



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
INSTITUTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTES  
EDUCAÇÃO FÍSICA - BACHARELADO**

**JUAN DE SÁ RORIZ CAMINHA**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO NA CONTRATILIDADE  
INTESTINAL EM CAMUNDONGOS SWISS**

**FORTALEZA**

**2018**

JUAN DE SÁ RORIZ CAMINHA

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO NA CONTRATILIDADE  
INTESTINAL EM CAMUNDONGOS *SWISS*

Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Programa de Graduação em Educação Física (Bacharelado) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de graduado em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima

Coorientador: Prof. Esp. José de Oliveira Vilar Neto

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C191e Caminha, Juan de Sá Roriz.  
Efeitos do exercício físico agudo na contratilidade intestinal em camundongos swiss / Juan de Sá Roriz  
Caminha. – 2018.  
31 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Educação Física e Esportes, Curso de Educação Física, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima.  
Coorientação: Prof. Me. José de Oliveira Vilar Neto.

1. Exercício agudo. 2. Sedentário. 3. Contratilidade intestinal . 4. Acetilcolina. I. Título.

CDD 790

---

**FICHA DE APROVAÇÃO**

**JUAN DE SÁ RORIZ CAMINHA**

**EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO NA CONTRATILIDADE  
INTESTINAL EM CAMUNDONGOS SWISS.**

**APROVADO, EM: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_**

---

Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima - orientador  
Faculdade de medicina – FAMED

---

Prof. esp. José de Oliveira Vilar Neto  
Instituto de Educação Física e Esportes

---

Prof. Ms. Tiago Santos Mendes  
Departamento de fisiologia farmacologia – UFC

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, a minha mãe Suêrda, minha namorada Fátima Virgínia, meu pai Robério e aos demais grandes amigos e parceiros que me apoiaram, dispostos aqui na ordem em que conheci durante minha jornada acadêmica André Maia, Daniel Vieira, Felipe Moura, Tiago Santos, Marcos Aurélio, Thiago Menezes, Cássia Rodrigues, assim como aos demais que eu possa estar esquecendo.

Aos professores que contribuíram fortemente para minha formação e paixão pela ciência e pesquisa ao longo do curso de Educação Física, Prof. Dr. Claudio Assumpção, Prof(a). Dra. Luciana Catunda, Prof. Dr. Alex Ferraz, Prof. Dr. Marcos Campos, Prof Dr. Eduardo.

À UFC, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de iniciação científica.

Ao Laboratório de Estudos da Fisiofarmacologia Gastrointestinal - LEFFAG, todos os integrantes, desde alunos de Iniciação científica, até os Doutorandos. além dos professores Responsáveis, Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares e Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza, por abrirem as portas e permitirem que eu fizesse parte deste fantástico grupo.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima, pela excelente orientação, conselhos e disponibilidade.

Aos professores participantes da banca examinadora Tiago Santos Mendes, José de oliveira Vilar e Marcos Aurélio de Sousa Lima pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

*“Mas ele foi ferido por causa das nossas transgressões, e esmagado por causa das nossas iniquidades; o castigo que nos traz a paz estava sobre ele, e pelas suas pisaduras fomos sarados.”*

*(Isaías 53:5)*

## RESUMO

Os estudos das repercussões fisiológicas promovidas pelo exercício físico são recorrentemente direcionados para os sistemas cardiovascular, respiratório e muscular principalmente, sendo a sua repercussão do exercício no trato gastrointestinal (TGI) de um modo geral negligenciada. A partir disto, visamos avaliar os efeitos do exercício físico agudo na contratilidade do músculo liso intestinal em amostras isoladas de íleo de camundongos *swiss*. Para avaliação da responsividade do tecido, as preparações de intestino foram pré-contraindadas por Cloreto de Potássio (KCl) (60 mM), lavadas e logo após iniciada uma curva com concentrações cumulativas de Acetilcolina (ACh), ( $10^{-9}$  –  $10^{-2}$ M). A resposta contrátil em gramas (g) do intestino delgado de camundongos expostos ao treinamento resistido (T) foi significativamente ( $p < 0,05$ , T de Student) maior em relação ao grupo controle sedentário (S) nas doses de  $10^{-4}$ M (T=  $1,186 \pm 0,015$  vs S=  $0,901 \pm 0,048$ ),  $10^{-3}$ M (T=  $1,261 \pm 0,011$  vs S=  $0,938 \pm 0,054$ ) e  $10^{-2}$ M (T=  $1,366 \pm 0,016$  vs S=  $0,898 \pm 0,067$ ). Quando comparamos a variação de tensão ( $\Delta g$ ) promovida pelo estímulo do acomplamento farmacomecânico (ACh), obtivemos uma diferença significativa nas mesmas concentrações demonstradas anteriormente,  $10^{-4}$ M (T=  $0,432 \pm 0,021$  vs S=  $0,255 \pm 0,033$ ),  $10^{-3}$ M (T=  $0,582 \pm 0,031$  vs S=  $0,294 \pm 0,031$ ), e  $10^{-2}$ M (T=  $0,714 \pm 0,017$  vs S=  $0,216 \pm 0,037$ ). Assim como porcentagem da variação de tensão ( $\% \Delta g$ ) em relação ao KCl, obtendo uma diferença significativa nas mesmas concentrações de ACh,  $10^{-4}$ M (T=  $59,5 \pm 3,295$  vs S=  $42,7 \pm 2,345$ ),  $10^{-3}$ M (T=  $70,33 \pm 2,626$  vs S=  $47,06 \pm 4,218$ ) e  $10^{-2}$ M (T=  $83,78 \pm 3,098$  vs S=  $52,52 \pm 3,512$ ). Concluiu-se que o exercício físico demonstrou diferença significativa em comparação a contração em preparações de íleo de animais sedentários. Em relação a comparação com a variação de tensão promovida por KCl, em porcentagem, houve também uma diferença significativa entre os grupos, a partir disto observamos que no presente estudo o exercício físico agudo se mostrou um agente estimulador da resposta contrátil no músculo liso intestinal, corroborando com os achados literários que demonstram importantes alterações intestinais promovidas pelo exercício mesmo em caráter agudo.

**Palavras-chave:** Exercício agudo, sedentário, contratilidade intestinal, Acetilcolina.

## ABSTRACT

Studies of the physiological repercussions promoted by physical exercise are frequently directed towards the cardiovascular, respiratory and muscular systems, and the repercussion of exercise in the gastrointestinal tract (GIT) is generally neglected. From this, we aimed to evaluate the effects of acute exercise on intestinal smooth muscle contractility in isolated ileum samples of swiss mice. To assess tissue responsiveness, the gut preparations were precontracted by Potassium chloride (KCl) (60 mM), washed and soon after starting a curve with cumulative concentrations of Acetylcholine (ACh), ( $10^{-9}$ - $10^{-2}$ M). The contractile response in grams (g) of the small intestine of mice exposed to resistance training (T) was significantly higher ( $p < 0.05$ , Student's T test) than the  $10^{-4}$ M sedentary control group (S)  $T = 1.186 \pm 0.015$  vs  $S = 0.901 \pm 0.048$ ),  $10^{-3}$ M ( $T = 1.261 \pm 0.011$  vs  $S = 0.938 \pm 0.054$ ) and  $10^{-2}$ M ( $T = 1.366 \pm 0.016$  vs  $S = 0.898 \pm 0.067$ ). When we compared the tension variation ( $\Delta g$ ) promoted by the pharmacomechanical coupling stimulus ACh, we obtained a significant difference in the same concentrations previously demonstrated,  $10^{-4}$ M ( $T = 0.432 \pm 0.021$  vs  $S = 0.255 \pm 0.033$ ),  $10^{-3}$ M ( $T = 0.582 \pm 0.031$  vs  $S = 0.294 \pm 0.031$ ), and  $10^{-2}$ M ( $T = 0.714 \pm 0.017$  vs.  $S = 0.216 \pm 0.037$ ). As a percentage of the tension variation ( $\% \Delta g$ ) in relation to KCl, obtaining a significant difference in the same concentrations of ACh,  $10^{-4}$ M ( $T = 59.5 \pm 3,295$  vs  $S = 42,7 \pm 2,345$ ),  $10^{-3}$ M ( $T = 70.33 \pm 2.266$  vs  $S = 47.06 \pm 4.218$ ) and  $10^{-2}$ M ( $T = 83.78 \pm 3.098$  vs  $S = 52.52 \pm 3.512$ ). It was concluded that physical exercise demonstrated a significant difference in comparison to the contraction in ileum preparations of sedentary animals. Regarding the comparison with the variation of tension promoted by KCl, in percentage, there was also a significant difference between the groups, from this we observed that in the present study the acute exercise was shown to be a stimulator of the contractile response in the intestinal smooth muscle, corroborating the literary findings that demonstrate important intestinal alterations promoted by the exercise even in acute character.

**Key-words:** Acute Exercise, Sedentary, Contractility, Acetylcholine.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Feixe de fibras musculares lisas com os denominados nêxus, regiões das gap-junctions intercelulares que acoplam eletricamente as células do feixe..... 19
- Figura 2 – Plexo submucoso (ou plexo de Meissner) está localizado entre a camada muscular da mucosa e o músculo circular da camada muscular externa. O plexo mientérico (ou plexo de Auerbach) está localizado entre as camadas circular e longitudinal da camada muscular externa. Além desses dois plexos que têm os gânglios, também estão presentes: plexo da mucosa, muscular profunda e plexo terciário ..... 21
- Figura 3 – O neurônio pré-ganglionar libera Ach, que age nos receptores nicotínicos tipo N2 na membrana pós-sináptica do neurônio pós-ganglionar. No caso do neurônio pós-ganglionar parassimpático, o neurotransmissor é Ach, porém o receptor pós-sináptico é um receptor muscarínico (p.ex., GPCR) de um dos cinco subtipos (M1 a M5) ..... 22

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Tensão (g) ao longo da curva de ACh sobre o músculo liso intestinal de animais submetidos ao exercício (treinado) em comparação aos animais do grupo sedentário (controle) ..... 26
- Gráfico 2 – Porcentagem da Variação de Tensão ao longo da curva de ACh em comparação a contração induzida por KCl ( $\% \Delta gKCl$ ) sobre o músculo liso intestinal de animais submetidos ao exercício (treinado) em comparação aos animais do grupo sedentário (controle) ..... 27
- Gráfico 3 – Variação de Tensão ao longo da curva de ACh em comparação a contração induzida por KCl ( $\Delta gKCl$ ) sobre o músculo liso intestinal de animais submetidos ao exercício (treinado) em comparação aos animais do grupo sedentário (controle) ..... 28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores grupo treinado .....	25
Tabela 2 – Valores grupo sedentário .....	25



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	16
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>REPERCUSSÕES FISIOLÓGICAS DO EXERCÍCIO FÍSICO</b> .....	17
<b>3.1.1</b>	<b>Repercussões Gerais</b> .....	17
<b>3.1.2</b>	<b>Exercício físico agudo e o trato gastrointestinal</b> .....	17
<b>3.2</b>	<b>MECANISMOS DE CONTRAÇÃO DO MÚSCULO LISO</b> .....	18
<b>3.3</b>	<b>CONTRATILIDADE INTESTINAL</b> .....	20
<b>3.4</b>	<b>SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO E COLINÉRGICO</b> .....	20
<b>3.4.1</b>	<b>Sistema Nervoso Entérico</b> .....	20
<b>3.4.2</b>	<b>Sistema Colinérgico</b> .....	21
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	23
<b>4.1</b>	<b>ANIMAIS</b> .....	23
<b>4.2</b>	<b>MODELO DE EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO</b> .....	23
<b>4.3</b>	<b>PARÂMETROS A SEREM AVALIADOS NO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO</b> .....	24
<b>4.3.1</b>	<b>Limiar de lactato</b> .....	24
<b>4.4</b>	<b>MEDIDAS DE CONTRATILIDADE</b> .....	24
<b>4.5</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	24
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	25
<b>5.1</b>	<b>COMPARAÇÃO DAS RESPOSTAS CONTRÁTEIS DO MUSCULO LISO INTESTINAL DE ANIMAIS EXPOSTOS AO EXERCÍCIO AGUDO VS SEDENTÁRIOS AO ESTÍMULO DE ACETILCOLINA (ACH) IN VITRO</b> .....	25
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	29
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	30
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31

## 1. INTRODUÇÃO

Os estudos das repercussões fisiológicas do exercício físico são recorrentemente direcionados para os sistemas cardiovascular, respiratório e muscular principalmente, sendo a sua repercussão no trato gastrointestinal (TGI) de um modo geral negligenciada, daí podemos observar a importância de se analisar de modo mais direcionado, as respostas do exercício geradas no TGI sejam elas benéficas ou mesmo seus efeitos adversos. (LIRA et al, 2006).

O músculo liso do trato gastrointestinal (TGI) está sujeito a vários fatores que servem como reguladores de suas ações, sendo uma complexa rede de fatores inibitórios ou estimulantes, como o óxido nítrico (NO) e o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) importantes componentes do relaxamento (VANNESTE et al, 2007), ou a motilina, outro hormônio peptídico intestinal, que atua como importante estimulante para o desencadeamento de contrações principalmente no intestino delgado. (CHAPMAN et al, 2016).

O exercício físico atua como um fator externo sobre o modo como o músculo liso intestinal responde a esses estímulos contráteis de hormônios ou neurotransmissores, assim como propicia um estado de isquemia-reperfusão, ocorrendo durante sua prática, um direcionamento do fluxo sanguíneo principalmente aos músculos esqueléticos e pele, dessa forma o intestino e áreas adjacentes têm seu aporte sanguíneo reduzido temporariamente e posteriormente, na fase pós-exercício, ocorre uma reperfusão tecidual. (LIRA et al, 2008).

Segundo Szucs et al, 2016, essa regulação da motilidade gastrointestinal é essencial para a manutenção da homeostase, um fator importante, é a atuação das células de Cajal, auxiliando o SNE, pela sua geração de potenciais de ação contínuos através de sinais elétricos.

O sistema nervoso entérico (SNE) é o principal responsável pelas respostas neurais relacionadas ao músculo liso e todo o trato gastrointestinal (BORON e BOULPAEP, 2015), auxiliado pela modulação a partir dos sistemas simpático e parassimpático. No que diz respeito a motilidade, as alterações na liberação de neurotransmissores como a noraepinefrina e a acetilcolina, ambos com ações diretas sobre a contração muscular, podem acarretar mudanças nas respostas fisiológicas, como o tempo ou a intensidade da contração, interferindo assim no modo como os mecanismos são desencadeados, por exemplo na absorção dos nutrientes. (SHAN LI et al, 2006).

Com base nos estudos analisados, observa-se que o exercício físico, pode ser um fator preventivo para eventos patológicos gastrointestinais, porém, o exercício físico agudamente pode promover eventos de isquemia-reperfusão acentuada do TGI, estresse

mecânico, além de um possível evento inflamatório, pode ainda promover refluxo gastroesofágico, constipação e eventos diarreicos, seus efeitos na motilidade intestinal são controversos, diminui o tempo de trânsito no intestino delgado, porém, em contrapartida aumenta o tempo de trânsito no cólon. A partir das informações obtidas e lacunas na literatura, observamos a necessidade de estudos que avaliem a capacidade de modulação que o exercício agudo pode promover na resposta intestinal a estímulos contráteis, por meio da exposição de animais a um ambiente treinamento agudo simulando o que ocorre na realidade dos seres humanos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

- Avaliar o efeito do exercício físico agudo sobre a contratilidade intestinal.

### **2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Investigar a resposta dos músculos lisos do intestino ao estímulo induzido por agonistas colinérgicos (acetilcolina) após uma sessão aguda de exercício físico;

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 REPERCUSSÕES FISIOLÓGICAS DO EXERCÍCIO FÍSICO**

##### **3.1.1 Repercussões Gerais**

O exercício físico é um importante meio para redução de riscos de eventos cardíacos, desajustes hormonais e doenças metabólicas em geral, assim como é um agente crucial na melhoria da saúde óssea como, por exemplo, manutenção da densidade mineral, e aprimoramento do condicionamento muscular, tanto o exercício aeróbico como resistido possuem a capacidade de otimizar a síntese de proteínas musculares assim como biogênese mitocondrial. (LIRA *et al*, 2008; OLIVEIRA & BURINI, 2009). Segundo Marinho *et al*, (2014), o exercício tem como uma de suas principais funções fisiológicas, o aumento da expressão de proteínas intracelulares da via de sinalização da insulina, sendo os principais agentes desse processo, os transportadores de glicose no músculo esquelético.

No trato gastrointestinal, dentre outras coisas, o exercício físico promove uma redução do fluxo sanguíneo intestinal, assim como alteração da concentração plasmática de hormônios essenciais para o funcionamento correto do TGI. (LIRA *et al*, 2006).

##### **3.1.2 Exercício físico agudo e o trato gastrointestinal**

Cammack *et al*. 1982, em estudo realizado com 7 pacientes saudáveis, mostrou que não houve diferença significativa no trânsito intestinal, principalmente no intestino delgado desses pacientes, quando submetidos a seis horas de exercício aeróbico intermitente (bicicleta ergométrica), considerando-se uma intensidade moderada pois os pacientes foram previamente expostos a um período de adaptação.

Em estudo realizado por Lira *et al*, 2008, o exercício físico aeróbico se mostrou um agente potencialmente modulador das respostas contráteis do intestino delgado em camundongos C57BL/6, mais especificamente do íleo, tendo sido observadas alterações tanto nas respostas eletromecânicas (KCl) assim como fármaco-mecânicas (acetilcolina, 2-[lisina]-angiotensina II e bradicinina), porém esse estudo mostrou uma ação crônica, representada por 55 dias de treinamento aeróbico moderado.

De Vries *et al*. 2001, em uma revisão sobre os efeitos do exercício físico no trato gastrointestinal, mostraram que existe uma grande contradição nos dizeres científicos a respeito do exercício físico agudo.

### 3.2 MECANISMOS DE CONTRAÇÃO DO MÚSCULO LISO

A musculatura lisa é formada por células de formato fusiformes, de núcleo central, e não estriadas, presente em todos os órgãos ocos. Podem ser classificadas como unitárias presente na parede de órgãos viscerais, ditas assim por contrair-se como uma única unidade, ou multiunitárias, encontradas em algumas partes dos olhos, pele, e vasos, comportando-se como células ou grupo de células dependentes (BERNE e LEVY, 2009; BORON e BOULPAEP, 2015).

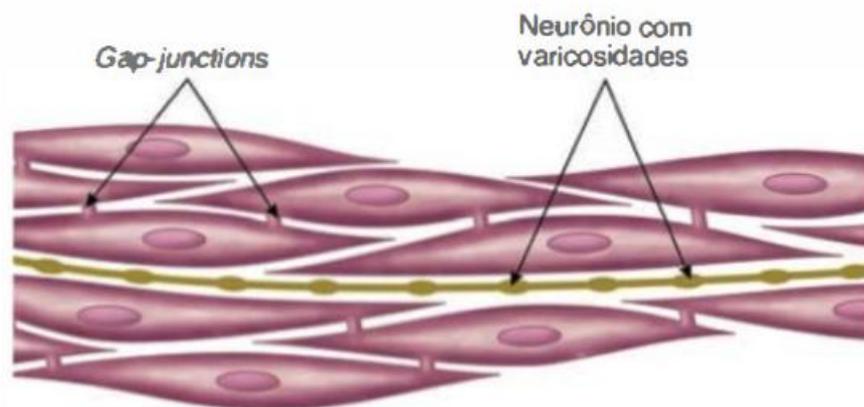
A musculatura lisa é encontrada em praticamente todo TGI, classificada como musculatura lisa unitária visceral, que se contraem em unidade, por sua formação em feixes envolta do tecido conjuntivo, que são inervados por uma única célula neuronal com varicosidades ao longo do axônio formando uma unidade motora (Figura 1.). As células musculares lisas unitárias também contêm junções intercelulares de baixa resistência elétrica que permitem a propagação rápida do potencial de ação de célula a célula, através dessas junções também ocorre a passagem de moléculas de baixo peso molecular, como os segundos mensageiros intracelulares, todos esses mecanismos permitem que os feixes se contraíam simultaneamente, esta contração altera a dimensão dos órgãos, os quais estão presentes, resultando em uma propulsão das substâncias de seu conteúdo, como ocorre com o peristaltismo no intestino delgado. (AIRES, 2012; BERNE e LEVY, 2009; BORON e BOULPAEP, 2015).

O acoplamento excitação-contração do músculo liso é regulado pela concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ), onde seu aumento resulta na contração e a sua diminuição provoca o relaxamento desta musculatura. Além disso, a contração e o relaxamento depende da interação dos filamentos finos de actina com os filamentos grossos de miosina, formando pontes cruzadas, este aparato contrátil é responsável por controlar o volume e o tamanho dos órgãos em que estão presentes (AIRES, 2012; BERNE e LEVY, 2009; HALL, 2011).

A contração da musculatura lisa ocorre quando há o aumento da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , que irá ativar o receptor de rianodina (RYR, do inglês *Ryanodine receptor*) presente no retículo sarcoplasmático, elevando ainda mais a  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  no mioplasma. O aumento  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  também resulta na ligação de 4 íons  $\text{Ca}^{2+}$  a proteína calmodulina, formando o complexo  $4\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina, que ativa a enzima quinase cadeia leve de miosina (MLCK, do inglês *myosin light chain kinase*), esta, por sua vez, fosforila a cadeia leve de miosina, modificando a conformação da cabeça da miosina, aumentando sua atividade de ATPase, que hidrolisa uma molécula de adenosina trifosfato (ATP), possibilitando sua interação com os filamentos de actina, culminando assim na contração do músculo liso (BERNE e LEVY, 2009; BORON e

BOULPAEP, 2015).

Todo esse mecanismo do  $\text{Ca}^{2+}$  ocorre após sua entrada na célula muscular lisa, que pode acontecer por três diferentes tipos de canais. Através dos canais de cálcio operados por voltagem (VOCCs, do inglês *voltage-operated calcium channels*), ativados por estímulos elétricos (despolarização de membrana), também chamados de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  do tipo L que estão localizados nas cavéolas, esses canais fazem parte do chamado acoplamento eletromecânico. O influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  também pode ocorrer através dos canais de cálcio operados por receptor (ROCCs, do inglês *receptor-operated calcium channels*), estes são ligados a uma proteína Gq de membrana, e pode ser ativado por diversos tipos de agonistas, como acetilcolina, epinefrina, noraepinefrina, adenosina, entre outros, que ao se ligarem ao receptor, ativam a proteína Gq que atua via cascata de segundos mensageiros, através da ativação da fosfolipase C, enzima que hidrolisa os fosfolípidios de membrana, bifosfato de fosfatidilinositol (PIP<sub>2</sub>), que têm como produtos da reação, o trifosfato 1,4,5 de inositol (IP<sub>3</sub>) e o diacilglicerol (DAG), o IP<sub>3</sub> ativará receptores específicos no retículo sarcoplasmático que liberam  $\text{Ca}^{2+}$  para o mioplasma. A diminuição da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  no retículo sarcoplasmático, ativam os canais de cálcio operados por estoque (SOCCs, do inglês *store-operated calcium channels*) que fazem a interposição do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  através da membrana, mantendo a  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  elevada e também reabastecendo as reservas de  $\text{Ca}^{2+}$  no sarcolema. Ambos os ROCCs e os SOCCs são independentes de voltagem, fazendo parte do acoplamento farmacomecânico (BERNE e LEVY, 2009; BORON e BOULPAEP, 2015).



**Figura1.** Feixe de fibras musculares lisas com os denominados nêxus, regiões das gap-junctions intercelulares que acoplam eletricamente as células do feixe.

Fonte: SANIOTO, 2012.

### 3.3 CONTRATILIDADE INTESTINAL

O papel do intestino no organismo como já visto, possui uma importância que vai além de funções como digestão e absorção de nutrientes, por exemplo, em sua capacidade de exibir respostas imunes, e agir de modo semelhante a uma barreira contra agentes nocivos. O intestino possui três camadas principais de diferentes tecidos, a camada epitelial, a lâmina própria e a camada muscular da mucosa. (DUNCAN e GRANT, 2003).

O trato gastrintestinal possui um sistema nervoso próprio denominado sistema nervoso entérico (SNE). Este sistema controla essencialmente os movimentos e a secreção gastrintestinal. O sistema nervoso entérico é formado principalmente por dois plexos denominados de plexo mioentérico (plexo de Auerbach) e plexo submucoso (plexo de Meissner) (VASINA et al., 2006; GANONG, 2003).

O plexo mioentérico situa-se entre as camadas musculares circulares internas e longitudinais externa da parede muscular; é responsável principalmente pelos movimentos gastrointestinais. Além dessa inervação intrínseca, Existe também uma inervação extrínseca, representada pelo sistema nervoso simpático e parassimpático. A administração de acetilcolina (neurotransmissor parassimpático) amplia a frequência de pré-potenciais e potenciais de ação, intensificando a motilidade. Já a noradrenalina (estimulação simpática) age nos pré-potenciais e os potenciais de ação inibindo-os, desse modo reduzindo a atividade contrátil e a motilidade gastrointestinal (GANONG, 2003).

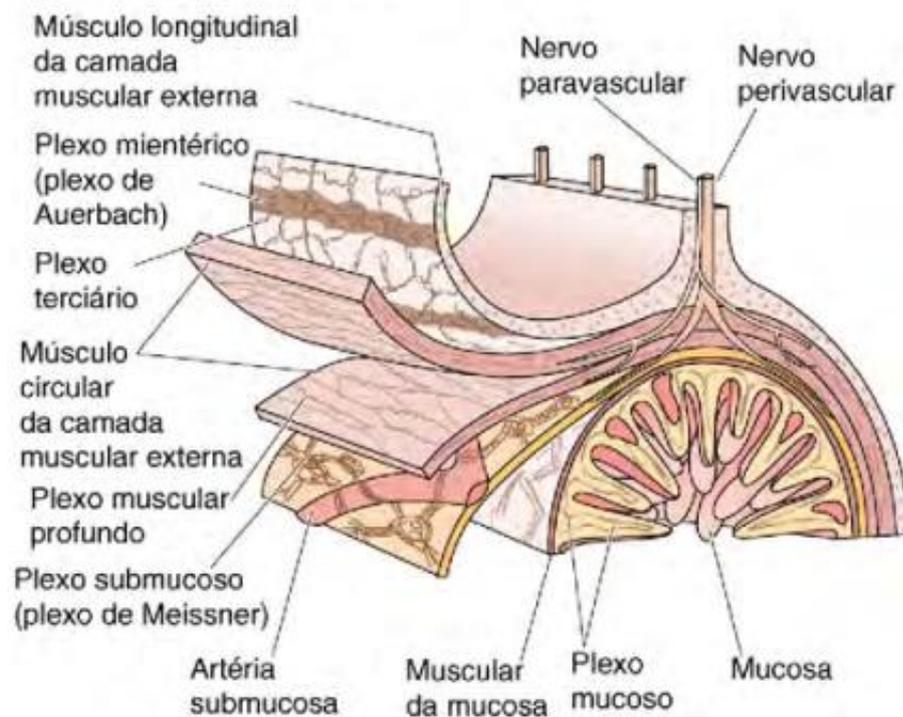
### 3.4 SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO E COLINÉRGICO

#### 3.4.1 Sistema Nervoso Entérico

O plexo mioentérico consiste principalmente em cadeias lineares de numerosos neurônios interconectados que se estendem por todo o comprimento do trato gastrintestinal. Quando estimulado seus principais efeitos são: aumento da contração tônica, maior intensidade das contrações rítmicas, e aumento da condução das ondas excitatórias ao longo da parede intestinal, resultando em movimentos mais rápidos das ondas peristálticas (Figura 2.) (MEERVELD E JOHNSON, 2017; VASINA *et al.*, 2006).

Até recentemente, as ondas lentas, ou a mudança rítmica do potencial de membrana das células do músculo liso, era atribuída a propriedades intrínsecas do músculo liso. Atualmente sabemos que as ondas lentas, ou marca passo das atividades do trato gastrintestinal, são gerados por um tipo especializado de células, chamadas de célula intersticial de Cajal ou simplesmente células de Cajal. Elas estão localizadas ao longo de todo

o trato digestivo, adjacentes a fibras nervosas e miócitos. Localizam-se na musculatura longitudinal, circular, plexo mioentérico e plexo submucoso. As células Intersticiais de Cajal são consideradas facilitadoras da propagação de estímulos elétricos e mediadoras da neurotransmissão na parede intestinal (GANONG, 2003; VASINA *et al.*, 2006; SZUCS *et al.*, 2016).



**Figura 2.** Plexo submucoso (ou plexo de Meissner) está localizado entre a camada muscular da mucosa e o músculo circular da camada muscular externa. O plexo mioentérico (ou plexo de Auerbach) está localizado entre as camadas circular e longitudinal da camada muscular externa. Além desses dois plexos que têm os gânglios, também estão presentes: plexo da mucosa, muscular profunda e plexo terciário.

Fonte: BORON e BOULPAEP, 2015.

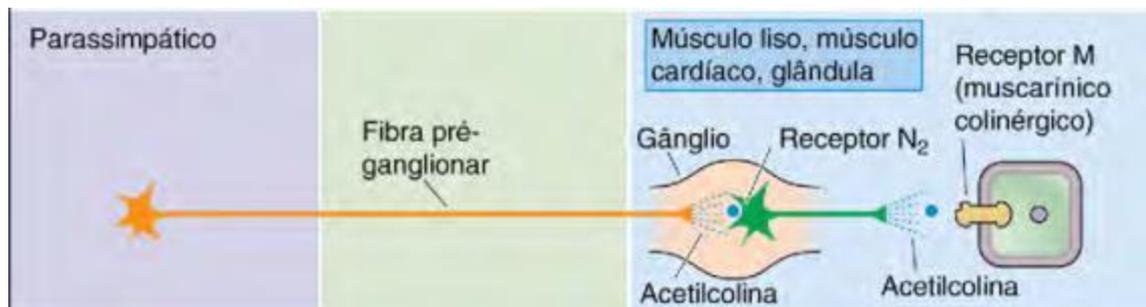
### 3.4.2 Sistema Colinérgico

A acetilcolina (ACh) é o neurotransmissor da junção neuromuscular de vertebrados, do sistema nervoso autônomo e de alguns neurônios do sistema nervoso central, constituindo-se o principal neurotransmissor das sinapses colinérgicas. No sistema nervoso autônomo, é o transmissor das fibras pré e pós-ganglionares parassimpáticas e fibras pré-ganglionares simpáticas, controlando inúmeras funções responsáveis pela homeostase como a contração da musculatura intestinal, ritmo cardíaco e secreção de alguns hormônios.

Além disso, A ACh é o principal neurotransmissor de efeito regulatório tanto na

função secretória quanto atividade contrátil do músculo liso gastrointestinal, desempenhando suas funções através de dois tipos de receptores (receptores nicotínicos e receptores muscarínicos) que são amplamente distribuídos nos mais diversos tipos de células (GANONG, 2003; MONTGOMERY et al, 2015; BORON e BOULPAEP, 2015).

A atividade colinérgica no TGI, pode sofrer modulação por fatores extrínsecos relacionadas à síntese, liberação ou acúmulo de ACh na fenda sináptica, além de alterações da sua interação com o receptor alvo, essas alterações são apresentadas em doenças com acometimento neurológico como, disfunção autonômica, síndrome miastênica, além das doenças de Alzheimer e de Parkinson, porém além disso, a literatura sugere que outros fatores não patológicos podem alterar a resposta desencadeada pela ACh especificamente no TGI (SCHWARTZ *et al.* 1992; VINCENTE *et al.*, 2001; ZHOU *et al.*, 2001; LIRA, 2008).



**Figura 3.** O neurônio pré-ganglionar libera ACh, que age nos receptores nicotínicos tipo N<sub>2</sub> na membrana pós-sináptica do neurônio pós-ganglionar. No caso do neurônio pós-ganglionar parassimpático, o neurotransmissor é ACh, porém o receptor pós-sináptico é um receptor muscarínico (p.ex., GPCR) de um dos cinco subtipos (M1 a M5).

Fonte: BORON e BOULPAEP, 2015.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ANIMAIS.

Foram utilizados camundongos *swiss* machos, vindos do biotério setorial do departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, com massa variando entre 25 a 30g, os quais foram mantidos em gaiolas, sob condições de temperatura e umidade ideais, sendo oferecido água e ração *ad libitum*. Todos os animais foram tratados em conformidade com as normas de manipulação de animais de laboratório preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Todos os procedimentos aqui descritos foram analisados e tiveram a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFC, sob número de protocolo (121/2017).

### 4.2 MODELO DE EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO.

O protocolo de exercício físico agudo consiste de uma sessão de natação individual em grupos de 8 animais, realizado em tanques cilíndricos de diâmetro interno de 25cm e 40cm de profundidade, com temperatura de água em  $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Foram utilizados 16 animais, os mesmos foram divididos em dois grupos: grupo sedentário (S) (n=8) não foi levado a prática do exercício físico; e o grupo treinado (T) (n=8), ambos receberam dieta padrão durante os 5 dias de adaptação anteriores a execução do protocolo de exercício, sendo submetidos a um jejum prévio de 8 horas, o grupo de animais treinados realizou uma única sessão de exercício de 1 hora com uma sobrecarga adicional correspondente a 5% da sua massa corporal. Previamente a realização do exercício, os camundongos foram expostos ao meio líquido para prévia adaptação, sendo inseridos durante 5 dias consecutivos no tanque de natação com água na altura do tórax, em intervalos que irão aumentar a cada dia, sendo dia 1, 10 minutos, dia 2, 20 minutos, dia 3, 30 minutos, dia 4, 40 minutos, dia 5, 40 minutos. Tal procedimento irá simular o estresse do meio líquido recebido pelos animais. (MARINHO et al. 2014); (SILVA MT et al. 2014).

### **4.3 PARÂMETROS A SEREM AVALIADOS NO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO**

#### **4.3.1 Limiar de lactato**

O lactato é um metabólito produzido pelas células musculares durante o exercício, age como um substrato essencial para o metabolismo oxidativo nos músculos esquelético e cardíaco. (DUVILLARD, 2001). O limiar de lactato é referente a um momento anterior ao momento de aumento exponencial do lactato sanguíneo, sua utilização como parâmetro de esforço tem como objetivo mostrar a quebra de equilíbrio que é presente no estado basal pré-exercício. (RAFO et al, 2008).

Para a análise do lactato sanguíneo, foram cortados 2 mm distais da cauda dos animais. A primeira gota de sangue foi descartada para evitar contaminação. A dosagem do sangue coletado foi feita imediatamente após a sessão de treinamento agudo, através do método eletroenzimático em um equipamento lactímetro, para determinação da concentração de lactato sanguíneo, expressa em mM. O procedimento foi realizado com o auxílio de lactímetro portátil (Accutrend Roche).

### **4.4 MEDIDAS DE CONTRATILIDADE**

Foram utilizadas tiras longitudinais de íleo (1-1,5 cm), que foram lavadas para limpeza e retirada de resíduos com solução nutritiva de Krebs (pH= 7.4), composição (mmol/l): 128 NaCl, 4,5 KCl, 2,5 CaCl<sub>2</sub>, 1,18 MgSO<sub>4</sub>, 1,18 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub> e 5,55 glicose. As tiras foram montadas em câmaras orgânicas com volume de 10 ml, contendo solução de Krebs, a temperatura de 37°C, pH= 7.4, oxigenadas com mistura de 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de O<sub>2</sub>, uma das extremidades da tira foi presa à base fixa e a outra a um transdutor de força isométrico (modelo Panlab S.L, Barcelona, Espanha). Foi aplicada ao tecido uma tensão de 1g por um período de equilíbrio de 60 minutos (tensão basal em gramas do grupo treinado: 0,827 ± 0,048 vs grupo controle: 0,706 ± 0,059). Para avaliar a responsividade do tecido utilizamos KCl na concentração de 60mM. Após constatação da responsividade, foi feita uma curva concentração-resposta de agonistas colinérgicos, ACh (10<sup>-9</sup> - 10<sup>-2</sup>M).

### **4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os valores foram expressos pelas médias aritméticas ± erro padrão da média (E.P.M.), com a representação do número de observações experimentais (n). A significância estatística foi determinada pelo teste *t* de *student* e considerada quando foi menor que 5% (p < 0,05). Os testes foram aplicados e gráficos foram confeccionados com a utilização do programa GraphPad Prism7.00 (Graphpad Software Inc., EUA).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 COMPARAÇÃO DAS RESPOSTAS CONTRÁTEIS DO MUSCULO LISO INTESTINAL DE ANIMAIS EXPOSTOS AO EXERCÍCIO AGUDO VS SEDENTÁRIOS AO ESTÍMULO DE ACETILCOLINA (ACh) IN VITRO

Para avaliação da responsividade do tecido, as preparações de intestino foram pré-contráidas por KCl (60 mM). Após a confirmação da contração por KCl, o tecido foi lavado e iniciada uma curva com concentrações cumulativas de ACh ( $10^{-9}$  –  $10^{-2}$ M), a resposta contrátil em gramas (g) do intestino delgado de camundongos expostos ao treinamento resistido foi significativamente ( $p < 0,05$ , t de Student) maior em relação ao grupo controle sedentário nas doses de  $10^{-4}$ M,  $10^{-3}$ M e  $10^{-2}$ M (Gráfico 1) (Tabela 1 e 2). Quando comparamos de variação de tensão ( $\Delta$ g) promovida pelo estímulo do acomplamento farmacomecânico (ACh), obtivemos uma diferença significativa ( $p < 0,05$ , t de Student) nas mesmas concentrações demonstradas anteriormente,  $10^{-4}$ M,  $10^{-3}$ M e  $10^{-2}$ M (Gráfico 2) (Tabela 1 e 2). Assim como porcentagem da variação de tensão ( $\% \Delta$ gKCl) em relação ao KCl, obtendo uma diferença significativa ( $p < 0,05$ , t de Student) nas mesmas concentrações de ACh,  $10^{-4}$ M,  $10^{-3}$ M e  $10^{-2}$ M (Gráfico 3) (Tabela 1 e 2).

**Tabela 1. Valores grupo treinado**

Grupo Treinado	Contração ACh	(% $\Delta$ gKCl)	( $\Delta$ g/ACh)
$10^{-4}$ M	$1.186 \pm 0.015$	$0,432 \pm 0,021$	$59,5 \pm 3,295$
$10^{-3}$ M	$1,261 \pm 0,011$	$0,582 \pm 0,031$	$70,33 \pm 2.266$
$10^{-2}$ M	$1,366 \pm 0,016$	$0,714 \pm 0,017$	$83,78 \pm 3.098$

**Tabela 2. Valores grupo sedentário**

Grupo Sedentário	Contração ACh	(% $\Delta$ gKCl)	( $\Delta$ g/ACh)
$10^{-4}$ M	$0.901 \pm 0.048$	$0,255 \pm 0,033$	$42,7 \pm 2,345$
$10^{-3}$ M	$0.938 \pm 0.054$	$0,294 \pm 0,031$	$47,06 \pm 4,218$
$10^{-2}$ M	$0.898 \pm 0.067$	$0,216 \pm 0,037$	$52,52 \pm 3,512$

**Gráfico 1.** Tensão (g) ao longo da curva de ACh sobre o músculo liso intestinal de animais submetidos ao exercício (treinado) em comparação aos animais do grupo sedentário (controle)

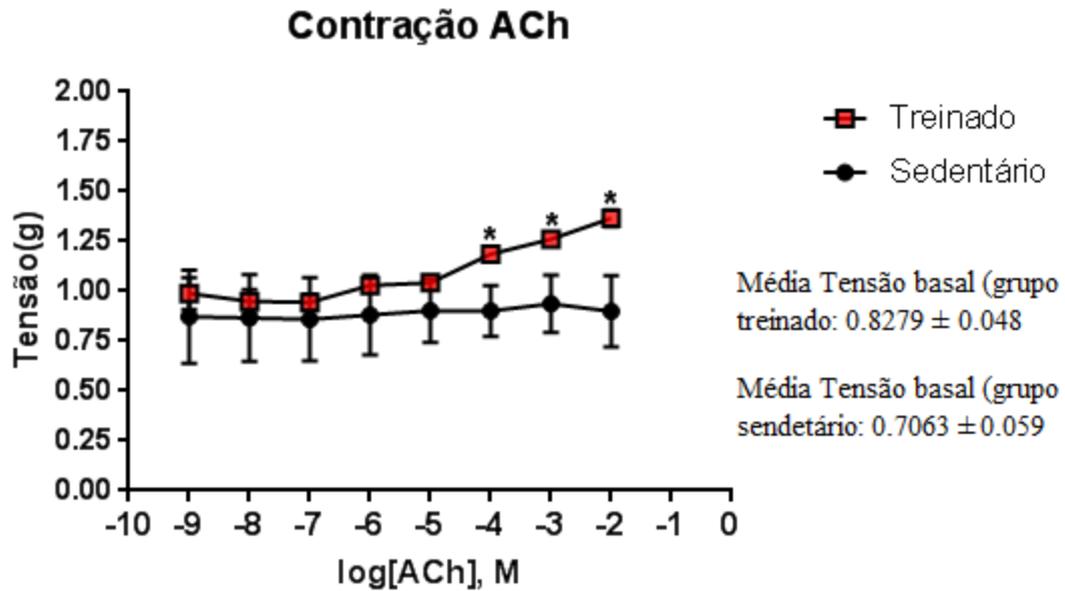


Gráfico mostrando valores médios do efeito da ACh sobre a tensão, expressos em (g) em preparações de Intestino Delgado de animais exercitados ou sedentários. As barras verticais indicam E. P. M. \*, ( $P < 0,05$ , t de student).

**Gráfico 2.** Porcentagem da Variação de Tensão ao longo da curva de ACh em comparação a contração induzida por KCl ( $\% \Delta g_{KCl}$ ) sobre o músculo liso intestinal de animais submetidos ao exercício (treinado) em comparação aos animais do grupo sedentário (controle)

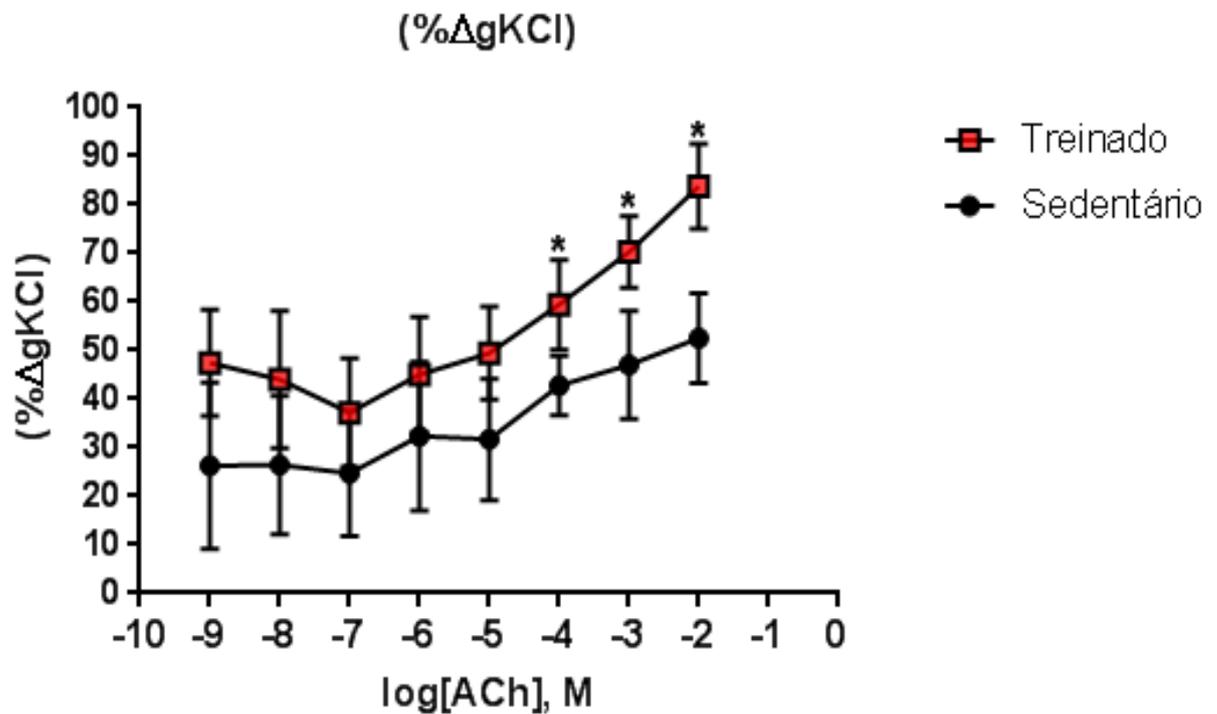


Gráfico mostrando o valor percentual da contração induzida por ACh em relação a contração por KCl (100%), em preparações de Intestino Delgado de animais exercitados ou sedentários. As barras verticais indicam E. P. M.\*, ( $P < 0,05$ , t de student).

**Gráfico 3.** Variação de Tensão ao longo da curva de ACh em comparação a contração induzida por KCl ( $\Delta gKCl$ ) sobre o músculo liso intestinal de animais submetidos ao exercício (treinado) em comparação aos animais do grupo sedentário (controle)

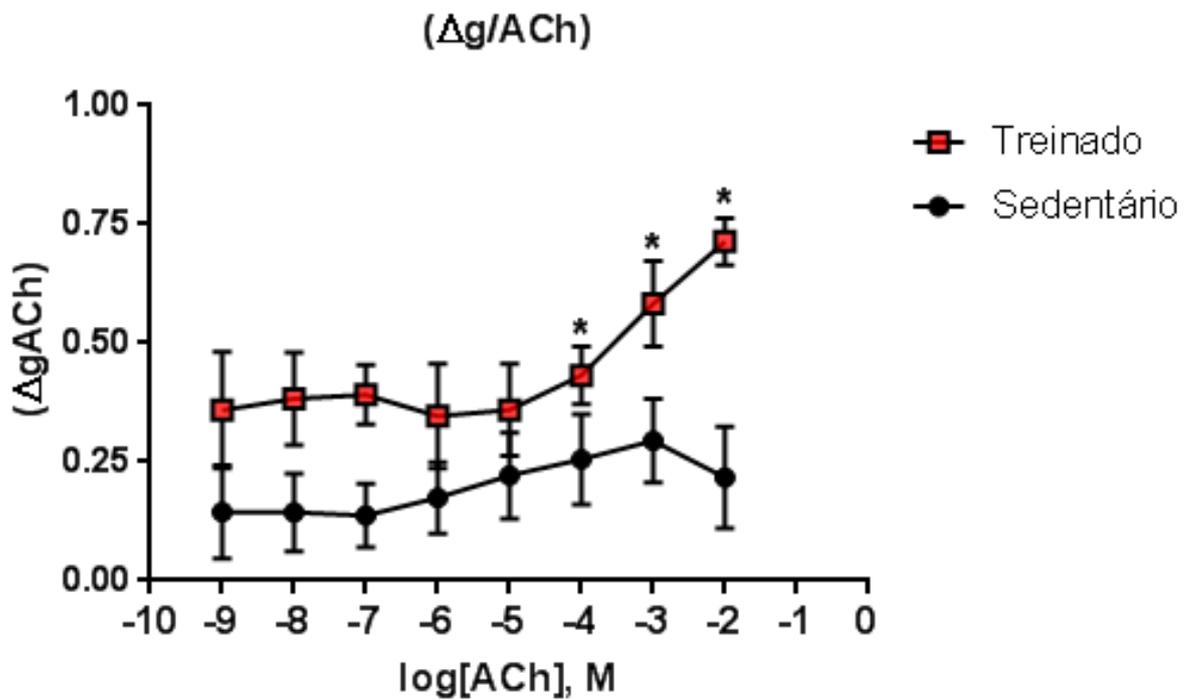


Gráfico mostrando o valor em gramas da variação de tensão, na contração induzida por ACh em preparações de Intestino Delgado (íleo) de animais exercitados ou sedentários. As barras verticais indicam E. P. M.\* (P < 0,05, t de student).

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo, foram utilizadas preparações de intestino delgado (íleo) de camundongos *swiss* para avaliação da modulação induzida pelo exercício físico agudo na resposta contrátil induzida por Acetilcolina (ACh), a fim de comparar as respostas do grupo treinado a resposta contrátil do músculo liso intestinal em animais sedentários (grupo controle).

De fato, foi observado que o exercício mesmo em caráter agudo, promove mudanças significativas na resposta contrátil do músculo liso intestinal, corroborando, com os achados de Lira (2006), que visualizou um aumento na contratilidade intestinal de camundongos C57BL/6 em relação ao grupo controle, quando estes foram submetidos a um protocolo de treinamento aeróbico diário por 44 dias na esteira.

Nosso estudo mostrou uma tendência de alteração na resposta contrátil aguda imediatamente após a intervenção. Outro dado importante, é que, o estudo de Lira (2008), mostra que não há alterações à longo prazo na morfologia da secção avaliada (íleo), assim como alguma ligação com stress oxidativo, descartando o que seriam duas possíveis respostas para as alterações contráteis encontradas nos animais treinados.

Dentre as possíveis hipóteses levantadas, estão fatores como a modulação neural ou ainda alguma alteração aguda de mecanismos mediados por receptores específicos, como uma possível alteração momentânea na sensibilidade dos receptores muscarínicos, já que outras substâncias contráteis utilizadas no estudo citado anteriormente não responderam com diferença significativa em relação ao controle.

## 5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o exercício físico demonstrou diferença significativa quando comparamos a contração em preparações de íleo de camundongos *swiss* submetidos ao esforço e animais mantidos na condição sedentária. Em relação a comparação com a variação de tensão promovida por KCl, em porcentagem, houve também uma diferença significativa entre os grupos, a partir disto observamos que, no presente estudo o exercício físico agudo se mostrou um agente potencializador da resposta contrátil no músculo liso intestinal do íleo. São necessários mais estudos sobre a ação do exercício físico em seus diferentes volumes e intensidades, para um melhor esclarecimento sobre como este atua na modulação da resposta contrátil do músculo liso intestinal.

## REFERÊNCIAS

- AIRES, M. M. et al. *Fisiologia*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 1229 p.
- BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Berne & Levy : Fisiologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, , p. 859, 2009.
- BORON, W. F.; L. BOULPAEP, E. **Fisiologia médica: Uma abordagem celular e molecular**. 2 ed. [S.L.]: Elsevier, p.1352, 2015
- BRADLEY, D. P., CHRISTENSEN, R. D., ROTHSTEIN, G Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood Journal**. v. 60, n. 3, p.618-622, 1982.
- CHAPMAN, M. J. et al. The effect of camicinal (GSK962040), a motilin agonist, on gastric emptying and glucose absorption in feed-intolerant critically ill patients: a randomized, blinded, placebo-controlled, clinical trial. **Critical Care**, London, England, v. 20, n. 1, p. 232, ago. 2016.
- DUNCAN, M., GRANT, G Review article: oral and intestinal mucositis – causes and possible treatments. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 18, p. 853-874, 2003.
- DUVILLARD, S. P. Exercise lactate levels: simulation and reality of aerobic and anaerobic metabolism. **European Journal of Applied Physiology**, v. 81, n. 1, p. 3-5, nov. 2001.
- GANONG, F. W. **Review of Medical Physiology**; McGraw –Hill Companies, USA; 21 ed. 2003.
- GHIA, J. E., et al. The nerve vagus: A tonic inhibitory influence associated with inflammatory bowel disease in a murine model. **Gastroenterology**. v.131, p. 1122-1130, 2009.
- HALL, J. E. **Guyton e Hall: tratado de fisiologia médica**. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, 433 p.
- LA ROVERE, M.T., et al. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. **Lancet**. v. 351, p.478-84, 1998.
- LA ROVERE, M.T., et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. **Circulation**. v.103, p. 2072– 2077, 2001.
- LI, Z. S., et al. Physiological modulation of intestinal motility by enteric dopaminergic neurons and the D2 receptor: analysis of dopamine receptor expression, location, development, and function in wild-type and knock-out mice.. **The Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 10, p. 2798-2807, jan. 2012.
- LIRA, C. A. B. D., et al. Aerobic exercise affects C57BL/6 murine intestinal contractile function. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 2, mai. 2008.
- LIRA, C. A. B. D., et al. Efeitos do Exercício Físico Sobre o Trato Gastrointestinal. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n. 1, jan./fev. 2008.

- MARINHO, R. et al. Effects of different intensities of physical exercise on insulin sensitivity and protein kinase B/Akt activity in skeletal muscle of obese mice. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 82-89, jan./mar. 2014.
- MEERVELD, B. G, JOHNSON, A. C., GRUNDY, D. Gastrointestinal Physiology and Function. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 239, p. 1-16, jan./jul. 2017.
- MONTGOMERY, L. E. A., et al. Autonomic modification of intestinal smooth muscle contractility. **Advances in Physiology education**, v. 40, n. 1, p. 104-109, mar. 2016.
- OLIVEIRA, E. P., BURINIA, R. C. The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic care**, v. 12, n. 5, p. 533-538, set. 2009.
- RAFO, R. M., et al. Resposta do lactato sanguíneo, frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço, durante um teste progressivo no exercício supino. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo, v. 2, n. 8, p. 246-254, mar./abr. 2008.
- PAVLOV, V A & TRACEY, K J. The cholinergic anti-inflammatory pathway. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 19, p.493-499, 2005.
- SILVA, M. T. B., et al. Sodium bicarbonate treatment prevents gastric emptying delay caused by acute exercise in awake rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 9, p. 1133-1141, mai. 2014.
- SOUZA, D. G., et al. Effects of inhibition of PDE4 and TNF- $\alpha$  on local and remote injuries following ischaemia and reperfusion injury. **Br. J. Pharmacol.**, v. 134, n. 5, p. 985-994, 2001.
- SZUCS, K. F., et al. Correlation between slow-wave myoelectric signals and mechanical contractions in the gastrointestinal tract: Advanced electromyographic method in rats. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 82, p. 37-44, nov./dez. 2016.
- VANNESTE, G., et al. Gastric motility in soluble guanylate cyclase  $\alpha 1$  knock-out mice. **The Journal of Physiology**, v. 584, n. 3, p. 907-920, nov. 2007.
- VASINA, V., et al., Enteric neuroplasticidade evoked by inflammation. **Autonomic Neurosci: Basic and Clinic**, v.126, n.7, p. 264-272, 2006.
- VINCENT, A., PALACE, J., HILTON-JONES, D. Myasthenia gravis. **Lancet**. v.357, p. 2122-2128, 2001.
- ZHOU, F. M., LIANG, Y., DANI, J. A. Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. **Nature Neurosci**. v.4, n.12, p.1224-9, 2001.