

Este exemplar corresponde a redação final da
tese defendida pela candidata marli cardoso
martins e aprovada pela Comissão Julgadora.

Rep. C
Campinas - 7-1991

MARLI CARDOSO MARTINS

RESPOSTA CARDIOVASCULAR À NORADRENALINA E AO BHT-920 EM
RATOS SUBMETIDOS AOS "STRESS" POR NATAÇÃO

Orientadora: Profa. Dra. REGINA CELIA SPADARI

9107159/3e

Tese apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas, para a
obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas - área
de Fisiologia.

CAMPINAS
1991

M366r

14178/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo à DEUS, por ter me dado condições e estrutura para a realização deste trabalho

Aos meus pais, DEOLINDA E JOSE, simplesmente por tudo

Ao meu esposo, PHILENO, por me mostrar que fazer pesquisa e amar não são coisas tão diferentes assim.

À Professora Doutora REGINA CÉLIA SPADARI, por sua orientação crítica, confiante e dedicada e pelo amparo nos momentos mais difíceis.

Ao Professor Doutor SERGIO DE MORAES, pelo auxílio constante durante todo o tempo do Mestrado

Ao Professor Doutor EDSON MOREIRA, por sua disposição em me ensinar a técnica de canulação.

À Srta. VANDERCI APARECIDA DOS SANTOS, pelo auxílio e disposição no trabalho de laboratório.

À Srta. MARIA ELIDIA DOS SANTOS, pela boa vontade e grande ajuda nos trabalhos de digitação.

Aos colegas pós-graduandos pela descontração e companheirismo, tão importantes na convivência diária.

Aos ratos do Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica que, mesmo sem opção, doaram suas vidas para a realização deste trabalho.

À todos aqueles que, de uma forma ou de outra, interferiram na concretização deste trabalho.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Animais	11
3.2. Grupos experimentais	11
3.3. Medida de frequência cardíaca e da pressão arterial	11
3.4. Natação	14
3.5. Avaliação da sensibilidade cardiovascular às catecolaminas	14
3.6. Análise estatística	16
3.7. Fármacos e soluções	16
3.8. Protocolo experimental	18
4. RESULTADOS	19
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÕES	65
7. RESUMO	67
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

1. INTRODUÇÃO

"Stress" pode ser definido como o conjunto de reações que ocorrem no organismo em resposta a fatores que, de alguma forma, ameaçam a sua integridade. Este conjunto de reações objetiva, basicamente, permitir ao organismo reagir contra o agente agressor ou minimizar os danos que este possa causar, quando o animal se encontra numa situação inescapável. Embora a reação de "stress" seja específica, sua indução é geral, isto é, a qualidade do agente agressor parece não determinar quais os mecanismos fisiológicos que serão acionados.

Os mecanismos relacionados à reação de "stress" são vários e a sua interação é complexa. O sistema endócrino participa da reação através da liberação de hormônios hipofisários tais como o hormônio do crescimento, o hormônio adrecorticotrófico (ACTH) e a prolactina, além de peptídeos opióides (FLUXE et al., 1983; HOKFELT et al., 1983). O aumento dos níveis plasmáticos de ACTH, determina liberação de glicorticóides pelo córtex da glândula adrenal, enquanto a ativação do sistema nervoso simpático e da medula adrenal resulta em aumento dos níveis plasmáticos de catecolaminas (CANNON et al., 1927; LEDUC, 1961; LE BLANC & NADEAU,

1961; LE BLANC & VILLEMARES, 1970; HIMMS-HAGEN, 1975; OSTMAN-SMITH, 1970; NATHELSON et al., 1981).

As catecolaminas atuam no organismo, modulando processos fisiológicos, através da interação com receptores específicos existentes nos tecidos. Em 1948, AHLQUIST postulou que a resposta ao estímulo adrenérgico poderia ser dividida em duas grandes categorias e propôs a existência de dois tipos de adrenoceptores: alfa e beta. Os adrenoceptores alfa foram caracterizados farmacologicamente pela seguinte ordem de potências relativas: adrenalina > noradrenalina >> isoprenalina. Os adrenoceptores beta são identificados quando a ordem de potências relativas é: isoprenalina > adrenalina > noradrenalina. Com o surgimento dos antagonistas, foi possível subdividir estes dois tipos em alfa-1, alfa-2 (LANGER, 1974), beta-1 e beta-2 (LANDS et al., 1967 a,b).

A identificação dos adrenoceptores alfa-1 e alfa-2 foi inicialmente estabelecida em bases anatômicas. Os adrenoceptores alfa-1, localizados a nível pós-juncional, mediarão as respostas constritoras de tecidos musculares lisos (BERTTHELSEN & PETTINGER, 1977). Os adrenoceptores alfa-2, pré-juncionais, modularão a liberação de noradrenalina pelas terminações nervosas simpáticas (LANGER, 1974; STARKE, 1987). Posteriormente, essa classificação foi avaliada em termos de seletividade a diferentes agonistas e antagonistas adrenérgicos. Verificou-se, então, que ambos os

subtipos de adrenoreceptores alfa poderiam coexistir nas células musculares lisas e que ambos poderiam ativar a resposta contrátil (DOCHERTY & McGRATH, 1980; DREW & WHITING, 1979; LANGER et al., 1980; STARKE, 1981; TIMMERMANS & VAN ZWIETEN, 1979; 1981; VAN ZWIETEN et al., 1983).

A estimulação dos adrenoreceptores alfa-1 por agonistas resulta em influxo de íons cálcio do meio extracelular para o interior da célula, através de canais de cálcio operados por receptor; seguido por hidrólise do fosfatidil inositol-4,5-bifosfato que leva à formação de dois tipos de segundos mensageiros: o inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) e o diacilglicerol (QUIST & SANCHES, 1983; BROWN et al., 1985; WOODCOCK et al., 1987). O diacilglicerol é um potente ativador da proteína kinase C (NISHIZUKA, 1984), e o IP3 induz a liberação de cálcio dos estoques intracelulares (BERRIDGE & IRVINE, 1984).

O mecanismo de transdução do sinal de adrenoreceptores alfa-2 não está totalmente esclarecido. Segundo VAN MEEL et al. (1981) os adrenoreceptores alfa-2 são preferencialmente ligados aos canais de cálcio operados por receptor, assim como os receptores alfa-1, e ambos os subtipos são capazes de acionar os mesmos mecanismos intracelulares (VANHOUTE & RIMELE, 1982; JANSSENS & VERHAEGHE 1984; RUFOLLO et al., 1984). Entretanto, existem autores que sugerem diferentes mecanismos para cada subtipo de adrenoreceptor alfa (VAN MEEL et al., 1981; CAVERO et al., 1983; MEDGETT & RAJANAYAGAN, 1984).

Recentemente, o emprego de antagonistas marcados com radioisótopos, permitiu a identificação de dois subtipos de adrenoreceptores alfa-1. Sugeriu-se a existência de um sítio alfa-1a, que mediaría as contrações do músculo liso associadas ao influxo de cálcio extracelular, através de canais de cálcio sensíveis à dihidropiridina. O sítio alfa-1b, quando ativado, determinaria a estimulação do metabolismo de fosfolipídeos, num processo independente do influxo de cálcio extracelular (HAN et al., 1987). Segundo PIASCIK et al. (1990) o subtipo de adrenoreceptor alfa-1 que tem papel predominante na regulação da pressão arterial sistêmica é o subtipo alfa-1a.

Além da subdivisão sugerida para os adrenoreceptores alfa-1, há também alguns autores sugerindo uma subdivisão para os adrenoreceptores alfa-2 (BYLUND, 1981; LATIFPOUR et al., 1982; CHEUNG et al., 1982; BYLUND, 1985; BOYAJIAN et al., 1987). Os subtipos de adrenoreceptores alfa-2 foram designados alfa-2a e alfa-2b, de acordo com a diferença de afinidade para certas concentrações de prazosin entre os dois subtipos (BYLUND, 1985).

A subdivisão dos adrenoreceptores beta-1 e beta-2 foi proposta com base na afinidade de agonistas e antagonistas pelos dois subtipos (LANDS et al., 1967 a,b). Aceita-se atualmente que ambos podem coexistir numa mesma sinapse adrenérgica, possuindo funções diferentes ou somatórias (MINNEMAN & MOLINOFF, 1980). Os dois subtipos de adrenoreceptores beta compartilham o mesmo mecanismo de

transdução do sinal, através da estimulação da adenil ciclase, com formação de AMP cíclico (AMPc) (PFEUFFER, 1977; ROSS et al., 1978).

Em coração de ratos, os adrenosceptores envolvidos na resposta cronotrópica às catecolaminas foram classificados como beta -1. No entanto, estudos empregando radioligantes revelaram que a população de adrenosceptores do átrio direito de ratos apresenta uma proporção entre os subtipos beta-1 e beta-2 igual a 2:1 (JUBERG et al., 1985). O papel dos adrenosceptores beta-2, na mediação da resposta cronotrópica parece ser irrelevante (O'DONNELL & WANSTALL, 1985; KAUMANN, 1986), considerando-se que a população de adrenosceptores envolvida nesta resposta é funcionalmente homogênea, do subtipo beta-1 (BRYAN et al., 1981; CALLIA & DE MORAES, 1984; Jubert et al., 1985).

No leito vascular, os adrenosceptores presentes em sítios pré-sinápticos são do tipo alfa-2 (LANGER, 1974). Nos sítios pós-sinápticos, os adrenosceptores que mediam a vasoconstrição de veias e artérias podem ser do tipo alfa-1 ou alfa-2 (VAN ZWIETEN & TIMMERMANS, 1987; FLAVAHAN & McGRATH, 1980; ELLIOT & REID, 1983; TODA et al., 1984; SCHUMAN & LUES, 1983; SHOJI et al., 1983; STEEN et al., 1984 a,b). Os adrenosceptores alfa-2 podem, também, estar localizados nas células endoteliais e, neste caso, sua ativação reduz a contração em alguns vasos sanguíneos, pela liberação do fator de relaxamento endotelial(EDRF) (EGLEME et al., 1984). A resposta vasodilatadora também pode ser

determinada pela ativação de adrenoceptores do subtipo beta-2 localizados nas células musculares lisas que compõem a parede de artérias e veias (O'DONNELL & WANSTALL, 1984)

Diversos fatores podem modular a função dos adrenoceptores, alterando a sua densidade e/ou a sua afinidade por agonistas, ou ainda interferindo com os demais componentes do sistema de acoplamento intracelular. Essas alterações são de grande repercussão fisiológica e fisiopatológica, já que o estado funcional dos adrenoceptores presentes em determinado tecido, pode determinar a sua sensibilidade às catecolaminas.

As modificações de natureza neural e hormonal ligadas à reação de "stress" podem causar alterações de sensibilidade a agonistas de adrenoceptores em diversos tecidos. De Moraes et al., tem se dedicado ao estudo dessas alterações em tecidos periféricos de ratos submetidos a diversos agentes causadores de "stress".

Átrios direitos isolados de ratos submetidos à exposição ao frio (CALLIA & DE MORAES, 1984), choque na pata (BASSANI & DE MORAES, 1987), ou imobilização (CAPAZ & DE MORAES, 1988) apresentam subsensibilidade ao efeito cronotrópico da noradrenalina. Esta subsensibilidade é acompanhada de diminuição na afinidade dos adrenoceptores pelo antagonista seletivo beta-1, metoprolol, indicando que, nesses casos, ocorre uma alteração conformacional dos adrenoceptores beta-1 cardíacos, a qual resulta em diminuição da resposta ao neurotransmissor adrenérgico.

Nestes mesmos experimentos, os autores verificaram que, além de subsensibilidade à noradrenalina, os átrios direitos de animais submetidos ao "stress" apresentavam supersensibilidade à isoprenalina. Esta supersensibilidade foi atribuída à presença de adrenocetores do subtipo beta-2, que passariam a desempenhar um papel fisiologicamente importante na modulação do cronotropismo cardíaco de animais submetidos ao "stress". Estas mudanças, induzidas pelo "stress", nas características farmacológicas da população de adrenocetores do átrio direito de ratos, determinariam importantes modificações na modulação do cronotropismo que, em animais submetidos ao "stress", passaria a ser mais sensível aos níveis plasmáticos de adrenalina.

Por outro lado, átrios direitos de ratos submetidos à três sessões de natação, apresentam subsensibilidade à noradrenalina, ao isoproterenol e à adrenalina, acompanhada de diminuição da afinidade ao metoprolol. Neste caso, foi desencadeada apenas a alteração conformacional dos adrenocetores beta-1 (SPADARI & DE MORAES, 1988). Entretanto, se os animais são submetidos à uma única sessão de natação, seus átrios direitos isolados apresentam supersensibilidade à adrenalina e ao isoproterenol, sem alteração de sensibilidade à noradrenalina (SPADARI et al., 1988). A supersensibilidade não está relacionada a modificações estruturais dos adrenocetores, mas se deve à inibição do sistema de captação extra-neuronal de catecolaminas.

Desta forma, os resultados de experimentos realizados "in vitro", indicam que a resposta cronotrópica a agonistas adrenérgicos é extremamente plástica. Em condições de "stress", quando ocorre ativação da porção simpática do sistema nervoso autônomo e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, esta resposta pode sofrer alterações de caráter adaptativo. Além disso, estas modificações não ocorrem de maneira unitária, mas variam, dependendo do agente causador de "stress".

Embora experimentos realizados "in vitro" sejam indispensáveis para o esclarecimento dos mecanismos envolvidos nos processos de adaptação e ou resistência ao "stress", esta abordagem metodológica não permite elucidar a importância fisiológica dos fenômenos.

Assim sendo, realizamos experimentos "in vivo" com ratos submetidos a uma única sessão de natação, analisando as respostas pressórica e cronotrópica destes animais à noradrenalina, adrenalina, fenilefrina (MARTINS & SPADARI, 1988) e ao BHT-920 (MARTINS & SPADARI, 1990). Nossos resultados demonstraram que, após natação, ocorre uma diminuição da resposta pressórica aos agonistas de adrenoceptores, indicando que as alterações observadas "in vitro" podem ser relacionadas a alterações fisiológicas da resposta do sistema cardiovascular a estes agonistas.

Dessa maneira, no sentido de obter maiores informações sobre o papel fisiológico do "stress", analisamos a resposta

cardiovascular às catecolaminas em ratos não anestesiados e submetidos ao "stress" por natação.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

2.1. avaliar a adequação da técnica de registro da pressão arterial, em ratos não anestesiados, para o estudo da sensibilidade cardiovascular às catecolaminas;

2.2. descrever as alterações de sensibilidade do sistema cardiovascular ao efeito pressórico e cronotrópico das catecolaminas em ratos submetidos ao "stress" por natação;

2.3. caracterizar a participação dos subtipos alfa-1 e alfa-2 de adrenoreceptores no processo de alteração da sensibilidade às catecolaminas;

2.4. comparar as alterações observadas "in vivo" com aquelas descritas para o átrio direito isolado de ratos submetidos ao "stress".

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 . Animais

Utilizamos ratos (*Rattus norvegicus*), Hannover, raça albina Wistar, machos, adultos, pesando entre 250 e 300g, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas.

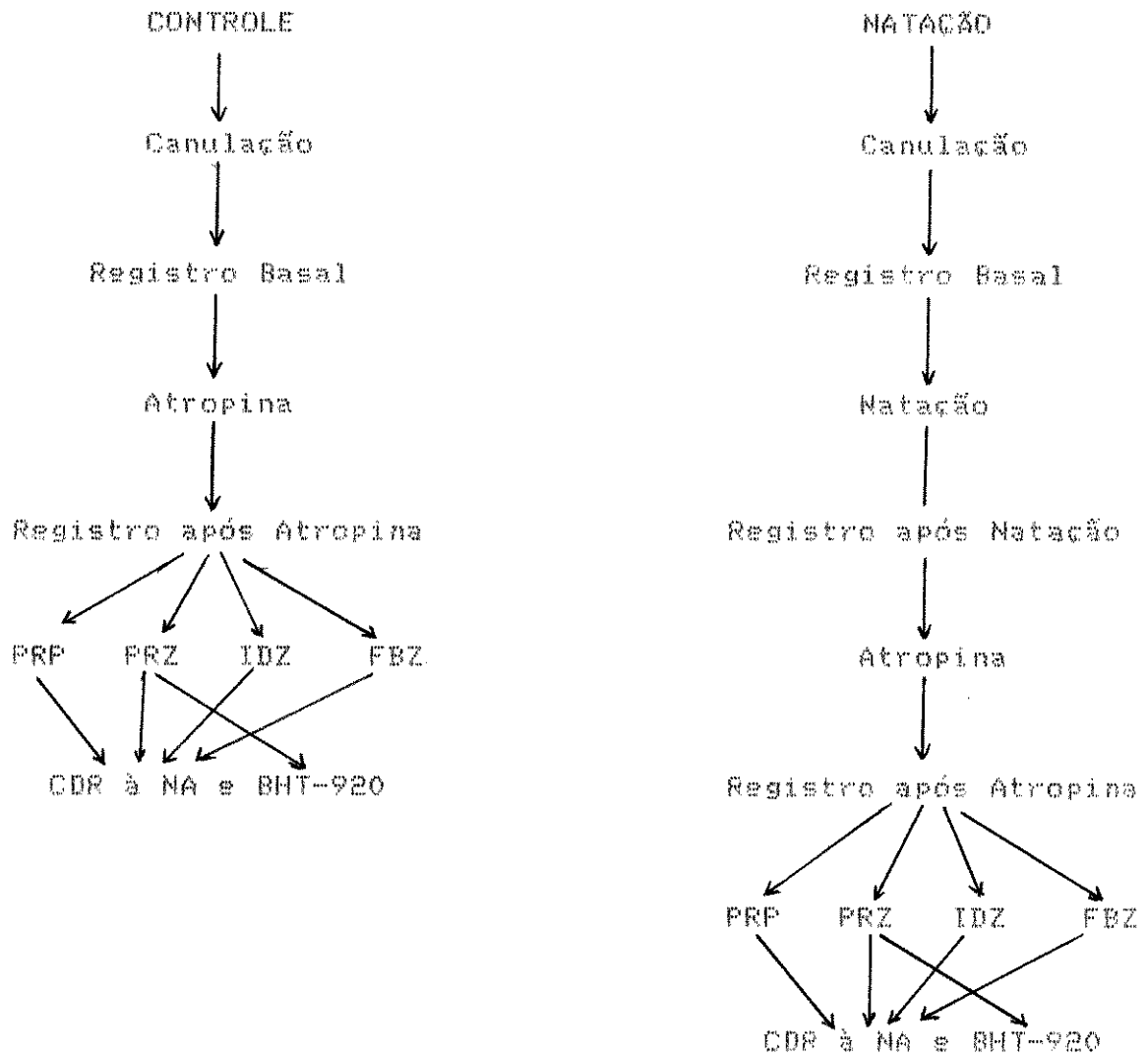
Os animais foram alojados, pelo menos por uma semana, no biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica, do Instituto de Biologia, em gaiolas coletivas, comportando até 4 animais cada, e mantidas em condições controladas de luminosidade (12/12 h, luzes acendendo às 7:00 h). Água e ração foram fornecidas "ad libitum".

3.2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os grupos controle eram constituídos por animais não manipulados que haviam sido submetidos à cirurgia para a implantação dos catéteres, como será descrito a seguir.

Os grupos experimentais eram constituídos por animais que haviam sido submetidos à implantação dos catéteres e, 24h depois, submetidos à sessão de natação. Este procedimento determina, no rato, a elevação da concentração plasmática de corticosterona em 2,5 vezes, caracterizando, assim, a condição de "stress" (SPADARI et al., 1988).

GRUPOS EXPERIMENTAIS



3.3. MEDIDA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO ARTERIAL

Para a medida da pressão arterial e da frequência cardíaca, um catéter era implantado na artéria femoral esquerda do animal. Este catéter era confeccionado,

conectando-se um tubo de "tygon" com diâmetro interno equivalente ao tubo de polietileno PE 50, de 15 cm de comprimento, a outro tubo de "tygon" equivalente ao tubo de polietileno PE 10, com comprimento de 5 cm. Um segundo catéter, idêntico a este, era implantado na veia femoral esquerda do mesmo animal, para a administração de substâncias, durante a obtenção das curvas dose-efeito.

Ambos os catéteres eram adequadamente fixados e seguiam por baixo da pele, para a região dorsal da cabeça do animal sendo exteriorizados e fixados na pele entre as duas orelhas. Os catéteres eram preenchidos com solução salina a 0.9%, contendo 350 UI de heparina/ml. Um clipe de aço inoxidável era usado para obstruir a extremidade livre de cada cânula. Estas eram lavadas, diariamente, com solução salina heparinizada. A implantação dos catéteres era realizada sob anestesia por éter.

Cerca de 24 horas após a implantação dos catéteres, a frequência cardíaca e a pressão arterial do animal eram medidas, para a averiguação das condições basais. Durante este procedimento, o animal era mantido acordado e em sua própria gaiola-moradia. Para a obtenção destes parâmetros, a cânula implantada na artéria femoral era conectada a um tubo de polietileno (PE 50), preenchido com solução salina. Este se encontrava conectado a um transdutor de pressão que, por sua vez, estava ligado a um polígrafo HP Sanborn. A medida era sempre realizada no mesmo horário, para evitar alterações circadianas (entre 14:00 e 16:00 h).

3.4. NATAÇÃO

Os animais dos grupos que nadaram, após terem sido verificados os parâmetros de pressão arterial média e de frequência cardíaca basais, eram submetidos à natação (um de cada vez) em um tanque de vidro (100X60X50 cm) contendo água aquecida a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ e profundidade de 30 cm. Os animais eram retirados cuidadosamente de suas gaiolas e colocadas para nadar.

O programa de natação, escolhido a partir de resultados prévios (SPADARI & DE MORAES, 1984), constou de uma sessão única, com duração de 50 minutos.

Após a natação os animais eram preparados para o registro da pressão arterial. A frequência cardíaca era obtida a partir do registro pulsátil da pressão.

3.5. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE CARDIOVASCULAR ÀS CATECOLAMINAS

A sensibilidade cardiovascular às catecolaminas foi avaliada pelo menos 24 horas após a implantação das cânulas. Com o animal acordado, a cânula arterial era conectada ao equipamento de registro. Desse modo, a pressão arterial média e a frequência cardíaca eram obtidas. Após um período

de estabilização, com duração entre 10 e 20 minutos, iniciava-se a manipulação farmacológica que antecedia a obtenção da curva dose-resposta. Cada animal recebia uma injeção de atropina (3 mg/kg), administrada na forma de "bolus", através da cânula venosa. Após 30 minutos, eram verificadas a pressão arterial média e a frequência cardíaca.

Foram obtidas curvas dose-resposta à noradrenalina ou ao BHT-920. Cada animal recebeu 4 ou 5 doses crescentes de apenas um agonista, em volume nunca superior a 0,5 ml por dose. A resposta pressórica máxima e a alteração de frequência cardíaca consequentes a cada dose foram anotadas. O intervalo entre as doses variou de 5 a 10 minutos e correspondia ao tempo necessário para que a pressão arterial média e a frequência cardíaca voltassem ao seu valor basal.

Quando necessário, foram utilizados antagonistas de adrenoceptores, administrados intra-venosamente, 30 minutos antes da primeira dose de agonista. Os antagonistas utilizados para as curvas dose-resposta à noradrenalina foram: propranolol (3 mg/Kg), prazosin (0,1 ou 0,5 mg/Kg), idazoxan (1mg/Kg) ou fenoxibenzamina (0,1 mg/Kg). Todas as curvas dose-resposta ao BHT-920 foram obtidas na presença de prazosin (0,1 mg/Kg).

A dose efetiva 50 (DE50) da resposta pressórica ao efeito do agonista foi determinada para cada curva dose-resposta. Este valor correspondia à concentração do agonista

que determinava um aumento de 50 mm Hg na pressão arterial média.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados empregando-se o teste "t" de Student para amostras não pareadas, e Análise de Variância (ANOVA).

As diferenças de DE50 foram consideradas significativas ao nível de 5%.

3.7. FÁRMACOS E SOLUÇÕES

Para o preparo da solução salina a 0,9% utilizamos cloreto de sódio (P.A.), padrão A.C.S., dissolvido em água desionizada.

Os fármacos utilizados foram:

BHT-920 [2-amino-6-allyl-5,6,7,8-tetrahydro-4H-tyazolo-(4,5-d)azepine], Boehringer)

(-) bitartarato de noradrenalina (Sigma Co.)

(+) cloridrato de idazoxan (RX-781094, Reckitt & Coleman)

(+/-) cloridrato de propranolol (Sigma Co.)

hidrocloreto de fenoxibenzamina (Smith, Kleins & French labs).

hidrocloreto de prazosin (Sigma Co.)

sulfato de atropina (Merck, AG)

As soluções-estoque foram preparadas em água desionizada, com excessão da fenoxibenzamina que foi dissolvida em etanol absoluto. Imediatamente antes do uso, as soluções-estoque foram diluídas em solução salina a 0,9%, e descartadas após o final do experimento.

Eter etílico (P.A., Chenco) foi utilizado para anestésiar os animais.

3.8. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

GRUPO CONTROLE

1. Canulação da artéria e da veia femurais
2. Depois de 24h, verificação da P.A. e F.C. basais
3. Administração de atropina (3mg/Kg)
4. Após 30 min, verificar P.A. e F.C.
5. Administração ou não de um dos seguintes antagonistas: propranolol, prazosin, idazoxan ou fenoxibenzamina
6. Após 30 min da administração de um dos antagonistas, verificar a P.A. e F.C.
7. Início da curva dose-resposta à NA ou BHT-920 (este somente após prazosin).

GRUPO NATAÇÃO

1. Canulação da artéria e da veia femurais
2. Depois de 24h, verificação da P.A. e F.C. basais
3. Natação por 50 minutos
4. Após natação, 10 minutos para retirada do excesso de água
5. Registro da P.A. e F.C.
6. Administração de atropina (3mg/Kg)
7. Após 30 min, verificar P.A. e F.C.
8. Administração ou não de um dos seguintes antagonistas: propranolol, prazosin, idazoxan ou fenoxibenzamina
9. Após 30 min da administração de um dos antagonistas, verificar a P.A. e F.C.
10. Início da curva dose-resposta à NA ou BHT-920 (este somente após prazosin).

4. RESULTADOS

Nossos resultados demonstram que a medida da pressão arterial média e da frequência cardíaca, realizada em animais vivos e acordados, pode ser utilizada para o estudo da resposta do sistema cardiovascular a agonistas de adrenoreceptores, uma vez que é possível estabelecer uma relação entre a dose de agonista adrenérgico administrado ao animal e a resposta pressórica observada. Esta relação pode ser expressa através de curvas dose-resposta.

A comparação das curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina ou do BHT-920, obtidas em animais submetidos ao "stress", com aquelas obtidas em animais controle, indica que a resposta pressórica pode ser alterada pelo "stress".

A tabela 1 mostra que os valores basais de frequência cardíaca e de pressão arterial média são significativamente maiores em animais submetidos a 50 minutos de natação do que em animais controle.

A atropina, administrada aos animais do grupo controle, determinou um aumento na frequência cardíaca de 97 bat/min ($P < 0,05$), elevando a frequência cardíaca para 457 ± 8 bat/min (tabela 2 e figura 1). Por outro lado, a administração de propranolol determinou uma queda na frequência cardíaca de 72 bat/min (tabela 3 e figura 1)

Assim, em ratos controle, a frequência cardíaca intrínseca foi igual a 385 ± 5 bat/min, um valor significativamente superior ($P < 0,05$) àquele observado na ausência de atropina e de propranolol.

A tabela 1 mostra, também, que em ratos submetidos à natação, a frequência cardíaca média em repouso estava aumentada em 138 bat/min. A administração de atropina a estes animais (tabela 2 e figura 1) não determinou alteração significativa da frequência cardíaca (498 ± 5 Vs 518 ± 11 , $P > 0,05$), enquanto que o propranolol determinou uma queda de 142 batimentos por minuto, um valor duas vezes maior do que aquele observado para a queda na frequência cardíaca de ratos que não nadaram, e que receberam a mesma dose daquele antagonista de adrenocetores beta (tabela 3 e figura 1).

Nos animais que foram submetidos à natação, a frequência cardíaca intrínseca (376 ± 7 bat/min) foi significativamente menor do que a frequência cardíaca observada na ausência de atropina e de propranolol (498 ± 5 bat/min).

A tabela 3 mostra, também, que não há diferença entre a frequência cardíaca intrínseca de ratos submetidos à natação e de ratos controle.

O aumento da frequência cardíaca de repouso de ratos, determinado pela natação, foi acompanhado por uma elevação na pressão arterial média de 22 mm Hg (tabela 1 e figura 2).

A administração de atropina resultou em aumento da pressão arterial média dos animais controle e ^{tendência à} queda da pressão arterial média dos animais submetidos à natação (tabela 2 e figura 2). O efeito final observado foi que, após atropina, os valores de pressão arterial média de ratos controle e de ratos submetidos à natação não diferem entre si (136 ± 4 Vs 137 ± 5 mm Hg, $P > 0,05$), embora a frequência cardíaca dos animais submetidos à natação permaneça mais alta do que aquela dos animais controle.

A administração de propranolol determinou uma queda na pressão arterial média dos animais (tabela 3 e figura 2). Entretanto, esta queda foi maior (31 mm Hg) nos ratos controle do que naqueles que nadaram (11 mm Hg, $P < 0,05$). Dessa maneira, após atropina e propranolol, a pressão arterial média de ratos submetidos à natação foi significativamente maior do que aquela de ratos controle (figura 2).

Nós analisamos as respostas pressórica e cronotrópica à noradrenalina de ratos que receberam atropina após terem sido submetidos ou não à natação. Nossos resultados mostraram que pode ser estabelecida uma relação, dependente da dose, entre a noradrenalina administrada e a pressão arterial média do animal (figura 3). Além disso, a natação determinou um desvio à direita na curva dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina, de cerca de 2 vezes, ao nível da DE50 (tabela 4), indicando dessensibilização da resposta.

Na figura 4 estão representadas as curvas dose-resposta à noradrenalina em ratos, após a administração de atropina e de propranolol, submetidos ou não à natação. Nesta condição, ocorre dessensibilização da resposta pressórica apenas nas doses mais baixas de noradrenalina mas não nas doses maiores.

A figura 5 mostra que não é possível estabelecer uma relação, dependente da dose, entre a frequência cardíaca e a noradrenalina administrada aos animais, uma vez que não há alterações significativas da frequência cardíaca em resposta à noradrenalina, em nenhuma das doses utilizadas. A comparação da resposta cronotrópica às três primeiras doses de noradrenalina em ratos controle e ratos submetidos à natação indica que as diferenças não apresentam significância estatística ($P > 0,05$).

A administração de prazosin a animais de ambos os grupos determinou queda na pressão arterial média (tabelas 5 e 6). Por outro lado, a frequência cardíaca aumentou, após o prazosin, nos animais controle, mas não se alterou, de maneira significativa, naqueles animais que haviam sido submetidos à natação.

As curvas dose-resposta à noradrenalina, obtidas na presença de atropina e de 0,1 ou 0,5 mg/Kg de prazosin são apresentadas nas figuras 6 e 7, respectivamente. O prazosin determinou desvio, dependente da dose, nas curvas dose-resposta à noradrenalina em ambos os grupos de animais, mantendo-se a diferença de sensibilidade da resposta

pressórica entre animais controle e animais submetidos à natação. O desvio provocado pelo prazosin nas curvas dose-resposta da noradrenalina foi maior no grupo de animais submetidos à natação (4,0 e 62 vezes, respectivamente, para as duas doses de prazosin empregadas) do que no grupo controle (2,8 e 6,7 vezes, $P < 0,05$). Deste modo, a diferença entre os dois grupos foi acentuada na presença de prazosin, especialmente na dose de 0,5 mg/kg (tabelas 7 e 8).

Na tabela 9 pode-se observar o efeito do idazoxan sobre a frequência cardíaca e a pressão arterial média de ratos controle ou submetidos à natação. A administração de idazoxan cancelou a diferença de frequência cardíaca observada entre os dois grupos após atropina, uma vez que este antagonista de adrenocetores alfa-2 determinou uma queda de 63 bat/min em animais que nadaram e nenhuma alteração, estatisticamente significativa, na frequência cardíaca dos animais controle. A pressão arterial média não foi alterada pela administração de idazoxan em nenhum dos dois grupos de animais.

As curvas dose-resposta à noradrenalina foram desviadas à direita pelo idazoxan, 2,1 vezes, ao nível da DE50, nos animais controle e 3,5 vezes nos animais que nadaram, mantendo-se a diferença de sensibilidade ao agonista (figura 8 e tabela 10).

Curvas dose-resposta para os efeitos pressórico e cronotrópico do BHT-920 foram obtidas em ratos após a

administração de atropina e prazosin. O BHT-920, um agonista seletivo de adrenocetores alfa-2, causou um aumento, dependente da dose, na pressão arterial média, concomitante com a diminuição, também dose-dependente, da frequência cardíaca de ratos (figuras 10 e 9).

As curvas dose-resposta para o efeito cronotrópico negativo do BHT-920 são mostradas na figura 9. A relação dose-efeito é idêntica nos dois grupos, não sendo alterada pela natação.

A figura 10 mostra as curvas dose-resposta ao efeito pressórico do BHT-920 em animais dos dois grupos. A natação determinou um desvio à direita nesta curva, de cerca de 6 vezes ao nível da DE50 (tabela 11), indicando que a dessensibilização da resposta pressória após o "stress", ocorre também para este agonista.

A fenoxibenzamina, na dose de 0,1 mg/Kg, é um antagonista não-competitivo de adrenocetores alfa-1. Os valores de frequência cardíaca e de pressão arterial média, após a administração de fenoxibenzamina em animais controle ou submetidos à natação, são apresentados na tabela 12. Após fenoxibenzamina houve um aumento da frequência cardíaca de animais controle, mas não houve nenhuma alteração, estatisticamente significativa, na frequência cardíaca de animais submetidos ao "stress". Este aumento na frequência cardíaca dos ratos controle, embora não seja estatisticamente significativo, foi suficiente para cancelar a diferença de frequência existente entre os dois grupos

antes da administração deste antagonista. Não houve alteração, estatisticamente significativa, na pressão arterial de ratos dos dois grupos experimentais, em relação aos dados apresentados na tabela 2 ($P > 0,05$).

Foram também obtidas curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina após a administração de fenoxibenzamina. Tais curvas estão representadas na figura 11. Em ambos os grupos, a fenoxibenzamina determinou um desvio à direita da curva. Entretanto, este desvio foi igual a 10,9 vezes nos animais do grupo controle e apenas 5,3 vezes ($P < 0,05$) nos animais submetidos ao "stress" (tabela 13). Esta diferença de sensibilidade ao efeito bloqueador da fenoxibenzamina foi suficiente para cancelar a dessensibilização da resposta pressórica à noradrenalina observada em animais submetidos à natação.

TABELA I. Frequência cardíaca e pressão arterial média
basais em ratos controle ou submetidos à
natação

GRUPO	N ^a	FREQUÊNCIA CARDÍACA (mm Hg) ^b	PRESSÃO ARTERIAL (bat/min) ^b
CONTROLE	10	360 +/- 5	122 +/- 3
NATAÇÃO	10	498 +/- 5 ^c	144 +/- 4 ^c

* - Número de experimentos

^a - Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^b - Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores do grupo controle (P < 0,05)

TABELA 2. Frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PA) em ratos controle ou submetidos à natação, tratados com atropina (3mg/Kg).

GRUPO	N ^a	FC (bat/min) ^b	Δ^c	PA (mm Hg) ^b	Δ^c
CONTROLE	5	457+/-8 ^w	+97	136+/-4 ^w	+14
NATAÇÃO	5	518+/-11 ^d	+20	137+/-5	-7

^a Número de experimentos

^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^c Diferença em relação aos valores da tabela 1

^d Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05)

^w Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores da tabela 1 (P < 0,05)

TABELA 3. Frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PA) em ratos controle ou submetidos à natação, tratados com atropina (3mg/Kg) e propranolol (3mg/Kg).

GRUPO	N ^a	FC (bat/min) ^b	Δ^c	PA (mm Hg) ^b	Δ^c
CONTROLE	9	385+/-5 ^a	-72	105+/-4 ^a	-31
NATAÇÃO	5	376+/-7 ^a	-142	126+/-5 ^a	-11

^a Número de experimentos

^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^c Diferença em relação aos valores da tabela 2

^d Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05)

^e Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores da tabela 2 (P < 0,05)

TABELA 4 DE50 (ug/Kg) para o efeito pressórico da noradrenalina (NA) em ratos controle ou submetidos à natação, que receberam atropina (3mg/Kg) ou atropina e propranolol (3mg/Kg)

GRUPO	DE50 NA ^a (ug/Kg)	DE50 NA ^b (ug/Kg)	DESVIO ^c
CONTROLE	0,76+/-0,30	0,08+/-0,04	9,5
NATAÇÃO	1,62+/-0,56 ^d	0,26+/-0,08 ^e	6,2
RAZÃO ^d	2,1	3,3	-

^a Valor médio da dose de NA que determina um aumento na PA de 50 mmHg em animais que receberam atropina previamente

^b Valor médio de DE50 da NA em animais que receberam atropina e propranolol previamente

^c Desvio da curva dose-resposta à NA provocado pelo propranolol

^d DE50 natação / DE50 controle

^e Diferença estatisticamente significativa em relação ao valores do grupo controle (P < 0,05).

TABELA 5 Efeito do prazosin (0,1mg/Kg) sobre a frequência cardíaca (FC) e a pressão arterial média (PA) em ratos controle ou submetidos à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg).

GRUPO	N ^a	FC (bat/min) ^b	Δ^c	PA (mmHg) ^b	Δ^c
CONTROLE	5	508 \pm 13 ^d	+51	104 \pm 5 ^d	-32
NATAÇÃO	6	519 \pm 17	- 5	17 \pm 5 ^d	-20

^a Número de experimentos

^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^c Diferença em relação aos valores da tabela 2

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores da tabela 2 (P < 0,05)

TABELA 6 Efeito do prazosin (0,5mg/Kg) sobre a frequência cardíaca (FC) e a pressão arterial média (PA) em ratos controle ou submetidos à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg).

GRUPO	N ^a	FC (bat/min) ^b	Δ^c	PA (mmHg) ^b	Δ^c
CONTROLE	4	520+/-28 ^d	+63	128+/-5	- 8
NATAÇÃO	5	496+/- 7	-22	111+/-5 ^d	-26

^a Número de experimentos

^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^c Diferença em relação aos valores da tabela 2

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores da tabela 2 (P < 0,05).

TABELA 7 Efeito do prazosin (PRZ; 0,1mg/Kg) sobre a sensibilidade à noradrenalina (NA) em ratos submetidos ou não à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg)

GRUPO	DE50 NA ^a (ug/Kg)	DE50 NA/PRZ ^a (ug/Kg)	DESUO ^b
CONTROLE	0,76+/-0,30	2,14+/-0,73	2,8
NATAÇÃO	1,62+/-0,56 ^c	6,49+/-0,78 ^d	1,0
RAZÃO ^e	2,1	3,0	-

^a Valores médios da dose de NA que determina um aumento de 50 mmHg na pressão arterial, acompanhado do erro padrão da média

^b Desvio da curva dose-resposta à NA provocado pelo prazosin

^c DE50 Natação / DE50 Controle

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores do controle (P < 0,05)

TABELA 8 Efeito do prazosin (PRZ; 0,5mg/Kg) sobre a sensibilidade à noreadrenalina (NA) em ratos submetidos ou não à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg).

GRUPO	DE50 NA* (ug/Kg)	DE50 NA/PRZ* (ug/Kg)	DESVIO ^b
CONTROLE	0,76+/-0,30	5,06+/-1,8	6,7
NATAÇÃO	1,62+/-0,56 ^c	> 100 ^d	62
RAZÃO ^e	2,1	19,8	-

* Valores médios da dose de NA que determina um aumento de 50 mmHg na pressão arterial, acompanhado do erro padrão da média

^b Desvio da curva dose-resposta à NA provocado pelo prazosin

^c DE50 Natação / DE50 Controle

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores do controle (P < 0,05)

TABELA 9 Efeito do idazoxan (1mg/Kg) sobre a a frequência cardíaca (FC) e a pressão arterial média (PA) em ratos controle ou submetidos à natação Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg)

GRUPO	N ^a	FC (bat/min) ^b	Δ^c	PA (mmHg) ^b	Δ^c
CONTROLE	4	468+/-13	+11	126+/-11	-10
NATAÇÃO	4	455+/-9 ^d	-63	138+/-3	+ 1

^a Número de experimentos

^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^c Diferença em relação aos valores da tabela 2

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores da tabela 2 (P < 0,05).

TABELA 10 Efeito do idazoxan (IDZ; 1mg/kg) sobre a sensibilidade à noradrenalina (NA) em ratos submetidos ou não à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/kg)

GRUPO	DE50 NA ^a (ug/Kg)	DE50 NA/IDZ ^a (ug/Kg)	DESVIO ^b
CONTROLE	0,76+/-0,30	1,61+/-0,68	2,1
NATAÇÃO	1,62+/-0,56 ^d	5,6+/-0,35 ^d	3,5
RAZÃO ^c	2,1	3,5	-

^a Valores médios da dose de NA que determina um aumento de 50 mmHg na pressão arterial, acompanhado do erro padrão da média

^b Desvio da curva dose-resposta à NA provocado pelo prazosin

^c DE50 Natação / DE50 Controle

^d Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (P < 0,05)

TABELA 11. Respostas cronotrópica (FC) e pressórica (PA) ao BHT-920 em ratos controle ou submetidos à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg) e prazosin (0,1mg/Kg) antes do experimento.

GRUPO	N ^a	FC ^b (bat/min)	PA ^b (mmHg)	DE50 ^c (μ g/Kg)
CONTROLE	5	489+/-10	110+/-3	44,4+/-10,6
NATAÇÃO	6	507+/-10	117+/-5	274+/-182 ^d

^a Número de experimentos

^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média

^c Valor médio da dose de BHT-920, que determina um aumento de 50 mmHg na pressão arterial média, acompanhado do erro padrão da média

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores do controle (P < 0,05).

TABELA 12. Efeito da fenoxibenzamina (0,1mg/Kg) sobre a frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PA) em ratos controle ou submetidos à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg).

GRUPO	N ^a	FC (bat/min) ^b	Δ^c	PA (mmHg) ^b	Δ^c
CONTROLE	3	490+/-13 ^d	+33	123+/-20	-13
NATAÇÃO	4	520+/-20	+ 2	120+/-10	-17

- ^a Número de experimentos
^b Valores médios, acompanhados do erro padrão da média
^c Diferença em relação aos valores da tabela 2
^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores da tabela 2 (P < 0,05)

TABELA 13 Efeito da fenoxibenzamina (FBZ; 0,1mg/Kg) sobre a sensibilidade à noradrenalina (NA) em ratos controle ou submetidos à natação. Todos os animais receberam atropina (3mg/Kg)

GRUPO	DE50 NA ^a (ug/Kg)	DE50 NA/FBZ ^a (ug/Kg)	DESVIO ^b
CONTROLE	0,76+/-0,30	8,3+/-0,83	10,9
NATAÇÃO	1,62+/-0,56 ^c	8,6+/-1,3	5,3
RAZÃO ^d	2,1	1,0	-

^a Valores médios da dose de NA que determina um aumento de 50 mmHg na pressão arterial, acompanhado do erro padrão da média

^b Desvio da curva dose-resposta à NA provocado pela fenoxibenzamina

^c DE50 natação / DE50 controle

^d Diferença estatisticamente significativa em relação aos valores do grupo controle (P < 0,05).

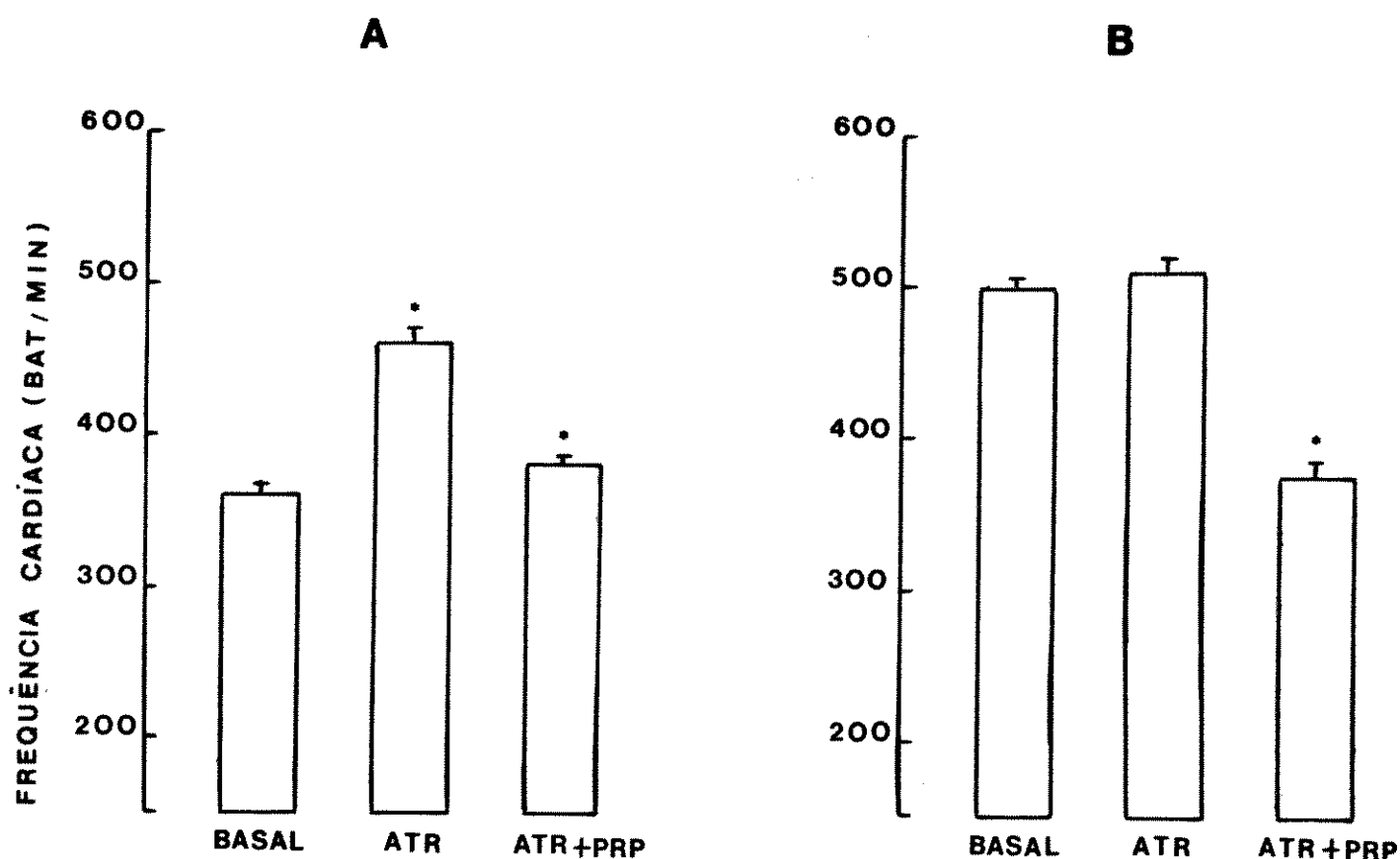


FIGURA 1 Frequência cardíaca de ratos controle (A) ou submetidos à natação (B) na condição basal, após a administração de atropina (3mg/Kg) (ATR), ou após a administração de atropina e propranolol (3mg/Kg) (ATR + PRP). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado nas tabelas 1, 2 e 3. * indica significância estatística em relação ao valor basal ($P < 0.05$).

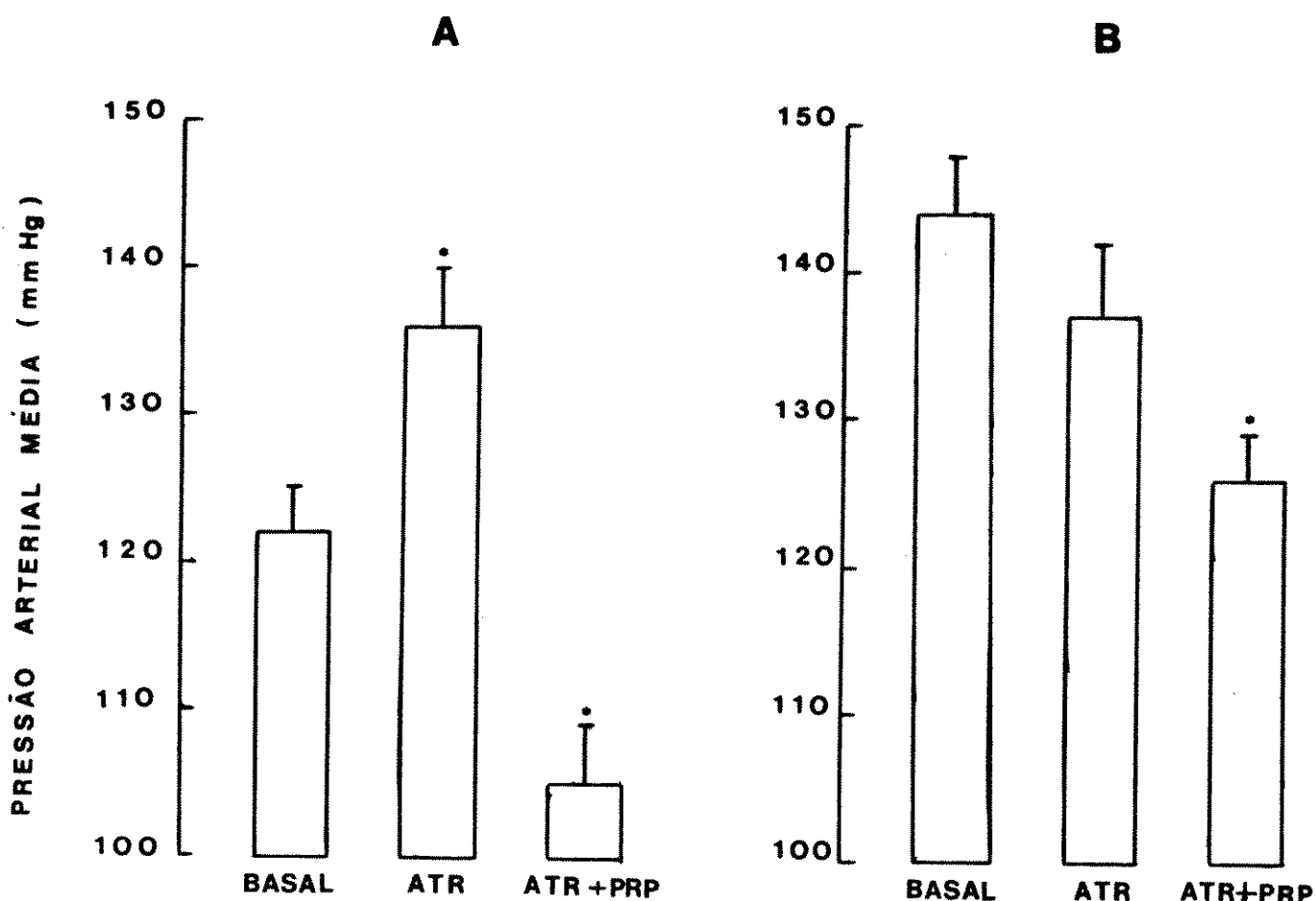


FIGURA 2. Pressão arterial média de ratos controle (A) ou submetidos à natação (B) na condição basal, após a administração de atropina (3mg/Kg) (ATR) ou, após a administração de atropina e de propranolol (3mg/Kg) (ATR + PRP). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado nas tabelas 1, 2 e 3. * indica significância estatística em relação ao valor basal ($P < 0,05$).

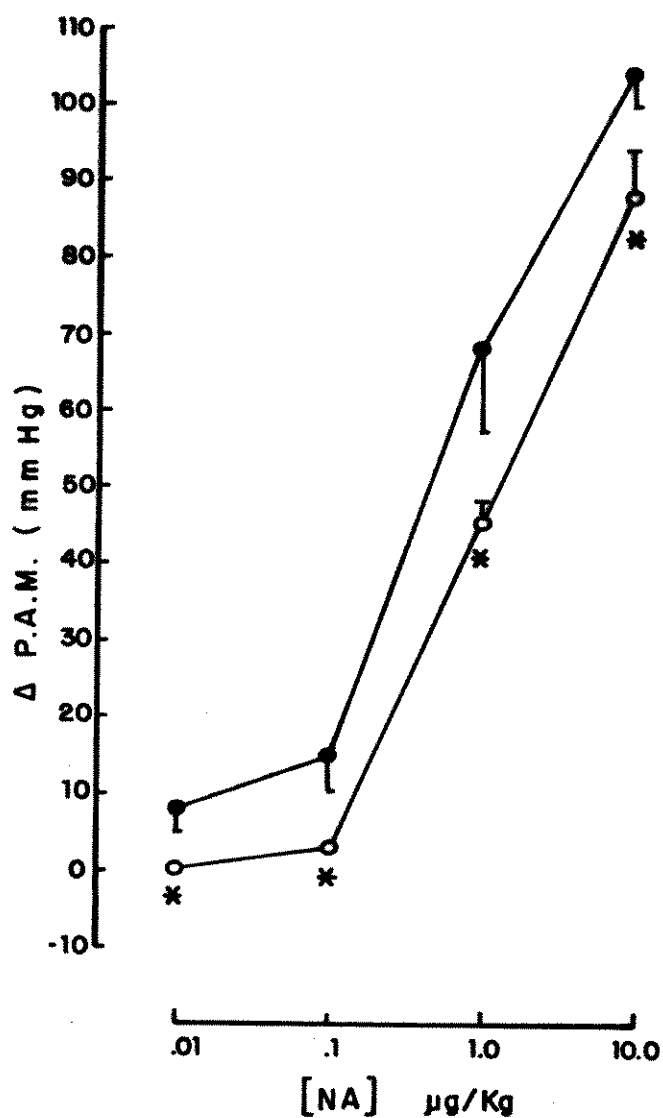


FIGURA 3. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina (NA), na presença de atropina (3mg/Kg), em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 2. * indica significância estatística em relação ao controle (P < 0,05).

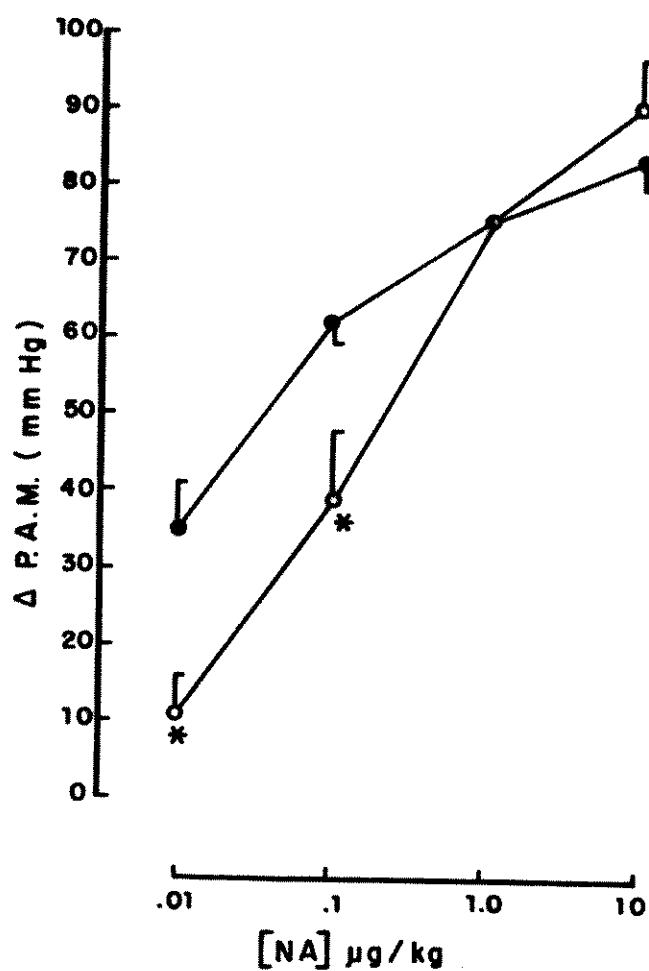


FIGURA 4. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina (NA) na presença de atropina (3mg/Kg) e de propranolol (3 mg/Kg) em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 3. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

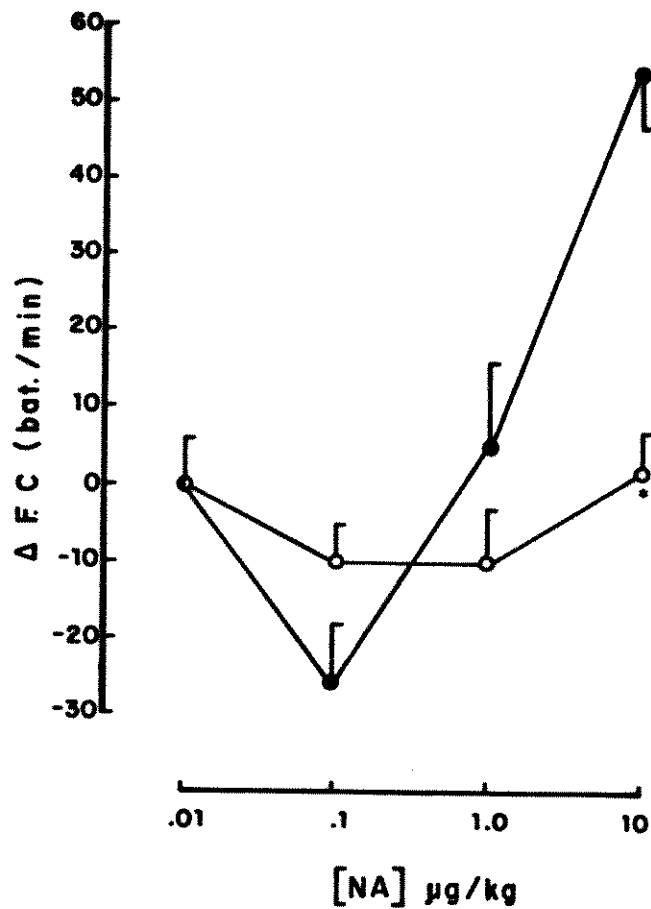


FIGURA 5. Curvas dose-resposta ao efeito cronotrópico da noradrenalina (NA), na presença de atropina (3mg/kg), em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). O número de experimentos está indicado na tabela 2. As barras verticais indicam o erro padrão da média. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

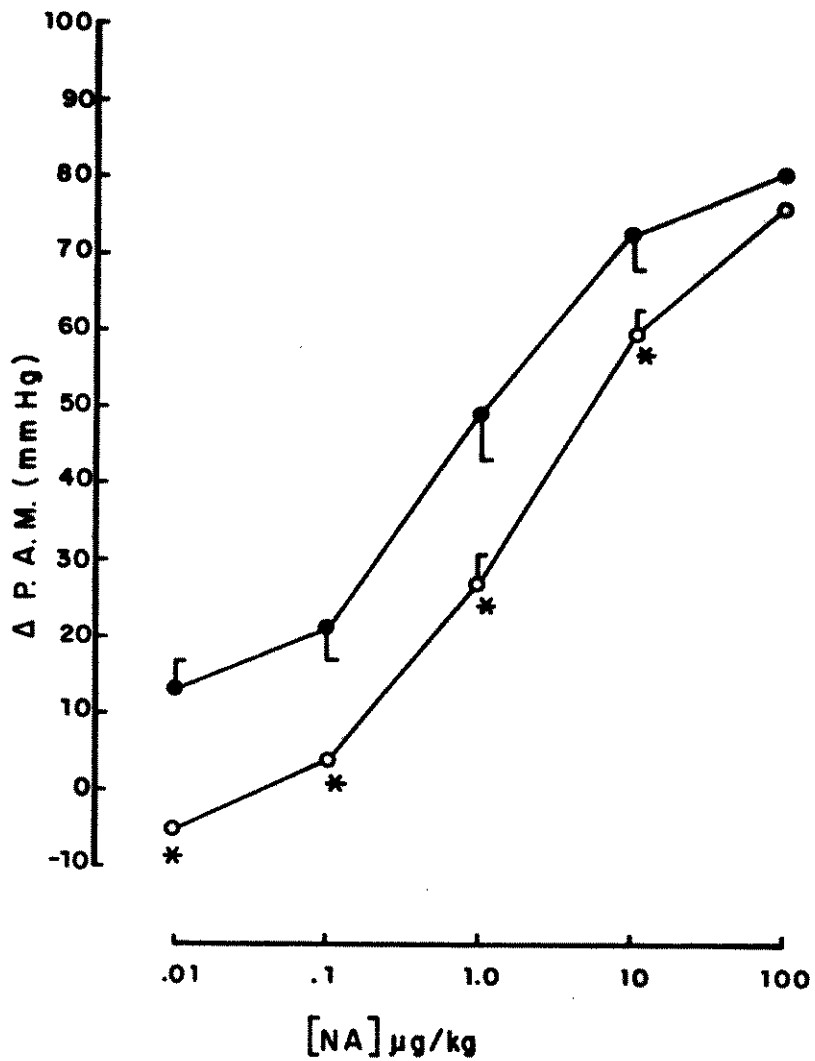


FIGURA 6. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina (NA), na presença de atropina (3mg/Kg) e prazosin (0,1mg/Kg), em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 5. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

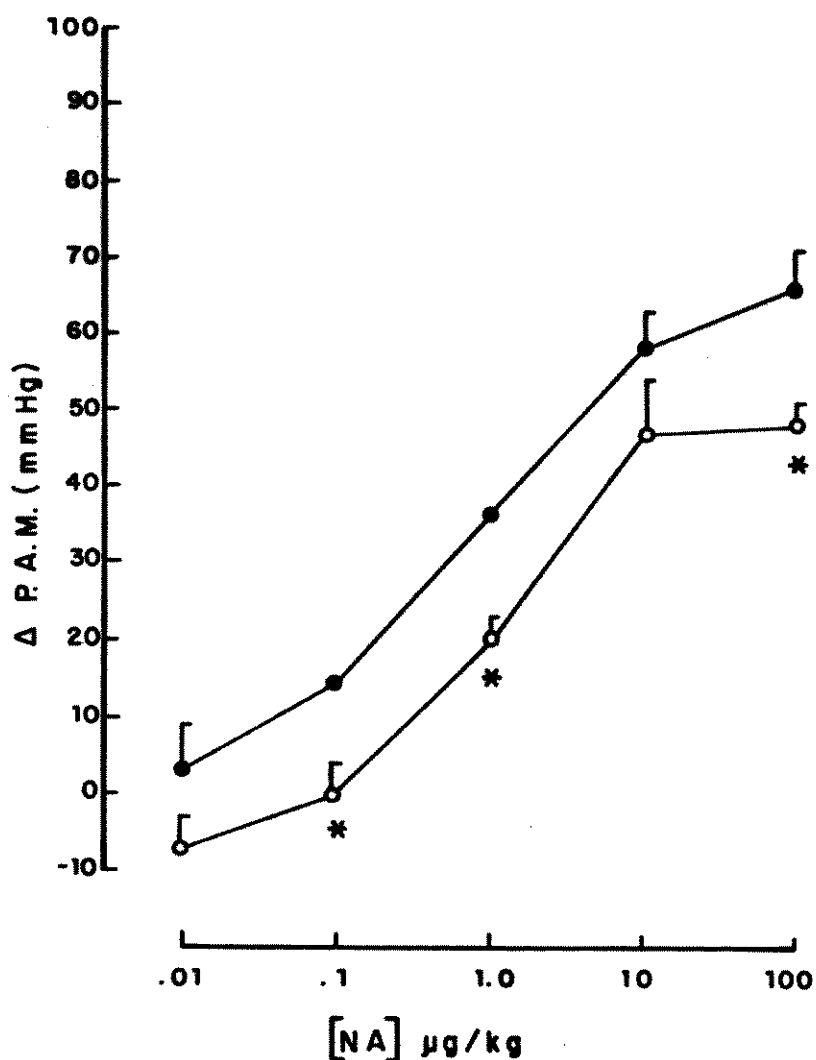


FIGURA 7. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico de noradrenalina (NA), na presença de atropina (3mg/Kg) e de prazosin (0,5mg/Kg), em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 6. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

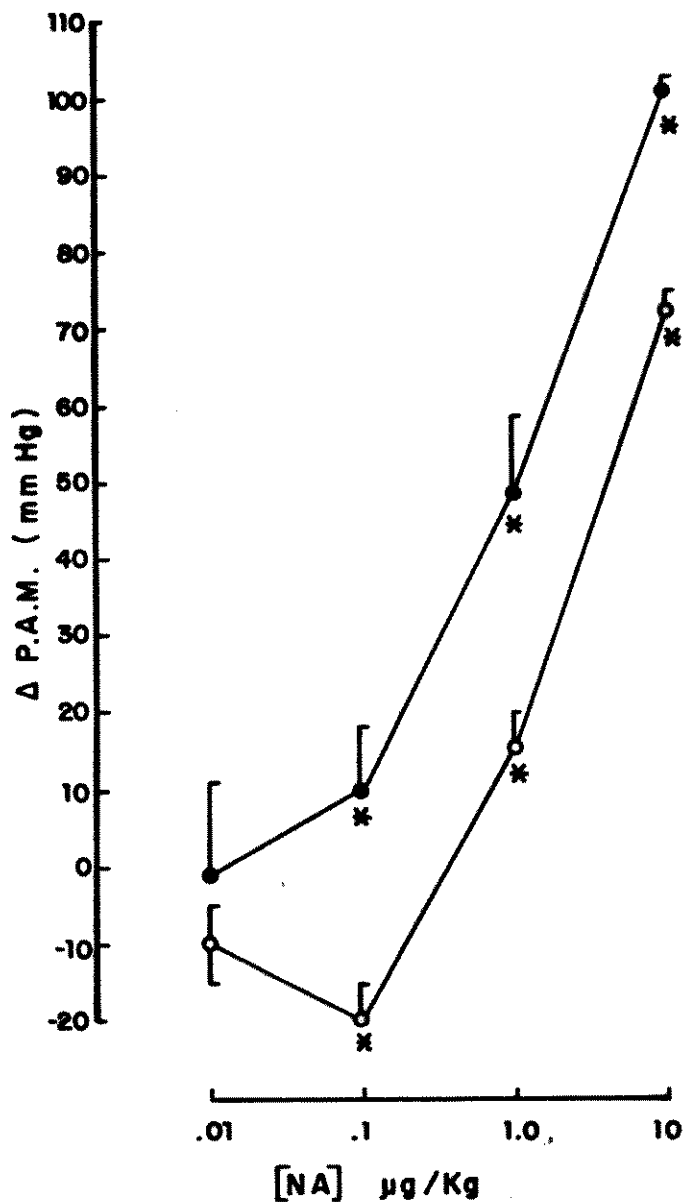


FIGURA 8. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina (NA), na presença de atropina (3mg/Kg) e de idazoxan (1mg/Kg), em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 9. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

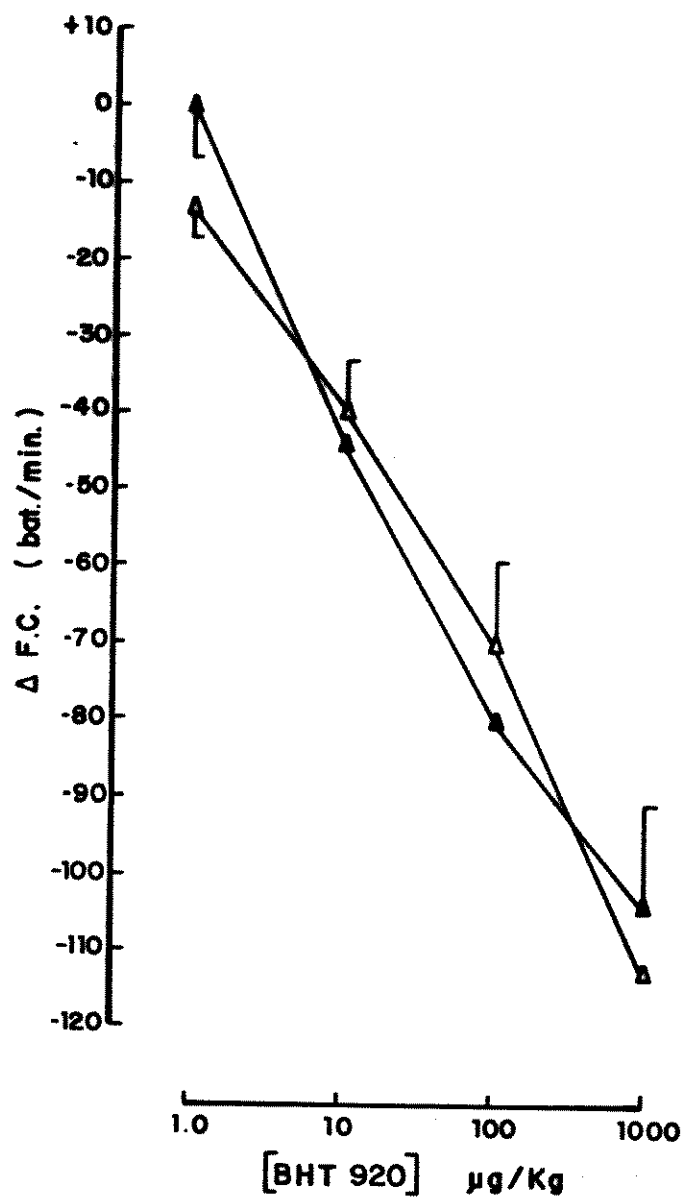


FIGURA 9. Curvas dose-resposta ao efeito cronotrópico do BHT-920, na presença de atropina (3mg/Kg) e de de prazosin (0,1mg/kg), em ratos controle (▲) ou submetidos à natação (Δ). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 11. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

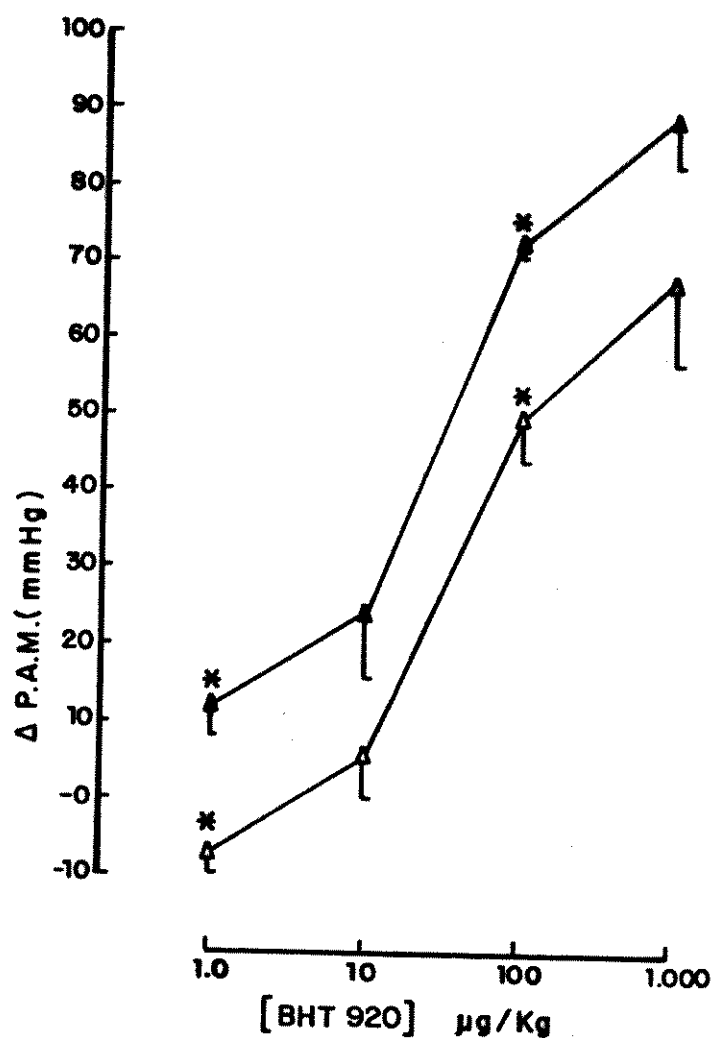


FIGURA 10. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico do BHT-920 na presença de atropina (3mg/Kg) e de prazosin (0,1 mg/Kg), em ratos controle (▲) ou submetidos à natação (Δ). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela II. * indica significância estatística em relação ao controle ($P < 0,05$).

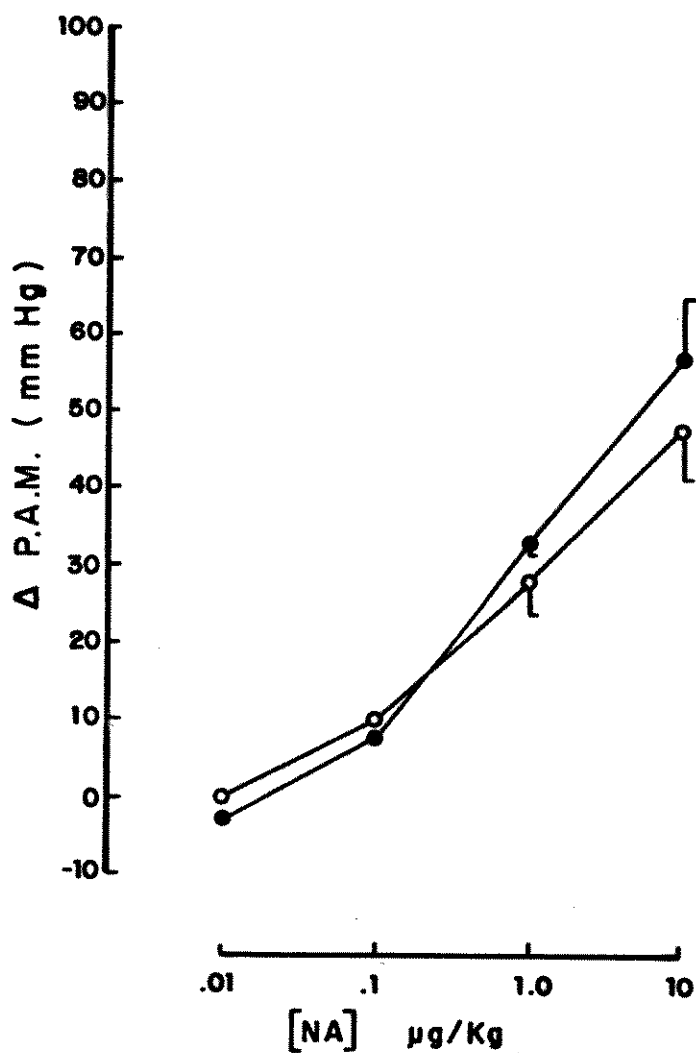


FIGURA 11. Curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina (NA), na presença de atropina (3mg/Kg) e de fenoxibenzamina (0,1mg/Kg), em ratos controle (●) ou submetidos à natação (○). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado na tabela 12. * indica significância estatística em relação ao controle (P < 0,05).

5. DISCUSSAO

O nível de pressão arterial média de um animal depende do débito cardíaco e da resistência vascular periférica. Mudanças no débito cardíaco podem ser induzidas por alterações da frequência cardíaca, do volume sistólico ou de ambos. Qualquer modificação da frequência cardíaca que seja contrabalançada por modificação concomitante, na direção oposta, do volume sistólico, não provocará alterações do débito cardíaco e, em consequência, a pressão arterial média do animal não será afetada.

Em nossos experimentos, o volume sistólico e a resistência vascular periférica não foram avaliados. Nós avaliamos a frequência cardíaca e a pressão arterial média de ratos controle e de ratos submetidos a 50 minutos de natação.

Em animais normais, a frequência cardíaca, determinada pela frequência de despolarização do nódulo sino-atrial, está, geralmente, sob a influência tônica das duas divisões do sistema neuro-vegetativo. O sistema simpático estimula o automatismo do nódulo, aumentando a frequência, enquanto o sistema parassimpático o inibe. As alterações na frequência cardíaca, em geral, envolvem uma ação recíproca das duas

divisões do sistema neuro-vegetativo ou uma ação seletiva de apenas uma delas.

Genericamente, em indivíduos normais, o tônus parassimpático é predominante. A abolição da influência parassimpática, pela administração de atropina, usualmente produz taquicardia acentuada, enquanto que a abolição dos efeitos simpáticos, pela administração de propranolol, lentifica o coração, de forma apenas moderada (BERNE & LEVY, 1990).

Nossos resultados confirmam estas observações, uma vez que a administração de atropina aos animais do grupo controle determinou um importante aumento da frequência cardíaca. Por outro lado, a administração de propranolol determinou uma queda na frequência cardíaca significativamente menor, resultando num valor de frequência cardíaca intrínseca significativamente superior àquele observado na ausência de atropina e de propranolol.

Nos ratos submetidos à natação, a frequência cardíaca média em repouso estava significativamente aumentada. De acordo com o exposto acima, este efeito poderia ser obtido por meio de ativação da divisão simpática do sistema neuro-vegetativo e/ou de inibição da atividade tônica vagal. A administração de atropina a estes animais não determinou alteração significativa da frequência, enquanto que propranolol determinou uma queda na frequência cardíaca que foi cerca de duas vezes maior do que a queda de frequência

dos animais controle, que receberam a mesma dose daquele antagonista de adrenocceptores beta.

Nestes animais que foram submetidos ao "stress", a frequência cardíaca intrínseca foi significativamente menor do que a frequência cardíaca observada na ausência de atropina. Além disso, a frequência cardíaca intrínseca de ratos submetidos à natação, não difere daquela de animais controle.

Assim sendo, nossos resultados indicam que o "stress" por natação determina um aumento da frequência cardíaca de repouso de ratos, e que este aumento parece ser devido a uma inibição da atuação tônica vagal, simultaneamente com a ativação da divisão simpática do sistema neuro-vegetativo, sem alteração da frequência cardíaca intrínseca. Este efeito perdura por, pelo menos, duas horas, após o final do período de natação.

O aumento da frequência cardíaca de repouso de ratos determinado pela natação, foi acompanhado por uma elevação na pressão arterial média. A administração de atropina resultou em aumento da pressão arterial média dos animais controle e queda na pressão arterial média dos animais submetidos à natação. O efeito final observado foi que, após atropina, os valores de pressão arterial média de ratos de ambos os grupos experimentais não diferiram entre si, do ponto de vista estatístico, embora a frequência cardíaca dos ratos submetidos à natação permanecesse mais alta do que aquela dos animais controle.

A administração de propranolol determinou uma queda na pressão arterial média. Entretanto, esta queda foi maior nos ratos controle do que naqueles que nadaram. Dessa maneira, a pressão arterial média de animais que nadaram foi significativamente maior do que aquela de ratos controle, após atropina e propranolol, indicando que este efeito, aparentemente, não depende da atividade vagal e/ou da atividade simpática exercida a nível cardíaco, através dos adrenocetores beta que modulam o cronotropismo. Estes dados concordam com aqueles de IMMS et al. (1977 a, b; 1979) os quais afirmam que, em ratos, as variações de pressão arterial, que são induzidas em condições fisiológicas, parecem depender principalmente de alterações da resistência vascular periférica e do volume sistólico, sendo relativamente independentes de variações na frequência cardíaca.

Os componentes que caracterizam a reação de "stress" são a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e o aumento da atividade do sistema nervoso simpático (RAMEY & GOLDSTEIN, 1957; LEDUC, 1961; NATELSON et al., 1981). O primeiro componente resulta no aumento da secreção de glicocorticóides, enquanto que o segundo envolve a liberação de noradrenalina e de adrenalina pelas terminações nervosas simpáticas e pela medula das glândulas adrenais. Neste contexto, a manutenção de níveis mais altos de pressão arterial média em ratos submetidos ao "stress" por natação, após a administração de atropina e de propranolol, pode ser

decorrente de uma ação das catecolaminas mediada por adrenoreceptores alfa, os quais, quando ativados, determinam vasoconstrição, com conseqüente aumento da resistência vascular periférica (IMMS et al., 1977a,b, 1979; DREW & WHITING, 1979; DOCHERTY & McGRATH, 1980; FLAVAHAN et al., 1985).

A ativação de adrenoreceptores alfa localizados em vasos de capacitância poderia ter um efeito adicional, aumentando o retorno venoso, o que poderia resultar em aumento do volume sistólico, este conjunto de efeitos contribuindo para a elevação da pressão arterial média (TABRIZCHI & PANG, 1986; SCHOLZ et al., 1986; BENFEY, 1990). Além disso, o aumento do volume sistólico poderia ser decorrente, entre outros fatores, da ativação de adrenoreceptores alfa cardíacos, os quais mediam o efeito inotrópico das catecolaminas (FLAVAHAN & McGRATH, 1981; SCHOLZ et al., 1986; BENFEY, 1990).

A abordagem experimental por nós utilizada não nos permite, entretanto, indicar qual ou quais destes componentes estariam alterados em animais submetidos ao "stress" por natação.

Diversos fatores podem alterar a sensibilidade da resposta dos tecidos às catecolaminas (SCARPACE & ABRASS, 1982; KENAKIN & FERRIS, 1983; SNAVELY et al., 1983; BANERJEE et al., 1977; STONE et al., 1985; 1986; STRASSER et al., 1984; SPORN et al., 1976; KAJIYAMA et al., 1982; SEVERSON et al., 1986; GLAUBIGER & LEFKOWITZ, 1981; SHARMA et al., 1979;

RUB et al., 1981; FOX et al., 1985; ABRASS & SCARPACE, 1981; KUPFER et al., 1986). As modificações de natureza neural e hormonal ligadas à reação de "stress" se incluem entre estes fatores. A instalação de subsensibilidade noradrenérgica do sistema gerador de AMPc do tecido cerebral de rato foi observada após sessões repetidas de choque nas patas (STONE, 1979) e imobilização (STONE et al., 1985; 1986)

O desenvolvimento de subsensibilidade noradrenérgica, associada à condição de "stress", tem sido observado também em tecidos periféricos. A exposição de ratos ao frio por 5 a 7 dias (HARRI et al., 1974; CALLIA & DE MORAES, 1984), choque nas patas (BASSANI & DE MORAES, 1987) ou três sessões de natação (SPADARI & DE MORAES, 1988) tem se mostrado capaz de causar redução da sensibilidade ao efeito cronotrópico da noradrenalina em átrios direitos isolados de ratos. As alterações de adrenoceptores beta cardíacos, descritas na condição de "stress" crônico ou repetido incluem diminuição da densidade (U'PRICHARD & KVETNANSKY, 1980; TORDA et al., 1981) e da afinidade destes receptores por antagonistas seletivos de adrenoceptores beta-1 (CALLIA & DE MORAES, 1984; SPADARI & DE MORAES, 1988).

O conjunto dos resultados destes trabalhos mostra que a instalação de subsensibilidade noradrenérgica parece ser um fenômeno constante, determinado pela exposição repetida de animais a diversos agentes agressores, e que a subsensibilidade pode ser considerada um fator relacionado

ao processo de adaptação à condição de "stress" repetido (STONE, 1979 a,b; STONE & PLATT, 1982).

Por outro lado, o "stress" agudo, representado por uma única sessão de natação, com duração de 50 minutos (SPADARI et al., 1988) ou choque nas patas, aplicado durante 60 minutos (BASSANI & DE MORAES, 1988) determinaram supersensibilidade do átrio direito isolado de ratos aos efeitos cronotrópicos da isoprenalina e da adrenalina, sem alteração da sensibilidade à noradrenalina.

As limitações inerentes à abordagem metodológica utilizada pelos autores impedem a avaliação do significado fisiológico das alterações descritas. A demonstração de subsensibilidade da resposta pressórica de ratos ao efeito da noradrenalina, da adrenalina e da fenilefrina (MARTINS & SPADARI, 1988; 1990), após uma única sessão de natação, confere importância fisiológica às observações anteriores. A dessensibilização da resposta pressórica a estes três agonistas de adrenoreceptores é concomitante com supersensibilidade do átrio direito isolado destes animais à isoprenalina e à adrenalina (SPADARI et al., 1988). Provavelmente, estas alterações se relacionam com a manutenção da homeostasia do sistema cardiovascular de ratos, nos quais os níveis plasmáticos de catecolaminas e de glicocorticóides estão aumentados (SPADARI et al., 1988).

A noradrenalina é um agonista não-seletivo de adrenoreceptores. A infusão de noradrenalina em ratos acordados determina um aumento, dependente da dose, na

pressão arterial média, acompanhado de diminuição da frequência cardíaca (PANG & TABRIZCHI, 1986).

Em nossos experimentos, doses crescentes de noradrenalina foram administradas endovenosamente, na forma de "bolus", a ratos não-anestesiados. O efeito pressórico da noradrenalina foi observado, tanto nos animais do grupo controle como naqueles submetidos ao "stress". Entretanto, a curva dose-resposta da noradrenalina, em ratos submetidos à natação, foi deslocada à direita, indicando a dessensibilização da resposta.

Não foi possível estabelecer uma relação clara entre o efeito cronotrópico e a dose de noradrenalina, assim como, não houve diferença de sensibilidade entre os dois grupos, para este efeito. Estes resultados confirmam aqueles de SPADARI et al (1988) que demonstraram que átrios direitos de ratos submetidos ao mesmo agente causador de "stress" não apresentaram alteração de sensibilidade ao efeito cronotrópico da noradrenalina, o qual é mediado por uma população homogênea de adrenoceptores do sub-tipo beta-1. De fato, a administração de propranolol, não determinou alteração da diferença de pressão arterial média entre os dois grupos de animais, embora tenha cancelado a diferença de frequência cardíaca. O desvio à esquerda das curvas dose-resposta à noradrenalina, em ambos os grupos, pode ser explicado pelo provável bloqueio exercido pelo propranolol, dos adrenoceptores beta-vasculares, responsáveis pela resposta vaso-dilatadora. Este efeito, por sua vez, levaria

a um maior grau de vaso-constricção, mediada por adrenoreceptores alfa-vasculares e maior aumento da pressão arterial média, com doses menores de noradrenalina.

O prazosin é um antagonista seletivo de adrenoreceptores do sub-tipo alfa-1 (DOXEY et al., 1977; DREW & WHITING, 1979; McGRATH, 1982; HANFT & GROSS, 1989). A administração de prazosin aos ratos de ambos os grupos experimentais determinou uma queda na pressão arterial. Após prazosin houve um aumento significativo também na frequência cardíaca dos animais controle. Entretanto, a frequência cardíaca de animais submetidos ao "stress" não foi alterada. Provavelmente, este efeito do prazosin sobre a frequência cardíaca seja devido à ativação simpática reflexa, em resposta à queda na pressão arterial induzida pelo antagonista de adrenoreceptores alfa.

A ausência da resposta simpática reflexa, nos animais submetidos à natação confirma nossa hipótese de que, nestes animais, a divisão simpática do sistema neuro-vegetativo já havia sido maximamente ativada pelo "stress". Os altos valores de frequência cardíaca observados nestes animais justificam também esta hipótese.

As curvas dose-resposta à noradrenalina obtidas na presença de prazosin apresentam-se desviadas à direita, quando comparadas às curvas dose-resposta obtidas na ausência deste antagonista de adrenoreceptores. O desvio, entretanto, foi significativamente maior nos animais submetidos ao "stress" do que nos animais do grupo controle.

Como consequência, a diferença de sensibilidade ao efeito pressórico da noradrenalina em ratos submetidos ou não ao "stress" foi acentuada pela presença do prazosin. Embora nossos resultados não sejam conclusivos, estes parecem indicar que a natação aumenta a sensibilidade da resposta mediada por adrenoceptores alfa-1 do sistema cardiovascular de ratos ao efeito bloqueador do prazosin.

O idazoxan é um antagonista competitivo, seletivo, de adrenoceptores alfa-2. Nos animais controle, o idazoxan não determinou qualquer alteração da frequência cardíaca ou da pressão arterial mas, nos animais submetidos ao "stress", o idazoxan resultou em diminuição significativa da frequência cardíaca. Esta diminuição não alterou, entretanto, a pressão arterial.

Experimentos clínicos com idazoxan sugerem que a pressão arterial não é diminuída, e pode até apresentar um modesto aumento após a administração intravenosa de idazoxan (REID, 1986). Os efeitos do bloqueio de adrenoceptores pré-juncionais e o bloqueio dos adrenoceptores alfa-2 endoteliais que promovem a liberação do fator de relaxamento endotelial, poderiam levar ao mascaramento dos efeitos do idazoxan a nível pós-juncional (DE JONGE, 1988)

A análise das curvas dose-resposta ao efeito pressórico da noradrenalina, mostra que a administração de idazoxan deslocou as curvas nos dois grupos de animais, mantendo a diferença de sensibilidade ao agonista. Entretanto, uma análise mais cuidadosa mostra que partes diferentes da curva

dose-resposta são deslocadas quando se administram antagonistas de adrenoreceptores alfa-1, como o prazosin, ou alfa-2, como o idazoxan. O antagonista alfa-2 tem um efeito maior na resposta a concentrações menores do agonista, produzindo uma curva com maior inclinação, uma vez que desloca para a direita a porção inicial da curva. Já o prazosin, desloca preferencialmente, a segunda metade da curva dose-resposta à noradrenalina. Estas observações sugerem um envolvimento dos adrenoreceptores alfa-2 na mediação da vasoconstrição por concentrações plasmáticas fisiológicas de catecolaminas (ALABASTER & DAVEY, 1984). Outros estudos tem mostrado que, em veias, existe uma predominância de receptores alfa-2, enquanto aqueles encontrados em artérias são preferencialmente do sub-tipo alfa-1 (SUPPLE et al., 1988). Sendo assim, é possível considerar que, em veias, as mais baixas concentrações endógenas de noradrenalina, vigentes em condições fisiológicas, devem produzir a principal estimulação através dos adrenoreceptores alfa-2. Quando as concentrações plasmáticas de catecolaminas aumentam, são estimulados também os adrenoreceptores alfa-1 das veias e das artérias, contribuindo ambos para o efeito vasoconstritor final (KOGA et al, 1989).

Em nossos experimentos, as curvas dose-resposta ao BHT-920, confirmam que os adrenoreceptores alfa-2 participam da resposta pressórica de ratos. Estes resultados demonstram também, que a resposta pressórica mediada por adrenoreceptores

alfa-2 é igualmente alterada pelo "stress". Experimentos realizados com xilazina ou BHT-933, agonistas alfa-2, demonstraram que estes agonistas determinam aumento do retorno venoso para o coração, devido à venoconstricção, mediada por adrenoceptores alfa-2 (KALKMAN et al., 1974; WAGNER & BRODDE, 1978; SCHUMANN, 1980). Entretanto, estes autores não observaram o efeito cronotrópico negativo, por nós observado. Provavelmente, isto se deve ao fato de que estes autores utilizaram ratos descerebrados, anestesiados com hexobarbitona, enquanto nós utilizamos ratos não-anestesiados.

Demonstrou-se, em vasos isolados, que existe uma grande reserva de adrenoceptores alfa pós-sinápticos (RUFFOLO et al., 1984; NICHOLS & RUFFOLO, 1986; MOURA et al., 1990). A eliminação desta reserva pode ser realizada pelo pré-tratamento das preparações com um antagonista não-competitivo de adrenoceptores alfa (HAMILTON et al., 1983; RUFFOLO E YADEN, 1984). A fenoxibenzamina, na dose por nós utilizada, se comporta como um antagonista seletivo não-competitivo de adrenoceptores do sub-tipo alfa-1 (NICHOLS & RUFFOLO, 1986). Este antagonista, em preparações isoladas, determinou o deslocamento à direita das curvas dose-resposta à noradrenalina, diminuindo a resposta máxima de tecidos onde existem apenas adrenoceptores alfa-1 pós-sinápticos (GINARAES & PAIVA, 1987; POLONIA et al., 1985). Naqueles tecidos onde a população de adrenoceptores alfa é heterogênea, as curvas dose-resposta a agonistas não-

seletivos, como a noradrenalina, foram deslocadas para a direita, sem deprimir o efeito máximo (GUIMARAES & PAIVA, 1987; MOURA et al., 1990).

Em nossos animais, a administração de fenoxibenzamina não determinou alteração significativa dos valores de frequência cardíaca ou de pressão arterial nos animais de ambos os grupos, mas determinou deslocamento à direita das curvas dose-resposta à noradrenalina. Este deslocamento foi de 10,9 vezes nos animais do grupo controle e de, apenas, 5,3 vezes nos animais submetidos à natação, o que resultou no cancelamento da diferença de sensibilidade entre os dois grupos experimentais.

Estes resultados parecem, portanto, indicar que os adrenocetores alfa-1 do sistema cardio-vascular de ratos participam do processo de dessensibilização da resposta pressórica à noradrenalina, que ocorre em resposta ao "stress".

6. CONCLUSÕES

Nossos resultados permitem concluir que:

6.1. As medidas da frequência cardíaca e da pressão arterial média em ratos não anestesiados, podem ser utilizadas para o estudo da resposta do sistema cardiovascular a agonistas de adrenoceptores alfa, durante o "stress", induzido por natação.

6.2. O "stress" por natação determinou aumento da frequência cardíaca de recuperação. Este aumento parece ser devido à inibição da atuação tônica vagal, simultaneamente com ativação da divisão simpática do sistema neurovegetativo, sem alteração da frequência cardíaca intrínseca.

6.3. A natação determinou aumento da pressão arterial média de recuperação de ratos. Este efeito, aparentemente, independe da atividade vagal e/ou da atividade simpática exercida a nível cardíaco, através dos adrenoceptores beta, mas parece ser decorrente de uma ação das catecolaminas mediada por adrenoceptores alfa.

6.4. Ratos submetidos à natação apresentaram dessensibilização da resposta pressórica à noradrenalina e ao BHT-920. Esta dessensibilização foi mediada por adrenocetores alfa-1 e alpha-2 do sistema cardiovascular de ratos.

6.5. As alterações de sensibilidade a agonistas de adrenocetores alfa, demonstradas neste trabalho complementam as observações sobre a dessensibilização do átrio direito isolado de ratos submetidos ao "stress", e sugerem, uma vez mais que a dessensibilização faz parte dos processos homeostáticos de adaptação ao "stress".

7. RESUMO

Estudos prévios demonstraram que átrios direitos isolados de ratos submetidos ao "stress" apresentam alterações de sensibilidade ao efeito cronotrópico das catecolaminas.

Os objetivos deste trabalho são : avaliar a possibilidade de utilização da técnica de registro da pressão arterial em ratos não anestesiados, para a análise das respostas cronotrópica e pressórica às catecolaminas; descrever as alterações de sensibilidade cardiovascular às catecolaminas em ratos submetidos ao "stress"; caracterizar a participação dos diferentes tipos de adrenocetores nestas alterações; comparar as alterações observadas "in vivo" com aquelas anteriormente descritas em átrios direitos isolados de ratos submetidos ao "stress".

Utilizamos ratos machos, adultos, Wistar. Sob anestesia por éter, as artéria e veia femurais esquerdas de cada animal foram canuladas 24h antes do experimento. O registro da pressão arterial foi obtido conectando-se a cânula arterial a um transdutor de pressão, enquanto o animal permanecia em sua própria gaiola, não anestesiado. A administração dos diferentes fármacos foi realizada através da cânula venosa. Os animais do grupo experimental foram submetidos a 50 min de natação. Em seguida, 3 mg/Kg de

atropina foram administrados na forma de "bolus". Alguns grupos de animais receberam, após a atropina, um dos seguintes antagonistas de adrenoreceptores: propranolol (3mg/Kg), prazosin (0,1 ou 0,5 mg/Kg), idazoxan (1 mg/Kg) ou fenoxibenzamina (1 mg/Kg). Foram obtidas curvas dose-resposta para os efeitos cronotrópico e pressórico da noradrenalina e do BHT-920.

Nossos resultados mostraram que ratos submetidos ao "stress" por natação apresentam aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial média, em repouso. O aumento de frequência cardíaca observado em ratos após o "stress" parece ser devido à ativação simpática, acompanhada de inibição vagal. O aumento de pressão arterial independe de atuação simpática ou vagal, exercida por meio de adrenoreceptores beta-cardíacos uma vez que não é cancelado pela administração de atropina e propranolol. A frequência cardíaca intrínseca de ratos não foi alterada pelo "stress".

A sensibilidade da resposta pressórica à noradrenalina e ao BHT-920 está diminuída em animais submetidos ao "stress". Os adrenoreceptores alfa-1 e alfa-2 do sistema cardiovascular de ratos estão envolvidos no processo de dessensibilização.

Nossos resultados permitem concluir que a dessensibilização da resposta cardiovascular às catecolaminas faz parte dos processos homeostáticos de adaptação ao "stress", ao mesmo tempo que complementam os resultados obtidos "in vitro", os quais indicam alteração

de sensibilidade de órgãos e tecidos isolados de animais submetidos ao "stress".

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABRASS, I.B. & SCARPACE, P.I. Glucocorticoid regulation of myocardial beta-adrenergic receptors. *Endocrinology*, 108: 977-980, 1981.
- AHLQUIST, R.P. A study of the adrenotropic receptors. *Am. J. Physiol.*, 153: 584-600, 1948.
- ALABASTER, V. & DAVEY, M. Precapillary vessels: effects of the sympathetic nervous system and of catecholamines. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 6: S365-S376.
- BANERJEE, S.P.; KUNG, L.S.; RIGGI, J.J. & CHANDA, S.K. Development of beta-adrenergic receptor subsensitivity by acute anti-depressants. *Nature*, 268: 455-456, 1977.
- BASSANI, R.A. & DE MORAES, S. Subsensitivity to beta-adrenergic agonists in right atria isolated from footshock-stressed rats. *Gen. Pharmacol.*, 18: 473-477, 1987.
- BASSANI, R.A. & DE MORAES, S. Effects of repeated footshock stress on the responsiveness of the isolated rat pacemaker to catecholamines: Role of beta-2 adrenoceptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 245: 316-321, 1988.

- BENFEY, B.G. Function of myocardial alpha-adrenoceptors. *Life Sci.*, 44: 743-757, 1990.
- BERNE, R.M. & LEVY, M.N. Sistema arterial. In: Fisiologia, 2a. ed., Rio de Janeiro, R.J., Guanabara Koogan S.A., 1990, 31, 383-389.
- BERRIDGE, M.J. & IRVINE, R.F. Inositol triphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature*, 312: 312-215, 1984.
- BERTTHELSEN, A.S. & PETTINGER, W.A. A functional basis for classification of alpha adrenergic receptors. *Life Sci.*, 21: 595-606, 1977.
- BOYAJIAN, C.L.; LOUGHLIN, S.E. & LESLIE, F.M. Anatomical evidence for alpha-2 adrenoceptor heterogeneity: differential autoradiographic distribution of ³H rauwolscine and ³H idazoxan in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 241: 1079-1090, 1987.
- BROWN, J.H.; BUXTON, I.L. & BRUNTON, L.L. Alpha-1 adrenergic and muscarinic cholinergic stimulation of phosphoinositide hydrolysis in adult rat cardiomyocytes. *Circ. Res.*, 57: 532-537, 1985.
- BRYAN, L.J.; COLE, J.J.; O'DONNELL, S.R. & WANSTALL, J.C. A study designed to explore the hypothesis that beta-1 adrenoceptors are "innervated" receptors and beta-2 adrenoceptors are "hormone" receptors. *J. Pharmacol*

- cerebral and human platelet membranes. Possible heterogeneity of alpha-2 adrenoceptors. *Eur. J. Pharmacol.*, *84*: 79-85, 1982.
- DE JONGE, A. Vascular alpha-adrenoceptors and the regulation of vascular tone. *ISI Atlas of Science: Pharmacology*, 303-307, 1988.
- DOCHERTY, J.R. & McGRATH, J.C. A comparison of pre and post-junctional potencies of several alpha-adrenoceptor agonists in the cardiovascular system and anococcygeous muscle of the rat. Evidence for two types of post-junctional alpha adrenoceptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, *312*: 107-116, 1980.
- DOXEY, J.C.; SMITH, C.F.C. & WALKER, J.M. Selectivity of blocking agents for pre- and post- synaptic alpha-adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.*, *60*: 91-96, 1977.
- DREW, G.M. & WHITHING, S.B. Evidence of two types of post-synaptic alpha-adrenoceptors in vascular smooth muscle in vivo. *Br. J. Pharmacol.*, *67*: 207-215, 1979.
- EGLER, C.; GODFRAND, T. & MILLER, R.C. Enhanced responsiveness of rat isolated aorta to clonidine after removal of the endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.*, *81*: 16-18, 1984.
- ELLIOTT, H.L. & REID, J.L. Evidence for post-junctional vascular alpha-2 adrenoceptors in peripheral vascular

- regulation in man. *Clin. Sci.*, *65*: 237-241, 1983.
- FLAVAHAN, N.A. & McGRATH, J.C. Blockade by yohimbine of prazosin resistant pressor effects of adrenaline in the pithed rat. *Br. J. Pharmacol.*, *69*: 355-357, 1980.
- FLAVAHAN, N.A. & McGRATH, J.C. Alpha-1 adrenoceptors can mediate chronotropic responses in rat heart. *Br. J. Pharmacol.*, *73*: 586-588, 1981.
- FLAVAHAN, N.A.; GRANT, T.L.; GREIG, J. & McGRATH, J.C. Analysis of the alpha-adrenoceptor mediated, and other components in the sympathetic vasopressor responses of the pithed rat. *Br. J. Pharmacol.*, *86*: 265-274, 1985.
- FLUXE, K., ANDERSON, K.; ENEROTH, P.; SIEGEL, R.A. & AGNOTI, L.F. Immobilization stress-induced changes in discrete hypothalamic catecholamine levels and turnover, their modulation by nicotine and relationship to neuroendocrine function. *Acta Physiol. Scand.*, *117*: 421-426, 1983.
- FOX, A.W.; JUBERG, E.N.; MAY, J.M.; JOHNSON, R.D.; ABEL, P.W. & MINNEMAN, K.P. Thyroid status and adrenergic receptor subtypes in the rat: comparison of receptor density and responsiveness. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *235*: 715-723, 1985.
- GLAUBIGER, C. & LEFKOWITZ, R.J. Elevated beta-adrenergic receptor number after chronic propranolol treatment

Biochem. Biophys. Res. Commun., 79: 720-725, 1981

GUIMARAES, S. & PAIVA, M.Q. Post-synaptic alpha-adrenoceptors reserve and the shift of the concentration response curves to the right as caused by the irreversible alpha-adrenoceptor antagonist phenoxybenzamine. *Br. J. Pharmacol.* 92: 505-512, 1987.

HAMILTON, C.A.; REID, J.L. & SUMNER, D.J. (1983). Acute effects of phenoxybenzamine on alpha-adrenoceptor in vivo and in vitro: reaction of in vivo pressor responses to the number of specific binding sites. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 5: 868-874, 1983.

HAN, C.; ABEL, P.W. & MINNEMAN, K.P. Alpha-1-adrenoceptor subtypes linked to different mechanisms for increasing intracellular Ca^{2+} in smooth muscle. *Nature*, 329: 333-335, 1987.

HANFT, G. & GROSS, G. Subclassification of alpha-1 adrenoceptor recognition sites by urapidil derivatives and others selective antagonists. *Br. J. Pharmacol.*, 97: 691-700, 1989.

HARRI, M. N. E.; MELENDER, L. & TIRRI, R. Changed chronotropic sensitivity to sympathomimetic amines in isolated atria from rats following cold acclimation. *Experientia*, 30: 1041-1043, 1974.

- HIMMS-HAGEN, J. *Role of the adrenal medulla in adaptation to cold. In: Handbook of Physiology, Section 7, Vol. 6. Adrenal gland. Am. Physiol. Soc., 637-667, 1975.*
- HOKFELT, T.; FAHRENKUNG, J.; TATEMOTO, K.; MUTT, U.; WERNER, S.; HULTING, A.L.; TRERENIUS, L. & CHANG, K.J. The PHI (PHI-27) / Corticotrophin releasing factor/ enkephalin immunoreactive hypothalamic neuron: possible morphological basis for integrated control of prolactin, corticotropin and growth hormone secretion. *Proc. Natl Acad. Sci., USA, 80: 895-898, 1983.*
- IMMS, F.J.; NEAME, R.L.B. & PAULIS, D.A. Response of the cardiovascular system of the rat to alpha and beta adrenoceptor agonists. *Br. J. Pharmacol., 60: 107-114, 1977a.*
- IMMS, F.J.; NEAME, R.L.B. & PAULIS, D.A. Response of the cardiovascular system of the rat to noradrenaline infusion and their modification by adrenoceptor blocking agents. *Br. J. Pharmacol., 67: 115 - 121, 1977b.*
- IMMS, F.J.; NEAME, R.L.B. & PAULIS, D.A. The subdivision of beta-adrenoceptors in the cardiovascular system of the rat. *Br. J. Pharmacol., 67: 367-370, 1979.*
- JANSSENS, W.J. & VERLAEGHE, R. Sources of calcium used

- during alpha-1 and alpha-2 adrenergic contraction in canine saphenous veins. *J. Physiol.*, 347: 525-532, 1984.
- JUBERG, E.N.; MINNEMAN, K.P. & ABEL, P.N. Beta 1- and beta-2 adrenoceptors binding and functional responses in right and left atria of rat heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 330: 193-202, 1985.
- KAJIYAMA, H.; OBARA, K.; NOMURA, Y. & SEGAWA, T. The adrenergic receptors in adult rats following neonatal 6-hydroxydopamine treatment. *Eur. J. Pharmacol.*, 77: 75-77, 1982.
- KALKMAN, H.O.; THOLEN, M.J.M.C.; TIMMERNANS, P.B.M.W.M. & VAN ZWIETEN, P.A. The influence of alpha-1 and alpha-2 adrenoceptor agonists on cardiac output in rats and cats. *J. Pharm Pharmacol.*, 36: 265-268, 1984.
- KALMAN, A. The beta-1 adrenoceptor antagonist CGP 20712 A unmasks beta-2 adrenoceptors activated by (-)-adrenaline in rat sino atrial node. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 332: 406-409, 1986.
- KENAKIN, T.P. & FERRIS, R.M. Effects of "in vivo" beta-adrenoceptor down-regulation on cardiac responses to penalterol and pirbuterol. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 5: 90-97, 1983.
- KOGA, T.; SHIRAKI, Y. & SAKAI, K. Characterization of a novel alpha-1-adrenoceptor antagonist, SGB-1534,

- in contractile response of isolated arterial and venous smooth muscle to exogenous noradrenaline: comparison with prazosin, phentolamine and yohimbine. *Japan J Pharmacol.*, 50: 185-193, 1989.
- KUNOS, G.; MUCCI, L. & O'REGAN, S. The influence of hormonal and neuronal factors on rat heart adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.*, 71: 371-384, 1980.
- 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, I. B. Differentiation of receptor systems activated by sympatomimetic amines. *Nature (London)*, 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.
- LANGER, S.Z. Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem. Pharmacol.* 23: 1793-1800, 1974.
- LANGER, S.Z.; MANINGHAM, R. & SHEPPERMAN, N.B. Presence of post synaptic alpha-2 adrenoceptors of predominately extrasynaptic location in the vascular smooth muscle of

- the dog hind limb. *Clin. Sci.*, 59: 225s-228s, 1980.
- LATIFPOUR, J.; JONES, S.B. & BYLUND, D.B. Characterization of ^3H yohimbine binding to putative alpha-2 adrenergic receptor in neonatal rat lung. *J. Pharmacol., Exp. Ther.*, 223: 606-611, 1982.
- LE BLANC, J. & NADEAU, G. Urinary excretion of adrenaline in normal and cold adapted animals. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39: 215-217, 1961.
- LE BLANC, J. & VILLEMAIRES, A. Thyroxine and noradrenaline on noradrenaline sensitivity, cold resistance and brown fat. *Am. J. Physiol.*, 222: 1043-1046, 1970.
- LEDUC, J. Catecholamine productions and release in exposure and acclimation to cold. *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)*, 183: 1-101, 1961.
- McGRATH, J.C. Evidence for more than one type of post-junctional alpha-adrenoceptor. *Biochem Pharmacol.*, 31(4): 467-488, 1982.
- MARTINS, M.C. & SPADARI, R.C. Sensibilidade cardiovascular às catecolaminas em ratos submetidos ao stress por natação. Anais da III Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental, Caxambú, 1988.
- 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.

MEDGETT, I. C. & RAJANAYAGAN, M. A. S. Effects of reduced calcium ion concentration and of diltiazem on vasoconstrictor responses to noradrenaline and sympathetic nerve stimulation in rat isolated tail artery. *Biochem. Pharmacol.*, 29: 1317-1323, 1980.

MINNEMAN, K. P. & MOLINOFF, P. B. Classification and quantification of beta-adrenergic receptor subtypes. *Biochem. Pharmacol.*, 29: 1317-1323, 1980.

KOURA, D.; VAZ-DA-SILVA, M. & GUIMARAES, S. Alpha-adrenoceptor reserve in the canine cephalic vein. *Eur. J. Pharmacol.*, 179: 9-16, 1990.

NATELSON, B.H.; TAPP, W.N.; ADAMIS, J.E. & LEWIS, B.E. Humoral indices of stress in rats. *Physiol. Behav.*, 26: 1049-1054, 1981.

- NICHOLS, A.J. & RUFFOLO, R.R. Jr. The relationship between alterations in α -1-adrenoceptors reserve by phenoxybenzamine and benextramine and the sensitivity of cirazoline-induced pressor responses to inhibition by nifedipine. *Eur. J. Pharmacol.*, 126: 297-301, 1986.
- NISHIZUKA, Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumor production. *Nature*, 308: 693-697, 1984.
- O' DONNELL, S.R. & WANSTALL, J.C. Beta-1 and beta-2 adrenoceptor-mediated responses in preparations of pulmonary artery and aorta from young and aged rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 228: 733-738, 1984.
- O' DONNELL, S.R. & WANSTALL, J.C. Responses to the beta-2 selective agonist procaterol of vascular and atria preparation with different beta-adrenoceptor population. *Br. J. Pharmacol.*, 84: 227-235, 1985.
- OSTMAN-SMITH, I. Adaptative changes in the sympathetic nervous system and some effector organs of the rat following long-term exercise or cold-acclimation and the role of the cardiac sympathetic nerves in the genesis of compensatory cardiac hypertrophy. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl.), 477: 1-118, 1979.
- PANG, C.C.Y & TABRIZCHI, R. The effects of noradrenaline, methoxamine, angiotensin II and vasopressin on mean

- circulatory filling pressure in conscious rats. *Br. J. Pharmacol.*, *89*: 389-394, 1986.
- PFEIFFER, T. GTP binding proteins in membranes and the control of adenylate cyclase activity. *J. Biol. Chem.*, *252*: 7224-7234, 1977.
- PIASCIK, M.T.; BUTLER, B.T. & PRUITT, T.A. The role of alpha-1-adrenoceptor subtypes in the regulation of arterial blood pressure. *Eur. J. Pharmacol.*, *180*: 381-386, 1990.
- POLONIA, J.J.; PAIVA, M.Q. & GUIMARÃES, S. Pharmacological characterization of postsynaptic alpha-adrenoceptor subtypes in fine different dog arteries in vitro. *J. Pharmac. Pharmacol.*, *37*: 205-210, 1985.
- QUIST, E. & SANCHES, M. Alpha - adrenergic drugs induce a phospholipid effect in canine heart. *Proc. West Pharmacol. Soc.* *26*: 333-337, 1983.
- RAMEY, E.R. & GOLDSTEIN, M.S. Adrenal cortex and the sympathetic nervous system. *Physiol. Rev.*, *37*: 155-195, 1957.
- REID, J.L. Alpha-adrenergic receptors and blood pressure control. *Am. J. Cardiol.*, *57*: 6E-12E, 1986.
- ROSS, E.M.; HEWLETT, A.C.; FERGUSON, K.M.; & GILMAL, A.G. Reconstitution of hormone sensitive adenylate cyclase activity with resolved components of the enzyme. *J.*

Biol. Chem., 253: 6401-6412, 1978

RUB, H.P.; THOMMEN, H. & PORZIG, H. Quantitative changes in beta-adrenergic responses of isolated atria from hyper and hypothyroid rats. *Experientia*, 37: 399-401, 1981.

RUFFOLLO, R.R. JR. & YADEN, E.L. The existence of spare alpha-1-adrenoceptor, but not alpha-2-adrenoceptor, for the respective vasopressor effects of cirazoline and BHT-933 in pitted rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 6: 1011-1017, 1984.

RUFFOLLO, R.R. JR.; MORGAN, E.L. & MESSICK, K. Possible relationship between receptor reserve and the differential antagonism of alpha-1 and alpha-2 adrenoceptor-mediated pressor responses by calcium antagonists in the pitted rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 230: 587-594, 1984.

SCARPACE, P. J. & ABRASS, J. B. Desensitization of adenylate-cyclase regulation of beta-adrenergic receptors after in vivo administration of beta agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 233: 327-332, 1982.

SCHOLZ, H.; BRUCKNER, R.; MUGGE, A. & REUPCKE, C. Myocardial alpha-adrenoceptors and positive inotropy. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 18(Suppl 5), 79-87, 1986.

SCHUMANN, H. G. Are there alpha-adrenoceptors in the

- mammalian heart? *Trends Pharmac. Sci.*, *1*: 195-197, 1980.
- SCHUMANN, H. J. & LUES, I. Postjunctional alpha-adrenoceptors in the isolated saphenous vein of the rabbit characterization and influence of angiotensin *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, *323*: 328-334, 1983.
- SEVERSON, J.A.; PITTMAN, R.N.; GOL, J.; MOLINOFF, P.B. & FINCH, C.E. Genetic influence on the regulation of beta adrenergic receptors in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *236*: 24-29, 1986.
- SHARMA, R. V.; HABHAB, O. & BRALLA, R.C. Effect of propylthiouracil treatment on the regulation of adenylate-cyclase activity in rat myocardium. *Biochem. Pharmacol.*, *26*: 2858-2860, 1979.
- SHOJI, T; TSURU, H. & SHIGHI, T. A regional difference in the distribution of postsynaptic alpha-adrenoceptor subtypes in canine veins. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, *324*: 246-255.
- SNAVELY, M.D.; MAHAN, L.C.; O'CONNOR, D.T. & INSEL, P.A. Selective down-regulation of adrenergic receptor subtypes in tissues from rats with pheochromocytoma. *Endocrinology*, *113*: 354-361, 1983.
- SNAVELY, M. D.; ZIEGLER, M. G. & INSEL, P.A. Subtype

- selective down-regulation of rat renal cortical alpha- and beta-adrenergic receptors by catecholamines. *Endocrinology*, 117: 2182-2189, 1985.
- SPADARI, R.C. & DE MORAES, S. Super-sensibilidade às catecolaminas em átrio direito de ratos submetidos à natação. Anais do XIX Congresso Brasileiro de Fisiologia, São Paulo, 1984.
- SPADARI, R.C. & DE MORAES, S. Repeated swimming stress and responsiveness of the isolated rat pacemaker to the chronotropic effect of noradrenaline and isoprenaline: role of adrenal corticosteroids. *Gen. Pharmacol.*, 19: 553-557, 1988.
- 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. Pharmacol.* 19(1): 129-135, 1988.
- SPORN, J.R.; HARDEN, J.R.; WOLFE, B.B. & MOLINOFF, P.B. Beta - adrenergic receptor involvement in 6-hydroxydopamine supersensitivity in rat cerebral cortex. *Nature*, 194: 624-626, 1976.
- STARKE, K. Alpha-adrenoceptor subclassification. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 88: 199-236, 1981.
- STARKE, K. Presynaptic alpha-autoreceptors. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 107: 74-146, 1987.

STEEN, S.; SKARBY, T.U.C.; NORGRÉN, L. & ANDERSSON, K.E.
Pharmacological characterization of post-junctional
alpha-adrenoceptors in isolated human omental arteries
and vein. *Acta Physiol. Scand.*, 120: 109-116, 1984a.

STEEN, S.; SJOBERG, T.; SKARBY, T.U.C.; NORGRÉN, L. &
ANDERSSON, K.E. Post-junctional alpha-1 and alpha-2
adrenoceptors mediating contraction in isolated human
groin arteries and veins. *Acta Physiol. Scand.*, 122:
323-329, 1984b.

STONE, E. A. Reduction by stress of norepinephrine-
stimulated accumulation of cyclic AMP in rat cerebral
cortex. *J. Neurochem.*, 32: 1335-1338, 1979a.

STONE, E.A. Subsensitivity to norepinephrine as a link
between adaptation to stress and antidepressant theory:
an hypothesis. *Res. Commun. Psychol. Psychiat. Behav.*,
4: 241-255, 1979b.

STONE, E.A. & PLATT, J.E. Brain adrenergic receptors and
resistance to stress. *Brain Res.*, 237: 405-414, 1982

STONE, E.A.; SLUCKY, A.V.; PLATT, J.E. & TRULLAS, R.
Reduction of the cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate
response to catecholamines in rat brain slices after
restraint stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 233: 382-388,
1985.

- STONE, E.A.; PLATT, T.E.; HERRERA, A.S. & KIRK, K.L. Effect of repeated restraint stress, desmethylinipramine or adrenocorticotropin on the alpha and beta adrenergic components of the cyclic AMP response to norepinephrine in rat brain slices. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 237: 702-707, 1986.
- STRASSER, R. H.; STILES, G. L. & LEFKOWITZ, R. J. Translocation and uncoupling of the beta-adrenergic receptor in rat lung after catecholamine promoted desensitization "in vivo". *Endocrinology*, 115: 1392-1400, 1984.
- SUPPLE, E. W.; GRAHAN, R. M. & POWELL, J. Jr. Direct effects of alpha-2 adrenergic receptors stimulation on intravascular systemic capacity in the dog. *Hypertension*, 11: 352-359, 1988.
- TABRIZCHI, R. & PANG, C.C.Y. Comparative effects of rauwolscine, prazosin and phentolamine on blood pressure and cardiac output in anesthetized rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 65: 1421-1427, 1986.
- TIMMERMANS, P.B.M. W.M. & VAN ZWIETEN, P.A. Possible subdivision of postsynaptic alpha - adrenoceptor mediating pressor responses in the pitted rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 310: 189-196, 1979.
- TIMMERMANS, P.B.M.W.M. & VAN ZWIETEN, P.A. The post

- synaptic alpha-2 adrenoceptor. *J. Auton. Pharmacol.*, *1*: 171-183, 1981.
- TODA, N.; OKAMURA, T.; NAJAJIMA, M. & MIYAZAKI, M. Modification by yohimbine and prazosin of the mechanical response of isolated dog mesenteric, renal and coronary arteries to transmural stimulation and norepinephrine. *Eur. J. Pharmacol.*, *98*: 69-78, 1984.
- TORDA, T.; YAMAGUCHI, I.; HIRATA, F.; KOPIN, J.J. & AXELROD, J. Quinacrine-blocked desensitization of adrenoceptors after immobilization stress or repeated injections of isoproterenol in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *216*: 334-338, 1981.
- U PRICHARD, D.C. & KVETNANSKY, R. Control and peripheral adrenergic receptors in acute and repeated immobilization stress. In: Catecholamines and stress: Recent Advances E. USDIN, R. Kvetnansky & J.J. Kopins (ed). New York, Elsevier North Holland Inc., 1980, p. 299.
- VANHOUTTE, P.M. & RIMELE, T.J. Calcium and alpha-adrenoceptors in activation of vascular smooth muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, *4*: S280-S284, 1982.
- VAN MEEL, J.C.A.; DE JONGE, A.; KALKMAN, H.O.; WILFFERT, B. TIMMERHANS, P.B.M.W.M. & VAN ZWIETEN, P.A. Vascular smooth muscle contraction initiated by postsynaptic alpha-2-adrenoceptors activations induced by an influx

- of extracellular calcium. *Eur. J. Pharmacol.*, **69**: 205-208, 1981.
- VAN ZWIETEN, P.A. & TIMMERMANS, P.B.M.W.M. Alpha-adrenoceptor stimulation and calcium movements. *Blood Vessels*, **24**: 271-280, 1987.
- VAN ZWIETEN, P.A., VAN NEEL, J.C.A. & TIMMERMANS, P.B.M.W.M. Functional interaction between calcium antagonists and the vasoconstriction induced by the stimulation of postsynaptic alpha-2 adrenoceptors. *Circ. Res.*, **52**: (Suppl. I): 77-80, 1983.
- WAGNER, J. & BRODDE, O.E. On the presence and distribution of alpha-adrenoceptor in the heart of various mammalian species. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **302**: 239-254, 1978.
- WOODCOCK, E.A.; WHITE, L.B.S.; SMITH, A.I. & McLEOD, J.K. Stimulation of phosphoinositol metabolism in the isolated, perfused rat heart. *Circ. Res.*, **61**: 625-631, 1987.