

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS

Efeitos da Temperatura e do Estado Metabólico sobre a  
Função Cardíaca do Jacaré-de-Papo-Amarelo (*Caiman  
latirostris*)

André Guelli Lopes

São Carlos-SP  
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS

Efeitos da Temperatura e do Estado Metabólico sobre a  
Função Cardíaca do Jacaré-de-Papo-Amarelo (*Caiman  
latirostris*)

André Guelli Lopes

Tese apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (PIPGCF UFSCar – UNESP), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Kalinin

São Carlos-SP  
2013

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar

L864et

Lopes, André Guelli.

Efeitos da temperatura e do estado metabólico sobre a função cardíaca do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) / André Guelli Lopes. -- São Carlos : UFSCar, 2014.  
85 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Coração. 2. *Caiman latirostris*. 3. Contratilidade. 4. Temperatura. 5. Ação dinâmica específica. 6. Retículo sarcoplasmático. I. Título.

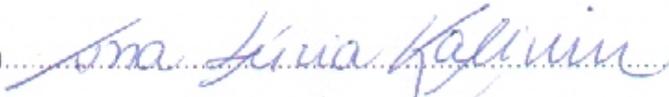
CDD: 612.17 (20<sup>a</sup>)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências  
Fisiológicas  
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

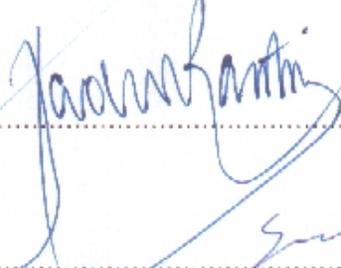
Tese de Doutorado de André Guelli Lopes

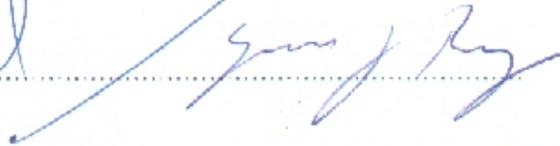
Dia 28/01/2014

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Lúcia Kalinin..... 

Prof. Dr. Dalton Valentim Vassallo..... 

Prof. Dr. Augusto Shinya Abe..... 

Prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin..... 

Prof. Dr. Gerson Jhonatan Rodrigues..... 

O homem que pensa  
Tem a fronte imensa  
Tem a fronte pensa  
Cheia de tormentos  
O homem que pensa  
Traz nos pensamentos  
Os ventos preclaros  
Que vêm das origens.  
O homem que pensa  
Pensamentos claros  
Tem a fronte virgem  
De ressentimentos.  
Sua fronte pensa  
Sua mão escreve  
Sua mão prescreve  
Os tempos futuros.  
Ao homem que pensa  
Pensamentos puros  
O dia lhe é duro  
A noite que lhe é leve:  
Que o homem que pensa  
Só pensa o que deve  
Só deve o que pensa.

*Vinicius de Moraes*

## **AGRADECIMENTOS.**

À profa. Dra. Ana Lúcia Kalinin pela valorosa orientação. Obrigado por ter permitido que eu pudesse desenvolver meus estudos junto ao Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Compatativa.

À amiga Ana Kalinin pela disponibilidade, pela ajuda valorosa nos momentos difíceis, pelo constante bom humor e pelo tanto que pude aprender contigo.

Ao prof. Dr. Francisco Tadeu Rantin pelos bons exemplos e bom humor no dia a dia.

A todos os colegas do laboratório, pois sem eles tudo teria sido mais difícil. Especialmente agradeço, pelas boas risadas e aprendizados importantes, à minha amiga Diana Monteiro e a amiga Juliana Thomaz; os amigos Ângelo, Eliton, Lucas, Nathan, Rafael Cipriano, Rafael Zê, Samuel e Tiaguinho.

Ao corpo docente e funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas, pela amizade e pela ajuda no dia a dia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos pela valorosa oportunidade.

Aos professores do CCBS-UFSCar pela minha formação como Biólogo.

À Capes, INCT em Fisiologia Comparada pelo financiamento da pesquisa.

Aos amigos que nunca me faltaram, especialmente: Julio Damalio, Eliseu Frank, Renato Pasquinha, Reinaldo Netão, Danilo Rato, Daniel Zé, ZéLeo, Dimas, Flaviane.

À minha esposa Denise, pelo amor, carinho, amizade e cuidado durante todos esses anos. Sem você teria sido tudo mais difícil.

À minha família: meu pai Djair, minha mãe Lélia, meu irmão Tiago, minha afilha Beatriz e sobrinho Alexandre. Obrigado pelo amor, pelo cuidado e pela paciência. Amo vocês.

Aos meus tios e tias, primos e primas que me renderam muitas boas lembranças.

À minha avó Isaura Vitaliano Guelli, um anjo que confiou em mim, sempre me apoiou, me amou e me mostrou muitos bons exemplos. Obrigado avó, te amo.

Agradeço e dedico este trabalho ao meu avô Élcio de Oliveira Guelli, *in memoriam*, por ter me amado e por nunca ter estado longe de mim, apesar de não estar mais junto aos meus olhos.

## RESUMO

A digestão e a termorregulação são processos que podem desafiar tanto o débito quanto a frequência cardíaca ( $f_H$ ). Alterações pós-prandiais em diferentes padrões fisiológicos são comumente identificadas para ectotérmicos, embora sejam predominantemente estudados em serpentes. Além disso, a termorregulação é um processo crítico para garantir diferentes estratégias de sobrevivência e reprodução nos répteis. Preparações ventriculares *in vitro* foram utilizadas para investigar a plasticidade inotrópica dos miócitos ventriculares do *Caiman latirostris* a 25 e 30 °C, durante o período pós-absortivo (30 dias – após a alimentação) e após a alimentação (2 dias – grupo digestão). A massa ventricular relativa (MVR) após 2 dias da alimentação não apresentou diferenças significativas em relação ao grupo pós-absortivo. A força de contração ( $F_c$ ) foi significativamente maior e as taxas ( $dF_c/dt$ ) de contração (TC) e relaxamento (TR) foram mais rápidas a 25 °C do que a 30 °C, para ambos os grupos experimentais. No entanto, a alimentação causou aumento significativo na força de contração ( $F_c$ ) em ambas as temperaturas (316.7% a 30 °C e a 296.7% 25 °C). Uma significativa potenciação pós-pausa foi identificada no grupo digestão a 25 °C ( $121.0 \pm 6.4$  %), que foi inibida pela rianodina ( $86.0 \pm 2.9$  %). No grupo pós-absortivo a 30 °C, os miócitos foram capazes de suportar frequências de estimulação superiores (até 1.6 Hz) às suportadas a 25 °C (até 1.0 Hz), mesmo com a função do retículo sarcoplasmático (RS) bloqueada pela adição de 10  $\mu$ M de rianodina (RYA). As preparações ventriculares do grupo digestão apresentaram valores maiores de  $F_c$  e alcançaram frequências superiores do que o grupo pós-absortivo, em ambas as temperaturas. Contudo, o pré-tratamento com RYA reduziu a  $F_c$  em frequências entre 1,4 e 1,8Hz no grupo digestão a 30 °C. Os mecanismos sarcolemais são mais representativos no grupo pós-absortivo a 25 °C, porém o RS pode contribuir com o aumento da velocidade da contratilidade nessas condições. Durante a SDA, o RS parece representativo nessa condição de temperatura, porém a SDA causou efeito inotrópico positivo e ampliou a representatividade dos mecanismos sarcolemais. A importância do RS a 30 °C parece crítica apenas em altas frequências de estimulação. Nessa temperatura, a SDA garante a eficiência da contratilidade mesmo com o RS bloqueado, apesar do prejuízo significativo no desenvolvimento da  $F_c$  e do relaxamento em altas frequências. Nossos resultados indicam que os miócitos ventriculares do *Caiman latirostris* apresentam ampla plasticidade inotrópica, capaz de assegurar o débito cardíaco em diferentes temperaturas, frequências e estados metabólicos.

## ABSTRACT

Phenomena as feeding and thermoregulation can challenge both the cardiac output and heart rate ( $f_H$ ). Postprandial changes in many physiological patterns are typically recorded for ectotherms, although predominantly studied in snakes. Furthermore, thermoregulation is a critical process to ensure different survival and reproduction strategies from reptiles. Ventricular preparations *in vitro* were used to investigate the inotropic plasticity at 30 °C and 25 °C and during fasting (30 days – fasting group) and after feeding (2 days – digesting group). No significant differences were verified in the relative ventricular mass (RVM) after feeding. The peak tension ( $F_c$ ) was significantly higher and rates ( $dF_c/dt$ ) of contraction (TC) and relaxation (TR) were faster at 25° C than at 30° C for both experimental groups. However, feeding caused significant increase in peak tension (PT) at both temperatures (396.7 % at 30 °C and 416.7 % at 25 °C). A significant post-rest potentiation was recorded for digesting group at 25 °C ( $121.0 \pm 6.4$  %), which was inhibited by ryanodine ( $86.0 \pm 2.9$  %). At 30 °C, myocytes from fasting group were able to support higher frequencies (up to 1.6 Hz) than at 25 °C (up to 1.0 Hz), even with the sarcoplasmic reticulum (SR) blocked by 10  $\mu$ M ryanodine (RYA). Data from digestion group showed greater values of the  $F_c$  and reached higher frequencies than fasting group, at both temperatures. However, pre-treatment with RYA decreased PT in frequencies between 1.4 and 1.8 Hz for digesting group at 30 °C. Sarcolemma mechanisms were more representative in the fasting group at 25 °C, but the SR must contribute to increased speed of contractility under those conditions. During SDA, the SR seem representative at 25 °C, however the positive inotropic effect caused by SDA enlarged sarcolemma mechanisms representativeness. The SR significance at 30 °C seems critical during high frequencies. At this temperature, the SDA increases the contractility efficiency, even with the RS blocked, despite the relaxation and  $F_c$  development at high frequencies been present impaired. Our results indicate that *Caiman latirostris* myocytes show large inotropic plasticity at different temperatures, frequencies and metabolic states.

Keywords: *Caiman latirostris*, Sarcoplasmic Reticulum, Peak Tension, specific dynamic action-SDA, Temperature

## LISTA DE FIGURAS.

<b>Figura 1</b> Representação esquemática do coração e dos vasos conectores no taxa dos Craniota (SCHMIDT-RHAESA, 2007).....	4
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática do sistema circulatório de répteis crocodilianos e não-crocodilianos (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).....	4
<b>Figura3</b> a. O coração de 4 câmaras dos mamíferos e aves separa sangue oxigenado (vermelho) e desoxigenado (azul) e imprime diferentes pressões ao sangue que vai aos pulmões via artéria pulmonar (PA) e ao sangue que é bombeado, via aorta, ao resto do corpo; b. O coração de 3 câmaras da maioria dos répteis permite a mistura de sangue oxigenado e desoxigenado e não permite uma grande diferença de pressão entre os sistemas pulmonar e aórtico; c. Os crocodilianos modernos possuem coração com 4 câmaras mas podem desviar sangue entre os dois sistemas através do foramen de Panizza. RA, átrio direito; LA, átrio esquerdo, RV, ventrículo direito; LV, ventrículo esquerdo; RA, aorta direita; LA, aorta esquerda. (SUMMERS, 2005).....	5
<b>Figura 4.</b> A relação entre o coração e os principais vasos sangüíneos de um Crocodylia. O arco aórtico direito abre-se a partir do ventrículo esquerdo e recebe sangue oxigenado que flui tanto para a região cranial, como para a região caudal do corpo. O arco aórtico esquerdo abre-se a partir do ventrículo direito. (POUGH et al., 2008).....	7
<b>Figura 5.</b> Esquema geral do mecanismo de acoplamento E-C do músculo cardíaco de mamíferos. As setas vermelhas representam as vias de entrada de $Ca^{2+}$ no sarcoplasma e as verdes, as vias de remoção deste íon do mesmo. DHPR: canal de dihidropiridina (canal L); RS: retículo sarcoplasmático; RyR: canal de $Ca^{2+}$ do RS (canal de rianodina); NCX: do trocador $Na^+/Ca^{2+}$ ; SERCA: $Ca^{2+}$ -ATPase do RS; PLB: fosfolambano(modificadaBERS,2002).....	10
<b>Figura 6.</b> . Perfis metabólicos pós-prandiais de seis espécies de répteis. Para os répteis, a alimentação desencadeia aumentos de três a 15 vezes na taxa metabólica em 1 ou 2 dias. (Adaptada de SECOR, 2009).....	21
<b>Figura 7.</b> Consumo de oxigênio de <i>Caiman latirostris</i> (N = 8) para 2•dias antes da alimentação e 9•dias após a alimentação. A alimentação ocorreu conforme indicado pela barra cinza. A área cinzenta sombreada sob a curva representa a SDA (STARCK et al. (2007).....	22
<b>Figura 8.</b> Aumento percentual (em % de massa em jejum) na massa úmida de órgãos de <i>P. molurus</i> em 1 ou 3 dias após refeições consistindo de roedores com peso equivalente a 25 ou 65% da massa corporal da serpente. Todos os órgãos aumentaram a massa em pelo menos 50%. (Adaptada de SECOR e DIAMOND, 1997a).....	23
<b>Figura 9.</b> Exemplares de jacaré-de-papo-amarelo, <i>Caiman latirostris</i> , utilizados no presente trabalho.....	26
<b>Figura 10.</b> Distribuição do <i>Cayman latirostris</i> . (VERDADE et al., 2010).....	29
<b>Figura 11.</b> A: Detalhe do banho com as quatro cubetas e os transdutores de força de contração isométrica; B: Detalhe de uma cubeta com a tira ventricular .....	32
<b>Figura 12.</b> Set experimental utilizado para a obtenção dos registros da contração isométrica das tiras ventriculares: A: banho com quatro cubetas; B: banho	

termostatzado; C: cilindro de mistura carbogênica; D: estimuladores elétricos; E: transdutores de força isométrica, acoplados a microestiradores; F: amplificador de força; G: sistema informatizado com placa de aquisição e tratamento dos dados (MONTEIRO, 2011).....	32
<b>Figura 13.</b> Detalhe dos registros de força de contração isométrica obtidos pelo sistema de aquisição de dados.....	33
<b>Figura 14.</b> Representação esquemática dos parâmetros analisados nos registros de força de contração isométrica no presente trabalho.....	36
<b>Figura 15.</b> Massa ventricular relativa (MVR) do <i>Caiman latirostris</i> dos grupos pós-absortivo (30 dias, n = 3) e digestão (2 dias, n = 3).....	37
<b>Figura 16.</b> Efeito de pausas de 1 e 5 minutos na estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força (% dos valores obtidos antes da pausa) das tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> dos grupos pós-absortivo e digestão submetidas à temperatura de 25°C.....	40
<b>Figura 17.</b> Efeito de pausas de 1 e 5 minutos na estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força (% dos valores obtidos antes da pausa) das tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> dos grupos pós-absortivo e digestão submetidas à temperatura de 30 °C.....	40
<b>Figura 18.</b> Relação F-F registrada para as tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> dos grupos pós-absortivo e digestão a 25 e 30 °C, na ausência e presença de rianodina. Valores médios $\pm$ 1 EPM (n=30).....	43
<b>Figura 19.</b> Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas ( $dF_c/dt$ -mN.mm <sup>-2</sup> .ms <sup>-1</sup> ) da contração (TC) e do relaxamento (TR) das tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> do grupo pós-absortivo à 25 e à 30 °C , na ausência e presença da rianodina.....	46
<b>Figura 20.</b> Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas ( $dF_c/dt$ -mN.mm <sup>-2</sup> .ms <sup>-1</sup> ) da contração (TC) e do relaxamento (TR) das tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> nos grupo digestão submetidos à temperatura de 25 e 30 °C, na ausência e presença da rianodina.....	47
<b>Figura 21.</b> Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) registrada pelas tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> nos grupos pós-absortivo e digestão, submetidos à temperatura de 25°C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina.....	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Força de contração e taxas de contração e relaxamento registradas pelas tiras ventriculares do <i>C. latirostris</i> a 25°C e a 30°C.....	38
<b>Tabela 2.</b> Efeito da pós-pausa de 1 e 5 minutos no desenvolvimento da Fc, representados em % dos valores obtidos antes da pausa na estimulação elétrica, nas tiras ventriculares do <i>C. latirostris</i> submetidas à temperatura de 25°C em ambos os grupos: pós-absortivo (n=18) e digestão (n=18).....	39
<b>Tabela 3.</b> Relação Força-Frequência registrada pelas tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> nos grupos pós-absortivo à temperatura de 25°C e 30°C, na ausência e presença da rianodina.....	42
<b>Tabela 4.</b> Relação Força-Frequência (F-F) registrada pelas tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> no grupo digestão à temperatura de 25°C e 30°C, na ausência e presença da rianodina.....	42
<b>Tabela 5.</b> Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (TC) e do relaxamento (TR) ( $dF_c/dt - \text{mN} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{ms}^{-1}$ ) das tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> nos grupo pós-absortivo à 25 e 30 °C, na ausência e presença da rianodina.....	45
<b>Tabela 6.</b> Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (TC) e do relaxamento (TR) ( $dF_c/dt - \text{mN} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{ms}^{-1}$ ) das tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> no grupo digestão à 25 e 30 °C, na ausência e presença da rianodina.....	45
<b>Tabela 7.</b> Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC - $\text{mN} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ ) registrada pelas tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> nos grupos pós-absortivo, submetidos à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina.....	49
<b>Tabela 8.</b> Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC- $\text{mN} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ ) registrada pelas tiras ventriculares de <i>C. latirostris</i> nos grupos digestão, submetidos à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina.....	49

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	v
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. O Coração dos Répteis.....	2
1.2 Contratilidade cardíaca.....	8
1.3 Influência da Temperatura na Performance Cardíaca.....	14
1.4 Alimentação e Metabolismo de Répteis.....	19
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	25
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	26
3.1 Material.....	26
3.1.1 Considerações sobre a fauna brasileira de répteis.....	26
3.1.2 O jacaré de-papo-amarelo.....	27
3.2 Métodos.....	29
3.2.1 Preparações Ventriculares.....	30
3.2.2 Protocolos Experimentais.....	33
3.2.2.1 Determinação do número de animais.....	33
3.2.2.2 Efeito da Temperatura e da alimentação (SDA).....	34
3.2.2.3 Tensão pós-pausa.....	34
3.2.2.4 Aumento da frequência de estimulação.....	35
3.3 Formas de apresentação dos dados.....	35
3.3.1 Tratamento estatístico dos dados.....	36

<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1 Massa ventricular relativa (MVR).....</b>	<b>37</b>
<b>4.2 Efeitos da temperatura e da alimentação na força de contração e variáveis tempo-dependentes.....</b>	<b>37</b>
<b>4.3 Efeitos da Pós-Pausa.....</b>	<b>38</b>
<b>4.4 Efeitos da Força-Frequência em diferentes temperaturas e estados nutricionais.....</b>	<b>41</b>
<b>4.4.1 Efeitos da Força-Frequência nas TC e TR em diferentes temperaturas e estados metabólicos.....</b>	<b>44</b>
<b>4.4.2 Capacidade de Bombeamento Cardíaco e “Power Output” em diferentes temperaturas e estados nutricionais.....</b>	<b>48</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>5.1 Efeitos da Temperatura sobre a contratilidade.....</b>	<b>51</b>
<b>5.2 Efeito da Alimentação na Massa Ventricular Relativa (MVR).....</b>	<b>53</b>
<b>5.3 Efeitos da digestão sobre a contratilidade.....</b>	<b>63</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>68</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O avanço no conhecimento da fisiologia cardíaca de mamíferos, decorrente de pesquisas com modelos experimentais como ratos (HARRISON, 1992; BERLIN, 1994), furões (BASSANI, 1994, 1995), coelhos (HOVE-MADSEN, 1993; DESPA, 2002) e cães (FABIATO, 1985), permitiu grandes avanços na medicina e na indústria farmacêutica. Apesar da percepção de que o modelo experimental cardíaco de mamíferos apresenta grande flexibilidade de ajustes quanto ao manejo intracelular do íon cálcio (BERS, 2000), este ainda é um modelo limitado quanto à plasticidade que o músculo cardíaco de vertebrados pode exibir, tanto na sua ultraestrutura quanto na fisiologia celular (VORNANEN *et al.*, 2002).

A história evolutiva dos vertebrados basais (peixes, anfíbios e répteis) é, no mínimo, 100 milhões de anos mais antiga do que a história evolutiva dos mamíferos, o que deve implicar em uma maior diversidade morfofisiológica, uma vez que foram expostos durante muito mais tempo às pressões seletivas dos diferentes ambientes que ocuparam (HICKMAN *et al.*, 2001). A esperada riqueza de adaptações em todos os níveis de organização biológica dos vertebrados basais (de moléculas aos órgãos altamente especializados) merece ser encarada como potencial de biodiversidade a ser explorada.

Os corações dos vertebrados são bombas notáveis que geram forças mecânicas que promovem a distribuição de células, nutrientes essenciais, hormônios, metabólitos e outras substâncias para os tecidos corpóreos a uma taxa e magnitude compatíveis às demandas (LILLYWHITE *et al.*, 1999). Para que o coração possa exercer sua função precípua, o débito cardíaco deve ser estreitamente regulado, o que envolve não apenas ajustes cronotrópicos (frequência), mas também toda uma série de modificações na contratilidade cardíaca (inotropismo) (FARRELL e JONES, 1992; LILLYWHITE *et al.*, 1999).

A adaptação evolutiva a diferentes habitats, modos de vida e níveis de atividade resultou em uma notável variação interespecífica sobre anatomia e fisiologia cardíaca nos vertebrados ectotérmicos. Em particular, o acoplamento excitação-contração pode diferir significativamente entre as espécies (LILLYWHITE *et al.*, 1999).

Os vertebrados basais apresentam uma grande diversidade de tamanhos, adaptações ecológicas, estilos de vida, além de peculiaridades

metabólicas, e isso faz com que a demanda imposta ao sistema cardiorrespiratório desses animais seja muito variável, implicando em modificações na morfologia e fisiologia desses sistemas (MUÑOZ-CHÁPULI e HAMLETT, 1996).

A força de contração e, em parte, a frequência cardíaca, dependem da quantidade de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) que interage com as proteínas contrácteis (YUE, 1987). Nas células cardíacas de mamíferos, um pequeno influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular provoca um grande incremento no  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular oriundo do estoque presente no retículo sarcoplasmático (RS). Essa oferta citoplasmática de  $\text{Ca}^{2+}$  ativa os miofilamentos e inicia a contração cardíaca. O relaxamento ocorre principalmente pelo sequestro do  $\text{Ca}^{2+}$  pelo RS (FABIATO, 1983, FRANK *et al.*, 2003). Assim, a disponibilidade de cálcio do RS é um importante determinante para a contração do miocárdio em mamíferos.

A importância do  $\text{Ca}^{2+}$  oriundo do RS para a ativação da contratilidade difere consideravelmente, não somente entre espécies, mas em cada estágio de desenvolvimento, das frequências cardíacas e em diferentes temperaturas (FABIATO, 1982; BERS, 2001). Diferentes estudos identificaram que o RS é ausente ou pouco desenvolvido em diferentes espécies de ectotérmicos, principalmente peixes e anfíbios (BOSSSEN e SOMMER, 1984; KEEN *et al.*, 1994. LILLYWHITE *et al.*, 1999;. SHIELS *et al.*, 2002;. VORNANEN *et al.* , 2002). No entanto, foi verificado que o RS desempenha um papel crucial na contratilidade cardíaca em diferentes espécies de peixes, que exibem diferentes habitats, estilos de vida e níveis de atividade (KEEN *et al.*, 1992, FARRELL *et al.*, 1998, SHIELS *et al.*, 1999, SHIELS e FARRELL, 2000; COSTA *et al.*, 2004. RIVAROLI *et al.*, 2006;. ROCHA *et al.*, 2006). De acordo com Galli *et al.*, (2006), em diferentes espécies de répteis, a importância do estoque de  $\text{Ca}^{2+}$  do RS é tecido-específica e frequência-dependente. Assim, a dependência em relação ao estoque do RS de  $\text{Ca}^{2+}$  para o desenvolvimento de altas frequências e pressão arterial nos vertebrados ectotérmicos parece amplamente variável e ainda carece de investigação.

### **1.1. O Coração dos Répteis.**

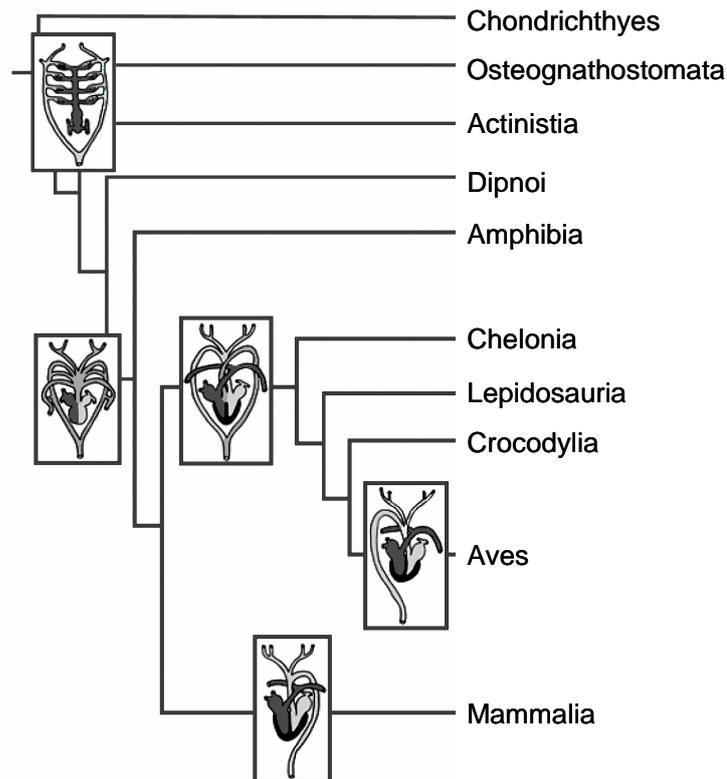
Segundo Schimidt-Rhaesa (2007), dentro dos craniota, divisão dos vertebrata que possuem crânio, as principais modificações no sistema circulatório deveram-se à transição da respiração branquial para a pulmonar.

Os peixes possuem um coração tipo tubo, composto por 4 câmaras em série: seio venoso, átrio, ventrículo e bulbo (ou cone). Um tronco arterioso se ramifica para o interior dos arcos branquiais, a partir dos quais vasos levam o sangue arterializado para a cabeça e para o corpo, suprindo os diversos órgãos, dos quais o sangue volta para o seio venoso. As larvas de anfíbios já possuem 2 átrios. Com o crescimento do pulmão durante o desenvolvimento dos anfíbios, a primeira veia branquial se dirige para o pulmão. O ventrículo, sem divisão, bombeia uma mistura de sangue, com porções de sangue venoso vindo do corpo e de sangue arterializado vindo do pulmão, para a circulação sistêmica (SCHMIDT-RHAESA, 2007).

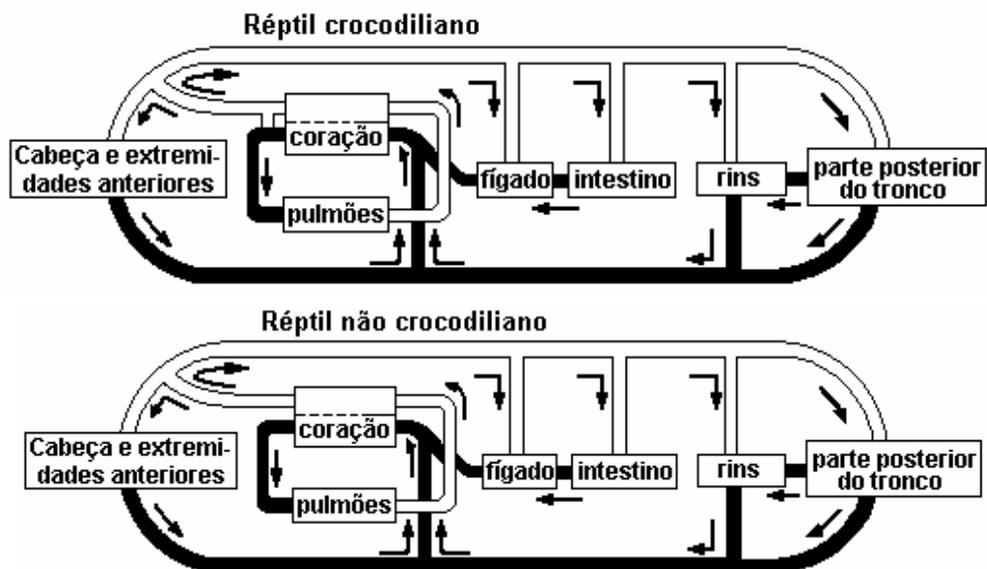
Nos amniota, há uma forte tendência de separação do ventrículo em duas câmaras, que é convergentemente completa em aves e mamíferos. Essa tendência também levou à redução no número dos vasos branquiais primitivos (SCHMIDT-RHAESA, 2007), como mostrado na figura 1.

De acordo com o mesmo autor, em todos os répteis, o átrio direito, que recebe sangue venoso do corpo é completamente separado do átrio esquerdo, que recebe sangue arterial dos pulmões. Os crocodilianos possuem dois ventrículos completamente separados enquanto que os demais répteis possuem ventrículos parcialmente separados (Figura 2). Porém, mesmo nos répteis com separação incompleta dos ventrículos, o padrão de fluxo de sangue dentro do coração previne a mistura de sangue pulmonar (oxigenado) e sistêmico (desoxigenado). Desta forma, todos os répteis possuem duas circulações funcionalmente separadas.

Summers (2005) publicou uma revisão acerca das diferenças entre os corações dos vertebrados endotérmicos e ectotérmicos. De acordo com o autor, os vertebrados endotérmicos (notadamente aves e mamíferos) possuem elevadas taxas metabólicas, o que lhes permite manter a temperatura corpórea constante, normalmente acima da temperatura ambiental. Os endotérmicos utilizam mais oxigênio e necessitam mais substrato energético do que os ectotérmicos, como peixes, anfíbios e lagartos, com temperaturas corpóreas mais baixas e variáveis. Porém, como consequência, os endotérmicos ganharam a capacidade de prolongar atividades extenuantes que não podem ser atingidas pelos ectotérmicos.



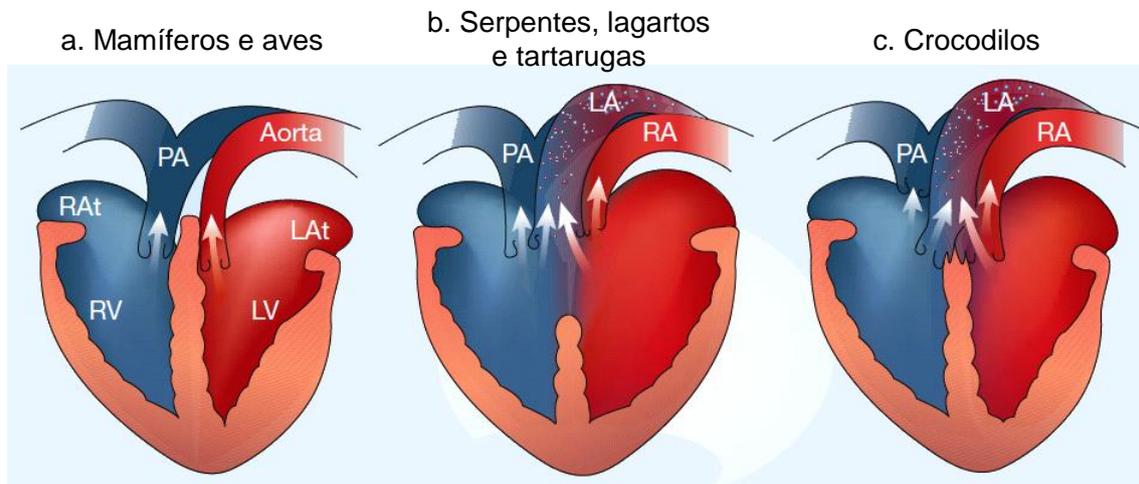
**Figura 1.** Representação esquemática do coração e dos vasos conectores no taxa dos Craniota (SCHMIDT-RHAESA, 2007).



**Figura 2.** Representação esquemática do sistema circulatório de répteis crocodilianos e não-crocodilianos (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

As aves e os mamíferos desenvolveram, independentemente, corações de 4 câmaras divididos em dois lados, de forma que o sangue oxigenado vindo dos pulmões é separado do sangue desoxigenado vindo do resto do corpo (Figura 3a).

O coração de 3 câmaras da maioria dos répteis e anfíbios é mais flexível, permitindo a mistura controlada de sangue pulmonar e sistêmico (Figura 3b), característica especialmente importante no mergulho, quando o desvio (“shunt”) de sangue dos pulmões acelera a transição para uma taxa metabólica mais baixa, aumentando o tempo entre respirações.



**Figura 3.** a. O coração de 4 câmaras dos mamíferos e aves separa sangue oxigenado (vermelho) e desoxigenado (azul) e imprime diferentes pressões ao sangue que vai aos pulmões via artéria pulmonar (PA) e ao sangue que é bombeado, via aorta, ao resto do corpo; b. O coração de 3 câmaras da maioria dos répteis permite a mistura de sangue oxigenado e desoxigenado e não permite uma grande diferença de pressão entre os sistemas pulmonar e aórtico; c. Os crocodilianos modernos possuem coração com 4 câmaras mas podem desviar sangue entre os dois sistemas através do foramen de Panizza. RAAt, átrio direito; LAAt, átrio esquerdo, RV, ventrículo direito; LV, ventrículo esquerdo; RA, aorta direita; LA, aorta esquerda. (SUMMERS, 2005).

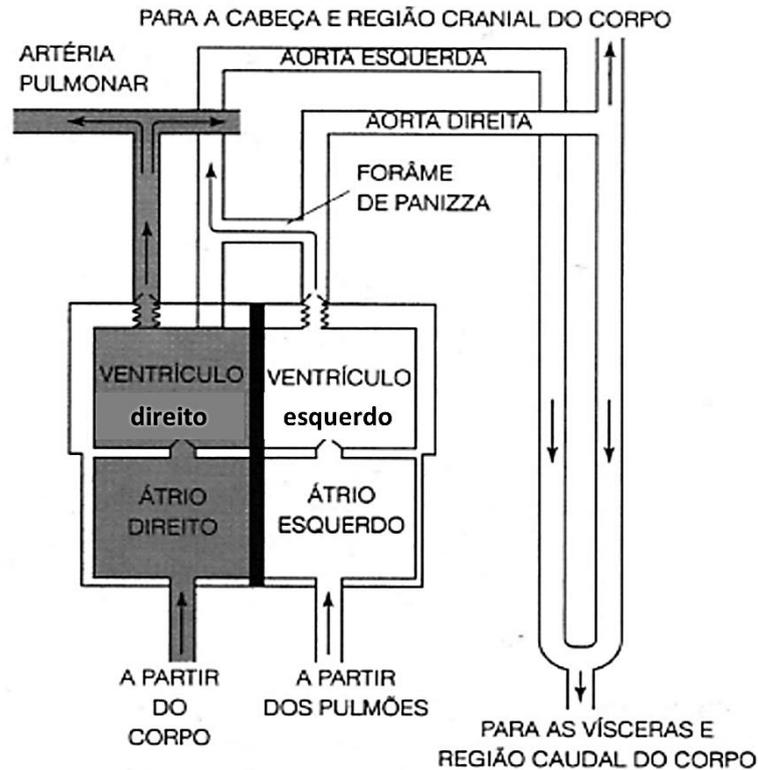
Ainda de acordo com Summers (2005), uma crista muscular no coração de 3 câmaras pode separar completamente o sangue desoxigenado do oxigenado, de forma que a mera separação do fluxo de sangue não explica por que o coração de 4 câmaras é tão benéfico que tenha evoluído duas vezes. Contudo, no coração de 4 câmaras, a divisão do fluxo de sangue também permitiu a variação de pressão entre os sistemas circulatórios pulmonar e sistêmico. O lado que envia sangue para os pulmões é muito mais fraco que o outro lado, pois altas pressões nos pulmões poderiam causar vazamento de líquido através das membranas

respiratórias. O lado mais forte do coração envia sangue para as artérias sistêmicas, onde as altas pressões trabalham contra a alta resistência resultante das forças de contração musculares, múltiplos leitos capilares e extensiva filtração através dos rins. As pressões do sangue sistêmico dos endotérmicos modernos são 3 vezes superiores às daquelas dos ectotérmicos.

O coração dos crocodilianos é um mosaico interessante: é dividido em 4 câmaras, mas também possui um sistema de desvio ("shunt"), embora um pouco diferente daquele dos demais répteis (Figura 3c). Seymour *et al.* (2004) propuseram que os ancestrais dos crocodilianos modernos foram endotérmicos e precisaram de um coração de 4 câmaras para a separação de pressão, que evoluiu posteriormente em um sistema de desvio ("shunt").

Segundo Pough *et al.* (2008), ao contrário dos Testudines (quelônios) e Squamata (lagartos e cobras), os Crocodylia apresentam um coração com quatro câmaras. A ausência desse septo, no coração dos Squamata e dos Testudines, os permite utilizar pressões diferenciais para desviar o sangue do lado pulmonar direito do ventrículo, por meio da crista muscular, para o lado sistêmico esquerdo. No coração dos Crocodylia, o arco aórtico direito insere-se no ventrículo esquerdo e recebe sangue oxigenado (Figura 4). O arco aórtico esquerdo e a artéria pulmonar inserem-se a partir do ventrículo direito. O fluxo de sangue para esses vasos é controlado pela resistência ao fluxo no circuito sistêmico ou circuito pulmonar e as pressões mudam dependendo das diferentes atividades apresentadas pelo animal.

Pequenos nódulos projetam-se para dentro do fluxo de sangue que segue para a artéria pulmonar um pouco antes do sangue alcançar a válvula pulmo-ventricular. Os nódulos de um dos lados pareiam-se com os nódulos do outro lado e formam uma espécie de válvula que é controlada pelos hormônios que ativam os  $\beta$ -adrenoreceptores (epinefrina e norepinefrina). A ativação da válvula aumenta a resistência no circuito pulmonar e determina um desvio do sangue não oxigenado da direita para esquerda dentro da circulação sistêmica. (FRANKLIN e AXELSSON 2000).



**Figura 4.** A relação entre o coração e os principais vasos sanguíneos de um Crocodylia. O arco aórtico direito abre-se a partir do ventrículo esquerdo e recebe sangue oxigenado que flui tanto para a região cranial, como para a região caudal do corpo. O arco aórtico esquerdo abre-se a partir do ventrículo direito. (modificado de POUGH *et al.*, 2008).

Quando um crocodiliano está em repouso, sua pressão sanguínea é aproximadamente a mesma nos ventrículos direito e esquerdo. Nessa situação, o sangue não oxigenado flui do ventrículo direito para o arco aórtico esquerdo e, em seguida, para trás, em direção às vísceras. O sangue não oxigenado contém  $H^+$ , produzido quando o dióxido de carbono combina-se com o bicarbonato do sistema tampão do sangue. Os íons  $H^+$  que entram no arco aórtico esquerdo podem ser usados para a secreção de ácido clorídrico no estômago durante a digestão. Note que o arco aórtico direito fornece o sangue para a cabeça, assim, mesmo nessa situação, o cérebro recebe apenas sangue oxigenado (Figura 4) (POUGH *et al.*, 2008)

Um padrão diferente de fluxo sanguíneo ocorre quando o crocodiliano está ativo. Nessa condição mais sangue deve ser distribuído para os músculos e promover o aumento na pressão do ventrículo esquerdo, alcançando níveis superiores ao do ventrículo direito. Os arcos aórticos: esquerdo e direito, estão

conectados por meio do Forâmen de Panizza. Quando a pressão no arco aórtico direito excede à do arco aórtico esquerdo, o sangue flui através dessa passagem, dirigindo-se do arco aórtico direito para o esquerdo (desvio da direita para a esquerda). A pressão crescente no arco aórtico esquerdo mantém a válvula ventricular fechada, o que impede a entrada de sangue pobre em oxigênio oriundo do ventrículo direito. Assim, ambos os arcos aórticos recebem sangue oxigenado quando o animal encontra-se ativo (POUGH *et al.*, 2008).

Quando o crocodiliano mergulha e não respira, ocorre um outro padrão de fluxo sanguíneo. Nessa situação, os vasos sanguíneos, no circuito pulmonar, encontram-se constrictos, de modo que a pressão no ventrículo direito aumenta até igualar-se à pressão no ventrículo esquerdo. Sob essas condições, forma-se um desvio de sangue intracardíaco (direita-esquerda) e um volume considerável de sangue pobre em oxigênio flui para o arco aórtico esquerdo. O mesmo desvio de sangue intracardíaco provavelmente acontece quando um crocodiliano está se aquecendo ao sol. Os crocodilianos são capazes de aumentar sua taxa de aquecimento através do aumento do fluxo de sangue para os membros. As pernas apresentam uma grande superfície em relação ao seu volume, sendo que o fluxo sanguíneo nas pernas transfere rapidamente calor para o centro do corpo. Assim, ao aumentar a resistência do fluxo no circuito pulmonar para produzir um desvio do fluxo sanguíneo da direita para a esquerda os crocodilianos aumentam o fluxo de sangue sistêmico o que garante o aquecimento mais rápido (POUGH *et al.*, 2008).

## **1.2. Contratilidade cardíaca.**

Cabe ressaltar que, como enfatizado por Johansen e Burggren (1980), o coração de um determinado vertebrado não é inferior ao de outro, mas encontra-se adaptado para que o animal tenha uma organização apropriada e que apresente padrões bem definidos de comportamento e de interação com seu ambiente.

Segundo Driedzic & Gesser (1994), o coração dos vertebrados ectotérmicos está sujeito a maiores alterações nas concentrações extracelulares de gases, status ácido-base e temperatura do que o coração dos animais endotérmicos. Esta particularidade decorre, fundamentalmente, das flutuações ambientais, por vezes súbitas e não previsíveis, a que estão sujeitos.

As características da contratilidade cardíaca podem ser influenciadas por inúmeros fatores ambientais impactantes no desempenho cardíaco. Portanto, tanto o cronotropismo quanto os mecanismos celulares envolvidos na contratilidade cardíaca sofrem ajustes capazes de garantirem um débito cardíaco adequado para atender às demandas impostas pelo ambiente (DRIEDZIC e GESSER, 1994).

A geração de força e a frequência cardíaca dependem diretamente da quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  que interage com as proteínas contráteis, bem como do tempo em que o  $\text{Ca}^{2+}$  permanece disponível no citosol para esta interação (YUE, 1987). O conjunto de processos que ocorrem desde a despolarização da membrana do miócito até o manejo iônico do  $\text{Ca}^{2+}$ , que culmina na interação das proteínas contráteis durante a contração e no seu desacoplamento para o relaxamento, é denominado acoplamento excitação-contração (acoplamento E-C). O entendimento dos mecanismos envolvidos no acoplamento E-C fornece subsídios para a compreensão da estratégia utilizada para manter um débito cardíaco adequado nas diferentes espécies e em diferentes condições (BERS, 1991).

O  $\text{Ca}^{2+}$  que promove a interação actino-miosínica ( $\text{Ca}^{2+}$  ativador) pode apresentar duas origens:

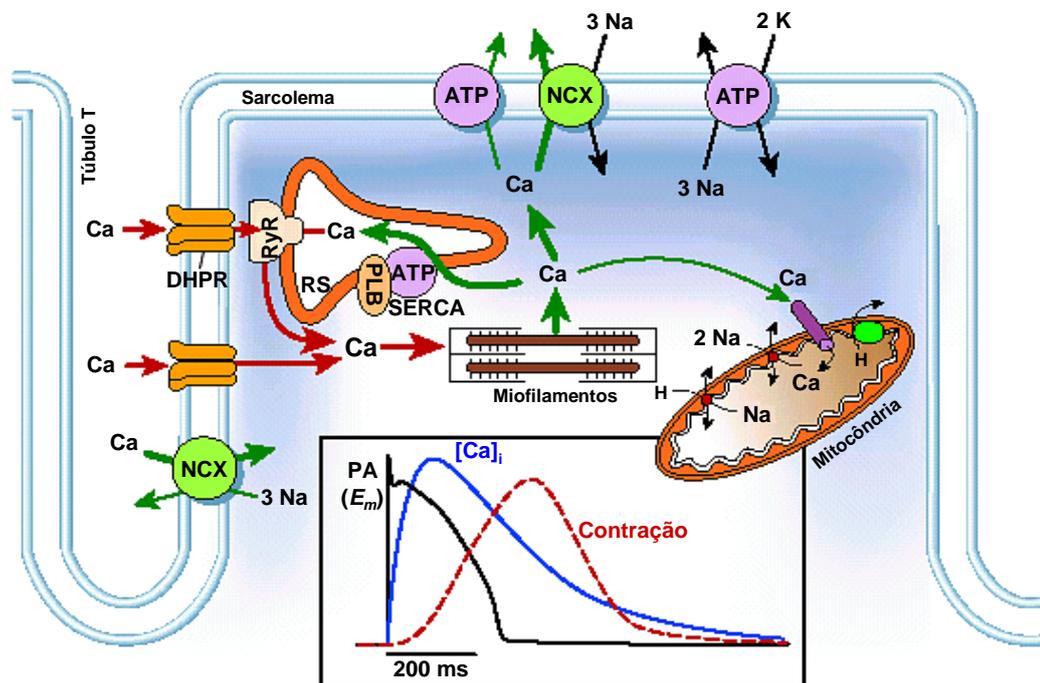
- a. Meio extracelular: pela sarcolema, através dos canais voltagem-dependentes do tipo L (canais lentos) e do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (NCX) ativado no modo reverso;
- b. Reservas intracelulares: provenientes principalmente do RS.

A procedência do  $\text{Ca}^{2+}$  ativador da contração resulta em importantes diferenças na produção de força, já que pode influenciar a quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  livre que é liberada no citosol a cada ciclo cardíaco, bem como influenciar o tempo em que o  $\text{Ca}^{2+}$  permanece livre no citosol, promovendo a interação actino-miosínica (BERS, 1991).

Apesar da magnitude do influxo de cálcio através dos canais L da sarcolema ser variável nas diferentes espécies de mamíferos, a maioria dos estudos indica que este é insuficiente para suportar as atividades contráteis exigidas pelo nível de atividade apresentada por esse taxa (BERS, 1985; BERS, 1991; CHAPMAN, 1983; DRIEDZIC e GESSER, 1994; BASSANI *et al.*, 1994b, 1996). Assim, o cálcio liberado pelo RS constitui-se na fonte principal deste íon para a contração no coração de todos os mamíferos já estudados (BERS, 1985; WIER, 1990; GWATHMEY e MORGAN, 1991; McCALL e ORCHARD, 1991; BASSANI *et al.*, 1992, 1993; 1994a, b; BERS *et al.*, 1993; KLAUTZ *et al.*, 1997).

De acordo com Fabiato *et al.* (1983), o influxo sarcolemal de cálcio dispara, em mamíferos, a liberação de uma quantidade ainda maior deste íon a partir do RS, através de canais de cálcio denominados canais de rianodina (RyR), mecanismo denominado liberação de cálcio induzida por cálcio (CICR).

A figura 5 resume os principais mecanismos envolvidos no acoplamento E-C de mamíferos.



**Figura 5.** Esquema geral do mecanismo de acoplamento E-C do músculo cardíaco de mamíferos. As setas vermelhas representam as vias de entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  no sarcoplasma e as verdes, as vias de remoção deste íon do mesmo. DHPR: canal de dihidropiridina (canal L); RS: retículo sarcoplasmático; RyR: canal de  $\text{Ca}^{2+}$  do RS (canal de rianodina); NCX: do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ; SERCA:  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase do RS; PLB: fosfolambano (modificada de BERS, 2002).

Por outro lado, no coração dos vertebrados ectotérmicos a situação parece ser diferente. Tibbits *et al.* (1991) sugeriram que no miocárdio de anfíbios, o cálcio liberado pelo RS não é significativo para a contração, além de ter sido contestada a ocorrência de CICR no ventrículo destes animais (FABIATO, 1983). A contração ventricular em anfíbios (BERS, 1985) parece ser relativamente insensível à rianodina (um alcalóide capaz de impedir o acúmulo de cálcio no interior do RS), mesmo em concentrações que comprovadamente neutralizam a atividade deste

canal, quando os experimentos são conduzidos utilizando-se frequências de estimulação e temperaturas fisiológicas.

Tibbits *et al.* (1992a) enfatizam que, em anfíbios, a importância relativa do fluxo de cálcio através da SL pode também ser indicada por um potencial de ação (P.A.) mais duradouro, resultante de uma fase platô mais pronunciada ( $723 \pm 106$  ms à temperatura ambiente), o mesmo ocorrendo na maioria dos peixes investigados até então (exemplo:  $556 \pm 56$  ms a  $20^\circ\text{C}$  em carpa cruciana, *Carassius carassius*, VORNANEN, 1989). Isso contrasta com os resultados obtidos para os mamíferos, nos quais até mesmo espécies que apresentam um P.A. de duração relativamente longa, esse tempo não chega a atingir a metade do valor observado nos anfíbios (exemplo:  $372 \pm 14$  ms a  $23^\circ\text{C}$  em coelhos).

Segundo Driedzic & Gesser (1994), um P.A. mais duradouro resulta na manutenção de um potencial de membrana positivo e, conseqüentemente, na maior permanência dos canais de cálcio voltagem-dependentes no estado aberto, além de favorecer o influxo de cálcio através do trocador NCX no seu modo reverso (TIBBITS *et al.*, 1992b). Isso sugere que a duração e a amplitude da contração sejam fortemente determinadas pela despolarização da membrana nos ventrículos de vertebrados basais.

O desenvolvimento do RS varia entre as espécies de peixes, apesar de na maioria dos teleósteos (DRIEDZIC e GESSER, 1988, 1994; MAYLIE e MORAD, 1995; CHUGUN *et al.*, 1999) e particularmente nos elasmobrânquios (TOTA, 1989) apresentar-se distribuído de forma esparsa. Essa menor dependência em relação ao RS como fornecedor de cálcio às miofibrilas também ocorre nos estágios iniciais do desenvolvimento ontogenético de mamíferos, como visto em ratos neonatos (AHO & VORNANEN, 1998). O RS corresponde a aproximadamente 0,5% do volume do miócito de peixes e anfíbios, diferindo dos cerca de 7,3% observados em ratos (HELLE, 1983; LEKNES, 1984). Os dados encontrados na literatura sobre a morfologia dos miócitos cardíacos de répteis, bem como sobre o manejo de cálcio e a contratilidade miocárdica deste grupo de vertebrados, não exploraram completamente o vasto grupo dos répteis.

Segundo Shiels e White (2008), diferentes estudos mostram que o miocárdio dos répteis é sensível ao mecanismo de Frank–Starling, conforme demonstrado para a tartaruga de orelha vermelha, *Chrysemys scripta* (FARRELL *et*

al., 1994) e tartaruga de pescoço curto, *Emydura signata* (FRANKLIN, 1994), a píton Birmanesa, *Python molurus* (WANG et al., 2002), o lagarto-monitor, *Varanus exanthematicus* (GLEESON et al., 1980) e o crocodilo de água salgada, *Crocodylus porosus* (FRANKLIN e AXELSSON, 1994). No entanto, os répteis, predominantemente, controlam o débito cardíaco durante o aumento de sua atividade por meio do aumento da frequência cardíaca (BUTLER et al., 2002).

No ativo lagarto-monitor das savanas, *Varanus exanthematicus*, o exercício causa um aumento no volume ejetado de 30% ao passo que a frequência cardíaca é dobrada (GLEESON et al., 1980). Somente o aumento da frequência elevou o débito cardíaco no varanídeo semi-aquático *V. mertensi* (FRAPPELL et al., 2002) e na iguana, *Iguana iguana* (GLEESON et al., 1980). Contudo, em *C. scripta*, para compensar a bradicardia durante o mergulho, o volume de sangue ejetado pode aumentar mais de quatro vezes durante o mergulho de apneia (BURGGREN et al., 1997).

Na serpente da espécie *Thamnophis elegans*, Leeson, (1981) encontrou miócitos de pequeno diâmetro (8 a 12  $\mu\text{m}$  e poucos miócitos ventriculares com 14  $\mu\text{m}$ ), poucas miofibrilas por célula, ausência de túbulos T, RS ausente, ou pobremente desenvolvido, normalmente sob a forma de vesículas dilatadas. Essas características indicam que essa organela não seja funcional nestes animais nas condições ambientais as quais os animais encontravam-se submetidos.

Leak (1967), em um estudo acerca do miocárdio de jibóia (*Boa constrictor*), descreveu pequenas vesículas dispersas no sarcoplasma, mas não encontrou um RS complexo ao redor das miofibrilas. Células miocárdicas bastante complexas foram descritas para o iguana *Anolis sp* (FORBES e SPERELAKIS, 1971).

Enquanto o RS das serpentes já estudadas apresentou-se na forma de elementos vesiculares, o lagarto *Anolis sp* apresenta RS formado por uma rede de túbulos bem desenvolvidos e interconectados (LESSON, 1981; BOSSEN & SOMMER, 1984), muito similares àqueles encontrados para galináceos e mamíferos, apesar de não serem tão extensos. No entanto, Leak (1967) observou que iguanas da mesma família que o *Anolis sp* (Iguanidae) não apresentam tal sistema reticular.

Okita (1971) estudou a tartaruga do gênero *Amyda* e descreveu miócitos cardíacos de pequeno diâmetro (13  $\mu\text{m}$ ), túbulos T curtos no nível da linha

Z (similar a mamíferos), RS bem desenvolvido circundando as miofibrilas e, ainda, RS associado com os túbulos T e próximo à sarcolema, sugerindo que, nesta espécie, os mecanismos do acoplamento E-C não diferem dos apresentados por mamíferos. Entretanto, não há estudos sobre a contratilidade cardíaca desta espécie.

Galli *et al.* (2006), estudando a tartaruga da espécie *Trachemys scripta*, encontraram miócitos cardíacos com grande relação superfície-volume, o que aumentaria a eficiência do transporte de  $\text{Ca}^{2+}$ , reduzindo distâncias de difusão da superfície até os miofilamentos. Nesta espécie, o RS desempenha pequeno papel na ciclagem de  $\text{Ca}^{2+}$  sendo que os canais do tipo L são a fonte predominante de  $\text{Ca}^{2+}$  (5x o valor encontrado para mamíferos adultos e aproximadamente 2x o valor encontrado para peixes). Adicionalmente, estes autores sugerem que o NCX pode fornecer o  $\text{Ca}^{2+}$  ativador para contração e é capaz de manter a contração do miócito independentemente do RS e dos canais L.

Assim, parece evidente a diversidade de características anatômicas e funcionais do coração dos répteis.

Dentro da classe Reptilia, a maioria dos estudos relevantes em relação à contratilidade miocárdica foi conduzida com tartarugas dos gêneros *Chrysemys* e *Pseudemys*. A capacidade das mesmas de permanecer por prolongados períodos em anoxia e acidose foi amplamente estudada (GESSER e POUPA, 1983; FARREL *et al.*, 1994; BAILEY e DRIEDZIC, 1996, 1997; SHI e JACKSON, 1997; HICKS e FARREL, 2000; NIELSEN e GESSER, 2001; KALININ e GESSER, 2002), sendo que pouca atenção foi dada ao acoplamento E-C e aos mecanismos que determinam a funcionalidade dos miócitos cardíacos.

Galli *et al.* (2006), estudaram a função cardíaca da tartaruga americana, *Trachemys scripta*; da serpente píton, *Python regius*, do lagarto teiú, *Tupinambis merianae*, e do lagarto-monitor, *Varanus exanthematicus*. Os autores verificaram que esses répteis recrutam o  $\text{Ca}^{2+}$  do RS para o desenvolvimento de força de forma tecido-específica, frequência-específica e espécie-específica. De uma forma geral, os efeitos da rianodina foram mais pronunciados no tecido atrial do que no ventricular. No músculo ventricular, os autores verificaram efeitos significativos da rianodina apenas nas pítons e lagartos-monitores, nos quais a força contrátil foi significativamente reduzida em frequências fisiologicamente relevantes para essas

espécies. Então sugeriram uma correlação direta da representatividade do RS com o nível de atividade dessas espécies.

Contudo, é importante enfatizar que a participação do RS no manejo de cálcio de peixes de ambientes tropicais mostra-se bastante variável, não seguindo uma correlação direta entre o nível de atividade do animal e a funcionalidade do RS, como descrita para os animais de ambientes temperados. Os resultados obtidos para espécies Neotropicais, como o teleósteos traíra, *Hoplias malabaricus* (OLLE *et al.*, 2003; RIVAROLI *et al.*, 2006), pacu, *Piaractus mesopotamicus* (ANELLI-JR *et al.* 2004), curimatá, *Prochilodus lineatus* (RIVAROLI *et al.*, 2006), muçum, *Synbranchus marmoratus* (ROCHA *et al.* 2006, 2007) e para o dipnóico pirambóia, *Lepidosiren paradoxa* (COSTA *et al.*, 2004), cujos RS mostraram-se representativos para a contratilidade, a despeito dos diversos níveis de atividade das espécies em questão, o que contraria essa relação. Dessa forma, pode ser relevante a hipótese de que haja um componente filogenético determinando a funcionalidade do RS em vertebrados basais.

### **1.3 Influência da Temperatura no Desempenho Cardíaco.**

De acordo com Burggren *et al.* (1997), a temperatura é o determinante ambiental mais importante para Fc, afetando diretamente a frequência intrínseca do marca-passo cardíaco. As variações ambientais de temperaturas impõem demandas peculiares na regulação da contratilidade cardíaca e, conseqüentemente, para o acoplamento E-C.

Peixes, anfíbios e répteis são ectotérmicos e, portanto, seus corações precisam funcionar eficientemente em uma variedade de estados térmicos. A regulação do débito cardíaco por meio de alterações no volume de sangue ejetado deve ser crucial para ectotérmicos, uma vez que fatores ambientais como a temperatura e o gás oxigênio impactam diretamente a frequência cardíaca.

Segundo Guderley e St-Pierre (2002), os vertebrados ectotérmicos têm duas escolhas quando expostos a temperaturas desfavoráveis. Eles podem se mover para temperaturas compatíveis ou, alternativamente, permanecer em seu habitat. Nesse último caso, estarão expostos às limitações impostas pela lei de Arrhenius, que reflete o impacto da temperatura sobre a frequência de colisão

molecular e, adicionalmente, descreve formalmente a dependência térmica das taxas dos processos fisiológicos e bioquímicos.

Segundo Glass e Wood (2009), quando expostos a mudanças na temperatura ambiental, os organismos podem: a) se submeter aos efeitos do  $Q_{10}$  (mudanças na velocidade de uma dada reação em função de uma alteração de  $10^{\circ}\text{C}$  na temperatura) reduzindo ou acelerando seus processos fisiológicos, b) aumentando os efeitos do  $Q_{10}$  sobre os processos fisiológicos (hibernação, torpor), ou c) contrabalançar os efeitos do  $Q_{10}$  acionando mecanismos compensatórios para manter suas funções e capacidades. Desta forma, mudanças na temperatura podem influenciar a função cardiovascular de vertebrados ectotérmicos de forma imediata e substancial.

Como dito anteriormente, a ativação dos miofilamentos durante o acoplamento E-C ocorre em resposta a um aumento da concentração citosólica de  $\text{Ca}^{2+}$ , que pode depender tanto da mobilização do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular proveniente do RS quanto do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  pela SL através dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  voltagem-dependentes (canais tipo L) e do NCX (HOVE-MADSEN *et al.*, 2000). Por outro lado, o músculo cardíaco relaxa por meio da redução dos níveis citosólicos de  $\text{Ca}^{2+}$  até os níveis diastólicos de repouso, principalmente por seu transporte para o espaço extracelular através da SL ou para o RS pela atividade bombeadora da SERCA.

O tempo gasto para o aumento e o decréscimo da concentração citosólica de  $\text{Ca}^{2+}$ , assim como a quantidade deste íon que é ciclada batimento-a-batimento, dependem diretamente do grau de atividade dos mecanismos transportadores de  $\text{Ca}^{2+}$  em cada compartimento, que varia de acordo com a espécie e a temperatura (GWATHMEY e MORGAN, 1991; VORNANEN, 1998).

Segundo Seebacher (2005) a temperatura é a variável física mais importante na determinação das funções biológicas, pois as leis da termodinâmica direcionam as taxas dos processos bioquímicos celulares dos seres vivos. Portanto, o ambiente térmico deve exercer forte pressão de seleção em todos organismos, o que influencia a maioria das relações fisiológicas e ecológicas dos organismos.

Dentre os processos biológicos afetados pela variação da temperatura corpórea está o nível de atividade das enzimas e, portanto, o metabolismo celular dos miócitos também está sujeito à temperatura (MARENCO *et al.* 1997). Depreende-se, então, que os processos responsáveis pela geração de força

(atividade dos transportadores) e propriedades contráteis dos músculos também estejam sob influência da temperatura e isto repercutirá na performance cardíaca.

Segundo Shiels *et al.* (2002b), a temperatura influencia a contratilidade cardíaca de todos os vertebrados, uma vez que o aumento da concentração intracelular de cálcio transitório (responsável pelo acoplamento E-C) envolve inúmeros processos temperatura-dependentes, dentre os quais a configuração do potencial de ação (MØLLER-NIELSEN e GESSER, 1992; COYNE *et al.*, 2000), a sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio (HARRISON e BERS, 1990) e os efeitos do  $Q_{10}$  sobre as bombas, trocadores e os canais iônicos (XUE *et al.*, 1999; SHIELS *et al.*, 2000). Tais efeitos da temperatura sobre os processos biológicos citados parecem ainda mais evidentes em animais ectotérmicos, nos quais a variação da temperatura ambiental resulta numa variação na temperatura corpórea. Existem importantes diferenças interespecíficas e temperatura-dependentes em relação aos mecanismos envolvidos com o acoplamento E-C.

Devido aos requerimentos térmicos, as atividades dos répteis são limitadas pelas condições ambientais. Uma vez que grande parte dos processos fisiológicos e padrões comportamentais são dependentes da temperatura, a maioria dos répteis a controla quando possível (POUGH *et al.*, 1998). Grande parte deste controle envolve mudanças comportamentais ao longo do dia. As trocas de calor com o meio podem ser influenciadas pela regulação do fluxo de calor através da alternância entre sombra e sol, entre micro-habitats, e pelo tempo de atividade (ROCHA e BERGALLO, 1990). Segundo Pough *et al.*, (1998), uma combinação entre o tamanho corporal, o custo-benefício ecológico e comportamental, além da história filogenética, determina quando e como um ectotérmico irá controlar sua temperatura.

As flutuações térmicas as quais os ectotérmicos estão submetidos disparam ajustes compensatórios tanto por ações comportamentais quanto por mecanismos fisiológicos. A termorregulação é um importante aspecto da história de vida de todos os crocodilianos e também depende do seu comportamento de escolha de ambientes térmicos. Eles podem se locomover para a terra e para a água, selecionando micro-habitats térmicos adequados (MOLINA *et al.*, 1994).

De acordo com Hagensen *et al.* (2010), no jacaré-de-papo-amarelo, as respostas barostáticas são dependentes da temperatura. Alguns trabalhos sugerem que a eficácia da termorregulação comportamental é determinada, em grande

medida, por alterações cardiovasculares. Segundo Seebacher (2000), a regulação da temperatura corpórea dentro de uma faixa estreita em relação às variações de temperatura ambiental é vantajosa para répteis, controlando as taxas de aquecimento e resfriamento enquanto se movem em um ambiente termicamente heterogêneo. Esse controle pode ser alcançado através da alteração do débito cardíaco e a distribuição do fluxo de sangue no corpo.

Assim, o controle sobre a troca de calor com o meio ambiente pode se dar por meio do aumento da frequência cardíaca durante o aquecimento e a redução da mesma durante o resfriamento. Esse padrão, conhecido como histerese de frequência cardíaca, tem sido descrito em todas as grandes linhagens de répteis.

No crocodilo de água salgada (*Crocodylus porosus*) a magnitude da histerese depende do modo pelo qual o calor é transferido entre os animais e o seu ambiente. Segundo Franklin e Seebacher (2003), a histerese é maior durante o aquecimento radiante e as mudanças de frequência cardíaca são proporcionais ao fluxo de calor experimentado pela superfície do animal.

Diferentes autores encontraram alterações na contratilidade, na pressão arterial, na ejeção sanguínea e na frequência cardíaca de diferentes espécies de répteis em diferentes temperaturas, como em *Chrysemys picta bellii* (SHI & JACKSON, 1997), *Alligator mississippiensis* (SHELTON e JONES, 1991) e cascavel (CAMPBELL *et al*, 2006).

Resultados apresentados por Bailey e Driedzic (1990) para a perca, *Perca flavescens*, Rantin *et al.* (1998) para o amborê de poça de maré, *Bathygobius soporator*, Costa *et al.* (2000) para a tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* e Costa *et al.* (2005) para a piramboia, *Lepidosiren paradoxa*, demonstraram que alterações agudas na temperatura levaram à redução dos valores da força de contração, indicando uma redução progressiva da atividade contrátil das fibras cardíacas desses peixes. Com a elevação da temperatura, ocorre uma redução na duração do estado ativo dos miócitos, que conseqüentemente reduz a tensão isométrica máxima (BAILEY & DRIEDZIC, 1990; VORNANEN, 1989).

Esses resultados diferem daqueles descritos por Shi & Jackson (1997) para as tiras ventriculares de tartaruga (*C. picta bellii*), Anelli-Jr 2004 para tiras ventriculares de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Olle (2003) para as tiras ventriculares de traíra (*Hoplias malabaricus*), Rocha *et al* (2007) para as tiras do *Synbranchus marmoratus*, cujas tensões isométricas não sofreram alterações com a

mudança da temperatura. Nesse sentido, o tecido cardíaco da tartaruga *C. picta bellii*, do crocodilo *Alligator mississippiensis*, do pacu, da traíra e do muçum se assemelham ao músculo esquelético de outros vertebrados, tanto ectotérmicos quanto endotérmicos, em relação à independência térmica do desenvolvimento de força (BENNET, 1984).

A temperatura corporal dos lagartos forrageadores ativos é, em geral, maior que a dos predadores senta-e-espera. Os forrageadores ativos apresentam períodos de atividade diária menor e concentrado nas horas mais quentes do dia, pois possuem uma taxa de captura de presas maior que os senta-e-espera (COLLI e PAIVA, 1997).

Jacarés do papo amarelo, *Caiman latirostris* de 0,5 a 5,5 anos selecionaram temperaturas entre 18,5 a 36 °C em cercados localizados no interior de uma estufa de plástico (VERDADE *et al.*, 1994). Molina e Sajdak (1993) estudaram a seleção térmica de *C. latirostris* de 1,1 a 26 kg em recintos do Zoológico de São Paulo, por meio de teletermômetros, e sugeriram uma preferência térmica entre 29 e 34,5 °C para os animais mais jovens (*apud* PINHEIRO *et al.*, 2001). Smith (1972) (*apud* MCNEASE e JOANEN, 1974), verificou que exemplares de *Alligator mississippiensis* oriundos do Texas apresentaram preferência por temperaturas entre 32 e 35 °C, mas indicou que a temperatura ótima para exemplares jovens oriundos da Louisiana foi de 28.8 a 30 °C. Adicionalmente, Wilbur (1960) observou que a temperatura de 34 °C é desfavorável para *A. mississippiensis* pois causa uma grande flutuação na frequência cardíaca e que a temperatura de 40°C gera danos irreversíveis ao coração dessa espécie.

A taxa metabólica (consumo de oxigênio) de *A. mississippiensis* é aumentada em 30% quando a temperatura do corpo é elevada de 28 para 29 °C, indicando que diferenças tão pequenas quanto 1 °C podem ter uma grande importância no metabolismo desses animais (COULSON e COULSON, 1986). Os valores da taxa metabólica padrão (SMR) encontrados para diferentes espécies de crocodilos são bastante variáveis, mas a SMR registrada para *C. latirostris* a 30 °C ficou dentro da faixa de valores publicados para diferentes espécies de jacarés (STARK *et al.*, 2007). Hagensen *et al.* (2010) registraram valores de  $26,5 \pm 2,1$  bpm a 30 °C e  $14,3 \pm 1,3$  bpm a 15 °C para *C. latirostris*.

#### 1.4. Alimentação e Metabolismo de Répteis.

Os crocodilianos são predadores oportunistas, podendo se alimentar de qualquer animal vivo que capturar, incluindo os da mesma espécie (SANTOS *et al.*, 1993). Na natureza, os filhotes de crocodilianos alimentam-se de crustáceos, gastrópodes e principalmente insetos, enquanto os adultos consomem mamíferos, artrópodes, peixes, aves e répteis (MICUCCI e WALLER 1995; DIEFENBACH, 1988).

Após capturar um animal, o crocodiliano comumente, arrasta o animal para dentro da água e o afoga. Quando a presa está morta, corta grandes pedaços do animal e engole-os inteiro. Às vezes, pressiona um animal morto em um emaranhado de raízes ou galhos submersos para prendê-lo enquanto arranca pedaços. Outra alternativa para arrancar grandes pedaços é o uso da inércia: os crocodilianos mordem a presa e giram rapidamente ao longo de seu próprio eixo longitudinal, rompendo a porção que está sendo segura. Alguns crocodilianos deixam presas grandes decompondo-se durante alguns dias até que possam ser desmembradas mais facilmente (POUGH *et al.*, 2008).

Muitos sauropsídeos ectotérmicos mostram respostas rápidas e totalmente reversíveis após a alimentação. Pouco tempo após a alimentação, a taxa metabólica, as enzimas digestivas e diferentes órgãos como o fígado, rim, pâncreas, intestinos, pulmões e estômago, são aumentadas. Padrões pós-prandiais foram estudados principalmente em serpentes e anuros (SECOR *et al.*, 1994; SECOR e DIAMOND, 1995, 1997a, b; SECOR *et al.*, 1998; JACKSON e PERRY, 2000; SECOR, 2001; STARCK e BEESE, 2001 e 2002; OVERGAARD *et al.*, 2002; CRAMP *et al.*, 2005; CRAMP e FRANKLIN, 2005; LIGNOT *et al.*, 2005; STARCK, 2005; STARCK e WIMMER, 2005; STARCK *et al.*, 2007; SECOR, 2008).

Diferentes sauropsídeos ectotérmicos podem tolerar vários meses de jejum (WANG *et al.*, 2006 ; MCCUE, 2007). A disponibilidade sazonal de alimentos determina os períodos de alimentação e jejum em diferentes répteis. Portanto, os mecanismos fisiológicos são cruciais para assegurar a sobrevivência em tais condições. De acordo com Scott *et al.* (1990), *C. latirostris* habitam pântanos rasos e lagoas efêmeras tropicais e subtropicais da América do Sul . Normalmente, estão sujeitos a períodos de jejum anuais (GORZULA, 1978). Diefenbach (1988) observou

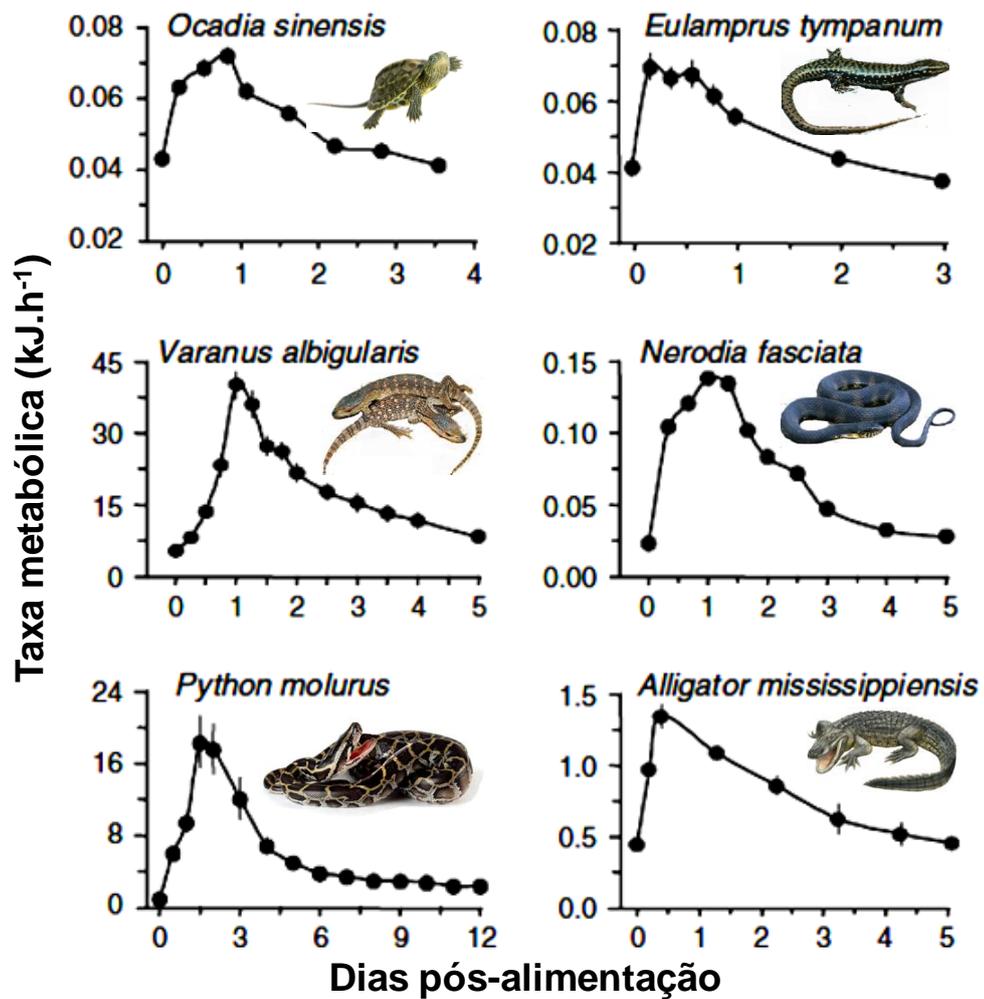
que o *Caiman latirostris* vive em corpos de água cujas temperaturas mais baixas podem alcançar 9 °C por vários dias durante o inverno. Foi sugerido que adultos desta espécie não comem durante 5 a 6 meses durante o período de frio. *C. latirostris* evitam comer durante os períodos mais frios do dia, das 4 até às 10h da manhã, podendo ocorrer inclusive a regurgitação do alimento (VERDADE *et al.*, 1992).

Segundo Pinheiro *et al.*(2001), o apetite em crocodilianos é dependente da temperatura e, conseqüentemente, a sua taxa de crescimento. Após a alimentação, os jacarés selecionam temperaturas mais elevadas e durante o jejum, eles escolhem temperaturas mais baixas para diminuir o metabolismo e poupar energia. De acordo com Coulson e Hernandez (1983), o consumo de alimento é maior na temperatura de 32 °C e diminui consideravelmente de 25 para 20 °C.

Os aumentos no consumo de energia são acompanhados por incrementos tanto na ventilação quanto no débito cardíaco para a manutenção da hematose em níveis adequados. Essas respostas são geralmente maximizadas durante períodos de atividade locomotora extenuante e outras atividades que envolvem a contração vigorosa dos músculos esqueléticos (BRETT, 1972; SEEHERMAN *et al.*, 1981; TAIGEN e WELLS, 1985; WALTON *et al.*, 1990; SUAREZ, 1992). Em casos de esforço físico extremo, o débito cardíaco é em grande parte dedicado aos músculos esqueléticos, a fim de sustentar o metabolismo aeróbio.

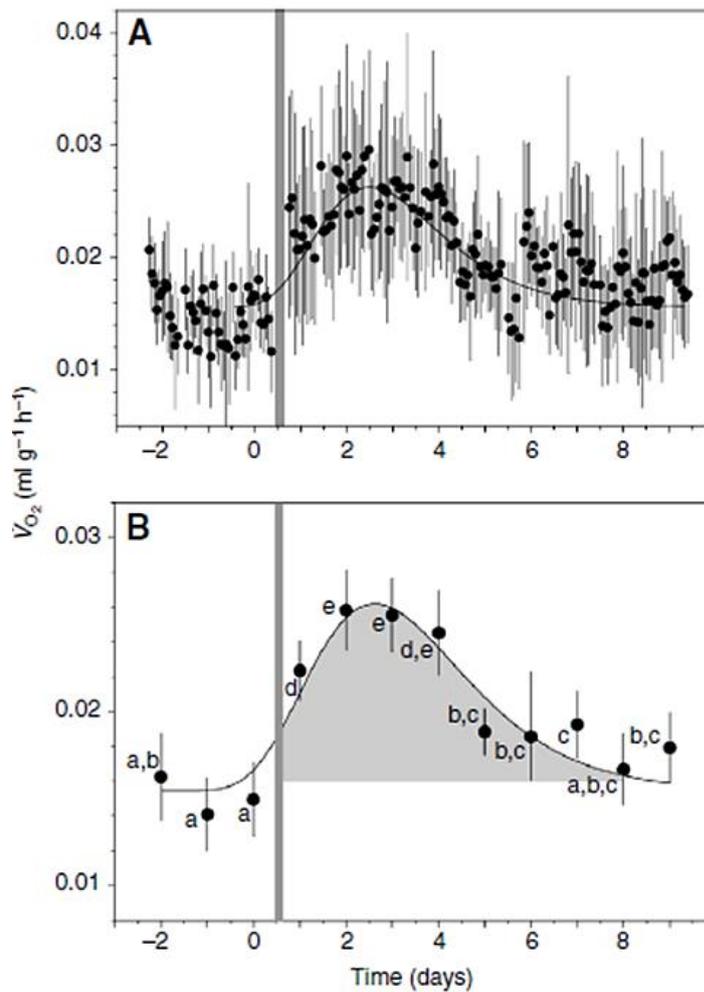
Em contraste, tem sido demonstrado que a píton birmanesa (*Python molurus*) não atinge taxas máximas de consumo de oxigênio durante o exercício extenuante, mas sim durante a digestão (SECOR e DIAMOND, 1995, 1997a, 1997b). O aumento da taxa metabólica gerada a partir dos processos mecânicos e fisiológicos da digestão é denominado "ação dinâmica específica" ("specific dynamic action" - SDA) e representa o custo energético do processamento, da digestão e da absorção dos alimentos (BRODY, 1945; KLIEBER, 1975).

Em diversas espécies de répteis já estudadas, a alimentação gera um rápido aumento das taxas de hematose, cujo pico ocorre geralmente um dia ou dois após a alimentação, antes de sofrer um declínio mais lento e retornar aos valores pré-alimentação, como mostra a figura 6.



**Figura 6.** Perfis metabólicos pós-prandiais de seis espécies de répteis. Para os répteis, a alimentação desencadeia aumentos de três a 15 vezes na taxa metabólica em 1 ou 2 dias. (Adaptada de SECOR, 2009).

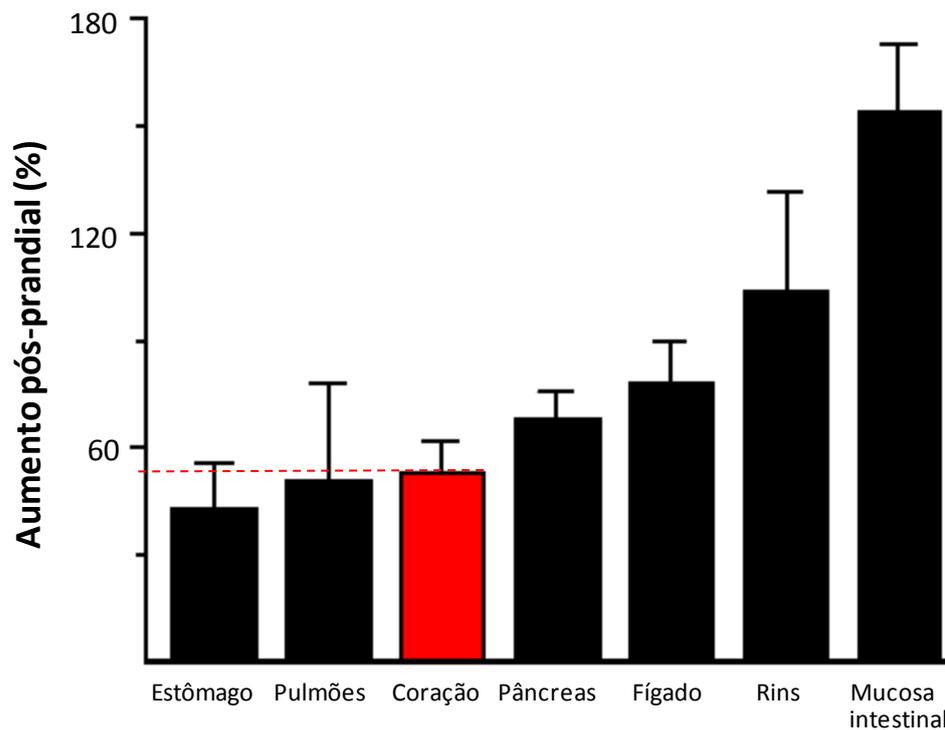
Starck *et al.* (2007) verificaram um aumento de 1,6 vezes no consumo de oxigênio em *C. latirostris* 48h após a alimentação (Figura 7), bem como as mesmas mudanças, rápidas e reversíveis, no tamanho dos órgão e das características histológicas descritas anteriormente para outros sauropsídeos.



**Figura 7.** Consumo de oxigênio de *Caiman latirostris* (N = 8) para 2-dias antes da alimentação e 9-dias após a alimentação. A alimentação ocorreu conforme indicado pela barra cinza. A área cinzenta sombreada sob a curva representa a SDA (STARCK *et al.* (2007).

Nas pítons birmanesas, a SDA pode estimular um aumento no consumo de oxigênio de até de 44 vezes, um aumento superior ao incremento de 7 a 10 vezes que experimentam durante contrações locomotoras vigorosas (SECOR e DIAMOND, 1995) ou durante as rápidas contrações de sua musculatura axial para gerar calor durante a incubação dos ovos (VINEGAR *et al.*, 1970).

Pítons birmanesas são considerados um excelente modelo de “upregulation” fisiológica extrema. Durante a digestão, o aumento no consumo de  $O_2$  é acompanhado pela remodelação rápida de muitos sistemas fisiológicos (SECOR e DIAMOND, 1998), como mostrado na figura 8.



**Figura 8.** Aumento percentual (em% de massa em jejum) na massa úmida de órgãos de *P. molurus* em 1 ou 3 dias após refeições consistindo de roedores com peso equivalente a 25 ou 65% da massa corporal da serpente. Todos os órgãos aumentaram a massa em pelo menos 50%. (Adaptada de SECOR e DIAMOND, 1997a)

Andersen *et al.* (2005) verificaram um aumento de sete vezes no consumo de  $O_2$  e um crescimento de 40% na massa muscular ventricular de *P. molurus* dois dias após alimentação (ratos com 25% da massa corpórea das serpentes) e que esta hipertrofia é naturalmente revertida ao final do período de digestão. Estes autores encontraram um aumento significativo na expressão de RNA mensageiro para a miosina de cadeia-pesada cardíaca durante a digestão nesta espécie e concluíram que a hipertrofia cardíaca resulta da síntese de novas proteínas, sendo considerado um importante recurso para melhorar o transporte de oxigênio, uma vez que o volume sistólico é 50% maior em animais no período pós-prandial (mesmo quando comparados a animais em atividade máxima).

Os répteis foram o primeiro grupo de vertebrados a obter, ao longo da história evolutiva, a independência completa da água durante o seu ciclo vital e uma ampla conquista do ambiente terrestre, permanecendo como registros vivos da luta pela sobrevivência, já que se apresentam como único grupo dentre os vertebrados ectotérmicos nestas condições (HICKMAN *et al.*, 2001). Apesar de todo o

conhecimento acerca do acoplamento E-C de mamíferos, restam ainda grandes lacunas no conhecimento da fisiologia dos miócitos cardíacos dos demais vertebrados. Desta forma, o conhecimento da fisiologia de grupos ainda pouco explorados e com ampla biodiversidade, como os répteis, oferece uma importante oportunidade de estudo.

Além de explorar um grupo de vertebrados de grande interesse estratégico tanto para o desenvolvimento de modelos de gestão ambiental quanto para a manutenção da biodiversidade e dos próprios biomas, a importância da utilização de modelos animais para o estudo de fenômenos biológicos havia sido reconhecida já em 1865 por Claude Bernard (*apud* TOTA, 1983), quando afirmou que:

Existem experimentos nos quais é conveniente escolher certos animais que ofereçam uma organização anatômica ou uma susceptibilidade especial a determinadas influências. Isto é tão importante que a solução de um problema patológico ou fisiológico depende exclusivamente da escolha do animal apropriado ao experimento, tornando o resultado claro e elucidativo.

Os estudos acerca da termorregulação em répteis estão focados em aspectos comportamentais e ecológicas e o padrão pós-prandial cardíaco não é bem compreendido em uma grande variedade de répteis. O conhecimento sobre os mecanismos de acoplamento E-C fornece as bases para a compreensão das estratégias utilizadas para manter o débito cardíaco adequado em diferentes espécies submetidas a diferentes condições (BERS, 1991). Uma vez que a plasticidade inotrópica dos répteis não é completamente compreendida, o presente trabalho teve como objetivo analisar a contratilidade do tecido ventricular do *Caiman latirostris* em diferentes temperaturas e estados metabólicos.

## 2. Objetivos

Visto que pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos no acoplamento excitação-contração de répteis, particularmente dos presentes na fauna brasileira, o presente projeto pretendeu examinar a função cardíaca *in vitro* do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) nas temperaturas de 25 °C e 30 °C nos períodos pós-absortivo (30 dias após a alimentação) e durante a digestão (SDA - 48h após a alimentação).

Para tanto, as respostas inotrópicas e cronotrópicas de tiras ventriculares estimuladas eletricamente foram avaliadas por meio dos seguintes protocolos experimentais:

- Efeito da Alimentação na Massa ventricular relativa (MVR)
- Efeito de diferentes temperaturas e da SDA, bem como seus efeitos combinados, no desenvolvimento da força de contração ( $F_c$ ) e das taxas tempo-dependentes: taxas de contração-  $dF_c/dt$  (TC) e taxas de 50% de relaxamento-  $dF_c/dt$  (TR).
- Efeito da pausa na estimulação elétrica, que pode informar sobre a capacidade de armazenamento do  $Ca^{2+}$  intracelular, bem como inferir a representatividade dos mecanismos sarcolemais, envolvidos no relaxamento.
- Efeito do incremento na frequência de estimulação no desenvolvimento da  $F_c$  e das taxas de contração e relaxamento, que permite identificar a capacidade do miocárdio do animal em manter o acoplamento E-C durante os incrementos da frequência cardíaca.
- Determinação da Capacidade de Bombeamento Cardíaco (CBC), um parâmetro que representa, indiretamente, o volume sistólico (volume de sangue ejetado pelo ventrículo a cada batimento do coração) e da “power output” (frequência ótima para a capacidade de bombeamento).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material

Espécimes juvenis do jacaré-de-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, (Figura 9) foram cedidos pelo Laboratório Jacarezário do Departamento de Zoologia da UNESP, *campus* Rio Claro, SP.



**Figura 9.** Exemplares de jacaré-de-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, utilizados no presente trabalho.

#### 3.1.1 Considerações sobre a fauna brasileira de répteis.

Segundo a Sociedade Brasileira de Herpetologia, a composição da lista brasileira de espécies de répteis foi formada e organizada por Renato S. Bérnils, com a colaboração de vários pesquisadores, não apenas brasileiros, e não somente herpetólogos. Até maio de 2010, foram reconhecidas 721 espécies de répteis naturalmente ocorrentes e se reproduzindo no Brasil: 6 jacarés; 36 quelônios; 64 anfisbênias; 241 lagartos e 371 serpentes

Ainda não há um prognóstico minucioso da posição mundial do Brasil em termos de riqueza herpeto-faunística. Essa estimativa está sendo realizada pela Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH), mas a falta de listas completas e atuais para a maioria dos países de rica biodiversidade e grande área territorial são empecilhos às comparações adequadas. Diante dos números atuais, o Brasil deve ocupar a segunda colocação na relação de países com maior riqueza de espécies

de répteis, atrás da Austrália com 864 espécies, e suplanta o México, a Índia, Indonésia, Colômbia, China e Peru (SBH).

### 3.1.2 O jacaré de-papo-amarelo

O jacaré-de-papo-amarelo ocupa a seguinte posição sistemática:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Reptilia

Ordem: Crocodylia

Família: Alligatoridae

Gênero: Caiman

Espécie: *Caiman latirostris* (DAUDIN, 1802)

Os vertebrados terrestres apareceram no Devoniano Superior e diversificaram-se durante o Carbonífero. Os primeiros amniotas apareceram na metade do Carbonífero, e pelo Carbonífero Superior, os amniotas tinham se dividido em duas grandes linhagens - uma levando aos mamíferos (Synapsida) e a outra aos modernos répteis e aves (Sauropsida). O Carbonífero foi dominado por uma diversidade de tetrápodes primitivos semi-aquáticos, mas no Permiano os amniotas mais adaptados ao ambiente terrestre eram comuns e muitas comunidades fósseis de vertebrados parecem ter sido características de habitats de terras altas (POUGH *et al.*, 2008)

Segundo Molina *et al* (2003), os jacarés, juntamente com os crocodilos e aligátors, surgiram na face da Terra há pelo menos 200 milhões de anos. Contemporâneos dos grandes dinossauros, também atingiram tamanhos gigantescos. O *Purussaurus brasiliensis*, um jacaré que viveu a 20 milhões de anos atrás, na região onde hoje fica a Bacia Amazônica, atingia cerca de 14 metros de comprimento, rivalizando em tamanho com o famoso *Tyrannosaurus rex*.

Segundo Pough *et al.* (2008), os crocodilianos são da mesma linhagem evolutiva (Archosauria) que originou os dinossauros e as aves. As 23 espécies de crocodilianos, como são coletivamente conhecidos, são predadores semiaquáticos com longos rostros armados de dentes numerosos. Apresentam comprimentos variáveis, podendo atingir 7 metros, como o crocodilo de água salgada (*Crocodylus*

*porosus*), ou não passar de 1 metro, como os crocodilos anões (*Osteolaemus tetraspis*) e os caimans. Sua pele contém muitos ossos (osteodermos) localizados sob as escamas, proporcionando uma espécie de armadura. Os crocodilianos destacam-se pelo cuidado parental que dedicam aos seus ovos e filhotes.

Os jacarés mostram-se muito bem adaptados às condições de vida do planeta, sobrevivendo, inclusive, aos fatores que determinaram a extinção dos dinossauros. Apenas o homem, através da caça excessiva, poluição das águas e desmatamento, conseguiu colocar em risco a sobrevivência desses animais. Esse é o caso do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) que habita brejos, lagos, pântanos e rios desde o litoral do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul e bacias dos rios São Francisco, Paraná, Paraguai e Paraíba (VERDADE, 2010).

O *Caiman latirostris* (jacaré-de-papo-amarelo), é um crocodiliano sul americano de porte médio. O comprimento total máximo alcançado é de 3,5 m, mas na natureza são raros os animais maiores que 2,0 m. Como o próprio nome comum implica, tem proporcionalmente o maior focinho entre os crocodilianos. Ele tem uma dieta generalizada, com os itens alimentares mais importantes sendo caracóis, camarão, peixes e aves. O corpo é de cor verde escura, com manchas mais escuras na cabeça e pescoço (VERDADE, 1998, 2010).

O *Caiman latirostris* habita, comumente, as várzeas associadas a rios. Sua distribuição geográfica é restrita à América do Sul e inclui: norte da Argentina, Brasil (Estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, e Rio Grande do Norte, inclui as bacias hidrográficas dos Rios Paraná e São Francisco), nordeste do Uruguai, sudeste da Bolívia e sul do Paraguai (Chaco) (Figura 10).

O jacaré-de-papo-amarelo é um dos animais cuja permanência na natureza tem sido ameaçada em virtude da poluição de seu habitat e da caça predatória e seu nome esteve por muito tempo na lista oficial do IBAMA como um dos animais ameaçados de extinção (VANZOLINI, 1972; BERNARDES *et al.*, 1990; VERDADE, 1998). Com a proibição da caça, a espécie se recuperou e atualmente o táxon não se enquadra na categoria ameaçada de extinção biológica pelo IBAMA.

A criação em cativeiro, desde as etapas de reprodução “farming”, sistema onde ocorre o ciclo completo de vida do animal, incluindo a reprodução em cativeiro (ASHLEY, 1996), tem sido preconizado como o melhor sistema para a

conservação e manejo do jacaré-de-papo-amarelo no Brasil. A falta de sítios consideráveis de nidificação e a falta de populações grandes o suficiente para suportar a pressão de coleta de ovos e filhotes na natureza faz com que o sistema “ranching” (programas de repovoamento, baseados na coleta de ovos em ambiente natural e posterior soltura dos filhotes) seja inviável, sobretudo no estado de São Paulo, onde há uma considerável fragmentação dos habitats originais da espécie.



**Figura 10.** Distribuição do *Cayman latirostris*. (VERDADE et al., 2010).

### 3.2. MÉTODOS

No laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica comparativa da UFSCar, os jacarés ( $n = 8$ , massa corporal de  $1,90 \pm 0,25$  Kg) foram mantidos em aqua-terrários de  $1 \text{ m}^2$  (2 animais por aqua-terrário), um misto de aquário e terrário com uma parte seca e outra alagada, permitindo que os jacarés optassem por estar fora ou dentro da água. Os aqua-terrários eram dotados com pedras de aquecimento e mantidos em sala climatizada a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  e fotoperíodo natural (12 luz:12 escuro).

Os animais foram alimentados *ad libitum* a cada 7 dias, com pescoços de frango e fígado de boi.

Para a realização de experimentos de avaliação da contratilidade miocárdica, os jacarés foram divididos em dois grupos experimentais: pós-absortivo (n = 4) e digestão (n = 4).

Para os experimentos no grupo digestão, os jacarés foram alimentados (~ 15 % da massa corporal dos indivíduos) dois dias (48h) antes das medições da contratilidade. Os jacarés do grupo pós-absortivo tiveram a alimentação interrompida por 30 dias antes do início dos experimentos.

Todos os experimentos foram realizados em conformidade com as diretrizes para experimentos com animais do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e devidamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (Parecer nº 081/2010).

### **3.2.1. Preparações Ventriculares**

As preparações experimentais foram efetuadas de acordo com os procedimentos adotados por Kalinin e Gesser (2002) e Thomaz *et al.* (2009), descritos a seguir.

Cada animal foi pesado e decapitado com guilhotina para permitir o acesso ao miocárdio. As cabeças foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para evitar qualquer sensação nociceptiva. O coração foi removido cirurgicamente e imediatamente transferido para uma placa de Petri contendo solução fisiológica gelada e oxigenada, preparada no momento do experimento, com a seguinte composição (mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 1.0 MgSO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 1.0 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.0 CaCl<sub>2</sub> e 5.0 glicose. Após a dissecação do coração, o ventrículo foi pesado para avaliar a massa ventricular relativa (MVR), que foi expressa como uma porcentagem da massa corporal. Os produtos químicos e reagentes foram adquiridos da Sigma -Aldrich Chemical Co. ou da Merck.

Em todos os protocolos experimentais foram utilizadas tiras ventriculares obtidas do coração de um único animal.

Tiras ventriculares com diâmetro máximo de 1 a 2 mm foram excisadas do ventrículo. As extremidades de cada tira foram cuidadosamente presas a duas pequenas espirais metálicas e transferidas para uma cubeta contendo 30 mL da solução fisiológica descrita acima, termostaticada a 25 ou 30 °C e dotada de borbulhamento constante de mistura carbogênica (2 % de CO<sub>2</sub> e 98 % de O<sub>2</sub>). Uma

extremidade da tira foi fixada, por meio de uma das espirais metálicas, a um gancho construído na parte terminal de um eletrodo de estimulação de platina. A espiral metálica da outra extremidade foi presa a um fio de aço conectado a um gancho metálico que, por sua vez, foi acoplado a um transdutor de força isométrica (LETICA Scientific Instruments, Espanha). A figura 11 mostra o esquema detalhado da preparação.

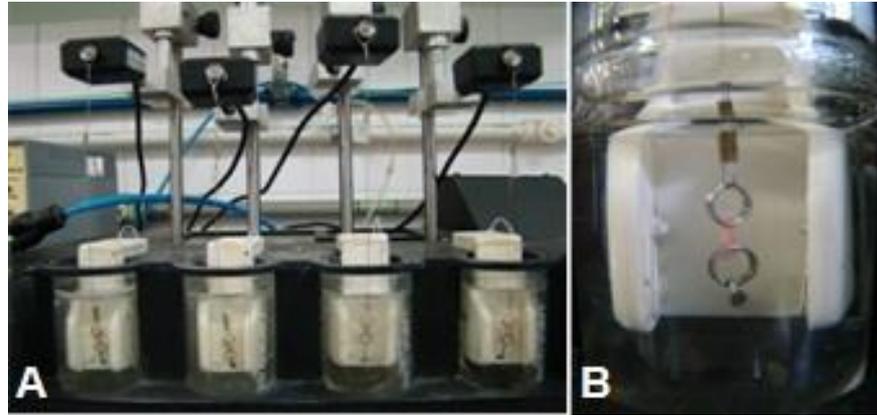
Os eletrodos de estimulação de platina foram acoplados a estimuladores AVS-100D (Solução Integrada Ltda., São Paulo, SP), os quais geram pulsos elétricos com 8 ms de duração e uma voltagem 50 % superior àquela necessária para que se atinja o limiar da resposta mecânica (~90 V), permitindo assim a estimulação elétrica das tiras para o desenvolvimento da tensão isométrica a diferentes taxas de estimulação. Os transdutores de força isométrica foram acoplados a um amplificador AECAD 0408 (Solução Integrada Ltda., São Paulo, SP) conectado a um computador para que os registros das tensões isométricas pudessem ser efetuados pelo software AQCAD - Soft & Solutions (Solução Integrada Ltda., São Paulo, SP) (Figuras 11 e 12).

As tiras ventriculares foram estimuladas a uma frequência constante de 0,4 Hz (24 bpm) e estiradas, utilizando-se micromanipuladores, para aumentar a distância entre o transdutor de força isométrica e o gancho de fixação do eletrodo de platina. O estiramento foi realizado até que uma relação constante entre o comprimento da preparação e o pico de tensão pudesse ser obtida seguindo a lei de Frank-Starling, ou seja, a força de contração cardíaca está diretamente relacionada ao grau de estiramento da fibra miocárdica, dentro de limites fisiológicos (ALLEN e KENTISH, 1985). Dessa forma, a tensão máxima foi atingida a 0,4 Hz e seguiu-se um período de estabilização do tecido cardíaco de 20 a 30 minutos.

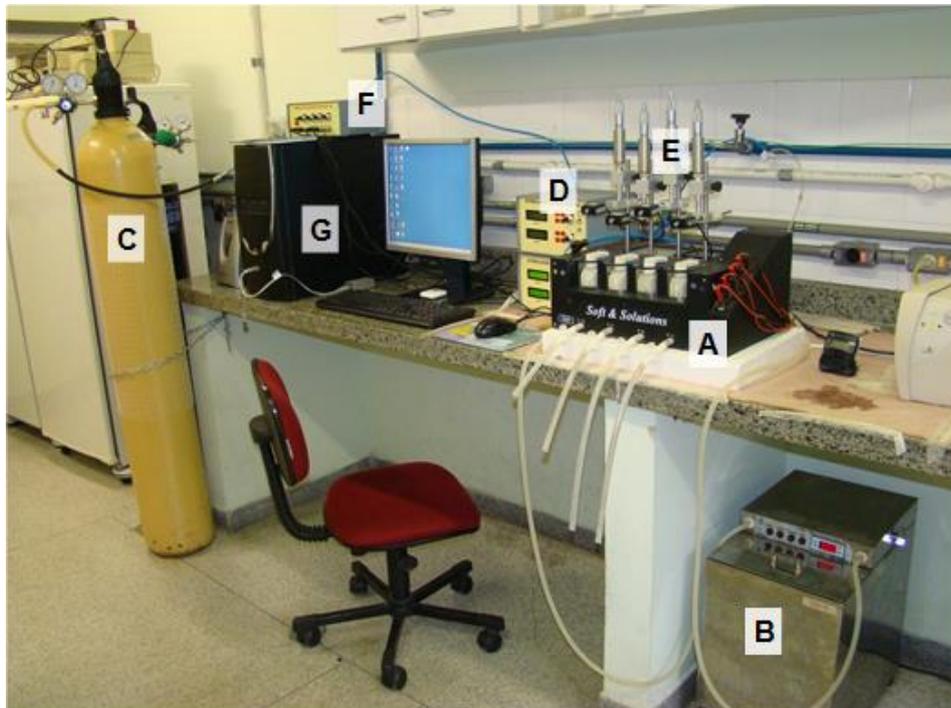
Após a estabilização, os diferentes protocolos experimentais, descritos a seguir, foram realizados e os valores da força de contração e as variáveis dependentes do tempo foram registradas e analisadas.

Alterações na tensão devido à deterioração das tiras ventriculares foram contabilizadas subtraindo os valores da  $F_c$  verificadas no controle dos valores verificados após os procedimentos experimentais (ver SHIELS *et al*, 1999; SHIELS e FARRELL, 2000; GALLI *et al*, 2006). As preparações que se deterioraram substancialmente (> 20%) foram rejeitadas.

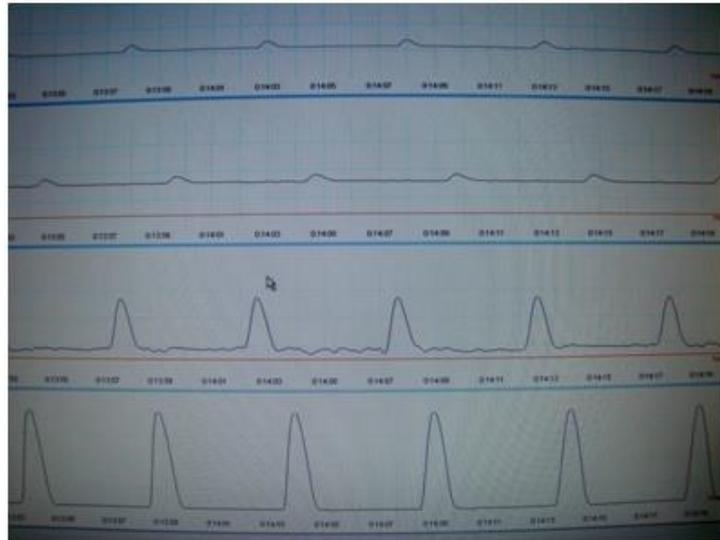
Um detalhe dos registros de força de contração isométrica obtidos pelo sistema de aquisição de dados é mostrado na figura 13.



**Figura 11.** A: Detalhe do banho com as quatro cubetas e os transdutores de força de contração isométrica; B: Detalhe de uma cubeta com a tira ventricular.



**Figura 12.** Set experimental utilizado para a obtenção dos registros da contração isométrica das tiras ventriculares: A: banho com quatro cubetas; B: banho termostatzado; C: cilindro de mistura carbogênica; D: estimuladores elétricos; E: transdutores de força isométrica, acoplados a microestiradores; F: amplificador de força; G: sistema informatizado com placa de aquisição e tratamento dos dados (MONTEIRO, 2011).



**Figura 13.** Detalhe dos registros de força de contração isométrica obtidos pelo sistema de aquisição de dados.

## 3.2.2 Protocolos Experimentais

### 3.2.2.1 Determinação do número de animais

O número de animais utilizados foi definido a partir do número mínimo para a realização dos testes estatísticos necessários (ANOVA e Teste de Mann-Whitney). Para tanto, 12 preparações ventriculares são suficientes para atender às análises estatísticas propostas.

Os protocolos experimentais foram agrupados racionalmente de maneira a otimizar os registros dos dados e a quantidade de animais utilizados no trabalho. Dessa forma, os protocolos foram distribuídos em dois grupos:

- Grupo 1 (pós-absortivo): massa ventricular relativa, efeito da temperatura, tensão pós-pausa, efeito do aumento da frequência de estimulação nas temperaturas de 25 e 30 °C.

- Grupo 2 (digestão): massa ventricular relativa, efeito da temperatura, tensão pós-pausa, efeito do aumento da frequência de estimulação nas temperaturas de 25 e 30 °C.

### 3.2.2.2 Efeito da Temperatura e da alimentação (SDA)

Com a finalidade de identificar a magnitude do efeito da temperatura nos parâmetros da contratilidade, as tiras ventriculares foram estabilizadas a 0,4 Hz (24 bpm) por 90 minutos na temperatura de 25 °C. Após estabilização, a força de contração (Fc) e as variáveis dependentes do tempo: taxas de contração -  $dFc/dt$  (TC) e as taxas de 50 % de relaxamento -  $dFc/dt$  (TR) foram registrados. A partir desses registros, as tiras foram submetidas à estabilização na temperatura de 30 °C por 1 hora e, então, os parâmetros da contratilidade foram novamente registrados. Tanto as tiras ventriculares oriundas do grupo pós-absortivo como as do grupo digestão foram submetidas aos mesmos protocolos com o objetivo de comparar o efeito combinado da temperatura com a SDA.

### 3.2.2.3 Tensão pós-pausa

Na segunda série experimental, o primeiro pico de tensão desenvolvido pelas tiras ventriculares após um período de pausa na estimulação elétrica (1 e 5 min) foi registrado tanto a 25 °C quanto a 30 °C, para ambos os grupos experimentais: pós-absortivo e digestão. Esta abordagem experimental fornece informações sobre a capacidade de armazenamento do  $Ca^{2+}$  intracelular, bem como sobre a representatividade dos mecanismos sarcolemais envolvidos no relaxamento, nas diferentes temperaturas e estados metabólicos. Esses experimentos foram realizados na presença e ausência de 10  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de rianodina (RYA) no banho fisiológico. A rianodina foi adicionada ao banho fisiológico por pelo menos 40 min antes da realização das pausas diastólicas.

Segundo Rousseau *et al.* (1987), a rianodina na concentração de 10  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  bloqueia a função do retículo sarcoplasmático, implicado na dinâmica intracelular do cálcio. Diversos estudos realizados com diferentes espécies demonstraram que esta concentração de rianodina reduz eficientemente a importância funcional do RE para o acoplamento excitação-contração (NAYLER *et al.*, 1970; DRIEDZIC e GESSER, 1988; TIBBITS *et al.*, 1991; HOVE-MADSEN, 1992; KEEN *et al.*, 1994; GESSER, 1996; VORNANEN, 1996; ANELLI *et al.*, 2004, COSTA *et al.*, 2004; GALLI *et al.*, 2006, RIVAROLI *et al.*, 2006, ROCHA *et al.*, 2007).

### 3.2.2.4 Aumento da frequência de estimulação

Para determinar a relação força-frequência (a capacidade do miocárdio do animal em manter o acoplamento E-C frente a incrementos da frequência cardíaca), as preparações ventriculares, após estabilização por 90 min, foram submetidas a aumentos de 0,2 Hz na frequência de estimulação elétrica até atingir a frequência nas quais pelo menos 80 % das tiras ventriculares ainda foram capazes de contraírem regularmente. Os dados foram registrados por 2 min em cada frequência. A fim de analisar a contribuição potencial do retículo sarcoplasmático durante os incrementos de frequência nas diferentes temperaturas e estado metabólico, a rianodina ( $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) foi adicionada ao banho fisiológico 40 min antes do início dessa série experimental. Esse protocolo foi realizado tanto a 25 quanto a 30 °C para ambos os grupos experimentais.

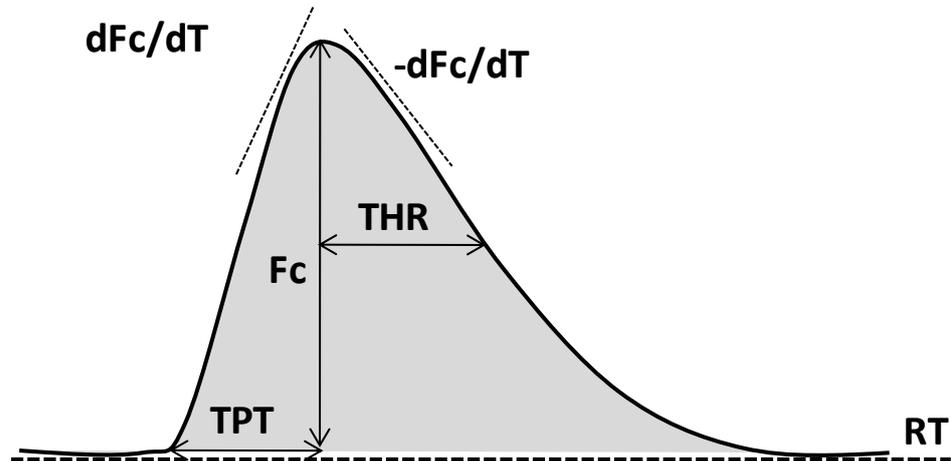
### 3.3 Formas de apresentação dos dados.

A padronização dos resultados obtidos para as diferentes preparações foi efetuada de acordo com Rivaroli (2011). Os valores de tensão isométrica máxima foram normalizados em função da área de secção transversal ( $\text{mm}^2$ ) de cada tira ventricular utilizada. A área de secção transversal foi calculada utilizando-se os valores de massa (g) e comprimento (mm) das tiras ventriculares, considerando-se para tal uma densidade muscular de  $1,06 \text{ g.cm}^{-3}$  (LAYLAND *et al.*, 1995). A força de contração isométrica ( $F_c - \text{mN.mm}^{-2}$ ) foi calculada dividindo-se os valores de tensão isométrica máxima pela respectiva área de secção transversal (RIVAROLI, 2011).

A força de contração ( $F_c$ ) encontra-se representada em valores absolutos ( $\text{mN.mm}^{-2}$ ). As taxas de contração ( $TC - dF_c/dt$ ) e 50 % do relaxamento ( $TR - dF_c/dt$ ) foram expressas em valores absolutos ( $\text{mN.mm}^{-2}.\text{ms}^{-1}$ ) (Figura 14). As derivadas da  $F_c$  e do relaxamento, foram analisadas para a avaliação da eficiência dos processos contráteis nas diferentes temperaturas experimentais e estados metabólicos dos animais.

A capacidade de bombeamento cardíaco ( $CBC - \text{mN.mm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ ), que é o produto da frequência de estimulação pelos valores de tensão muscular em cada frequência, foi calculada de acordo com Matikainen e Vornanen (1992) e Shiels e Farrell (1997). Além disso, o pico da curva de CPC em função da frequência sugere

uma frequência ótima para a capacidade de bombeamento ou “power output” (Shiels *et. al.*, 1999).



**Figura 14.** Representação esquemática dos parâmetros analisados nos registros de força de contração isométrica no presente trabalho.

### 3.3.1 Tratamento estatístico dos dados.

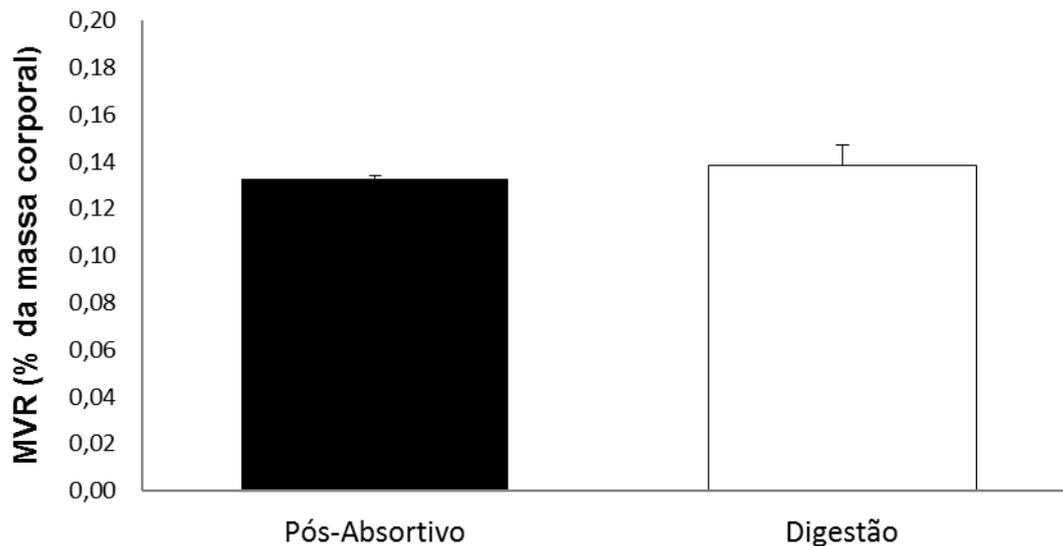
Os valores foram apresentados como média  $\pm$  E.P.M. Foram consideradas diferenças estatísticas ao nível de 5 % de significância. Os seguintes testes estatísticos foram adotados no presente estudo (GraphPad InStat v. 3.0, GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA):

- O teste-t ou de Mann-Whitney (dependendo dos critérios de normalidade, homogeneidade e homocedasticidade) foi realizado para verificar a ocorrência de possíveis diferenças significativas entre pontos correspondentes de diferentes grupos experimentais;
- A Análise de variância (ANOVA) one-way, complementada pelo teste de Tukey-Kramer de comparações múltiplas, foi realizada para a identificação das diferenças significativas entre os valores de um mesmo grupo experimental ao longo do tempo.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Massa ventricular relativa (MVR).

Os valores da MVR de ambos os grupos experimentais (digestão e pós-absortivo) estão representados na figura 15. Não houve diferenças significativas entre os valores registrados para o grupo pós-absortivo ( $\pm 0,13 \pm 0,001 \%$ ) e o grupo digestão ( $0,14 \pm 0,009 \%$ ).



**Figura 15.** Massa ventricular relativa (MVR) do *Caiman latirostris* dos grupos pós-absortivo (30 dias, n = 4) e digestão (2 dias, n = 4). O asterisco indica diferença significativa ( $p < 0.05$ ) entre os grupos. Valores médios + 1 EPM.

### 4.2 Efeitos da temperatura e da alimentação na força de contração e variáveis tempo-dependentes.

Os valores de Fc, TC e TR a 25 °C e 30 °C para o grupo pós-absortivo e digestão estão representados na tabela 1. A Fc foi significativamente maior, bem como as taxas de contração e relaxamento foram mais rápidas a 25 °C do que a 30 °C, para ambos os grupos experimentais.

No grupo pós-absortivo, os valores de Fc a 25 °C foram, em média, 62,5 % maiores do que os encontrados a 30 °C. A mesma tendência foi registrada para a TC (18,6 % menor a 30 °C) e para a TR (28,3 % menor a 30 °C).

Quando comparados aos valores obtidos a 25 °C, o grupo digestão apresentou valores de Fc, TC e TR 60,6 %, 45,9 % e 34,7 %, respectivamente, menores a 30 °C.

A alimentação causou aumento significativo na Fc (296,7 %), na TC (247,5 %) e na TR (313 %) nas tiras ventriculares submetidas à temperatura de 25 °C. As tiras ventriculares submetidas à temperatura de 30 °C apresentaram valores superiores de Fc (316,7 %), de TC (131,2 %) e de TR (275,7 %) em relação aos valores encontrados para o grupo pós-absortivo.

**Tabela 1.** Força de contração e taxas de contração e relaxamento registradas pelas tiras ventriculares do *C. latirostris* a 25 °C e a 30 °C. Os asteriscos denotam diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) em relação ao grupo pós-absortivo. As cruzes denotam diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) entre as diferentes temperaturas. Valores médios  $\pm$  1 EPM ( $n = 64$ )

<b>Pós-Absortivo</b>	25 °C	30 °C
Fc (mN.mm <sup>-2</sup> )	3,2 $\pm$ 0.2	1,2 $\pm$ 0.1†
TC (mN. mm <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	5,9 $\pm$ 0.2	4,8 $\pm$ 0.4†
TR (mN. mm <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	-4,6 $\pm$ 0.4	-3,3 $\pm$ 0.4†
<b>Digestão</b>		
Fc (mN.mm <sup>-2</sup> )	12,7 $\pm$ 1.0*	5,0 $\pm$ 1.2*†
TC (mN. mm <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	20,5 $\pm$ 1.6*	11,1 $\pm$ 2.4*†
TR (mN. mm <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	-19,0 $\pm$ 1.7*	-12,4 $\pm$ 2.5*†

### 4.3 Efeitos da Pós-Pausa

Os valores encontrados para a Fc após pausas de 1 e 5 minutos na estimulação elétrica a 25 °C e 30 °C para os grupos pós-absortivo e digestão, antes e após tratamento prévio com rianodina, estão representados na tabela 2, bem como nas figuras 16 e 17.

Pausas de 1 e 5 min na estimulação elétrica entre as contrações induziram uma significativa redução da Fc tanto no grupo pós-absortivo a 25 °C (1

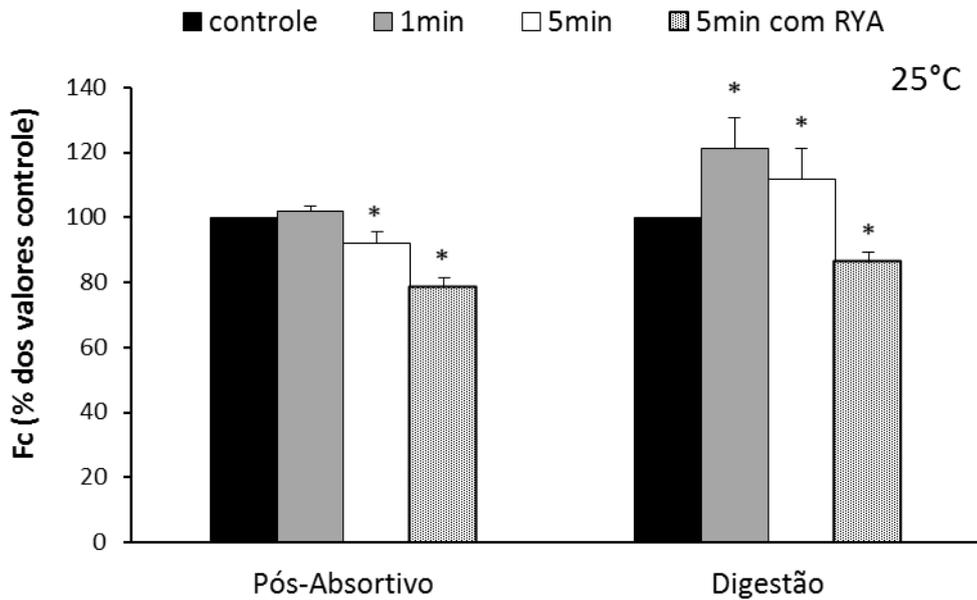
min:  $102,0 \pm 1,5$  % e 5 min:  $92,0 \pm 3,4$  %) quanto a  $30$  °C (5 min:  $79,0 \pm 6,3$  %) (Tabela 2). A redução da Fc foi mais pronunciada após 5 min de pausa, sendo que a  $30$  °C a magnitude da redução da Fc foi ainda maior do que a  $25$  °C (Figura 17).

No grupo digestão, a redução da Fc pós-pausa ocorreu somente na temperatura de  $30$  °C (1 min:  $97,0 \pm 2,3$  % e 5 min:  $83,0 \pm 5,5$  %).

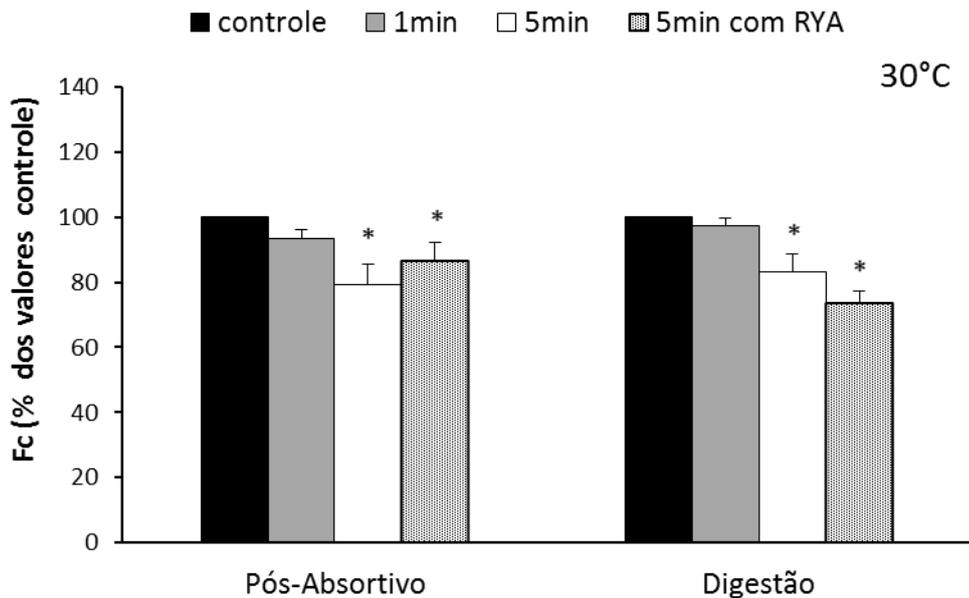
A magnitude relativa da redução da Fc pós-pausa não foi significativamente alterada pelo pré-tratamento com rianodina. No entanto, uma significativa potenciação pós-pausa foi identificada no grupo digestão, com pausas de 1 e 5 min, a  $25$  °C (1 min:  $121,0 \pm 6,4$  % e 5 min:  $112,0 \pm 6,5$  %), que foram inibidas pela rianodina ( $86,0 \pm 2,9$  %) (Figura 16).

**Tabela 2.** Efeito da pós-pausa de 1 e 5 minutos no desenvolvimento da Fc, representados em % dos valores obtidos antes da pausa na estimulação elétrica, nas tiras ventriculares do *C. latirostris* submetidas à temperatura de  $25$  °C em ambos os grupos: pós-absortivo (n = 18) e digestão (n = 18). Valores médios  $\pm$  1 EPM. Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao último pico de tensão, normalizado a  $0,4$  Hz, antes da pausa na estimulação elétrica.

<b>Pós-Absortivo</b>	<b>25 °C</b>	<b>30 °C</b>
Controle	100	100
Pausa 1min	$102 \pm 1,5$	$93 \pm 2,9$
Pausa 5min	$92 \pm 3,4^*$	$79 \pm 6,3^*$
Pausa 5 min com RYA	$78 \pm 2,5^*$	$87 \pm 5,6^*$
<b>Digestão</b>		
Controle	100	100
Pausa 1min	$121 \pm 9,4^*$	$97 \pm 2,3$
Pausa 5min	$112 \pm 9,5^*$	$83 \pm 5,5^*$
Pausa 5 min com RYA	$86 \pm 2,9^*$	$73 \pm 3,8^*$



**Figura 16.** Efeito de pausas de 1 e 5 minutos na estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força (% dos valores obtidos antes da pausa) das tiras ventriculares de *C. latirostris* dos grupos pós-absortivo e digestão submetidas à temperatura de 25 °C. Valores médios + 1 EPM (n = 20). Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0.05$ ) em relação ao último pico de tensão, normalizado a 0,4 Hz, antes da pausa na estimulação elétrica.



**Figura 17.** Efeito de pausas de 1 e 5 minutos na estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força (% dos valores obtidos antes da pausa) das tiras ventriculares de *C. latirostris* dos grupos pós-absortivo e digestão submetidas à temperatura de 30 °C. Valores médios + 1 EPM (n = 20). Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0.05$ ) em relação ao último pico de tensão, normalizado a 0,4 Hz, antes da pausa na estimulação elétrica.

#### **4.4 Efeitos da Força-Frequência em diferentes temperaturas e estados nutricionais.**

A relação força-frequência (F-F) a 25 e 30 °C para os grupos pós-absortivo e digestão, antes e após tratamento prévio com rianodina, estão representados nas tabelas 3 e 4, bem como na figura 18.

As tiras ventriculares tanto o grupo pós-absortivo quanto o grupo digestão exibiram uma relação F-F negativa (redução da Fc à medida do aumento da frequência) nas temperaturas de 25 °C e 30 °C. Na temperatura de 25 °C, as tiras ventriculares do grupo pós-absortivo foram capazes de manter os valores controle até 0,4 Hz e manter contrações regulares até 1,0 Hz. A presença da rianodina não provocou alterações da Fc nessas frequências, porém reduziu a capacidade dos miócitos em manter contrações regulares a partir de 0,8 Hz. A 30 °C, os valores de Fc foram menores que os registrados a 25 °C. No entanto, os miócitos foram capazes de manter os valores controle até 0,6 Hz e de manter contrações regulares em frequências mais elevadas (até 1,6 Hz), mesmo com a função do RS bloqueada pela adição de rianodina.

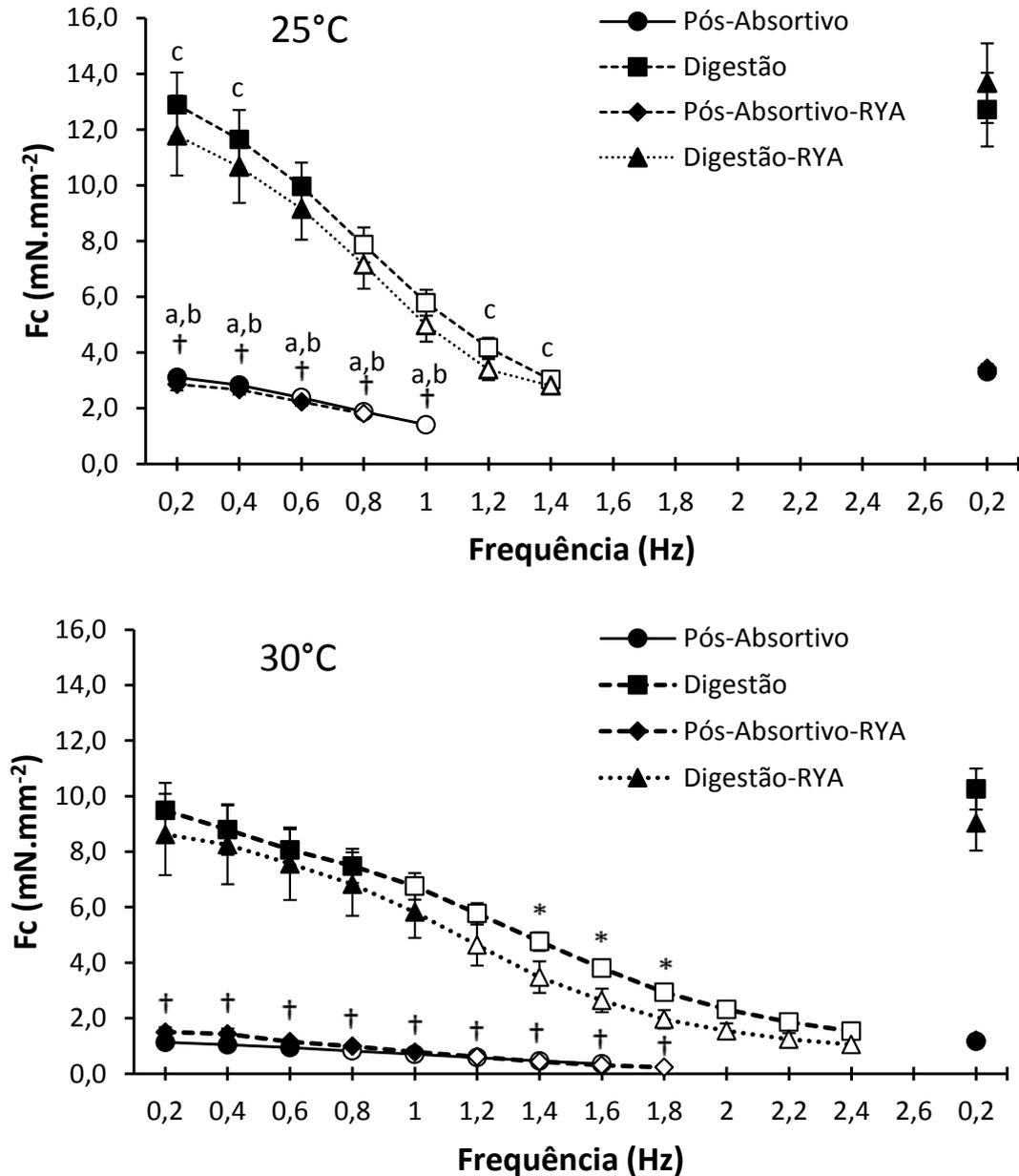
Os valores registrados para o grupo digestão foram superiores aos do grupo pós-absortivo em todas as condições experimentais. A 25 °C, as tiras ventriculares foram capazes de manter os valores iniciais até 0,6 Hz e contraíram-se regularmente até 1,4 Hz, mesmo com a função do RS bloqueado pela adição de rianodina. A 30 °C, os valores de Fc foram sempre menores que os de 25 °C, mas os miócitos foram capazes de suportar frequências mais elevadas nesta temperatura. As tiras ventriculares a 30 °C mantiveram os valores iniciais de Fc até 0,8 Hz e contraíram-se regularmente até 2,4 Hz, mesmo na presença da rianodina. Contudo, o bloqueio da função do RS reduziu a Fc entre as frequências 1,4 até 1,8 Hz.

**Tabela 3.** Relação Força-Frequência registrada pelas tiras ventriculares de *C. latirostris* nos grupos pós-absortivo à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm 1$  EPM (n = 30).

Frequências (Hz)	Pós-Absortivo			
	25 °C	25 °C-RYA	30 °C	30 °C-RYA
0,2	3,1 $\pm$ 0,2	2,9 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,2
0,4	2,8 $\pm$ 0,2	2,7 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,2
0,6	2,3 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1
0,8	1,8 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,0
1	1,4 $\pm$ 0,1	-	0,7 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1
1,2	-	-	0,6 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,0
1,4	-	-	0,5 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0
1,6	-	-	0,3 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0
1,8	-	-	-	0,2 $\pm$ 0,0
0,2	3,3 $\pm$ 0,1	3,4 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,2

**Tabela 4.** Relação Força-Frequência (F-F) registrada pelas tiras ventriculares de *C. latirostris* no grupo digestão à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm 1$  EPM (n = 30).

Frequências (Hz)	Digestão			
	25 °C	25 °C-RYA	30 °C	30 °C-RYA
0,2	12,9 $\pm$ 1,1	11,8 $\pm$ 1,4	9,5 $\pm$ 1,0	8,6 $\pm$ 1,5
0,4	11,6 $\pm$ 1,0	10,7 $\pm$ 1,3	8,8 $\pm$ 0,9	8,2 $\pm$ 1,4
0,6	10 $\pm$ 0,9	9,2 $\pm$ 1,1	8,1 $\pm$ 0,7	7,6 $\pm$ 1,3
0,8	7,9 $\pm$ 0,6	7,1 $\pm$ 0,9	7,5 $\pm$ 0,6	6,8 $\pm$ 1,1
1	5,8 $\pm$ 0,5	5,0 $\pm$ 0,6	6,8 $\pm$ 0,5	5,8 $\pm$ 0,9
1,2	4,2 $\pm$ 0,4	3,4 $\pm$ 0,4	5,8 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,7
1,4	3,0 $\pm$ 0,3	2,8 $\pm$ 0,3	4,8 $\pm$ 0,3	3,5 $\pm$ 0,6
1,6	-	-	3,8 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 0,4
1,8	-	-	2,9 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,3
2	-	-	2,3 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,3
2,2	-	-	1,9 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,2
2,4	-	-	1,5 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,2
0,2	12,7 $\pm$ 1,3	13,7 $\pm$ 1,4	10,3 $\pm$ 0,7	9,0 $\pm$ 1,0



**Figura 18.** Relação F-F registrada para as tiras ventriculares de *C. latirostris* dos grupos pós-absortivo e digestão a 25 e 30 °C, na ausência e presença de rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 60). Símbolos brancos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos valores iniciais registrados à 0,2 Hz. As cruzes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos pós-absortivo e digestão. Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores obtidos na ausência e presença de rianodina em uma mesma frequência de estimulação. (a) diferença significativa entre os valores obtidos para o grupo pós-absortivo em uma mesma frequência a 25 e 30 °C. (b) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência para os grupos pós-absortivo e pós-absortivo-RYA. (c) diferença significativa entre os valores obtidos para o grupo digestão numa mesma frequência nas temperaturas de 25 e 30 °C. (d) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência para os grupos digestão e digestão-RYA a 25 e 30 °C.

#### 4.4.1 Efeitos da Força-Frequência nas TC e TR em diferentes temperaturas e estados metabólicos.

A magnitude do efeito dos incrementos na estimulação elétrica nas taxas de contração e relaxamento a 25 °C e 30 °C nos grupos pós-absortivo e digestão, antes e após tratamento prévio com rianodina, estão representados nas tabelas 5 e 6, bem como nas figuras 19 e 20.

Na temperatura de 25 °C, as tiras ventriculares do grupo pós-absortivo produziram taxas de contração (25 %) e relaxamento (33 %) superiores às encontradas para as preparações ventriculares tratadas com a rianodina, em qualquer frequência de estimulação. A presença da rianodina não alterou significativamente as taxas de contração e relaxamento verificadas para o grupo digestão. Nessa temperatura, os valores das taxas de contração e relaxamento do grupo digestão foram superiores (TC-71,3 % e TR-75,6 %) aos valores verificados para o grupo pós-absortivo durante os incrementos de frequência.

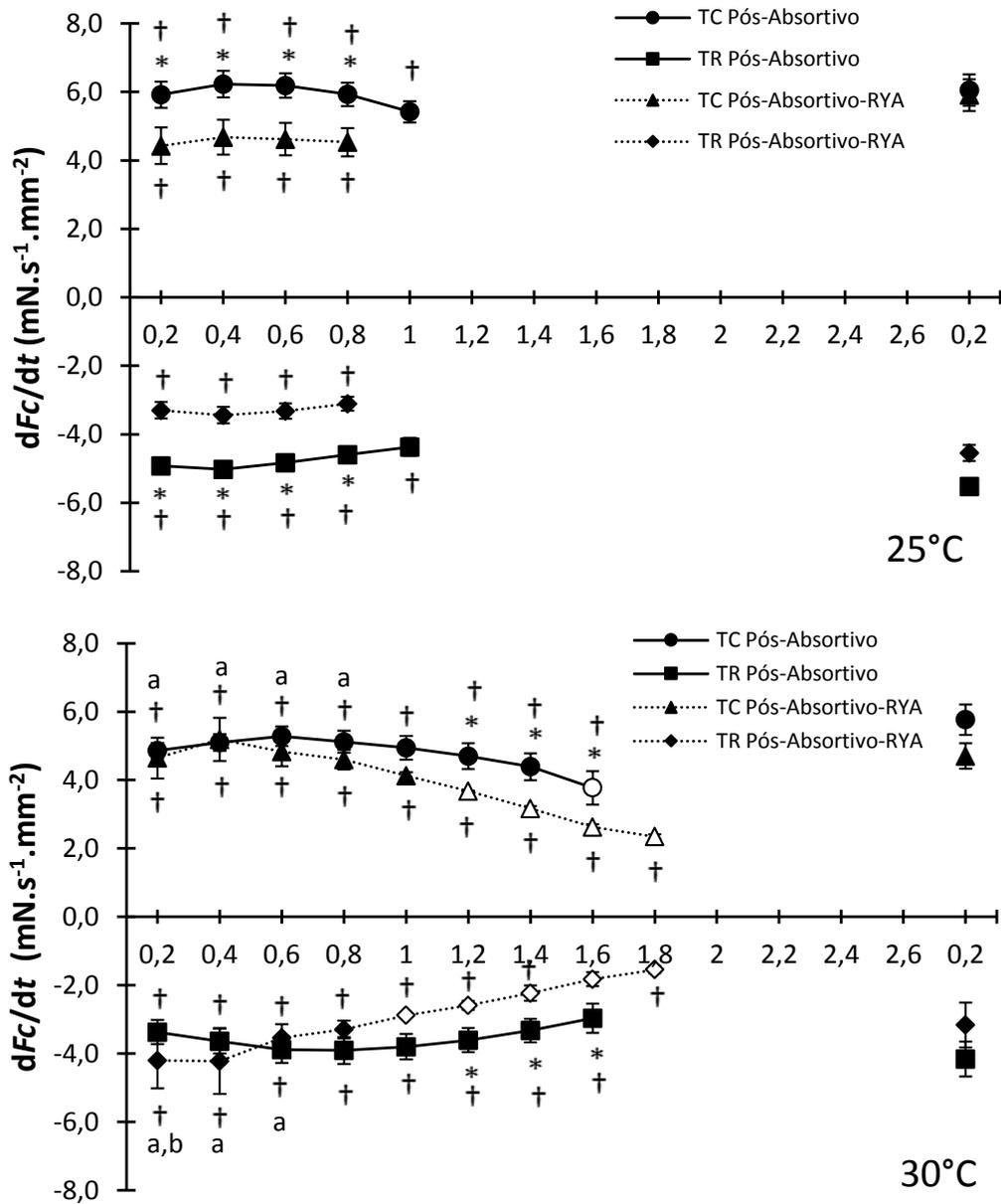
Na temperatura de 30 °C, as tiras ventriculares do grupo digestão produziram taxas de contração (3,2 vezes) e relaxamento (3,9 vezes) superiores às encontradas para o grupo pós-absortivo. Nessa temperatura, as tiras ventriculares de *C. latirostris* produziram taxas de contração e relaxamento que foram reduzidas na presença da rianodina em frequências superiores a 1,0 Hz no grupo pós-absortivo. Já no grupo digestão, a presença da rianodina não alterou os valores da TC em qualquer frequência de estimulação, mas reduziu a TR em frequências a partir de 1,4 Hz. Ainda assim, os valores de TR nessas condições foram 3,3 vezes superiores aos valores encontrados para o grupo pós-absortivo na mesma temperatura.

**Tabela 5.** Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (TC) e do relaxamento (TR) ( $dF/dt$  -  $mN.mm^{-2}.ms^{-1}$ ) das tiras ventriculares de *C. latirostris* nos grupo pós-absortivo à 25 e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 30).

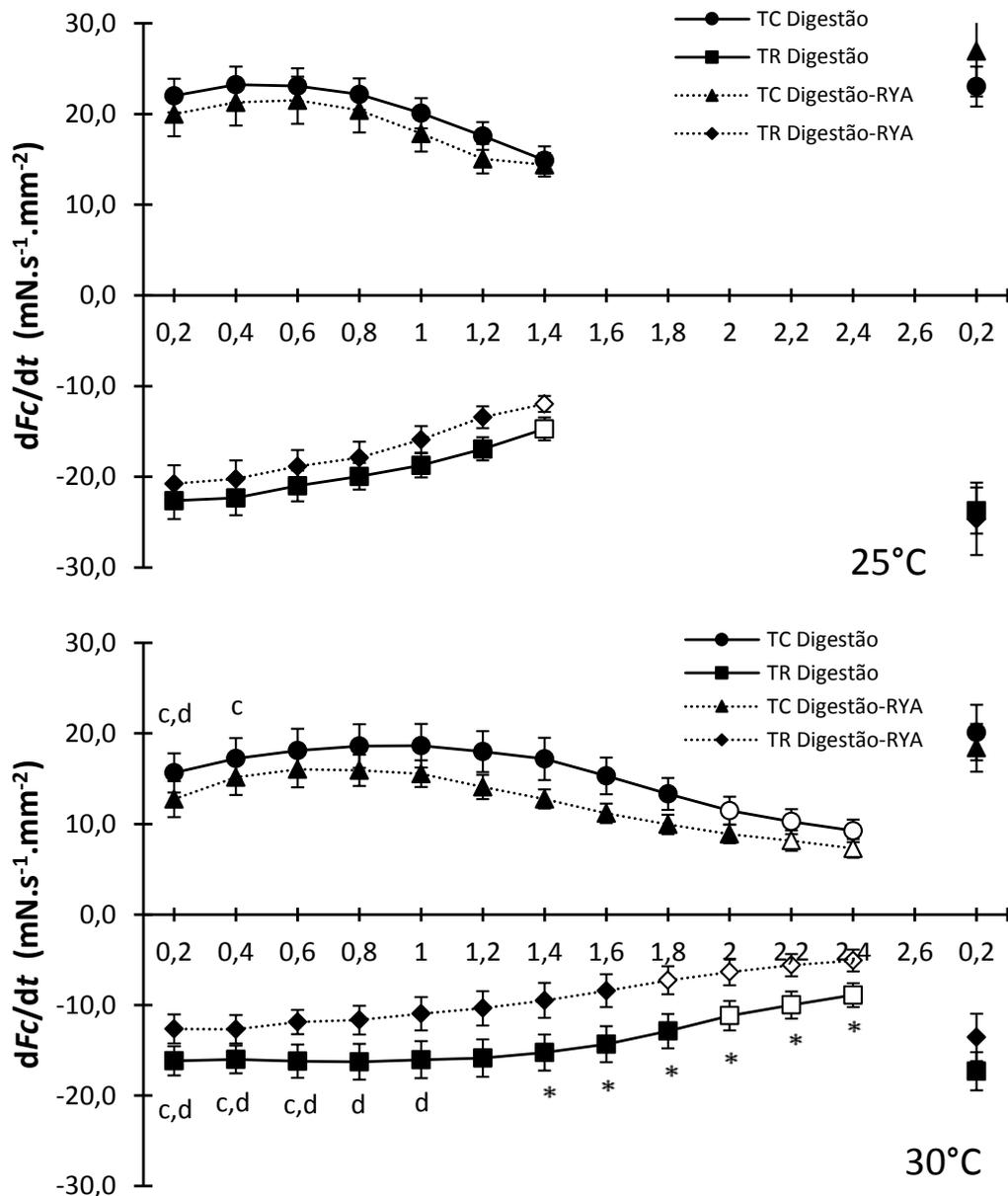
Frequências (Hz)	Pós-Absortivo							
	25 °C		25 °C-RYA		30 °C		30 °C-RYA	
	TC	TR	TC	TR	TC	TR	TC	TR
0,2	5,9 $\pm$ 0,4	4,9 $\pm$ 0,2	4,4 $\pm$ 0,5	3,3 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,6	4,2 $\pm$ 0,8
0,4	6,2 $\pm$ 0,4	5,0 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,2	3,6 $\pm$ 0,4	5,2 $\pm$ 0,6	4,2 $\pm$ 1,0
0,6	6,2 $\pm$ 0,4	4,8 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,5	3,3 $\pm$ 0,2	5,3 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,4	4,8 $\pm$ 0,4	3,5 $\pm$ 0,4
0,8	5,9 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,4	3,1 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,31	3,3 $\pm$ 0,3
1	5,4 $\pm$ 0,3	4,4 $\pm$ 0,3	-	-	4,9 $\pm$ 0,3	3,8 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,0
1,2	-	-	-	-	4,7 $\pm$ 0,4	3,6 $\pm$ 0,4	3,7 $\pm$ 0,0	2,6 $\pm$ 0,1
1,4	-	-	-	-	4,4 $\pm$ 0,4	3,3 $\pm$ 0,3	3,2 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,2
1,6	-	-	-	-	3,8 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,2
1,8	-	-	-	-	-	-	2,3 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,1
0,2	6,1 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,2	5,9 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 0,2	5,8 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,5	4,7 $\pm$ 0,4	3,2 $\pm$ 0,7

**Tabela 6.** Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (TC) e do relaxamento (TR) ( $dF/dt$ - $mN.mm^{-2}.ms^{-1}$ ) das tiras ventriculares de *C. latirostris* no grupo digestão à 25 e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 30).

Frequência (Hz)	Digestão							
	25 °C		25 °C-RYA		30 °C		30 °C-RYA	
	TC	TR	TC	TR	TC	TR	TC	TR
0,2	22 $\pm$ 1,9	22,6 $\pm$ 2,0	20 $\pm$ 2,4	20,7 $\pm$ 2,0	15,6 $\pm$ 2,2	16,2 $\pm$ 1,6	12,7 $\pm$ 2,0	12,6 $\pm$ 1,6
0,4	23,2 $\pm$ 2,0	22,3 $\pm$ 1,9	21,3 $\pm$ 2,6	20,2 $\pm$ 2,1	17,2 $\pm$ 2,3	16 $\pm$ 1,5	15,2 $\pm$ 1,9	12,7 $\pm$ 1,6
0,6	23,1 $\pm$ 2,0	21 $\pm$ 1,7	21,5 $\pm$ 2,6	18,8 $\pm$ 1,8	18,1 $\pm$ 2,4	16,2 $\pm$ 1,8	16 $\pm$ 2,0	11,9 $\pm$ 1,3
0,8	22,2 $\pm$ 1,7	19,9 $\pm$ 1,5	20,4 $\pm$ 2,4	17,9 $\pm$ 1,7	18,6 $\pm$ 2,4	16,3 $\pm$ 2,0	15,9 $\pm$ 1,7	11,7 $\pm$ 1,6
1,0	20,1 $\pm$ 1,7	18,7 $\pm$ 1,3	17,8 $\pm$ 2,0	15,9 $\pm$ 1,5	18,6 $\pm$ 2,4	16,1 $\pm$ 2,0	15,6 $\pm$ 1,5	11 $\pm$ 1,8
1,2	17,6 $\pm$ 1,5	16,9 $\pm$ 1,3	15,1 $\pm$ 1,6	13,4 $\pm$ 1,2	18 $\pm$ 2,3	15,9 $\pm$ 2,1	14,1 $\pm$ 1,3	10,4 $\pm$ 1,9
1,4	14,9 $\pm$ 1,5	14,7 $\pm$ 1,3	14,4 $\pm$ 1,3	12,0 $\pm$ 0,9	17,2 $\pm$ 2,3	15,3 $\pm$ 2,0	12,7 $\pm$ 1,1	9,5 $\pm$ 1,9
1,6	-	-	-	-	15,3 $\pm$ 2,0	14,3 $\pm$ 2,0	11,2 $\pm$ 1,1	8,4 $\pm$ 1,8
1,8	-	-	-	-	13,3 $\pm$ 1,8	12,9 $\pm$ 1,9	9,9 $\pm$ 1,1	7,3 $\pm$ 1,5
2	-	-	-	-	11,5 $\pm$ 1,5	11,2 $\pm$ 1,6	8,9 $\pm$ 1,0	6,4 $\pm$ 1,5
2,2	-	-	-	-	10,3 $\pm$ 1,4	10 $\pm$ 1,5	8,2 $\pm$ 1,1	5,6 $\pm$ 1,2
2,4	-	-	-	-	9,2 $\pm$ 1,3	8,9 $\pm$ 1,3	7,3 $\pm$ 1,0	5,1 $\pm$ 1,2
0,2	23 $\pm$ 2,2	23,7 $\pm$ 2,5	26,9 $\pm$ 5,0	24,6 $\pm$ 4,0	20,1 $\pm$ 3,1	17,3 $\pm$ 2,1	18,4 $\pm$ 2,6	13,6 $\pm$ 2,6



**Figura 19.** Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas ( $dF_c/dt$ - $mN.mm^{-2}.ms^{-1}$ ) da contração (TC) e do relaxamento (TR) das tiras ventriculares de *C. latirostris* do grupo pós-absortivo à 25 e à 30 °C , na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 30). Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores obtidos na ausência da rianodina e após o tratamento com rianodina. As cruces indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos pós-absortivo e digestão. (a) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre 25 e 30 °C no grupo pós-absortivo. (b) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre os grupos pós-absortivo e pós-absortivo-RYA a 25 e 30 °C. (c) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre as temperaturas de 25 e 30°C no grupo digestão. (d) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre os grupos digestão e digestão-RYA a 25 e 30 °C.



**Figura 20.** Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas ( $dF_c/dt$ -mN.mm<sup>-2</sup>.ms<sup>-1</sup>) da contração (TC) e do relaxamento (TR) das tiras ventriculares de *C. latirostris* nos grupo digestão submetidos à temperatura de 25 e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 30). Símbolos brancos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos valores iniciais registrados na frequência de 0,2Hz. Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores obtidos na ausência da rianodina e após o tratamento com rianodina. (a) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre 25 e 30 °C no grupo pós-absortivo. (b) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre os grupos pós-absortivo e pós-absortivo-RYA a 25 e 30 °C. (c) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre as temperaturas de 25 e 30 °C no grupo digestão. (d) diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre os grupos digestão e digestão-RYA a 25 e 30 °C.

#### 4.4.2 Capacidade de Bombeamento Cardíaco e Power Output em diferentes temperaturas e estados nutricionais.

Os valores obtidos para a CBC e para o “power output” a 25 °C e 30°C nos grupos pós-absortivo e digestão, antes e após tratamento prévio com rianodina, estão representados nas tabelas 7 e 8, bem como na figura 21.

O valor encontrado para o “power output” a 25 °C (48 bpm) não foi significativamente diferente entre os grupos pós-absortivo e digestão, apesar dos valores da CBC oriundos do grupo digestão ( $153 \pm 16 \text{ mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ ) serem significativamente superiores aos verificados para o grupo pós-absortivo ( $40 \pm 2 \text{ mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Os valores da CBC a 25 °C, em ambos os grupos, não foram significativamente alterados pela adição da rianodina. Os valores da CBC para o grupo pós-absortivo a 25 °C foram superiores ( $40 \pm 2 \text{ mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ ) aos verificados à 30 °C ( $14 \pm 1 \text{ mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ ), mesmo na presença da rianodina. Contudo, os miócitos foram capazes de suportar a frequência de 60 bpm a 25 °C, enquanto as tiras ventriculares submetidas à temperatura de 30 °C suportaram frequências superiores (96 bpm).

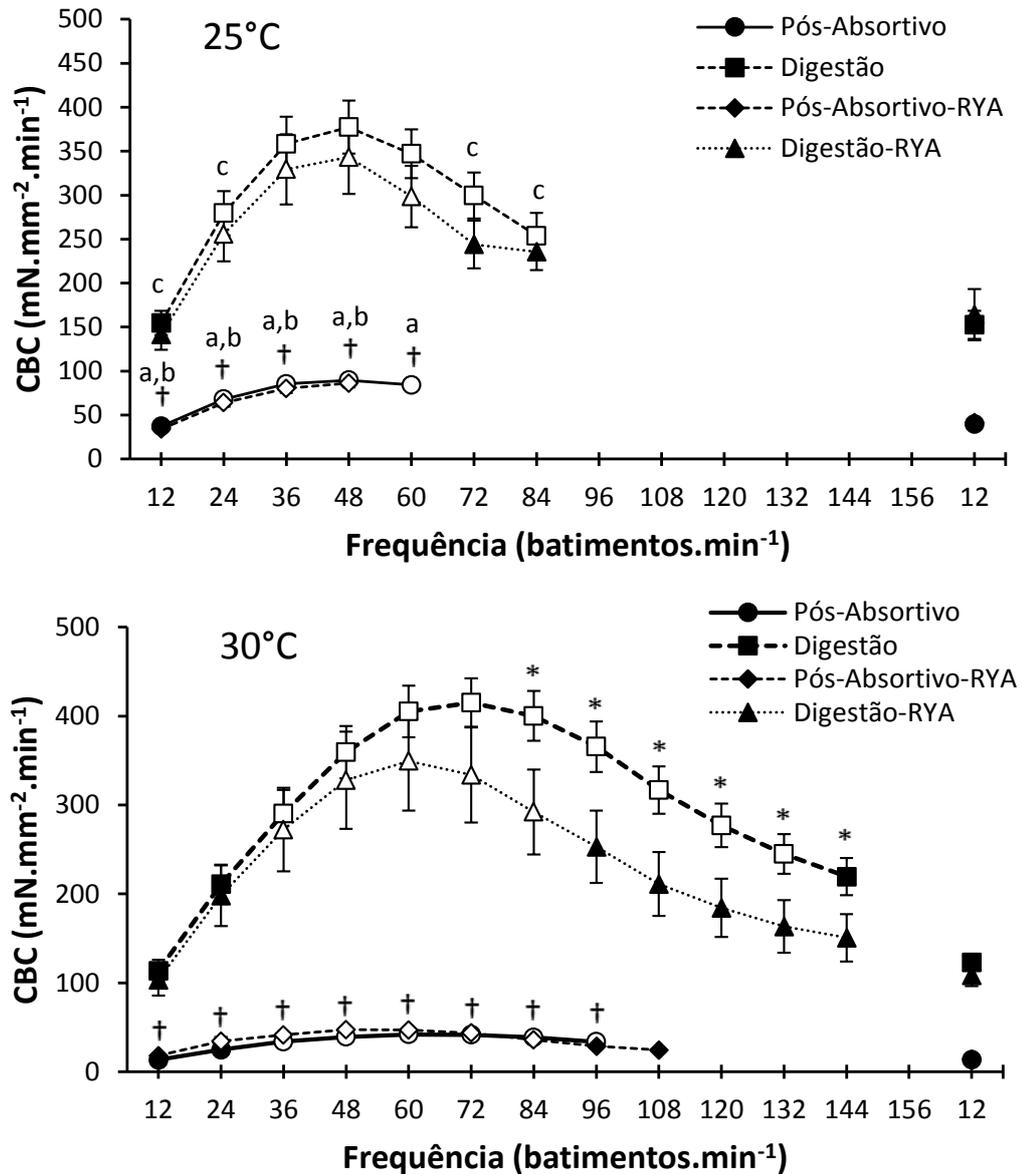
A 30 °C, as tiras ventriculares do grupo digestão apresentaram um valor de “power output” (72 bpm) superior ao valor encontrado para o grupo pós-absortivo (60 bpm). Além disso, os miócitos desse grupo foram capazes de se contrair regularmente até a frequência de 144 bpm, enquanto os miócitos do grupo pós-absortivo não suportaram frequências superiores a 108 bpm. Os valores da CBC do grupo pós-absortivo não foram significativamente alterados pelo pré-tratamento com rianodina em qualquer frequência a 30 °C. Contudo, os valores encontrados para o grupo digestão foram reduzidos entre 84 e 144 bpm.

**Tabela 7.** Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC -  $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ ) registrada pelas tiras ventriculares de *C. latirostris* nos grupos pós-absortivo, submetidos à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 30).

Frequência (bpm)	Pós-Absortivo			
	25 °C	25 °C-RYA	30 °C	30 °C-RYA
12	37 $\pm$ 2	34 $\pm$ 3	14 $\pm$ 1	18 $\pm$ 2
24	68 $\pm$ 4	64 $\pm$ 4	25 $\pm$ 1	34 $\pm$ 5
36	86 $\pm$ 5	80 $\pm$ 5	34 $\pm$ 2	41 $\pm$ 2
48	90 $\pm$ 4	86 $\pm$ 5	39 $\pm$ 3	47 $\pm$ 1
60	84 $\pm$ 5	-	42 $\pm$ 3	47 $\pm$ 1
72	-	-	41 $\pm$ 4	43 $\pm$ 1
84	-	-	39 $\pm$ 4	36 $\pm$ 1
96	-	-	34 $\pm$ 5	29 $\pm$ 0,0
108	-	-	-	24 $\pm$ 1
12	40 $\pm$ 2	41 $\pm$ 2	14 $\pm$ 1	14 $\pm$ 2

**Tabela 8.** Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC-  $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$ ) registrada pelas tiras ventriculares de *C. latirostris* nos grupos digestão, submetidos à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 30).

Frequências (bpm)	Digestão			
	25 °C	25 °C-RYA	30 °C	30 °C-RYA
12	155 $\pm$ 14	141 $\pm$ 17	114 $\pm$ 12	103 $\pm$ 18
24	280 $\pm$ 25	256 $\pm$ 31	211 $\pm$ 22	198 $\pm$ 34
36	358 $\pm$ 31	329 $\pm$ 40	290 $\pm$ 27	272 $\pm$ 47
48	377 $\pm$ 30	343 $\pm$ 42	359 $\pm$ 29	328 $\pm$ 55
60	347 $\pm$ 28	298 $\pm$ 35	405 $\pm$ 29	349 $\pm$ 56
72	300 $\pm$ 26	244 $\pm$ 27	415 $\pm$ 27	334 $\pm$ 53
84	254 $\pm$ 26	236 $\pm$ 21	400 $\pm$ 28	292 $\pm$ 48
96	-	-	365 $\pm$ 28	253 $\pm$ 40
108	-	-	317 $\pm$ 27	211 $\pm$ 33
120	-	-	277 $\pm$ 24	184 $\pm$ 33
132	-	-	245 $\pm$ 22	164 $\pm$ 30
144	-	-	220 $\pm$ 21	151 $\pm$ 27
12	153 $\pm$ 16	164 $\pm$ 29	123 $\pm$ 9	109 $\pm$ 12



**Figura 21.** Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) registrada pelas tiras ventriculares de *C. latirostris* nos grupos pós-absortivo e digestão, submetidos à temperatura de 25 °C e 30 °C, na ausência e presença da rianodina. Valores médios  $\pm$  1 EPM (n = 60). Os símbolos brancos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos valores iniciais registrados na frequência de 0,2Hz. Os asteriscos indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores obtidos na ausência da rianodina e os valores após o tratamento com rianodina. As cruzes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos pós-absortivo e digestão. (a) indica diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre 25 e 30 °C no grupo pós-absortivo. (b) indica diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre os grupos pós-absortivo e pós-absortivo-RYA a 25 e 30 °C. (c) indica diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre as temperaturas de 25 e 30 °C no grupo digestão. (d) indica diferença significativa entre os valores obtidos na mesma frequência entre os grupos digestão e digestão-RYA a 25 e 30 °C.

## 5. Discussão

Todos os vertebrados são capazes de regular e manter a pressão arterial a fim de garantir o fornecimento adequado de gases, nutrientes, hormônios, anticorpos, calor e catabólitos para os diferentes tecidos do organismo (BERGER, 1987; VAN VLIET e OESTE, 1994). Atividades como a alimentação e a termorregulação determinam alterações no débito cardíaco, uma vez que se apresentam dependentes do fluxo sanguíneo. Os ajustes no débito cardíaco devem assegurar as diferentes estratégias de sobrevivência dos animais em diferentes condições de temperatura e estados metabólicos.

### 5.1 Efeitos da Temperatura sobre a contratilidade

Segundo Seebacher e Franklin (2005), os répteis, como ectotérmicos, apresentam baixa produção endógena de calor e utilizam, preferencialmente, mecanismos comportamentais para obter a temperatura corpórea desejada. A temperatura corpórea, normalmente, encontra-se acima da temperatura ambiente. A transferência de calor para o interior do corpo em ambientes quentes é geralmente acompanhada pelo aumento da perfusão periférica, mediada pelo aumento da frequência cardíaca. Da mesma maneira, a retenção de calor durante os períodos de resfriamento é acompanhada pela redução da perfusão periférica e da frequência cardíaca (O'CONNOR, 1999; SEEBACHER, 2000; SEEBACHER e FRANKLIN, 2004b).

Répteis termorregulam por meio da exploração dos ambientes termais, em contraste com os endotérmicos, que termorregulam por meio da produção interna de calor (HERTZ 1992; HERTZ *et al.* 1993; KAUFFMAN *et al.* 2001; KVADSHEIM e AARSETH 2002; SEEBACHER 2003; SEEBACHER e SHINE 2004a,b). Diferentes estudos mostram que os vertebrados ectotérmicos exibem uma temperatura corporal variável, que causa mudanças críticas na frequência cardíaca, enquanto a pressão arterial parece ser menos afetada (LILLYWHITE e SEYMOUR, 1978; STINNER, 1987; GALLI *et al.*, 2004; SEEBACHER e FRANKLIN, 2001, 2003). Segundo Hagensen *et al.* (2010), uma vez que a pressão sistêmica se eleva apenas moderadamente enquanto a frequência cardíaca ( $f_H$ ) aumenta acentuadamente com o aumento da temperatura, é provável que a resistência vascular periférica seja

reduzida com o recrutamento dos capilares para a distribuição do oxigênio durante o aumento do metabolismo. De acordo com esses autores, em *Caiman latirostris*, a resposta barostática está presente em diferentes temperaturas (15 e 30 °C) e responde às reduções na pressão sanguínea sistêmica. A 30 °C o barorreflexo parece contrabalançar a hipotensão, conforme verificado em mamíferos.

Comumente, o aumento da perfusão cutânea e o elevado débito cardíaco, verificados durante o aquecimento, se refletem numa  $f_H$  aumentada, que é normalmente mais elevada durante o aquecimento do que durante o resfriamento (BARTHOLOMEW e TUCKER 1963; SMITH, 1976; GRIGG et al. 1979; GRIGG e SEEBACHER 1999; DZIALOWSKI e O'CONNOR 2001; GALLI et al., 2004; SEEBACHER 2000; SEEBACHER e GRIGG 2001; SEEBACHER e FRANKLIN 2004b; ZAAR et al., 2004; HAGENSEN et al., 2010). Esse padrão, conhecido como histerese da frequência cardíaca, tem sido descrito por diferentes espécies de répteis. De acordo com Seebacher e Franklin (2005), a histerese cardíaca deve ser alcançada pela modulação do débito cardíaco e do fluxo sanguíneo. Uma condição necessária para a frequência cardíaca alterar as taxas de transferência de calor é que a circulação periférica altere-se proporcionalmente com a frequência.

O comportamento térmico nos répteis pode ser dirigido por hormônios. A melatonina, em particular, tem sido associada com a termorregulação. A melatonina, produzida pela glândula pineal, interage com a glândula tireoide podendo influenciar diretamente a secreção de hormônios tireoideanos (WRIGHT et al. 1996). Tanto as prostaglandinas quanto o óxido nítrico são importantes nas respostas cardiovasculares durante a termorregulação nos répteis. A prostaglandina F2a e a prostaciclina alteram significativamente a frequência cardíaca e a inibição das prostaglandinas suprime a histerese da  $f_H$  característica dos lagartos *Pogona vitticeps*. Em contraste, a inibição da enzima ciclooxigenase não afetou a frequência cardíaca durante o aquecimento e resfriamento em *Crocodylus porosus*, e a histerese da frequência cardíaca persistiu mesmo com a inibição associada da óxido nítrico sintase e da enzima ciclooxigenase (SEEBACHER e FRANKLIN 2003; SEEBACHER e FRANKLIN 2004 a).

Shi e Jackson (1997) não encontraram redução da força de contração pela alteração da temperatura de 20 para 10 °C nos miócitos da tartaruga *Chrysemys picta bellii*, mas identificaram uma redução do tempo para a ocorrência da contração em baixas temperaturas. Shelton & Jones (1991) verificaram que a

redução da temperatura de 30 para 22 °C não tem efeito sobre a pressão sanguínea e ejeção sanguínea para a aorta esquerda do *Alligator mississippiensi*. Contudo, Campbell *et al* (2006) verificaram que a frequência cardíaca da cascavel foi significativamente alterada pelas flutuações diárias da temperatura ( $f_H$  de  $13.8 \pm 0.7$  bpm a 23 °C para  $17,2 \pm 3.1$  bpm a 25 °C em repouso e para  $25 \pm 2.25$  bpm em atividade).

Em *Varanus exanthematicus*, a alimentação e a digestão associadas provocaram um aumento na frequência cardíaca, superior ao aumento resultante da elevação da temperatura corporal de 28 para 38 °C. No entanto, o aumentado débito cardíaco pós-prandial não aumentou as taxas de aquecimento sendo que o aumento do fluxo sanguíneo após a alimentação parece ser direcionado para o intestino, sem qualquer efeito termorregulador (ZAAR *et al.*, 2004). Além disso, parece que a SDA não modifica a temperatura de preferência durante o aquecimento ou resfriamento nessa espécie (BENNETT *et al.*, 2000).

A ativação do acoplamento E-C cardíaco ocorre em resposta ao aumento da concentração de  $Ca^{2+}$  citosólico (TIBBITS *et al.*, 1991). Segundo Hove-Madsen *et al.*, (2000), esse aumento pode depender tanto da mobilização interna do  $Ca^{2+}$ , que ocorre por meio do retículo sarcoplasmático (RS), quanto do influxo sarcolemmal, por meio dos canais de cálcio voltagem-dependente (tipo L) e do trocador  $Na^+/Ca^{2+}$  (NCX). Por outro lado, o músculo cardíaco relaxa por meio da redução das concentrações do  $Ca^{2+}$  citosólico, principalmente pelo seu transporte para o espaço extracelular, que ocorre por meio do NCX ou para dentro do compartimento do RS, pela atividade da  $Ca^{2+}$ -ATPase. A magnitude do aumento e diminuição do cálcio citosólico depende do nível de atividade dos mecanismos transportadores do  $Ca^{2+}$ , que varia entre espécies e com a temperatura (GWATHMEY e MORGAN, 1991).

O NCX é o principal mecanismo de efluxo do  $Ca^{2+}$  na maioria dos vertebrados ectotérmicos e atua na entrada de  $Ca^{2+}$ , quando em seu modo reverso (VORNANEN, 1996; VORNANEN, 1999). O funcionamento da troca entre  $Na^+$  e  $Ca^{2+}$  é um processo determinado pelos gradientes eletroquímicos para ambos os íons através da sarcolema, de forma que o NCX é sensível ao potencial de membrana. Em potenciais de repouso normais e durante a maior parte do potencial de ação, o NCX retira  $Ca^{2+}$  da célula (modo normal). Já durante a fase ascendente do potencial de ação cardíaco, o NCX pode reverter a direção e trazer  $Ca^{2+}$  para o

interior da célula (modo reverso) durante o “overshoot” (MULLINS, 1979). Desta forma, o sistema de troca  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  não é apenas a principal via de efluxo de  $\text{Ca}^{2+}$  como também, a princípio, pode mediar parte do influxo sarcolemal de  $\text{Ca}^{2+}$ .

Segundo Galli *et al.* (2006), em tiras ventriculares de lagartos-monitores e pítons, a rianodina causou redução significativa da Fc dentro da faixa de frequências cardíacas verificadas *in vivo*. Assim, sugerem que o RS deve contribuir com a ciclagem do cálcio em animais que apresentam o ventrículo funcionalmente dividido e exibem altas pressões sistêmicas. Porém, verificaram uma redução da Fc pós-pausa em todos os reptéis testados, o que indica a representatividade dos mecanismos sarcolemais, bem como a anatomia dos miócitos para garantir a contratilidade desses répteis.

Esses autores também sugeriram que em tartarugas de orelha vermelha, o NCX parece ser mais importante para o transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  do que o RS. Nessas tartarugas, como os miócitos podem distribuir o  $\text{Ca}^{2+}$  rapidamente, apesar da pequena contribuição verificada para o SR, outras especializações anatômicas ou mecânicas devem ser representativas para garantir a rapidez do acoplamento E-C. Segundo Vornanen (1996; 1999) o NCX torna-se o mecanismo de transporte principal para efluxo  $\text{Ca}^{2+}$  e também pode contribuir para a contratilidade na ausência de um RS funcional, conforme verificado em peixes.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a resposta inotrópica dos miócitos ventriculares de *C. latirostris* é temperatura-dependente e, portanto, apresenta importante plasticidade, capaz de assegurar o débito em diferentes temperaturas. A Fc foi significativamente maior, bem como as taxas de contração e relaxamento foram mais rápidas a 25 °C do que a 30 °C, para ambas as condições metabólicas verificadas (Tabela 1).

No presente estudo, a representatividade do retículo sarcoplasmático no manejo do cálcio intracelular, em ambas as temperaturas, na frequência de 0,4 Hz, foi indiretamente testada pela avaliação da tensão pós-pausa. A partir de tal protocolo, pode-se avaliar o comportamento das contrações inotrópicas, a atividade do RS, do trocador NCX e, assim, verificar a amplitude do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  pelas membranas celulares (VASSALO & MILL, 1988; MILL *et al.*, 1992).

Durante a pausa na estimulação da tira ventricular, a retirada de  $\text{Ca}^{2+}$  do sarcoplasma pode ocorrer por meio de três mecanismos: pela bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  sarcolemal, pelo NCX e pela estocagem de  $\text{Ca}^{2+}$  em compartimentos intracelulares

tal como o RS (quando este é funcional). A quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular disponível para a contração é variável e dependente das condições fisiológicas (pH, disponibilidade de  $\text{O}_2$ , temperatura, entre outros fatores). Todavia, a quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  pode elevar-se em decorrência da pausa, o que conseqüentemente desencadeará um provável aumento na Fc após o retorno da estimulação (FABIATO, 1983; BERS *et al.*, 1993; AHO & VORNANEN, 1999; MINAJEVA *et al.*, 1997).

A funcionalidade do NCX varia conforme a espécie estudada. Bers (2002) observou que o NCX foi responsável por retirar 28% do  $\text{Ca}^{2+}$  ativador para promover o relaxamento dos miócitos cardíacos de coelhos e apenas 7% do total da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  ativador em ratos adultos.

Em corações de diferentes mamíferos, ocorre uma potenciação da força de contração pós-pausa em resposta a pausas curtas, que diminui à medida que se aumenta o período da pausa (VASSALO e MILL, 1988), enquanto em miocárdio de rato essa potenciação é mantida mesmo depois de longas pausas (VASSALO *et al.*, 1990). Essa potenciação da força de contração tem sido associada à acumulação intracelular do  $\text{Ca}^{2+}$  durante a ausência de estímulo elétrico (RUMBERGER e REICHEL, 1972; EDMAN e JOHANNSSON, 1976; FABIATO, 1983; BERS *et al.*, 1993; BASSANI *et al.*, 1995; MINAJEVA *et al.*, 1997; AHO e VORNANEN, 1999; BERS, 2008).

A pausa diastólica imposta entre as contrações induziu uma redução da Fc nas tiras ventriculares do *C. latirostris* em ambos os grupos experimentais na temperatura de 30 °C. A redução da Fc na presença da rianodina foi maior a 25 °C (redução de 22% em relação ao controle) do que a 30 °C (redução de 13% em relação ao controle) no grupo pós-absortivo, o que indica que os mecanismos sarcolemais, de fato, são mais representativos na temperatura de 25 °C para essa condição metabólica. Contudo, a Fc não é alterada (Figura 18), mas as TC e TR foram mais lentas com o bloqueio do RS em qualquer frequência de estimulação nessa temperatura (Figura 19), o que indica que o RS pode ser um recurso para ampliar a velocidade da contratilidade, mas não é crítico a 25 °C.

A 25 °C houve uma potenciação da Fc após as pausas na estimulação, abolida pela rianodina, no grupo digestão (Figura 17). O RS parece ser um recurso utilizado pelos miócitos em tais condições, porém os valores de Fc, TC e TR não foram afetados pela rianodina em frequências fisiológicas (Figura 20). Assim, nessa

temperatura, mesmo com a ausência do RS, a SDA causou um efeito inotrópico positivo e os mecanismos sarcolemas são eficientes para garantir a contratilidade. A redução da Fc na presença de rianodina a 30 °C foi maior no grupo digestão (redução de 27% em relação ao controle) do que a redução de 13% verificada para o grupo pós-absortivo, o que corrobora o resultado de que a SDA causa um efeito inotrópico positivo ampliando a representatividade dos mecanismos sarcolemas de extrusão do cálcio nessa temperatura (Tabela 2 e Figura 16).

Ferraz *et al.* (2001) verificaram uma depleção de  $Ca^{2+}$  pós-pausa diastólica em ventrículos de coelho que, segundo esses autores, pode dever-se a um aumento no efluxo de cálcio durante o período de pausa estimulatória, provavelmente devido ao aumento da atividade do NCX. Esses resultados demonstram que na frequência de 0,4Hz (24 bpm), na temperatura de 25 °C, durante o período pós-absortivo, e a 30 °C, tanto em jejum quanto durante a digestão, os mecanismos sarcolemas responsáveis pela extrusão do cálcio (possivelmente o NCX), são suficientes para garantir o inotropismo e consequentemente o débito cardíaco de *C. latirostris*. Porém, a temperatura de 25°C combinada com as alterações metabólicas oriundas da digestão parece aumentar a representatividade do RS como fornecedor de  $Ca^{2+}$  aos miócitos cardíacos.

A relação entre a força de contração do músculo cardíaco e o intervalo entre as contrações é denominada relação força-frequência (F-F). A avaliação desse resultado pode indicar a capacidade do miocárdio do animal em manter o acoplamento E-C frente a incrementos na frequência cardíaca.

A despeito do estado térmico ou de alimentação, o músculo ventricular de *C. latirostris* exibiu uma relação F-F negativa (Figura 18), condição comumente verificada em outros ectotérmicos (DRIEDZIC e GESSER, 1985, 1988; HOVE-MADSEN e GESSER, 1989; VORNANEN, 1989; BAILEY e DRIEDZIC, 1990; HOVE-MADSEN, 1992; SHIELS e FARRELL, 1997; RANTIN *et al.*, 1998; COSTA *et al.*, 2000; SHIELS *et al.*, 2002). Segundo Shiels *et al.*, (2002), em frequências elevadas, logo antes das contrações se tornarem arrítmicas, a força de contração é reduzida de 50 a 90%, como foi encontrado para maioria dos peixes teleósteos estudados.

A relação F-F negativa poderia ser atribuída ao declínio da concentração intracelular de  $Ca^{2+}$ , evidenciada pela menor capacidade na obtenção de  $Ca^{2+}$  livre a partir de reservas intracelulares ou de mecanismos sarcolemas de transporte iônico. Ambos seriam insuficientes, do ponto de vista funcional, para a

manutenção do inotropismo cardíaco a elevadas taxas de estimulação, determinando diretamente o grau de eficiência do acoplamento excitação-contração (E-C) na musculatura cardíaca (DRIEDZIC e GESSER, 1985).

De acordo com Shiels e Farrell (1997), o relaxamento é outro passo limitante para a manutenção da força de contração em altas frequências devido à dificuldade em reduzir os níveis intracelulares de cálcio pela sarcolema. Outras importantes limitações para a manutenção da Fc, como a distância de difusão intracelular que o  $\text{Ca}^{2+}$  deve atravessar para ativar os miofilamentos, bem como a velocidade na qual este íon deve ser removido do citoplasma a fim de promover um relaxamento máximo do músculo (KEEN *et al.*, 1992). Segundo Vornanen (1989), a relação F-F negativa também pode ocorrer devido a um tempo insuficiente para a difusão de cálcio da superfície do miócito ao aparato contrátil.

Galli *et al.* (2006), estudaram a função cardíaca da tartaruga americana, *Trachemys scripta*; da serpente píton, *Python regius*, do lagarto teiú, *Tupinambis merianae*, e do lagarto, *Varanus exanthematicus*. Os autores verificaram uma redução da Fc à medida do aumento da frequência e sugeriram que tal redução, principalmente em elevadas frequências, é ocasionada pela redução do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular devido a um mecanismo incompleto de restituição do cálcio e que tal redução poderia ser causada pela menor liberação do  $\text{Ca}^{2+}$  pelo RS. Entretanto, a forma da curva da relação F-F não foi afetada pela rianodina nas espécies estudadas, sugerindo que o RS desempenha um papel reduzido na relação F-F e que o NCX pode ser um dos principais mecanismos para o transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  verificado para esses répteis.

Nos vertebrados basais (peixes, anfíbios, répteis), a estrutura dos miócitos foi evolutivamente conservada (LEESON, 1981; HELLE, 1983; KEEN *et al.*, 1992; VORNANEN, 1998). Tais organismos possuem os miócitos ventriculares menores, alongados, e mais estreitos do que os mamíferos, além de um retículo sarcoplasmático (RS) relativamente esparsos na célula. Estes miócitos apresentam uma grande área de superfície em relação à proporção de volume, o que reduz a distância de difusão do  $\text{Ca}^{2+}$  entre a sarcolema e o aparato contrátil. Isto possivelmente contribui para uma maior capacidade de influxo/efluxo do  $\text{Ca}^{2+}$  sarcolemal.

Em anfíbios, o menor diâmetro da célula reduz o tempo de difusão do  $\text{Ca}^{2+}$  e a quantidade deste íon necessária para iniciar a contração, o que possibilita a

estes animais manter um acoplamento excitação-contração eficiente, como é demonstrado pela relação força-frequência positiva, mesmo na ausência de RS anatomicamente bem desenvolvido (CHAPMAN, 1983; TIBBITS *et al.*, 1992).

Apesar das diferentes respostas em relação ao incremento da frequência, os miócitos de anfíbios assemelham-se aos dos répteis. Nesses animais, o RS, como nas tartarugas e serpentes já estudadas, apresenta a forma de elementos vesiculares dispersos no sarcoplasma, bem como ausência de túbulos T (LEAK, 1967; LEESON, 1981; GALLI *et al.*, 2006b), o que pode evidenciar uma característica predominante nesse grupo parafilético.

Os miócitos ventriculares do *C. latirostris* exibiram uma redução da Fc em ambas as temperaturas e estados metabólicos. Na temperatura de 25 °C, o grupo pós-absortivo exibiu redução da Fc de 54,8% de 0,4 para 1,0 Hz e, a 30 °C, de 72,8 % de 0,4 para 1,8 Hz. A redução na Fc verificada para o grupo digestão a 25 °C foi de 76,7 % de 0,4 para 1,4 Hz e, a 30 °C, de 84,2 % de 0,4 para 2,4 Hz. A redução verificada a 30°C foi maior do que a 25°C, pois os miócitos alcançaram frequências superiores às verificadas a 25 °C. Esses resultados encontram-se dentro da faixa de valores verificados por diferentes autores em diferentes grupos de ectotérmicos.

Os ventrículos dos animais dos grupos pós-absortivo e digestão submetidos à temperatura de 25 °C mostraram uma menor capacidade em manter altas frequências de contração do que a exibida pelos ventrículos submetidos ao regime térmico de 30 °C, mesmo com a função do RS bloqueada pela rianodina (figura 18). Assim, a 30 °C os mecanismos sarcolemais parecem eficientes em garantir o inotropismo em altas frequências, de modo que os ventrículos desses animais sejam capazes de garantir o débito por meio de ajustes cronotrópicos.

A SDA aumentou a capacidade dos ventrículos em alcançar altas frequências com ou sem a rianodina em ambas as temperaturas testadas, mas houve uma redução significativa na Fc a 30 °C em altas frequências após o bloqueio da função do RS (Figura 18), o que sugere que o RS desempenha um papel crítico na manutenção do débito cardíaco em tais condições de frequência, temperatura e estado metabólico.

Na temperatura de 25 °C, as tiras ventriculares do grupo pós-absortivo apresentaram taxas de contração (25%) e relaxamento (33%) superiores às encontradas para as preparações ventriculares tratadas com a rianodina, em qualquer frequência de estimulação (Figura 19). Contudo, a rianodina não alterou a

produção da Fc durante os incrementos de frequência (Figura 18). Dessa forma, como a Fc não foi alterada pela rianodina e as taxas apresentaram-se reduzidas, o tempo necessário para atingir esta força foi maior. Esse resultado demonstra que, apesar de não haver potenciação da Fc pós-pausa, o bloqueio funcional do RS torna mais lento o processo de manejo do cálcio, o que demonstra que o RS é um recurso que pode contribuir para a velocidade da contração e do relaxamento nessa temperatura e estado metabólico. Porém, os mecanismos sarcolemais, conforme verificado anteriormente, são suficientes para garantir a contratilidade nessas condições. Nessa temperatura, apesar da potenciação pós-pausa indicar a relevância do RS para o manejo do cálcio nessas condições, o ganho de desempenho na contratilidade durante a SDA foi capaz de garantir as mesmas taxas de contração e relaxamento, mesmo com a função do RS bloqueada.

A 30 °C no grupo pós-absortivo, a rianodina provocou reduções tanto nas taxas de contração quanto de relaxamento em frequências superiores a 1,2Hz ou 72 bpm (Figura 19). Nessa temperatura e estado metabólico, apesar de não haver potenciação pós-pausa, o RS parece crítico para garantir a contratilidade durante altas frequências cardíacas. Nessa mesma temperatura, o grupo digestão apresentou alterações apenas na taxa de relaxamento e em frequências superiores a 1,4 Hz ou 84bpm (Figura 20). Nessa temperatura, a SDA ampliou ainda mais a capacidade dos miócitos em promover a contração em frequências superiores às verificadas na condição de pós-absorção. Porém, nessa condição de temperatura e estado metabólico, o RS parece decisivo para promover o relaxamento em altas frequências.

Cabe ressaltar que Hagensen *et al.* (2010) encontraram, *in vivo*, valores de frequência cardíaca de repouso para *C. latirostris* de  $14,3 \pm 1,3$  bpm a 15°C e de  $26,5 \pm 2,1$  bpm a 30 °C, sendo que esses valores foram elevados para  $18,6 \pm 0,6$  bpm a 15 °C e para  $69,7 \pm 1,4$  bpm a 30 °C após injeção de fenilefrina, um agonista  $\beta$ -adrenérgico. No presente trabalho, as tiras ventriculares de *C. latirostris* do grupo digestão atingiram frequências de 84 bpm (1,4 Hz) a 25 °C e 144 bpm (2,4 Hz) a 30 °C, enquanto que no grupo pós-absortivo, tais valores foram de 60 bpm (1,0 Hz) a 25 °C e 96 bpm (1,6Hz) a 30 °C. Em ambos os grupos, as frequências máximas atingidas pelas tiras ventriculares *in vitro* superaram os valores registrados

*in vivo*, demonstrando que os miócitos ventriculares desta espécie não trabalham, *in vivo*, em seu limite de acoplamento excitação-contração.

Outro importante índice para avaliar o rendimento muscular é a capacidade de bombeamento cardíaco (CBC), calculado através do produto da frequência de estimulação pela força isométrica máxima. A CBC pode ser empregada como um parâmetro que representa, indiretamente, o volume sistólico (volume de sangue ejetado pelo ventrículo a cada batimento do coração), conforme citado por MATIKAINEN e VORNANEN, 1992.

Os valores encontrados para a CBC a 25 °C foram superiores aos valores para 30 °C em ambos os grupos (Tabelas 7 e 8). Contudo, as tiras ventriculares do grupo pós-absortivo de ambos os grupos não foram capazes de suportar frequências tão altas quanto às alcançadas na temperatura de 30 °C. Porém, as tiras ventriculares foram capazes de suportar frequências ainda mais altas durante a SDA em qualquer temperatura (Figura 21). Esses dados corroboram os resultados discutidos anteriormente que mostraram valores de Fc, TC e TR sempre maiores na temperatura de 25 °C enquanto as tiras foram capazes de se contrair em frequências superiores a 30 °C.

O valor encontrado para a frequência ótima da CBC (“power output”) a 25 °C (48 bpm) não foi significativamente diferente entre os grupos pós-absortivo e digestão, enquanto o valor aferido para a “power output” das tiras ventriculares oriundas do grupo digestão submetidas a temperatura de 30 °C foram superiores (72 bpm) aos valores encontrados para o grupo pós-absortivo (60 bpm) (Figura 21). Na temperatura de 25 °C, nem o evento da SDA foi capaz de ampliar a frequência capaz de produzir a CBC máxima, demonstrando a limitação dos ajustes do débito por meio da frequência nessa temperatura. Enquanto a 30 °C a CBC máxima ocorreu em frequência superior durante a SDA.

Os valores encontrados para a “power output” (frequência cardíaca onde a CBC é máxima), tanto a 25 quanto a 30 °C em ambos os grupos experimentais, aferidos *in vitro*, ultrapassam os valores da  $f_H$  *in vivo* para o *C. latirostris* ( $26,5 \pm 2,1$  bpm a 30 °C), verificado por Hagensen *et al.* (2010). Esses resultados demonstram que o miocárdio do *C. latirostris* *in vivo* não opera na máxima capacidade contrátil, como discutido acima, e exibe uma ampla faixa de frequências cardíacas que podem garantir o débito em diferentes condições de temperatura e estado metabólico.

No coração do *Caiman latirostris*, a 30 °C, o débito cardíaco pode ser modulado por meio de ajustes cronotrópicos, conforme observado pelo aumento da capacidade de produzir força de contração em altas frequências, enquanto a 25 °C os ajustes inotrópicos podem garantir a ampliação da força de contração e das taxas de contração e relaxamento.

Na temperatura de 25 °C, o manejo do  $Ca^{2+}$  pelo RS é um recurso que pode contribuir para a dinâmica do cálcio (velocidade da contração e do relaxamento), contudo os mecanismos sarcolemais são suficientes para garantir o inotropismo nessa condição. Contudo, a 30 °C o RS parece crítico para garantir as velocidades da contração e do relaxamento em altas frequências no grupo pós-absortivo. Durante a SDA, na temperatura de 30 °C, o RS parece crítico para garantir a Fc e promover o relaxamento apenas em altas frequências cardíacas.

A SDA não alterou a frequência ótima para a capacidade de bombeamento na temperatura de 25 °C. Já a 30 °C, a SDA ampliou a frequência ótima de bombeamento. Esse resultado indica que os miócitos são responsivos à SDA e quando na temperatura de 30°C apresentam uma ampla faixa de ajustes do débito por meio da frequência cardíaca.

Esses resultados demonstram que os miócitos ventriculares do jacaré-de-papo-amarelo são responsivos a diferentes temperaturas e são capazes de promover alterações no débito cardíaco por meio de ajustes inotrópicos quando submetidos à temperatura de 25 °C e permitir ajustes cronotrópicos quando a 30 °C, por meio dos mecanismos sarcolemais e do RS.

## **5.2 Efeito da Alimentação na Massa Ventricular Relativa (MVR).**

O período de SDA, ocasião da digestão, é caracterizado pelo aumento no débito cardíaco, no fluxo sanguíneo sistêmico e na frequência cardíaca, necessários para manter uma perfusão tecidual eficiente durante o processo de digestão (SECOR *et al*, 2000).

O coração é reconhecido por sua capacidade de se remodelar em resposta a diferentes demandas funcionais. O treinamento físico em mamíferos pode resultar em hipertrofia ventricular, que aumenta a capacidade contrátil e evita a sobrecarga do miocárdio (COOPER, 1987). A hipertrofia cardíaca provavelmente promove um eficiente bombeamento cardíaco, pois amplia o número de unidades

contráteis, enquanto reduz o estresse nas paredes das câmaras cardíacas, devido ao espessamento do miocárdio (BABICK e DHALLA, 2007).

A hipertrofia cardíaca acontece em resposta a um aumento do trabalho que é imposto ao coração. Representa um mecanismo para evitar uma sobrecarga da contratilidade por ocasião de alterações nas demandas metabólicas. As informações acerca do potencial benefício desse processo são controversas, uma vez que quando prolongado, poderia levar à insuficiência cardíaca (KANDEL, 1969; LEVY *et al.*, 1990; VAKILI, 2001). Assim, a hipertrofia do miocárdio é dividida em dois tipos, baseados em características funcionais: a hipertrofia fisiológica, definida como aquela que mantém ou aumenta a capacidade contrátil da célula; e a hipertrofia patológica, como aquela associada à depressão da função contrátil, sem necessariamente levar à insuficiência cardíaca (WIKMAN-COFFELT *et al.*, 1979).

A hipertrofia cardíaca é um processo complexo e pode variar de acordo com o tipo de estímulo, o grau em que o estímulo é aplicado, o tempo de duração, a câmara cardíaca na qual este estímulo atua, bem como os mecanismos compensatórios utilizados em cada espécie (COOPER, 1987). Alterações nas propriedades dimensionais dos miócitos implicam em uma série de ajustes, como alterações nas taxas de fosforilação oxidativa, produção do ATP e na quantidade e tamanho das mitocôndrias, a fim de suprir o aumento na demanda metabólica (MEERSON, 1969; SCHREIBER *et al.*, 1973). Segundo Weibel, (1979), a fim de manter adequado o fornecimento de oxigênio ao tecido, ocorre uma reestruturação da rede capilar com a formação de novas unidades capilares e alterações no fluxo sanguíneo coronário.

De acordo com Farrell *et al.* (1998), em répteis o aumento da força de contração e da pressão sistêmica são acompanhados pelo espessamento da parede ventricular. Para Galli *et al.* (2006), como a distância de difusão do cálcio transitório é aumentada, tal consequência deve exigir um manejo mais eficiente do cálcio, possivelmente por meio do RS. Esses autores identificaram um papel crítico do RS para a dinâmica intracelular do cálcio em *Trachemys scripta*, *Tupinambis merianae*, *Python regius* e o lagarto *Varanus exanthematicus* de forma frequência- e tecido-específica. Assim, inferiram que essa resposta seria compatível com as máximas frequências cardíacas e as altas pressões arteriais sistêmicas verificadas em diferentes répteis, principalmente nos que apresentam uma circulação funcionalmente dividida.

Apesar dos trabalhos na literatura não explorarem completamente o assunto, diferentes estudos apontam o acréscimo da massa cardíaca durante a SDA, bem como de outros órgãos como o fígado, os rins, o pâncreas, o intestino, os pulmões e o estômago (SECOR e DIAMOND, 1997a; SECOR, 2008; STARCK e BEESE 2001). As causas desse processo ainda não estão completamente esclarecidas e podem ser decorrentes do aumento na síntese proteica, bem como do aumento na concentração de fluidos nesses órgãos (SECOR e DIAMOND, 1998; STARCK e BEESE, 2001). Segundo Starck e Wimmer (2005), em *Python regius*, ocorre um aumento do fluxo sanguíneo direcionado para o intestino durante a digestão. Esse fluxo parece contribuir para o aumento do tamanho do intestino do animal, possivelmente funcionando como uma bomba hidráulica que infla as vilosidades.

Andersen *et al.* (2005) verificaram uma hipertrofia cardíaca pós-prandial de 40% na massa muscular ventricular em pítons. Ao final do processo de digestão essa hipertrofia foi naturalmente revertida. Esse aumento da massa ventricular parece crítica para o transporte de oxigênio durante a demanda metabólica gerada pelo processo da digestão. Segundo esses autores, a hipertrofia poderia explicar o volume de ejeção sistólico após a alimentação, 50 % maior do que o volume observado em animais em jejum durante o desempenho de exercício físico. A hipertrofia verificada durante o pico da SDA em *Python molurus* parece uma consequência do aumento da transcrição do gene que codifica para a cadeia pesada da miosina presente nos miócitos cardíacos (ANDERSEN *et al.*, 2005).

No presente estudo, a alimentação não causou alterações significativas na MVR do *Caiman latirostris*, apesar do aumento de 7,7% verificado 48h após a ingestão do alimento (Figura 15). Além do ligeiro aumento da MVR, a SDA causou efeito inotrópico positivo em ambas às temperaturas avaliadas, de modo que tanto a ampliação da massa ventricular quanto a ampliação do inotropismo devem contribuir para o desenvolvimento do débito cardíaco durante o evento da digestão no jacaré-de-papo-amarelo.

Paula (2013) identificou os efeitos da digestão e do jejum prolongado sobre a função cardíaca de cascavéis (*Crotalus durissus terrificus*). Seus resultados mostram que não houve alterações significativas da MVR desses animais, mesmo durante os extremos metabólicos (período pós-absortivo, alimentado e em jejum prolongado). Já os resultados encontrados por Cipriano (2013), verificados em

*Python molurus*, mostraram que houve um aumento significativo (18,6%) da MVR dos animais após 48h da alimentação (30% da massa corpórea). Esses resultados indicam que os répteis apresentam uma ampla diversidade de estratégias fisiológicas capazes de garantir o débito cardíaco em diferentes circunstâncias metabólicas.

### **5.3 Efeitos da digestão sobre a contratilidade.**

O aumento da taxa metabólica causada pelos processos mecânicos e fisiológicos da digestão é conhecido como ação dinâmica específica (SDA) (BRODY, 1945; KLIEBER, 1975). Apesar da verificação de que não houve significativa hipertrofia nos ventrículos do *Caiman latirostris*, a alimentação causou um aumento significativo na Fc nas duas temperaturas testadas (316,7% a 30 °C e 296,7% a 25 °C), bem como nos parâmetros dependentes do tempo: taxa de contração (131,2 % a 30 °C e 247,5 % a 25 °C) e taxa de relaxamento (275,7 % a 30 °C e 313 % a 25 °C) (Tabela 1).

Segundo Cipriano (2013), as tiras ventriculares de *Python molurus* apresentaram valores de Fc superiores aos encontrados para os animais em jejum (28 dias). As taxas de contração e relaxamento também apresentaram valores superiores após a alimentação, indicando que a SDA promoveu uma maior eficiência nos processos de contração e relaxamento durante o acoplamento E-C nos miócitos desses animais. O autor também verificou que o aumento na MVR, associado à maior eficiência no transporte de  $Ca^{2+}$  no tecido cardíaco foram, possivelmente, os responsáveis pelo aumento da Fc, importante para a manutenção de um débito cardíaco e fluxo sanguíneo para a condição de elevado metabolismo durante a digestão.

As tiras ventriculares da *Python molurus* não apresentaram potenciação pós-pausa verificada a 30 °C durante a SDA (CIPRIANO, 2013). Porém, Paula (2013) identificou que em *Crotalus durissus terrificus* o RS é representativo nos animais no período pós-absortivo, alimentado e em jejum prolongado. No *C. latirostris*, os miócitos não apresentaram potenciação da Fc pós-pausa no grupo digestão quando submetidos à temperatura de 30 °C. A presença da rianodina produziu uma redução ainda maior da Fc (redução de 27%) do que a verificada para o grupo pós-absortivo (redução de 13%), o que indica que os mecanismos

sarcolemas durante a SDA tornam-se mais eficientes na remoção do cálcio intracelular. Além disso, a potenciação pós-pausa verificada no grupo digestão a 25 °C indica a representatividade do RS em tais condições, porém os valores de Fc, TC e TR não foram afetados pela rianodina em qualquer frequência (Figuras 18 e 20). Assim, nessa temperatura, mesmo com a ausência do RS, a SDA causou um efeito inotrópico positivo e os mecanismos sarcolemas são suficientes para garantir a contratilidade.

Essa plasticidade inotrópica capacita o miocárdio a promover ajustes refinados no débito cardíaco desses animais quando em diferentes condições de temperatura e estados nutricionais.

Os valores de F-F registrados pelo grupo digestão foram superiores aos verificados para o grupo pós-absortivo em todas as condições experimentais (Tabela 4 e Figuras 18). Na temperatura de 25 °C, os valores das taxas de contração e relaxamento registradas no grupo digestão foram superiores (TC - 71,3% e TR- 75,6%) aos valores verificados pelo grupo pós-absortivo durante os incrementos de frequência (Tabela 5 e Figura 19). Na temperatura de 30 °C, as tiras ventriculares do grupo digestão produziram taxas ainda maiores: TC (3,2 vezes) e TR (3,9 vezes), em relação às taxas encontradas para o grupo pós-absortivo durante os incrementos da frequência de estimulação (Tabela 6 e Figura 20). Esses resultados demonstram que os mecanismos contráteis dos ventrículos do *C. latirostris* tornam-se mais eficientes durante o processo de digestão, em ambas as condições térmicas exploradas pelo presente trabalho, porém na temperatura de 30 °C a capacidade do miocárdio em produzir ajustes inotrópicos no débito durante a SDA é maior.

Durante a SDA, os miócitos foram capazes de suportar frequências mais altas do que as verificadas pelo grupo pós-absortivo tanto a 25 quanto a 30 °C (Figura 18). Nessa condição metabólica combinada com a temperatura de 25 °C, as preparações ventriculares foram capazes de manter os valores iniciais de Fc em frequências superiores às verificadas para o grupo pós-absortivo, mesmo com a função do RS bloqueada pela rianodina. A presença desse alcaloide não alterou significativamente as taxas de contração e relaxamento verificadas pelo grupo digestão (Figura 20). Como a Fc foi reduzida em altas frequências e as taxas permaneceram as mesmas, o tempo para a ocorrência da contração e do relaxamento foi reduzido, ou seja, a contratilidade ficou mais rápida. Assim, o ganho em eficiência inotrópica durante a SDA parece suficiente para garantir o manejo do

cálcio em altas frequências de estimulação, mesmo com a funcionalidade do RS bloqueada.

No entanto, quando a 30 °C, o pré-tratamento com rianodina reduziu significativamente a Fc em altas frequências (entre 1,4 e 1,8 Hz) (Figura 18). Contudo, a presença da rianodina não alterou os valores da TC em qualquer frequência de estimulação, mas reduziu a TR em frequências a partir de 1,4Hz (Figura 20). Apesar disso, os valores de TR nessas condições são 3,3 vezes superiores do que os valores encontrados para o grupo pós-absortivo na mesma temperatura. Assim, a 30 °C e durante a SDA, o RS parece representativo para garantir o desenvolvimento da Fc e a velocidade do relaxamento durante altas frequências de estimulação.

Esses resultados demonstram que a SDA amplifica a capacidade dos miócitos em manter maiores frequências de contração e o RS parece importante para manter o débito cardíaco em altas frequências de contração na temperatura de 30 °C, enquanto os mecanismos sarcolemas parecem eficientes em garantir a contratilidade a 25 °C.

A alimentação provocou um aumento nos valores da CBC em ambas as temperaturas experimentais (Tabelas 7 e 8). O valor encontrado para a “power output” a 25 °C (48 bpm) não foi significativamente diferente entre os grupos pós-absortivo e digestão, apesar dos valores da CBC oriundos do grupo digestão apresentarem-se, em média, superiores (304%) aos verificados para o grupo pós-absortivo, mesmo na presença da rianodina (261% superior ao pós-absortivo) (Figura 21).

A 25 °C, a frequência ótima para a capacidade de bombeamento não sofreu alteração devido à SDA. Contudo, na temperatura de 30 °C a “power output” verificada para o grupo digestão apresentou valor superior ao encontrado para o grupo pós-absortivo, ou seja, na temperatura de 30 °C durante a SDA, os miócitos são capazes de desenvolver CBC máxima em frequência superior. Esse resultado corrobora os resultados citados anteriormente que identificam a ampliação da capacidade do ventrículo em desenvolver Fc em altas frequências quando submetidos à temperatura de 30 °C e durante a digestão (Figura 21).

A SDA, iniciada pela digestão, produziu inotropismo positivo nos miócitos ventriculares do *C. latirostris*. No presente trabalho, verificou-se que a SDA ampliou o desenvolvimento da Fc em ambas as temperaturas, aumentou a

frequência ótima para o desempenho cardíaco, bem como a capacidade do coração em ejetar o sangue pelos ventrículos a cada batimento do coração.

Diferentes autores identificaram alterações nas taxas metabólicas e consumo de oxigênio em crocodilianos. Verificou-se um aumento de 3 ou 4 vezes na taxa metabólica pós-prandial do jacaré americano (*Alligator mississippiensis*), alimentado com 5% e 7,5% do seu peso corporal, e 1,6 vezes de aumento no consumo de oxigênio verificado em *Caiman crocodiles* (GATTEN, 1980; COULSON e HERNANDEZ, 1983; BUSK *et al.*, 2000). De acordo com Starck *et al.* (2007), *C. latirostris* aumentou 1,6 vezes o consumo de oxigênio 48h após a alimentação e as mesmas mudanças, rápidas e reversíveis, no tamanho dos órgãos, bem como das características histológicas, como descrito anteriormente para outros sauropsídeos ectotérmicos. No presente trabalho, foram identificadas alterações na contratilidade cardíaca de *C. latirostris* após a alimentação, mas não foram encontradas alterações significativas na MVR dos animais após a alimentação. Essa ampliação das variáveis contráteis deve garantir o débito cardíaco durante os incrementos metabólicos e alterações histológicas que estes animais experimentam durante o processo da digestão.

Apesar da magnitude das respostas fisiológicas verificadas após a alimentação de anfíbios e répteis, Starck *et al.* (2007) propuseram uma relação entre essas adaptações aos hábitos alimentares. Além disso, estenderam a comparação aos outros tetrápodes e, em seguida, sugeriram que as características observadas são plesiomórficas nos sauropsídeos e tal habilidade em suportar longos intervalos de tempo em jejum e, então, engolir uma única grande refeição é uma característica funcional presente nos tetrápodes ancestrais (STARCK *et al.*, 2007).

Nossos resultados demonstraram que os miócitos ventriculares do *Caiman latirostris* apresentam ampla plasticidade inotrópica, capaz de assegurar o débito cardíaco em diferentes temperaturas, frequências e estados metabólicos.

## 6. Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho para o miocárdio ventricular do jacaré-de-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, em período pós-absortivo e na digestão, tanto a 25 quanto a 30 °C, permitiram as seguintes conclusões:

- A 30 °C, o débito cardíaco pode ser assegurado por ajustes cronotrópicos conforme observado pelo aumento da tolerância dos miócitos em produzir força de contração em altas frequências, enquanto a 25 °C os ajustes inotrópicos são capazes de determinar a ampliação da força de contração e das taxas de contração e relaxamento.
- A SDA, iniciada pela digestão, ampliou o desenvolvimento da Fc em ambas as temperaturas, aumentou a frequência ótima para o desempenho cardíaco, bem como a habilidade do coração em ejetar o sangue.
- Os mecanismos sarcolemais são mais representativos no grupo pós-absortivo a 25 °C, porém o RS pode contribuir com o aumento da velocidade da contratilidade nessas condições. Durante a SDA, o RS parece representativo nessa condição de temperatura, porém a SDA causou efeito inotrópico positivo e ampliou a representatividade dos mecanismos sarcolemais.
- A importância do RS parece crítica a 30 °C em altas frequências de estimulação. Nessa temperatura, combinada com a SDA, o RS parece crítico para garantir a Fc e a velocidade do relaxamento em altas frequências cardíacas.
- Os miócitos ventriculares de *Caiman latirostris* são capazes de garantir a contratilidade em diferentes temperaturas, frequências e estados metabólicos.

## 7. REFERÊNCIAS

- AHO, E., VORNANEN, M. **Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity and Ca<sup>2+</sup> uptake by sarcoplasmic reticulum in fish heart: effects of thermal acclimation.** J. Exp. Biol. 201, 525–532, 1998.
- AHO, E. and VORNANEN, M. **Contractile properties of atrial and ventricular myocardium of the heart of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of thermal acclimation.** J. Exp. Biol. 202, 2663–2677, 1999.
- ALLEN & KENTISH, 1985 Allen, D. G. & Kentish, J. C. **The cellular basis of the length-tension relation in cardiac muscle.** Journal of Molecular and Cellular Cardiology 17, 821—840, 1985.
- ANDERSEN, J.B.; ROURKE, V.J.C.; BENNETT, A.F.; HICKS, J.W. **Postprandial cardiac hypertrophy in python.** Nature, 434, 37-38. 2005
- ANELLI-JR, L.C., OLLE, C.D., COSTA, M.J., RANTIN, F.T. & KALININ, A. L. **Effects of temperature and calcium availability on ventricular myocardium from the neotropical teleost *Piaractus mesopotamicus*.** J. Therm. Biol., 29, 103-113, 2004.
- Ashley, J.D. Forward In: Collins, L. and Luxmore, R. [Eds.]. **International Alligator Crocodile Trade Study.** World Conservation Monitoring Center, Cambridge. pp.55. 1996.
- BABICK, A.P., DHALLA, N.S., Role of **Subcellular Remodeling in Cardiac Dysfunction due to Congestive Heart Failure.** Med.Princ. Pract.16, 81-89. 2007
- BAILEY, J.R., DRIEDZIC, W.R. **Enhanced maximum frequency and force development of fish hearts following temperature acclimation.** J. Exp. Biol., v. 149, pp. 239-254, 1990.
- BAILEY, J.R., DRIEDZIC, W.R. **Decreased total ventricular and mitochondrial protein synthesis during extended anoxia in turtle heart.** Am. J. Physiol., 271(40): R1660-R1667, 1996.
- BAILEY, J.R., DRIEDZIC, W.R. **Protein synthesis under conditions of anoxia and changing workload in ventricles from turtle heart.** J. Exp. Zool., 278: 273-282, 1997.
- BASSANI, R.A.; BASSANI, J.W.M. & BERS, D.M. **Mitochondrial and sarcolemal Ca<sup>2+</sup> transport reduce [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> during caffeine contractures in rabbit cardiac myocytes.** J. Physiol., 453, 591-608, 1992.
- BASSANI, J.W.M.; BASSANI, R.A. & BERS, D.M. **Twitch-dependent SR Ca accumulation and release in rabbit ventricular myocytes.** Am. J. Physiol., 265, 34, C533-C540, 1993.

BASSANI, J.W.M.; BASSANI, R.A. & BERS, D.M. **Relaxation in rabbit and rat cardiac cells: species-dependent differences in cellular mechanisms.** J. Physiol., 476, 2, 279-293, 1994a.

BASSANI, R.A.; BASSANI, J.W.M. & BERS, D.M. **Relaxation in ferret ventricular myocytes: unusual interplay among calcium transport systems.** J. Physiol., 476, 2, 295-308, 1994b.

BASSANI, R.A., BASSANI, J.W.M., BERS, D.M. **Relaxation in ferret ventricular myocytes: role of the sarcolemmal  $Ca^{2+}$  ATPase.** Pflügers Arch. 430: 573-578, 1995.

BASSANI, J.W.M.; BASSANI, R.A. & BERS, D.M. **A method to estimate mitochondrial  $Ca^{2+}$  uptake in intact cardiac myocytes.** Braz. J. Med. Biol. Res., v. 29, pp. 1699-1707, 1996.

BARTHOLOMEW, G.A., TUCKER, V.A. **Control of changes in body temperature, metabolism, and circulation by the agamid lizard, *Amphibolurus barbatus*.** Physiol. Zool. 36, 199-218. 1963

BENNETT, A.F. **Thermal dependence of muscle function.** Am.J.Physiol. 247 (16): R217-R229. 1984.

BENNETT, A. F., HICKS, J. W. and CULLUM, A. J. **An experimental test of the thermoregulatory hypothesis for the evolution of endothermy.** Evolution 54, 1768-1773. 2000.

BERGER, P.J. **The reptilian baroreceptor and its role in cardiovascular control.** Am.Zool. 27, 111-120. 1987.

BERLIN, J.R., BASSANI, J.W.M., BERS, D.M. **Intrinsic cytosolic calcium buffering properties of single rat cardiac myocytes.** Biophys J. 67:1775-1787, 1994.

BERNARDES, AT; MACHADO, ABM; RYLANDS, AB. **Fauna brasileira ameaçada de extinção.** Brasília: IBAMA, 65p.1990.

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

BERS, D.M. **Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 258p. 1991.

BERS, D.M.; BASSANI, J.W.M. & BASSANI, R.A. **Competition and redistribution among calcium transporting systems in rabbit cardiac myocytes.** Cardiovasc. Res., 27, 1772-1777, 1993.

BERS, D.M. **Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction.** *Circ. Res.* 87: 275-281, 2000.

BERS, D.M.,. **Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force.** 2° ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 2001.

BERS, D.M.. **Cardiac excitation-contraction coupling** (insight review articles). *Nature* **415**, 198-205, 2002.

BERS, D.M. **Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes.** *Annual. Rev. Physiol.*, vol. 70: pp. 23–49, 2008.

BOSSSEN, E.H., SOMMER, J.R. **Comparative stereology of the lizard and frog myocardium.** *Tiss. Cell.*, 16: 173-178, 1984.

BRETT, J. R. **The metabolic demand for oxygen in fish, particularly salmonids, and a comparison with other vertebrates.** *Resp. Physiol.* 14: 183-192, 1972.

Brody, S. **Bioenergetics and growth.** New York: Reinhold, 1945.

BURGGREN, W., FARRELL, A., LILLYWHITE, H. **Vertebrate cardiovascular systems.** In: Dantzler, W.H. (Ed.), *Handbook of Physiology, Vol. I: Comparative Physiology.* American Physiological Society, Bethesda, 215-308. 1997.

BUSK, M., OVERGAARD, J., HICKS, J. W., BENNETT, A. F. and WANG, T. **Effects of feeding on arterial blood gases in the American alligator *Alligator mississippiensis*.** *J. Exp. Biol.* 203, 3117-3124. 2000.

BUTLER, P.J; FRAPEL, P.B, WANG, T; WIKELSKI, M. **The relationship between heart rate and rate of oxygen consumption in Galapagos marine iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*) at two different temperatures.** *Journal of Experimental Biology* 205, 1917-1924, 2002.

CAMPBELL, H.A., LEITE, C.A.C., WANG, T., SKALS, M., ABE, A.S., EGGINTON, S.T, RANTIN, F.T., BISHOP, C.M. and TAYLOR, E.W. **Evidence for a respiratory component, similar to mammalian respiratory sinus arrhythmia, in the heart rate variability signal from the rattlesnake, *Crotalus durissus terrificus*.** *The Journal of Experimental Biology* 209, 2628-2636, 2006.

CHAPMAN, R.A. **Control of cardiac contractility at the cellular level.** *Am. J. Physiol.*, 245 (14): H535-H552, 1983.

CHUGUN, A., OYAMADA, T., TEMMA, K., HARA, Y.; KONDO, H. **Intracellular Ca<sup>2+</sup> storage sites in the carp heart: comparison with the rat heart.** *Comp. Biochem. Physiol. A* 123, 61 -67, 1999.

CIPRIANO, RAFAEL CORRÊA. **Efeitos da alimentação e digestão na contratilidade miocárdica de pítons (*Python molurus*).** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 73 f.2013.

COLLI, G.R., PAIVA, M.S. **Estratégias de forrageamento e termorregulação em lagartos do cerrado e savanas amazônicas.** In: L. L. Leite & C. H. Saito (eds.), *Contribuição ao Conhecimento Ecológico do Cerrado - Trabalhos selecionados do III*, 224-231, 1997.

COOPER, G. **Cardiocyte adaptation to chronically altered load.** *Annu. Rev. Physiol* 49: 501-518, 1987.

COSTA, M.J., RIVAROLI, L., RANTIN, F.T., Kalinin, A.L. **Cardiac tissue function of the telesot fish *Oreochromis niloticus* under different thermal conditions.** *J. Therm. Biol.*, 25, 373-379, 2000.

COSTA, M.J.; OLLE, C.D.; KALININ, A.L.; RANTIN, F.T. **Role of the sarcoplasmic reticulum in calcium dynamics of the ventricular myocardium of *Lepidosiren paradoxa* (Dipnoi) at different temperatures.** *J. therm. Biol*, 29, 81-89, 2004.

COULSON, R.A. and HERNANDEZ, T. **Alligator metabolism: studies of chemical reactions in vivo.** *Comp. Biochem. Physiol.* 74B, 1-182. 1983

COULSON, R.A., COULSON, T.D. **Effect of temperature on the rates of digestion, amino acid absorption and assimilation in the alligator.** *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 83, 3, 585-588, 1986.

COYNE, M. D., KIM, C. S., CAMERON, J. S. and GWATHMEY, J. K. **Effects of temperature and calcium availability on ventricular myocardium from rainbow trout.** *Am. J. Physiol.* 278, R1535 -R1544, 2000.

CRAMP, R.L., FRANKLIN, C.E. **Arousal and re-feeding rapidly restores digestive tract morphology following aestivation in green-striped burrowing frogs.** *Comp. Biochem. Physiol.* 142A, 451-460. 2005.

CRAMP, R.L., FRANKLIN, C.E. and MEYER, E.A. **The impact of prolonged fasting during aestivation on the structure of the small intestine in the green-striped burrowing frog, *Cyclorana alboguttata*.** *Acta Zool.* 86, 13-24, 2005.

DESPA, S., ISLAM, M.A., POGWIZD, S.M., BERS, D.M. **Intracellular [Na]<sub>i</sub> and Na/K-pump rate in rat and rabbit ventricular myocytes.** *J Physiol* 539:133-143, 2002.

DIEFENBACH, C.O.C.. **Thermal and feeding relations of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Reptilia).** *Comparative Biochemistry and Physiology* 89A(2):149-155. 1988.

DRIEDZIC W.R., GESSER, H. **Ca<sup>2+</sup> protection from negative inotropic effect of contraction frequency on teleost hearts.** *J. Comp. Physiol.* 156, 135-142. 1985.

DRIEDZIC, W.R.; GESSER, H. **Differences in force-frequency relationships and calcium dependency between elasmobranch and teleost hearts.** *J. Exp. Biol.*, 140, 227-241, 1988.

DRIEDZIC W.R., GESSER, H. **Energy metabolism and contractility in ectothermic vertebrate hearts: hypoxia, acidosis, and low temperature.** *Physiol. Rev.*, 74(1): 221-258, 1994.

DZIALOWSKI, E.M., O'Connor, M.P. **Physiological control of warming and cooling during simulated shuttling and basking in lizards.** *Physiol. Biochem. Zool.* 74, 679-693. 2001.

EDMAN, K.A.P., JOHANNSSON, M. **The contractile state of rabbit papillary muscle in relation to stimulation frequency.** *J. Physiol.* 254, 565-581. 1976.

FABIATO, A. **Calcium release in skinned cardiac cells: Variation with species tissues and development.** *Am. Socs. Exp. Biol.* 41, 2238-2244. 1982.

FABIATO, A. **Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum.** *Am. J. Physiol.*, 245(14): C1-C14, 1983.

FABIATO A. **Time and calcium dependence of activation and inactivation of calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac Purkinje cell.** *J Gen Physiol.* 85:247-289, 1985.

FARRELL, A.P., JONES, D.R. **The Heart.** In: **Hoar, W.S., Randall, D.J. & Farrell, A.P. Fish Physiology, v. XII(A): The Cardiovascular System.** Academic Press, Inc., New York, 1-88, 1992.

FARRELL, A.P.; FRANKLIN, C.; ARTHUR, P.; THORARENSEN, H., COUSINS, K. **Mechanical performance of an in situ perfused heart from the turtle *Chrysemys scripta* during normoxia and anoxia at 5 °C and 15 °C.** *J. Exp. Zool.*, 191(1): 207-229, 1994.

FARRELL, A.P., GAMPERL, A. K. AND FRANCIS, T. B. **Comparative aspects of heart morphology. Biology of the Reptilia.** Morphology G: Visceral Organs (ed. C. Gans and A. S. Gaunt), 19, 375-424. Ithaca, NY: SSAR Press. 1998.

FERRAZ, S.A., BASSANI, J.W.M., BASSANI, R.,. **Rest-dependence of twitch amplitude and sarcoplasmic reticulum calcium content in the developing rat myocardium.** *J. Mol. Cell. Cardiol.* 33, 711-722. 2001.

FORBES, M.S. & SPERELAKIS, N. **Ultrastructure of lizard ventricular muscle.** *J. Ultrastruc. Res.*, 34, 439-451, 1971.

FRANK, F.K., BOLCK, B., ERDMANN, E., SCHWINGER, R.G.H. **Sarcoplasmic Ca<sup>2+</sup>-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation.** *Cardiov. Res.* 57, 20-27. 2003

FRANKLIN, C. E., AXELSSON, M. **An actively controlled heart valve.** *Nature* 406, 847-848, 2000.

FRANKLIN, C. E., AXELSSON, M. **The intrinsic properties of an in situ perfused crocodile heart.** *J. exp. Biol.* 186, 269–288, 1994.

FRANKLIN C.E., SEEBACHER F. **The effect of heat transfer mode on heart rate responses and hysteresis during heating and cooling in the estuarine crocodile *Crocodylus porosus***. J Exp Biol 206,1143–1151, 2003.

FRANKLIN, C.E. **Intrinsic properties of an in situ turtle heart (*Emydura signata*) preparation perfused via both atria** In: Comparative Biochemistry and Physiology A; Pergamon Press 107, 3; 501, 1994.

FRAPPELL, P. B., SCHULTZ, T., CHRISTIAN, K. A. **Oxygen transfer during aerobic exercise in a varanid lizard *Varanus mertensi* is limited by the circulation**. Journal of Experimental Biology 205, 2725 – 2736, 2002.

GALLI, G., TAYLOR, E.W., WANG, T. **The cardiovascular responses of the freshwater turtle, *Trachemys scripta*, to warming and cooling**. J. Exp. Biol. 207, 1471-1478. 2004

GALLI, G.L.J., GESSER, H., TAYLOR, E.W., SHIELS, H.A., WANG, T. **The role of the sarcoplasmic reticulum in the generation of high heart rates and blood pressures in reptiles**. J. Exp. Biol., 209: 1956-1963, 2006.

GATTEN, R.E. **Metabolic rates of fasting and recently fed spectacled caimans (*Caiman crocodilus*)**. Herpetologica 36, 361-364. 1980.

GESSER, H., POUPA, O. **Acidosis and cardiac muscle contractility: comparative aspects**. Comp. Biochem. Physiol., 76(3): A559-A566, 1983.

GESSER, H. **Cardiac force-interval relationship, adrenaline and sarcoplasmic reticulum in rainbow trout**. J. Comp. Physiol. B 166, 278-285. 1996.

GLEESON, T.T, MITCHELL, G.S, BENNETT, A.F. **Cardiovascular responses to graded activity in the lizards *Varanus* and *Iguana***. Am J Physiol (Reg Integ Comp Physiol) 8:R174-R179, 1980.

GORZULA, S.J. **An Ecological Study of *Caiman crocodilus crocodilus* Inhabiting Savanna Lagoons in the Venezuelan Guayana**. Oecologia 35, 21-34, 1978.

GRIGG, G.C., DRANE, C.R., COURTICE, G.P. **Time constants of heating and cooling in the eastern water dragon, *Physignathus lesuerui*, and some generalizations about heating and cooling in reptiles**. J. Therm. Biol. 4, 95-103, 1979.

GRIGG, G.C., SEEBACHER, F. **Field test of a paradigm: hysteresis of heart rate in thermoregulation by a free-ranging lizard (*Pogonabarbata*)**. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 266, 1291-1297, 1999.

GUDERLEY H, St-PIERRE J. **Going with the flow or life in the fast lane: contrasting mitochondrial responses to thermal change**. J exp Biol 205: 2237-2249, 2002.

GWATHMEY, J.K.; MORGAN, J.P. **Calcium handling in myocardium from amphibian, avian and mammalian species: the search for two components.** J. Comp. Physiol., 161, 19-25, 1991.

HAGENSEN, M.K., ABE, A.S., WANG, T. **Baroreflex control of heart rate in the broad-nosed caiman *Caiman latirostris* is temperature dependent.** Comp. Bioch. Phys. Part A 156, 458-462. 2010.

HARRISON, S.M., BERS, D.M. **Temperature dependence of myofilament Ca sensitivity of rat, guinea pig, and frog ventricular muscle.** Am. J. Physiol. 258, C274-C281, 1990.

HARRISON, S. M., FRAMPTON, J. E., MCCALL, E., BOYETT, M. R.; ORCHARD, C. H. **Contraction and intracellular  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ , and  $H^+$  during acidosis in rat ventricular myocytes.** Am. J. Physiol. 262, C348-C357, 1992.

HELLE, K.B. **Structures of functional interest in the myocardium of lower vertebrates.** Comp. Biochem. Physiol., 76A , 3, 447-452, 1983.

HERTZ, P.E. **Temperature regulation in Puerto Rican *Anolis* lizards: a field test using null hypotheses.** Ecology 73, 1405-1417. 1992.

HERTZ, P.E., HUEY, R.B., STEVENSON, R.D. **Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms: the fallacy of the inappropriate question.** Am. Nat. 142,796-818. 1993.

HICKMAN-JR, C.P., ROBERTS, L.S., LARSON, A. **Integrated principles of zoology.** McGraw Hill, 11th ed., 899p, 2001.

HICKS, J.M.T., FARREL, A.P. **The cardiovascular responses of the red-eared slider (*Trachemis scripta*) acclimated to either 22 or 5 °C. II. Effects of anoxia on adrenergic and cholinergic control.** J. exp. Biol., 203: 3775-3784, 2000.

HOVE-MADSEN, L., GESSER, H. **Force-frequency relation in the myocardium of rainbow trout: effects of  $K^+$  and adrenaline.** J. Comp.Physiol. B 159, 61-69. 1989.

HOVE-MADSEN, L. **The influence of temperature on ryanodine sensitivity and force-frequency relationship in the myocardium of rainbow trout.** Journal of Exp. Biol. 167, 47-60. 1992.

HOVE-MADSEN, L., BERS, D.M. **Passive  $Ca^{2+}$  buffering and SR Ca uptake in permeabilized rabbit ventricular myocytes.** Am J Physiol. 264: C677-C686, 1993.

HOVE-MADSEN, L., LLACH, A. & TORT, L.  **$Na^+/Ca^{2+}$ -exchange activity regulates contraction and SR  $Ca^{2+}$  content in rainbow trout atrial myocytes.** Am. J. Physiol., 279, R1856-R1864, 2000.

JACKSON, K., PERRY, G. **Changes in intestinal morphology following feeding in the brown treesnake, *Boiga irregularis*.** J. Herpetol. 34,459-462. 2000.

JOHANSEN, K.; BURGGREN, W.W. **Cardiovascular function in the lower vertebrates.** In *Hearts and Heart-like Organs*, Vol. 1 (ed. G. H. Bourne), New York: Academic Press, 61-117, 1980.

KALININ, A.L., GESSER, H. **Oxygen consumption and force development in turtle and trout cardiac muscle during acidosis and high extracellular potassium.** *J. Comp. Physiol. B*, 172: 145-151, 2002.

KANNEL, WB; GORDON, T.; OFFUTT, D. **Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study.** *Ann. Intern. Med.* 71:89-105, 1969.

KAUFFMAN, A., CABRERA A., Zucker, I. **Energy intake and fur in summer- and inter-acclimated Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*).** *Am. J. Physiol.* 281,R519-527. 2001.

KEEN, J.E.; FARRELL, A.P.; TIBBITS, G.F.; BRILL, R.W. **Cardiac physiology in tunas. II. Effect of ryanodine, calcium, and adrenaline on force-frequency relationship in atrial strips from a kip jack tuna, *Katsuwonus pelamis*.** *Canadian Journal of Zoology*, 70, 1211-1217, 1992.

KEEN, J.E., VIAZON, D.M., FARRE, A.P., TIBBITS, G.F. **Effects of temperature and temperature acclimation on the ryanodine sensitivity of the trout myocardium.** *J. Comp. Physiol. B* 164, 438-443. 1994.

Klautz, R.J.M.; Baan, J. & Teitel, D.F. **The effect of sarcoplasmic reticulum blockade on the force/frequency relationship and systolic contraction patterns in the newborn pig heart.** *Pflugers Arch. (Eur. J. Physiol.)*, 435:130-136, 1997.

KLEIBER, M. **The fire of life, An Introduction to Animal Energetics.** Nova York: Krieger Huntington. 1975.

KVADSHEIM, P.H., AARSETH J.J. **Thermal function of phocid seal fur.** *Mar. Mamm. Sci.* 18, 952-962. 2002.

LAYLAND, J., YOUNG, I. S. & ALTRINGHAM, J. D. **The effect of cycle frequency on the power output of rat papillary muscles *in vitro*.** *Journal of Experimental Biology* 198, 1035–1043, 1995.

LEAK, L.V. **The ultrastructure of myofibers in a reptilian heart: the *Boa constrictor*,** *Am. J. Anat.*, 120: 553-582, 1967.

LEESON, T.S. **The Fine Structure of Snake Myocardium.** *Acta Anat.*, 109: 252-269. 1981.

LEKNES, I.L. **Morphometric analysis of myocardial cells in a teleost.** *Anat. Anz.*, 155, 169-172, 1984.

LEVY, D.; GARRISON, R.J.; SAVAGE, D.D.; KANNEL, W.B.; CASTELLI, W.P. **Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study.** N. Engl. J. Med. 322:1561-55, 1990.

LIGNOT, J.H.; HELMSTETTER, C.; SECOR, S.M., **Postprandial morphological response of the intestinal epithelium of the Burmese python (*Python molurus*).** Comp. Bioch. and Physiol. Part A 141, 280-291, 2005.

LILLYWHITE, H.B., SEYMOUR, R.S., **Regulation of arterial blood pressure in Australian tiger snakes.** J. Exp. Biol. 75, 65–79, 1978.

LILLYWHITE, H.B., ZIPPEL, K.C., FARRELL, A.P. **Resting and maximal heart rates in ectothermic vertebrates.** Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 124:369–382, 1999.

MARENGO, F.D.; WANG, S-Y; LANGER, G.A. **The effects of temperature upon calcium exchange in intact cultured cardiac myocytes.** Cell Calcium, 21, 4, 263-273, 1997.

MATIKAINEN, N., VORNANEN, M. **Effect of season and temperature acclimation on the function of crucian carp (*Carassius carassius*) heart.** J. Exp. Biol., 167, 203-220. 1992.

MAYLIE, J.; MORAD, M. **Evaluation of T- and L-type Ca<sup>2+</sup> currents in shark ventricular myocytes.** Am J Physiol; 269, H1695–H1703, 1995.

McCALL, E., ORCHARD, C.H. **The effect of acidosis on the interval-force relation and mechanical restitution in ferret papillary muscle.** J. Physiol., 432, 45-63, 1991.

MCCUE, M.D. **Snakes survive prolonged fasting by employing supply side and demand-side economic strategies.** Zoology 110, 318-327, 2007.

McNEASE, L., JOANEN, T., **A study of immature alligators on Rockefeller Refuge, Louisiana.** In: Proceedings of the Annual Conference of the South-eastern Association of Game and Fish Commissioners, Department Wildlife and Fisheries, Baton Rouge, 28, 482-500, 1974.

MEERSON, F.Z. **Contractile function of the heart in hyperfunction hypertrophy, and heart failure.** Cir Res 24/25 (suppl II): 9-81, 1969.

MICUCCI, P.A., WALLER, Y.T. **Los yacares en Argentina: hacia un aprovechamiento sustentable.** In: Larriera, A. y L.M. Verdade. [Eds.]. La Conservación y el Manejo de Caimanes y Cocodrilos de América Latina. Fundación Banco Bica, Santo Tomé, Santa Fe, Argentina, 1, 81-112, 1995.

MILL, J.G.; VASSALLO, D.V. & LEITE, C.M. **Mechanisms underlying the genesis of post-rest contractions in cardiac muscle.** Brazilian J. Med. Biol. Res., 25, 399-408, 1992.

MINAJEVA, A.; KAASIK, A.; PAJU, K.; SEPPET, E.; LOMPRÉ, A. M. **Sarcoplasmic reticulum function in determining atrioventricular contractile differences in rat heart.** Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 273, 2498-2507, 1997.

MOGENS L.G., STEPHEN C.W. **Control in Vertebrates: Comparative and Evolutionary Aspects.** Springer, 558 p., 2009.

MOLINA, F.B., SAJDAK, R.A.,. **Observações sobre a preferência térmica e o comportamento de termorregulação no jacaré-do-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, em cativeiro: variações ontogenéticas e algumas comparações com outras espécies de jacarés neotropicais.** In: L.M. Verdade, I.U. Packer, M.B. Rocha, F.B. Molina, P.G. Duarte, L.A.B. Lula (eds.), Workshop sobre conservação e manejo do jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*), Piracicaba, Anais. USP/Esalq, Piracicaba, 3, 93-132. 1993.

MOLINA, F.B.; SAJDAK, R.A., MALVASIO, A. **Thermal preferences and thermoregulatory behavior in the broad-nosed caiman, *Caiman latirostris* (Crocodylia; Alligatoridae).** 49° Annual Conference of the IUDZG- The World Zoo Organization. São Paulo, SP, IUDZG: 48-60. 1994.

MOLINA, F.B.; PAOLA, L.; LISBOA, C.S. Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Animais: Répteis: jacaré-de-papo-amarelo, internet, 2003, internet, <http://www.zoologico.sp.gov.br/repteis/jacaredepapoamarelo.htm>

MØLLER-NIELSEN, T. & GESSER, H. **Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling at 20 and 10 °C in rainbow trout myocardium.** J. Comp. Physiol. B, 162, 526-534, 1992.

MUÑOZ-CHÁPULI, R., HAMLETT, W.C. **Epilogue: comparative cardiovascular biology of lower vertebrates.** J. Exp. Zool., 275, 249-251, 1996.

NAYLER , W.G, DAILE P., CHIPPER WELD D., GAN K., **Effect of ryanodine on calcium in cardiac muscle.** Am. J. Physiol. 219,1620-1626, 1970.

NIELSEN, J.S., GESSER, H. **Effects of high intracellular [K<sup>+</sup>] and adrenaline on force development, relaxation and membrane potential in cardiac muscle from freshwater turtle and rainbow trout.** Exp. Biol., 204(2): 261-268, 2001.

O'CONNOR, M.P. **Physiological and ecological implications of a simple model of heating and cooling in reptiles.** J. Therm. Biol. 24, 113–136, 1999.

OKITA, S. **The fine structure of the ventricular muscle cells of the soft-shelled turtle heart (*Amyda*), with special reference to the sarcoplasmic reticulum.** J. Electron. Microsc. Chiba Cy, 20, 107-119, 1971.

OLLE, C.D. **Função cardíaca do teleósteo *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) submetido a diferentes condições térmicas.** Dissertação Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos. 94p. 2003.

OVERGAARD, J., ANDERSEN, J. B., Wang, T. **The effects of fasting duration on the metabolic response in Python: an evaluation of the energetic costs associated with gastrointestinal growth and up-regulation.** *Physiol. Biochem. Zool.* 75, 360-368. 2002

PAULA, GABRIELLE SILVEIRA de. **Efeitos da alimentação/digestão e do jejum prolongado sobre a função cardíaca de cascavéis, *Crotalus durissus terrificus*.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 165 f. 2013.

PINHEIRO, M.S., SILVA, R.A., SANTOS, S.A. **Observations on the thermal selection of the pantanal caiman (*Caiman crocodilus yacare*) HATCHLINGS** (Crocodylia: Alligatoridae), *S. A. Rev. Brasil. Biol.*, 61(2): 323-327, 2001.

POUGH, H.F. et al. **Herpetology**, Prentice-Hall, New Jersey, USA. 1998.

POUGH, F. HARVEY; HEISER, JOHN B.; JANIS, CHRISTINE M. **A Vida dos Vertebrados** - 4ª Edição Editora: Atheneu, 2008.

RANTIN, F.T.; GESSER, H.; KALININ, A.L.; GUERRA, C.D.R.; FREITAS, J.C. & DRIEDZIC, W.R. **Heart performance, Ca<sup>2+</sup> regulation and energy metabolism at high temperatures in *Bathygobius soporator*, a tropical, marine teleost.** *J. therm. Biol.*, 23, 1, 31-39, 1998.

RIVAROLI, L., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. **Cardiac function of two ecologically distinct Neotropical freshwater fish: Curimbata, *Prochilodus lineatus* (Teleostei: Prochilodontidae) and trahira, *Hoplias malabaricus* (Teleostei: Erythrinidae).** *Comp. Biochem. Physiol. A*, 145: 322-327, 2006.

RIVAROLI, L. **Avaliação da função cardíaca do teleósteo neotropical matrinxã, *Brycon amazonicus*: uma análise mecânica e biomolecular.** Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 104f. 2011.

ROCHA, C. F. D. & BERGALLO, H. G. **Thermal biology and flight distance of *Tropidurus oreadicus* (*Sauria Iguanidae*) in an area of Amazonian Brazil.** *Ethology Ecology & Evolution*, 2: 263-268, 1990.

ROCHA, M.L., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. **Effects of temperature and calcium availability on cardiac contractility in *Synbranchus marmoratus*, a neotropical teleost,** *Comp. Biochem. Physiol.* 146: A544-A550, 2006.

ROCHA, M.L., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. **Importance of the sarcoplasmic reticulum and adrenergic stimulation on the cardiac contractility of the neotropical teleosts *Synbranchus marmoratus* under different thermal conditions,** *J. Comp. Physiol. B.*, 177: 713-721, 2007.

ROUSSEAU, E., SMITH, J.S., SULLIVAN, L. **Ryanodine modifies conductance and gating behavior of single Ca<sup>2+</sup> release channel.** *Am. J. Physiol.* 253, 364-368, 1987.

RUMBERGER, E., REICHEL, H. **The force–frequency relationship: a comparative study between warm- and cold-blooded animals.** PflügersArch. Gesamte Physiol. 332, 206-217. 1972.

SANTOS, S.A., M.S. PINHEIRO E R.A. SILVA. **Efeito de diferentes dietas naturais no desenvolvimento inicial de *Caiman crocodilus yacare* (Crocodylia alligatoridae).** Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 22(3):406- 412, 1993.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal: Adaptação e meio ambiente.** Editora Santos, 611 p., 2002.

SCHMIDT-RHAESA, A. **The Evolution of Organ Systems.** Oxford University Press, NY, 385 p, 2007.

SCHREIBER, S.S.; ORATZ, M.; EVANS, C.; REFF, F.; KLEIN, L.; ROTHSCHILD, M.A. **Cardiac protein degradation in acute overload in vitro: Reutilization of amino acids.** Am J Physiol 224:338-345, 1973.

SCOTT, N.J., JR, AQUINO, A.L., LEE, A.F. **Distribution, habitats and conservation of the caimans (Alligatoridae) of Paraguay.** Vida Silvestre Neotropical 2, 43-51. 1990.

SECOR, S.M., STEIN, E.D., DIAMOND, J. **Rapid up regulation of snake intestine in response to feeding: a new model of intestinal adaptation.** Am. J. Physiol. 266, G695-G705. 1994

SECOR, S.M., DIAMOND, J. **Adaptive responses to feeding in Burmese pythons: pay before pumping.** J. Exp. Biol., 198, 1313-1325. 1995.

SECOR, S.M., DIAMOND, J. **Determinants of the postfeeding metabolic response in Burmese pythons (*Python molurus*).** Physiol. Zool. 70, 202-212. 1997a.

SECOR, S.M., DIAMOND, J. **Effects of meal size on postprandial responses in juvenile Burmese pythons (*Python molurus*).** Am. J. Physiol., 272, 902-912. 1997b

SECOR, S.M., DIAMOND, J. **A vertebrate model of extreme physiological regulation.** Nature, 395, 659-662. 1998.

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

SECOR, S.M. **Regulation of digestive performance: a proposed adaptive response.** Comp. Biochem. Physiol. 128A, 565-577. 2001

SECOR, S.M. **Digestive physiology of the Burmese python: broad regulation of integrated performance.** J. Exp. Biol. 211, 3767-3774. 2008.

SECOR, S. M. **Specific dynamic action: a review of the postprandial metabolic response.** J. Comp. Physiol. B., vol. 179: pp. 1–56, 2009.

SEEBACHER, F. **Heat transfer in a microvascular network: the effect of heart rate on heating and cooling in reptiles (*Pogonabarbata* and *Varanusvarius*).** J.Theor. Biol. 203, 97-109. 2000.

SEEBACHER, F., FRANKLIN, C.E. **Control of heart rate during thermoregulation in the heliothermic lizard, *Pogonabarbata*: importance of cholinergic and adrenergic mechanisms.** J. Exp. Biol. 204, 4361-4366. 2001.

SEEBACHER, F., GRIGG, G.C. **Changes in heart rate are important for thermoregulation in the varanid lizard, *Varanus varius*.** J. Comp. Physiol. B 171,395-400. 2001.

SEEBACHER, F., FRANKLIN, C.E. **Prostaglandins are important in thermoregulation of a lizard (*Pogonavitticeps*).** Proc. Roy.SocLond.B (Suppl) 270, S50-S53. 2003.

SEEBACHER, F., FRANKLIN, C.E. **Integration of autonomic and local mechanisms in regulating cardiovascular responses to heating and cooling in a reptile (*Crocodylus porosus*).** J. Comp. Physiol. B 174, 577-585. 2004a.

SEEBACHER, F., FRANKLIN, C.E. **Cardiovascular mechanisms during thermoregulation in reptiles.** Int.Congr. Ser. 1275, 242-249. 2004b.

SEEBACHER, F. **A review of thermoregulation and physiological performance in reptiles: what is the role of phenotypic flexibility?.** J Comp Physiol B 175: 453–461, 2005.

SEEHerman, H. J.; TAYLOR, C. R.; MALOY, G. M. O.; ARMSTRONG, R. B. **Design of the mammalian respiratory system. Measuring maximum aerobic capacity.** Resp. Physiol., vol. 44: pp 11—23. 1981.

Seymour, R. S., Bennett-Stamper, C. L., Johnston, S. D., Carrier, D. R. & Grigg, G. **Evidence for endothermic ancestors of crocodiles at the stem of archosaur evolution.** C. Physiol. Biochem. Zool. 77, 1051–1067, 2004.

SHELTON, G., JONES, D.R. **The Physiology of the Alligator Heart: The Cardiac Cycle** J. exp. Biol. 158, 539-564, 1991.

SHI, H., JACKSON, D.C. **Effects of anoxia, acidosis and temperature on the contractile properties of turtle cardiac muscle strips.** J. exp. Biol., 200: 1965-1973, 1997.

SHIELS, H.A., FARREL, A.P. **The effect of temperature and adrenaline on the relative importance of the sarcoplasmic reticulum in contributing  $Ca^{2+}$  to force development in isolated ventricular trabeculae from rainbow trout.** J. Exp. Biol., 200, 1607-1621. 1997.

SHIELS, H.A., FREUND, E.V., FARRELL, A.P., BLOCK, B.A. **The sarcoplasmic reticulum plays a major role in isometric contraction in atrial muscle of yellow tuna.** J. Exp. Biol. 202, 881-890. 1999.

SHIELS, H.A., FARRELL, A.P. **The effect of ryanodine on isometric tension development in isolated ventricular trabeculae from Pacific mackerel (*Scomber japonicus*).** Comp. Biochem. Physiol. A 125, 331-341. 2000.

SHIELS, H.A., VORNANEN, M., FARRELL, A.P. **Temperature-dependence of L-type  $Ca^{2+}$  channel current in atrial myocytes from rainbow trout.** The J. of Exp. Biol., 203, 2771-2780, 2000.

SHIELS, H.A., VORNANEN, M. & FARRELL, A.P. **The force-frequency relationship in fish hearts – a review.** Comp. Physiol. Biochem. A, 132, 811-826, 2002.

SHIELS, H. A **The Frank–Starling mechanism in vertebrate cardiac myocytes.** The Journal of Experimental Biology, Published by The Company of Biologists, 211, 2005-2013, 2008.

SMITH, E.N. **Heating and cooling rates of the American alligator, *Alligator mississippiensis*.** Physiol. Zool. 49, 37-48. 1976.

Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH), <http://www.sbherpetologia.org.br/>

STARCK, J.M., BEESE, K. **Structural flexibility of the intestine of burmese python in response to feeding.** J. Exp. Biol., 204, 325-335. 2001.

STARCK, J.M., BEESE, K. **Structural flexibility of the small intestine and liver of garter snakes in response to feeding and fasting.** J. Exp. Biol. 205, 1377-1388. 2002.

STARCK, J.M. **Structural flexibility of the digestive system of tetrapods. Patterns and processes on the level of cells and tissues.** In Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates (ed. J. M. Starck and T.Wang), Enfield, NH: Science Publishers, 175-200. 2005.

STARCK, J.M., WIMMER, C. **Patterns of blood flow during the postprandial response in ball python, *Python regius*.** J. Exp. Biol., 208, 881-889. 2005.

STARCK, J.M., CRUZ-NETO, A.P., ABE, A.S.R. **Physiological and morphological responses to feeding in broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*).** J. Exp. Biol. 210, 2033-2045. 2007.

STINNER, J.N. **Cardiovascular and metabolic responses to temperature in *Coluber constrictor*.** Am. J. Physiol. 22, R222-R227, 1987.

SUAREZ, R. K. **Hummingbird flight: sustaining the highest mass-specific metabolic rates among vertebrates.** Experientia, 48: 565-570, 1992.

SUMMERS, A.P. **Evolution: warm-hearted crocs.** Nature, 434: 833-834, 2005.

TAIGEN, T. L.; WELLS, K. D.; MARSH, R. L. **The enzymatic basis of high metabolic rates in calling frogs.** Physiol. Zool., vol 58: pp. 719-726, 1985.

THOMAZ, J. M.; MARTINS, N. D.; MONTEIRO, D. A.; RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. **Cardio-respiratory function and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia exposed to the organophosphate insecticide trichlorfon (NEGUVON®).** Ecotoxicol. Environm. Saf., vol. 72(5): pp. 1413-1424, 2009.

TIBBITS, G.F., HOVE-MADSEN, L., BERS, D.M. **Calcium transport and the regulation of cardiac contractility in teleosts: a comparison with higher vertebrates.** Can. J. Zool., 69: 2014-2019, 1991.

TIBBITS, G.F., PHILIPSON, K.D., KASHIHARA, H. **Characterization of myocardial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange in rainbow trout.** Am. J. Physiol., 262(31): C411-C417, 1992.

TIBBITS, G.F.; MOYES, C.D. & HOVE-MADSEN, L. **Excitation-contraction coupling in the teleost heart.** In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. & FARRELL, A.P. Fish Physiology: The Cardiovascular System. New York: Academic Press Inc. 12A, 267-303, 1992a.

TOTA, B. **Vascular and metabolic zonation in the ventricular myocardium of mammals and fishes.** Comparative Physiol. Biochem.; 76:423–437,1983.

TOTA, B. **Myoarchitecture and vascularization of the elasmobranch heart ventricle.** J. Exp. Zool. (Suppl.), v. 2, p. 122-135, 1989.

VAKILI, B.A.; OKIN, P.M.; DEVEREUX, R.B. **Prognostic implications of left ventricular hypertrophy.** Am. Heart J. 41:334-41, 2001.

VAN VLIET, B.N., WEST, N.H. **Phylogenetic trends in the baroreceptor control of arterial blood pressure.** Physiol. Zool. 67, 1284-1304. 1994

VASSALO, D. V. & MILL, J. G. **Mechanical of rest contractions in cardiac muscle.** Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam., 38: 87-97, 1988.

Vanzolini, P.E. **Répteis e anfíbios ameaçados de extinção no Brasil** In: Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil. 155-157, 1972.

VASSALO, D.V., MILL, J.G. **Mechanical of rest contractions in cardiac muscle.** Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam. 38, 87-97. 1988.

VASSALO, D.V., MILL, J.G., ABREU, G.R. **Control of rest potentiation in the ventricular myocardium by the  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchange mechanism.** ActaPhysiol. Pharmacol. Latinoam. 40, 129-136. 1990.

VERDADE, L.M. e M.E.B. SANTIAGO. **Status of captive population of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) in Brazil.** In: Crocodiles. Proceedings of the 11th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group. IUCN - The World Conservation Union, Gland, Switzerland, 2, 218-225, 1992.

VERDADE, L.M. *Caiman latirostris*. In: Ross, J.P. [Ed.]. **Crocodiles Status Survey and Conservation Action Plan.** IUCN - The World Conservation Union, Gland, Switzerland, 18-20, 1998.

VERDADE, L.M., LARRIERA, A., PIÑA, C.I. **Broad-snouted Caiman (*Caiman latirostris*).** In Crocodiles. Status Survey and Conservation Action Plan. Third Edition, ed. by S.C. Manolis and C. Stevenson. Crocodile Specialist Group: Darwin. 18-22, 2010.

VINEGAR, A.; HUTCHISON, V. H.; DOWLING, H. **Metabolism, energetics, and thermoregulation during brooding of snakes of genus Python (Reptilia, Boidae).** Zoologica. 55: 19-48, 1970.

VORNANEN, M. **Regulation of contractility of the fish (*Carassius carassius* L.) heart ventricle.** Comp. Biochem. Physiol. C, 94, 2, 477-483, 1989.

VORNANEN, M. **Effect of extracellular calcium on the contractility of warm- and cold-acclimated crucian carp heart.** J. Comp. Physiol., 165, 507-517, 1996.

VORNANEN, M. **L-type  $Ca^{2+}$ -current in fish cardiac myocytes: effects of thermal acclimation and -adrenergic stimulation.** J. exp. Biol., 201, 533-547, 1998.

VORNANEN, M.  **$Na^+/Ca^{2+}$  exchange current in ventricular myocytes of fish heart: Contribution to sarcolemmal  $Ca^{2+}$  influx.** J. Exp. Biol. 202, 1763-1775, 1999.

VORNANEN, M., SHIELS, H. A., FARRELL, A. P. **Plaslasticity of excitation-contraction coupling in fish cardiac myocytes.** Comp. Biochem. Physiol, 132: A827-A846, 2002

WALTON, M.; JAYNE, B. C.; BENNETT, A. F. **The energetic cost of limbless locomotion.** Science, 249: 524-527, 1990.

WANG, T; ALTIMIRAS, J.; AXELSSON, M. **Intracardiac flow separation in an in situ perfused heart from Burmese python (*Python molurus*).** Journal of Exp. Biol., 205: 2715–2723, 2002.

WANG, T., HUNG, C.C.Y., RANDALL, D.J., **The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine.** Published by The Company of Biologists. Annu. Rev. Physiol. 68, 223-251, 2006.

WEIBEL, E.R. **Oxygen demand and the size of respiratory structures in mammals.** In: Wood SC, Lenfant C, eds, Evolution of Respiratory Processes, New York, Basel: Marcel Dekker 13, 289-346, 1979.

WIER, W.G. **Cytoplasmic  $[Ca^{2+}]_i$  in mammalian ventricle: Dynamic control by cellular processes.** Annu. Rev. Physiol., 52: 467-485, 1990.

WIKMAN-COFFELT, J.; KAMIYAMA, T.; SALEL, A.F.; MASON, D.T. **Differential responses of canine myosin ATPase activity and tissue gases in the pressure-overloaded ventricle dependent upon degree of obstruction: Mild versus severe pulmonic and aortic stenosis.** In: "Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism". Ed. KOBAYASHI, T.; ITO, Y.; RONA, G. BALTIMORE. University Park Press, 12, 367-372, 1979.

WILBUR, C. G. **Effect of temperature on the heart of the Alligator.** Am. J. Physiology, 198: 861-863, 1960.

WRIGHT M.L., PIKULA A., CYKOWSKI L.J., KULIGA K. **Effect of melatonin on the anuran thyroid gland: follicle cell proliferation, morphometry, and subsequent thyroid hormone secretion in vivo after melatonin treatment in vivo.** Gen Comp Endocrinol 103:182–191, 1996.

XUE, X.H.; HRYSHKO, L.V.; NICOLL, D.A.; PHILIPSON, K.D., TIBBITS, G.F. **Cloning, expression, and characterization of the trout cardiac  $Na^+/Ca^{2+}$  exchanger.** Am. J. Physiol. 277, 46, C693-C700, 1999.

YUE, D.T. **Intracellular  $[Ca^{2+}]$  related to rate of force development in twitch contraction of heart.** Am. J. Physiol., 252: H760-H770, 1987.

ZAAR, M., LARSEN, E., WANG, T., **Hysteresis of heart rate and heat exchange of fasting and postprandial savannah monitor lizards (*Varanus exanthematicus*).** Comp.Biochem. Physiol. 137A, 675-682, 2004.