

Variações circadianas em *Spilotes pullatus* (Colubridae)

José Geraldo Pereira da Cruz*
Ayrton Adão Schmitt Júnior
Marcelo Reinert

Universidade Regional de Blumenau
Centro de Ciências Exatas e Naturais – Departamento de Ciências Naturais
Rua Antônio da Veiga, 140
CEP 89010-971 – Blumenau – Santa Catarina

*Autor para correspondência
jgcruz@furb.br

Submetido em 07/04/2006
Aceito para publicação em 19/08/2006

Resumo

Foi determinado para *Spilotes pullatus* (Serpentes, Colubridae) o ritmo circadiano da frequência cardíaca, dos intervalos RR e QT no eletrocardiograma em condições de ciclo normal (dia/claro e noite/escuro), durante a primavera. Análise estatística dos resultados revelou diferenças significativas entre intervalos de tempo, usando o teste de Tukey. A frequência cardíaca e a temperatura corporal demonstraram uma grande variação nos seus respectivos valores no período de 24h de monitoramento, e longo ritmo circadiano foi demonstrado nos intervalos dos eletrocardiogramas ($p < 0,05$). Além disto, também é observada uma significativa redução da frequência cardíaca e um aumento dos intervalos RR e QT. O intervalo QT sofre múltiplas influências, podendo constituir não apenas modulações circadianas e de gênero, mas também a frequência cardíaca.

Unitermos: temperatura corporal, eletrocardiograma, intervalo QT, intervalo RR, ofídio, *Spilotes pullatus*

Abstract

Circadian variation of *Spilotes pullatus* (Colubridae). The circadian rhythm of the mean heart rate and RR and QT intervals in electrocardiograms were determined for *Spilotes pullatus* in normal cycle (day/light and night/dark) conditions, during springtime. The statistical analysis of the results revealed significant differences among time intervals, using Tukey's test. Heart rate and body temperatures demonstrated considerable variations in their respective values over the 24h monitoring period and long circadian rhythmicity in the electrocardiogram intervals ($p < 0.05$). In addition, significant reductions of the heart rate and an increase in RR and QT intervals were also observed. Multiple influences on QT interval dependence were found, not only in circadian and gender modulation, but also in heart rate.

Key words: body temperature, electrocardiogram, QT interval, RR interval, snake, *Spilotes pullatus*

Introdução

O ritmo biológico que está presente em todos os seres vivos é uma função determinada geneticamente, sendo um exemplo de adaptação filogenética ao ambiente (Cipolla-Neto et al., 1988), possuindo uma oscilação auto-sustentada com características específicas, incluindo período, amplitude e fase, sincronizados em ciclos de 24 horas de claro/escuro. Variações dos mecanismos circadianos exógenos e endógenos comandam praticamente todas as relações fisiológicas periódicas do organismo durante este período (Harker, 1958), permitindo que este antecipe e enfrente modificações ambientais (Cipolla-Neto et al., 1988).

Os ciclos circadianos endógenos e exógenos são influenciados por fatores como as variações diárias de luminosidade e de temperatura (Moore, 2001). Ao contrário dos animais termoindependentes, os termodependentes apresentam temperatura corporal influenciada principalmente pelo ambiente, capaz de restringir as atividades fisiológicas e comportamentais destes animais. Nos animais termoindependentes a temperatura corporal permanece em torno de uma média, com uma regular variação circadiana, controlada principalmente por mecanismos endógenos, enquanto nos termodependentes, há mudanças drásticas na temperatura corporal, sensível às variações exógenas, com os ritmos circadianos sendo influenciados pelas variações na temperatura do ambiente (Benstaali et al., 2001).

Os ritmos fisiológicos do sistema cardiovascular apresentam variações circadianas na frequência cardíaca, pressão arterial e resistência periférica de muitos animais. Os baroreflexos devem apresentar um ciclo circadiano, para a manutenção do metabolismo e certas atividades comportamentais. As necessidades energéticas de um animal com hábitos diurnos devem ser maiores durante este período, com aumento na atividade do sistema cardíaco e vascular. Variações circadianas também ocorrem nos intervalos RR e QT, com o intervalo QT diminuindo com o aumento da frequência cardíaca (Prosser e Brown, 1975). A frequência cardíaca varia, como consequência das adaptações constantes promovidas pelo sistema nervoso autônomo para manter o equilíbrio do sistema cardiovascular, po-

dendo estas alterações ser avaliadas através do intervalo RR, constituindo assim, a variabilidade da frequência cardíaca. A ação dos baroreceptores arteriais estaria envolvida na integração entre a modulação simpática e parassimpática, determinando a variabilidade da frequência cardíaca (Malik e Camm, 1993).

O objetivo do presente trabalho foi determinar a temperatura corporal, a frequência cardíaca e variações eletrocardiográficas da caninana (*Spilotes pullatus*, Serpentes: Colubridae), fazendo uma análise comparativa das respostas fisiológicas desse ofídio, para verificar o ritmo circadiano em condições de laboratório.

Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados no período de 24 horas em condições de ciclo claro/escuro ambiental 12:12 (dia/claro e noite/escuro), na primavera, com um macho e quatro fêmeas adultas de *S. pullatus*, pesando em média $0,5 \pm 0,06$ kg e comprimento médio $1,69 \pm 0,1$ m; obtidos no serpentário da Universidade Regional de Blumenau (FURB), no Estado de Santa Catarina, Brasil (Certificado de Registro de Criadouro da Fauna Silvestre – 900238/IBAMA). A temperatura corporal e variações cardíacas foram determinadas no laboratório do serpentário. Os animais foram colocados em decúbito ventral e, o eletrodo de referência foi fixado lateralmente no lado direito e acima do coração, enquanto o eletrodo ativo foi fixado do lado esquerdo, abaixo do coração do animal, de forma análoga à derivação II. Após avaliação da temperatura cloacal dos animais (termômetro digital TS201 Tech-linã), estes foram fixados durante um minuto ao eletrocardiograma (FUNBECâECG5), para análise da frequência cardíaca, intervalos RR e QT. Para análise de variância os dados, foram coletados em intervalos de 3 horas. Após ser observada a significância do teste F da análise de variância menor que 5% ($p < 0,05$), procedeu-se ao emprego do teste de Tukey para comparação das médias duas a duas.

Resultados

Os períodos de temperatura ambiente mínima de $24 \pm 0,2^\circ\text{C}$ ocorreram entre 02:00 e 08:00 horas e, má-

xima de $26 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, entre 11:00 e 20:00 horas. Acompanhando a variação da temperatura ambiente, a temperatura corporal mostrou diferenças nos período das 02:00 às 08:00 horas, onde foi atingindo o menor valor de $27 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e, o máximo, de $28 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ entre 11:00 e 23:00 horas. A análise de variância apresentou significância do teste F para temperatura ambiente ($F = 55.183$; $p < 0,0001$) e temperatura corporal ($F = 91.936$; $p < 0,0001$), com o teste de Tukey mostrando diferenças significativas para os períodos compreendidos entre 2:00 às 8:00 horas, para a temperatura ambiente e corporal, quando comparados com os outros períodos ($p < 0,05$) (Figura 1).

Da mesma forma que na temperatura corporal, ocorreu uma variação significativa na frequência cardíaca durante este período ($F = 9,763$; $p < 0,0001$), com valores mínimos de 63 ± 1 batimentos por minutos entre os horários de 04:00 às 20:00 horas e, valores máximos de $72,5 \pm 1$ batimentos por minutos entre 05:00 e 19:00 horas. O teste de Tukey mostrou diferenças significativas entre os períodos onde foram observados os valores máximo e mínimo para a frequência cardíaca ($p < 0,05$) (Figura 2).

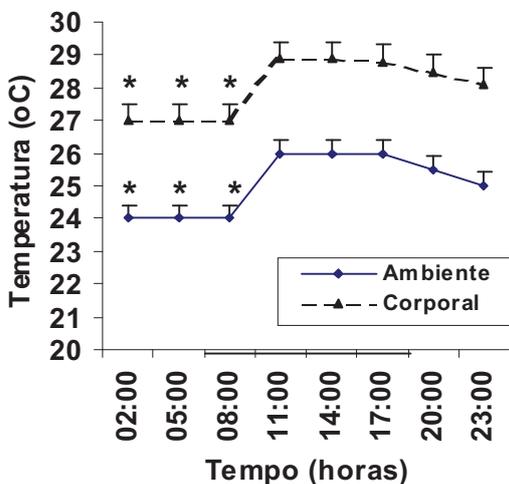


FIGURA 1: Variações na temperatura ambiente e temperatura corporal durante período de 24 horas da *Spilotes pullatus*. A dupla barra no eixo do tempo representa o período de dia/claro. O teste de Tukey mostra diferenças significativas para a temperatura ambiente e corporal entre o período de 02:00 às 08:00 quando comparado com o outro período ($n = 5$; $*p < 0,05$).

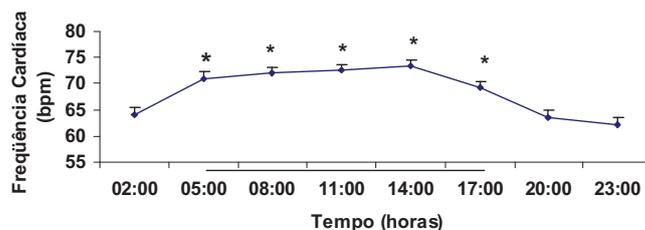


FIGURA 2: Frequência cardíaca em batimentos por minutos (bpm) da *Spilotes pullatus* no período de 24 horas, durante o dia/claro (das 06:00 às 18:00 horas) e à noite/escuro (das 18:00 às 06:00 horas). A dupla barra no eixo do tempo representa o período de dia/claro. O teste de Tukey mostra diferenças significativas entre 05:00 às 19:00 horas quando comparado com o outro período ($n = 5$; $*p < 0,05$).

Os parâmetros eletrocardiográficos demonstraram variações durante o período de observação, a análise de variância com diferenças significativas para o intervalo RR ($F = 16,273$; $p < 0,0001$), com valores máximos de $980 \pm 12\text{ms}$ durante a noite e, mínimos de $828 \pm 4\text{ms}$, durante o dia. A análise de variância mostrou diferenças significativas também para o intervalo QT ($F = 5,491$; $p < 0,001$), principalmente para o período noturno de 02:00 horas, com tempo médio de $480 \pm 12\text{ms}$. Durante o dia foi observado o tempo mínimo para o intervalo QT de $392 \pm 12\text{ms}$ às 17:00 horas. O teste de Tukey demonstrou que o intervalo RR apresenta diferenças significativas nos períodos compreendidos entre 11:00 e 20:00 horas; enquanto o intervalo QT apresenta diferenças significativas apenas às 2:00 horas quando comparado com os outros intervalos ($p < 0,05$).

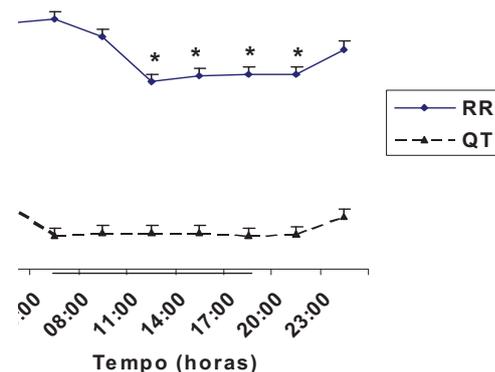


FIGURA 3: Intervalos RR e QT em milissegundos (ms) obtidos durante período de 24 horas da *Spilotes pullatus*. A dupla barra no eixo do tempo representa o período de dia/claro. O teste de Tukey mostra diferenças significativas para o horário de 02:00 horas para o intervalo QT quando comparado com os outros horários e diferenças significativas entre 11:00 e 20:00 horas para o intervalo RR quando comparado com o outro período ($n = 5$; $*p < 0,05$).

A frequência cardíaca apresentou uma relação com os intervalos RR e QT. Durante o dia houve um aumento na frequência cardíaca, com diminuição dos intervalos RR e QT; sendo observado variações circadianas em diferentes períodos durante as 24 horas. O intervalo RR reflete o tempo entre as contrações ventriculares e, o intervalo QT o tempo de despolarização ventricular. O aumento na frequência cardíaca aproxima as ondas R, permitindo que o ventrículo se despolarize com maior velocidade, diminuindo o intervalo QT.

Discussão

De acordo com os dados obtidos, a fisiologia do sistema cardíaco de *S. pullatus* sofre flutuações diárias regulares, com a finalidade de prepará-la, de maneira antecipada, para enfrentar modificações previamente estabelecidas pelo ambiente, como as alternâncias do dia e da noite.

Spilotes pullatus apresenta frequência cardíaca num platô máximo durante o dia, ao contrário de mamíferos com hábitos noturnos (Refinetti e Menaker, 1992; Gebczynski, 2005), demonstrando que o sistema cardiovascular destes animais organiza-se ao longo do tempo, com variações circadianas influenciadas por estímulos externos, como a temperatura (Figuras 1 e 2). Durante o dia, *S. pullatus* modifica suas condições internas, variando seu comportamento e processos metabólicos. Muitas destas mudanças dependem da manutenção da pressão arterial dentro de certos limites para que estas sejam realizadas de forma satisfatória, principalmente em animais termodependentes, onde a temperatura corporal é influenciada pela temperatura ambiente, afetando o metabolismo destes animais (Benstaali et al., 2001).

Análises comparativas revelaram uma relação inversa entre a frequência cardíaca e o intervalo RR. Em *S. pullatus*, foi observado um prolongamento do intervalo RR relacionado com uma diminuição da frequência cardíaca e, vice-versa, com um ritmo circadiano normal. Estas alterações cíclicas observadas entre sucessivos eletrocardiogramas na frequência da onda R (intervalo RR), provavelmente, resultam de uma influência direta do sistema nervoso autônomo sobre o nodo sinoatrial e indireta do sistema reflexo dos baroreceptores.

O intervalo QT da *S. pullatus* apresentou valores médios de 48,9% e 47,3%, quando a frequência cardíaca atingiu seus valores mínimos e máximos, respectivamente, em relação ao tempo total do ciclo elétrico cardíaco/minuto. Estas porcentagens diferem daquelas encontradas em mamíferos. Em *Macaca fascicularis* (primata) e *Bradypus variegatus* (bicho-preguiça), o intervalo QT é, em média, 70% do ciclo elétrico cardíaco (Toback et al., 1978; Silva et al., 2005). Entretanto, os mamíferos também apresentam variações nesta porcentagem de tempo; em coelhos o intervalo QT é de 60% do ciclo elétrico, mas com frequência cardíaca média de 250 bpm (Petelenz e Kosmider, 1961). Possivelmente, estes valores da porcentagem do intervalo QT no eletrocardiograma de mamíferos estariam relacionados à frequência cardíaca, bem maiores nos coelhos que nos primatas e bicho-preguiça (Prosser e Brown, 1975). A diferença entre o maior e menor valor do intervalo QT no eletrocardiograma de superfície expressa o grau de dispersão temporal da repolarização ventricular, e as diferenças observadas no intervalo QT de *S. pullatus*, comparada aos mamíferos, estaria relacionada com diferenças anatômicas e fisiológicas que caracterizam o coração destes animais. Portanto, no campo da fisiologia comparada, há diferenças na porcentagem do ciclo elétrico no intervalo QT da *S. pullatus* em relação à dos mamíferos, mas com a mesma neurogênese do sistema circadiano.

Como animal diurno termodependente, *S. pullatus* apresenta maior distribuição de atividade durante este período. Mas isso não quer dizer que este animal passará todo o dia em atividade contínua, pois existem picos de movimentação característicos, como ocorre em mamíferos (Cipolla-Neto et al., 1988). Os resultados obtidos sugerem que luz e temperatura desempenham um papel importante no ritmo circadiano no sistema cardiovascular da *S. pullatus*, uma vez que as medidas realizadas durante o período de 24 horas, mostraram uma elevação na frequência cardíaca, com diminuição dos intervalos RR e QT durante o dia, o que está de acordo com observações de campo, quando estes animais movimentam-se para procurar suas presas, necessitando de um maior suprimento de metabólicos para os tecidos (Roe et al., 2004; Llewelyn et al., 2006). Estas modificações cardíacas de *S. pullatus* demonstram como es-

tes animais adaptam-se ao meio ambiente numa ampla gama de variações externas, incrementando desta maneira a sua eficácia biológica.

Devido à inexistência de maiores informações sobre o ritmo circadiano do sistema cardiovascular de *S. pullatus*, para uma confirmação de que o ritmo apresentado é do tipo exógeno, serão necessários novos experimentos, em condições constantes (durante 24 horas) de claro ou escuro, e com inversão de ciclo claro/escuro ambiental 12:12 (dia/escuro e noite/claro), levando em consideração as variações na temperatura ambiente.

Referências

- Benstaali, C.; Mailloux, A.; Bogdan, A.; Auzéby, A.; Touitou, Y. 2001. Circadian rhythm of body temperature and motor activity in rodents. Their relationships with light-dark cycle. **Life Sciences**, **68**: 2645-2656.
- Cipolla-Neto, J.; Margues, N.; Menna-Barreto, L. S. 1988. **Introdução ao estudo da cronobiologia**. Icone Edusp, São Paulo, Brasil, 270pp.
- Gebczynski, A. K. 2005. Daily variation of thermoregulatory costs in laboratory mice selected for high and low basal metabolic rate. **Journal of Thermal Biology**, **30**:187-193.
- Harker, J. E. 1958. Diurnal rhythms in the animal Kingdom. **Review of Biology**, **Chicago**, **33**: 1-52.
- Llewelyn, J.; Shine, R.; Webb, J. K. 2006. Time of testing affects locomotor performance in nocturnal versus diurnal snakes. **Journal of Thermal Biology**, **31**: 268-273.
- Malik, M.; Camm, A. J. 1993. Components of heart rate variability – What they really mean and what we really measure. **American Journal of Cardiology**, **72**: 821-822.
- Moore, D. 2001. Honey bee circadian clocks: behavioral control from individual workers to whole-colony rhythms. **Journal of Insect Physiology**, **47**: 843-857.
- Refinetti, R.; Menaker, M. 1992. Circadian rhythm of body temperature. **Physiology & Behavior**, **51**: 613-637.
- Roe, J. H.; Hopkins, W. A.; Snodgrass, J. W.; Congdon, J. D. 2004. The influence of circadian rhythms on pre- and post-prandial metabolism in the snake *Lamprophis fuliginosus*. **Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology**, **139**: 159-168.
- Petelenz, T.; Kosmider, S., 1961. Electrocardiogram of rabbits. **Acta Physiologica Polonica**, **XII**: 603-609.
- Prosser, C. L.; Brown, Jr. F. A. 1975. **Comparative Physiology**. W. B. Saunders Co., Philadelphia, USA, 320pp.
- Silva, E. M.; Duarte, D. P. F.; da Costa, C. P. 2005. Electrocardiographic studies of the three-toed sloth, *Bradypus variegatus*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **38**: 1885-1888.
- Toback, J. M.; Clark, J. C.; Moorman, W. J. 1978. The electrocardiogram of *Macaca fascicularis*. **Laboratory Animal Science**, **28**: 182-185.