FC foram compatíveis com os observados por NEGRÃO et al. (1992b), quando estudaram ratos jovens em suas gaiolas (308 ± 3 bpm), mas não quando investigaram os ratos em repouso sobre a esteira (370 ± 5 bpm), antes do início de protocolo de exercício. Portanto, o envelhecimento não reduz a FC de repouso, mesmo em roedores, e pode atenuar a resposta taquicárdica antecipatória que ocorre na iminência do início do exercício (NEGRÃO et al., 1992a; SCHEUER & TIPTON, 1977), à qual aqueles autores atribuíram a ausência de bradicardia pós TF, e os elevados valores de FC para a condição de repouso. Não se pode excluir, entretanto, a possibilidade do ambiente experimental não ter sido controlado da mesma forma neste e naquele estudo. De fato, apesar dos experimentos terem sido conduzidos no mesmo laboratório, com a mesma linhagem de animais, os investigadores eram diferentes e as injeções ao invés de serem endovenosas eram intraperitoneais. Adicionalmente, é necessário considerar que, devido a todos os animais participantes do presente estudo terem sido manipulados de três a cinco vezes por semana, pelo pesquisador principal, por pelo menos 20 meses, tais diferenças poderiam ser resultantes de uma melhor adaptação dos animais ao convívio humano e ao ambiente experimental, e não da falta de taquicardia antecipatória prévia ao exercício no idoso, como imaginado.

Com base nas comparações dos presentes resultados com os da literatura em ratos jovens, concorda-se que o envelhecimento não é acompanhado de bradicardia de repouso (ESLER et al., 1983; ROWE & TROEN, 1980).

Admitindo-se que a FC de repouso não mude, com o avançar da idade, é de se esperar que os seus determinantes sejam modificados. Neste sentido, a redução da FCI, a qual é inerente ao envelhecimento (JOSE, 1966), poderia contribuir para bradicardia. Em contraposição a tal alteração, redução do TV e/ou o aumento do TS, os quais são ambos característicos do avançar da idade (KUGA & YAMAGUSCHI, 1993; LAKATTA, 1993; MAZZEO et al., 1997; SEALS, 1994; TULPPO, 1998), poderiam viabilizar a manutenção da FC de repouso através dos anos.

7.4.1.1 Envelhecimento e determinantes da frequência cardíaca, frequência cardíaca intrínseca, tônus vagal e tônus simpático

Sabe-se, de longa data, que a FCI diminui com a idade (CRAFT & SCHWARTZ, 1995; JOSE, 1966, JOSE & STITT, 1967). Quando comparada à observada em ratos jovens, como esperado, a FCI dos ratos idosos do presente estudo (312 ± 18 em S vs. 288 ± 28 em T) foi menor que a relatada prévia (NEGRÃO et al., 1992b) e recentemente (EVANGELISTA et al., 2005), para ratos Wistar sedentários (369 ± 5 e 390 ± 8 bpm, respectivamente) e treinados (329 ± 4 e 368 ± 6 bpm, respectivamente) ou até mesmo para ratos *Sprague-Dawley* sedentários (343 ± 7 bpm). Vale mencionar que estas diferenças foram encontradas mesmo com as medidas de repouso do presente estudo, tendo sido feitas na esteira, previamente ao exercício, e as medidas utilizadas para comparação, com os ratos em suas gaiolas. Os resultados do presente estudo

confirmam, portanto, a redução da FCI em virtude do envelhecimento, independentemente da inclusão do TF no hábito de vida.

Os principais mecanismos supostamente envolvidos nas alterações da FC que ocorrem com o envelhecimento, relacionam-se à ativação seqüencial das correntes iônicas das células do nó sinusal identificadas (LAKATTA, 2001) em estudos eletrofisiológicos (IRISAWA et al., 1993) as quais são particularmente ativadas durante a despolarização diastólica. De fato, a freqüência espontânea de disparo das células marcapasso do nó sinoatrial parece envolver a variação cíclica de Ca^{2+} subsarcolêmico, produzido por liberações locais de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, via receptores de rianodina, durante a última parte da despolarização diastólica, agindo conjuntamente com os trocadores Na^+Ca^{2+} e com um grupo de canais iônicos para regular a despolarização diastólica espontânea da membrana das células nodais sinoatriais (LAKATTA, 2003; VINOGRADOVA et al., 2005). Várias correntes iônicas dependentes de tempo e de voltagem (HUSER et al., 2000) tomam-se ativadas durante a despolarização diastólica e, portanto, podem interligar a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, via receptores de rianodina, à modulação da despolarização diastólica. Assim, várias correntes exibem dependência de Ca^{2+} : correntes de Ca^{2+} do tipo-T e tipo-L (I^{CaT} , I^{CaL}); corrente de entrada ativada pela hiperpolarização (I_f) (DI FRANCESCO et al., 2005); corrente do cloreto; o componente rápido da corrente retificadora lenta de K^+ (I_{kr}), que é uma corrente de fundo, independente do tempo, conduzida por Na^+ ; e a corrente trocadora Na^+-Ca^{2+} .

Enquanto não parece existir um fator isolado que confira o estado de dominância das células do nó sinoatrial, quanto à sua função de marcapasso, as liberações rítmicas de Ca^{2+} subsarcolêmicas do retículo sarcoplasmático durante a despolarização diastólica adicionam estabilidade fisiológica às correntes iônicas

subsarcoplêmicas oscilantes e fortalecem as respostas da regulação hormonal. Mais especificamente, a liberação de Ca^{2+} , via receptores de rianodina, sob a membrana da superfície da célula nodal sinoatrial, que ocorre no intervalo entre os batimentos cardíacos, ativa o trocador $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ produzindo uma corrente de entrada a qual aumenta a inclinação da despolarização da membrana antes do potencial de ação subsequente levando à sua ocorrência precoce e, portanto, a um aumento na FC (BOGDANOV et al., 2001).

Há que se considerar, entretanto, que apesar de não se ter estabelecido uma relação causa-efeito entre alterações morfométricas do nó sinoatrial e redução da FCI, as profundas mudanças no nó sinoatrial idoso não podem ser desconsideradas, já que elas poderiam ter um papel na diferenciação entre os efeitos do TF e os efeitos do envelhecimento sobre a FC e a FCI. Mais especificamente, nós sinoatriais envelhecidos apresentam um número reduzido de células, de forma que a proporção cai de 50% na juventude para 30% na senescência, enquanto a fibrose e a infiltração de gordura se desenvolvem, para, por volta dos 75 anos de idade, restarem apenas 10% das células que estavam presentes aos 20 anos de idade. Tal condição não previne a dominância do nó sinoatrial, mas pode tornar os indivíduos idosos mais suscetíveis a arritmias cardíacas (JENSEN - URSTAD et al., 1998; KUGA & YAMAGUSHI, 1993), além de poder influenciar a irreversibilidade da diminuição de FCI que ocorre com o envelhecimento.

A diminuição da atividade vagal com o envelhecimento é bem descrita na literatura (LAKATTA, 1993; LEVY et al., 1998). Estudos da variabilidade da FC em repouso e ao exercício têm mostrado que, em geral, a variabilidade global, assim como ambos os componentes espectrais (baixa e alta frequência) estão reduzidos (CATAI et al., 2002). Os presentes resultados corroboram esta hipótese. O EV (91 ± 61

bpm em sedentários vs. 73 ± 23 bpm em treinados) pareceu ser menor que aquele observado em estudos prévios deste laboratório (EVANGELISTA et al., 2005) em ratos Wistar jovens, sedentários e treinados (144 ± 15 vs. 115 ± 9 bpm, respectivamente), mas não em ratos jovens, sedentários da linhagem *Sprague-Dawley* (73 ± 1 bpm; RIBEIRO et al., 2005).

É importante considerar que estes dados (EV) poderiam ter sido influenciados por uma exacerbação da atividade simpática, já que nesta variável o ramo simpático está ativo. No entanto a comparação do TV confirma esta análise, já que este também parece menor nos ratos idosos comparados aos jovens sedentários previamente estudados (37 ± 17 em idosos sedentários vs. 65 ± 5 bpm, em jovens sedentários, assim como idosos treinados comparados a jovens treinados (23 ± 15 vs. 42 ± 4 bpm, respectivamente). Mais ainda, as diferenças observadas a partir do EV parecem ter sido intensificadas ao se excluir a atividade simpática do cálculo. Tem-se sugerido que a redução do tônus vagal com envelhecimento pode estar associada à redução dos receptores M_2 na área do nó sinoatrial (HARDOUIN et al., 1998), bem como a todo processo degenerativo que ocorre no nó sinoatrial (DAVIES et al., 1983; DAVIES & POMERANGE, 1972; SHIRAISHI et al., 1992).

Há evidência de aumento da atividade simpática com o envelhecimento, a qual é apoiada, principalmente, pelos achados de aumento nas concentrações de noradrenalina em repouso e ao exercício (CONWAY et al., 1971; FLEG et al., 1985; GEELLEN et al., 2002; LAKATTA, 1993; SOWERS et al., 1983); no entanto, esta medida não necessariamente reflete a atividade simpática regional, mais especificamente, no coração, e dependem não só do TS e da liberação de noradrenalina, mas também da remoção do neurotransmissor no plasma (LEHMAN & KEUL, 1986; MAZZEO et al., 1997). As evidências de aumento na liberação regional

de noradrenalina no plasma (MAZZEO et al., 1997) sugerem que o aumento da atividade simpática contribui para o aumento das concentrações plasmáticas de noradrenalina. Esta medida é um marcador confiável da atividade simpática regional, pois mostra o aparecimento (*spillover*) de noradrenalina marcada por *tritio*, em concentração conhecida, em amostras de sangue, coletadas no seio coronário, por exemplo, permitindo medir a liberação do neurotransmissor no próprio coração. Há que se considerar, entretanto, que a recaptção, bem como a remoção, de noradrenalina também estão alteradas (MAZZEO et al., 1997). Neste sentido sugeriu-se que, ainda, a responsividade e a densidade (HARDOUIN et al., 1998) dos receptores β -adrenérgicos, que é prejudicada pelo envelhecimento (JOHANSSON & HJALMARSON, 1988; LUCINI et al., 2004; SEALS et al., 1994) bem como uma diminuição no fluxo sangüíneo no órgão-alvo, poderiam contribuir para o aumento da concentração plasmática. Assim, este aumento exagerado na concentração plasmática de norepinefrina parece resultar de um aumento na atividade simpática e na liberação do neurotransmissor com intuito de compensar pela responsividade diminuída no órgão alvo ao estímulo adrenérgico. Entretanto, problemas na captação ou remoção e excreção também podem contribuir (MAZZEO et al., 1997).

A comparação dos presentes dados com a literatura consultada parece corroborar com a hipótese de atividade simpática aumentada em repouso, com o envelhecimento. O ES em ambos os ratos idosos sedentários (50 ± 14 bpm) e treinados (31 ± 34 bpm) parece ser maior que o observado previamente por EVANGELISTA et al., (2005) em ratos *Wistar* jovens sedentários (28 ± 8 bpm) e treinados (16 ± 4 bpm), e também em jovens *Sprague Dawley* sedentários (38 ± 7 bpm) (RIBEIRO et al., 2005), mesmo considerando que a influência parassimpática está ativa nesta medida. De fato, a retirada da influência parassimpática não parece modificar a análise. Da mesma

forma, o TS de ambos os ratos idosos sedentários e treinados (92 ± 55 e 84 ± 17 bpm, respectivamente) parece consideravelmente aumentado quando comparado aos ratos jovens sedentários e treinados (51 ± 5 vs. 29 ± 4 bpm, respectivamente) estudados por EVANGELISTA et al (2005).

Com base nos presentes dados, frente à literatura consultada, o envelhecimento não é acompanhado de bradicardia de repouso. Embora ocorram alterações intrínsecas ao marcapasso cardíaco que causam diminuição da FCI e que poderiam atenuar a FC de repouso, a atuação autonômica sobre o coração sofre adaptações e se ajusta à nova condição, impedindo que a FC diminua com o aumento da idade, em condição de repouso. Assim, embora a FC de repouso seja semelhante, entre jovens e idosos, devido à profunda diminuição da capacidade de despolarização máxima do nó sinoatrial, evidenciada pela redução da FCI, ocorre uma atenuação do tônus vagal e um aumento da estimulação simpática, de modo que o balanço autonômico pode deixar de ser vagotônico, no jovem (em torno de 0,6), para se tornar simpatotônico, no idoso (em torno de 0,9) (KUGA & YAMAGUSHI, 1993).

7.4.2 Freqüência cardíaca de repouso e treinamento físico

Considerando os períodos de repouso e exercício em conjunto ou de repouso somente, houve diferença média de 29 bpm (9%) entre a FC de S e T. Deve-se notar que a FC de repouso foi medida na esteira e não na gaiola do animal, como normalmente são feitas as medidas de repouso (DE ANGELIS et al., 1997; EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b; RIBEIRO et al., 2005).

Existem relatos mostrando que a redução na FC de repouso com TF em roedores varia entre 20 e 30 bpm, o que representa, em média, 5 a 10% de redução (SCHEUER & TIPTON, 1977). BOLTER et al. (1973) observaram diferença de aproximadamente 30 bpm entre ratos sedentários e treinados e HUGHSON et al. (1977) observaram diferença de 18 bpm. Estas diferenças parecem ter sido ligeiramente maiores que a observada previamente em ratos jovens (14 e 9 bpm), neste laboratório (EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992b, respectivamente) e também (10 bpm) por outros investigadores (TIPTON, 1965).

Uma meta-análise recente (HOUANG et al., 2005) mostrou que a FC de repouso também reduz em torno de 8% em humanos idosos (≥ 60 anos) o que representa uma redução de 6 bpm (-2 à -12 bpm), em consequência de treinamento a 75% da FC máxima, por 24 semanas. Também foi mostrado que quanto maior o período de TF, maior a bradicardia.

No presente estudo a FC de T foi 9% menor que em S, comparados aos 11% de diferença em ratos considerados como idosos (18-24 meses), submetidos a TF por outros investigadores (DE ANGELIS et al., 1997). Considerando que o período de TF foi similar ao do presente estudo, a origem de tão pequena diferença pode estar na FC de repouso dos ratos controles (336 ± 17 bpm, prévio, vs. 325 ± 17 bpm, atual), o que pode refletir uma melhor adaptação dos ratos ao ambiente experimental e ao convívio humano, possivelmente, devido à mais freqüente manipulação dos animais sedentários no presente estudo, já que os valores encontrados pós TF foram similares em ambos os estudos (296 ± 6 bpm, atual vs. 298 ± 7 bpm, prévio). Vale notar que os ratos do estudo prévio (DE ANGELIS et al., 1997) eram mais jovens (18-24 meses) que os do presente estudo (28 ± 2 meses) e treinaram, possivelmente, em intensidade mais elevada, já que a diferença de idade não acarretaria em queda de capacidade

física tão grande que pudesse justificar a realização de TF em velocidade 50% menor (12 m.min⁻¹) que a utilizada naquele estudo (24 m.min⁻¹), e esta corresponder a semelhante percentual da capacidade aeróbia máxima (WAJNGARTEN et al., 1994). De fato, se a diminuição da capacidade aeróbia máxima é de 1% ao ano, no homem, (LEMURA et al., 2000; WILSON & TANAKA, 2000), então, no rato (WISLOFF et al., 2001), esta redução é de aproximadamente 2,5% ao mês (CORRE et al., 1976). Desta forma com uma diferença máxima de 10 meses de idade entre os ratos do presente estudo e aqueles, a queda na capacidade física pelo envelhecimento sedentário seria de aproximadamente 25%. Portanto, pode-se assumir que se em realidade as FCs de repouso dos animais controles não tivessem sido diferentes o percentual de redução da FC no presente estudo seria semelhante ao daquela investigação. Contudo, os mecanismos de adaptação da FC, poderiam ser diferentes, dadas as diferentes intensidades de TF.

É digno de nota, que alguns autores têm relatado níveis de redução da FC de repouso com TF extremamente altos em ratos jovens da linhagem *Sprague-Dawley* (56 bpm, 15%). Outrossim, não se pode excluir a possibilidade de diferenças entre linhagens, neste caso *Wistar* vs. *Sprague-Dawley* ou de um treinamento mais efetivo. No entanto, devido à elevada FC de repouso do grupo sedentário-controle (393±4 bpm), haja vista que os ratos estavam em suas próprias gaiolas, há que se considerar que a grande diferença de FC entre ratos sedentários e treinados poderia ter sido devido à falta de manipulação e habituação dos animais sedentários ao ambiente experimental, ou, ainda, fruto de recuperação insuficiente dos procedimentos cirúrgicos.

Com base nas evidências apresentadas, o TF aplicado, no presente estudo, foi eficaz no sentido de promover adaptações cardíacas funcionais reconhecidas como

marcadoras de adaptação ao TF aeróbio. Assim, a bradicardia de repouso foi similar à média observada na maioria dos estudos bem controlados, inclusive da relatada para seres humanos.

7.4.2.1 Mecanismos envolvidos na bradicardia de repouso com treinamento físico

Os mecanismos envolvidos na bradicardia de repouso conseqüente a TF, embora amplamente investigados, permanecem discutíveis, independentemente da espécie e da idade estudadas.

Hipoteticamente, uma maior frenagem parassimpática (STEIN et al., 1999), uma menor estimulação simpática (GAVA et al., 1995; NEGRÃO et al., 1992) ou uma menor FCI (EVANGELISTA et al., 2005; KALIL et al., 1997; NEGRÃO et al., 1992) poderiam contribuir para tal adaptação fisiológica. O uso de diferentes metodologias, incluindo a desnervação cardíaca (SCHEUER & TIPTON, 1977; TIPTON et al., 1969) e os duplos bloqueios farmacológicos, permitiu a observação de diminuição na FCI, inclusive em nosso meio (EVANGELISTA et al., 2005; KALIL et al., 1997; NEGRÃO et al., 1992).

Os resultados do presente estudo corroboram a hipótese de que a bradicardia de repouso com TF é dependente de diminuição na FCI, mesmo em ratos idosos. Ainda, não foi encontrada modificação em nenhuma das variáveis descritoras das influências autonômicas sobre a FC que pudessem explicar a bradicardia de repouso.

A FCI foi expressivamente menor em T que em S (8%). Assim, da diferença de 29 bpm na FC entre os grupos, 24 bpm puderam ser explicados pela redução da FCI.

É justo inferir que a FCI foi, sozinha, responsável por 83% da diferença entre os grupos. Embora a influência simpática não tenha sido diferente entre os grupos, não se pode excluir que uma redução mínima teria sido suficiente para justificar parte dos 5 bpm restantes (17%) que a FCI não conseguiu explicar. De fato, o ES foi 50 ± 14 em S, comparado a 31 ± 34 bpm em T. Embora a diferença dos dados de repouso, apenas, a partir de um teste-*t de Student*, para dados não pareados, não tenha alcançado significância estatística ($P=0,137$), vale lembrar que a probabilidade do ES ser semelhante entre os grupos é de apenas aproximadamente 14%. Assim, este pode ser um resultado sem significância estatística, mas com significado fisiológico importante. Ainda, nenhuma diferença na atividade parassimpática poderia ter contribuído para a bradicardia em T comparado a S, já que se fosse para haver diferença entre os grupos esta seria para o TV ter sido menor em T que em S, e não o oposto ($P=0,068$).

É interessante conjecturar que se a FC de repouso verdadeira do rato idoso é aquela dos ratos previamente estudados, no conforto de suas gaiolas (KALIL et al., 1997), a diferença então observada, entre S e T era de apenas 25 bpm. Neste caso, a diferença de FCI (24 bpm), aqui observada, poderia explicar praticamente a totalidade daquela bradicardia observada em T. É possível que os valores verificados na esteira não tenham sido exatamente os mesmos devido a uma ligeira resposta antecipatória na iminência de começar o exercício, que poderia ter sido maior em ratos sedentários que nos treinados (SCHEUER & TIPTON, 1977).

Embora os resultados deste estudo corroborem os de muitos autores (BOLTER et al., 1973; CATAI et al., 2002; DENAHAN et al., 1993; EVANGELISTA, 2005; GABBETT et al., 2001; HUGHSON, 1977; KATONA et al., 1982; LEWIS et al., 1980; NEGRÃO et al., 1992b; NYLANDER et al., 1982; SCHAEFER et al., 1992; STEIN et

al., 2002), contrastam com um corpo de evidências consideráveis da literatura, particularmente provindas de estudos da variabilidade da FC, no domínio do tempo e da frequência, que preconizam que a bradicardia pós TF ocorre devido ao aumento na atividade vagal para o coração (DAVY et al., 1996; DE MEERSMAN, 1993; DE ANGELIS et al., 2004; GOLDSMITH et al., 1992; MEDEIROS et al., 2000; MELANSON et al., 2001, 2004; SANDERCOCK et al., 2005; SHI et al., 1995; SMITH et al., 1989; STEIN et al., 1999; TULPPO et al., 1998b; TULPPO et al., 2001; UUSITALO et al., 2002; UUSITALO et al., 2004; YAMAMOTO et al., 2001). Na realidade, tem-se sugerido que o TF protege o coração contra eventos cardíacos perigosos através de aumento do TV e também de diminuição da atividade simpática (BILLMAN et al., 2002; RENNIE et al., 2003).

Ainda, em contraste com os presentes resultados, diversos autores verificaram diminuição da atividade simpática para o coração (DE ANGELIS et al., 2004; GAVA et al., 1995; NEGRÃO et al., 1992b; SMITH et al., 1989), não como mecanismo principal responsável pela bradicardia pós TF, mas como acessório à diminuição da FCI (EVANGELISTA et al., 2005; LEWIS et al., 1980; NEGRÃO et al., 1992b; SMITH et al., 1989) ou ao aumento da atividade vagal (DE ANGELIS et al., 2004; MEDEIROS et al., 2004; SMITH et al., 1989).

Corroborando os presentes resultados, a maior parte dos estudos que utilizaram bloqueios farmacológicos aponta para a redução da FCI como a principal causa de bradicardia ligada a TF. Este conceito é apoiado em achados no homem (KATONA et al., 1982; LEWIS et al., 1980b; STEIN et al., 2002) e também em ratos jovens (BOLTER et al., 1973; EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992; SCHAEFER et al., 1992), mas, curiosamente, não em ratos idosos (DE ANGELIS et al., 1997) e

tampouco em ratos jovens submetidos a TF por natação (GIANOLLA et al., 1998; MEDEIROS et al., 2004).

A diminuição da FCI no repouso foi de 8% (24 bpm), o que está compatível com o observado em ratos jovens, que apresentaram de 6-12% de redução (BOLTER et al., 1973; EVANGELISTA et al., 2005; NEGRÃO et al., 1992; SCHAEFER et al., 1992). As variações no homem foram da mesma magnitude (KATONA et al., 1982; LEWIS et al., 1980b; STEIN et al., 2002). Embora não tenham estudado a FCI, DENAHAN et al. (1993), ao verificarem que o TF não aumentava a atividade vagal para o coração de indivíduos idosos, sugeriram que a FCI deveria ser considerada com um possível mecanismo para a bradicardia pós TF, também nesta faixa etária.

TIPTON et al. (1977) não encontraram diferença na FCI, em cães intactos ou em preparações de coração isolado de ratos sedentários e treinados. No entanto, SCHAEFER et al. (1992) ao reproduzirem o estudo de TIPTON et al. (1974), com algumas modificações, verificaram redução da FCI tanto *in vivo* como *in vitro* e sugeriram que aqueles autores não haviam verificado diferença na frequência espontânea de disparo da preparação de coração isolado, devido à presença de neurotransmissores naturais na preparação, que mascarariam a FCI, impedindo a verificação de diferenças entre os animais. Por outra, como períodos curtos de TF podem não causar redução na FCI (LEWIS et al., 1980a), é possível que os animais estudados por TIPTON et al. (1974) não tenham sido submetidos a um tempo suficiente de TF. Sabe-se também, que a adaptação da FC ao TF pode variar com intensidade do TF realizado (GAVA et al., 1995; VERAS-SILVA et al., 1997; WOOD et al., 2001). Desta forma, é possível que a intensidade de TF não tenha sido adequada para produzir alterações da FCI.

Foi encontrado apenas um trabalho na literatura que incluísse o efeito do TF sobre a FCI em ratos idosos (DE ANGELIS et al., 1997). Embora o presente resultado seja contrastante com o achado de inalteração da FCI com TF, em ratos idosos, por aqueles autores, vale salientar que a FCI no presente estudo foi consideravelmente menor que a observada naquela investigação, tanto em ratos treinados (288 ± 28 bpm, atual vs. 374 ± 11 bpm, prévio) como em ratos sedentários (312 ± 18 bpm, atual vs. 381 ± 11 bpm, prévio). Uma possível fonte de discrepância é a idade (28 ± 2 meses, atual vs. 18-24 meses, prévio). Aqueles autores não forneceram a média de idade dos ratos. Outro possível fator de confusão é a intensidade do TF. Embora os ratos fossem mais jovens naquele estudo, a velocidade empregada para TF era consideravelmente maior (12 m.min^{-1} , atual vs. 24 m.min^{-1} , prévio) o que nos leva a crer que aqueles animais treinaram em intensidade maior, o que pode conduzir a diferentes mecanismos de adaptação (GAVA et al., 1995). O mais importante fator de confusão, entretanto, considera-se ter sido a dosagem de propranolol utilizada para bloqueio autonômico adrenérgico. O embasamento para esta afirmação encontra-se no fato de que em estudo piloto, conforme enfatizado em seção prévia, foi verificado que para que não se obtivesse resposta de aumento da FC a uma dose de 125 ng. de isoproterenol era necessária injeção de 7 mg.kg^{-1} de propranolol. Corroborando esta hipótese, verificou-se que os valores de FCI naquele estudo eram iguais ou até superiores aos observados em ratos jovens, que utilizaram semelhantes dosagens para o referido bloqueio β -adrenérgico. Sabe-se, há muito tempo (JOSE, 1966), que a FCI diminui com a idade, portanto, algum grau de diminuição da FCI em ratos aproximadamente 6-10 meses mais velhos, deveria ser esperado. Da mesma forma, certo grau de redução da FCI, naqueles ratos, deveria ter sido observado em comparação com ratos jovens, haja vista que eles tinham uma diferença de idade até

maior (14-20 meses) que quando comparados aos ratos do presente estudo; e grande parte da diminuição da FCI ocorre em período precoce da maturação (CORRE et al., 1976; JOSÉ, 1966). Desta forma, acredita-se que o bloqueio β -adrenérgico naquele estudo (DE ANGELIS et al., 1997) não tenha sido eficaz, o que pode ter mascarado os valores reais de FCI naqueles ratos, impedindo a correta análise deste parâmetro. Outro ponto importante é que, naquele estudo (DE ANGELIS et al., 1997), a atividade vagal também não foi aumentada pelo TF, e os autores concluíram que a bradicardia de repouso ocorria sem alteração autonômica simpática ou parassimpática e ao mesmo tempo sem alteração inerente à frequência de disparo do nó sinoatrial. Aqueles autores atribuíram a bradicardia à diminuição no estresse oxidativo do miocárdio ou à uma possível hipertrofia miocárdica. Esta conclusão se baseou apenas, entretanto, em uma correlação de $r = 0,7$ ($P < 0,04$) entre o estresse oxidativo, avaliado por substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e a FC.

Com base nos presentes dados e na literatura pertinente, pode-se dizer que, em ratos idosos, o TF causou diminuição da FCI em uma magnitude suficiente para explicar a quase totalidade da bradicardia de repouso promovida por ele.

O achado de redução da FCI com o TF é bastante interessante, considerando que o próprio envelhecimento a reduz (CRAFT & SCHWARTZ, 1995; JOSE, 1966; KUGA & YAMAGUCHI, 1993; LAKATTA, 1993; SHANNON et al., 1987; STANLEY et al., 1996; WADDINGTON et al., 1979). Ainda, não se sabe da existência de algum benefício cardioprotetor decorrente de níveis menores de FCI, uma vez que diminuições da FCI são vistas em condições nosológicas graves, como doença arterial coronariana, doença na válvula aórtica, da válvula mitral e doença cardíaca congênita (JOSE, 1966). Também não se sabe da existência de alguma conseqüência deletéria, em razão da diminuição na FCI, como por exemplo, a predisposição à arritmias

graves, como ocorre com atletas (STEIN et al., 2002), inclusive, idosos (JENSEN - URSTAD et al., 1998).

Deve-se considerar que, em contraste com o envelhecimento, as reduções da FCI com TF parecem ser reversíveis, pelo menos em ratos jovens *Wistar* (EVANGELISTA et al., 2005). De fato, observou-se, neste laboratório, que duas semanas de destreinamento aumentam a FC de repouso em 7%, aumento este que é acompanhado de 2% de aumento na FCI.

Assumindo que a redução na FCI é responsável pela bradicardia pós TF, a reversibilidade da FCI com TF sugere mudanças funcionais no nó sinoatrial, ao invés de quaisquer mudanças estruturais, tais como são vistas, paralelamente ao envelhecimento (BONADUCE et al., 2000; DAVIES et al., 1983; DAVIES & POMERANCE, 1972; SHIRAISHI et al., 1992), e que podem ter algum papel na determinação da irreversibilidade da redução da FCI com o envelhecimento.

Curiosamente, tanto cães quanto ratos (ORDWAY et al., 1982; SIGVARDSON et al., 1977), cujos corações foram desnervados antes do TF, não desenvolveram bradicardia ou diminuição da FCI, respectivamente. Assim, é provável que um sistema autônomo funcionando seja necessário para desenvolvimento das possíveis adaptações eletrofisiológicas. Neste sentido, verificou-se que o mecanismo, através do qual os transmissores β -adrenérgicos aumentam a frequência de despolarização das células nodais sinoatriais e conseqüentemente a FC, é amplamente mediado pelas mudanças na amplitude do Ca^{2+} transiente (JU et al., 1999) e necessita do receptor de rianodina com sua função intacta. Estes receptores são grandes proteínas transmembrana (565 kD) que formam canais de cálcio tetraméricos, ativados pelo cálcio intracelular e pelo acoplamento intermolecular. Em baixas concentrações, a rianodina segura os canais de cálcio, do próprio receptor, abertos, em um estado de

subcondução; já em altas concentrações ela fecha os canais. Uma característica interessante da rianodina é que ela só age sobre canais abertos do seu receptor. Mais especificamente, a estimulação do receptor β -adrenérgico, pelo isoproterenol, recruta receptores de rianodina adicionais, a fim de que liberem Ca^{2+} , durante a despolarização diastólica, o qual ativa a corrente trocadora de $\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$, aumentando a frequência de despolarização diastólica (VINOGRADOVA et al., 2002). Sempre que a função do receptor de rianodina é bloqueada parcialmente, o que resulta em depleção de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, o aumento de frequência dose-resposta é cortado.

Considerando-se que a bradicardia pós TF pode ser explicada por uma redução na FCI e também pode ser acompanhada de mudanças comuns ao envelhecimento, tais como disfunção vagal (NEGRÃO et al., 1992b) e eventos arrítmicos cardíacos mais pronunciados (STEIN et al., 2002), inclusive em idosos atletas (JENSEN-URSTAD et al., 1998), formulou-se a hipótese de que os mecanismos responsáveis pela redução da FCI com o TF, provavelmente implicam os mesmos sítios envolvidos nas mudanças da FCI com o envelhecimento, ou seja, a liberação cíclica de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, via receptores de rianodina ou alguma das correntes ativadas na despolarização diastólica, particularmente I_f e I_{kr} .

Em conjunto, as evidências da literatura sugerem que este pode ser o gatilho das adaptações eletrofisiológicas, tais como a redução da FCI, o qual atuaria através de ação direta sobre as oscilações rítmicas de Ca^{2+} , via receptores de rianodina, para diminuir a FC de repouso e a FC em resposta ao exercício. Este gatilho, associado às alterações estruturais do nó sinoatrial do idoso, poderia atribuir o caráter de irreversibilidade da diminuição da FCI com o envelhecimento, em contraste com a reversível redução da FCI promovida pelo TF. Adicionalmente, acredita-se que esta

associação poderia ser importante para discriminação entre o efeito do envelhecimento e o efeito do TF sobre o comportamento da FC, já que o envelhecimento reduz a FC máxima e o TF reduz a FC de repouso e submáxima, ambos via redução da FCI.

Esta hipótese certamente encontrará espaço em futuras investigações.

7.4.2.2 Mecanismos não envolvidos na bradicardia de repouso

Não foram observadas modificações, em nenhum dos índices de atividade parassimpática para o coração avaliados, nos ratos submetidos a TF, no repouso ou ao exercício.

A metodologia de análise da atividade vagal para o coração não influenciou os resultados, na condição de repouso. Assim, os dados referentes ao TV corroboraram os dados de EV, mostrando que realmente não houve aumento da atividade vagal para o coração, pós TF. Ao contrário, houve tendência à diminuição do TV ($P=0,068$).

Embora muitos pesquisadores tenham demonstrado aumento da atividade vagal para o coração com TF (KENNEY, 1985; SCHEUER & TIPTON, 1977; SMITH et al., 1989), inclusive em idosos (FLEG et al., 1985; SEALS & CHASE, 1989; STEIN, et al., 1999), os dados do presente estudo concordam com os de DENAHAN et al. (1993) e de MACIEL et al. (1985), que não verificaram aumento da atividade parassimpática, avaliada a partir da variabilidade da FC, em indivíduos idosos e jovens, respectivamente, submetidos a TF.

No presente estudo, a FCA foi maior em S que em T, em todas as condições estudadas. Quando este valor foi corrigido para a FC controle (efeito vagal), a diferença entre grupos desapareceu. Adicionalmente, ao se calcular o TV, em repouso, pelo modelo matemático utilizado por KATONA et al. (1982) e por SMITH et al. (1989), também não foram encontradas diferenças entre sedentários ($0,88 \pm 0,03$) e treinados ($0,86 \pm 0,03$), no presente estudo. Estes valores não diferiram dos observados por aqueles autores, ou por investigações prévias deste laboratório, em ratos jovens sedentários ($0,85 \pm 0,01$), embora naquela amostra a atividade vagal tenha sido menor em T (0,74) que em S (0,85). Curiosamente, os valores encontrados em ratos idosos, foram maiores do que os relatados para jovens atletas ($0,56 \pm 0,03$) (UUSITALO et al., 1998). Seguindo esta tendência de comportamento, em virtude do TF, o TV tendeu a ser menor em T que em S ($P=0,068$), na análise conjunta de todas as condições, de repouso e exercício, no presente estudo.

Neste sentido, o estudo de NEGRÃO et al. (1992b) não apenas demonstrou que junto com a ocorrência de bradicardia pós TF a FCI diminuía, mas que a função vagal estava deprimida (KATONA et al., 1982). Naquele estudo, em contraste com o presente, todos os índices de atividade vagal se mostraram diminuídos, inclusive a resposta ao agonista muscarínico, metacolina. No presente estudo a resposta à metacolina não foi diferente entre os grupos, embora a FC sob ação do fármaco tenha sido menor em T que em S, em todas as doses utilizadas, possivelmente devido à menor FCI. Em idosos, um dos principais problemas deste experimento foi a ação fulminante do fármaco, o que muitas vezes levou à perdas de animais, por parada cardíaca. Quando ocorreram paradas cardíacas, devido à metacolina, a reversão foi difícil devido à grande queda da pressão arterial, a qual demorou, consideravelmente, a retornar aos níveis basais. Um outro problema encontrado foi a dificuldade de serem

obtidas respostas bradicárdicas à pequenas doses do fármaco, especialmente com o rato acordado, o que fez com que a dose mínima para resposta bradicárdica, em geral, fosse muito grande e perigosa. Foram testadas, em estudo piloto, doses a partir de 1,2 ng, até que fosse encontrada tal dose. A análise corroborou os resultados de EV e TV, não havendo diferença entre os grupos.

Além do mais, mostrou-se, recentemente, que a densidade de receptores muscarínicos M₂, no ventrículo esquerdo, não diminui com TF (BARBIER et al., 2004). No entanto, não foram encontrados estudos que verificassem sua densidade na região do nó sinoatrial, e foi previamente mostrado que podem ocorrer alterações diferentes, nas diversas regiões do coração, como no caso do envelhecimento (HARDOUIN et al., 1998). É, portanto, necessário verificar a densidade de receptores M₂ na região específica do nó sinoatrial.

Com base nestas evidências, sugere-se que a modulação autonômica da FC, em repouso, não é modificada pelo TF, de forma que nem a diminuição da atividade simpática nem o aumento do TV podem ser considerados como responsáveis pela bradicardia pós TF em ratos idosos.

O achado de inalteração parassimpática surpreendeu devido aos possíveis efeitos cardioprotetores associados ao aumento da atividade parassimpática para o coração (STEIN, et al., 1999; BILLMAN et al., 1984). A possibilidade de diminuição do TV preocupa, uma vez que sua diminuição é relacionada à maior mortalidade por eventos coronarianos (GOLDSMITH et al., 1992; LEVY et al., 1998). Um aumento da atividade vagal para o coração seria benéfico, particularmente nesta faixa etária, que já se encontra com risco aumentado por diminuição do tônus pelo envelhecimento *per se*. De fato, existem relatos de aumento da variabilidade da FC em indivíduos idosos submetidos a TF (STEIN, et al., 1999), o que se justificou por um aumento da atividade

vagal para o coração devido ao baixo nível inicial de atividade vagal, causado pelo envelhecimento, mas estes achados não são definitivos (CATAI et al., 2002; DENAHAN et al., 1993).

Os indicadores de atividade simpática também não foram diferentes, entre os grupos, no presente estudo. Tanto o ES quanto o TS foram semelhantes, em S e T. Não se pode deixar de considerar, entretanto, que uma pequena diferença, embora não significativa, poderia colaborar para a bradicardia de repouso.

Neste sentido, NEGRÃO et al. (1992b) verificaram resultados opostos entre ES e TS, em ratos jovens submetidos a TF; com o ES tendo sido maior e o TS tendo sido menor em T. Os autores concluíram que o TF diminui a atividade simpática, embora a variação seja pouco expressiva devido à característica vagotônica da FC em repouso. KATONA et al. (1982) também não observaram diferença na atividade simpática para o coração, a partir do modelo matemático de *Rosenblueth & Simeone*. Ao realizar-se semelhante análise, com os dados do presente estudo, os valores de repouso, obtidos a partir do modelo matemático em S ($1,14 \pm 0,15$) e T ($1,18 \pm 0,06$), confirmaram o achado de inalteração da atividade simpática em repouso para o coração, a partir de ambos: ES e TS. UUSITALO observou valores similares de atividade simpática, pelo mesmo modelo, em atletas ($1,15 \pm 0,03$). Se por um lado a atividade simpática não pareceu ser diferente, o balanço autonômico feito por este modelo foi bem diferente entre ratos idosos ($0,94 \pm 0,16$; T e $0,92 \pm 0,15$; S) e atletas jovens ($0,64 \pm 0,03$), o que indica um balanço tendendo a simpatotônico (>1) em idosos, S e T, mas não em atletas (jovens).

A sensibilidade aos estímulos β -adrenérgicos e muscarínicos também podem indicar alterações da atividade autonômica eferente (SPINA et al., 1998). De fato, têm-se observado (LEOR – LIBRACH et al., 1999; NEGRÃO et al., 1992b; STRATTON et

al., 1992), ou não (MARTIN III et al., 1991; SCHAEFER et al., 1992; SVEDENHAG et al., 1986,1991), alterações na sensibilidade ao estímulo β -adrenérgico com o TF, as quais podem ser indicativas de modificação na afinidade ou na densidade dos receptores adrenérgicos (BARBIER et al., 2004) e, ainda, alterações em sítios pós-receptores (VINOGRADOVA et al., 2002).

Tem-se relatado que a exposição freqüente à estimulação simpática ou a altos graus de catecolaminas circulantes, como ocorre durante uma sessão de exercício, pode reduzir a sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos ou até mesmo diminuir sua densidade (BARBIER et al., 2004).

SCHAEFER et al. (1992) e, subsequentemente, outros autores (SPINA et al., 2000), não conseguiram demonstrar relação entre a redução da FC de repouso e a resposta a agonistas adrenérgicos e, tendo medido a quantidade de receptores β -adrenérgicos, sugeriram que não havia modificação no nível de receptor ou pós receptor β -adrenérgico que pudesse explicar a bradicardia pós TF.

No presente estudo, a resposta ao agonista adrenérgico, isoproterenol, não foi diferente entre os grupos, mostrando que a sensibilidade não foi diminuída pelo TF, como sugerido em alguns estudos (LEOR-LIBRACH et al., 1999; MEREDITH et al., 1991; NEGRÃO et al., 1992b; SVEDENHAG et al., 1986, 1991).

Como a atividade simpática não é tão importante para a manutenção da FC na condição de repouso, esta tem sido estudada preferencialmente, na condição de exercício. A literatura que aborda a condição de repouso mostra haver pequena (EVANGELISTA et al., 2005; MEDEIROS et al., 2004; NEGRÃO et al., 1992; SPINA et al., 1998) ou nenhuma (MARTIN III et al., 1991; SPINA et al., 2000) diminuição dos índices estudados, podendo haver diferenças de resposta quanto ao gênero, com mulheres, não apresentando modificação (SPINA et al., 2000).

Curiosamente, mostrou-se que existe um polimorfismo no receptor β 1-adrenérgico (Ser49Gly) que é associado à FC de repouso. A hereditariedade da FC foi de $39,7\% \pm 71\%$, e independente de índice de massa corporal, idade, sexo, etnia, fumo, consumo de álcool, hipertensão, tratamento com B-bloqueadores e até mesmo de exercício (RANADE et al., 2002). Os *homozigotos Ser* apresentaram os maiores níveis de FC e os *homozigotos Gly* os menores.

7.5 Frequência Cardíaca ao exercício

A redução da FC máxima com o envelhecimento é uma das adaptações mais notórias do envelhecimento cardíaco funcional

7.5.1 Adaptações ao Envelhecimento

A FC máxima reduz com o envelhecimento tanto no homem (WILSON & TANAKA, 2000) quanto em animais (CORRE et al., 1976). Tais reduções são vistas já durante o amadurecimento. CORRE et al. (1976) mostraram que a FC de ratos diminui em 34 bpm de um (618 ± 7) à cinco meses (580 ± 9) de vida. Outrossim, o TF parece não modificar a FC máxima (LAKATTA, 2001). Quando ocorrem reduções estas são pequenas e, em geral, não são significantes.

MC GUIRE et al. (2001), em seu elegante estudo de acompanhamento de indivíduos em 1966 e 1996, ou seja, após trinta anos, verificaram uma queda de 6% na FC máx, a qual foi compensada por um aumento de 7% no volume sistólico. Em

sobrecarga submáxima, aqueles autores observaram uma diminuição de 5% na FC, com o envelhecimento.

Não foi objetivo do presente estudo determinar a FC máxima. No entanto, a ausência de diferenças na FC no pico de ação do isoproterenol, bem como na resposta da FC ao estímulo β -adrenérgico, da penúltima para a última dose de isoproterenol (498 bpm \pm 53 bpm; S vs. 500 \pm 29 bpm; T), pode indicar que o potencial máximo de aumento da FC foi atingido, especialmente considerando que as doses eram dobradas de uma injeção para outra. Como não houve diferenças nas respostas entre S e T, pode-se assumir que esta era a FC máxima destes ratos, e, portanto, estes dados parecem corroborar os resultados de que o TF não muda a FC máxima (WILSON & TANAKA, 2000; WISLOFF et al., 2001).

Ainda, assumindo-se a FC máxima destes ratos como sendo 500 bpm; a FC, na sobrecarga de maior intensidade, representou 91 vs. 88% da FC máxima, em S vs. T, respectivamente, podendo, portanto, ser considerada como de alta intensidade, para ambos os grupos. De fato, foi mostrado previamente, por este grupo de pesquisa, que, no homem, o ponto de descompensação respiratória ocorre reproduzivelmente aos 85% da FC máxima (KALIL et al., 1995). Desta forma, qualquer exercício realizado em intensidade superior a 85% da FC máxima pode ser considerado como de alta intensidade, independentemente da condição física (KALIL et al., 1995) porque determina estresse metabólico tal que o H⁺ não pode mais ser tamponado, promovendo acidose metabólica descompensada (WAJNGARTEN et al., 1994). Ainda, se com 1 mês um rato apresenta FC de 620 bpm (CORRE et al, 1976), houve redução de 120 bpm na FC máxima com o envelhecimento, ou 4 bpm ao mês.

7.5.2 Treinamento físico e envelhecimento

A atenuação da taquicardia induzida pelo exercício de intensidade submáxima absoluta, ou seja, em determinada sobrecarga de trabalho, também é considerada como marcador fisiológico da adaptação ao TF, inclusive na idade avançada (LEVY et al., 1994; SEALS et al., 1994). No presente estudo, a FC de T foi menor que a de S, tanto em repouso quanto em todos os estágios de exercício estudados. As diferenças observadas foram de 11% na primeira sobrecarga, 10% na segunda, 6% na terceira e 3% na última. É interessante notar que, à medida que o exercício se tornou mais intenso, as diferenças entre os grupos foram diminuindo, permanecendo, contudo, estatisticamente diferentes. Assim, as maiores diferenças entre grupos puderam ser observadas em sobrecargas leves de exercício e não em alta intensidade, contrastando com os achados em ratos jovens (NEGRÃO et al., 1992a), em cães (TIPTON et al., 1974) e em homens (LEWIS et al., 1980) cujas diferenças entre grupos somente apareceram em sobrecargas mais elevadas. Por exemplo, NEGRÃO et al. (1992a) mostraram diferenças de 5% em sobrecargas leves vs. 8-9% em sobrecargas mais elevadas. Esta atenuação da diferença entre S e T pode ter ocorrido devido à proximidade da FC máxima, a qual, assumiu-se, foi semelhante entre os dois grupos

O aumento total de FC, do repouso ao final do exercício, foi de 130 bpm, S vs. 145 bpm, T. Em ambos os grupos, a FC aumentou do repouso para o exercício, permaneceu estável, até a segunda sobrecarga, e aumentou, novamente, até o final do exercício. O principal aumento de FC ocorreu na passagem do repouso para o exercício (98 bpm; 75%, S vs. 60 bpm; 41%, T). O segundo maior aumento foi na última sobrecarga (21 bpm; 16%, S vs. 34 bpm; 23%, T). Entre os outros estágios os aumentos de FC não foram significantes.

Embora estes comportamentos tenham sido estatisticamente semelhantes, a variação da FC na passagem do repouso para o exercício, em S, foi consideravelmente mais pronunciada que em T. Além disso, a FC de S estabilizou, nos estágios intermediários, para aumentar novamente, apenas na última sobrecarga (16%). T apresentou aumentos de FC mais proporcionais ao aumento na sobrecarga, ou seja, em função do aumento da demanda metabólica. (da sobrecarga 2 para a sobrecarga 3 (21%), e da sobrecarga 3 para a sobrecarga 4 (27%), ou seja, em função do aumento na demanda metabólica. Isto provavelmente se deveu a uma melhor adaptação cardiovascular e metabólica em T que em S. S teve uma resposta exacerbada da FC em função da sobrecarga, na passagem do repouso para o exercício, sendo que da sobrecarga 1 para a 2, a FC estabilizou, resultando em aumento na FC de apenas 2% em S vs. 4% em T. Esta estabilização foi importante, no sentido de caracterizar a primeira e a segunda sobrecarga como sobrecargas de leve a moderada intensidade, pois apenas estas promovem o equilíbrio metabólico, cardiovascular e respiratório.(steady-state)

O primeiro aumento de FC em S, foi mais abrupto que em T, o que contribuiu para que as diferenças entre os grupos fossem maiores nas sobrecargas mais leves que nas intensas, já que T não aumentou tanto a FC nesta fase. Assim, as diferenças em sobrecargas leves ocorreram devido a uma maior resposta da FC em S que em T, enquanto a atenuação dessas diferenças com a progressão da intensidade do exercício se deveu, principalmente, ao aumento mais pronunciado da FC, a partir da terceira sobrecarga, em T que em S (27 bpm; 19% vs. 11 bpm; 8%, respectivamente).

Não foram encontrados estudos envolvendo ratos idosos para que estas respostas ao exercício de intensidade progressiva pudessem ser comparadas

Procurou-se, por esta razão, traçar um paralelo com ratos jovens, estudados previamente neste laboratório.

NEGRÃO et al. (1992) observou, em ratos jovens, sedentários (S_{JOVENS})* e treinados (T_{JOVENS})*, em protocolo de exercício submáximo, de intensidade progressiva, aumento de 138; S_{JOVENS} vs. 87 bpm; T_{JOVENS} . Deste aumento, 72% (99 bpm) ocorreram na passagem do repouso para o exercício, em S_{JOVENS} , comparados aos 76% (66 bpm) em T_{JOVENS} . Naquele estudo, o aumento total de FC foi bem menor em T_{JOVENS} que em S_{JOVENS} , em contraste com o dos ratos idosos treinados do presente estudo ($T = T_{\text{IDOSOS}}$)*, que apresentaram variação total de FC até maior que seus pares sedentários. É interessante notar que S_{IDOSOS} e S_{JOVENS} apresentaram aumento similar de FC na passagem do repouso para o exercício (aproximadamente 100 bpm), o mesmo acontecendo entre T_{IDOSOS} e T_{JOVENS} (aproximadamente 60 bpm), embora em T_{IDOSOS} este aumento tenha representado 41% do aumento total, enquanto em T_{JOVENS} este aumento representou 71% do total. Enquanto a FC submáxima entre ratos idosos foi sempre menor em T_{IDOSOS} , entre ratos jovens estas diferenças só se tornaram significantes em alta intensidade. As diferenças entre ratos sedentários e treinados identificaram o reconhecido efeito do TF, de diminuição da FC em carga submáxima, mostrando que este ocorre independentemente da idade (KALIL et al., 1996), também em ratos idosos. Fisiologicamente, esta adaptação é importante, uma vez que ela pode refletir uma melhor função ventricular e menor estresse para o miocárdio (BRANDÃO et al., 1993; SEALS et al., 1994b).

(*) S_{JOVENS} e T_{JOVENS} referem-se a ratos jovens de estudo de NEGRÃO et al. (1992); e S_{IDOSOS} e T_{IDOSOS} são os ratos S e T, respectivamente, do presente estudo, os quais estão destacados como “IDOSOS” apenas para enfatizar sua condição de idosos em comparação com os ratos jovens daquele estudo, facilitando a identificação dos grupos etários.

Sabe-se que a FC aumenta em resposta ao exercício em função da demanda metabólica. Verificou-se, previamente, que a relação $\Delta VO_2/\Delta w$ (variação no consumo de oxigênio em função da variação na sobrecarga, um índice do transporte de oxigênio para os músculos em atividade, está diminuído em idosos (WAJGARTEN et al., 1994), mas pode ser revertido por programa de treinamento físico de moderada intensidade, conduzido por apenas 3-5 meses. Isto poderia explicar a aparente semelhança na FC em resposta à sobrecarga de 15 m.min⁻¹, uma vez que a relação $\Delta VO_2/\Delta wR$ não muda com TF em jovens (WAJNGARTEN et al., 1994).

Analisando com cuidado este estudo, previamente realizado neste laboratório, verificou-se que a velocidade de 15 m.min⁻¹ foi comum aos dois estudos. A FC nesta velocidade foi de 455±30 bpm; S_{IDOSOS} vs. 469±8 bpm; S_{JOVENS} e 441±48 bpm; T_{IDOSOS} vs. 445±6 bpm; T_{JOVENS}. Curiosamente, a FC de ratos idosos comparada à FC de ratos jovens pareceu similar, entre treinados, ou apenas ligeiramente diminuída, em, sedentários, o que não corrobora o conceito de que o aumento da FC ocorre em função da sobrecarga relativa (% capacidade aeróbia máxima) (ISHIDA et al., 2000), já que para o idoso esta sobrecarga foi próxima do máximo, enquanto para o jovem foi a sobrecarga de menor intensidade. É interessante notar que apesar das sobrecargas relativas serem diferentes, a FC de jovens e idosos pareceu similar, especialmente em ratos treinados. Contudo, alguns fatores poderiam contribuir para que os mecanismos de aumento da FC tenham sido diferentes entre jovens e idosos. Primeiramente, a intensidade absoluta foi a mesma; entretanto, a relativa foi bem diferente (POWELL, 1993). Por outra, existem as alterações degenerativas (CRAFT & SCHWARTZ, 1995; DAVIES & POMERANCE, 1972; SCARPACE, 1986; SHIRAIISHI et al., 1992), concernentes ao envelhecimento, que podem contribuir para que o mecanismo de alcance da FC tenha sido diferente, nesta sobrecarga submáxima, haja vista que os

vários parâmetros envolvidos, na determinação da FC (TULLPPO et al., 1998; UUSITALO et al., 2004; VESTAL et al., 1979), e que foram estudados, já se mostraram alterados, em relação ao jovem, na condição de repouso.

Esta análise tem, portanto, implicações práticas, pois as atividades da vida diária representam esforços submáximos absolutos que podem, dependendo da capacidade física, significar maior ou menor esforço. A identificação das adaptações fisiológicas para realização de determinado trabalho fornece informações que podem denotar o grau de comprometimento dos recursos internos para realização do mesmo, o que é especialmente importante para a população idosa que, muitas vezes, para realizar suas atividades da vida diária, utilizam um percentual elevado de sua capacidade máxima, devido à sua baixa aptidão física e a impossibilidade de diminuir a intensidade das atividades necessárias do cotidiano (KALIL et al., 1996). De fato, enquanto 15 m.min⁻¹ foi uma sobrecarga próxima do máximo para ratos idosos, para ratos jovens, estudados previamente, não representou mais que 50% de sua capacidade máxima (EVANGELISTA et al., 2005; GAVA et al., 1995; VERAS-SILVA et al., 1997). Conseqüentemente além dos recursos disponíveis para aumento da FC serem diferentes, para jovens e idosos, o grau de utilização destes recursos pode ser distinto.

7.5.3 Freqüência cardíaca intrínseca e determinantes autonômicos da freqüência cardíaca ao exercício submáximo, com o envelhecimento

Até onde vai nosso conhecimento, esta é a primeira vez que a FCI, durante o exercício, é apropriadamente estudada em ratos idosos. Não existe estudo comparativo em população idosa. Isto é compreensível uma vez que a atenção da

ciência se voltou para o exercício e seus benefícios para o envelhecimento saudável, apenas nas últimas três décadas (MCGUIRE et al., 2001), mas, com maior intensidade na última década (BELL et al., 2001; SANDERCOCK et al., 2005). Há, portanto, carência de estudos (HUANG et al., 2005) que possibilitem a compreensão do processo de envelhecimento e dos mecanismos através dos quais o exercício promove os melhores desfechos, que já começam a ser comprovados (ERIKSEN, 2001; KALIL & NUNES-ALVES, 2005; MANSON et al., 2002)

Também quanto a este parâmetro se traçou paralelo entre o rato idoso do presente estudo e o rato jovem, estudado previamente (NEGRÃO et al. 1992). Embora se tenha preferência pela análise do “tônus”, apenas os dados dos “efeitos” foram disponibilizados.

Ao passo que a FCI, na sobrecarga $15 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, dos ratos idosos, como esperado, pareceu menor que a dos jovens naquele estudo ($348 \pm 31 \text{ bpm}$; S_{IDOSOS} vs. $394 \pm 5 \text{ bpm}$; S_{JOVENS} , e $316 \pm 31 \text{ bpm}$; T_{IDOSOS} vs. $390 \pm 8 \text{ bpm}$; T_{JOVENS}) o ES pareceu muito maior, especialmente em ratos treinados ($128 \pm 30 \text{ bpm}$; S_{IDOSOS} vs. $106 \pm 8 \text{ bpm}$; S_{JOVENS} e $144 \pm 39 \text{ bpm}$; T_{IDOSOS} vs. $85 \pm 8 \text{ bpm}$; T_{JOVENS}), ocorrendo o oposto com o EV, que pareceu, como esperado, menor no idoso ($23 \pm 22 \text{ bpm}$; S_{IDOSOS} vs. $41 \pm 11 \text{ bpm}$; S_{JOVENS} , e $5 \pm 57 \text{ bpm}$; T_{IDOSOS} vs. 61 ± 5 ; T_{JOVENS}). Por conseguinte, a maior atividade simpática associada à maior retirada vagal pareceu compensar pela diminuição da FCI do rato idoso, possibilitando a manutenção da FC similar em ratos idosos e jovens. Como o TF causou diminuição adicional na FCI em idosos, mas não em jovens, a diferença entre ratos jovens e idosos treinados pareceu mais acentuada que a encontrada na condição sedentária. Até onde se tem conhecimento, estes são os primeiros dados da literatura com medidas da FC, da FCI e dos componentes autonômicos simpático e vagal durante exercício de intensidade progressiva em ratos

idosos. Assim, embora não se tenha estudado um grupo controle jovem, a comparação com os dados provenientes de estudo prévio deste laboratório é enriquecedora, uma vez que se demonstra o quanto a atividade simpática é importante para o idoso (LAKATTA, 1986; PERINI et al., 2002; SPINA et al., 1998,2000; YIN et al., 1976) alcançar níveis apropriados de FC em determinado esforço submáximo absoluto, em oposição ao jovem (CHACON-MIKAHIL et al., 1998; GALLO JR et al., 1989).

Com intuito de ajustar as adaptações ao estresse metabólico causado pelo exercício costumam-se comparar sobrecargas relativas de esforço, as quais são, em geral, no entanto, menores em idosos que em jovens, já que em geral, idosos têm menor capacidade física. Conquanto esta comparação não seja viável no presente estudo, posto que não foi feita avaliação cardiopulmonar ao exercício, é interessante notar que em uma investigação em que indivíduos jovens e idosos foram pareados por sua capacidade máxima de exercício, o que resultou em sobrecargas submáximas absolutas e relativas, semelhantes para os dois grupos, os aumentos nas concentrações plasmáticas de norepinefrina foram similares durante exercício submáximo sustentado (KASTELLO et al., 1993).

Com base neste dado, pode-se dizer que a maior atividade simpática, associada à menor atividade vagal, dos ratos idosos do presente estudo com relação ao jovem, previamente estudado (NEGRÃO et al., 1992a), na sobrecarga absoluta de $15 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$, poderia ter sido decorrente de estresse metabólico proporcional à capacidade máxima diferente, entre eles, o que resultaria em recrutamento de recursos autonômicos distintos. Por outra, há que se considerar que esta resposta pode ter sido decorrente da menor FCI dos idosos, e não necessariamente do esforço relativo, já que a diferença entre jovens e idosos foi acentuada pelo TF. É necessário enfatizar, que o

estudo da intensidade submáxima absoluta para o idoso é essencial, já que as atividades da vida diária, que são as mais importantes para a qualidade de vida do idoso, devem ser realizadas, por todos os indivíduos, independentemente de sua capacidade física (MANSON et al., 2002). Vale lembrar que a sobrecarga que está sendo comparada foi a menor sobrecarga estudada em ratos jovens, ou seja, poderia representar os esforços cotidianos, tão difíceis de realizar na idade avançada. São sobrecargas submáximas absolutas, que exigem gastos energéticos similares, mas que provocam alterações fisiológicas distintas, as quais devem ser conhecidas. Este dado é interessante, uma vez que tem-se mostrado atenuação da ativação simpática cardíaca ao exercício em idosos (LUCINI et al., 2004).

7.5.4 Adaptações ao exercício de intensidade progressiva

Ao se analisar o comportamento da FC e seus determinantes, com aumento da intensidade do exercício, verificou-se que enquanto a retirada vagal na sobrecarga de maior intensidade em ratos idosos foi praticamente total, em ratos jovens ela ainda estava preservada, o mesmo acontecendo com a capacidade de estimulação simpática, que foi solicitada desde o início do exercício, no idoso, enquanto no jovem, especialmente em ratos treinados, ela só foi importante em alta intensidade (NEGRÃO et al., 1992a).

Como aconteceu com o repouso, a redução da FCI pôde explicar a quase totalidade da atenuação da taquicardia induzida pelo exercício, em ratos idosos, particularmente nas sobrecargas de maior intensidade. Assim, a FCI explicou 100% da diferença entre os grupos, a partir da sobrecarga 3. Na realidade, a diferença de FCI

foi maior que a diferença de FC controle nestas sobrecargas: (ΔFC -27 bpm vs. ΔFCI -36 bpm em $10\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ e ΔFC -14 bpm vs. ΔFCI -32 bpm em $15\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$).

Esta análise permite supor por que a retirada vagal e a ativação simpática foram tão pronunciadas em T, nas sobrecargas de maior intensidade. Devido à reduzida FCI o organismo possivelmente necessitou lançar mão de todos os recursos disponíveis para elevar a FC de modo a garantir um débito cardíaco adequado (BRANDÃO et al., 1993; GOLDSMITH et al., 2000; SEALS et al., 1994). Admitindo-se que o potencial de elevação da FC por estimulação simpática era semelhante (STRATTO et al., 1992), entre os grupos S e T, já que as respostas da FC ao isoproterenol foram similares entre os grupos, o único recurso disponível para T aumentar a FC seria a retirada vagal. No entanto, a análise do EV não revelou nenhuma diferença entre os grupos. Por outro lado, ao se verificar o TV, uma diferença importante, embora não significativa entre os grupos foi revelada. O TV tendeu a ser menor em T que em S ($P=0,068$). Esta aparente divergência de resultados enfatiza a necessidade de avaliação usando diferentes abordagens.

Ao se analisar o comportamento do EV e do TV ao longo do exercício verificou-se divergência nos resultados. Enquanto o EV aumentou na passagem do repouso para o exercício e novamente na última sobrecarga, o TV do exercício só foi diferente do repouso a partir da terceira sobrecarga. Desta forma, o aumento do EV, do repouso para o exercício, deve ter sido consequência de aumento na estimulação simpática e não de retirada vagal. De fato, ao se analisar o ES e o TS verificou-se que houve aumento do repouso para o exercício e novamente no final do exercício. Não houve discrepância de resultados entre ES e TS. O TS, em T, aumenta 40% na passagem do repouso para o exercício e 35% na última sobrecarga. Em S, o TS aumenta 69%, do repouso para o exercício, e 33% na última sobrecarga. Esta análise permite concluir

que em ratos idosos o aumento da FC, mesmo em sobrecargas leves, se deve principalmente a ativação simpática. Já em sobrecargas mais elevadas ambos os ramos autonômicos contribuem para o aumento da FC, particularmente no grupo treinado. Assim ocorre aumento da estimulação simpática e uma maior retirada vagal. É possível sugerir, ainda, que, como o TV já é diminuído com o envelhecimento, é necessária estimulação simpática, desde o início do exercício, para que a FC aumente.

A maior parte dos estudos relata que, durante o exercício, ocorre aumento progressivo da retirada vagal com o aumento da intensidade do exercício. A quantificação do controle autonômico, no entanto, não tem sido muito confiável, com achados inconsistentes em vários estudos (LAZOGLU et al., 1996; LEICHT et al., 2003; LOIMAALA et al., 2000). Os achados inconsistentes da análise espectral podem sê-lo devido a vários fatores (RENNIE et al., 2003). Uma possível limitação da análise espectral, para a avaliação de respostas fisiológicas ao exercício submáximo, é que condições não estacionárias podem aumentar o ruído nos dados (PIGOZZI et al, 2001; LOIMAALA et al., 1998). A análise espectral da variabilidade da FC ainda não foi padronizada, sendo que diferentes análises conduzem a diferentes resultados (SANDERCOCK et al., 2005). Por exemplo, um aumento na temperatura interna durante o exercício afetará as oscilações de baixa frequência que refletem o controle termoregulatório (SCHUIT et al; 1999).

A natureza incremental do exercício produz mudanças complexas nas variáveis cardiovasculares e na respiração. A redução da potência total da variabilidade da FC durante o exercício é, provavelmente, a principal razão para os resultados inconsistentes da análise espectral durante o exercício (UUSITALO et al., 2004). À medida que a intensidade do exercício aumenta, há uma redução na potência total da

variabilidade da FC. Esta redução na potência total, conjuntamente com a variabilidade individual em uma dada intensidade, tornam a medida do controle autonômico durante o exercício menos preciso e mais variável que a medida da variabilidade da FC no repouso (CARTER et al, 2003) e durante o estresse ortostático (GABBETT et al., 2002).

7.5.5 Mecanismos envolvidos na atenuação da taquicardia ao exercício

No presente estudo não foi observado aumento da atividade vagal com o TF, ao exercício. A atividade simpática também não foi diferente entre os grupos. Este achado concorda com os verificados por TULPPO et al. (1998). A redução da FC se deveu à redução na FCI. Estes resultados contrastam com os encontrados na literatura para ratos jovens (NEGRÃO et al., 1992a) e também para humanos (GALLO JR et al., 1989; GOLDSMITH et al., 2000; LEHMANN et al., 1984; SANDERCOCK et al., 2005; SEALS et al., 1994). No entanto, até onde se sabe, esta é a primeira vez que o efeito do TF sobre a FCI e seus determinantes autonômicos são estudados, em repouso e ao exercício de intensidade progressiva, em idade avançada. Os mecanismos envolvidos na bradicardia de repouso foram os mesmos envolvidos na atenuação da taquicardia induzida pelo exercício em ratos idosos submetidos a TF. Isto também é contrastante com os dados da literatura e com os observados previamente, inclusive neste laboratório (NEGRÃO et al., 1992a), já que esta é a primeira vez que se demonstra, e não apenas se sugere (DENAHAN et al, 1993; PERINI et al., 2000;

PERINI et al, 2002), que a FCI é responsável pela atenuação da taquicardia induzida pelo exercício.

A dificuldade de realização de bloqueios farmacológicos em humanos, em idade avançada (STEIN et al., 2002), aliada à inconsistência de resultados de técnicas não invasivas como a da variabilidade de FC ao exercício contribuem para a originalidade deste estudo. Além disso, a dificuldade e o custo para se obter amostra suficiente e pareada de ratos sedentários e treinada em idade avançada contribuem para a escassez de estudos nesta faixa etária. Calcula-se o custo de U\$500,00 por animal. No presente estudo, foram 80 animais para se estudar 20.

Não foram encontrados resultados que indicassem uma menor atividade simpática para uma mesma sobrecarga submáxima, como tem sido proposto (SEALS et al., 1994).

Os mecanismos que atuam na atenuação da FCI são os mesmos envolvidos na atenuação da FC máxima e da FC ao exercício submáximo (HUGHSON et al., 1976; KUGA et al., 1993). Recentemente, foi demonstrado que a atuação simpática se dá através da sinalização de Ca^{+2} via receptores de rianodina. As mesmas correntes, já citadas como possíveis candidatas para explicarem a redução da FCI, em repouso, se aplicam para o exercício.

No presente estudo, ratos idosos submetidos a TF apresentaram menor FCI que ratos sedentários controles. Houve uma redução média de 30 bpm, considerando-se todos os intervalos estudados juntos, ou seja, o repouso e os estágios de exercício, o que representou uma redução de 9%. As variações de cada intervalo separadamente foram 24 bpm no repouso (8%), 30 bpm no primeiro estágio (11%), 38 bpm no segundo estágio (11%), 36 bpm no terceiro estágio (10%) e 32 bpm no quarto estágio (9%).

HUGHSON et al. (1977), ao encontrarem uma correlação positiva entre a redução da FCI e a redução da resposta máxima a norepinefrina, sugeriram que os fatores que limitavam a resposta cronotrópica máxima poderiam ser os mesmos que reduziam a FCI.

No entanto, SCHAEFER et al. (1992) não conseguiram demonstrar relação entre a redução da FC de repouso e a sensibilidade dos receptores adrenérgicos, fator que tem sido considerado como primário para redução da resposta cronotrópica com o envelhecimento (LAKATTA, 1993).

Da mesma forma que não existiam estudos sobre o efeito do TF na FCI, não existem estudos, na senescência, que indiquem quais os mecanismos de redução da FCI com o TF. JU & ALLEN (1998) sugerem que a chave do problema deve estar nas correntes iônicas intracelulares envolvendo a liberação localizada de Ca^{+2} sob a membrana celular do nó sinoatrial.

Uma das dificuldades do estudo da regulação autonômica da FC ao exercício é a dificuldade de manutenção do bloqueio simpático durante sobrecargas intensas de trabalho. Isto certamente prejudica a análise, tanto desta regulação quanto do comportamento da FCI durante o exercício. Alguns estudos consideraram que esta dificuldade impediria que fosse notada a importância da FCI para a determinação da FC ao exercício (NEGRÃO et al., 1992; GALLO JR., 1989). No presente estudo, entretanto, apesar de ter havido aumento da FCI com o aumento da intensidade do exercício, esta sempre se manteve menor em T que em S, mesmo na intensidade elevada, e a variação da intensidade leve para a pesada foi muito pequena em ambos os grupos. Como o desvio padrão foi muito pequeno, pequenas variações foram significantes, mas, possivelmente, pouco importantes, de forma que a diferença entre os grupos não foi mascarada.

Mesmo em intensidade elevada, a FCI manteve-se bem menor em T que em S.

Na realidade, deve ter havido um mecanismo compensatório para tal queda, pois a FC controle continuou aumentando e tendendo a se aproximar dos valores vistos em S. Assim a FC controle apresentou apenas 3% de diferença no estágio 4, comparados aos 9% de diferença da FCI.

De fato, houve colaboração de ambos os ramos simpático e parassimpático para o aumento da FC em sobrecargas elevadas, de forma que a retirada vagal no final do exercício foi quase total em T.

Em outros estudos do comportamento ao exercício, o TF mostrou atenuar a retirada vagal (BOLTER et al., 1973; GALLO JUNIOR et al., 1989; KENNEY, 1985; MAYUGA et al., 2001; SMITH et al., 1989) além de diminuir a ação simpática (LAKATTA, 2001; SCHEUER & TIPTON, 1977) sobre o coração, resultando em menor aumento da FC para uma mesma sobrecarga de exercício dinâmico.

Neste estudo a redução da FC controle (em média 29 batimentos) pôde ser totalmente explicada pela redução da FCI (em média 30 batimentos). Esta diminuição poderia ter causado a redução do TV, quase significativa no treinado, pois este tentaria compensar a redução da FCI, possibilitando a manutenção de níveis adequados de FC.

Embora haja evidências consideráveis na literatura apontando para um aumento da atividade vagal com TF, no presente estudo não se verificou nenhuma resposta que pudesse indicar tal efeito. Ao contrário, o TV tendeu a ser menor em T que em S.

Em humanos, o TF aeróbio de longa duração tem sido associado a aumento da variabilidade da FC, especialmente da arritmia sinusal respiratória que é mediada pelo vago. Esta resposta foi verificada em medidas de curta duração (2-10 min) em repouso (AL ANI et al., 1996; CARTER et al., 2003; DE MEERSMAN, 1992; GREGOIRE et al.,

1996; LEVY et al., 1998; MELANSON & FREEDSON, 2001; MYSLIVECER et al., 2002; SEALS & CHASE, 1989; SHI et al., 1995; YAMAMOTO et al., 2001), bem como em medidas dinâmicas de longa duração (24 horas);(PIGOZZI et al., 2001; SKIN et al., 1999).

Mesmo em populações senescentes a modificação da modulação vagal da FC com TF se afigura controversa, haja vista que a alteração não parece ser espécie dependente. Adicionalmente, é possível que as diferenças entre os achados possam ser decorrentes da utilização de diferentes métodos e intensidades de TF.

Quanto às diferenças entre os estágios, atividade vagal diminuiu do repouso para o exercício, mas só com o aumento da intensidade do mesmo. Os resultados do EV e do TV não foram concordantes considerando o TV. O comportamento do EV foi similar ao previamente observado por NEGRÃO et al (1992b), bem como por GALLO JUNIOR et. al. (1989) reduzindo, principalmente, na passagem do repouso para o exercício. No entanto o TV só diminuiu significativamente, em relação ao repouso, a partir do terceiro estágio de exercício.

Corroborando os presentes achados, alguns estudos controlados também não verificaram associação entre o TF aeróbio e a variabilidade da FC, tanto em medidas de curta duração (BOUTCHER & STEIN, 1995; MACIEL et al., 1985; PERINI et al., 2002) quanto de longa duração (LOIMAALA et al., 2000). Ainda, alguns investigadores recentemente observaram que não havia diferenças na variabilidade da FC e na arritmia sinusal respiratória mantendo-se ritmo respiratório espontâneo ou determinado de atletas comparados a indivíduos sedentários (SCOTT et al., 2004), mostrando que a abordagem metodológica para isolamento da influência vagal na respiração pode ser geradora de resultados conflitantes.

Não houve modificação da atividade simpática para o coração pós TF em nenhuma das condições estudadas.

A metodologia de análise da atividade simpática para o coração não influenciou os resultados. Embora os valores absolutos de FCP tenham sido menores em T que em S, a correção para a FC controle fez com que as diferenças desapareçam.

Assim, os dados referentes ao ES corroboraram os dados de TS, mostrando que realmente não houve diminuição da atividade simpática para o coração pós TF. Não se pode deixar de notar, inclusive, uma tendência a uma maior atividade simpática em T em relação ao grupo S, no último estágio de exercício. Diante de valores tão baixos de FCI, é realmente possível que um aumento da atividade simpática fosse necessário para manter níveis adequados de FC. Seguindo-se este raciocínio, observa-se que as tendências a modificação simpática parecem ocorrer em contraposição à diminuição da FCI, mas não são significantes, provavelmente devido a característica heterogeneidade de comportamento no organismo envelhecido, ou mesmo, à restrita amostra, ou até mesmo, pela análise de variância considerar todos os intervalos em conjunto. Como o comportamento foi paralelo, entre os grupos, as diferenças entre os intervalos tiveram de ser consideradas em conjunto.

Assim, o TF, de forma geral parece não alterar, ou alterar muito ligeiramente, a atividade simpática para o coração, em populações saudáveis, inclusive idosas (HARDOUIN et al., 1998; PERINI et al., 2002; XU et al., 1999). No rato idoso, os presentes resultados mostram que, apesar de não ser significativo, parece haver uma tendência a alteração na atividade simpática para o coração, mas no sentido oposto ao esperado. Ao invés de diminuir, e assim contribuir para a bradicardia pós TF, ela parece poder aumentar com TF, possivelmente devido à grande redução da FCI.

As variações entre os estágios tanto do efeito quanto do TS apresentaram comportamento semelhante. Houve aumento na passagem do repouso para o exercício, estabilização nos estágios intermediários, e novo aumento do estágio 3 para o final do exercício. Em outros estudos, a atividade simpática só aumentou nas intensidades mais elevadas (NEGRÃO et al., 1992^a; GALLO JUNIOR et. al., 1989. Isto deve ter ocorrido no sentido de compensar a redução da FCI com a idade e também, adicionalmente, com o TF.

É interessante notar que o ES, diferentemente do rato jovem parece ser importante para o aumento da FC, mesmo em sobrecargas leves de exercício, como já comentado, previamente. A retirada vagal, por outra, também parece importante para o aumento da FC no organismo idoso sedentário, apenas em alta intensidade, diferindo, portanto, do jovem.

Observou-se que mesmo em sobrecargas leves, em que a retirada vagal prevalece no sentido de contribuir para o aumento da FC no organismo jovem, o sistema simpático parece ser mais importante para o organismo envelhecido.

Mesmo considerando a limitação do método quanto à manutenção do bloqueio farmacológico simpático durante o exercício, a observação dos TS e TV ao exercício corroboram a hipótese de que o sistema simpático pode ser mais importante para o idoso que para o jovem na manutenção de níveis adequados de FC. Além disso, a FCI conseguiu explicar a quase totalidade da atenuação da bradicardia de repouso e da taquicardia induzida pelo exercício. Assim, quando a FC controle subia, isto se justificava por um mecanismo compensatório nos ramos autonômicos, mas não no sentido de promover atenuação da FC, e sim de produzir aumento. Em se confirmando, este foi um achado relevante para a compreensão das adaptações do sistema cardiovascular envelhecido ao exercício.

Os múltiplos canais iônicos, que são sensíveis à oscilação rítmica do Ca^{2+} , que é dependente dos receptores de rianodina e é intensificada pela sinalização gerada pelos receptores β adrenérgicos, via $\text{AMP}_{\text{cíclico}}$, nas células nodais sinoatriais e que parecem decodificar os sinais autonômicos levando à taquicardia, se afiguram como possíveis para o envelhecimento (DI FRANCESCO, 2005; VINOGRADOVA et al., 2005) e o TF agirem. Na presente investigação, entretanto, não houve evidência de modificação da atividade simpática com TF, seja pela análise do ES (medida feita com parassimpático ativo) do TS ou da resposta ao isoproterenol.

Este achado, entretanto, não surpreendeu, pois a atividade simpática cardíaca em organismos sadios pode ser diminuída (NEGRÃO et al., 1992) ou permanecer inalterada (SPINA et al., 1998) pelo TF, independentemente da espécie e da idade estudadas. Quando presentes, as alterações são pequenas, respondendo, portanto, por uma ligeira parte da bradicardia encontrada.

É interessante notar que o efeito do TF sobre o cronotropismo e inotropismo pode ser diferente (PERINI et al., 2002). Assim, o TF pode não modificar a resposta cronotrópica, mas aumentar o inotropismo, o que poderia contribuir para aumentar o volume sistólico, através de uma melhor contratilidade e capacidade de enchimento. No presente estudo, as respostas inotrópicas não foram avaliadas.

7.6 Considerações Finais

Em ratos idosos, o treinamento físico de moderada intensidade:

a) reduziu a FC e a FCI, em repouso volitivo, na esteira, e ao exercício em todos os estágios; b) não alterou o efeito vagal, o tônus vagal, o efeito simpático, o

tônus simpático, a em repouso, e ao exercício; c) não alterou a resposta ao agonista muscarínico e ao agonista adrenérgico, promovendo, portanto bradicardia de repouso, e atenuação da taquicardia induzida pelo exercício essencialmente à custa de redução da FCI;

A frequência cardíaca e seus determinantes autonômicos, bem como a frequência cardíaca intrínseca de ratos treinados e sedentários se comportam de forma similar com o aumento da intensidade de exercício, sendo que o Efeito Vagal e o Tônus Vagal diminuem e o Efeito Simpático e o Tonus Simpático aumentam com a intensidade de exercício.

Não se sabe, a origem da divergência de resultados quanto ao efeito do TF sobre os determinantes da FC. Entende-se que possíveis fatores de conflito devem ser estudados conjuntamente, entre eles: a duração e a intensidade do TF; diferentes modalidades de exercício como natação e caminhada/corrida; diferentes tipos de treinamento com estímulos intervalados e contínuos, com indução de diferentes graus de ganho na capacidade física. Além disso, devem ser utilizadas diferentes abordagens metodológicas que permitam englobar o estudo da variabilidade da FC, no domínio do tempo e da frequência, e a determinação da FCI, e dos tônus autonômicos, além de se investigarem fatores como hipertrofia ventricular, estresse oxidativo no miocárdio, liberação local e concentração sistêmica de neurotransmissores, resposta da frequência cardíaca a diferentes neurotransmissores, sensibilidade, densidade, e acoplamento de receptores no nó sinoatrial, sinalizadores pós-receptores e canais iônicos ativados na despolarização diastólica, utilizando indicadores sensíveis ao cálcio, juntamente com microscopia de fluorescência ou imagem confocal e medida simultânea da corrente ou potencial de membrana das células sinoatriais, os quais podem elucidar os mecanismos da redução da FCI com TF.

8. CONCLUSÕES

Com base nos presentes resultados, concluiu-se que, em ratos idosos:

a) o treinamento físico de moderada intensidade promoveu bradicardia de repouso e atenuação da taquicardia induzida pelo exercício essencialmente à custa de redução da FCI;

b) independentemente da condição de treinamento físico, a estimulação simpática contribuiu para o aumento da FC, em resposta ao exercício, de leve à alta intensidade, enquanto a retirada vagal o fez, apenas em alta intensidade.

9. ANEXOS

Anexo A – Dados individuais de idade e massa corporal, dos animais incluídos nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO		
<i>RATO</i>	<i>IDADE</i> (meses)	<i>MASSA CORPORAL</i> (gramas)
RS1	30	445
RS2	24	489
RS3	29	402
RS4	29	455
RS5	30	454
RS6	27	555
RS7	30	458
RS8	27	486
RS9	25	413
RS10	27	455
MÉDIA±SD	28±2	461±43
GRUPO TREINADO		
<i>RATO</i>	<i>IDADE</i> (meses)	<i>MASSA CORPORAL</i> (gramas)
RT1	30	455
RT2	24	414
RT3	28	430
RT4	28	506
RT5	28	508
RT6	28	493
RT7	24	473
RT8	29	469
RT9	28	414
RT10	29	435
MÉDIA±SD	28±2	460±36

NOTAS: **RS** = rato sedentário **RT** = rato treinado **SD** = desvio padrão da média.

Valores individuais e em média ± SD, em bpm.

Anexo B - Frequência cardíaca controle, de repouso na esteira, observada nos Experimentos 4 e 5, nos 15 minutos prévios à injeção de fármacos, e frequência cardíaca média dos experimentos, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO			
<i>RATO</i>	<i>FC Exp. 4</i>	<i>FC Exp.5</i>	<i>FC MÉDIA</i>
RS1	331	324	328
RS2	323	329	326
RS3	331	328	330
RS4	339	308	324
RS5	306	321	314
RS6	326	324	325
RS7	345	346	346
RS8	348	341	345
RS9	286	294	290
RS10	339	308	324
MÉDIA+SD	327+19	322+16	325+16
<i>P Exp.4 vs. Exp.5</i>	0,319		
GRUPO TREINADO			
<i>RATO</i>	<i>FC Exp.4</i>	<i>FC Exp.5</i>	<i>FC MÉDIA</i>
RT1	292	296	294
RT2	296	298	297
RT3	293	295	294
RT4	294	300	297
RT5	296	292	294
RT6	309	298	304
RT7	299	301	300
RT8	289	298	294
RT9	306	302	304
RT10	281	288	285
MÉDIA+SD	296+8	297+4	296+6
<i>P Exp.4 vs. Exp.5</i>	0,514		
<i>P entre grupos</i>	<i>P <0,001*</i>	<i>P <0,001*</i>	<i>P <0,001*</i>

* =significante estatisticamente.

NOTAS: **Exp**=experimento, **FC**=frequência cardíaca, **P** =nível de significância estatística, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média, **vs**=*versus*.

Valores individuais e em média \pm SD, de registros de 15 minutos, em bpm.

p Exp. 4 vs. Exp. 5 =resultado de Teste-t de Student para dados pareados.

p entre grupos =resultado de Teste-t de Student para dados não pareados.

Anexo C - Frequência cardíaca controle, ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO				
<i>RATO</i>	<i>5 m.min⁻¹</i>	<i>7,5 m.min⁻¹</i>	<i>10 m.min⁻¹</i>	<i>15 m.min⁻¹</i>
RS1	439	457	458	496
RS2	410	404	395	404
RS3	404	411	438	450
RS4	387	405	435	457
RS5	486	487	477	487
RS6	419	412	425	477
RS7	401	398	401	415
RS8	443	438	453	477
RS9	401	406	422	440
RS10	411	416	432	450
MÉDIA±SD	420±29	423±29	434±25	455±30
GRUPO TREINADO				
<i>RATO</i>	<i>5 m.min⁻¹</i>	<i>7,5 m.min⁻¹</i>	<i>10 m.min⁻¹</i>	<i>15 m.min⁻¹</i>
RT1	353	365	441	488
RT2	433	464	477	497
RT3	409	409	420	458
RT4	379	373	379	407
RT5	379	398	429	450
RT6	378	369	390	414
RT7	310	312	316	344
RT8	372	363	363	404
RT9	380	381	412	466
RT10	351	363	439	486
MÉDIA±SD	374±33	380±39	407±46	441±48

NOTAS: *m.min⁻¹*=metros por minuto, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média. Valores individuais e em média + SD, em bpm.

Os dados individuais representam os últimos 30 segundos de cada um dos quatro estágios de exercício estudados (5; 7,5; 10 e 15 *m.min⁻¹*).

Anexo D – Frequência cardíaca intrínseca observada no repouso e durante o exercício nos Experimentos 4 e 5, e média dos dois experimentos, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO															
RATO	Repouso			5 m.min ⁻¹			7,5 m.min ⁻¹			10 m.min ⁻¹			15 m.min ⁻¹		
	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média
RS1	316	306	311	340	336	338	338	345	342	354	361	357	356	380	368
RS2	347	339	343	332	376	354	368	384	376	376	402	389	390	393	391
RS3	299	297	298	305	315	310	300	321	311	303	324	313	312	324	318
RS4	326	307	316	337	329	333	335	330	333	339	334	337	353	353	353
RS5	353	331	342	391	387	389	396	391	394	420	383	402	442	393	408
RS6	291	292	291	306	313	310	307	322	315	315	321	318	327	326	327
RS7	322	314	318	334	320	327	332	328	330	337	323	330	343	326	335
RS8	313	290	301	323	316	320	329	324	327	327	330	328	329	320	324
RS9	298	300	299	321	303	312	334	320	327	330	331	331	323	331	327
RS10	303	298	301	326	323	325	339	340	339	335	341	338	328	339	333
MÉDIA	317	307	312	332	332	332	338	340	339	344	345	344	350	348	348
±SD	+21	+16	+18	+24	+28	+24	+27	+26	+26	+34	+28	+30	+39	+29	+31

GRUPO TREINADO															
RATO	Repouso			5 m.min ⁻¹			7,5 m.min ⁻¹			10 m.min ⁻¹			15 m.min ⁻¹		
	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média	Exp.4	Exp.5	Média
RT1	307	296	302	304	320	312	318	309	314	326	319	322	332	344	338
RT2	269	277	273	284	287	285	294	295	294	273	301	287	309	313	311
RT3	336	298	317	332	310	321	310	319	310	326	347	337	327	359	343
RT4	268	237	252	289	263	276	282	268	275	292	274	283	309	287	298
RT5	286	254	270	290	271	281	286	276	281	302	276	289	262	276	269
RT6	351	341	346	372	361	366	374	376	375	376	375	376	385	377	381
RT7	272	275	274	288	284	286	283	285	284	285	284	285	281	283	282
RT8	272	273	272	293	294	293	286	287	287	296	297	296	313	314	314
RT9	276	274	275	280	291	286	276	286	281	290	286	288	290	286	288
RT10	305	294	300	302	318	310	316	307	312	324	317	320	330	334	332
MÉDIA	294	282	288	303	300	302	303	301	301	309	308	308	314	317	316
±SD	+30	+28	+28	+28	+28	+27	+29	+31	+30	+30	+33	+30	+34	+35	+34

NOTAS: **Exp.**=experimento, **m.min⁻¹**=metros por minuto, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média ± SD, em bpm.

Valores de repouso correspondentes aos últimos 15 segundos prévios ao exercício e de exercício correspondentes aos últimos 30 segundos de cada um dos quatro estágios de exercício estudados (5; 7,5; 10 e 15m.min⁻¹).

Anexo E – Frequência cardíaca sob ação da atropina e efeito vagal, em repouso e ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO										
<i>RATO</i>	<i>Repouso</i>		<i>5 m.min⁻¹</i>		<i>7,5 m.min⁻¹</i>		<i>10 m.min⁻¹</i>		<i>15 m.min⁻¹</i>	
	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>
RS1	488	161	518	79	519	62	515	57	525	30
RS2	465	139	483	74	465	61	469	74	480	76
RS3	375	46	413	39	422	32	438	18	448	12
RS4	354	31	426	39	447	42	463	27	481	23
RS5	385	72	490	4	489	2	506	28	520	31
RS6	376	51	437	18	457	45	472	47	491	15
RS7	337	-8	372	-30	371	-27	386	-15	414	0
RS8	445	101	457	14	460	14	457	4	487	10
RS9	458	168	463	62	461	55	457	35	463	22
RS10	470	147	475	64	473	57	469	37	475	24
MÉDIA+SD	415+55	91+61	453+43	33+36	456+39	33+30	463+35	29+27	478+32	23+22

GRUPO TREINADO										
<i>RATO</i>	<i>Repouso</i>		<i>5 m.min⁻¹</i>		<i>7,5 m.min⁻¹</i>		<i>10 m.min⁻¹</i>		<i>15 m.min⁻¹</i>	
	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>	<i>FCA</i>	<i>EV</i>
RT1	355	61	419	66	420	55	426	-16	451	-36
RT2	353	56	400	-33	431	-33	479	1	492	-5
RT3	404	110	442	33	448	39	448	28	484	26
RT4	365	68	383	12	385	23	402	40	429	26
RT5	353	59	373	-6	379	-3	393	-22	402	-67
RT6	421	117	463	85	438	68	432	42	448	34
RT7	369	69	394	82	400	50	421	34	477	38
RT8	367	73	385	66	387	55	404	-16	431	-36
RT9	351	47	371	13	377	24	391	41	400	27
RT10	353	68	417	-9	418	-4	424	-22	449	-67
MÉDIA+SD	369+24	73+23	405+30	30+42	408+26	29+40	422+27	15+42	446+32	5+57

NOTAS: **EV**=Efeito Vagal (FCA – FC controle), **FC**=frequência cardíaca; **FCA**=frequência cardíaca sob ação da atropina, **m.min⁻¹**=metros por minuto, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média + SD, em bpm.

Para o repouso, foi utilizada como FC sob ação da atropina dos 15 segundos prévios ao exercício e para o exercício, a média dos últimos 30 segundos de cada estágio (5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹).

Anexo F - Tonus vagal em repouso e ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO					
<i>RATO</i>	<i>Repouso</i>	<i>5 m.min⁻¹</i>	<i>7,5 m.min⁻¹</i>	<i>10 m.min⁻¹</i>	<i>15 m.min⁻¹</i>
RS1	21	25	24	28	11
RS2	46	43	48	52	48
RS3	26	37	36	37	44
RS4	57	32	28	29	18
RS5	57	38	31	7	40
RS6	23	21	12	4	12
RS7	18	18	16	25	30
RS8	27	26	29	15	-10
RS9	62	49	58	53	39
RS10	33	31	40	28	9
MÉDIA±SD	37±17	32±10	32±14	28±16	24±19
GRUPO TREINADO					
<i>RATO</i>	<i>Repouso</i>	<i>5 m.min⁻¹</i>	<i>7,5 m.min⁻¹</i>	<i>10 m.min⁻¹</i>	<i>15 m.min⁻¹</i>
RT1	19	-2	-5	-5	-1
RT2	3	-4	-1	-14	0
RT3	4	9	-3	4	9
RT4	36	42	37	34	34
RT5	20	23	20	21	-3
RT6	33	38	48	34	39
RT7	18	12	-3	-15	-29
RT8	19	-2	-5	-5	-5
RT9	53	57	47	45	47
RT10	26	29	21	21	17
MÉDIA±SD	23±15	20±21	16±22	12±22	11±23

NOTAS: $m.min^{-1}$ =metros por minuto, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média,

Tonus Vagal=frequência cardíaca intrínseca (FCI) menos frequência cardíaca sob ação do propranolol (FCP).

Valores individuais e em média ± SD, em bpm.

Para o repouso foram considerados os 15 segundos prévios ao exercício, e, para o exercício, os últimos 30 segundos de cada estágio (5; 7,5; 10 e 15 $m.min^{-1}$).

Anexo G – Frequência cardíaca sob ação do propranolol e efeito simpático, em repouso, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO										
RATO	<i>Repouso</i>		<i>5 m.min⁻¹</i>		<i>7,5 m.min⁻¹</i>		<i>10 m.min⁻¹</i>		<i>15 m.min⁻¹</i>	
	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>
RS1	291	37	312	126	318	140	329	129	357	138
RS2	297	29	311	99	327	77	337	59	344	60
RS3	272	57	274	100	275	115	276	144	274	161
RS4	259	64	302	85	305	100	307	128	335	123
RS5	285	28	351	135	363	124	394	83	380	110
RS6	268	57	289	130	303	109	314	112	315	162
RS7	300	46	309	93	314	84	305	97	305	110
RS8	275	70	294	149	297	141	314	140	334	143
RS9	237	53	264	137	269	136	281	141	294	146
RS10	267	56	294	117	299	116	311	121	324	126
MÉDIA±SD	275±55	50±14	300±24	117±22	307±26	114±22	317±33	115±28	326±31	128±30

GRUPO TREINADO										
RATO	<i>Repouso</i>		<i>5 m.min⁻¹</i>		<i>7,5 m.min⁻¹</i>		<i>10 m.min⁻¹</i>		<i>15 m.min⁻¹</i>	
	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>	<i>FCP</i>	<i>ES</i>
RT1	282	12	314	39	319	46	327	114	339	149
RT2	270	27	289	144	295	169	301	176	311	187
RT3	313	-19	312	97	317	91	333	87	334	124
RT4	217	80	234	137	238	124	249	113	265	138
RT5	249	45	258	121	261	121	268	146	272	196
RT6	313	-10	328	50	327	42	342	49	342	72
RT7	256	44	274	37	287	64	300	88	311	128
RT8	219	75	236	107	240	106	251	103	267	118
RT9	248	56	257	136	260	123	267	112	271	137
RT10	280	4	312	123	317	121	325	145	337	195
MÉDIA±SD	265±34	31±34	281±34	99±42	286±34	101±40	296±35	113±36	305±33	144±39

NOTAS: **ES**=efeito simpático (FC controle – FCP), **FC**=frequência cardíaca, **FCP**=frequência cardíaca sob ação do propranolol, **m.min⁻¹**=metros por minuto, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média ± SD, em bpm.

Para o repouso, a FC controle corresponde à média dos Experimentos 4 e 5 e a FCP, aos 15 segundos prévios ao exercício no Experimento 5.

Para o exercício a FC controle corresponde à FC do Experimento 1 e a FCP observada no Experimento 5, sendo que foram considerados os últimos 30 segundos de cada estágio (5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹).

Anexo H - Tônus simpático, em repouso e ao exercício, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO					
<i>RATO</i>	<i>Repouso</i>	<i>5 m.min⁻¹</i>	<i>7,5 m.min⁻¹</i>	<i>10 m.min⁻¹</i>	<i>15 m.min⁻¹</i>
RS1	177	180	177	157	157
RS2	122	129	90	80	88
RS3	77	103	111	125	130
RS4	38	93	115	126	127
RS5	43	101	95	104	112
RS6	85	128	142	154	165
RS7	20	45	41	56	80
RS8	144	137	133	128	163
RS9	159	150	134	127	136
RS10	170	150	133	131	141
MÉDIA±SD	92±55	117±37	115±36	116±31	128±29
GRUPO TREINADO					
<i>RATO</i>	<i>Repouso</i>	<i>5 m.min⁻¹</i>	<i>7,5 m.min⁻¹</i>	<i>10 m.min⁻¹</i>	<i>15 m.min⁻¹</i>
RT1	53	107	106	103	114
RT2	80	115	137	192	181
RT3	87	121	137	111	141
RT4	113	107	110	119	130
RT5	83	92	98	104	132
RT6	75	97	63	57	67
RT7	95	108	116	137	195
RT8	95	92	100	108	117
RT9	76	85	96	103	112
RT10	53	107	106	103	118
MÉDIA±SD	84±17	103±12	107±23	115±36	132±38

NOTAS: **FCA**=frequência cardíaca sob ação da atropina, **FCI**=frequência cardíaca intrínseca, **m.min⁻¹**= metros por minuto, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média, **TS**=Tônus Simpático (FCA – FCI) Valores individuais e em média ± SD, em bpm.

Os valores de repouso correspondem aos 15 segundos prévios ao exercício e os de exercício correspondem à média dos últimos 30 segundos de cada estágio de exercício estudado (5; 7,5; 10 e 15 m.min⁻¹).

Anexo I – Frequência cardíaca no pico de ação de oito doses crescentes de isoproterenol, no Experimento 2, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO								
RATO	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	I8
RS1	337	400	400	441	455	435	469	469
RS2	370	361	375	380	395	429	448	469
RS3	411	476	517	536	556	545	536	577
RS4	469	476	489	508	526	536	556	545
RS5	341	375	357	357	366	395	462	476
RS6	375	400	395	405	429	441	448	455
RS7	385	385	385	405	417	429	448	462
RS8	484	455	484	484	545	517	526	508
RS9	380	370	385	411	429	462	435	435
RS10	380	379	384	462	375	375	385	492
MÉDIA+SD	393+49	408+44	417+57	439+58	449+70	456+58	471+53	489+43
GRUPO TREINADO								
RATO	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	I8
RT1	333	349	361	370	400	417	455	484
RT2	390	390	375	411	429	429	462	484
RT3	390	405	429	435	435	492	492	492
RT4	441	484	508	517	545	536	545	556
RT5	313	323	333	361	390	423	469	469
RT6	385	390	390	417	448	469	476	492
RT7	357	349	357	375	400	417	462	476
RT8	492	472	484	492	508	517	526	545
RT9	353	365	400	375	435	462	500	500
RT10	300	353	400	400	429	462	462	500
MÉDIA+SD	393+58	408+53	417+56	439+53	449+49	456+42	471+31	489+29

NOTAS: **FC**=frequência cardíaca, **I**= dose de isoproterenol, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média \pm SD, em bpm.

Os dados individuais correspondem à FC no pico de ação de cada dose de isoproterenol.

Anexo J - Variações da frequência cardíaca em resposta a oito doses crescentes de isoproterenol, no Experimento 2, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO								
<i>RATO</i>	<i>I1</i>	<i>I2</i>	<i>I3</i>	<i>I4</i>	<i>I5</i>	<i>I6</i>	<i>I7</i>	<i>I8</i>
RS1	44	49	48	54	75	98	143	163
RS2	160	170	198	220	220	245	250	259
RS3	48	85	82	111	104	113	142	146
RS4	49	120	127	141	161	157	181	194
RS5	45	51	52	59	82	104	151	169
RS6	40	31	41	50	65	99	122	136
RS7	160	170	198	220	220	245	250	259
RS8	26	55	32	48	88	92	95	106
RS9	92	87	115	143	159	179	165	149
RS10	84	55	104	84	155	132	131	108
MÉDIA+SD	75+49	87+50	100+61	113+67	133+58	146+59	163+51	169+54
GRUPO TREINADO								
<i>RATO</i>	<i>I1</i>	<i>I2</i>	<i>I3</i>	<i>I4</i>	<i>I5</i>	<i>I6</i>	<i>I7</i>	<i>I8</i>
RT1	39	92	150	139	156	201	189	227
RT2	74	79	103	126	105	173	155	173
RT3	142	127	151	135	138	132	131	161
RT4	77	61	69	89	103	126	187	179
RT5	112	115	110	129	162	189	190	206
RT6	163	175	192	201	226	210	226	233
RT7	57	64	74	96	129	155	201	183
RT8	91	99	107	107	146	152	199	225
RT9	64	77	72	102	103	106	168	168
RT10	53	80	127	89	145	162	227	200
MÉDIA+SD	87+40	97+35	116+40	121+34	141+37	161+34	187+30	196+26

NOTAS: **FC**=frequência cardíaca, **I**= dose de isoproterenol, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média \pm SD, em bpm.

Os dados individuais representam a subtração entre a FC no pico de ação de cada dose de isoproterenol e a FC controle, imediatamente prévia à injeção.

Anexo K – Frequência cardíaca a quatro doses crescentes de metacolina, no Experimento 3, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO				
<i>RATO</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>M4</i>
RS1	313	330	309	306
RS2	319	316	297	326
RS3	366	366	366	353
RS4	337	349	353	337
RS5	319	303	313	345
RS6	278	268	288	280
RS7	306	319	309	291
RS8	337	333	333	333
RS9	337	345	333	316
RS10	278	288	303	280
MÉDIA+SD	319+27	322+30	320+25	317+27
GRUPO TREINADO				
<i>RATO</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>M4</i>
RT1	261	261	261	250
RT2	300	300	286	361
RT3	303	270	294	313
RT4	316	319	313	303
RT5	252	254	265	268
RT6	337	345	333	326
RT7	303	303	306	291
RT8	288	283	288	256
RT9	280	286	283	275
RT10	263	252	265	265
MÉDIA+SD	290+27	287+30	289+23	291+35

NOTAS: **FC**=frequência cardíaca, **M** = dose de metacolina, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média \pm SD, em bpm.

Os dados individuais representam a FC no pico de ação de cada dose de metacolina.

Anexo L - Variações da frequência cardíaca observadas em resposta a quatro doses crescentes de metacolina, no Experimento 3, nos grupos Sedentário e Treinado

GRUPO SEDENTÁRIO				
<i>RATO</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>M4</i>
RS1	-8	1	-4	-8
RS2	-20	-7	-14	-12
RS3	-16	-11	-43	-11
RS4	-30	-11	-19	-14
RS5	-7	-30	-29	-8
RS6	-12	-7	-12	-24
RS7	-35	-29	-22	-49
RS8	-7	-5	-4	-6
RS9	-14	-11	-12	-29
RS10	-25	-19	-43	-23
MÉDIA±SD	-16±12	-16±9	-13±8	-23±18
GRUPO TREINADO				
<i>RATO</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>M4</i>
RT1	-13	-7	-16	-15
RT2	-7	-25	-12	-35
RT3	-7	-37	-31	-9
RT4	-14	-14	-22	-13
RT5	-22	-8	-5	-4
RT6	-10	-18	-11	-18
RT7	-5	-10	-4	-31
RT8	-47	-19	-10	-44
RT9	-23	-8	-10	-57
RT10	-15	-15	-11	-4
MÉDIA±SD	-17±10	-13±10	-20±14	-18±13

NOTAS: **FC**=frequência cardíaca, **M**=dose de metacolina, **RS**=rato sedentário, **RT**=rato treinado, **SD**=desvio padrão da média.

Valores individuais e em média ± SD, em bpm.

Os dados individuais representam a subtração entre a FC controle, imediatamente prévia à injeção, e a FC no pico de ação de cada dose de metacolina.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Accili EA, Proenza C, Baruscotti M, and DiFrancesco D.** From funny current to HCN channels: 20 years of excitation. *News Physiol Sci* 17:31-37, 2002.
- Alonso DO, Forjaz CLM, Rezende LO, Braga AMFW, Barreto ACP, Negrão CE, and Rondon MUPB.** Comportamento da frequência cardíaca e da sua variabilidade durante as diferentes fases do exercício físico progressivo máximo. *Arq Bras Cardiol* 71: 904-912, 1999.
- Areskog N.** Effects and adverse effects of autonomic blockade in physical exercise. *Am J Cardiol* 55: 132D-134D, 1985.
- Arora RR, Machac J, Goldman RN, Butler RN, Gorlin R, and Horowitz SF.** Atrial kinetics and left ventricular diastolic filling in the healthy elderly. *J Am Coll Cardiol* 9: 1255-1260, 1987.
- Banz WJ, Maher MA, Thompson WG, Bassett AR, Moore W, and Ashraf M.** Effects of resistance versus aerobic training on coronary artery disease risk factors. *Exp Biol Med* 228: 434-440, 2003.
- Barinaga M.** How much pain for cardiac gain? *Science* 276:1324-7, 1997.
- Bell C, Seals DR, Monroe MB, Day DS, Shapiro SF, Johnson DG, and Jones PP.** Tonic sympathetic support of metabolic rate is attenuated with age, sedentary lifestyle, and female sex in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 4440-4444, 2001.
- Billman GE, Schwartz PJ, and Stone HL.** The effects of daily exercise on susceptibility to sudden cardiac death. *Circulation* 69: 1182-1189, 1984.
- Bogdanov KY, Vinogradova TM, and Lakatta EG.** Sinoatrial nodal cell ryanodine receptor and Na⁺-Ca²⁺ exchanger: molecular partners in pacemaker regulation. *Circ Res* 88: 1254-1258, 2001.
- Bolter CP, Hughson RL, and Critz JB.** Intrinsic rate and cholinergic sensitivity of isolated atria from trained and sedentary rate. *Proc Soc Exp Biol Med* 144: 364-367, 1973.
- Bonaduce D, Petretta M, Cavallaro V, Apicella C, Ianniciello A, Romano M, Boyett MR, Honjo H, Kodama I.** The sinoatrial node, a heterogeneous pacemaker structure. *Cardiovasc Res* 47:658-87, 2000.
- Brandão MUP, Rondon E, Alves MJN, Braga AM, Teixeira OT, Barretto AC, Krieger EM, and Negrão CE.** Post exercise blood pressure reduction in elderly hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 39: 676-682, 2002.

Brandão MUP, Wajngarten M, Rondon E, Giorgi MCP, Hironaka F, and Negrão CE. Left ventricular function during dynamic exercise in untrained and moderately trained subjects. *J Appl Physiol* 75: 989-1995, 1993.

Breglio R, and Marciano F. Intensive training and cardiac autonomic control in high level athletes. *Med Sci Sports Exerc* 30: 691-696, 1998.

Bruce TA, Chapman CB, Baker O, and Fischer JN. The role of the autonomic and myocardial factors in cardiac control. *J Clin Invest* 42: 721, 1963.

Brum PC, Da Silva GJJ, Moreira ED, Ida F, Negrão CE, and Krieger EM. Exercise Training Increases Baroreceptor Gain Sensitivity in Normal and Hypertensive Rats. *Hypertension* 36:1018-1022, 2000.

Brum PC. Regulação da pressão arterial durante o exercício físico: papel dos pressorreceptores arteriais e efeito do treinamento físico. 1995. Tese (Doutorado) - Escola de Educação Física, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Buch AN, Coote JH, and Townend JN. Mortality, cardiac vagal control and physical training What's the link? *Exp Physiol* 87: 423-435, 2002.

Cameron JD, Rajkuman C, Kingwell BA, Jennings GL, and Dart AM. Higher systemic arterial compliance is associated with greater exercise time and lower blood pressure in a young older population. *J Am Geriatrics Soc* 47: 653-656, 1999.

Carter JB, Banister EW, and Blaber AP. The effect of age and gender on heart rate variability after endurance training. *Med Sci Sports Exerc* 35: 1333-1340, 2003.

Casadei B, Cochrane S, Johnston J, Conway J, Sleight P. Pitfalls in the interpretation of spectral analysis of the heart rate variability during exercise in humans. *Acta Physiol Scand* 153:125-31, 1995.

Catai AM, Chacon-Mikahil MP, Martinelli FS, Forti VAM, Silva E, Golfetti R, Martins LEB, Szrajer JS, Wanderley JS, Lima-Filho EC, Milan LA, Marin-Neto JA, Maciel BC, and Gallo-Junior L. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of young and middle-aged healthy men. *Braz J Med Biol Res*, 35: 741-752, 2002.

Cavigelli SA and McClintock MK. Fear of novelty in infant rats predicts adult corticosterone dynamics and an early death. *PNAS* 100: 16131-16136, 2003.

Chacon-Mikahil MPT, Forti VAM, Catai AM, Szrajer JS, Golfetti R, Martins LEB, Lima-Filho EC, Wanderley JS, Marin Neto JA, Maciel BC, and Gallo-Junior L. Cardiorespiratory adaptations induced by aerobic training in middle-aged men: the importance of a decrease in sympathetic stimulation for the contribution of dynamic exercise tachycardia. *Braz J Med Biol Res*, 31: 705-712, 1998.

Chefer SI, Talan MI, and Engel BT. Central neural correlates of learned heart rate control during exercise: central command demystified. *J Appl Physiol* 83: 1448-1453, 1997.

Conway J, Wheeler R, and Sannerstedt R. Sympathetic nervous activity during exercise in relation to age. *Cardiovasc Res* 5:577-581, 1971.

Corre KA, Cho H, and Barnard RJ. Maximum exercise heart rate reduction with maturation in the rat. *J Appl Physiol* 40: 741-744, 1976.

Craft N and Schwartz JB. Effects of age on intrinsic heart rate, heart rate variability, and AV conduction in healthy humans. *Am J Physiol* 268: H1441-H1452, 1995.

Davies HEF. Respiratory change in heart rate, sinus arrhythmia in the elderly. *Gerontology Clinics* 177: 96-100, 1975.

Davies MJ and Pomerance A. Quantitative study of aging changes in the human sinoatrial node and internodal tracts. *Br Heart J* 34: 150-152, 1972.

Davies MJ, Anderson RH, and Becker AE. *The conduction system of the heart.* London: Butherworths, 1983.

De Angelis K, Wichi RB, Jesus WR, Moreira ED, Morris M, Krieger EM, and Irigoyen MC. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *J Appl Physiol* 96: 2174-2178, 2004.

De Angelis KLD, Oliveira AR, Werner A, Bock P, Bello-Klein A, Fernandes TG, Bello AA, and Irigoyen MC. Exercise Training in Aging: Hemodynamic, Metabolic, and Oxidative Stress Evaluations. *Hypertension* 30: 767-771, 1997.

De Meersman RE. Heart rate variability and aerobic fitness. *Am Heart J* 125: 726-731, 1993.

Denahan T, Barney JA, Sheldahl LM, and Ebert TJ. Lack of changes in cardiac-vagal activity in older males following 12 weeks of aerobic training. *Med Sci Sports Exerc* 25: S55, 1993.

DiFrancesco D. Cardiac pacemaker I_f current and its inhibition by heart rate-reducing agents. *Cur Med Res Op* 21:1115-1122, 2005

- Dill DB, HorVath SM, and Craig FN.** Responses to exercise as relate to age. *J Appl Physiol* 12: 195-196, 1958.
- Donald DE and Shepherd JT.** Response to exercise in dogs with cardiac denervation. *Am J Physiol* 205: 393, 1963.
- Ekblom B, Goldbarg AN, Kilbom A, Astrand PO.** Effects of atropine and propranolol on the oxygen transport system during exercise in man. *Scand J Clin Lab Invest* 30:35-42, 1972.
- Erikssen G.** Physical fitness and changes in mortality. The survival of the fittest. *Sports Med* 31: 571-576, 2001.
- Esler M, Skews H, Leonard P, Jackman G, Bobik A, and Korner P.** Age-dependence of noradrenaline kinetics in normal subjects. *Clin Sci* 60: 217-219, 1981.
- Evangelista FS, Martuchi ED, Kalil LMP, Negrão CE, Brum PC, and Oliveira EM.** Detraining Effects on the Autonomic Regulation of Heart Rate and VO₂max. in Rats. *Med Sci Sports Ex* 31:S225, 1999.
- Evangelista FS, Martuchi SED, Negrão CE, and Brum PC.** Loss of resting bradycardia with detraining is associated with intrinsic heart rate changes. *Braz J Med Biol Res* 38: 1141-1146, 2005.
- Fagraeus L, Linnarsson D.** Autonomic origin of heart rate fluctuations at the onset of muscular exercise. *J Appl Physiol* 40:679-82, 1976.
- Fleg JL, Tzankoff SP, and Lakatta EG.** Age related augmentation of plasma catecholamines during dynamic exercise in healthy males. *J Appl Physiol* 59: 1033-1039, 1985.
- Forjaz CLM, Mion Junior D, and Negrão CE.** The fall in blood pressure following a single bout of endurance exercise is sustained for 24 hours. *Hypertension* 25: 22, 1995.
- Gabbett TJ, Gass GG, Thalib L, Morris N, and Gass E.** Does endurance training affect orthostatic responses in healthy elderly men? *Med Sci Sports Exerc* 33: 1279-1286, 2001.
- Gallo Junior L, Maciel BC, Marin-Neto JA, and Martins LEB.** Sympathetic and Parasympathetic changes in heart rate control during dynamic exercise induced by endurance training in man. *Braz J Med Biol Res* 22: 631-643, 1989.
- Gallo Junior L, Maciel BC, Marin-Neto JA, Martins LEB, Lima-Filho EC, and Manço JC.** The use of isometric exercise as a means of evaluating the

parasympathetic contribution to the tachycardia induced by dynamic exercise in normal man. *Pflügers Archive* 412: 129-132, 1988.

Gava NS, Véras-Silva AS, Negrão CE and Krieger EM. Low-intensity exercise training attenuates cardiac β -adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 26:1129-1133, 1995

Gava NS, Veras-Silva AS, Negrão CE, Krieger EM. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 26:1129-33, 1995.

Geelen G, Laitinen T, Hartikainen J, Länsimies E, Bergström K, and Niskanen L Gender influence on vasoactive hormones at rest and during a 70 (degree) head-up tilt in healthy humans. *J Appl Physiol* 92: 1401-1408, 2002.

Gianolla RA, Kalil LMP, and Brum PC. Resting bradycardia after swimming training is essentially caused by an increase in vagal effect. *Med Sci Sports Exerc* 30: S217, 1998.

Goldsmith RL, Bigger JB, Steinman RC, and Fleiss JL. Comparison of 24-hour parasympathetic activity in endurance trained and untrained young men. *J Am Coll Cardiol* 20: 552-558, 1992.

Goldsmith RL, Bloomfield DM, and Rosenwinkel ET. Exercise and autonomic function. *Cor Artery Dis* 11: 129-135, 2000.

Gulli G, Cevese A, Cappelletto P, Gasparini G, and Schena F. Moderate aerobic training improves autonomic cardiovascular control in older women. *Clin Auton Res* 13: 196-202, 2003.

Hagberg JM, Allen WK, Seals DR, Hureley BF, Ehsani AA, and Holloszy JO. A hemodynamic comparison of young and older endurance athletes during exercise. *J Appl Physiol* 58: 2041-2046, 1985.

Hakim AA, Curb JD, Petrovitch H, Rodriguez BL, Yano K, Ross GW, White LR, Abbott RD. Effects of walking on coronary heart disease in elderly men: the Honolulu Heart Program. *Circulation* 100:9-13, 1999.

Hein HO, Suadlcani P, Gyntelberg F. Physical fitness or physical activity as a predictor of ischaemic heart disease? A 17-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *J Intern Med* 232:471-9, 1992.

Holloszy JO. Exercise increases average longevity of female rats despite increased food intake and no growth retardation. *J Gerontol* 48:B97-B100, 1993.

Huang G, Shi X, Davis-Brezette JA, and Osness WH. Resting heart rate changes after endurance training in older adults: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* 37:1381-1386, 2005.

Hughson RL, Sutton JR, Fitzgerald JD, and Jones NL. Reduction of intrinsic sinoatrial frequency and norepinephrine response of the exercised rat. *Can J Physiol Pharmacol* 55: 813-820, 1977.

Huikuri HV, Niemelä MJ, Ojala S, Rantala A, Ikäheimo MJ, and Airaksinen KE. Circadian rhythms of frequency domain measures of heart rate variability in healthy subjects and patients with coronary artery disease. Effects of arousal and upright posture. *Circulation* 90: 121-126, 1994.

Hunter GR, Wetzstein CJ, McLafferty JR, Zuckerman PA, Landers KA, and Bamman MM. High-resistance versus variable-resistance training in older adults. *Med Sci Sports Exerc* 33: 1759-1764, 2001.

Huser J, Blatter LA, and Lipsius SL. Intracellular Ca^{2+} release contributes to automaticity in cat atrial pacemaker cells. *J Physiol* 524: 415-422, 2000.

Irisawa H, Brown HF, and Giles W. Cardiac pacemaking in the sinoatrial node. *Physiol Rev* 73: 197-227, 1993.

Ishida H, Sato Y, Katayama K, and Miyamura M. Initial ventilatory and circulatory response to dynamic exercise are slowed in the elderly. *J Appl Physiol* 89: 1771-1777, 2000.

Iwasaki KI, Zhang R, Zuckerman JH, and Levine BD. Dose-response relationship of the cardiovascular adaptation to endurance training in healthy adults: How much training for what benefit? *J Appl Physiol* 95: 1575-1583, 2003.

Jensen-Urstad K, Bouvier F, Saltin B, Jensen-Urstad M. High prevalence of arrhythmias in elderly male athletes with a lifelong history of regular strenuous exercise. *Heart* 79:161-4, 1998.

Johansson SR, Hjalmarson A. Age and sex differences in cardiovascular reactivity to adrenergic agonists, mental stress and isometric exercise in normal subjects. *Scand J Clin Lab Invest* 48:183-91, 1988.

Jose AD and Stitt F. Cardiac Function After Combined Beta-Adrenergic and Cholinergic Blockade: Relationship of Intrinsic Rate to Contractile Force of the Heart in Dogs. *Circulation Res* 21: 231-242, 1967.

Jose AD. Effect of combined sympathetic and parasympathetic blockade on heart rate and cardiac function in man. *Am J Cardiol* 18: 448-476, 1966.

Ju YK and Allen DG. The mechanisms of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release in toad pacemaker cells. *J Physiol* 525: 695-702, 1998.

Ju YK, Allen DG. The distribution of calcium in toad cardiac pacemaker cells during spontaneous firing. *Pflugers Arch* 441:219-27, 2000.

Ju YK, Allen DG. The mechanisms of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release in toad pacemaker cells. *J Physiol* 525 :695-705, 2000.

Kalil LMP, Da Costa CM, Brum PC, Moreira ED, Alves MJNN, Ida F, Barreto ACP, Bellotti G, and Wajngarten M. Exercise training-induced bradycardia in old rats is essentially caused by a reduction in intrinsic heart rate. *Eur Heart J* 18: 263, 1997.

Kalil LMP, Pereira-Barreto AC, Guimarães GV, Negrão CE, Leite JJ, and Wajngarten M. Avaliação da capacidade física em idosos submetidos a um programa de treinamento físico. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 6: 68-76, 1996.

Kalil LMP, Wajngarten M, Guimarães GV, Gebara OE, Negrão CE, and Pereira-Barreto AC. Are the exercise prescription methods of Karvonen and of percentage of maximal heart rate adequate for the young and for the elderly? *Am J Geriatric Cardiol* 4: 44, 1995.

Kalil LMP. Treinamento físico e frequência cardíaca de repouso em ratos idosos: avaliação da frequência cardíaca intrínseca e da modulação autonômica. 1997. Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Kalil, LMP, Nunes-Alves, MJN. Sedentarismo, atividade física e exercício: do risco à prevenção e ao controle d doença aterosclerótica. In *Doença Coronária*. Editado por A.C.P. Chagas. São Paulo: Editora Atheneu, 535-568, 2005

Katona PG, McLean M, Dighton DH, and Guz A. Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest. *J Appl Physiol* 52: 1652-1657, 1982.

Kawamura K. Electron microscope studies on the cardiac conduction system of the dog: II. The sinoatrial and atrioventricular nodes. *Jap Circulation J* 25: 973-1023, 1961.

Kemi OJ, Haram PM, Wisloff U, and Ellingsen O. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. *Circulation*, 109: 2897-2904, 2004.

Kenney WL. Parasympathetic control of resting heart rate: relationship to aerobic power. *Med Sci Sports Exerc* 17: 451-455, 1985.

Kesäniemi YK, Danforth E, Jr. Jensen MD, Kopelman PG, Lefebvre P, and Reeder BA. Dose-response issues concerning physical activity and health: an evidence-based symposium. *Med Sci Sports Exerc* 33: S351-S358, 2001.

Khorth WM, Spina WM, Spina RJ, Ehsani, Cryer PE, and Holloszy JO. Effects of age, adiposity and fitness level on plasma catecholamine responses to standing and exercise. *J Appl Physiol* 75: 1828-1835, 1993.

Knoll J, Dallo J, and Yen TT. Striatal dopamine, sexual activity and lifespan. Longevity of rats treated with deprenyl. *Life Sci* 45: 525-531, 1989.

Kohn DF and Barthold SW. *Laboratory Animal Medicine*. Orlando: Academic Press Inc., 1984, p. 91-122.

Kreider MS, Goldberg PB, and Roberts J. Effect of age on adrenergic neuronal uptake in rat heart. *J Pharmacol Exp Ther* 231: 367-372, 1984.

Kuga K and Yamaguchi I. Age-related changes of sinus node function and autonomic regulation in subjects without sinus node disease. *Jap Circulation J* 57: 760-768, 1993.

La Rovere MT, Mortara MT, Sandrone G, and Lombardi. Autonomic nervous adaptations to short-term exercise training. *Chest* 101: 299s-303s, 1992.

La Rovere MT, Specchia G, Mazzoleni, C, Mortara A, and Schwartz PJ. Baroreflex sensitivity in post-myocardial infarction patients: correlation with physical training and prognosis. *Circulation* 74: 514-520, 1986.

Laitinen T, Niskanen L, Geelen G, Länsimies E, and Hartikainen J. Age dependency of cardiovascular head-up tilt in healthy subjects. *J Appl Physiol* 96: 2333-2340, 2004.

Lakatta EG. Alterations in the cardiovascular system that occur in advancing age. *Fed Proc* 38: 163-167, 1979.

Lakatta EG. Cardiovascular regulatory mechanisms in advanced age. *Physiol Rev* 73: 413-467, 1993.

Lakatta EG. Diminished β -adrenergic modulation of cardiovascular function in advancing age. *Cardiol Clin* 4: 185-200, 1986.

Lakatta EG. Heart Aging: A Fly in the Ointment? *Circulation Res* 88:984-986, 2001.

- Lakatta EG, Maltsev VA, Konstantin YB, Stern MD, and Vinogradova T.** Cyclic variation of intracellular calcium: A critical factor for cardiac pacemaker cell dominance. *Circ Res* 92:45-50, 2003
- Laukkanen JA, Lakka TA, Rauramaa R, Kuhanen R, Venäläinen JM, Salonen R, and Salonen JT.** Cardiovascular fitness as a predictor of mortality in men. *Arch Intern Med* 161: 825-831, 2001.
- Lazoglu AH, Glace B, Gleim GW, and Coplan NL.** Exercise and heart rate variability. *Am Heart J* 131: 825-826, 1996.
- Lehman M and Keul J.** Age associated changes in of exercise-induced plasma catecholamine responses. *Eur J Appl Physiol* 55: 302-306, 1986.
- Leicht AS, Allen GD, and Hoey AJ.** Influence of age and moderate-intensity exercise training on heart rate variability in young and mature adults. *Can J Appl Physiol* 28: 446-61, 2003.
- Leicht AS, Allen GD, and Hoey AJ.** Influence of intensive cycling training on heart rate variability during rest and exercise. *Can J Appl Physiol* 28: 898-909, 2003.
- Lemura LM, von Duvillard SP.** The effects of physical training of functional capacity in adults. Ages 46 to 90: a meta-analysis. *J Sports Med Phys Fitness* 40:1-10, 2000.
- Leor-Librach RJ, Bobrovsky B, Eliash S, and Kaplinsk E.** Computer-controlled heart rate increase by isoproterenol infusion: mathematical modeling of the system. *Am J Physiol* 277: 1478-1483, 1999.
- Lev M.** Aging changes in the human sinoatrial node. *J Gerontol* 9: 1-9, 1954.
- Levy WC, Cerqueira MD, Harp GD, Johannessen KA, Abrass IB, Schwartz RS, and Stratton JR.** Effect of endurance exercise training on heart rate variability at rest in healthy young and older men. *Am J Cardiol* 82: 1236-1241, 1998.
- Lewis SF, Nylander E, Gad P, and Areskog NH.** Non autonomic component in bradycardia of endurance trained men at rest and during exercise. *Acta Physiol Scand* 109: 297-305, 1980.
- Lewis SF, Thompson P, Areskog NH, Marconyak M, Vodak P, De Busk R, and Haskell WL.** Endurance training and heart rate control studied by combined parasympathetic and β -adrenergic blockade. *Int J Sports Med* 1: 42-49, 1980.
- Lin Y and Horvath SM.** Autonomic nervous control of cardiac frequency in the exercise-trained rat. *J Appl Physiol* 33: 796-799, 1972.

Loimaala A, Huikuri H, Oja P, Pasanen M, and Vuori I. Endurance training did not increase heart rate variability. *Med Sci Sports Exerc* 30:306, 1998.

Loimaala A, Huikuri H, Oja P, Pasanen M, and Vuori I. Controlled 5-mo aerobic training improves heart rate but not heart rate variability or baroreflex sensitivity. *J Appl Physiol* 89: 1825-1829, 2000.

Lucini D, Cerchiello M, and Pagani M. Selective reductions of cardiac autonomic responses to light bicycle exercise with aging in healthy humans. *Auton Neurosci* 110: 55-63, 2004.

Maciel BC, Gallo Junior L, Marin-Neto JA, Lima Filho EC, and Martins LEB. Autonomic nervous control of the heart rate during dynamic exercise in normal man. *Clin Sci* 71: 457-460, 1986.

Maciel BC, Gallo Junior L, Marin-Neto JA, Terra Filho J, and Manco JC. Parasympathetic contribution to bradycardia induced by endurance training in man. *Cardiovasc Res* 19: 642-648, 1985.

Manson JAE, Greenland P, LaCroix AZ, Stefanick ML, Mouton CP, Oberman A, Perri MG, Sheps DS, Pettinger MB and Siscovick DS. Walking compared with vigorous exercise for the prevention of cardiovascular events in women. *N Engl J Med* 347:716-725, 2002.

McGuire DK, Levine BD, Williamson Jw, Snell PG, Blomqvist G, Saltin B, and Mitchell JH. A 30-year follow-up of the Dallas bed rest and training study. II. Effect of age on cardiovascular adaptation to exercise training. *Circulation* 104: 1358-1366, 2001.

Medeiros A, Gianolla RM, Kalil LMP, Bacurau RFP, Rosa LFBC, Negrão CE, and Brum PC. Efeito do treinamento físico de natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. *Rev Paul Educ Fís* 14: 7-15, 2000.

Medeiros AM, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrão CE, and Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal effect in rats. *Braz J Med Biol Res* 37: 1909-1917, 2004.

Melanson EL and Freedson PS. The effect of endurance training on resting heart rate variability in sedentary adult males. *Eur J Appl Physiol* 85: 442-449, 2001.

Meredith IT, Broughton A, Jennings GL, Esler MD. Evidence of a selective increase in cardiac sympathetic activity in patients with sustained ventricular arrhythmias. *N Engl J Med* 325:618-24, 1991.

Morrison DF. *Multivariate Statistical Methods*. New York: McGraw-Hill Book Co, 1967, p. 170-224.

- Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, and Atwood JE.** Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med* 346: 793-801, 2002.
- Myslivecek PR, Brown CA, and Wolfe LA.** Effects of physical conditioning on cardiac autonomic function in healthy middle-aged women. *Can J Appl Physiol* 27: 1-18, 2002.
- Negrão CE, Moreira ED, Brum PC, Denadai, and Krieger EM.** Vagal and sympathetic control of heart rate during exercise by sedentary and exercise trained rats. *Braz J Med Res* 25: 1045-1052, 1992a.
- Negrão CE, Moreira ED, Santos MCLM, Farah VMA, and Krieger EM.** Vagal function impairment after exercise training. *J Appl Physiol* 72: 1749-1753, 1992b.
- Nylander E and Areskog NH.** New aspects on training bradycardia. *Ups J Med Sci* 87:1-10,1982.
- Ordway GA, Charles JB, Randall DC, Billman GE, Wekstein DR.** Heart rate adaptation to exercise training in cardiac-denervated dogs. *J Appl Physiol* 52:1586-1590, 1982.
- Pavlik G, Hegyi A, and Frenkl R.** Alpha and beta adrenergic sensitivity in trained and untrained albino rats. *Eur J Appl Physiol* 36: 65-73, 1976.
- Perini R, Fisher N, Veicsteinas A, Pendergast DR.** Aerobic training and cardiovascular responses at rest and during exercise in older men and women. *Med Sci Sports Exerc* 34:700-8, 2002.
- Pfeifer MA, Weinberg CR, Cook D, Best JD, Reenan A, and Halter JB.** Differential changes of autonomic nervous system function with age in man. *Am J Med* 75: 249-258, 1983.
- Plgozzi F, Alablso A, Parisi A, Di Salvo V, Di Luigi L, Spataro A, and Iellamo F.** Effects of aerobic exercise training on 24 hr profile of heart rate variability in female athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 41: 101-107, 2001.
- Pinã IL, Group WC, Apstein CS, Balady GJ, Belardinelli R, Chaitman BR, Duscha BD, Fletcher BJ, Fleg JL, Myers JN, and Sullivan MJ.** Exercise and Heart Failure: A statement from the American Heart Association Committee on Exercise. Rehabilitation and Prevention. *Circulation* 107: 1210-1225, 2003.
- Raab DM, Smith EL, Crenshaw TD, and Thomas P.** Bone mechanical properties after exercise training in young and old rats. *J Appl Physiol* 68:130-134, 1990.

- Reiling M and Seals DR.** Respiratory sinus arrhythmia and carotid baroreflexes control of heart rate in endurance athletes and untrained controls. *Clin Physiol* 8: 511-519, 1988.
- Rennie KL, Hemingway H, Kumari M, Brunner E, and Melik M.** Effects of moderate and vigorous physical activity on heart rate variability in a british study of civil servants. *Am J Epidemiol* 58: 135-143, 2003.
- Ribeiro JM, Santos RA, Pesquero JB, Bader M, and Krieger EM.** Autonomic control in rats with overactivity of tissue renin-angiotensin or kallikrein-kinin system. *Regul Pept* 129: 155-159, 2005.
- Robinson BF, Epstein SE, Beiser GD, and Braunwald E.** Control of heart rate by the autonomic nervous system. Studies in man of the interrelation between baroreceptor mechanisms and exercise. *Circulation Res* 19: 400-411, 1966.
- Robinson S, Percy M, Brueckaman FR, Nicholas JR, and Miller DI.** Effects of atropine on heart rate and oxygen intake in working man. *J Appl Physiol* 5: 508, 1953.
- Robinson S.** Experimental studies of physical fitness in relation to age. *Arbeitsphysiol* 10: 251-323, 1938.
- Rosenblueth A and Simeone FA.** The interrelation of vagal and accelerator effects on the cardiac rate. *Am J Physiol* 110: 42-55, 1934.
- Rowe JW and Troen BR.** Sympathetic nervous system and aging in man. *Endocr Rev* 1: 167-169, 1980.
- Rowell LB.** *Human cardiovascular control.* New York: Oxford University Press, 1993, p. 162-479.
- Rowell LB.** Neural control of muscle blood flow: importance during dynamic exercise. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24: 117-125, 1997.
- Sandercock GR, Bromley PD, and Brodie DA.** Effects of exercise on heart rate variability: inferences from meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* 37:433-439, 2005.
- Scarpace PJ.** β -adrenergic responsiveness during senescence. *Fed Proc* 45: 51-54, 1986.

Schaefer ME, Allert JA, Adams HR, Laughlin MH. Adrenergic responsiveness and intrinsic sinoatrial automaticity of exercise-trained rats. *Med Sci Sports Exerc* 24:887-94, 1992.

Scheuer J and Tipton CM. Cardiovascular adaptations to physical training. *Annu Rev Physiol* 39: 221-251, 1977.

Scheuer J, Tipton CM. Cardiovascular adaptations to physical training. *Annu Rev Physiol* 39:221-51, 1977..

Schnohr P, Jensen JS, Scharling H, and Nordestgaard BG. Coronary heart disease risk factors ranked by importance for the individual and community. A 21 year follow-up of 12000 men and women from the Copenhagen City Heart Study. *Eur Heart J* 23: 620-626, 2002.

Schuit AJ, van Amelsvoort LG, Verheij TC, Rijnke RD, Maan AC, Swenne CA, Schouten EG. Exercise training and heart rate variability in older people. *Med Sci Sports Exerc* 31:816-21, 1999.

Schuit AJ, Van Amelsvoort LGPM, Verheij TC, Rijnke RD, Maan AC, Swenne CA and Schouten EG. Exercise training and heart rate variability in older people. *Med Sci Sport Exerc* 31:816-821,1999.

Schwartz JB, Gibb WJ and Tran T. Aging effects on heart rate variation. *J Gerontol* 46: M99-M106, 1991.

Scott AS, Eberhard A, Ofir D, Benchetrit G, Dinh TP, Calabrese P, Lesiuk V, and Perrault H. Enhanced cardiac vagal efferent activity does not explain training-induced bradycardia. *Auton Neurosci*, 112: 60-68, 2004.

Seals DR and Chase PB. Influence of physical training on heart rate variability and baroreflex circulatory control. *J Appl Physiol* 66: 1886-1895, 1989.

Seals DR, Hagberg Rj, Spina Rj, Rogers MA, Schechtman Kb, and Ehsani AA. Enhanced left ventricular performance in endurance trained older men. *Circulation* 89: 198-205, 1994.

Seals DR, Taylor JA, Ng AV, and Esler MD. Exercise and aging: autonomic control of the circulation. *Med Sci Sports Exerc* 26: 568-576, 1994.

Shannon DC, Carley DW, and Benson H. Aging of modulation of heart rate. *Am J Physiol* 253: H874-H877, 1987.

Shi X, Stevens GH, Foresman BH, Stern SA, and Raven PB. Autonomic nervous system control of the heart: endurance exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 27: 1406-1413, 1995.

Shiraishi I, Takamatsu T, Minamikawa T, Onoushi Z, and Fujita S. Quantitative histological analysis of the human sinoatrial node during growth and aging. *Circulation* 85: 2176-2184, 1992.

Sigvardsson K, Svanfeldt E, Kilbom A. Role of the adrenergic nervous system in development of training-induced bradycardia. *Acta Physiol Scand* 101:481-8, 1977.

Simpson DM and Wicks R. Spectral analysis of heart rate indicated reduced baroreceptor-related heart rate variability in elderly persons. *J Gerontol* 43: M21-M24, 1988.

Smith EE, Guyton AC, Manning RD, and White RJ. Integrated mechanisms of cardiovascular response and control during exercise in the normal human. *Prog Cardiovasc Dis* 18: 421-444, 1976.

Smith ML, Hudson H, Graitzer M, and Raven PB. Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. *Med Sci Sports Exerc* 21: 40-44, 1989.

Snell PG, Mitchell JH. Physical inactivity: an easily modified risk factor? *Circulation* 100:2-4, 1999.

Sowers JR, Rubenstein LZ, Stern N. Plasma norepinephrine responses to posture and isometric exercise increase with age in the absence of obesity. *J Gerontol* 38:315-7, 1983.

Spina RJ, Turner MJ, Ehsani AA. Beta-adrenergic-mediated improvement in left ventricular function by exercise training in older men. *Am J Physiol* 274:H397-H404, 1998.

Stanley G, Verotta D, Craft N, and Siegel RA. Age and autonomic effects on interrelationships between lung volume and heart rate. *Am J Physiol* 270: H1833, 1996.

Stein PK, Ehsani AA, Domitrovich, Klieger RE, and Rottman JN. Effect of exercise training on heart rate variability in healthy older adults. *Am Heart J* 138: 567-576, 1999.

Stein R, Medeiros, CM, Rosito GA, Zimmerman LI, and Ribeiro JP. Intrinsic sinus and atrioventricular node electrophysiologic adaptations in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol* 39:1033-1038, 2002.

Stratton JR, Cerqueira MD, Schwartz RS, Levy WC, Veith RC, Khan SE, and Abrass IB. Differences in cardiovascular responses to isoproterenol in relation to age and exercise training in healthy men. *Circulation* 86: 504-512, 1992.

Svedenhag J, Martinsson A, Ekblom B, and Hjendahl P. Altered cardiovascular responsiveness to adrenaline in endurance trained subjects. *Acta Physiol Scand* 543:1-73, 1986.

Svedenhag J, Martinsson A, Ekblom B, and Hjendahl P. Altered cardiovascular responsiveness to adrenoceptor agonists in endurance-trained men. *J Appl Physiol* 70: 531-8, 1991.

Talbot LA, Morrell CH, Metter EJ, Fleg JL. Comparison of cardiorespiratory fitness versus leisure time physical activity as predictors of coronary events in men aged < or = 65 years and > 65 years. *Am J Cardiol* 89:1187-1192, 2002.

Tapanainen JM, Thomsen PE, Kober L, Torp-Pedersen C, Makikallio TH, Still AM, Lindgren KS, and Huikuri HV. Fractal analysis of heart rate variability and mortality after an acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 90: 347-52, 2002.

Taylor JA, Carr DL, Myers CW, and Eckberg DL. Mechanisms underlying very low-frequency RR-interval oscillations in humans. *Circulation* 98: 547-555, 1998.

Thomas DP, McCormick RJ, Zimmerman SD, Vadlamudi RK, and Gosselin LE. Aging- and training-induced alterations in collagen characteristics of rat left ventricle and papillary muscle. *Am J Physiol* 263: H778-H783, 1992.

Thomas JN, Sherf L, Fine G, and Morales AR. Comparative ultrastructure of the sinus node in man and dog. *Circulation* 39: 139-163, 1966.

Tipton CM, Matthes RD, Tchong T, Dowell RT, and Vailas AC. The use of the Langendorff preparation to study the bradycardia of training. *Med Sci Sports Exerc* 9: 220-230, 1977.

Toda N and Shimamoto K. The influence of sympathetic stimulation on transmembrane potentials in the S-A node. *J Pharmacol Exp Ther* 159: 298-305, 1968.

Tsuji H, Venditti FJ Jr, Manders ES, Evans JC, Larson MG, Feldman CL, Levy D. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation* 90:878-83, 1994.

Tulppo MP, Hughson RL, Mäkikallio TH, Airaksinen KE, Seppänen T, and Huikuri HV. Effects of exercise and passive head-up tilt on fractal and complexity properties of heart rate dynamics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1081-H1087, 2001.

Tulppo MP, Mäkikallio TH, Seppänen T, Airaksinen JK, and Huikuri HV. Heart rate dynamics during accentuated sympathovagal interaction. *Am J Physiol* 274: H810-H816, 1998.

Tulppo MP, Mäkikallio TH, Seppänen T, Laukkanen RT, and Huikuri HV. Vagal modulation of heart rate during exercise: effects of age and physical fitness. *Am J Physiol* 274:H424-H429, 1998.

Tulppo MP, Mäkikallio TH, Seppänen T, Shoemaker K, Tutungi E, Hughson RL, and Huikuri HV. Effects of pharmacological adrenergic and vagal modulation on fractal heart rate dynamics. *Clin Physiol* 21: 515-523, 2001.

Tulppo MP, Mäkikallio TH, Takala TE, Seppänen T, and Huikuri HV. Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise. *Am J Physiol* 271: H244-H252, 1996.

Uusitalo AL, Laitinen T, Väisänen SB, Länsimies E, and Rauramaa R. Physical Training and Heart Rate and Blood Pressure Variability -a Five-Year Randomized Trial. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H1821-H1826, 2004.

Uusitalo AL, Laitinen T, Väisänen SB, Länsimies E, and Rauramaa R. Effects of endurance training on heart rate and blood pressure variability. *Clin Physiol Funct Imaging* 22: 173-179, 2002.

Vestal RE, Wood AJJ, and Shand DG. Reduced β -adrenoceptor sensitivity in the elderly. *Clin Pharmacol Ther* 26: 181-186, 1979.

Victor RG, Seals DR, and Mark AL. Differential control of heart rate and sympathetic nerve activity during dynamic exercise. Insight from intraneural recordings in humans. *J Clin Invest* 79: 508-516, 1987.

Vinogradova TM, Bogdanov KY, and Lakatta EG. β -Adrenergic stimulation modulates Ryanodine release during diastolic depolarization to accelerate pacemaker activity in rabbit sinoatrial cells *Circ Res* 90:73-79, 2002

Vinogradova TM, Maltsev VA, Bogdanov KY, Lyashkov AE and Lakatta EG. Rhythmic Ca^{2+} Oscillations Drive Sinoatrial Nodal Cell Pacemaker Function to Make the Heart Tick. *Ann N Y Acad Sci* 1047: 138-156, 2005.

Viragb S and Porte A. Structure fine du tissue vecteur dans le coeur de rat. *Z Zellforsch* 55: 263-279, 1961.

Xu J, Gao F, Ma XL, Gao E, Friedman E, Snyder DL, Horwitz J, and Pelleg A Effect of sging on the negative chronotropic and anti β -adrenergic actions of adenosine in the rat heart *J Cardiovasc Pharm* 34:904-912, 1999

Waddington JL, Macculloch MJ, and Sambrooks JE. Resting heart rate variability in man declines with age. *Experientia Basel* 35: 1197-1198, 1979.

Wajngarten M, Negrão CE, Kalil LMP, Ramires PR, Rondon E, Haebisch ERH, Bellotti G, Serro-Azul LG, Decourt LV, and Pileggi F. Influence of aging and exercise training on the increase in oxygen uptake as a function of the increase in work rate. *Cardiol Elder* 2: 421-426, 1994.

Warner HR and Cox A. Mathematical model of heart rate control by sympathetic and vagus efferent information. *J Appl Physiol* 17: 349-355, 1962.

Whelton SP, Chin A, and Xin HEJ. Effect of aerobic exercise on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Inter Med* 13: 493-503, 2002.

Williams PT. Physical fitness and activity as separate heart disease risk factors: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc.* 33:754-6, 2001.

Wilson TM and Tanaka H. Meta-analysis of the age associated decline in maximal aerobic capacity in men: relation to training status. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278: H829-H834, 2000.

Wisloff U, Hegelrud J, Kemi OJ, and Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max and cardiac hypertrophy *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1301-H1310, 2001.

Yamamoto K, Miyachi M, Saltoh T, Yoshioka A, and Onodera S. Effects of endurance training on resting and post-exercise cardiac autonomic control. *Med Sci Sports Exerc* 33: 1496-1502, 2001.

Yamamoto Y and Hughson RL. Coarse-graining spectral analysis: new method for studying heart rate variability. *J Appl Physiol* 71: 1143-1150, 1991.

Yamamoto Y, Hughson RL, and Peterson JC. Autonomic control of heart rate during exercise studied by heart rate variability spectral analysis. *J Appl Physiol* 71: 1136-1142, 1991.

Yin FCP, Spurgeon HA, and Greene HL. Age- associated decrease in chronotropic response to isoproterenol

Yin FCP, Spurgeon HA, and Greene HL. Age- associated decrease in chronotropic response to isoproterenol in dogs. *Mech Aging Dev* 10: 17-25, 1979.

Yin FCP, Spurgeon HA, and Raizes GS. Age-associated decrease in chronotropic response to isoproterenol. *Circulation* 54: 11167-11170, 1976.