

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)

Marcio Linardi

e aprovada pela Comissão Julgadora

Campinas, 15/10/92x D. J. C.

SECRETARIA
DE
PÓS GRADUAÇÃO

MARCIO LINARDI

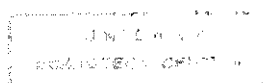
ESTUDO DA SENSIBILIDADE AOS EFEITOS CRONOTROPICO E
INOTROPICO DAS CATECOLAMINAS EM ATRIOS ISOLADOS DE RATOS
SUBMETIDOS A TREINAMENTO FISICO.

TESE SUBMETIDA AO INSTITUTO DE
BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE CAMPINAS, COMO
PARTE DOS REQUISITOS PARA A
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIENCIAS BIOLOGICAS, NA AREA
DE FISILOGIA.

[ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. REGINA CÉLIA SPADARI*]

Campinas - São Paulo

1992



MARCIO LINARDI

ESTUDO DA SENSIBILIDADE AOS EFEITOS CRONOTROPICO E
INOTROPICO DAS CATECOLAMINAS EM ATRIOS ISOLADOS DE RATOS
SUBMETIDOS A TREINAMENTO FISICO.

TESE SUBMETIDA AO INSTITUTO DE
BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE CAMPINAS, COMO
PARTE DOS REQUISITOS PARA A
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIENCIAS BIOLOGICAS, NA AREA
DE FISILOGIA.

[ORIENTADORA: PROF^ª. DR^ª. REGINA CÉLIA SPADARI]

Campinas - São Paulo

1992

AGRADECIMENTOS

- A MINHA ORIENTADORA, PROF^ª. DR^ª. REGINA CÉLIA SPADARI, POR TER ACREDITADO;
- A ZEZE PELA PACIENCIA E, PRINCIPALMENTE, PELA AMIZADE;
- A WANDE PELA AJUDA PERMANENTE;
- AO MACHADO PELA AMIZADE E PELO INCENTIVO;
- AOS RATINHOS ATLETAS PELA DISPOSIÇÃO DE SE SUBMETEREM AO TREINAMENTO SEM NUNCA RECLAMAREM;
- AO DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E BIOFISICA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS.

INDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Animais	15
3.2. Programa de Treinamento Físico	15
3.3. Grupos Experimentais	17
3.4. Atrio Direito Isolado	18
3.5. Atrio Esquerdo Isolado	19
3.6. Curvas Concentração-Efeito	20
3.7. Análise Estatística	21
3.8. Fármacos e Soluções	21
4. RESULTADOS	22
4.1. Peso do Coração e Peso Corporal	23
4.2. Sensibilidade de Atrios Direitos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Cronotrópicos do Isoproterenol	26
4.3. Sensibilidade de Atrios Direitos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Cronotrópicos da Noradrenalina	30
4.4. Sensibilidade de Atrios Esquerdos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Inotrópicos do Isoproterenol	34

4.5. Sensibilidade de Átrios Esquerdos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Inotrópicos da Noradrenalina	38
---	----

5. DISCUSSÃO	42
--------------------	----

6. CONCLUSÕES	51
---------------------	----

7. RESUMO	53
-----------------	----

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
-------------------------------------	----

1. INTRODUÇÃO

"Stress" pode ser definido como o conjunto das reações que ocorrem no organismo em resposta a fatores que, de alguma forma, ameaçam a sua integridade. Estas reações objetivam, basicamente, permitir ao organismo reagir contra o agente agressor ou minimizar os danos que este possa causar, quando a situação é inescapável. Embora a reação de "stress" seja específica, sua indução é geral, isto é, os mecanismos fisiológicos que serão acionados numa reação de "stress" não são determinados pela qualidade do agente agressor mas sim pela sua intensidade.

As situações de "stress" nem sempre são prejudiciais e, segundo SELYE (1956), podem causar alterações na estrutura e/ou na composição química do organismo. Algumas destas alterações representam danos; outras são manifestações de reações adaptativas. A totalidade destas alterações foi denominada por SELYE (1956) de Síndrome Geral de Adaptação (S.G.A.). Esta descreve os padrões de respostas de um organismo exposto a um agente causador de "stress" por longo tempo, e se desenvolve em 3 fases: a fase de alarme ou de excitação se caracteriza por um aumento da capacidade orgânica em responder ao agente agressor e por uma adaptação incompleta (MEERSON, 1984). Com a continuação do estímulo, o organismo entra na fase de resistência, caracterizada pelo equilíbrio, isto é, a capacidade de resposta ao agente causador do "stress" diminui e o organismo desenvolve mecanismos adaptativos; neste estágio a adaptação se completa através de alterações

estruturais dos tecidos e órgãos as quais restauram a homeostase, eliminando o "stress".

O processo adaptativo, segundo MEERSON (1984), pode ser ainda subdividido em duas fases distintas: a primeira caracteriza-se pela ocorrência de catabolismo e a segunda se desenvolve logo após o término da fase catabólica e, denomina-se fase anabólica do "stress". Durante essa última ocorre a ativação dos ácidos nucleicos e, conseqüentemente, síntese de proteínas. A fase adaptativa baseia-se no aumento da massa e da potência das estruturas celulares envolvidas, tais como transporte de íons, suprimento energético, e outros.

A fase final, de exaustão, é marcada pela incapacidade em competir com o agente causador de "stress". Neste ponto o organismo torna-se suscetível às doenças, que podem incluir distúrbios renais, cardiovasculares, gastrointestinais e/ou imunológicos.

Os sistemas nervoso e endócrino desempenham papéis fundamentais em todas as fases da S.G.A. Acreditamos que, em situações nas quais é possível conviver com o agente agressor, conservando sua homeostasia, as alterações que se instalam em resposta ao "stress" refletem processos adaptativos.

Nesse contexto, propomos que o treinamento físico pode, de certa forma, ser considerado como um agente causador de "stress", uma vez que corresponde à imposição de uma carga de trabalho a um organismo com freqüência,

intensidade e duração suficientes para produzir um efeito observável e/ou mensurável (ASMUSSEM, 1967).

Os mecanismos adaptativos desencadeados por programas de treinamento físico resultam no estabelecimento de uma nova situação de equilíbrio dos processos homeostáticos, num nível acima da condição anterior (BERGSTROM & HULTMAN, 1966; 1972; BERGSTROM et al., 1967; HULTMAN, 1967; HULTMAN & BERGSTROM, 1967; KARLSSON & SALTIN, 1971). HEGEDUS (1969) denominou este fenômeno de assimilação compensatória, composta de um período de recuperação, na qual são recompostas as energias perdidas, e um período de restauração ampliada, após o qual o organismo dispõe de uma maior fonte de energia para novos estímulos. Todo programa de treinamento físico baseia-se neste "princípio" segundo o qual, a condição para que tal fenômeno ocorra é a ultrapassagem de um limiar crítico de estímulo.

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal simultaneamente com o aumento do tônus simpático, em resposta ao exercício físico reflete-se em aumento dos níveis plasmáticos de catecolaminas e de corticosterona (BANISTER & GRIFFITHS, 1972; AXELROD & REISINE, 1984). Além destes, aumentam durante o exercício físico os níveis plasmáticos de prolactina (NOEL et al., 1972), de hormônio do crescimento (SUTTON & LAZARUS, 1976) e de testosterona (DESSYPRIS et al., 1976). Os níveis plasmáticos dos hormônios tireoideanos também aumentam (CARALIS et al., 1977), embora os níveis de hormônio tireotrófico (TSH) e de

hormônio folículo estimulante (FSH) permaneçam inalterados (GAWEL et al., 1979).

Analogamente, a resposta do organismo ao aumento da exigência física ou psicológica caracteriza-se pelo incremento da atividade do sistema nervoso central e do eixo hipófise-glândulas adrenais, os quais ocasionam liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), pela adeno-hipófise; glicocorticóide, pelo córtex da adrenal; adrenalina, pela medula da adrenal e noradrenalina, pelos nervos simpáticos (AXELROD & REISINE, 1984; COX et al., 1985; HERD, 1991).

O treinamento físico também determina alterações fisiológicas nos músculos esqueléticos e nos sistemas cardiovascular e respiratório. A nível cardíaco, algumas formas de treinamento contínuo determinam hipertrofia (STEINHAUS, 1933; SCHEUER & TIPTON, 1977; OSTMAN-SMITH, 1979; BLOMGVIST & SALTIN, 1983; SVANEGAARD et al., 1989; BRUCE, 1990) e bradicardia de repouso (BOLTER et al., 1973; SCHEUER & TIPTON, 1977; OSTMAN-SMITH, 1979; BLOMGVIST & SALTIN, 1983; COX et al., 1985; KIRWAN et al., 1988; SMITH et al., 1989)

Embora a bradicardia de repouso seja um fenômeno bastante conhecido em animais e em humanos treinados através de exercício de "endurance", os mecanismos responsáveis pelo fenômeno não estão esclarecidos. BADEER (1975) relacionou esta redução da frequência de batimentos cardíacos à maior concentração de acetilcolina encontrada no tecido atrial, após as sessões de treinamento. Outros autores consideram

que esta se deve à menor sensibilidade do tecido cardíaco às catecolaminas (SMITH & EL-HAGE, 1978) ou a uma menor frequência intrínseca do marca-passo, associada a um aumento da atividade parassimpática (SMITH et al., 1989).

No coração, o cronotropismo e o inotropismo são localmente modulados pelas catecolaminas, por meio de interação com adrenoceptores dos tipos alfa e beta.

Adrenoceptores encontram-se presentes, virtualmente, em todos os tecidos do organismo e modulam cada função. Geralmente, quando diferentes tipos de adrenoceptores estão presentes num mesmo tecido, sua ativação determina respostas antagônicas.

Farmacologicamente, os adrenoceptores alfa caracterizam-se pela seguinte série de potências relativas: adrenalina (Adr) > noradrenalina (NA) > fenilefrina >> isoproterenol (ISO) (AHLQUIST, 1948; FRASER & VENTER, 1990).

LANGER (1974) propôs a subdivisão dos adrenoceptores alfa em 2 subtipos: os adrenoceptores alfa-1 estariam localizados ao nível pós-juncional, onde mediarão as respostas constritoras de células musculares lisas. Os adrenoceptores alfa-2 pré-juncionais, modulariam a liberação de noradrenalina pelas terminações nervosas simpáticas (BERTHELSEN & PETTINGER, 1977). Pesquisas posteriores revelaram que ambos os subtipos de adrenoceptores alfa existem nas células do músculo liso e ativam a resposta contrátil (DESCOMBES & STOCLET, 1985).

Os dois subtipos de adrenoreceptores alfa utilizam mecanismos completamente distintos para iniciar o sinal nas células alvo. Os adrenoreceptores alfa-1 parecem estar acoplados à degradação do fosfatidilinositol, por meio de uma proteína G. Os adrenoreceptores alfa-2 atuam através da inibição da adenilato ciclase que resulta em diminuição do nível de AMPcíclico (GRAHAN & HOMCY, 1985).

Os adrenoreceptores beta são identificados pela série: ISO > Adr > NA (AHLQUIST, 1948) e, também foram divididos em 2 subtipos, denominados beta-1 e beta-2 (LANDS et al., 1967a, b). Esta classificação baseia-se na afinidade diferencial de agonistas e de antagonistas pelos dois subtipos. O receptor beta-1 liga-se à NA e à Adr com, aproximadamente, igual afinidade, ao passo que os adrenoreceptores do subtipo beta-2 apresentam afinidade à Adr 30 vezes maior do que para a NA (FRIELLE et al., 1988).

Além das diferenças farmacológicas, os subtipos de adrenoreceptores beta também exibem uma distribuição característica nos vários tecidos e órgãos. Inicialmente, acreditava-se que somente um ou outro subtipo estaria presente em determinado tecido. Entretanto, aceita-se hoje que um subtipo pode predominar em um tecido, onde ambos estão presentes (LEFKOWITZ et al., 1983). Os adrenoreceptores beta-1 parecem predominar no coração e no tecido adiposo, enquanto o subtipo beta-2 prevalece no fígado, nos pulmões e no músculo liso vascular, uterino e brônquico

(LEFKOWITZ, 1979; LEFKOWITZ et al., 1983; FRIELLE et al., 1988).

Ambos adrenoreceptores beta exercem seus efeitos intracelulares através do sistema adenilatociclase, cuja ativação tem como efeito o acúmulo intracelular de AMPcíclico (LEFKOWITZ et al., 1982; LIMBIRD, 1984; STILES et al., 1984; BRODDE, 1988; FRIELLE et al., 1988; FRASER & VENTER, 1990).

Um dos aspectos mais interessantes a respeito dos adrenoreceptores é que os mesmos não são entidades estáticas, mas são dotados de grande plasticidade. Sua estrutura e/ou densidade podem ser moduladas dinamicamente por uma gama de fatores (LEFKOWITZ, 1979). Alterações no número de adrenoreceptores elevam ou diminuem a probabilidade de ocorrer a ligação hormonal. Assim, a modificação no número de receptores presentes em determinado tecido pode produzir uma alteração correspondente na resposta deste tecido às catecolaminas (LEFKOWITZ, 1979). A alteração de sensibilidade pode ser devida também a um aumento ou diminuição da afinidade pelo agonista em decorrência de mudança na estrutura do receptor sem alteração na sua densidade.

Exposição prolongada de um tecido às catecolaminas induz dessensibilização da resposta fisiológica à subsequente estimulação por catecolaminas, como consequência de diminuição da densidade de adrenoreceptores. Esse fenômeno foi denominado "down-regulation" (DAVIES & LEFKOWITZ, 1984).

A diminuição da densidade dos adrenoreceptores parece estar associada com mecanismos de internalização (CIARALDI & MARINETTI, 1977), ou de desacoplamento do receptor com o sistema adenilatociclase (DAVIES & LEFKOWITZ, 1984). Analogamente, a supersensibilidade de adrenoreceptores pode ser intermediada por um "up-regulation", isto é, por um aumento da densidade de adrenoreceptores ativos.

As propriedades dos adrenoreceptores também podem ser alteradas por outros fatores, que não os próprios agonistas, como a subsensibilidade que ocorre em tecido miocárdico de ratos adrenalectomizados (DAVIES et al., 1981), ou o aumento da densidade de adrenoreceptores cardíacos durante hipertiroidismo (KUPFER et al., 1986) e a sua redução durante hipotiroidismo (CIARALDI & MARINETTI, 1977). Outro exemplo é a subsensibilidade adrenérgica observada por KATOVICH (1983) e por STILES et al. (1984) em tecidos periféricos e do sistema nervoso central de ratos que haviam sido tratados com prolactina e estrógeno.

Alterações de sensibilidade às catecolaminas foram demonstradas em tecido atrial direito de ratos submetidos a "stress".

Utilizando a natação como agente causador de "stress", SPADARI et al. (1988) observaram supersensibilidade ao ISO em átrios direitos isolados de ratos submetidos a uma única sessão de 50 minutos de natação, sendo que esta supersensibilidade não ocorreu em animais adrenalectomizados. MARTINS & SPADARI (1990) avaliaram a

resposta pressórica "in vivo" à NA nesses animais, e observaram subsensibilidade à NA, Adr e fenilefrina. As autoras sugeriram que essa subsensibilidade seria mediada pelos adrenoreceptores alfa-1 e alfa-2 do sistema cardiovascular.

Analogamente, átrios direitos isolados de animais submetidos a três sessões de natação de 5, 15 e 30 minutos, em dias consecutivos (SPADARI & DE MORAES, 1988), apresentaram subsensibilidade ao ISO e à NA. Entretanto, após sete sessões de natação, nenhuma alteração foi observada na sensibilidade ao ISO em átrios direitos isolados. Recentemente, SPADARI & BORDIN (1990) demonstraram que a exposição de ratos a três sessões de natação não determina alterações de sensibilidade ao efeito inotrópico do ISO em átrio esquerdo isolado, embora tenham demonstrado uma redução da resposta máxima a esse agonista. MARCONDES & SPADARI (1991), utilizando esse mesmo protocolo, observaram subsensibilidade ao efeito inotrópico da NA, sem alteração da tensão máxima desenvolvida pelo tecido atrial.

OSTMAN-SMITH (1979) avaliou a sensibilidade de corações isolados de ratos submetidos a exercício crônico e concluiu que diferenças significativas não ocorreram para os efeitos cronotrópico e inotrópico da NA.

Neste contexto, continuam obscuros os mecanismos envolvidos com os processos adaptativos desencadeados por situações de "stress" e/ou de treinamento físico. Entretanto, o esclarecimento desses mecanismos é de extrema

importância tanto no seu aspecto científico como clínico. Neste trabalho, nós avaliamos a sensibilidade às catecolaminas em átrios direitos e esquerdos isolados de ratos submetidos a um programa de treinamento físico, por natação.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- Avaliar as variações de frequência de batimentos espontâneos do átrio direito, assim como a tensão desenvolvida pelo átrio esquerdo ao longo do programa de treinamento físico por natação.

- Estudar a sensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico das catecolaminas de átrios direitos e esquerdos, respectivamente, isolados de ratos submetidos a um programa de treinamento físico por natação.

- Verificar se durante o processo adaptativo, o tecido cardíaco mantém a capacidade de reação ao "stress".

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Utilizamos 97 ratos (Rattus norvegicus, Hannover, var. albina) Wistar, machos, pesando entre 150 e 180 gramas, com idade entre 50 e 55 dias, que foram fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas.

Os animais foram alojados em grupos de 5, em gaiolas plásticas (30X16X19cm), dispostas em sala climatizada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e provida de ciclo claro-escuro de 12-12 horas, com iluminação entre as 7:00 e as 19:00 hs). Água e ração foram fornecidas "ad libitum". O peso corporal de cada animal foi avaliado semanalmente.

3.2. Programa de Treinamento Físico

Os animais dos grupos experimentais foram submetidos a um programa de treinamento físico por natação em um tanque de vidro (100X60X50cm), contendo água aquecida ($35 \pm 1^{\circ}\text{C}$) com profundidade de 40cm. Diariamente, entre 9:00 e 11:00 horas, cada animal era retirado de sua gaiola e colocado para nadar. Ao término de cada sessão de natação, os ratos eram colocados em gaiolas aquecidas, onde permaneciam até estarem totalmente secos (aproximadamente 20 minutos), retornando em seguida para suas gaiolas-moradia. Em cada sessão de natação, 10 ratos eram colocados para nadar no mesmo tanque.

O programa de natação, escolhido de acordo com OSTMAN et al.(1972), consistiu de sessões diárias de natação, 5 dias por semana, num máximo de 14 semanas, divididas em duas fases:

Fase de Adaptação: sessões de 5, 15, 30, 45 e 60 minutos de duração durante os 5 primeiros dias, respectivamente.

Fase de Treinamento: posteriormente à fase de adaptação, as sessões foram mantidas com 60 minutos de duração até a 30ª sessão. A partir da 31ª, foram adicionados 30 minutos por sessão, até o máximo de 120 minutos e, assim permaneceram até a 70ª sessão.

Os animais dos grupos controles não sofreram nenhum tipo de manipulação, exceto aquelas necessárias à limpeza das gaiolas, pesagem e renovação dos suprimentos de água e alimento.

Vinte e quatro horas após a última sessão de natação, os animais foram pesados e sacrificados. O átrio direito, o átrio esquerdo e os ventrículos foram excisados, limpos e pesados. Os átrios foram preparados para registro isométrico das contrações.

3.3. Grupos Experimentais

Grupo 1- os animais foram sacrificados após 10 sessões de natação.

Grupo 2- os animais foram sacrificados após 20 sessões de natação.

Grupo 3- os animais foram sacrificados após 30 sessões de natação.

Grupo 4- os animais foram sacrificados após 34 sessões de natação.

Grupo 5- os animais foram sacrificados após 35 sessões de natação.

Grupo 6- os animais foram sacrificados após 40 sessões de natação.

Grupo 7- os animais foram sacrificados após 70 sessões de natação.

3.4. Atrio Direito Isolado

Os animais dos grupos controles e aqueles submetidos ao treinamento físico por natação foram sacrificados por concussão cerebral e imediata secção dos vasos cervicais. O coração foi rapidamente removido, o átrio direito foi excisado (assegurando-se que o nodo sinoatrial estivesse intacto) e preparado para registro isométrico de suas contrações espontâneas, sob tensão diastólica de 0,5gf, em uma cuba para órgão isolado, contendo 20ml de solução de Krebs-Henseleit, com a seguinte composição química (mM): NaCl, 115,0; KCl, 4,7; CaCl_2 , 2,5; KH_2PO_4 , 1,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2,5; NaHCO_3 , 25,0; glicose, 11,0 e ácido ascórbico, 0,11. Este último foi adicionado para reduzir a oxidação do isoproterenol e da noradrenalina durante a obtenção das curvas concentração-efeito.

O líquido de incubação foi mantido a $36,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$ com o auxílio de uma bomba de perfusão, e saturado com 95% O_2 - 5% CO_2 . O pH foi de 7,4.

Para registro das contrações espontâneas, foi utilizado um transdutor isométrico de tensão (Narco Bio-System, F-60) o qual estava conectado a um polígrafo Narco Bio-System, modelo Narcotrace, de 4 canais.

As preparações foram incubadas até a obtenção de uma frequência estável de batimentos espontâneos. Esta estabilidade foi determinada por flutuações de frequência menores que 5 bat/min, durante um intervalo de 15 minutos.

com contagens sucessivas a cada 5 minutos. A estabilização da frequência inicial ocorreu entre 30 e 45 minutos de incubação. Átrios que apresentaram irregularidades rítmicas ou que não estabilizaram sua frequência após 60 minutos de incubação foram descartados. Durante o período de estabilização, o líquido de incubação foi substituído a intervalos de 15 minutos.

3.5. Atrio Esquerdo Isolado

O átrio esquerdo foi removido imediatamente após o preparo do átrio direito e preparado para registro isométrico de suas contrações, as quais foram induzidas por estimulação elétrica aplicada através de um eletrodo bipolar de platina. Este eletrodo encontrava-se conectado a um estimulador elétrico Grass. Os estímulos elétricos aplicados ao tecido apresentavam as seguintes características: frequência de 1 Hertz, duração de 5ms e voltagem supra-limiar.

A preparação foi submetida a uma tensão de 0,5gf através de um fio de algodão, conectado ao átrio, e preso a um transdutor isométrico de tensão (Narco Bio-System, F-60), o qual estava ligado a um polígrafo Narco Bio-System de 4 canais.

As condições de incubação foram idênticas às descritas para o átrio direito.

Após o período de estabilização, determinou-se o comprimento ótimo do músculo cardíaco, que corresponde ao comprimento no qual o tecido desenvolve a maior tensão possível em cada contração. Este foi determinado a partir da curva comprimento-tensão, obtida para cada preparação.

3.6. Curvas Concentração-Efeito

Após o período de estabilização de ambos os átrios, foram obtidas curvas concentração-efeito para o isoproterenol (ISO) e a noradrenalina (NA), utilizando-se o método cumulativo (van Rossum, 1963). O efeito máximo foi determinado quando três concentrações sucessivas e crescentes do agonista não determinaram alterações da resposta obtida com a concentração imediatamente anterior.

As sensibilidades dos átrios direito e esquerdo, respectivamente, foram avaliadas pela determinação do valor PD_{50} , que corresponde ao logaritmo negativo da concentração molar do agonista (ISO ou NA) que determina uma resposta igual a 50% da resposta máxima, em cada experimento (CE-50).

3.7. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados empregando-se o teste "t" de Student para amostras não pareadas, quando os grupos experimentais foram comparados a seus respectivos controles. Utilizando a análise de variância e o "multiple range test", comparamos os grupos experimentais entre si. Valores de p menores ou iguais a 0,05 foram aceitos como indicativos de significância estatística (KRAMER, 1956; LEVIN, 1987; SPIEGEL, 1979).

3.8. Fármacos e Soluções

Todos os sais utilizados foram de padrão analítico (A.C.S.).

As soluções foram preparadas imediatamente antes do uso com água destilada e desionizada, e descartadas em seguida.

Os seguintes fármacos foram utilizados:

- hidrocloreto de isoproterenol (Sigma Co.)
- hidrocloreto de noradrenalina (Sigma Co.)

4. RESULTADOS

Em cada experimento realizado obtivemos uma curva concentração-efeito ao ISO e outra à NA, a partir das quais calculamos as respostas cronotrópicas e inotrópicas dos tecidos atriais direito e esquerdo, respectivamente, às diferentes concentrações dos agonistas de adrenoreceptores beta.

Os resultados obtidos estão ilustrados graficamente nas figuras 1 a 8. As variações de sensibilidade foram determinadas considerando-se os deslocamentos horizontais das curvas concentração-efeito, à nível dos respectivos valores de CE-50, e expressos como PD_{50} (Tabelas 2 a 5). Uma vez que as curvas são paralelas, a determinação das magnitudes das variações de sensibilidade, a partir dos valores PD_{50} , apresenta validade metodológica.

4.1. Peso do coração e peso corporal

A tabela 1 demonstra que ao longo do período de 14 semanas, os animais dos grupos controles apresentaram aumento do peso cardíaco e do peso corporal, não havendo alteração da razão entre essas duas variáveis, que é da ordem de 2,5 mg/g.

Os animais dos grupos submetidos a treinamento físico por natação também apresentaram aumento do peso cardíaco e do peso corporal. A razão entre essas duas variáveis é igual a 3,1 mg/g, valor significativamente maior

do que aquele apresentado pelos controles. Essa diferença se estabelece já na 10ª sessão de natação e se mantém até o final do programa.

TABELA 1- Variação do peso do coração e do peso corporal de ratos durante o programa de treinamento físico.

GRUPOS	N ^a	CORACAO (mg) ^b	CORPO (g) ^b	CORACAO/CORPO (mg/g) ^b	VARIACAO %
CONTROLE	5	659(32)	263(11)	2,5(0,1)	-
NATAÇÃO 10	5	775(15) ^c	245(6)	3,2(0,1) ^c	27
CONTROLE	5	797(36)	308(16)	2,6(0,0)	-
NATAÇÃO 20	9	809(27)	262(13)	3,1(0,1) ^c	20
CONTROLE	5	776(29)	285(8)	2,7(0,1)	-
NATAÇÃO 30	8	935(39) ^c	306(10)	3,1(0,1) ^c	13
CONTROLE	13	804(19)	308(10)	2,6(0,1)	-
NATAÇÃO 34	4	937(50) ^c	308(17)	3,1(0,1) ^c	16
CONTROLE	13	804(19)	308(10)	2,6(0,1)	-
NATAÇÃO 35	4	889(42)	310(12)	2,9(0,0) ^c	9
CONTROLE	8	821(25)	323(13)	2,6(0,1)	-
NATAÇÃO 40	4	963(61)	328(23)	2,9(0,1) ^c	15
CONTROLE	10	960(33)	391(18)	2,5(0,1)	-
NATAÇÃO 70	17	1073(30)	342(11)	3,2(0,1) ^c	27

^a - Número de experimentos.

^b - Valores médios seguidos dos respectivos erros padrões das médias.

^c - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) em relação ao controle.

4.2. Sensibilidade de Átrios Direitos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Cronotrópicos do Isoproterenol.

A análise da tabela 2 permite verificar que o programa de treinamento físico por natação não alterou significativamente ($p > 0,05$) a frequência inicial de batimentos dos átrios direitos isolados de ratos (figura 1).

A tabela 2 também demonstra que não houve qualquer alteração da resposta máxima ou da sensibilidade ao ISO do marca-passo isolado de ratos submetidos ao treinamento (figura 2).

TABELA 2- Efeito cronotrópico do isoproterenol (ISO) em átrios direitos isolados de ratos controles ou submetidos a treinamento físico por natação.

GRUPOS	N ^a	pD ₅₀ ^b	RAZÃO ^c	FREQUENCIA INICIAL (bat/min) ^d	RESPOSTA MÁXIMA (bat/min) ^d
CONTROLE	4	8,51(0,10)	—	303(6)	168(11)
NATAÇÃO 10	6	8,29(0,13)	1,7	258(7)	170(9)
CONTROLE	5	8,63(0,07)	—	258(8)	168(13)
NATAÇÃO 20	6	8,56(0,09)	1,2	248(11)	178(19)
CONTROLE	5	8,53(0,09)	—	280(6)	168(24)
NATAÇÃO 30	6	8,35(0,12)	1,5	245(9)	168(12)
CONTROLE	11	8,34(0,10)	—	268(7)	179(14)
NATAÇÃO 34	4	8,30(0,20)	1,1	253(7)	188(14)
CONTROLE	11	8,34(0,10)	—	268(7)	179(14)
NATAÇÃO 35	4	8,21(0,17)	1,4	260(17)	198(42)
CONTROLE	6	8,18(0,15)	—	258(10)	188(18)
NATAÇÃO 40	4	8,50(0,18)	2,1	255(3)	178(6)
CONTROLE	5	8,71(0,18)	—	252(10)	146(9)
NATAÇÃO 70	5	8,55(0,09)	1,5	246(13)	186(10)

^a — Número de experimentos.

^b — Logaritmo negativo da concentração molar que produz uma resposta igual a 50% da máxima.

^c — Antilogaritmo das diferenças entre os valores pD₅₀.

^d — Valores médios de bat/min seguidos dos erros padrões das médias.

^e — Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao controle.

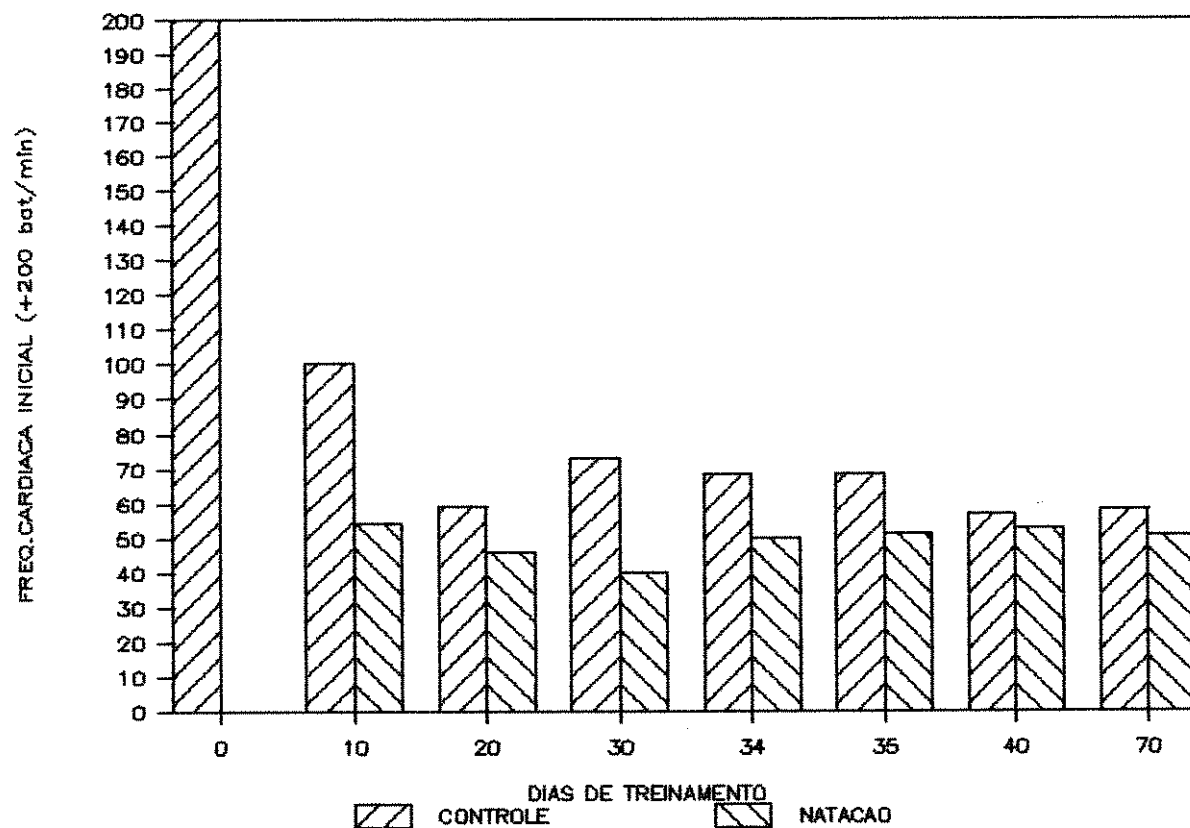


FIGURA 1 - Frequência de batimentos espontâneos do átrio direito isolado de ratos controles e de ratos submetidos a um programa de treinamento físico. Os erros padrões das médias estão indicados na tabela 2.

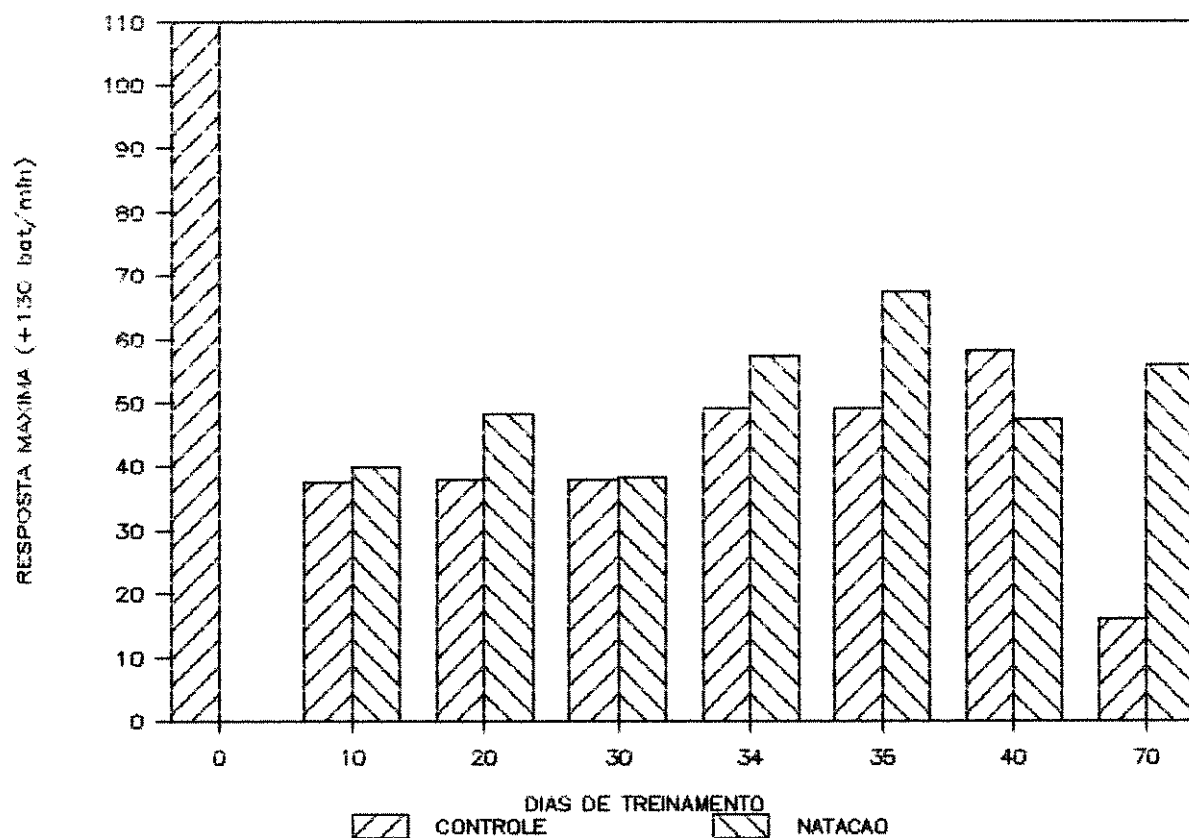


FIGURA 2 - Resposta máxima para o efeito cronotrópico do isoproterenol em átrios direitos isolados de ratos controles ou submetidos à natação. Os erros padrões das médias estão indicados na tabela 2.

4.3. Sensibilidade de Atrios Direitos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Cronotrópicos da Noradrenalina.

A tabela 3 e a figura 3 mostram que o treinamento físico por natação não determinou nenhuma alteração da resposta máxima do átrio direito de ratos para a NA

A figura 4 apresenta as curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas em átrios direitos isolados de ratos submetidos a 35 sessões de natação e de seu respectivo controle. Nossos dados indicam que ratos submetidos a 35 sessões de natação apresentam subsensibilidade do tecido atrial ao efeito cronotrópico da noradrenalina ($p < 0,05$). Esta diminuição de sensibilidade é evidenciada por um desvio da curva dose-resposta à direita de 3,0 vezes em relação ao grupo controle.

TABELA 3- Efeito cronotrópico da noradrenalina (NA) em átrios direitos isolados de ratos controles ou submetidos a treinamento físico por natação.

GRUPOS	N ^a	pD ₅₀ ^b	RAZÃO ^c	FREQUENCIA INICIAL (bat/min) ^d	RESPOSTA MAXIMA (bat/min) ^d
CONTROLE	4	7,20(0,08)	—	298(11)	163(7)
NATAÇÃO 10	6	7,09(0,10)	1,3	250(9)	177(11)
CONTROLE	5	7,24(0,25)	—	260(6)	168(8)
NATAÇÃO 20	6	7,22(0,09)	1,1	243(10)	160(25)
CONTROLE	5	7,24(0,15)	—	266(8)	160(11)
NATAÇÃO 30	6	7,08(0,12)	1,5	235(9)	150(4)
CONTROLE	11	7,19(0,08)	—	260(6)	175(10)
NATAÇÃO 34	4	7,07(0,10)	1,5	248(10)	188(9)
CONTROLE	11	7,19(0,08)	—	260(6)	175(10)
NATAÇÃO 35	4	6,71(0,26) ^e	3,0	243(11)	210(39)
CONTROLE	6	7,14(0,09)	—	255(10)	188(16)
NATAÇÃO 40	4	7,01(0,14)	1,4	250(7)	163(7)
CONTROLE	5	7,24(0,19)	—	264(8)	166(13)
NATAÇÃO 70	9	7,23(0,05)	1,0	253(4)	170(10)

^a — Número de experimentos.

^b — Logaritmo negativo da concentração molar que produz uma resposta igual a 50% da máxima.

^c — Antilogaritmo das diferenças entre valores pD₅₀.

^d — Valores médios de bat/min seguidos dos erros padrões das médias.

^e — Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo controle.

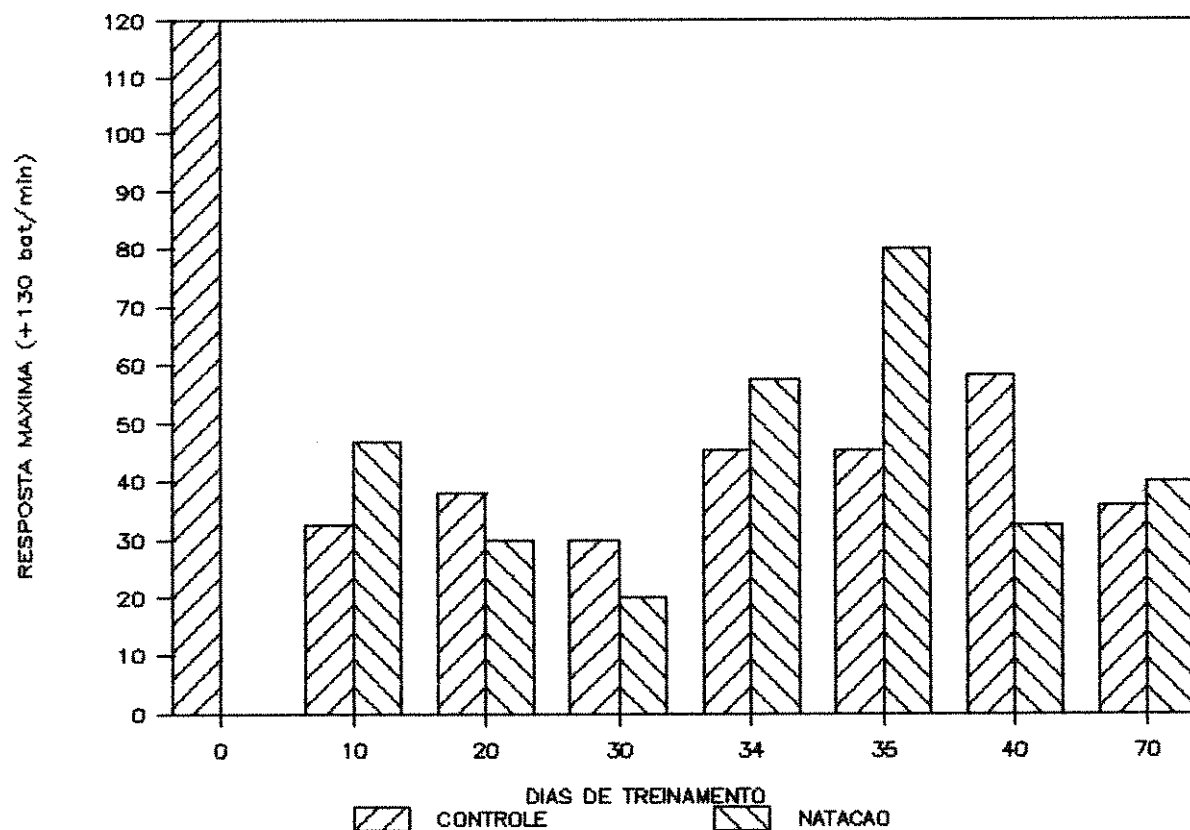


FIGURA 3 - Resposta máxima para o efeito cronotrópico da noradrenalina em átrios direitos isolados de ratos controles ou submetidos à natação. Os erros padrões das médias estão indicados na tabela 3.

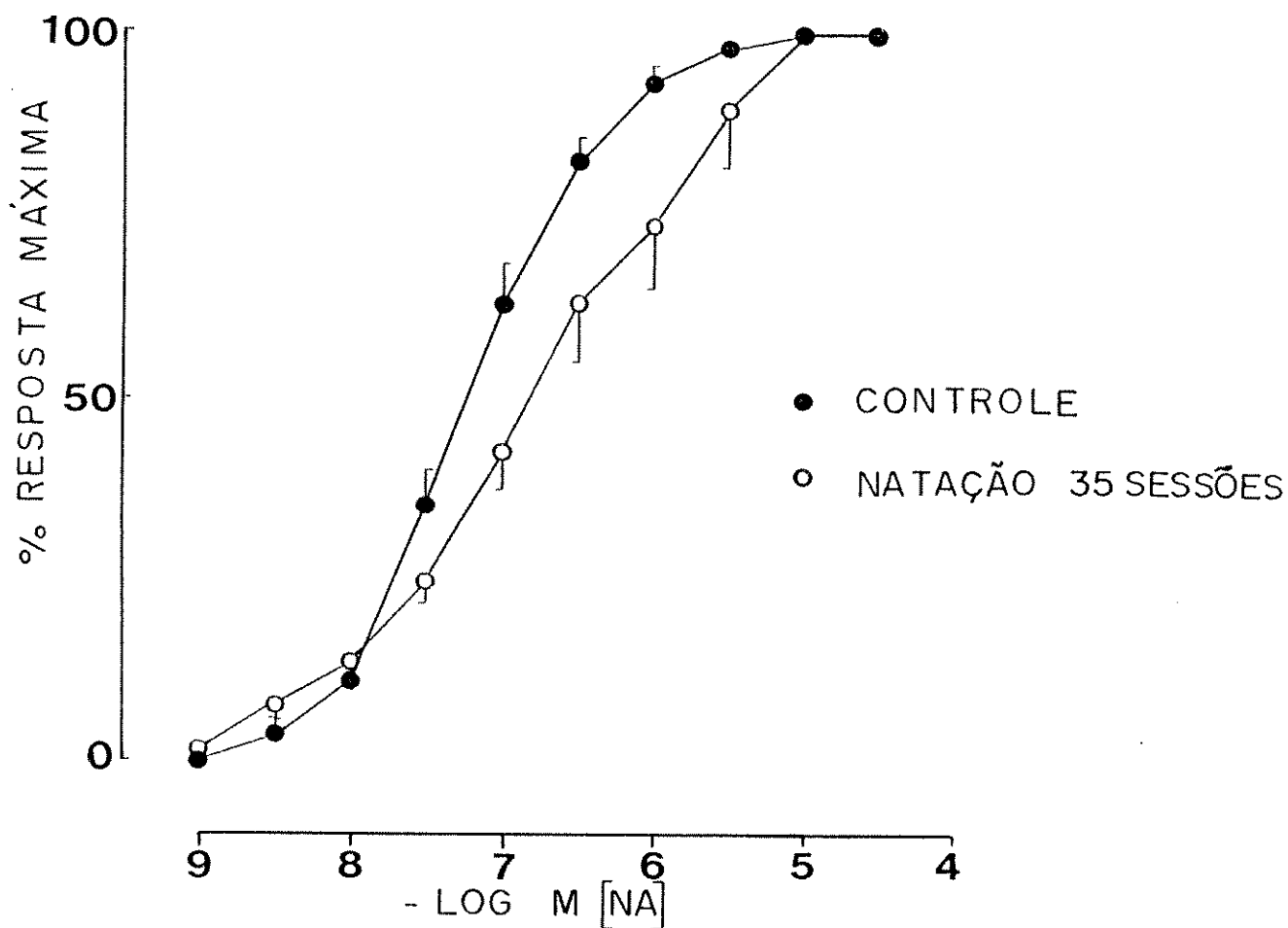


FIGURA 4 - Curvas concentração - efeito para o efeito cronotrópico da noradrenalina em átrios direitos isolados de ratos controles ou submetidos a natação por 35 sessões. As barras verticais representam os erros padrões das médias.

4.4. Sensibilidade de Atrios Esquerdos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Inotrópicos do Isoproterenol.

A análise dos dados apresentados nas tabelas 4 e 5 permite verificar que o programa de treinamento físico por natação, ao qual os ratos foram submetidos, não alterou significativamente ($p > 0,05$) a tensão inicial (gf/100mg) desenvolvida pelos átrios esquerdos isolados, quando comparamos os animais treinados com seus controles.

Entretanto, como ilustra a figura 5, variações significativas ($p < 0,05$) na tensão inicial ocorreram quando comparamos os grupos treinados entre si. Através da análise de variância obtivemos diferenças significativas, ao nível de 5%, entre os grupos treinados: 10 x 34, 10 x 40, 10 x 30, 10 x 35, 10 x 70, 20 x 34, 20 x 40, 20 x 30, 70 x 34 e 70 x 40.

Da mesma forma, as respostas máximas ao ISO, expressas em gramas de tensão desenvolvida por 100 mg de tecido, não apresentam diferenças significativas entre os grupos treinados e controles. Entretanto, quando comparamos os grupos treinados entre si, através da análise de variância, obtém-se diferenças significativas entre os grupos: 20 x 40, 20 x 34, 20 x 70, 20 x 35 e 20 x 30 (figura 6).

TABELA 4- Efeito inotrópico do isoproterenol (ISO) em átrios esquerdos isolados de ratos controles ou submetidos a treinamento físico por natação.

GRUPO	N ^a	pD ₂ ^b	RAZÃO ^c	TENSÃO INICIAL (gf/100mg) ^d	RESPOSTA MÁXIMA (gf/100mg) ^d
CONTROLE	5	8,34(0,10)	—	5,41(0,46)	2,70(0,35)
NATAÇÃO 10	7	8,67(0,11)	2,1	5,97(1,28)	2,84(0,52)
CONTROLE	5	8,41(0,16)	—	4,85(1,72)	2,69(0,59)
NATAÇÃO 20	7	8,61(0,09)	1,6	6,78(1,61)	4,03(0,62)
CONTROLE	5	8,49(0,18)	—	4,12(1,26)	2,93(0,90)
NATAÇÃO 30	7	8,18(0,09)	2,0	3,58(0,69)*#	2,59(0,38)#
CONTROLE	13	8,35(0,12)	—	4,04(0,65)	2,86(0,40)
NATAÇÃO 34	4	8,13(0,24)	1,7	2,23(0,50)*#+	1,43(0,32)#
CONTROLE	13	8,35(0,12)	—	4,04(0,65)	2,86(0,40)
NATAÇÃO 35	4	8,19(0,23)	1,5	3,28(0,69)*	2,00(0,35)#
CONTROLE	8	8,26(0,17)	—	3,99(0,86)	2,81(0,44)
NATAÇÃO 40	4	8,56(0,12)	2,0	2,67(0,42)*#+	1,39(0,54)#
CONTROLE	5	8,80(0,16)	—	2,84(0,73)	2,42(0,39)
NATAÇÃO 70	5	8,46(0,44)	2,2	2,73(0,44)*	1,92(0,48)#

^a - Número de experimentos.

^b - Logaritmo negativo da concentração molar que produz uma resposta igual a 50% da máxima.

^c - Antilogaritmo das diferenças entre os valores pD₂.

^d - Valores médios de tensão seguidos dos erros padrões das médias.

* - Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo treinado durante 10 sessões.

- Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo treinado durante 20 sessões.

+ - Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo treinado durante 70 sessões.

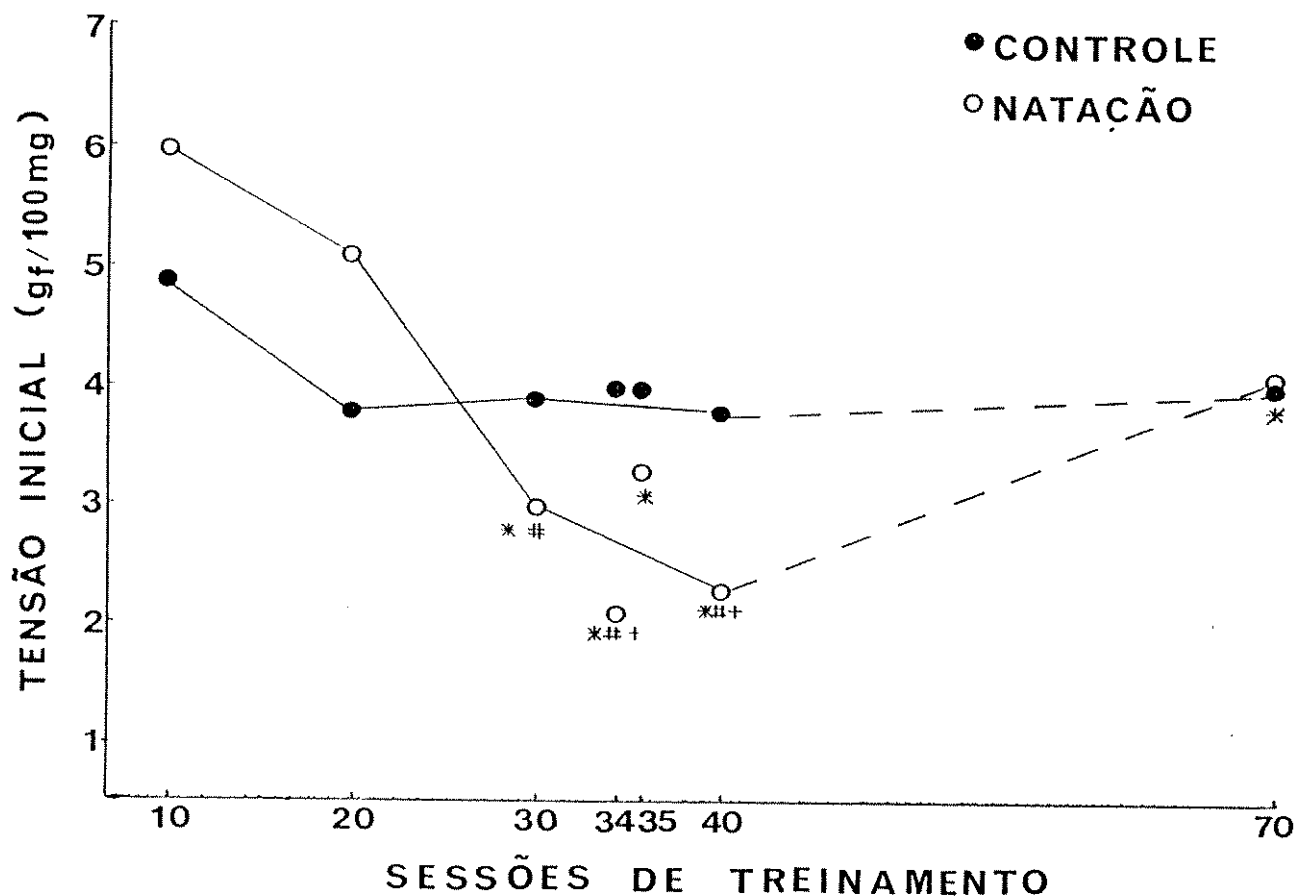


FIGURA 5 - Efeito do treinamento físico sobre a tensão inicial desenvolvida pelo átrio esquerdo isolado de ratos controles ou submetidos à natação. Os erros padrões das médias estão indicados na tabela 4.

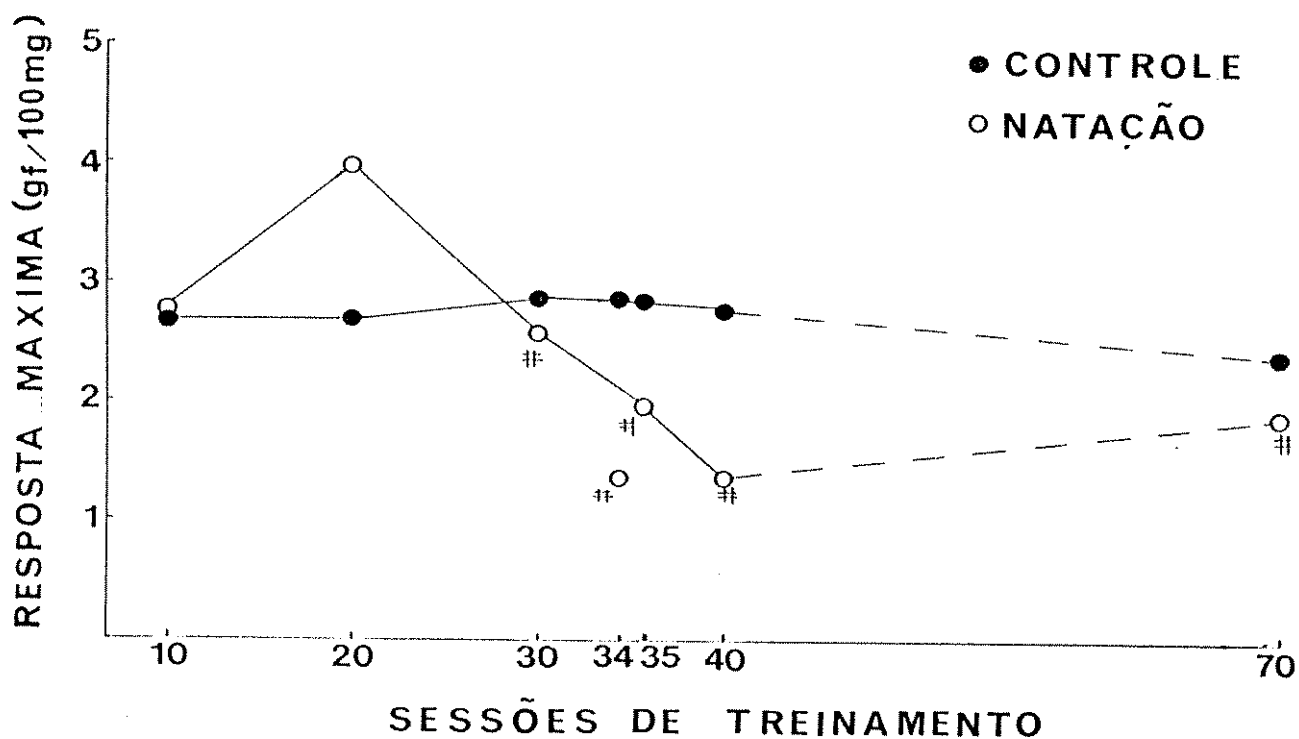


FIGURA 6 - Resposta máxima para o efeito inotrópico do isoproterenol em átrios esquerdos isolados de ratos controles ou submetidos à natação. Os erros padrões das médias estão indicados na tabela 4.

4.5. Sensibilidade de Átrios Esquerdos Isolados de Ratos Controles ou Submetidos a Treinamento Físico por Natação aos Efeitos Inotrópicos da Noradrenalina.

A tabela 5 permite verificar que as respostas máximas à NA desenvolvidas pelos átrios esquerdos não apresentaram diferenças significativas quando comparamos átrios de ratos submetidos à natação com seus respectivos controles. Entretanto, a análise comparativa das respostas máximas para o efeito inotrópico da NA em átrios esquerdos isolados de ratos treinados apontam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os seguintes grupos: 20 x 40, 20 x 34, 20 x 35, 20 x 70, 20 x 30, 10 x 40 e 10 x 34 (figura 7).

Na figura 8, estão representadas as curvas concentração-efeito à NA obtidas em átrios esquerdos isolados de ratos controles ou submetidos a 34 sessões de natação. Nossos dados mostram que houve um desvio significativo à direita de 2,5 vezes ($p < 0,05$) nas curvas concentração-efeito à NA obtidas em átrios esquerdos de ratos submetidos a 34 sessões de natação.

TABELA 5- Efeito inotrópico da noradrenalina (NA) em átrios esquerdos isolados de ratos controles ou submetidos a treinamento físico por natação.

GRUPO	N ^a	pD ₅₀ ^b	RAZÃO ^c	TENSÃO INICIAL (gf/100mg) ^d	RESPOSTA MÁXIMA (gf/100mg) ^d
CONTROLE	5	6,90(0,16)	—	4,34(0,38)	4,43(0,57)
NATAÇÃO 10	6	7,08(0,11)	1,5	6,12(0,35)	4,96(0,91)
CONTROLE	4	7,01(0,14)	—	2,44(0,52)	3,43(0,66)
NATAÇÃO 20	6	6,96(0,14)	1,1	4,62(0,84)	5,41(0,56)
CONTROLE	5	6,90(0,12)	—	3,63(1,25)	3,89(0,95)
NATAÇÃO 30	7	6,97(0,08)	1,2	2,32(0,54)**	3,37(0,13)#
CONTROLE	12	6,98(0,06)	—	3,60(0,63)	3,88(0,46)
NATAÇÃO 34	4	6,59(0,11)*	2,5	2,03(0,54)**+	2,42(0,28)**
CONTROLE	12	6,98(0,06)	—	3,60(0,63)	3,88(0,46)
NATAÇÃO 35	4	6,73(0,15)	1,8	3,35(1,05)*	3,29(0,25)#
CONTROLE	7	7,04(0,08)	—	3,58(0,79)	3,88(0,57)
NATAÇÃO 40	4	7,15(0,20)	1,3	1,83(0,39)**+	2,41(0,94)**
CONTROLE	5	7,38(0,20)	—	5,07(0,97)	2,50(0,11)
NATAÇÃO 70	10	7,07(0,11)	2,0	4,75(0,60)*	3,30(0,39)#

^a - Número de experimentos.

^b - Logaritmo negativo da concentração molar que produz uma resposta igual a 50% da máxima.

^c - Antilogaritmo das diferenças entre os valores pD₅₀.

^d - Valores médios de tensão seguidos dos erros padrões das médias.

* - Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo controle.

* - Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo treinado durante 10 sessões.

- Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo treinado durante 20 sessões.

+ - Diferença estatisticamente significativa (p < 0,05) em relação ao grupo treinado durante 70 sessões.

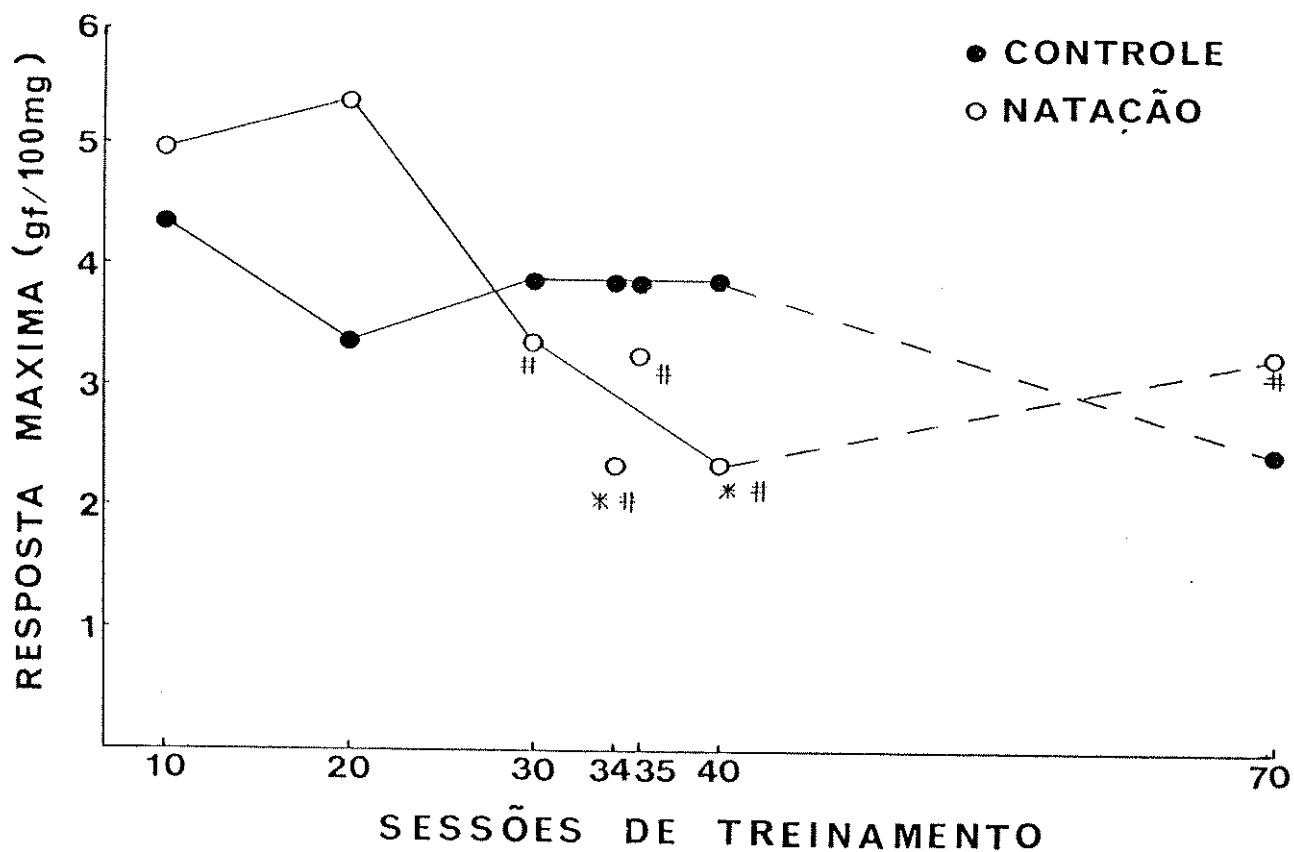


FIGURA 7 - Resposta máxima para o efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos controles ou submetidos à natação. Os erros padrões das médias estão indicados na tabela 5.

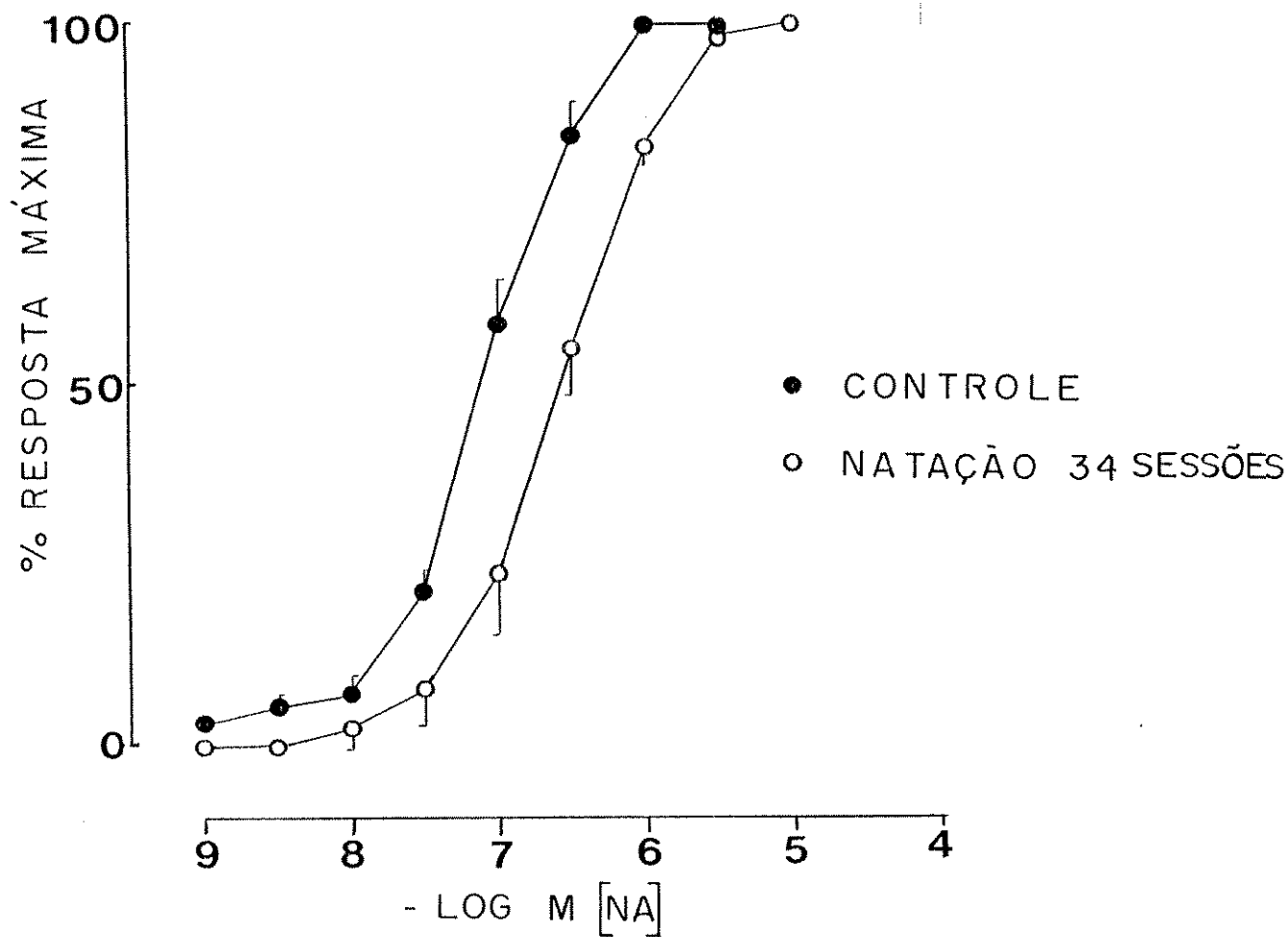


FIGURA 8 - Curvas concentração - efeito para o efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos controles ou submetidos a 34 sessões de natação. As barras verticais representam os erros padrões das médias.

5. DISCUSSAO

O exercício físico, por constituir um trabalho biológico, encontra-se intimamente ligado ao fenômeno de "stress". Segundo OSTMAN-SMITH (1979), um grupo de 8 ratos não treinados, colocados para nadar simultaneamente, apresentaram-se moderadamente fatigados após 2 horas de natação, exaustos após 4 horas e extenuados após 8 horas. Além disso, quanto maior o número de animais por unidade de área do tanque de natação, maior a atividade física desenvolvida por cada animal e, conseqüentemente o "stress".

SPADARI et al. (1988) demonstraram que ratos submetidos a uma sessão de natação de 50 minutos apresentam elevação dos níveis plasmáticos de corticosterona de 163% e, simultaneamente, diminuição de 60% na concentração de noradrenalina no tecido atrial direito.

COX et al. (1985) mostraram que a natação pode ser considerada um agente causador de "stress" em ratos, determinando alterações, principalmente, nos sistemas cardiovascular e simpático-adrenal. Seus resultados indicam que a atividade global cardiovascular e do sistema simpático-adrenal, em resposta à natação, é similar àquela obtida com choque na cauda.

Em ratos, a natação tem sido amplamente utilizada, em programas de treinamento físico. Segundo OSTMAN-SMITH (1979) a natação é o método que envolve o menor "stress" emocional.

A reação de alarme inicial quando um rato é colocado na água pela primeira vez, caracteriza-se por uma

"surpresa" e, usualmente, o animal apenas flutua por alguns instantes. Subsequentemente, descobre como nadar, impulsionando-se com as patas traseiras e a cauda em torno das bordas do tanque, provavelmente procurando uma forma de escapar. Ante a impossibilidade de fuga, passa a desenvolver o menor esforço necessário para não afundar, permanecendo a maior parte do tempo junto às bordas.

Após as primeiras sessões de natação, com o prosseguimento do programa de treinamento físico, ocorre a predominância da segunda fase da Síndrome Geral da Adaptação (SELYE, 1956): a fase de adaptação. Esta fase caracteriza-se por tornar o organismo mais apto a realizar determinada tarefa ou desempenho, isto é, aumenta a capacidade para resistir acima do normal. Para que não ocorra adaptação é necessário que os estímulos sejam progressivamente crescentes. Caso não haja a aplicação de cargas de intensidades crescentes, o organismo tende a assimilar a carga aplicada, havendo inclusive uma discreta regressão na capacidade física, se esta for comparada com o nível alcançado no início do treinamento físico (MEERSON, 1984).

O aumento do tônus simpático durante o "stress" físico provocado pelo treinamento por natação, resulta em aumento da concentração de catecolaminas circulantes, as quais determinam os efeitos cronotrópico (OSTMAN & SJOSTRAND, 1970; OSTMAN et al. 1972; SCHEUER & TIFTON, 1977; OSTMAN-SMITH, 1979; McCARTY et al. 1988) e inotrópico (HERD, 1991) positivos.

Essas alterações, provocadas no coração durante o programa de treinamento promovem, a longo prazo, efeitos anatômicos e fisiológicos, persistentes sendo que os mais evidentes são a hipertrofia cardíaca e a bradicardia de repouso.

Nossos resultados mostram que os animais submetidos ao programa de natação apresentaram uma razão entre o peso do coração e o peso corporal da ordem de 3,1 mg/g, contra 2,5 mg/g dos animais controles. Esses valores apontam para diferenças significativas ($p < 0,05$) em todos os grupos experimentais com relação aos seus respectivos controles, indicando que os animais desenvolveram hipertrofia cardíaca. Estes resultados concordam com aqueles obtidos por SCHEUER & TIPTON (1977) e por OSTMAN-SMITH (1979), nos quais, animais submetidos a programas de treinamento físico por natação ou corrida, apresentavam uma maior razão entre peso do coração e o peso corporal, quando comparados com animais inativos.

O aumento da massa cardíaca relativa nos grupos experimentais foi da ordem de $18,1 \pm 2\%$ em relação aos animais controles, o que representa 2,6 vezes a hipertrofia observada por OSTMAN-SMITH (1979).

A redução da frequência cardíaca de repouso é uma adaptação funcional bem estabelecida para o treinamento aeróbico, cujos mecanismos ainda permanecem controversos (STEINHAUS, 1933; FRICK, 1967; MARSLAND, 1968; SEDGWICK et al., 1974; SCHEUER & TIPTON, 1977; ASTRAND & RODAHL, 1980).

BADEER (1975) relacionou a bradicardia de repouso observada em atletas à maior concentração de acetilcolina encontrada no tecido atrial, após as sessões de treinamento. Outros autores consideram que esta se deve à menor sensibilidade do tecido cardíaco às catecolaminas (SMITH & EL-HAGE, 1978) ou a uma menor frequência intrínseca do marca-passo associada a um aumento da atividade parassimpática (SMITH et al., 1989).

Nós não avaliamos "in vivo" a frequência cardíaca dos ratos treinados. Assim sendo, não podemos afirmar que estes animais não desenvolveram bradicardia de repouso. Entretanto, verificamos que a frequência de batimentos espontâneos dos átrios direitos isolados destes animais não difere daquela exibida por átrios direitos isolados de animais inativos. Esta observação fornece uma indicação que estes animais, aparentemente, não desenvolveram bradicardia de repouso.

Inúmeros outros autores relataram a ausência de bradicardia de repouso em animais treinados (TIPTON et al., 1974; OSTMAN-SMITH, 1979). Contrariamente, BOLTER et al. (1973) descreveram uma menor frequência de batimentos em ratos submetidos à natação por uma hora/dia, cinco dias/semana, durante quinze semanas, em relação ao controle.

No "stress" crônico, situação na qual o estímulo persiste continuamente por um longo período, consistindo em constante provocação para o animal, a instalação de subsensibilidade noradrenérgica parece ser um fenômeno

estabelecido (STONE, 1978;1979;1981; CALLIA & DE MORAES, 1984; DAVIES & LEFKOWITZ, 1984; FRASER & VENTER, 1990).

Nossos resultados demonstraram, entretanto, que não houve alterações da sensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico do ISO ou da NA, em átrios direitos e esquerdos de ratos submetidos à natação. Esses resultados concordam com aqueles de OSTMAN-SMITH (1979), que também não encontrou diferença significativa nos efeitos cronotrópico e inotrópico da NA em corações inteiros isolados de ratos submetidos ao mesmo programa de treinamento.

SPADARI (1985) observou que átrios direitos isolados de ratos submetidos a três sessões de natação em três dias consecutivos, apresentavam supersensibilidade ao ISO e subsensibilidade à NA. Estas alterações não ocorriam em animais que haviam sido previamente adrenalectomizados, indicando a importância do aumento dos níveis plasmáticos de corticosterona para sua instalação, e evidenciando o seu papel como parte da reação de "stress".

Durante o programa de natação, por nós utilizado, um aumento de 30 minutos no tempo de natação foi imposto aos animais na 31ª e na 32ª sessões. Nós analisamos a sensibilidade ao ISO e à NA dos átrios isolados destes animais, para verificar se o programa de treinamento, ao qual os animais vinham sendo submetidos exerceria alguma influência nas alterações de sensibilidade a estes agonistas adrenérgicos observadas previamente em animais não treinados

(SFADARI, 1985). De fato, nós verificamos que após 35 e 34 sessões de natação os átrios direitos e esquerdos de ratos treinados, também apresentaram subsensibilidade à NA quando uma sobrecarga foi imposta aos animais. Estes resultados demonstram que os tecidos estudados mantiveram sua capacidade de reação ao "stress" durante o processo adaptativo.

As respostas máximas para o efeito cronotrópico do ISO e da NA em átrios direitos isolados de animais submetidos ao programa de natação e de seus respectivos controles, não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$). Estes resultados concordam com aqueles obtidos por OSTMAN-SMITH (1979) em corações isolados de ratos submetidos ao mesmo programa de treinamento.

Nós comparamos também as respostas inotrópicas ao ISO e à NA em átrios esquerdos de ratos treinados com seus controles inativos.

MARCONDES & SFADARI (1991) verificaram ausência de alterações da tensão inicial de átrios esquerdos isolados de ratos submetidos a três sessões de natação. Verificamos que a tensão desenvolvida pelos átrios esquerdos dos animais experimentais varia ao longo das 70 sessões de natação. Ocorre diminuição da tensão desenvolvida a partir de 10^a até a 40^a sessão. Após setenta sessões de natação, entretanto, a tensão inicial desenvolvida pelo átrio esquerdo não difere daquela observada antes do início do treinamento. Esses resultados coincidem com as variações de contratilidade

miocárdica descritas por NUTTER & FULLER (1977) e por SCHEUER & TIPTON (1977).

O comportamento das respostas inotrópicas máximas aos agonistas ISO e NA seguiu o mesmo padrão apresentado pela tensão inicial. O desempenho contrátil dos átrios esquerdos foi máximo após 20 sessões de natação diminuiu após 30 e 40 sessões e não diferiu do controle após a 70ª sessão de natação. Este padrão concorda com os resultados obtidos por outros autores (MEERSON et al., 1976; NUTTER & FULLER, 1977; SCHEUER & TIPTON, 1977), os quais sugerem que a contratilidade poderia estar relacionada com aumento na atividade de ATPases das células musculares cardíacas (BHAN & SCHEUER, 1975) e/ou com uma maior disponibilidade de cálcio extracelular, resultando em melhor interação dos elementos contráteis (TIBBITS et al., 1978).

Concluindo, nossos resultados sugerem que os animais submetidos à natação encontravam-se adaptados ao esforço físico. Isto se comprova pela ocorrência de hipertrofia cardíaca (instalada após 10 sessões de natação e permanecendo constante até o final do programa), pela ausência de alterações de sensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico da noradrenalina e do isoproterenol pela oscilação da contratilidade dos átrios esquerdos isolados destes animais.

Assim sendo, mais uma vez se comprova que, caso não haja a aplicação de cargas de intensidades crescentes durante o programa de treinamento, deixará de haver

progresso na aquisição dos seus efeitos. O organismo tende a assimilar a carga aplicada podendo, inclusive, apresentar uma discreta regressão na capacidade física, se esta for comparada com o nível alcançado no início do treinamento

Para ampliar eficientemente as melhoras fisiológicas e acarretar uma modificação significativa induzida pelo treinamento físico, é necessário aplicar cargas crescentes de trabalho (LANGE, 1919; MEERSON, 1984).

As alterações de sensibilidade observadas após 34 e 35 sessões de natação, indicam que os sistemas permanecem sensíveis a estas sobrecargas durante o processo adaptativo.

6. CONCLUSIONS

- O programa de treinamento físico por nós escolhido resultou em aumento significativo da massa cardíaca relativa, em todos os grupos experimentais, mas não determinou alterações da frequência de batimentos espontâneos dos átrios direitos isolados destes animais.
- A tensão inicial, assim como, a tensão máxima desenvolvida em resposta aos agonistas de adrenocéptores, pelos átrios esquerdos dos animais submetidos à natação apresentaram alterações durante o desenvolvimento do programa.
- Átrios direitos e esquerdos isolados dos animais submetidos ao treinamento não apresentaram alterações de sensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico do ISO ou da NA, após 10, 20, 30, 40 ou 70 sessões de natação.
- Átrios direitos e esquerdos isolados de ratos submetidos a uma sobrecarga de trabalho, durante o programa de treinamento, apresentaram subsensibilidade aos efeitos do ISO ou da NA.
- No presente trabalho, nós sugerimos que houve adaptação dos animais ao esforço físico, no que se refere aos parâmetros por nós avaliados. Esta adaptação, entretanto não interferiu com a capacidade de reação ao "stress" do tecido cardíaco.

7. RESUMO

O "stress" se reflete em estímulo nervoso e humoral, através da ativação do sistema nervoso simpático e do eixo hipotálamo-hipófise -adrenal, que resulta em aumento dos níveis plasmáticos de catecolaminas e de glicocorticóides.

O exercício físico, por constituir um trabalho biológico, encontra-se intimamente relacionado ao fenômeno de "stress", determinando alterações anatômicas e fisiológicas na maioria dos sistemas do organismo. Entre estas, destacam-se a hipertrofia cardíaca, a bradicardia de repouso e as diminuições de sensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico das catecolaminas.

Neste trabalho nós analisamos as variações de frequência de batimentos espontâneos dos átrios direitos, a tensão desenvolvida pelos átrios esquerdos, as respostas cronotrópica e inotrópica ao ISO e à NA de átrios direitos e esquerdos, e a capacidade de reação ao "stress" do tecido cardíaco isolado de ratos submetidos a treinamento físico por natação. Os animais foram sacrificados após 10, 20, 30, 34, 35, 40 ou 70 sessões diárias de natação, cinco dias por semana, num total de 14 semanas.

Os ratos treinados apresentaram aumento da razão entre o peso do coração e o peso corporal, da ordem de 18,1 \pm 2% em relação aos grupos controles. O fenômeno da bradicardia de repouso não foi observado em nossos experimentos.

A tensão inicial, assim como a tensão máxima em resposta aos agonistas, desenvolvidas por átrios esquerdos dos animais treinados aumentaram após as primeiras 20 sessões para, posteriormente diminuírem até o final do programa de treinamento. Após setenta sessões de natação, estes parâmetros não apresentaram diferenças significativas em relação aos valores obtidos no início do treinamento.

Observamos também subsensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico da NA em átrios direitos e esquerdos, respectivamente, de ratos submetidos a 35 e 34 sessões de natação, mas nenhuma alteração de sensibilidade ao efeito do ISO foi observada. Esta subsensibilidade à NA ocorreu após às sobrecargas de 30 minutos, imposta nas 31ª e 32ª sessões.

Não observamos alterações de sensibilidade nos demais grupos experimentais.

Estas observações sugerem que os animais sofreram adaptação ao programa de treinamento físico empregado. Entretanto, o tecido cardíaco permaneceu sensível e manteve a capacidade de reagir ao "stress".

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AHLQUIST, R.P. A study of the adrenotropic receptors. Am. J. Physiol., 153:586-600, 1948.

ASMUSSEM, E. Exercise: general statement of unsolved problems. Circulation (Suppl. 1 to vols 20 and 21):1-2, 1-5, 1967.

ASTRAND, P.O. & RODAHL, K. Tratado de fisiologia do exercicio. 2.ed. Rio de Janeiro, Interamericana, 1980. 617p.

AXELROD, J. & REISINE, T.D. Stress hormones: their interaction and regulation. Science, 224:452-459, 1984.

BADEER, H.S. Resting bradycardia training: a concept based on currently available data. In: ROY, P.E. & RONA, G. The metabolism of contraction. Baltimore, University Park Press, 1975. p.553-560.

BANISTER, E.W. & GRIFFITHS, J. Blood levels of adrenergic amines during exercise. J. Appl. Physiol., 33:674-676, 1972.

BERGSTROM, J.; HERMANSEN, L.; HULTMAN, E. & SALTIN, B. Diet, muscle glucogen and physical performance. Acta Physiol. Scand., 71:140-150, 1967.

BERGSTROM, J. & HULTMAN, E. Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor to the muscle cells in man. Nature, 210(5033):309-310, 1966.

- BERGSTROM, J. & HULTMAN, E. Nutrition for maximal sports performance. J.A.M.A., 221(9):999-1006, 1972.
- BERTHELSEN, S. & PETTINGER, W.A. A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors. Life Sci., 21:595-606, 1977.
- BHAN, A. K. & SCHEUER, J. Effects of physical training on cardiac myosin ATPase activity. Am. J. Physiol., 228:1178-1182, 1975.
- BLOMQUIST, C.G. & SALTIN, B. Cardiovascular adaptations to physical training. Ann. Rev. Physiol., 45:169-189, 1983.
- BOLTER, C.P.; HUGHSON, R.L. & CRITZ, J.B. Intrinsic rate and cholinergic sensitivity of isolated atria from trained and sedentary rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Medicine, 144(1):364-367, 1973.
- BRODDE, D.E. The functional importance of beta-1 and beta-2 adrenoceptors in human heart. Am. J. Cardiol., 62:24C-29C, 1988.
- BRUCE, R.A. Left ventricular dimensions and function in athletes: cardiac or cardiovascular adaptations. J.A.C.C., 15(3):589-590, 1990.
- CALLIA, M.L. & DE MORAES, S. Heterogeneity of beta adrenoceptors in right atria isolated from cold-exposed rats. J. Pharmacol. Exp. Ther., 230:450-454, 1984.

- CARALIS, D.G.; EDWARDS, L.S. & DAVIS, P.J. Serum and free thyroxine and triiodothyronine during dynamic muscular exercise in man. Am. J. Physiol., 233(2):E115-E118, 1977.
- CIARALDI, J. & MARINETTI, G.V. Thyroxine and propylthiouracil effects in vivo on alpha and beta adrenergic receptors in rat heart. Biochem. Biophys. Res. Commun., 74(3):984-991, 1977.
- COX, R.H.; HUBBARD, J.W.; LAWLER, J.E.; SANDERS, B.J. & MITCHELL, V.P. Cardiovascular and sympathoadrenal responses to stress in swim-trained rats. J. Appl. Physiol., 58(4):1207-1214, 1985.
- DAVIES, A.O.; DE LEAN, A. & LEFKOWITZ, R.J. Myocardial beta-adrenergic receptors from adrenalectomized rats; impaired formation of high-affinity agonist-receptor complexes. Endocrinology, 108(2):720-722, 1981.
- DAVIES, A.O. & LEFKOWITZ, R.J. Regulation of beta-adrenergic receptors by steroids hormones. Ann. Rev. Physiol., 46:119-130, 1984.
- DESCOMBES, J.J. & STOCLET, J.C. Characterization of two alpha-adrenoceptor binding sites in smooth muscle cell membranes from rat and bovine aorta. Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol., 329:282-288, 1985.

DESSYPRIS, A.; KUOPPASALMI, K. & ADLERCREUTZ, H. Plasma cortisol, testosterone, androstenedione and luteinizing hormone in a non-competitive marathon run. J. Steroid Bioch., 7:33-37, 1976.

FRASER, C.M. & VENTER, J.C. Beta adrenergic receptors. Relationship of primary structure, receptor function and regulation. Am. Rev. Respir. Dis., 141(2 Pt 2):622-630, 1990.

FRICK, M.H. Significance of bradycardia in relation to physical training. In: KARNOVEN, M.J. & BARRY, A.J. Physical activity and the heart. Springfield: Thomas, 1967. pp 33-41.

FRIELLE, T.; KOBILKA, B.; LEFKOWITZ, R.J. & CARON, M.G. Human beta-1 and beta-2-adrenergic receptors: structurally and functionally related receptors derived from distinct genes. I.I.N.S., 11(7):321-324, 1988.

GAWEL, M.J.; ALAGHBAND-ZADEH, J.; PARK, D.M. & ROSE, F.C. Exercise and hormonal secretion. Post. Med. J., 55:373-376, 1979.

GRAHAM, R. M. & HOMCY, C. J. Molecular characterization of adrenergic receptors. Circ. Res., 56: 635-650, 1985.

HEGEDUS, J. Entrenamiento de sobrecarga aplicado ao deporte. Buenos Aires, Serviço Educativo Argentino, 1969.

HERD, J.A. Cardiovascular response to stress. Am. Physiol. Soc., 71(1):305-330, 1991.

HULTMAN, E. Studies on muscle metabolism of glycogen and active phosphate in man with special reference to exercise and diet. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 19(Suppl. 94):1-63, 1967.

HULTMAN, E. & BERGSTROM, J. Muscle glycogen synthesis in relation to diet studied in normal subjects. Acta Med. Scand., 182:109-117, 1967.

KARLSSON, J. & SALTIN, B. Diet, muscle glycogen and endurance performance. J. Appl. Physiol., 31(2):203-206, 1971.

KATOVICH, M.J. Chronic hyperprolactinemia reduces peripheral beta- adrenergic responsivity in male rats. Life Sci., 32:1212-1222, 1983.

KIRWAN, J.P.; COSTILL, D.L.; FLYNN, M.G.; MITCHELL, J.B.; FLINK, W.J.; NEUFER, P.D. & HOUMARD, J.A. Physiological responses to successive days of intense training in competitive swimmers. Med. Sci. Sports Exerc., 20(3):255-259, 1988.

KRAMER, C. Y. Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. Biometrics, 9:307-312, 1956.

KUPFER, L.E.; BILEZIKIAN, J.P. & ROBINSON, R.B. Regulation of alpha and beta adrenergic receptors by triiodothyronine in cultured rat myocardial cells. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 334:275-281, 1986.

LANDS, A.M.; ARNOLD, A.; MCAULIFF, J.P.; LUDUENA, F.R. & BROWN, T.B. Differentiation of receptors systems activated by sympatomimetic amines. Nature, 214:597-598, 1967a.

LANDS, A.M.; LUDUENA, F.R. & BUZZO, H.J. Differentiation of receptor responsiveness to isoproterenol. Life Sci., 6:2241-2249, 1967b.

LANGE, L. Über funktionelle Anpassung. Berlin, Springer Verlag, 1919.

LANGER, S. Z. Presynaptic regulation of catecholamine release. Biochem. Pharmacol., 23:1793-1800, 1974.

LEFKOWITZ, R.J. Direct binding studies of adrenergic receptors: biochemical, physiological and clinical implications. Ann. Inter. Med., 91:450-458, 1979.

LEFKOWITZ, R.J.; CARON, M.G.; MICHEL, T. & STADEL, J.M. Mechanisms of hormone-receptor-effector coupling: the beta-adrenergic receptor and adenylate-cyclase. Fed. Proc., 41(10):2664-2670, 1982.

LEFKOWITZ, R.J.; STADEL, J.M. & CARON, M.G. Adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptors: structure and mechanisms of activation and desensitization. Annu. Rev. Biochem., 52:159-186, 1983.

LEVIN, J. Estatística aplicada a ciências humanas. 2.ed. São Paulo, Habra, 1987. 392p.

LIMBIRD, L.E. GTP and Na⁺ modulate receptor-adenyl-cyclase coupling and receptor mediated function. Am. J. Physiol., 247(1):E59-E68, 1984.

MARCONDES, F.K. & SPADARI, R. C. Sensibilidade à catecolaminas em átrios esquerdos isolados de ratos submetidos a estresse por natação. Relatório de bolsa pesquisa - SAE - Serviço de Apoio ao Estudante. São Paulo, 1991.

MARSLAND, W.P. Heart rate response to submaximal exercise in the standardbred horse. J. Appl. Physiol., 24:98-101, 1968.

MARTINS, M.C. & SPADARI, R.C. Stress induced desensitization of the cardiovascular response to noradrenaline in unanesthetized rats. Braz. J. Med. Biol. Res., 23:1041-1044, 1990.

MCCARTY, R.; HORWATT, K. & KONARSKA, M. Chronic stress and sympathetic-adrenal medullary responsiveness. Soc. Sci. Med., 26(3):333-341, 1988.

MEERSON, F.Z. Adaptation, stress and prophylaxis. Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1984. 329pp.

MEERSON, F. Z.; KAPELKO, V. I. & PFAIFER, K. F. Contraction and relaxation of the heart muscle in adaptation to physical loads. Russian. Fiziol. Zh. SSSR, 62:793-795, 1976.

NOEL, G.L. ; SUH, H.K.; GILBERT, J. & FRANTZ, A.G. Human prolactin and growth hormone release during surgery and other conditions of stress. J. Clin. End. Metab., 35:840-851, 1972.

NUTTER, D. O. & FULLER, E. O. The role of isolated cardiac muscle preparations in the study of training effects on the heart. Med. Sci. Sports, 9:239-245, 1977.

OSTMAN-SMITH, I. Adaptive changes in the sympathetic nervous system and some effector organs of the rat following long term exercise or cold acclimation and the role of cardiac sympathetic nerves in the genesis of compensatory cardiac hipertrophy. Acta Physiol. Scand., (Suppl. 477):1-118, 1979.

OSTMAN, I. & SJOSTRAND, N.O. Effect of prolonged physical training on the catecholamine levels of the heart and the adrenals of the rat. Acta Physiol. Scand., 82:202-208, 1970.

OSTMAN, I.; SJOSTRAND, N.O. & SWEDIN, G. Cardiac noradrenaline turnover and urinary catecholamine excretion in trained and untrained rats during rest and exercise. Acta Physiol. Scand., 86:299-308, 1972.

SCHEUER, J. & TIPTON, C.M. Cardiovascular adaptations to physical training. Ann. Rev. Physiol., 39:221-251, 1977.

SEDGWICH, A.W.; CRAIG, R.J.; CROUCH, R. & DOWLING, B. The effects of physical training on the day and night long term heart rates of middle-aged men. Eur. J. Appl. Physiol., 33:307-314, 1974.

SELYE, H. The stress of life. USA, McGraw-Hill, 1956. 324pp.

SMITH, D.C. & EL-HAGE, A. Effect of exercise training on the chronic response of isolated rat atria to atropine. Experientia, 34(8):1027-1028, 1978.

SMITH, M.L.; HUDSON, D.L.; GRAITZER, H.M. & RAVEN, P.B. Exercise training bradycardia: the role of autonomic balance. Med. Sci. Sports Exerc., 21(1):40-44, 1989.

SPADARI, R.C. Sensibilidade às catecolaminas no Átrio direito isolado de ratos submetidos à natação: o papel da corticosterona. São Paulo, 1985. 58p. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

SPADARI, R.C. ; BASSANI, R.A. & DE MORAES, S.

Supersensitivity to isoprenaline and epinephrine in right atria isolated from rats submitted to a single swimming session. Gen. Pharmac., 19:129-135, 1988.

SPADARI, R.C. & BORDIN, S. Resposta inotrópica à isoprenalina em átrios esquerdos isolados de ratos submetidos a estresse por natação. V Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental, Caxambú, MG, 24 a 28 de agosto. 1990. Anais. Ribeirão Preto, Ed. Legis Summa Ltda, 1990. p.326.

SPADARI, R.C. & DE MORAES, S. Repeated swimming stress and responsiveness of isolated rat pacemaker to chronotropic effect of noradrenaline and isoprenaline: role of adrenal corticosteroids. Gen. Pharmacol., 19(4):553-557, 1988.

SPIEGEL, M.R. Estatística. 13.ed. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1979. 580p.

STEINHAUS, A.H. Chronic effects of exercise. Physiol. Rev., 13:103-147, 1933.

STILES, G.L.; CARDON, M.G. & LEFKOWITZ, R.J. Beta-adrenergic receptors: biochemical mechanisms and physiological regulation. Physiol. Rev., 64:661-743, 1984.

STONE, E.A. Effect of stress on norepinephrine-stimulated accumulation of cyclic AMP in rat brain slices. Pharmacol. Biochem. Behav., 8:583-591, 1978.

- STONE, E.A. Reduction by stress of norepinephrine-stimulated accumulation of cyclic AMP in rat cerebral cortex. J. Neurochem., 32:1335-1357, 1979.
- STONE, E.A. Mechanism of stress-induced subsensitivity to norepinephrine. Pharmacol. Biochem. Behav., 14:719-723, 1981.
- SUTTON, J.R. & LAZARUS, L. Growth hormone in exercise: comparison of physiological and pharmacological stimuli. J. Appl. Physiol., 41(4):523-527, 1976.
- SVANEGAARD, J.; ANGELO-NIELSEN, K. & HANSEN, J.S. Physiological hypertrophy of the heart and atrial natriuretic peptide during rest and exercise. Br. Heart J., 62:445-449, 1989.
- TIBBITS, G.; KOZIOL, B. J.; ROBERTS, N. K. BALDWIN, K. M. & BARNARD, R. J. Adaptation of the rat myocardium to endurance training. J. Appl. Physiol., 44(1):85-89, 1978.
- TIPTON, C.M.; CAREY, R.A.; EASTIN, W.C. & ERICKSON, H.H. A submaximal test for dogs: evaluation of effects of training, detraining, and cage confinement. J. Appl. Physiol., 37:271-275, 1974.
- van ROSSUN, J.M. Cumulative dose-response curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of the drug parameters. Arch. Inter. Pharmacodyn. Ther., 143:229-330, 1963.