



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E BIOFÍSICA

**“ESTUDO DA RESPOSTA CONTRÁTIL DO ÁTRIO ESQUERDO À
ESTIMULAÇÃO ADRENÉRGICA EM RATOS ADULTOS JOVENS E
VELHOS SUBMETIDOS À NATAÇÃO”**

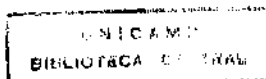
Este exemplar refere-se à relação final
da tese de () () candidato (a)
Roseli Golfetti
e aprovada pela Comissão Julgadora.
26/4/96

Lourenço Gallo Junior

ROSELI GOLFETTI

Orientador: Prof. Dr. Lourenço Gallo Junior

Campinas
1996



UNIDADE	BC
N.º de inscrição	7/UNICAMP
	G581e
N.º de controle	27943
	667196
	IX
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	04/07/196
N.º CPD	

CM-00089459-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

G581e

Golfetti, Roseli

Estudo da resposta contrátil do átrio esquerdo à estimulação adrenérgica em ratos adultos jovens e velhos submetidos à natação / Roseli Golfetti. - - Campinas, SP : [s.n.], 1966.

Orientador: Lourenço Gallo Junior
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia.

1. Coração - Contração. 2. Átrio. * 3. Estimulação .
adrenérgica. 4. Rato como animal de laboratório.
5. Natação. I. Gallo Junior, Lourenço. II. Universidade .
Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

**“ESTUDO DA RESPOSTA CONTRÁTIL DO ÁTRIO ESQUERDO À
ESTIMULAÇÃO ADRENÉRGICA EM RATOS ADULTOS JOVENS E
VELHOS SUBMETIDOS À NATAÇÃO”**

Roseli Golfetti

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do título de Doutor em Ciências

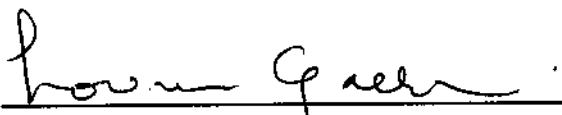
CAMPINAS
1996

LOCAL E DATA: Campinas, 26 de abril de 1996

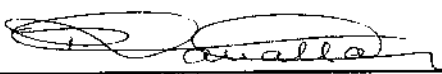
BANCA EXAMINADORA:

TITULARES:


- Prof. Dr. Lourenço Gallo Júnior


Assinatura

- Prof. Dr. Dalton V. Vasallo


Assinatura

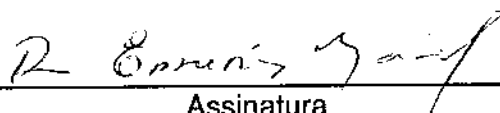
- Prof. Dr. Euclides Custódio Lima Filho


Assinatura

- Profa. Dra. Regina Célia Spadari-Bratfish


Assinatura

- Prof. Dr. Rui Errerias Maciel


Assinatura

SUPLENTES

- Prof. Dr. José Wilson Magalhães Bassani

Assinatura

- Prof. Dr. Ernesto José Dottaviano

Assinatura

- - Prof. Dr. Konradin Metze

Assinatura

APROVADA

Este trabalho foi realizado no setor de experimentação animal do Laboratório de Fisiologia do Exercício da Faculdade de Educação Física. Exceto o estudo morfológico foi realizado no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas, ambos da Universidade Estadual de Campinas, sob auspícios financeiros da FAEP, FAPESP.

Para o

Marcelo

que com a vida resplandecente soube
entender como se faz uma tese.

À minha Vó Maria
(In Memoriam)

Que com sua simplicidade
e mansidão me ensinou muito
sobre a vida.

AGRADECIMENTOS

Eu quero expressar minha profunda gratidão e admiração ao Prof. Dr. Lourenço Gallo Júnior, que como um Professor, no sentido magnânimo da palavra, tem me ensinado e orientado sobre a arte da pesquisa e da vida acadêmico-universitária.

Ao Prof. Dr. Euclides Custódio Lima Filho, pela generosidade e paciência com que gastou o seu tempo, me ensinando sobre tratamento e a análise de dados experimentais.

Ao Prof. Dr. Ernesto José Dottaviano, por sua vontade, entusiasmo e atitude, para que as coisas dêem certo.

Ao Prof. Dr. Konradin Metze, pela confiança depositada, e pelo espírito de cooperação acadêmico-científico.

A Profa. Dra. Regina Célia Spadari-Bratfish pela cooperação e suporte material e técnico oferecidos durante a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Edison Duarte, Diretor da Faculdade de Educação Física e colega de departamento pelo apoio manifestado. Agradecimento extensivo aos meus colegas de departamento que souberam entender a importância deste trabalho na minha formação.

Ao Prof. Dr. João Batista Freire da Silva, Coordenador de Pós Graduação, pela disposição e apoio manifestado, na fase de implantação do Setor de Experimentação Animal do Laboratório de Fisiologia do Exercício, ambos da Faculdade de Educação Física. Agradecimento extensivo à todos os Professores dessa casa, que acreditam na pesquisa experimental.

Ao Barreto, que com serenidade e experiência técnico-científica, sabe dar soluções a muitos problemas.

A Bia e Marília, que depois desta empreitada, fizeram os laços se estreitarem ainda mais.

A Dona Lair pela disposição, vontade e atenção, com que aprendeu a lidar com os animais de experimentação.

Respeitada as diferenças, agradeço à todos aqueles que no convívio diário de trabalho, tornam as relações mais alegres, amigáveis e divertidas.

De todos os objetos que nos afetam com sua presença, nosso próprio corpo é aquele cuja existência mais nos impressiona, porque nos pertence mais intimamente: mas, mal sentimos a existência de nosso corpo, percebemos a atenção que ele exige de nós, para afastar os perigos que o rodeiam. Sujeito a mil necessidades e extremamente sensível à ação dos corpos exteriores, seria em breve destruído se não nos preocupássemos com sua conservação. DIDEROT e D'ALEMBERT, 1750

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DAS FIGURAS	I
ÍNDICE DAS TABELAS	VIII
ÍNDICE DO APÊNDICE	X
RESUMO	XIV
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	17
MATERIAL E MÉTODOS	18
Condições Ambientais	18
Animais de Experimentação	19
Modelo Experimental: Natação de Ratos	20
Amostras e Grupos Experimentais	21
Preparação Biológica: Átrio Esquerdo Isolado	24
Instrumentação para Medida da Contração Isométrica.....	26
Definições dos Parâmetros.....	29
Preparação das Doses de Noradrenalina	30
Delineamento Experimental.....	31
Estudo Morfológico dos Animais Experimentais.....	34
Análise Estatística	37
RESULTADOS	38
Características Biométricas dos Animais Estudados	38

Contratilidade.....	41
Procedimentos Experimentais Pré-Curva.....	41
Os Parâmetros Medidos	41
Valores Iniciais da Tensão Máxima.....	42
Curvas Dose-Resposta: Transformações da Tensão Máxima	47
Curvas Dose-Resposta: Expressas em Medianas das Doses.....	61
Análise das EC 50	67
Análise da Relação Força - Frequência em Átrio Esquerdo	70
Ritmicidade Espontânea.....	75
Estudo Morfológico dos Animais Experimentais.....	84
Exame Macroscópico.....	84
Exame ao Microscópio Óptico	84
Exame ao Microscópio Eletrônico	95
DISCUSSÃO.....	96
CONCLUSÃO.....	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
APÊNDICE	127

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação dos receptores adrenérgicos (BYLUND, 1992).....	7
Figura 2 - Desenvolvimento histórico dos subtipos de receptores adrenérgicos (BYLUND, 1992).....	8
Figura 3 - Curvas de sobrevivência de ratos (machos e fêmeas) da linhagem Wistar do Institute for Experimental Gerontology (Burek , Hollander, 1980).....	20
Figura 4 - Sessão de natação realizada em tanque de vidro	23
Figura 5 - Preparação de átrio esquerdo isolado em cuba contendo solução de Krebs-Henseleit.....	25
Figura 6 - Sistema de Registro (Modelo RS 3400) com o respectivo traçado das variáveis estudadas (da esquerda para direita (canais 1, 2, 3 e 4).....	27
Figura 7 - Representação esquemática da instrumentação utilizada para estimulação e registro da preparação experimental. O sinal do transdutor de força isométrica é captado por um amplificador universal e o respectivo sinal de saída é a seguir diferenciado, por dois amplificadores diferenciadores, acoplados em série.....	28
Figura 8 - Diagrama de bloco com as etapas experimentais utilizadas.....	33
Figura 9 - Distribuição dos interceptos das regressões por subamostragem dos animais experimentais	39
Figura 10 - Distribuição das inclinações das regressões por subamostragem dos animais experimentais	40

Figura 11 - Curva comprimento-tensão típica da preparação de átrio esquerdo (animal 1, grupo controle de velhos), obtida por meio de estiramento do tecido atrial em regime de estimulação elétrica.....	43
Figura 12 - Registro das variáveis (animal 3, grupo controle de velhos) demonstrando estabilidade de resposta da preparação durante a curva dose-resposta.....	44
Figura 13 - Curvas dose-resposta individuais, ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados, de ratos do grupo controle (animais jovens), com os valores de T max expressos em grama força (esquerda), e grama força / peso do átrio (direita).....	45
Figura 14 - Valores iniciais da Tensão Máxima dos grupos (C = 7; SI = 8 ; SA = 7) da amostra de animais jovens e dos grupos (C = 6; SI = 6; SA = 6) da amostra de animais velhos, expressos em mediana, quartis e valores extremos.	46
Figura 15 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de jovens, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.	49
Figura 16 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> intermitente de jovens, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.	50

Figura 17 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> agudo de jovens, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.	51
Figura 18 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de velhos, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.	52
Figura 19 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> intermitente de velhos, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.	53
Figura 20 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> agudo de velhos, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.	54
Figura 21 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de jovens, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.	55

Figura 22 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> intermitente de jovens, expressas como o delta da T max, em relação a maior variação da tensão.	56
Figura 23 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> agudo de jovens, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.	57
Figura 24 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de velhos, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.	58
Figura 25 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> intermitente de velhos, expressas como delta da T max, em relação a maior variação de tensão.	59
Figura 26 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo <i>stress</i> agudo de velhos, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.	60
Figura 27 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, nos grupos C, SI e SA de animais jovens.....	62
Figura 28 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, nos grupos C, SI e SA de animais velhos.	63

Figura 29 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, dos grupos controles de animais jovens.e velhos.	64
Figura 30 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, dos grupos <i>stress</i> intermitente de animais jovens e velhos.....	65
Figura 31 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, dos grupos <i>stress</i> agudo de animais jovens e velhos.	66
Figura 32 - Valores de EC 50 da curva dose-resposta à noradrenalina dos grupos (C, SI e SA) de animais jovens e velhos, expressos em medianas, quartis e valores extremos.....	69
Figura 33 - Relação força-freqüência representadas pelas medianas das tensões desenvolvidas por átrios esquerdos, dos grupos (C, SI e SA) de animais jovens. As linhas cheias e tracejadas, correspondem a um valor de n, igual ou superior a 4, e inferior a 4, respectivamente.	72
Figura 34 - Relação força-freqüência representadas pelas medianas das tensões desenvolvidas por átrios esquerdos, dos grupos (C, SI e SA) de animais velhos. As linhas cheias e tracejadas, correspondem a um valor de n, igual ou superior a 4, e inferior a 4, respectivamente.	73
Figura 35 - Valores de tensão máxima em 5 Hz, dos grupos (C, SI e SA) de animais jovens e velhos, expressos em medianas, quartis e valores extremos.	74

Figura 36 - Registro das variáveis (animal 6, grupo controle de velhos) documentando o surgimento de batimento espontâneo da preparação de átrio esquerdo.....	81
Figura 37 - Registro das variáveis (animal 6, grupo controle de velhos) mostrando a supressão transitória do ritmo espontâneo, após estimulação da preparação à uma frequência 50% acima da espontânea.	82
Figura 38 - Registro das variáveis (animal 5, grupo <i>stress</i> intermitente de jovens) mostrando que o ritmo espontâneo não foi suprimido, mesmo após estimulação da preparação à uma frequência 50% acima do valor correspondente.....	83
Figura 39 - Corte histológico corado por H.E., de átrio esquerdo, do rato 6, grupo SA de jovens, apresentando características morfológicas normais. 180x.	86
Figura 40 - Corte histológico corado por H.E., de átrio esquerdo, do rato 3, grupo SI de velhos, apresentando características morfológicas normais. 180x.	87
Figura 41 - Corte histológico corado por H.E. do miocárdio, do rato 6, grupo controle de jovens, apresentando características morfológicas normais. 180x. ...	88
Figura 42 - Corte histológico corado por H.E. do miocárdio, do rato 1, grupo SI de velhos, apresentando cicatrizes focais e fibroses intersticiais.180x.	89
Figura 43 - Corte histológico corado por H.E. do miocárdio, do rato 6, grupo SI de velhos, apresentando cicatrizes focais e fibroses intersticiais. 180x.	90

Figura 44 - Corte histológico corado por H.E., do miocárdio do rato 6, grupo SA de jovens, apresentando artéria coronária com características morfológicas normais. 180x. 91

Figura 45 - Corte histológico corado por H.E, do miocárdio do rato 1, grupo SA de velhos, apresentando artéria coronária com parede hipertrofiada. 180x. 92

Figura 46 - Corte histológico corado por H.E., do pulmão do rato 2, grupo SI de velhos, apresentando características de processo inflamatório crônico (bronquiectasia). 180x. 93

Figura 47 - Corte histológico corado por H.E., de miocárdio apresentando artérias coronárias com remodelamento das paredes, características de vasculite (Poliarterite nodosa,no rato).180x. 94

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Ordem de potência relativa de agonistas e antagonistas para adrenoceptores Alfa-1 e Alfa-2.	5
Tabela 2 - Fatores reguladores dos receptores adrenérgicos.	10
Tabela 3 - Mecanismos que alteram as respostas dos receptores.	11
Tabela 4 - Distribuição dos animais nas amostras e grupos experimentais.	22
Tabela 5 - Doses de noradrenalina adicionadas a cuba.	30
Tabela 6 - Valores individuais das EC50 e as medianas dos grupos, nas curvas dose-resposta à noradrenalina do átrio esquerdo isolado, dos animais estudados.	68
Tabela 7 - Faixas dos valores das freqüências de estimulação, em que as preparações de átrio esquerdo apresentaram padrões de resposta regular, para a obtenção da relação força-freqüência.	71
Tabela 8 - Identificação dos padrões experimentais de acordo com o diagrama de bloco.	76
Tabela 9 - Identificação dos animais cujos átrios esquerdos isolados, apresentaram ritmo espontâneo (+) ou não (-), durante a realização da curva dose-resposta à noradrenalina.	77
Tabela 10 - Valores individuais da freqüência cardíaca espontânea do átrio esquerdo, documentados durante a realização da curva dose-resposta à noradrenalina.	78

Tabela 11 - Valores individuais das doses (concentração molar de noradrenalina) em que ocorreu aparecimento de ritmo espontâneo nas preparações de átrio esquerdo, durante a realização da curva dose-resposta à noradrenalina. 79

Tabela 12 - Identificação dos casos em que a frequência de estimulação elétrica 50% acima da frequência cardíaca espontânea suprimiu (+) ou não (-) o ritmo espontâneo..... 80

APÊNDICE

TABELAS

Tabela 1 - Dados biométricos de animais jovens do grupo controle.	127
Tabela 2 - Dados biométricos de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente.....	128
Tabela 3 - Dados biométricos de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo.....	129
Tabela 4 - Dados biométricos de animais velhos do grupo controle	130
Tabela 5 - Dados biométricos de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente.....	131
Tabela 6 - Dados biométricos de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	132
Tabela 7 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.....	133
Tabela 8 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente	134
Tabela 9 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo.....	135
Tabela 10 - Valores individuais da MAXC D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.....	136
Tabela 11 - Valores individuais da MAXC D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente	137
Tabela 12 - Valores individuais da MAXC D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo.....	138

Tabela 13 - Valores individuais da MAXR D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.....	139
Tabela 14 - Valores individuais da MAXR D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente	140
Tabela 15 - Valores individuais da MAXR D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo	141
Tabela 16 - Valores individuais da MAXC D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.....	142
Tabela 17 - Valores individuais da MAXC D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente	143
Tabela 18 - Valores individuais da MAXC D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo	144
Tabela 19 - Valores individuais da MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.....	145
Tabela 20 - Valores individuais da MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente	146
Tabela 21 - Valores individuais da MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo	147
Tabela 22 - Valores individuais da 2MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.....	148
Tabela 23 - Valores individuais da 2MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> intermitente	149
Tabela 24 - Valores individuais da 2MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo <i>stress</i> agudo	150
Tabela 25 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle	151

Tabela 26 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente	152
Tabela 27 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	153
Tabela 28 - Valores individuais da MAXC D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.....	154
Tabela 29 - Valores individuais da MAXC D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente	155
Tabela 30 - Valores individuais da MAXC D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	156
Tabela 31 - Valores individuais da MAXR D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.....	157
Tabela 32 - Valores individuais da MAXR D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente	158
Tabela 33 - Valores individuais da MAXR D ₁ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	159
Tabela 34 - Valores individuais da MAXC D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.....	160
Tabela 35 - Valores individuais da MAXC D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente	161
Tabela 36 - Valores individuais da MAXC D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	162
Tabela 37 - Valores individuais da MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.....	163
Tabela 38 - Valores individuais da MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente	164

Tabela 39 - Valores individuais da MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	165
Tabela 40 - Valores individuais da 2MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.....	166
Tabela 41 - Valores individuais da 2MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> intermitente	167
Tabela 42 - Valores individuais da 2MAXR D ₂ T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo <i>stress</i> agudo.....	168

FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de Bloco (Padrão 1, n = 17) das sequências experimentais empregadas.....	169
Figura 2 - Diagrama de Bloco (Padrão 2, n = 11) das sequências experimentais empregadas.....	170
Figura 3 - Diagrama de Bloco (Padrão 3, n = 06) das sequências experimentais empregadas.....	171
Figura 4 - Diagrama de Bloco (Padrão 4, n = 04) das sequências experimentais empregadas.....	172
Figura 5 - Diagrama de Bloco (Padrão 5, n = 01) das sequências experimentais empregadas.....	173
Figura 6 - Diagrama de Bloco (Padrão 6, n = 01) das sequências experimentais empregadas.....	174

RESUMO

Os organismos vivos caracterizam-se por apresentarem grande capacidade de resposta aos estímulos internos e ou externos, no sentido de se adaptarem às condições vigentes. O sistema adrenérgico desempenha papel expressivo em muitos destes processos adaptativos. Alterações funcionais dos adrenoceptores quanto ao número, ou sensibilidade às catecolaminas apresentam repercussões fisiológicas e fisiopatológicas, restritas ou abrangentes em todos os sistemas orgânicos. O coração, por ter um expressivo número de diferentes tipos de receptores adrenérgicos, pode ser alvo de substanciais modificações das suas duas propriedades básicas: inotrópica e cronotrópica. Neste contexto este trabalho teve como objetivo estudar as respostas inotrópicas à noradrenalina (NA) do átrio esquerdo (AE) isolado, de ratos adultos jovens e velhos, submetidos a estímulos provocativos (modelo: natação de ratos). Os grupos estudados foram: controles (C) jovens (n = 7) e, velhos (n = 6); *Stress* Intermitente (SI) - sessões de 5, 15, 30 minutos de natação em três dias consecutivos - jovens (n = 8) e velhos (n = 6); e *Stress* Agudo (SA) - sessão única de 50 minutos de natação - jovens (n = 6) e velhos (n = 6). As variáveis registradas foram: Tensão, [T (gf)]; primeira derivada temporal de T, [dT/dt (gf / s)] e a segunda derivada temporal T, [d²T/dt² (gf / s²)]. A resposta contrátil do átrio à NA foi avaliada por meio das curvas dose-resposta. A tensão máxima (T max) e a dose correspondente à concentração molar do agonista, que determina um efeito correspondente a 50% do efeito máximo

(EC50), foram empregadas como parâmetros para análise do ciclo contração-relaxamento. Verificou-se, que os valores iniciais de T max (antes das doses de NA) não apresentaram diferença estatística nas três condições estudadas. As curvas dose-resposta obtidas assemelharam-se a uma sigmóide, divergindo somente nos valores correspondentes aos platôs. Na porção central da curva ($1E - 8$ a $1E - 6$) observou-se que os padrões nos grupos (C, SI e SA) dos jovens foram similares. Porém, no grupo SA dos velhos verificou-se um deslocamento paralelo para a direita (menor resposta à NA). Os valores das EC 50 nos grupos (C, SI e SA) de jovens e de velhos não foram diferentes; porém na comparação entre grupos controles verificou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Tendo-se em vista esse resultado, as demais comparações tornaram-se inexequíveis. As relações força-freqüência do átrio esquerdo foram observadas (após a curva dose-resposta à NA) em freqüências de estimulação que variaram de 1 a 10 Hz. As curvas obtidas apresentaram padrões de decaimento próprios dessa preparação. Os valores da T max desenvolvida sob freqüência de estimulação de 5 Hz não foram diferentes, em nenhuma das situações estudadas. O aparecimento de ritmo espontâneo de batimento no átrio esquerdo somente foi documentado durante a realização da curva dose-resposta. Destes, o grupo C de velhos mostrou menor incidência da ocorrência de ritmo espontâneo ($2/4$) do que o grupo C de jovens ($5/7$). Além do que, as condições de SI e SA, parecem ter acentuado o ritmo espontâneo nos velhos, enquanto esses estímulos não alteraram o ritmo espontâneo nos jovens. Com o objetivo de abolir os batimentos espontâneos, os átrios (jovens e velhos) foram estimulados a uma freqüência de 50% acima do valor da freqüência atrial. Embora, não tenha havido diferença estatisticamente significativa, chama a

atenção o fato dessa estimulação ser mais efetiva em suprimir o ritmo espontâneo nos SA de velhos (5/5) do que o correspondente em jovens.(2/6).

O aspecto morfológico do tecido atrial esquerdo, dos animais jovens não se mostrou diferente dos animais velhos. Por outro lado, a morfologia do miocárdio ventricular dos animais jovens está bastante preservada em relação à dos velhos. Estes apresentaram no miocárdio ventricular, vários pontos de cicatrizes focais, com regiões extensas de substituição do tecido muscular por tecido fibroso cicatricial.

Conclui-se pois, que nas condições de aumento da estimulação adrenérgica (SI e SA) não ocorreu mudança de resposta inotrópica à noradrenalina nos animais jovens e velhos. Entretanto, na ausência de estímulo provocativo (controle) verificou-se diminuição da resposta inotrópica à noradrenalina nos animais velhos, em relação aos jovens. Na ausência de estímulo provocativo (natação), o ritmo espontâneo parece ocorrer em maior proporção nos animais jovens do que nos velhos. As concentrações da NA que induziram o surgimento do ritmo espontâneo e, os respectivos valores de freqüência foram semelhantes nos grupos de animais jovens e velhos, independentemente da ausência ou presença de estímulo provocativo.

Introdução

INTRODUÇÃO

Os organismos vivos apresentam capacidade inerente para responder aos estímulos internos e ou externos, bem como às adversidades do meio ambiente e sob certas condições adaptam-se.

As respostas fisiológicas às influências ameaçadoras do meio ambiente foram primeiramente colocadas em evidência por CANNON (1939), a partir de observações em animais experimentais, os quais quando submetidos a estímulos físicos e ou psicológicos apresentavam secreção de um agente humoral pela glândula adrenal, que promovia a elevação da pressão sanguínea; esta substância foi denominada de simpatina. As investigações realizada por CANNON (1939), acerca desse assunto conduziram-no à descrição do comportamento de "luta e fuga", conceito que permanece importante até os dias de hoje, para a compreensão das respostas fisiológicas desencadeadas em condições, às quais recebem a designação genérica de *stress*¹

O conceito de *stress* originou-se dos trabalhos de SELYE, que identificou hipertrofia do córtex adrenal em animais experimentais, em resposta a uma variedade de estímulos físicos nocivos. Com base em suas investigações SELYE (1956; 1965) desenvolveu o conceito de Síndrome de *stress* ou Síndrome Geral de Adaptação, caracterizando-a como resposta não específica frente à estímulos.

¹ Embora a palavra estresse exista na língua portuguesa, o termo original *stress* foi mantido neste texto, como uma homenagem ao autor, levando-se em conta, as dificuldades semânticas que o mesmo enfrentou, na busca de uma palavra que refletisse o conceito, que sob um novo ponto de vista, estava sendo introduzido nas ciências biológicas.

O *stress* pode ser definido como um conjunto de reações que ocorrem no organismo, em resposta a fatores que, de alguma forma, ameaçam sua integridade funcional. Segundo SELYE (1956; 1965) este apresenta 3 fases, a saber: a fase inicial de alarme, que se caracteriza pela novidade, onde o organismo apresenta um aumento da capacidade orgânica. Se o agente desencadeador persiste, o organismo continua a responder e entra em uma segunda fase, a de resistência, caracterizada pela tentativa de manter o equilíbrio orgânico. Assim, o organismo desenvolve mecanismos compensatórios, que se manifestam por meio de alterações morfo-funcionais nos tecidos, órgãos e sistemas, aumentando a reserva funcional. Se a intensidade da resposta foi efetiva o organismo apresenta os sinais característicos de adaptação biológica, que corresponde a terceira fase. Ocorre que, em algumas situações, o processo de mobilização orgânica não é suficiente para resistir aos agentes desencadeadores do *stress*. Nestas circunstâncias, se estes permanecem, surge uma fase peculiar, caracterizada pela exaustão, em que o organismo manifesta sinais de falência, expressos por disfunções e/ou patologias. Em casos extremos, o organismo pode apresentar uma drástica queda da capacidade de resistência orgânica e, sob condições limítrofes, pode chegar à morte.

Segundo MEERSON (1984) o processo adaptativo e, portanto, a segunda fase descrita por SELYE, compreende duas etapas distintas: a primeira caracteriza-se, predominantemente pela ocorrência de reações catabólicas e a segunda por predomínio do conjunto das reações anabólicas. Durante esta última, ocorre produção de ácidos nucléicos e conseqüentemente, síntese de proteína. Coincidentemente, a fase adaptativa caracteriza-se por induzir aumento da massa, e da reserva funcional das estruturas celulares envolvidas nas respostas, tais como: transporte de íons, suprimento energético, entre outros. Os traços

estruturais deixados nos organismos vivos só se manifestam se o estímulo e *stress* or persistir por longo período. Por outro lado, se o agente causador desaparecer em curto prazo, a resposta de *stress* será de curta duração e, desta forma, os traços morfológicos não se manifestam, embora transitoriamente, o organismo seja mobilizado intensamente, no sentido de responder às demandas impostas pelo "agressor".

A capacidade adaptativa dos sistemas biológicos tem papel fundamental na preservação da integridade dos organismos vivos. Os parâmetros de normalidade de uma dada variável, também podem ser compreendidos pelo conceito de "zona neutra", característicos dos sistemas e espécies, que respondem homeostaticamente às flutuações do ambiente. Desse modo, qualquer agente que promova uma perturbação no sistema, se constituirá em agente causador do *stress* (BAKER, 1974).

Frente aos agentes desencadeadores do *stress* o organismo reage, primeiramente por meio da regulação e controle, de vários processos extensivos aos sistemas nervoso central e endócrino. Como parte do quadro característico da síndrome geral de adaptação ocorre uma considerável excitação dos centros vegetativos superiores, resultando na ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A liberação do hormônio adrenocorticotrófico pela hipófise, estimula a secreção de glicocorticóides pela córtex adrenal. Por sua vez, a ação dos glicocorticóides sobre o metabolismo é fundamental no sentido de prover substrato energético aos sistemas mais diretamente envolvidos na resposta de *stress* (MEERSON, 1984).

Simultaneamente, se dá a ativação do eixo simpato-adrenal, resultando em aumento dos níveis plasmáticos das catecolaminas: a adrenalina, secretada principalmente pela medula das adrenais e a noradrenalina pelas terminações nervosas simpáticas no homem (EULER, FRANCKSSON,

HELLSTRO, 1954); o mesmo não ocorre em ratos (RICHTER, GALBO, SONNE et al, 1980) e cães (PÉRONNET, NADEAU, DE CHAMPLAIN et al, 1981), nos quais a maior parte de noradrenalina circulante é de origem adrenomedular.

Assim sendo, o sistema nervoso simpático e as glândulas adrenais desempenham um papel importante na resposta de *stress*. As catecolaminas, atuando como neurotransmissor e/ou como hormônio, apresentam propriedades regulatórias sobre a função cardíaca, a distribuição do fluxo sanguíneo para os tecidos, e o metabolismo energético, entre outras.

A ação das catecolaminas ocorre nos diferentes tecidos do organismo, através da interação com receptores específicos. Duas categorias principais destes foram inicialmente identificadas por AHLQUIST (1948), que os classificou em adrenoceptores alfa (α) e beta (β), segundo as seguintes séries de potências relativas dos agonistas: adrenalina > noradrenalina >> isoprenalina, e isoprenalina > adrenalina > noradrenalina, respectivamente. Subsequentemente, LANDS, ARNOLD, McAULIFF et al (1967) identificaram uma sub-divisão dos receptores β , os quais foram denominados de beta-1 (β -1) e beta-2 (β -2), e definidos pela afinidade relativa dos agonistas, adrenalina e noradrenalina. Para os receptores β -1, identificados no tecido cardíaco e adiposo de mamíferos, esses agonistas apresentavam aproximadamente igual afinidade; entretanto, para os receptores β -2, localizados no músculo liso da traquéia e vasos, a adrenalina apresentava maior afinidade do que a noradrenalina. A idéia vigente, por essa ocasião, era a de que somente um subtipo de receptor existia em determinado órgão.

Com o surgimento de novos fármacos cada vez mais específicos, e com diferentes afinidades para um ou outro tipo de receptor, o estudo dos adrenoceptores se desenvolveu amplamente. Ambos os subtipos de adrenoceptores β apresentam semelhanças estruturais e estão acoplados ao

sistema de adenil-ciclase, cuja ativação tem como efeito o acúmulo intracelular de monofosfato de adenosina cíclico (AMP_c), o qual atua como o segundo mensageiro da ação β-adrenérgica (STILES, CARON, LEFKOWITZ, 1984).

Em meados dos anos 70, LANGER (1974) sugeriu a designação dos receptores alfa-1 (α-1) e alfa-2 (α-2), com base na sua localização pós e pré-juncional, respectivamente. STARKE, LANGER (1979) chamaram atenção ao fato de que os receptores pré-sinápticos terem sido a princípio definidos, exclusivamente, pela função que controlavam: modulação da liberação do neurotransmissor, ao passo que mais recentemente, esses tem sido caracterizados e definidos levando-se em conta a afinidade relativa dos agonistas e antagonistas. Em vista dessas considerações o termo α-2 deve ser utilizado no contexto de suas características farmacológicas. Assim, a subclassificação dos adrenoceptores α é independente da localização anatômica, e é baseada exclusivamente nas suas características farmacológicas, como pode-se ver na tabela 1 (LANGER, 1981).

Tabela 1 - Ordem de potência relativa de agonistas e antagonistas para adrenoceptores Alfa-1 e Alfa-2

Ordem de Potência Relativa dos Agonistas	
Guanabenz > tramazolina > clonidina > Alfa CH3 > noradrenalina > oximetazolina	α ₂
> nafazolina = adrenalina = noradrenalina >	α ₂ = α ₁
> fenilefrina > metoxamina	α ₁
Ordem de Potência Relativa dos Antagonistas	
rauwolscina > ioimbina >> piperoxana > tolazolina >>	α ₂
> fentolamina >	α ₂ = α ₁
> fenoxibenzamina >> WB 4101 >>> labetolol = prazosin	α ₁

Com o desenvolvimento de novos agonistas e antagonistas α -adrenérgicos, cada vez mais potentes e altamente seletivos, a classificação dos receptores α -1 e α -2, como as subdivisões posteriores, prevaleceu o critério farmacológico, do que o anatômico ou o funcional, uma vez que este era mais apropriado do que os anteriormente empregados (BYLUND, EIKENBERG, HIEBLE et al, 1994).

A transdução de sinal, pelos receptores adrenérgicos, α -1 e α -2, pode ocorrer por interveniência de uma grande variedade de sistemas efetores. Estes incluem: inibição da adenil-ciclase por α -2, mobilização de íons Ca^{++} por α -1 e α -2, hidrólise do fosfatidil-inositol por α -1, aumento do fluxo Na^+ ou K^+ por α -1 e α -2 e liberação de ácido aracdônico por α -1 e α -2. Não obstante a heterogeneidade dos mecanismos funcionais, os receptores de membrana, dos quais os receptores adrenérgicos fazem parte, realizam a transdução de informação do lado de fora para o de dentro da célula, através da proteína G, que desempenha uma função reguladora, ligada ao nucleotídeo guanina (MAHAN, MAKERNAN, INSEL, 1987).

As abordagens experimentais, historicamente empregadas na identificação de tipos e subtipos de receptores, são concernentes aos modelos funcionais, dedicados ao estudo das respostas fisiológicas em animais íntegros ou tecidos isolados. Há aproximadamente, 15 anos atrás surgiram as técnicas de marcação com radioisótopos (*binding*), que vieram a se constituir em uma nova ferramenta, para definição farmacológica dos subtipos de receptores (MINNEMAN, PITTMAN, MOLINOFF, 1981).

Em 1992, a família dos receptores adrenérgicos era constituída por três grandes tipos: α -1 e α -2 e β . Cada tipo dividido em 3 subtipos, de acordo com a figura 1 (BYLUND, 1992).

Família do Receptor Adrenérgico

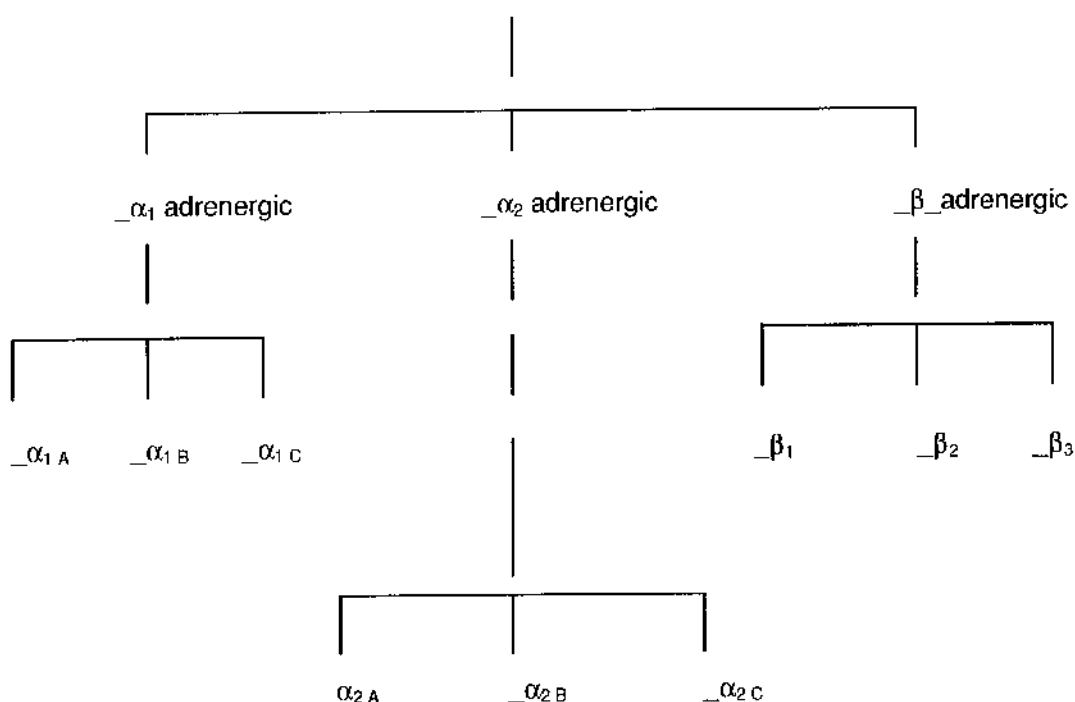


Figura 1 - Classificação dos receptores adrenérgicos (BYLUND, 1992)

Do final dos anos 80 ao início dos anos 90, verifica-se um aumento significativo dos subtipos de receptores (ver figura 2), decorrentes do desenvolvimento das técnicas em biologia molecular, que têm sido empregadas para identificá-los por clonagem. Apesar desses avanços metodológicos, que permitiram a identificação de subtipos de receptores, permanece uma importante indagação - "Porque existem tantos subtipos ?". O significado funcional dessa rica diversidade, permanece por ser elucidado.

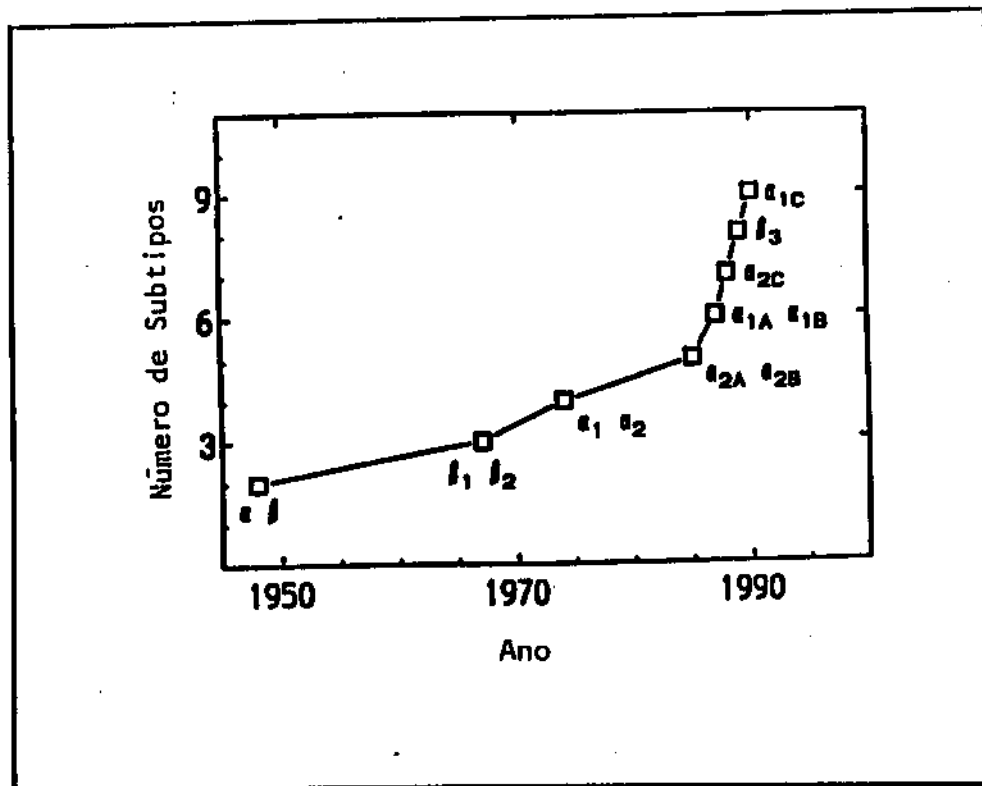


Figura 2 - Desenvolvimento histórico dos subtipos de receptores adrenérgicos (BYLUND, 1992).

Mais recentemente verifica-se que a família desses receptores cresceu ainda mais, tornando-se obrigatório uma revisão atualizada dos tipos α -1, α -2 e β , bem como seus ulteriores subtipos derivados das técnicas farmacológicas, marcação com radioisótopos e identificação molecular, empregados no seu estudo (BYLUND, EIKENBERG, HIEBLE et al, 1994)

Um dos aspectos mais interessantes a respeito dos adrenoceptores é o de que os mesmos não são entidades estáticas, mas são dotadas de grande plasticidade. Sua estrutura e/ou densidade são dinamicamente

moduladas por uma ampla gama de fatores e condições adversas (DAVIES, LEFKOWITZ, 1984). O aumento crônico do contato de adrenoceptores β com agonistas, por infusão de catecolaminas (MICKEY, TATE, LEFKOWITZ, 1975; SCARPACE, ABRASS, 1982; KENAKIN, 1984; SNAVELY, ZIEGLER; INSEL, 1985) ou pela presença de tumores produtores de noradrenalina (SNAVELY, MOTULSKY, MOUSTAFA et al, 1982), causam uma redução na densidade de adrenoceptores, denominada "down-regulation", e que parece estar associada a mecanismos de internalização (CIARALDI, MARINETTI, 1977).

Além disso, o aumento da exposição ao agonista pode levar ao desacoplamento do receptor com o sistema adenil-ciclase (TSE, POWELL, BASTE et al, 1979; STRASSER, STILES, LEFKOWITZ, 1984). Todos esses processos resultam em diminuição da resposta do tecido a agonistas adrenérgicos.

Por outro lado, a diminuição do contato do neurotransmissor adrenérgico com os receptores da célula pós-juncional, por meio de intervenção química (SPORN, HARDEN, WOLFE et al, 1976; KAJIYAMA, OBARA, NOMURA et al, 1982; SEVERSON, PITTMAN, GAL et al, 1986) ou de tratamento com antagonistas (GLAUBIGER, LEFKOWITZ, 1981) causa um aumento da sua densidade, num processo conhecido como "up-regulation", podendo resultar em supersensibilidade.

As propriedades dos adrenoceptores também podem ser alteradas por outros fatores, que não os agonistas, como a subsensibilidade que ocorre em tecido miocárdico de ratos adrenalectomizados (DAVIES, DE LEAN, LEFKOWITZ, 1981), o aumento da densidade de adrenoceptores cardíacos no hipertireoidismo (KUPFER, BILEZIKIAN, ROBINSON, 1986) e a sua redução no hipotireoidismo (CIARALDI, MARINETTI, 1977). Ainda, podem ocorrer

alterações provocadas por glicocorticóides (DAVIES, LEFKOWITZ, 1984), hidrocortisona (COTECCHIA, DE BLASI, 1984), prolactina e estrógenos (KATOVICH, 1983; STILES, CARON, LEFKOWITZ, 1984). Alguns dos fatores capazes de alterar o estado funcional e/ou o número dos adrenoceptores estão indicados na tabela 2 (HARRISON, 1985).

Tabela 2 - Fatores reguladores dos receptores adrenérgicos

Fisiológicos

Exercício

Stress

Agonistas adrenérgicos

Denervação

Glicocorticóides

Hormônio tiroideano

Estrógeno e progesterona

Maturação e envelhecimento

Doenças ou drogas

Antagonistas adrenérgicos

Isquemia

Insuficiência cardíaca

Hipertensão e hipertrofia cardíaca

Síndrome de abstinência ao álcool

Drogas psicotrópicas

As alterações funcionais dos receptores, seja do número, da sensibilidade destes aos agonistas, bem como por processo de desacoplamento, apresentam repercussão fisiológica e fisiopatológica, uma vez que o estado funcional dos adrenoceptores determina a sensibilidade do efector às catecolaminas. Os mecanismos pelos quais os receptores manifestam a adaptação fisiológica, às diversas condições, intrínsecas e/ou extrínsecas (em patologias, no *stress*, no exercício e treinamento físico, maturação, envelhecimento, administração de hormônios, e drogas) são expressos pela sua responsividade e estão resumidos na tabela 3 (HARRISON, 1985).

Tabela 3 - Mecanismos que alteram as respostas dos receptores

1. Alterações no número de receptores

(perda primária ou secundária por dessensibilização)

2. Alteração de sensibilidade aos agonistas (dessensibilização)

a. Desacoplamento dos componentes efetores

b. Internalização

c. Processamento intracelular e destruição do receptor por enzimas lisossomais

3. Modificação covalente e desacoplamento

Fosforilação?

A par das diferenças farmacológicas, os adrenoceptores exibem uma distribuição característica nos vários tecidos e órgãos. O conceito de homogeneidade da população de adrenoceptores em um dado órgão persistiu até 1972, quando CARLSSON e colegas proveram evidências farmacológicas de que

ambos receptores β -1 e β -2 coexistem funcionalmente no coração de gato. Com o aparecimento de novas substâncias, agonistas e antagonistas, mais seletivas, a caracterização dos subtipos tornou-se mais fácil, comprovando a sua heterogeneidade. Assim, verificou-se que no átrio direito de gatos, cães e humanos, receptores β -1 e β -2 adrenérgicos coexistem, enquanto que, no átrio de rato e porco da índia, exclusivamente o subtipo β -1 adrenérgico foi evidenciado (STILES, CARON, LEFKOWITZ, 1984). Para a identificação quantitativa da população β -1 e β -2, de adrenoceptores no coração de várias espécies animais, muitos esforços têm sido empregados. No início dos anos 80, as técnicas de marcação por radioisótopos não permitiam a definição da proporção dos receptores β -1 e β -2, visto que os radioligantes disponíveis [H^3] DHA (dihidroalprenolol) e o [I^{125}] HYP (iodohidroxi benzilpindolol) não marcavam exclusivamente receptores β -1 ou β -2 (HOFFMAN, LEFKOWITZ, 1982). MINNEMAN, HEDBERG, MOLINOFF (1979) usando técnicas interativas, assistidas por computador, sugeriram que o coração de rato contém 83% de β -1 e 17% de β -2. Ainda, como parte do empenho para determinação da proporção dos receptores β nos tecidos, surgiram os radioligantes altamente seletivos, contribuindo decisivamente nessa questão (BRODDE, 1991). Embora, tenha sido comprovada a existência de ambos receptores β -1 e β -2 num órgão tão complexo como o coração, isto não significa que ambos devam coexistir em uma mesma célula, além do que, alguns órgãos são constituídos por diferentes tipos de células (STILES, CARON, LEFKOWITZ, 1984).

A presença dos receptores β -1 e β -2 no coração de várias espécies animais, como ratos, gatos, porco da índia, cães, coelhos e homem, tem sido comprovada. De um modo geral, os receptores β -2 encontram-se em maior proporção no átrio do que nos ventrículos; entretanto, seu papel funcional ainda

não está completamente esclarecido. Embora, existam indicações de efeitos cronotrópicos positivos no átrio direito de ratos, porco da índia, gatos e cães. Diversamente em coelhos, esses efeitos não foram verificados. Outro ponto que permanece controverso diz respeito ao papel dos receptores β -2 na mediação dos efeitos inotrópicos positivos, induzidos por agonistas β em preparações atriais e ventriculares, dessas mesmas espécies (BRODDE, 1991).

O assunto é bastante complexo, e suscitou, a partir da primeira indicação da expressão funcional de receptores α no coração por WENZEL e SU (1966), a emergência de grande interesse nesta área de conhecimento. Neste sentido, foi constatado que os receptores α cardíacos identificados em rato, coelho e fetos de cordeiro induzem respostas contráteis (HOFFMAN, LEFKOWITZ, 1982). A presença dos receptores α -1 no miocárdio de vários mamíferos tem sido demonstrada por estudos de marcação com radioisótopos, e denotam uma predominância do subtipo α -1b, embora, o subtipo α -1a também esteja presente (BENFEY, 1982). No coração a densidade desses receptores parece variar com a espécie animal. Assim, em primatas e no homem, a densidade de receptores α -1 em geral, é menor que no rato. Estudos comparativos indicam que o número de receptores α -1 no miocárdio de cães é comparável àqueles do coelho, que aparentemente são menores do que os existentes no miocárdio de rato (FEDIDA, BRAUN, GILES, 1993).

Contudo, quando se compara a densidade dos receptores α -1 e β -1, no miocárdio de rato e coelho, os valores variam da equivalência para uma proporção de 2,5 : 1 em favor dos receptores β -1 (FEDIDA, BRAUN, GILES, 1993). Mesmo representando menor proporção em relação ao total de receptores existentes no coração, a estimulação seletiva dos receptores α -1 cardíacos em animais e no homem, regula as várias etapas dos mecanismos de acoplamento

excitação-contração incluindo: condutâncias iônicas, atividade iônica no citosol, metabolismo celular e, sensibilidade das proteínas contráteis ao Ca^{++} . Por interferir nos processos eletromecânicos, em condições fisiológicas e fisiopatológicas, os receptores α -1 modulam o ritmo, a condução e a força de contração cardíacas (TERZIC, PUCÉAT, VASSORT et al, 1993).

Considerando-se, as vias adrenérgicas que controlam a contratilidade miocárdica ventricular, o coração do homem pode ser visto como um órgão β -adrenérgico. Diferentemente, em relação a estimulação inotrópica, o coração do rato pode ser considerado um órgão β / α_1 adrenérgico (BRISTOW, HERSHBERGER, PORT et al, 1990).

Porém, deve-se levar em conta, que o sistema adrenérgico cardíaco, bem como os demais sistemas orgânicos, é dotado de grande adaptabilidade funcional. Esse ponto de vista, basea-se em indicações relativas ao papel funcional dos receptores adrenérgicos cardíacos em processos adaptativos, como os observados no exercício físico agudo, no treinamento físico e no *stress* (COX, HUBBARD, LAWLER et al, 1985 e MAZZEO, 1991).

As mudanças que ocorrem nas propriedades dos receptores cardíacos, e o que estas representam, nas adaptações cardíacas fisiológicas não estão completamente estabelecidas. No estudo realizado por MOLÉ (1978) foi observado um aumento de contratilidade ao isoproterenol em músculo papilar do ventrículo esquerdo de ratos treinados por natação. Da mesma forma WYATT, CHUCK, RABINOWITZ et al (1978) documentou alterações na atividade da adenil-ciclase, acompanhada de mudança correspondente, na responsividade fisiológica cardíaca às catecolaminas em gatos fisicamente treinados.

Diferentemente OSTMAN-SMITH (1979) não observou diferenças, entre animais controles e treinados, no que diz respeito a medida da

força contrátil, estimulada pela ação inotrópica da noradrenalina, no tecido cardíaco. Da mesma forma, não foram detectadas diferenças de número ou afinidade dos receptores β , nas membranas cardíacas de ratos submetidos a treinamento de resistência, comparativamente aos animais sedentários.

Outro aspecto extremamente interessante da responsividade adrenérgica está relacionado com o processo de maturação e envelhecimento. A idade parece ser um fator que afeta a densidade e ou distribuição dos receptores, e por conseguinte, a reatividade de vários tecidos isolados (SCARPACE, 1986; TUMER, SCARPACE, LOWENTHAL, 1992). O coração não poderia ser uma exceção a regra. E tanto não é, que as respostas inotrópicas positivas à fenilefrina no átrio de rato são dependentes, principalmente, da estimulação de receptores β no jovem, e de receptores α no adulto. Isto deve indicar que no processo de maturação, ocorre diminuição do número de receptores β , e concomitante, aumento de receptores α no coração de ratos (HASHIMOTO, NAKASHIMA, SUGINO, 1983).

Em animais senescentes, a resposta inotrópica do tecido cardíaco isolado, sob condições de repouso, não se apresenta diferente daquelas correspondentes aos jovens. Porém, quando se analisa a máxima resposta contrátil, observa-se então, uma diminuição dos efeitos inotrópicos positivos da isoprenalina, sem que ocorra alteração na sua potência. Do mesmo modo foi observado uma diminuição da contratilidade cardíaca à ação do dibutilil monofosfato de adenosina cíclica (AMP_c). Por outro lado, a fase de relaxamento (pós catecolamina), parece estar preservada no tecido miocárdico de animais velhos. Isto deve indicar que a ação β -adrenérgica, na fase de relaxamento do cardiomiócito, não sofreu modificações decorrentes da idade

(LAKATTA, GERSTENBLITH, ANGELL, et al, 1975, GUARNIERI, FILBURN, ZITNICK, et al, 1979 ; LAKATTA, 1987).

Assim sendo, procedendo-se a medida da resposta contrátil do átrio esquerdo, ao agonista fisiológico (noradrenalina), pode-se estimar a magnitude das respostas adrenérgicas, induzidas pela sobrecarga do exercício de natação, e observar como esses estímulos atuam sobre o coração de animais jovens e velhos.

Objetivos

OBJETIVOS

- Caracterizar, as respostas inotrópicas e cronotrópicas do átrio esquerdo isolado à noradrenalina, em animais adultos jovens e velhos, em ausência (controles) e na presença de *estímulos provocativos* (modelo: natação de ratos), que induzem hiperatividade adrenérgica.

Material e Métodos

MATERIAL E MÉTODOS

Condições Ambientais

Neste estudo foram utilizados ratos Wistar Hannover, machos, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da UNICAMP e mantidos no Biotério Setorial da Faculdade de Educação Física, seguindo as recomendações e procedimentos necessários à saúde dos animais de experimentação. As variáveis ambientais foram controladas dentro dos limites considerados *neutros* (BESCH, 1990), com a temperatura ambiental mantida a $24,7^{\circ}\text{C} \pm 3,2^{\circ}\text{C}$, a umidade relativa do ar entre 40% a 60%, e a iluminação com ciclo claro-escuro de 12/12 horas (com o período de luz das 07:00 às 19:00 horas). A renovação do ar era realizada por meio de um exaustor instalado na parede da sala, garantindo desta forma, a qualidade do ar. Os cuidados relativos à limpeza e higienização da sala foram realizados com água e detergente Extran MA O₂ neutro, de fabricação da Merck S/A Industrias Químicas. Ademais, procedeu-se à aplicação de produto químico Sani-t-10, de fabricação Spartan do Brasil Produtos Químicos Ltda, nas estantes das gaiolas, paredes e pisos, uma vez na semana para fins de assepsia ambiental. O ruído sonoro foi reduzido ao mínimo, tendo-se em vista o local apropriado das instalações do biotério, o acesso limitado de pessoas, como também pela forma na organização da limpeza das gaiolas, que era sempre executada no espaço contíguo, e reservado a esse fim.

Animais de Experimentação

A amostra empregada constituiu-se de 42 ratos machos da linhagem Wistar Hannover, divididos em 21 animais adultos jovens, entre dois e três meses de idade (peso - $342,5 \text{ g} \pm 34,5 \text{ g}$) e, 21 animais adultos velhos, com 29 a 30 meses de idade (peso - $439,6 \text{ g} \pm 53,5 \text{ g}$). Com o propósito de tornar mais clara a referência a essas amostras, os animais adultos jovens e adultos velhos serão denominados no presente trabalho de jovens e velhos, respectivamente.

Os animais que constituíram a amostra dos velhos permaneceram no biotério setorial por um período aproximado de 18 meses, tempo necessário para que os mesmos completassem 29 a 30 meses de idade (WEINDRUCH, 1995). Esse tempo de vida, seguramente garante que os referidos animais sejam considerados velhos, como pode-se observar pelas curvas de sobrevivência (figura 3) de ratos da linhagem wistar (BUREK, HOLLANDER, 1980). Os animais velhos foram alojados em gaiolas plásticas (50 x 36 x 16 cm), acomodados em número de 2, e no máximo 3 animais por gaiola e, se necessário, isolados. Por outro lado, os animais jovens permaneceram no biotério setorial, no mínimo por um período de uma semana antes da data prevista para a realização dos experimentos, e foram alojados em número de 4 a 5 animais por gaiola.

A limpeza das gaiolas era realizada três vezes na semana, por volta das 07:30 horas, quando os animais, obrigatoriamente foram submetidos à manipulação. A alimentação fornecida aos animais constituíu-se exclusivamente de ração comercial Labina C (Purina) e água, ambas oferecidas *ad libitum*, sem nenhuma suplementação nutricional.

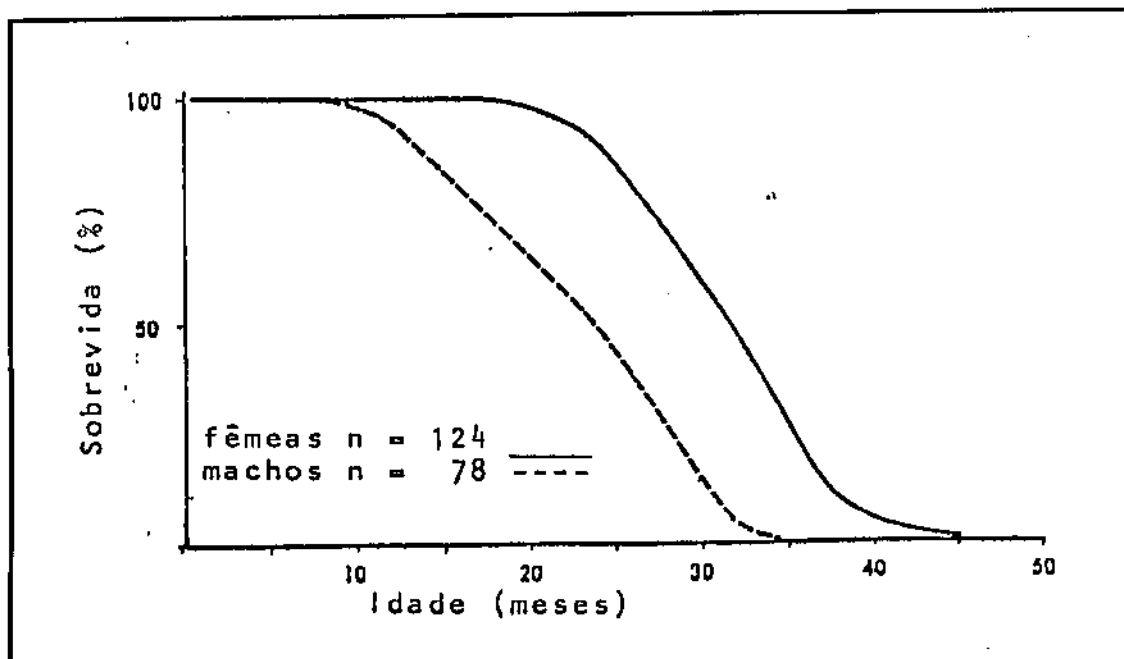


Figura 3 - Curvas de sobrevivência de ratos (machos e fêmeas) da linhagem Wistar do Institute for Experimental Gerontology (Burek , Hollander, 1980).

Modelo Experimental : Natação de ratos

Na vida animal a realização do exercício físico assume importância fundamental, pois é por meio desse que os animais estão capacitados a ir em busca do alimento, desempenhar seu papel reprodutivo, e escapar de seus predadores, e de outros perigos. Dessa forma são geneticamente dotados à vida fisicamente ativa e, numa perspectiva fisiológica, a falta de atividade física torna-se prejudicial ao organismo.

Outrossim, existem condições e/ou fatores ambientais, que pelo grau de novidade que impõem ao organismo, desencadeiam primeiramente, as manifestações características da resposta de stress e sob certas circunstâncias, o aparecimento de respostas características de processos adaptativos.

Segundo PROSSER (1964), as alterações celulares, orgânicas e sistêmicas que favorecem a sobrevivência de um animal, à uma mudança ambiental são tidas como adaptativas. À luz desse ponto de vista, o exercício físico de natação, tal como as mudanças ambientais, perturbam o *milieu interieur* (BOOTH, THOMASON, 1991), e indubitavelmente provocam respostas adaptativas orgânica e/ou sistêmica.

É sob essa perspectiva que o modelo de natação de ratos tem se constituído em um procedimento experimental largamente empregado na pesquisa biológica, principalmente, no estudo do comportamento de variáveis fisiológicas em diversos sistemas, como: neurovegetativo (OSTMAN-SMITH,1979; SVEDENHAG, 1985), muscular (BOOTH, THOMASON, 1991), cardiovascular (FLAIM, MINTEER, CLARK et al, 1979; COX, HUBBARD, LAWLER et al, 1985) e metabólico (McARDLE, 1967; GEENEN, BUTTRICK, SCHEUER, 1988).

Amostras e Grupos Experimentais

Espécimes de animais de duas faixas etárias distintas, jovens e velhos, foram empregadas neste estudo. De um grupo inicial de 30 animais separados para envelhecer, 21 atingiram a idade desejada na fase de experimentação, dos quais 18 animais completaram o estudo experimental. Eles foram distribuídos de modo a que fossem estudados segundo o seguinte delineamento experimental.

Amostras	ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
Unidades	-	-	-	-	-	-
Experimentais	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-

As amostras de animais adultos-jovens (n=21) e velhos (n=18) foram sub-agrupados e distribuídas aleatoriamente em três condições experimentais: **grupo controle (C), grupo *stress* intermitente (SI) e *stress* agudo (SA)**, como segue descrito na tabela 4 :

Tabela 4 - Distribuição dos animais nas amostras e grupos experimentais

Grupos Amostras	Controle	<i>stress</i> intermitente	<i>stress</i> agudo	Total
Adultos jovens	7	8	6	21
Adultos velhos	6	6	6	18
Total	13	14	12	39

Os grupos controles não foram submetidos à nenhuma condição e/ou fator ambiental reconhecido como indutor da resposta de *stress*. Por outro lado, os dois outros grupos, *stress* intermitente e agudo foram submetidos a sessões individuais de natação. Esta era realizada em tanque de vidro medindo 100 x 50 x 60 cm, com água aquecida à temperatura de $36^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ}$ (HARPUR, 1980), e com profundidade de 40 cm para evitar que os animais tivessem ponto de apoio por meio da cauda, e assim permanecessem parados. A água era trocada à cada 3 dias, e em intervalos menores, se necessário, e os restos fecais removidos ao final de cada sessão de natação (figura 4).



Figura 4 - Sessão de natação realizada em tanque de vidro.

No grupo denominado *stress* intermitente os animais foram expostos a três sessões de natação em três dias consecutivos, com duração de 5, 15 e 30 minutos, respectivamente. Ao final das duas primeiras sessões, os animais eram colocados em gaiolas de arame individuais, com uma fonte fornecedora de calor, por aproximadamente 20 a 30 minutos, para secagem. Retornavam em seguida para suas gaiolas de moradia, desta feita individual. No terceiro dia das sessões de natação, os animais eram sacrificados.

Nos grupos *stress* agudo, os animais foram expostos, a uma sessão individual e única de natação, com duração de 50 minutos e, imediatamente após eram sacrificados.

Os animais foram sacrificados por golpe na cabeça e imediata secção dos vasos sanguíneos cervicais, para o rápido escoamento do sangue do interior das cavidades do coração. Em seguida, tiveram a cavidade torácica exposta por incisão na linha média, e o coração foi rapidamente removido e colocado em um becker contendo um volume de 50 ml de solução fisiológica de Krebs-Henseleit com a seguinte composição por litro: NaCl 138,0 g; KCl 7,08 g; CaCl₂ 7,56 g; MgSO₄ 5,88 g; NaHCO₃ 42 g; KH₂PO₄ 3,26 g; Glicose 2 g; Ácido Ascórbico 0,02 g.

Nestas condições, o batimento espontâneo e rítmico, do órgão isolado facilitava o esgotamento do sangue residual das cavidades e do tecido cardíaco.

Preparação Biológica : Átrio Esquerdo Isolado

O método empregado para a montagem experimental deriva das técnicas de preparação de átrio direito isolado de cobaia, desenvolvidas para estudo da frequência espontânea dos batimentos (HAWKINS,1962).

O átrio esquerdo era separado do coração do animal e preparado para o estudo. Em uma das extremidades do tecido atrial era introduzido um ganchinho, atado a um fio de algodão, que por sua vez, fora conectado ao transdutor de força isométrica Metrigam Modelo 2, faixa de sensibilidade (± 25 g), de fabricação da Gould Inc. . Na outra extremidade, o eletrodo bipolar de platina (confeccionado no Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP), traspassava o átrio e era conectado a um gerador de sinais (figura 5).

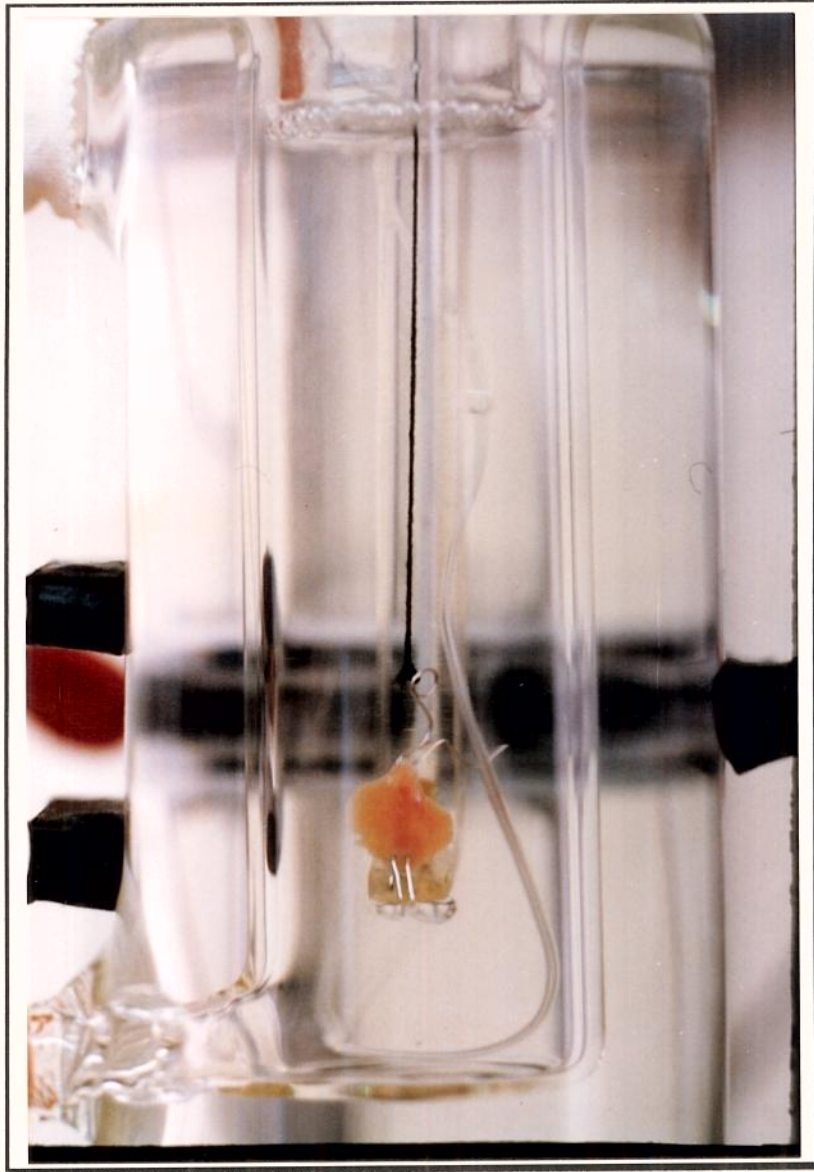


Figura 5 - Preparação de átrio esquerdo isolado em cuba contendo solução de Krebs-Henseleit.

Com esse arranjo experimental, o átrio esquerdo era colocado em uma cuba para o estudo de órgão isolado, contendo 20 ml da solução de Krebs-Henseleit. Esta solução era continuamente gaseificada com 95% O₂, 5% CO₂, com uma temperatura mantida a $36,5 \pm 0,2$ °C, com o auxílio de uma bomba de perfusão, que promovia a circulação da água aquecida, na câmara externa da cuba. Após a instalação da preparação na cuba, era aplicada ao átrio esquerdo uma pré-carga inicial de 0,5 grama/força (g/f). A preparação biológica foi sempre mantida por um período de 15 minutos para fins de estabilização das respostas. Depois desse tempo era efetuada a curva comprimento-tensão, onde se determinava o comprimento ótimo (L_o), ou seja o comprimento "ideal" para que o músculo atrial alcança-se um valor máximo na força ativa desenvolvida.

Instrumentação para Medida da Contração Isométrica

As contrações do átrio esquerdo foram obtidas por estímulos elétricos, de pulsos bipolares de tensão, fornecidos pelo estimulador elétrico Modelo S 44 de fabricação da Grass Instruments. Os estímulos aplicados eram de 1 ms de duração, frequência de 1 Hz e intensidade 20% acima do limiar de excitabilidade. O valor limiar foi definido como sendo a intensidade mínima necessária para produzir as contrações atriais em cada preparação isolada. Mantendo-se esses padrões de estimulação da preparação, a eventual liberação de neurotransmissores teciduais era minimizada (BLINKS, 1965).

Os registros gráficos foram efetuados em um registrador de variáveis biológicas Modelo RS 3400, do fabricante Gould Inc. (figura 6). Foram utilizados quatro amplificadores da Gould Inc., sendo dois amplificadores universais Modelo 13-4615-58 (1° e 2°) e dois amplificadores diferenciadores

Modelo 13-4615-71 (3° e 4°), cujos sinais de saída eram registrados, respectivamente nos canais 1, 2, 3, 4, do polígrafo. O sinal elétrico proveniente do estimulador era enviado ao 1° amplificador universal e era registrado no canal 1 do polígrafo, o sinal elétrico emitido a partir do transdutor de força isométrica era enviado ao 2° amplificador universal, e deste, em série, para os amplificadores diferenciadores 3° e 4°.

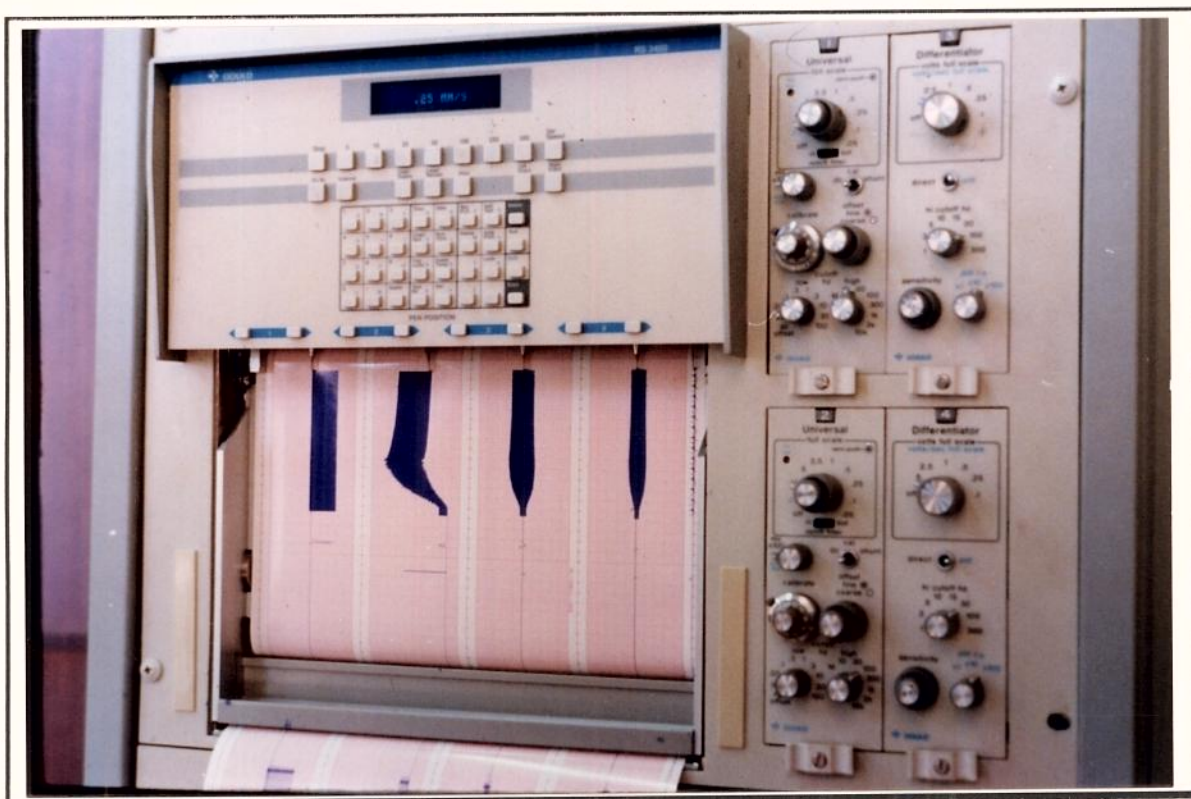


Figura 6 - Sistema de Registro (Modelo RS 3400) com o respectivo traçado das variáveis estudadas (da esquerda para direita canais 1, 2, 3 e 4).

O sinal de sincronismo do estímulo elétrico, as variáveis medidas e empregadas como índices de contratilidade -Tensão, [T (gf)]; primeira derivada temporal de T, [dT/dt (gf / s)]; segunda derivada temporal de T, [d²T/dt² (gf / s²)] foram registradas durante todo o tempo do experimento e estão descritas a seguir no ciclo contração-relaxamento.

O arranjo experimental que fora empregado, no estudo do ciclo contração-relaxamento, do átrio esquerdo (figura 7), é baseado nos trabalhos de OSNES, SKOMEDAL, REFSUM et al (1976); OSNES, REFSUM, SKOMEDAL et al (1978).

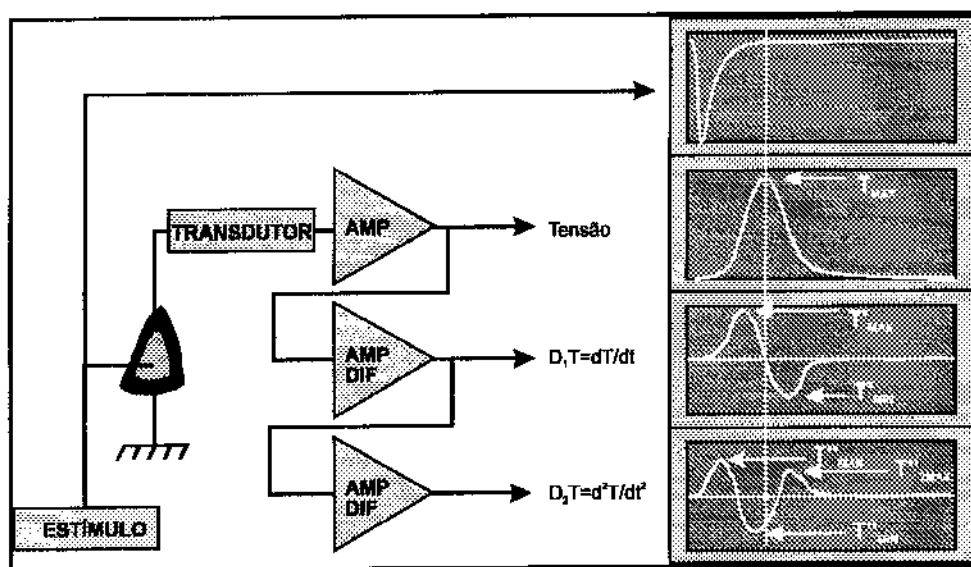


Figura 7 - Representação esquemática da instrumentação utilizada para estimulação e registro da preparação experimental. O sinal do transdutor de força isométrica é captado por um amplificador universal e o respectivo sinal de saída é a seguir diferenciado, por dois amplificadores diferenciadores, acoplados em série.

Definições dos parâmetros medidos no ciclo contração-relaxamento
 (modificado de SKOMEDAL, OSNES, OYE, 1982; SKOMEDAL, SCHIANDER,
 OSNES, 1988).

- T max** = Valor máximo da tensão desenvolvida num determinado tempo do ciclo **Contração - Relaxamento**
- MAXC $D_1T = (dT/dt)_{max}$** = Máxima variação da tensão relativa ao tempo, num determinado ponto da fase de **Contração** do ciclo (taxa)
- MAXR $D_1T = (dT/dt)_{max}$** = Máxima variação da tensão relativa ao tempo, num determinado ponto da fase de **Relaxamento** do ciclo (taxa)
- MAXC $D_2T = (d^2T/dt^2)_{max}$** = Máxima variação positiva da taxa de tensão relativa à variação do tempo, num determinado ponto da fase de **Contração** do ciclo
- MAXR $D_2T = (d^2T/dt^2)_{max}$** = Máxima variação negativa da taxa de tensão relativa à variação do tempo, num determinado ponto da fase de **Relaxamento** do ciclo
- 2MAXR $D_2T = (d^2T/dt^2)_{2max}$** = Máxima variação positiva de taxa de tensão relativa à variação do tempo, num determinado ponto da fase de **Relaxamento** do ciclo

Preparação das Doses de Noradrenalina

Após a determinação do comprimento ótimo (L_0) do átrio esquerdo a preparação foi mantida por mais um período de estabilização de 30 minutos. Numa etapa seguinte eram realizadas as curvas dose-resposta, usando-se como agonista fisiológico a noradrenalina (NA). O procedimento experimental incluiu apenas a realização de uma curva dose-resposta por átrio esquerdo (tabela 5). As doses de arterenol-base livre ($PM = 169,2$) foram administrados utilizando-se o procedimento cumulativo baseado em VAN ROSSUM (1963).

Tabela 5 - Doses de noradrenalina adicionadas a cuba.

Número das doses.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Concentração molar de NA	10^{-9}	(10^{-9})	10^{-8}	(10^{-8})	10^{-7}	(10^{-7})	10^{-6}	(10^{-6})	10^{-5}	(10^{-5})	10^{-4}

A localização do ponto na curva dose-resposta empregada, para avaliação da responsividade tecidual à noradrenalina foi a EC 50. Este ponto é o mais comumente empregado e, corresponde à concentração molar do agonista que determina uma resposta correspondente a 50% do efeito máximo.

Delineamento Experimental

Com referência ao protocolo experimental utilizado, foi elaborado um diagrama de bloco (figura 8), onde todos os procedimentos, encontram-se representados.

O referido diagrama engloba todas as diferentes possibilidades de comportamento da preparação, com os respectivos tratamentos experimentais utilizados. Observar que as etapas iniciais de todos experimentos, incluindo as curvas dose-resposta, foram semelhantes em todos os átrios estudados.

No caso da ocorrência de ritmo espontâneo o estímulo elétrico era desligado, para que se efetua-se o cálculo da frequência espontânea dos batimentos atriais. A seguir a preparação era estimulada por um período de 2 minutos, e com uma frequência 50% acima daqueles valores, de modo a tentar inibir o foco ectópico atrial. A etapa seguinte consistia na interrupção súbita da estimulação elétrica por 2 minutos, para se avaliar a ocorrência ou não da supressão do foco ectópico atrial. Nos casos em que houve supressão do ritmo espontâneo, o estímulo elétrico era novamente aplicado à preparação em uma frequência de 1 Hz. A partir desse momento, dava-se continuidade aos procedimentos para obtenção da curva dose-resposta, até a dose máxima prevista de 10^{-4} molar.

Por outro lado, nos casos em que ocorreu um segundo surgimento de ritmo espontâneo, o pulso elétrico era novamente desligado e da mesma forma a curva dose-resposta era retomada até a dose final (10^{-4} molar).

Finalizados os procedimentos para obtenção das curvas dose-resposta à NA, as preparações atriais eram submetidas à uma outra

sequência experimental (ver diagrama de bloco, Fig.8), em que se avaliava o comportamento das variáveis Tensão, $[T(\text{gf})]$; primeira derivada temporal de T, $[dT/dt(\text{gf}/\text{s})]$, segunda derivada temporal de T, $[d^2T/dt^2(\text{gf}/\text{s}^2)]$, registradas em diferentes valores de frequência. O valor mínimo de frequência empregado em cada preparação foi aquele em que se conseguiu obter captura elétrica permanente e estável do músculo atrial. Na etapa final do experimento, era novamente determinado o limiar de estimulação, denominado limiar pós-tratamento. A seguir o átrio esquerdo era estimulado novamente (voltagem 20% acima do limiar) na frequência de 1 Hz, por um período aproximado de 20 a 30 minutos, para se avaliar as condições de responsividade e estabilidade eletromecânica da preparação ao término do experimento.

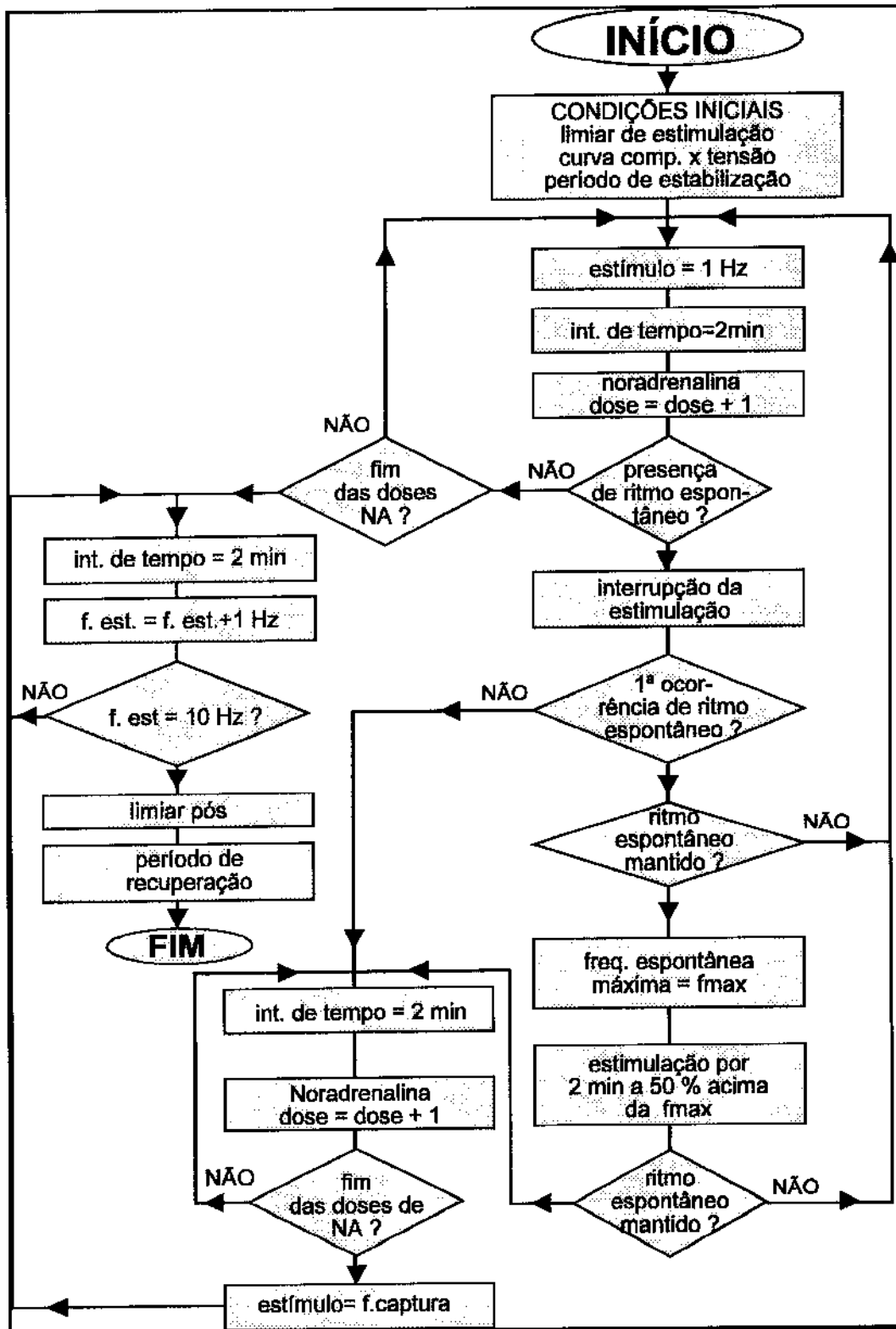


Figura 8 - Diagrama de bloco com as etapas experimentais utilizadas.

Estudo Morfológico dos Animais Experimentais

Com o objetivo de avaliar o estado de saúde e investigar a possível presença de doença nos animais de experimentação foram realizadas autópsias em todos animais, jovens (21) e velhos (18), imediatamente após estes terem sido sacrificados. O mesmo procedimento foi realizado nos dois animais que morreram durante a natação.

O coração foi o primeiro órgão a ser removido do corpo do animal; deste, o átrio esquerdo era isolado e empregado primeiramente para fins de estudo fisiológico. O átrio direito e ventrículos dissecados eram lavados em solução fisiológica, em seguida pesados e, imediatamente após, colocados para fixação em um frasco contendo formaldeído tamponado a 4% no qual, o átrio esquerdo, também seria colocado, após a obtenção das medidas fisiológicas e, a devida pesagem.

Como parte dos estudos morfológicos, foram removidos e separados do corpo do animal, fragmentos do pulmão, da aorta, rim, fígado e mesentério. As amostras dissecadas foram lavadas em solução fisiológica e colocadas para fixação em um outro frasco contendo formaldeído tamponado a 4% .

O átrio esquerdo, ventrículos, fragmentos de pulmão, aorta descendente, rim, fígado, mesentério foram preparados para a análise em fotomicroscópio Zeiss, observando-se os passos seguintes:

- 1) Fixação em formaldeído tamponado a 4%
- 2) Desidratação em álcool com concentrações crescentes (70% até o absoluto).

- 3) Diafanização em xilol.
- 4) Inclusão em parafina (58°C a 60°C).
- 5) Cortes com espessura de 5 μ foram confeccionados.
- 6) Coloração pela hematoxilina-eosina.

As observações em ultramicroscopia foram realizadas somente em átrio esquerdo e, nestas foram empregados, 4 átrios esquerdos de jovens e 3 de velhos, ambos dos grupos controles. Os procedimentos para o preparo do tecido atrial foram os seguintes:

1) Fixação:

- em solução de KARNOVSKY (1965) por um período máximo de 24 horas, a temperatura de 4°C.
- os fragmentos foram osmiados em tetróxido de ósmio a 1%, em tampão cacodilato, por 1,5 a 2 horas na capela.
- a seguir corados "en bloc" com acetato de uranila a 0,5%, por um período de uma noite, à temperatura de 4°C.

2) Desidratação: em acetona p.a., à temperatura ambiente.

- acetona a 30% - 30 minutos
- acetona a 50% - 15 minutos
- acetona a 70% - 15 minutos
- acetona a 90% - 15 minutos
- acetona anidra - duas passagens de 15 minutos

Obs: A acetona anidra é obtida por meio da adição de sulfato de sódio ao solvente.

3) Embebição e Inclusão:

Composição da resina empregada:

- Araldite Cy 205 *	11.4	g
- Endurecedor DD SA **	8.0	g
- DMP-30**	0,6	ml
- dibutil-ftalato**	0,05	ml

* Materiais Plásticos Uegama

** Polysciences Inc.

A seguir o material era colocado numa solução composta de resina e acetona anidra na proporção 1:1 e deixado por 2 a 4 horas para girar no rotor. Por fim, o material era imerso em resina pura e colocado por 1 hora na estufa à 37°C. Foram incluídos em forminhas e levados à estufa em temperatura de 60°C, onde foram deixados por 3 dias.

4) Cortes semi-finos: obtidos com navalha de vidro no ultra-micrótomo Sorvall, Model MT - 2B, com aproximadamente 0,5 µm de espessura. As lâminas foram coradas com azul de metileno e examinadas ao microscópio óptico. A partir desse exame foram selecionados os blocos para os cortes ultra-finos.

5) Cortes ultra-finos: com o ultra-micrótomo Sorvall MT-5000 e navalha de diamante; cortes de 10 nm de espessura, foram colocados em telinhas de 200 malhas ("mesh") e corados pelo citrato de chumbo por 3 a 5 minutos. Estes foram examinados no microscópio Zeiss, Modelo EM-10.

Análise Estatística

Na análise estatística dos resultados foram empregados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis para comparações intra-grupo das amostras (jovens e velhos) e, o teste de Wilcoxon para comparações dos grupos (C, SI e SA) de jovens versus velhos. O nível de significância adotado foi de 5% ou seja, valores de p menores ou iguais a 0,05.

Resultados

RESULTADOS

Características Biométricas dos Animais Estudados

Os animais foram enumerados a medida que os experimentos eram realizados. A idade foi calculada em dias, e a medida do peso corporal foi sempre efetuada no período imediatamente anterior à realização do experimento. As pesagens do átrio direito e ventrículos foram efetuadas, após a separação do átrio esquerdo e, este era pesado ao final do experimento. Para verificação das medidas biométricas ver tabelas 1 a 6 no apêndice.

Os pesos corporal, cardíaco e atrial esquerdo dos animais velhos mostram-se significativamente maiores ($p < 0,05$) do que o dos jovens. A relação entre peso do coração e peso do corpo foi calculado pelas equações de regressão linear obtidas por subamostragem de tamanho 15 com repetições em número de 50 vezes, a partir dos dados biométricos individuais, dos animais experimentais. A distribuição dos valores dos interceptos estão apresentados em *box plot* (Figura 9). A distribuição dos valores das inclinações, da razão entre peso do coração e peso do corpo estão representados na Figura 10.

Distribuição dos Interceptos das Regressões por
Subamostragem dos Animais Experimentais

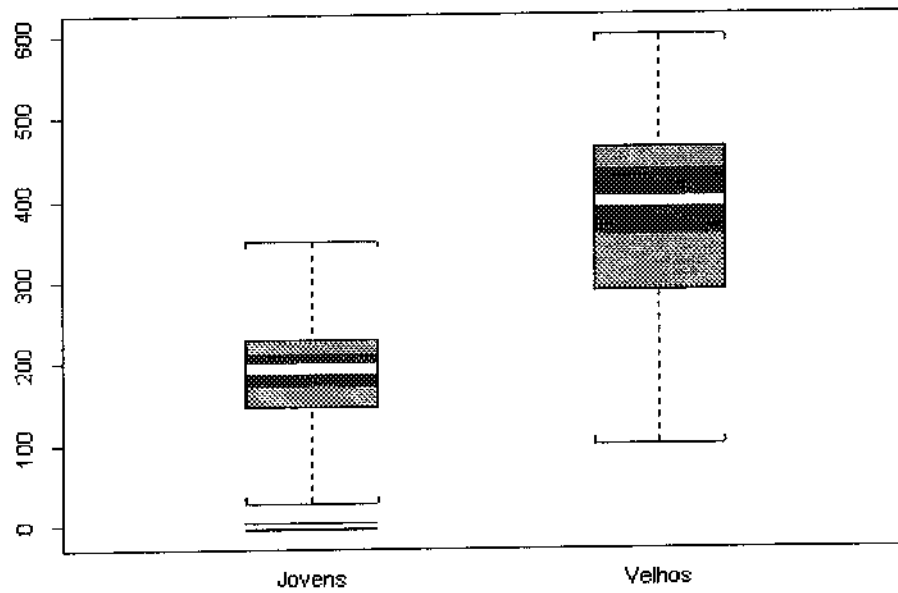


Figura 9 - Distribuição dos interceptos das regressões lineares por subamostragem de tamanho 15 dos grupos experimentais dos animais jovens e velhos.

Distribuição das Inclinações das Regressões por
Subamostragem dos Animais Experimentais

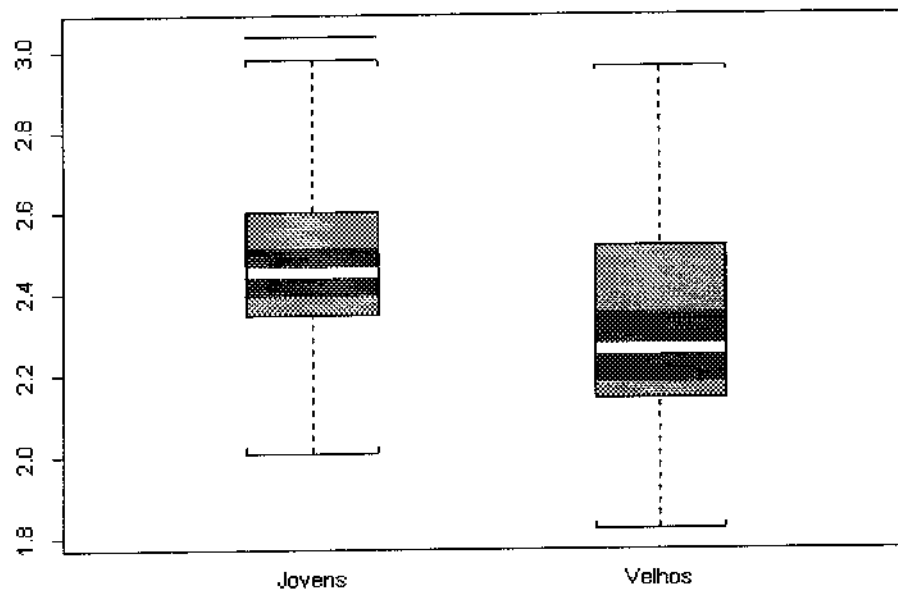


Figura 10 - Distribuição das inclinações das regressões lineares por subamostragem de tamanho 15 dos grupos experimentais dos animais jovens e velhos.

Contratibilidade

Procedimentos Experimentais Pré-Curva

Após o período inicial de estabilização o átrio era submetido a curva comprimento tensão (figura 11). Esta realizada pelo estiramento do tecido atrial até o comprimento ótimo, avaliado pela resposta das seguintes variáveis: Tensão desenvolvida $[T (gf)]$; primeira derivada temporal de T, $[dT/dt (gf / s)]$ e a segunda derivada temporal T, $[d^2T/dt^2 (gf / s^2)]$ registrados nos canais 2,3 e 4, do polígrafo, respectivamente. O canal 1 correspondia ao sinal de sincronismo do estímulo elétrico, como pode ser observado na figura 9. O átrio esquerdo ficava submetido a esta tensão de repouso durante o período de estabilização que precedia a curva dose-resposta.

Sob condições de estabilidade da resposta contrátil (figura 12) efetuava-se os registros gráficos das variáveis em velocidade de 100 mm/s, onde posteriormente de modo manual as medidas quantitativas seriam efetuadas.

Os Parâmetros Medidos

Os parâmetros medidos a partir do ciclo contração-relaxamento foram T_{max} , $MAXC D_1T$, $MAXR D_1T$, $MAXC D_2T$, $MAXR D_2T$, $2MAXR D_2T$, os quais foram obtidas durante todas as etapas experimentais (ver diagrama de bloco, figura 8), nos seis grupos de animais estudados. Os dados individuais estão apresentados nas tabelas de 7 a 42, do apêndice.

Os parâmetros medidos durante a curva dose-resposta à NA, apresentaram padrões de respostas proporcionais. Assim sendo assumiu-se que, o valor da T max seria empregado como representativo do conjunto dos parâmetros medidos no ciclo contração-relaxamento.

Considerando-se, que a medida da tensão desenvolvida ponderada pelo peso do átrio esquerdo não minimizou a variabilidade do conjunto das respostas existentes entre os valores individuais (veja exemplo na figura 13), optou-se para que as medidas de tensão fossem expressas em valores absolutos de grama força (gf) e não, como valores relativos, grama força/peso do átrio.

Valores Iniciais da Tensão Máxima

Para análise dos valores iniciais de tensão máxima entre os grupos C, SI e SA, em ambas amostras (jovens e velhos), o teste de Kruskal-Wallis foi empregado e nos dois casos nenhuma diferença estatística foi verificada ($p > 0,05$). Do mesmo modo, quando se comparou esses valores dos grupos C, SI e SA de jovens contra os respectivos grupos dos velhos não houve diferença significativa nos três casos (na comparação dos grupos SA o valor de $p = 0,051$ se aproximou do correspondente a significância estatística ($p < 0,05$).

A flutuação dos valores iniciais da T max foram verificados pela locação dos dados em *box plot* com as respectivas medianas, quartis e valores extremos (figura 14). Nessa representação observa-se uma maior flutuação dos valores iniciais de T max nos jovens que em velhos.

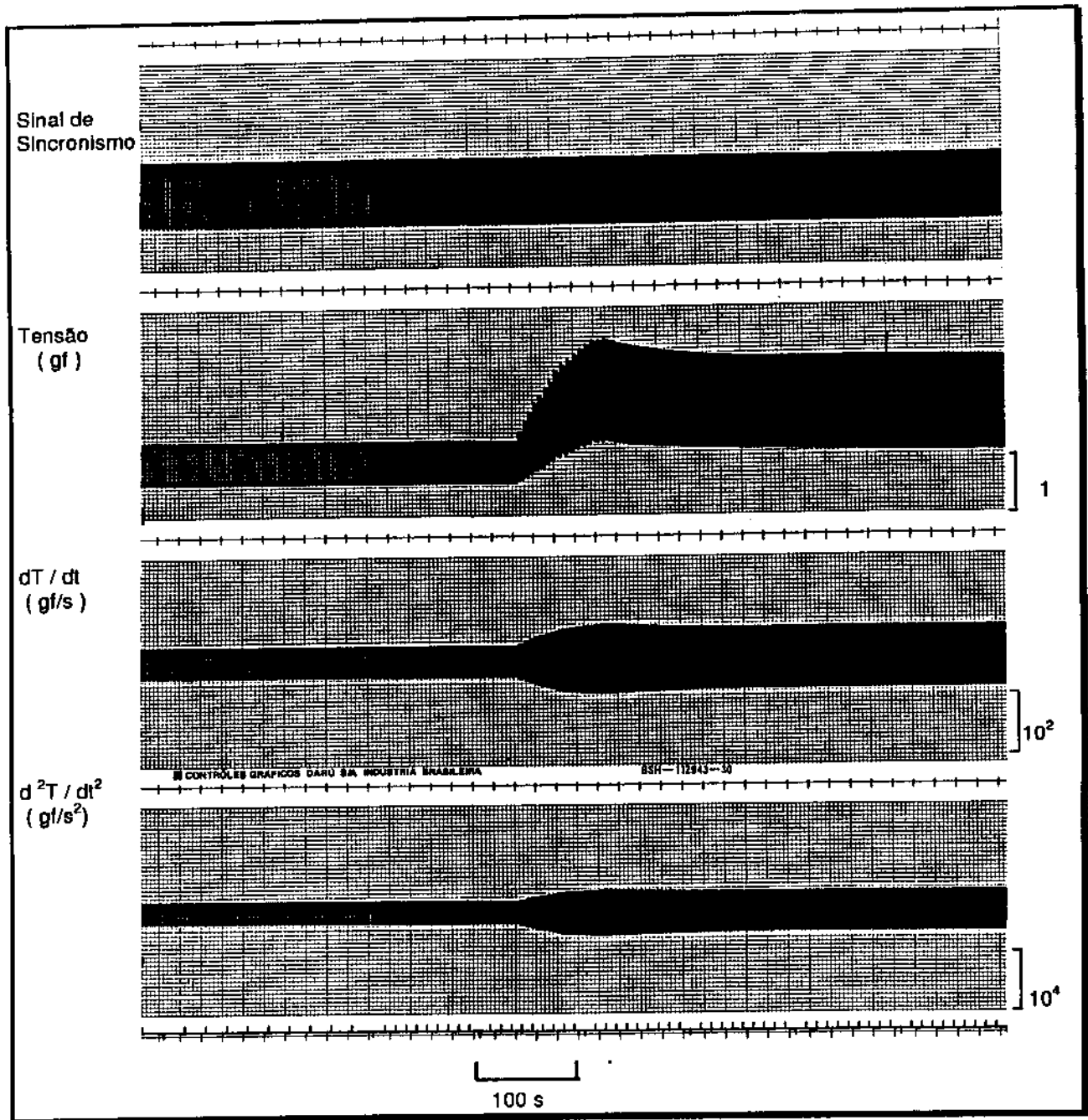


Figura 11 - Curva comprimento-tensão típica da preparação de átrio esquerdo (animal 1, grupo controle de velhos), obtida por meio de estiramento do tecido atrial em regime de estimulação elétrica.

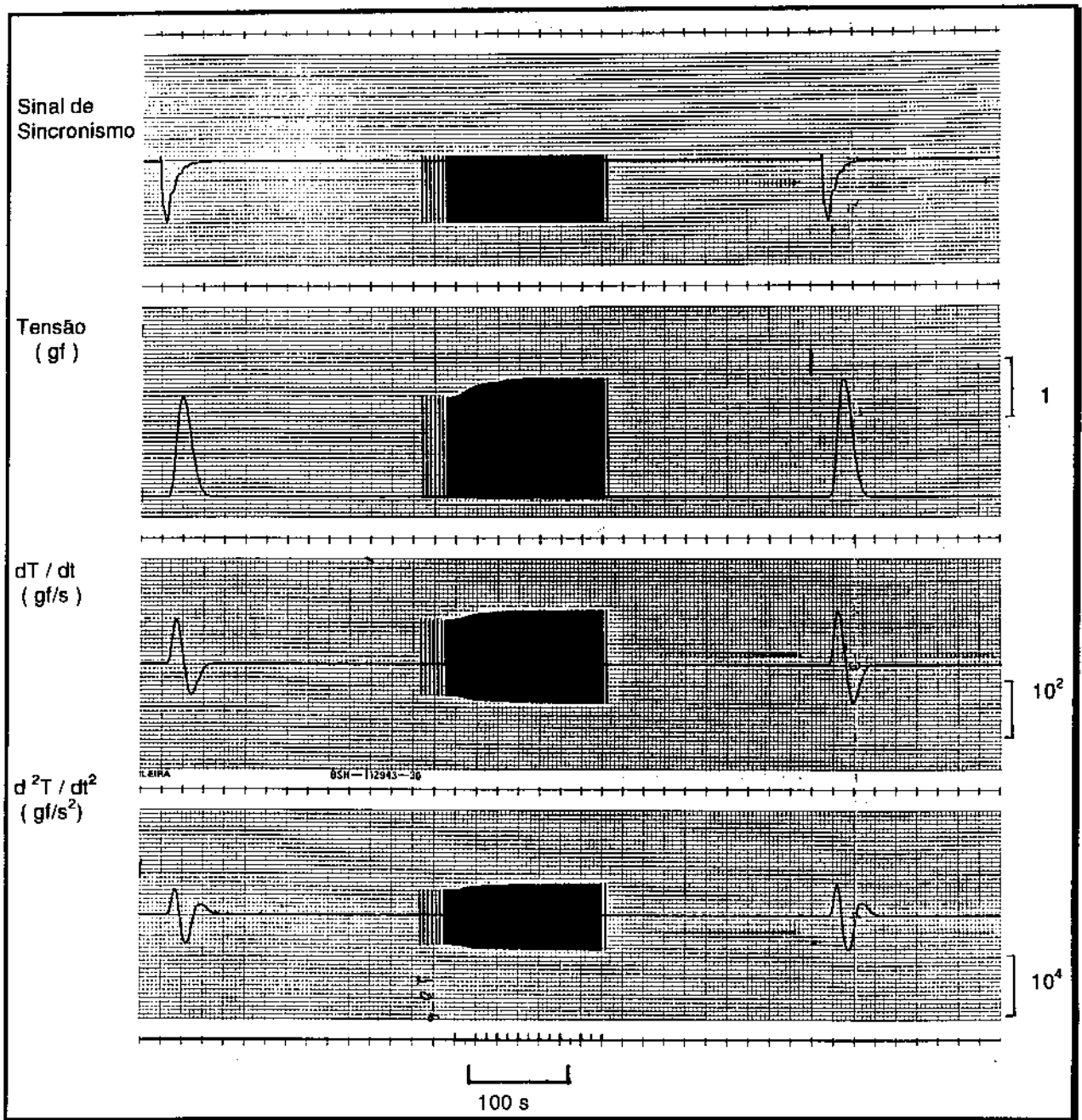


Figura 12 - Registro das variáveis (animal 3, grupo controle de velhos) demonstrando estabilidade de resposta da preparação durante a curva dose-resposta.

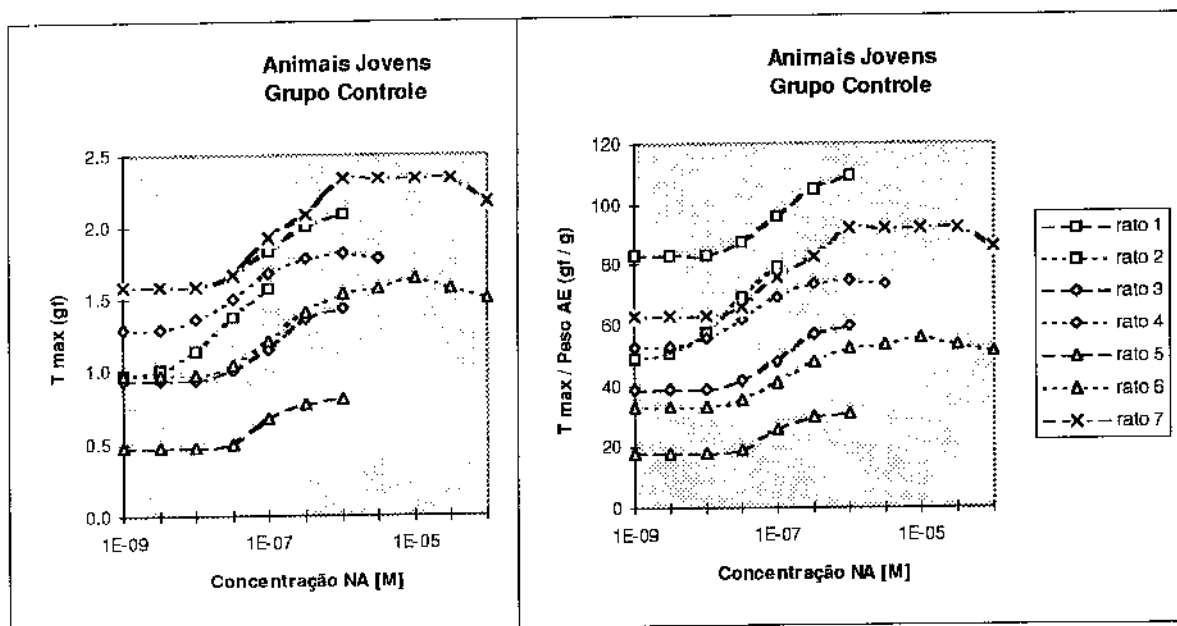


Figura 13 - Curvas dose-resposta individuais, ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados, de ratos do grupo controle (animais jovens), com os valores de T max expressos em grama força (esquerda), e grama força / peso do átrio (direita).

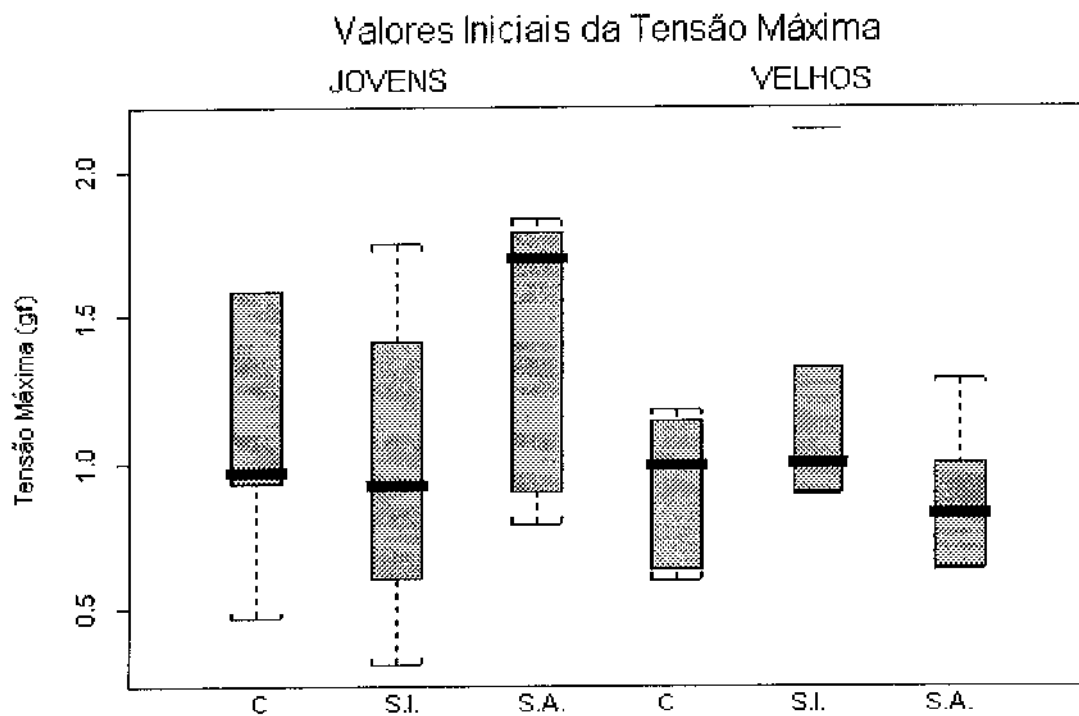


Figura 14 - Valores iniciais da Tensão Máxima dos grupos (C = 7 ; SI = 8 ; SA = 7) da amostra de animais jovens e dos grupos (C = 6 ; SI = 6 ; SA = 6) da amostra de animais velhos, expressos em mediana, quartis e valores extremos.

Curvas Dose-Resposta: Transformações da Tensão Máxima

Tendo-se em vista as diferenças individuais em relação ao desenvolvimento de força pelo átrio esquerdo, o parâmetro escolhido (T max) para a análise das respostas contráteis foi corrigido por dois procedimentos distintos, a saber:

a) A correção da T max (nas doses de NA) pelos valores iniciais de T max (controle sem NA), teve a finalidade de trazer para a mesma origem de escala todas as observações. A variável corrigida é obtida pelo quociente da diferença entre a tensão máxima (nas doses) e a tensão inicial pela tensão inicial ou seja $T_{max} - T_{inic} / T_{inic}$. Assim, as medidas de tensão estão expressas em seus valores relativos. Essa correção auxiliou e permitiu a comparação das curvas individuais e, a partir dessas a confecção das curvas dos percentis 10 e 90 e as respectivas medianas. As curvas dose-resposta individuais foram construídas plotando-se na abcissa o logaritmo das concentrações crescentes de NA e na ordenada a medida corrigida da tensão máxima ou seja o $\Delta T_{max} / T_{inic}$. Os efeitos das doses crescentes de NA sobre a contratilidade atrial nos animais jovens e velhos em seus respectivos grupos (C, SI e SA) estão representados nas figuras 15 a 20 .

b) A correção da T max (nas doses NA) pelos valores de maior variação da tensão desenvolvida, teve a finalidade de trazer para a mesma amplitude de escala as medições efetuadas. Esta outra correção é obtida pelo quociente da diferença entre a tensão máxima (nas doses de NA) e a tensão inicial pela máxima variação de tensão, ou seja $T_{max} - T_{inic} / \max (T_{max} - T_{inic}) \times 100$.

As curvas dose-resposta individuais (figuras 21 a 26) foram construídas plotando-se na abcissa o logaritmo das concentrações crescentes de NA e na ordenada a medida corrigida da tensão máxima ou seja em valores de percentual da tensão máxima.

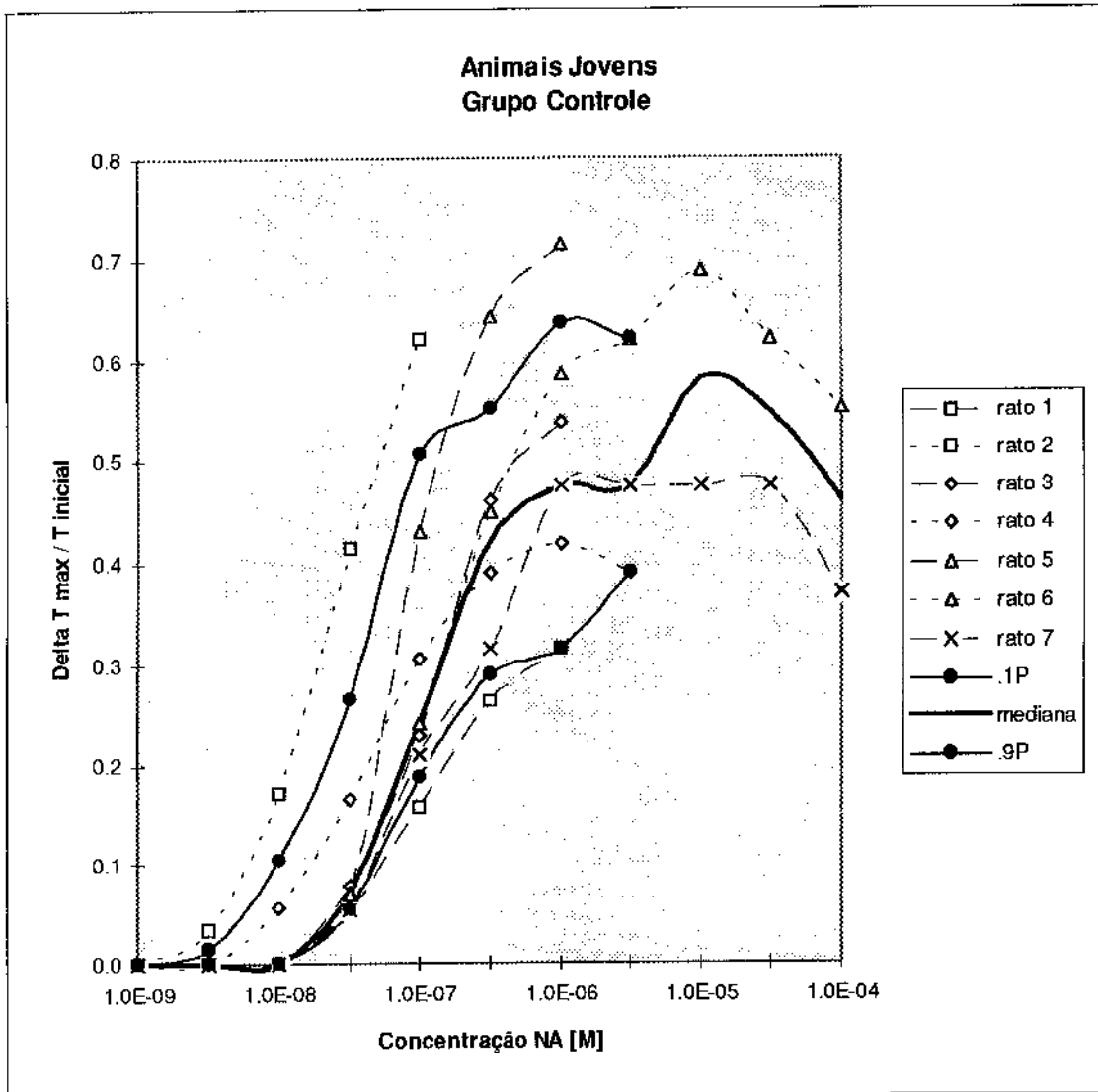


Figura 15 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de jovens, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.

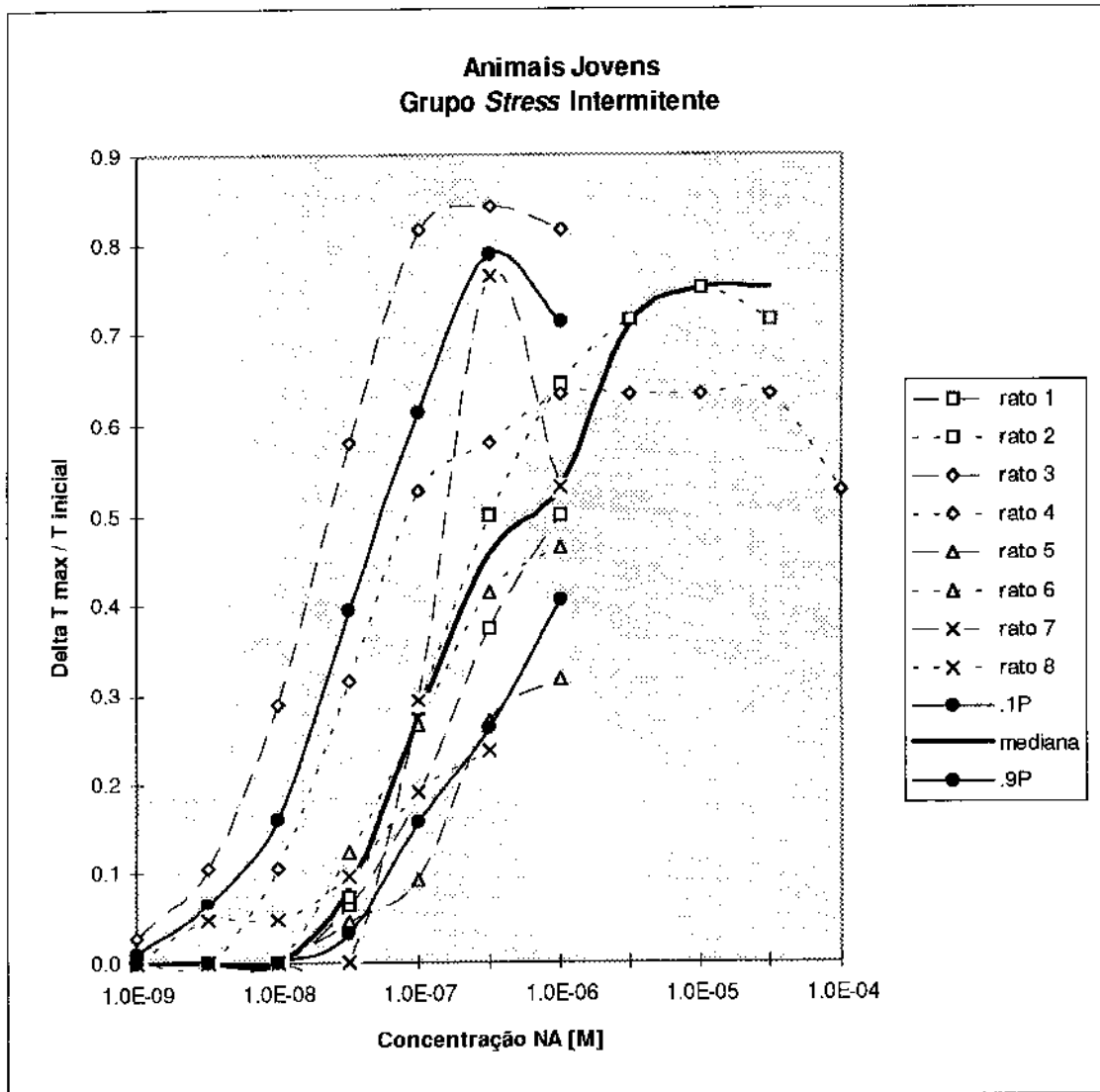


Figura 16 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* intermitente de jovens, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.

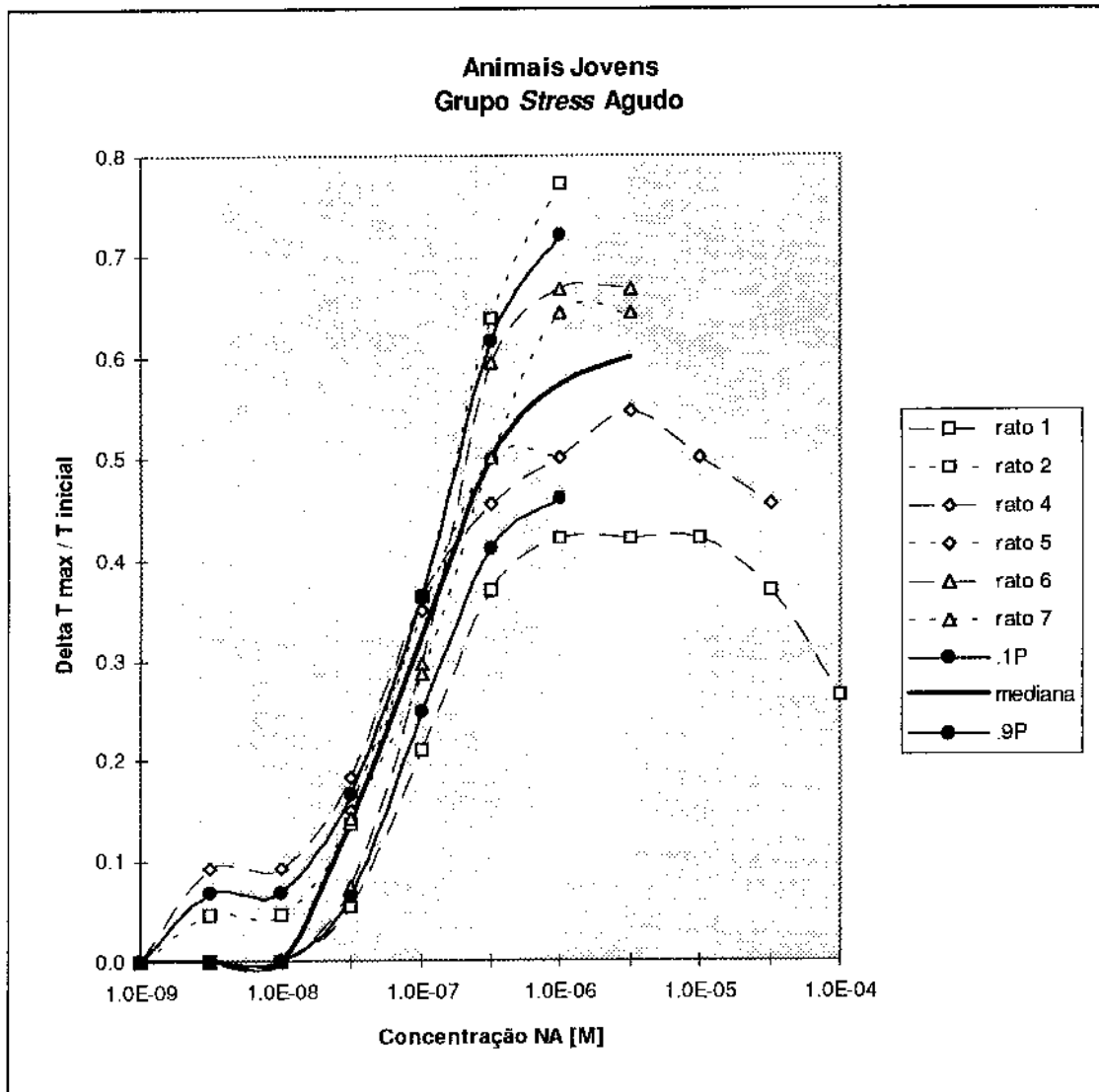


Figura 17 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* agudo de jovens, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.

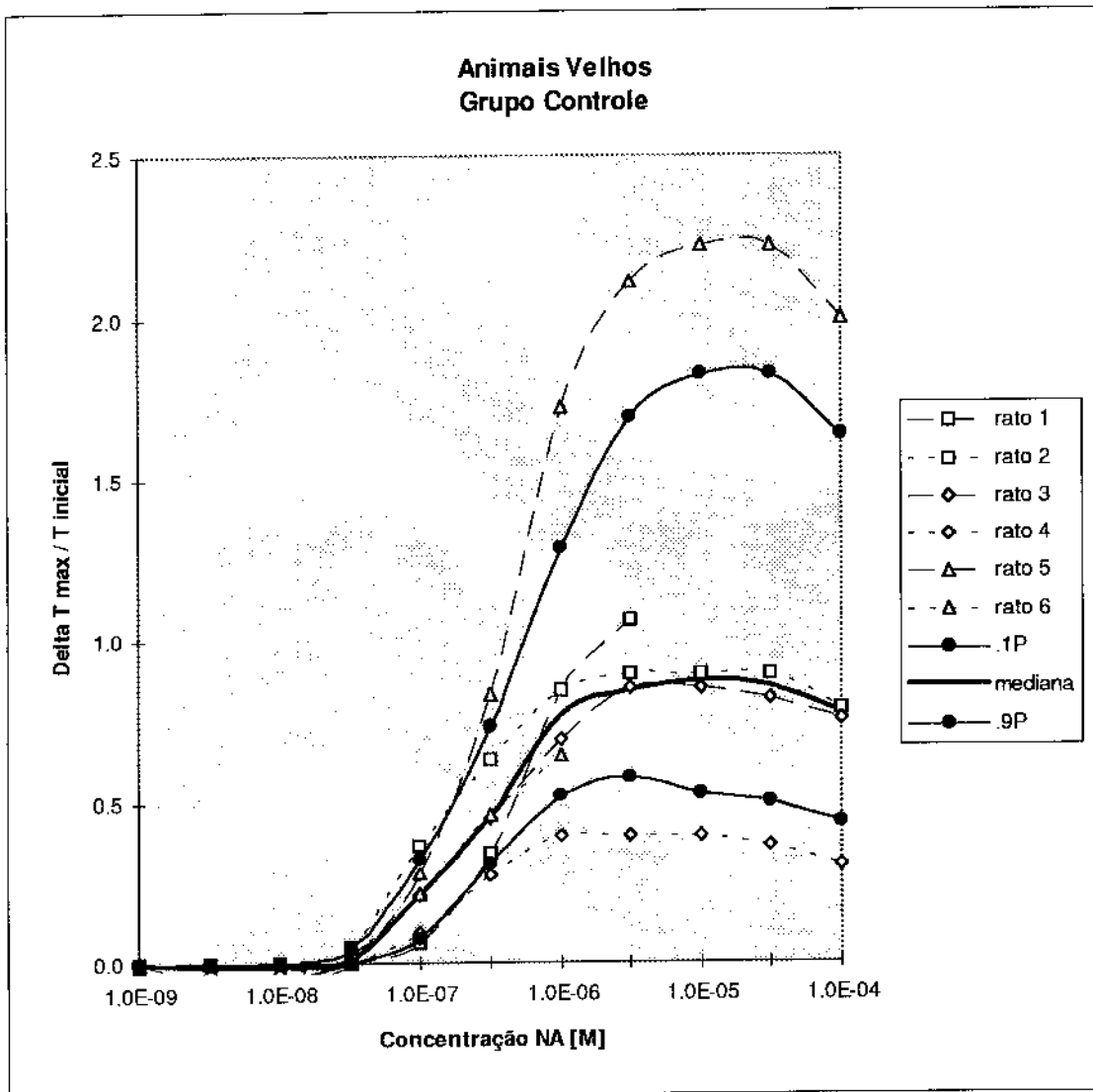


Figura 18 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de velhos, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.

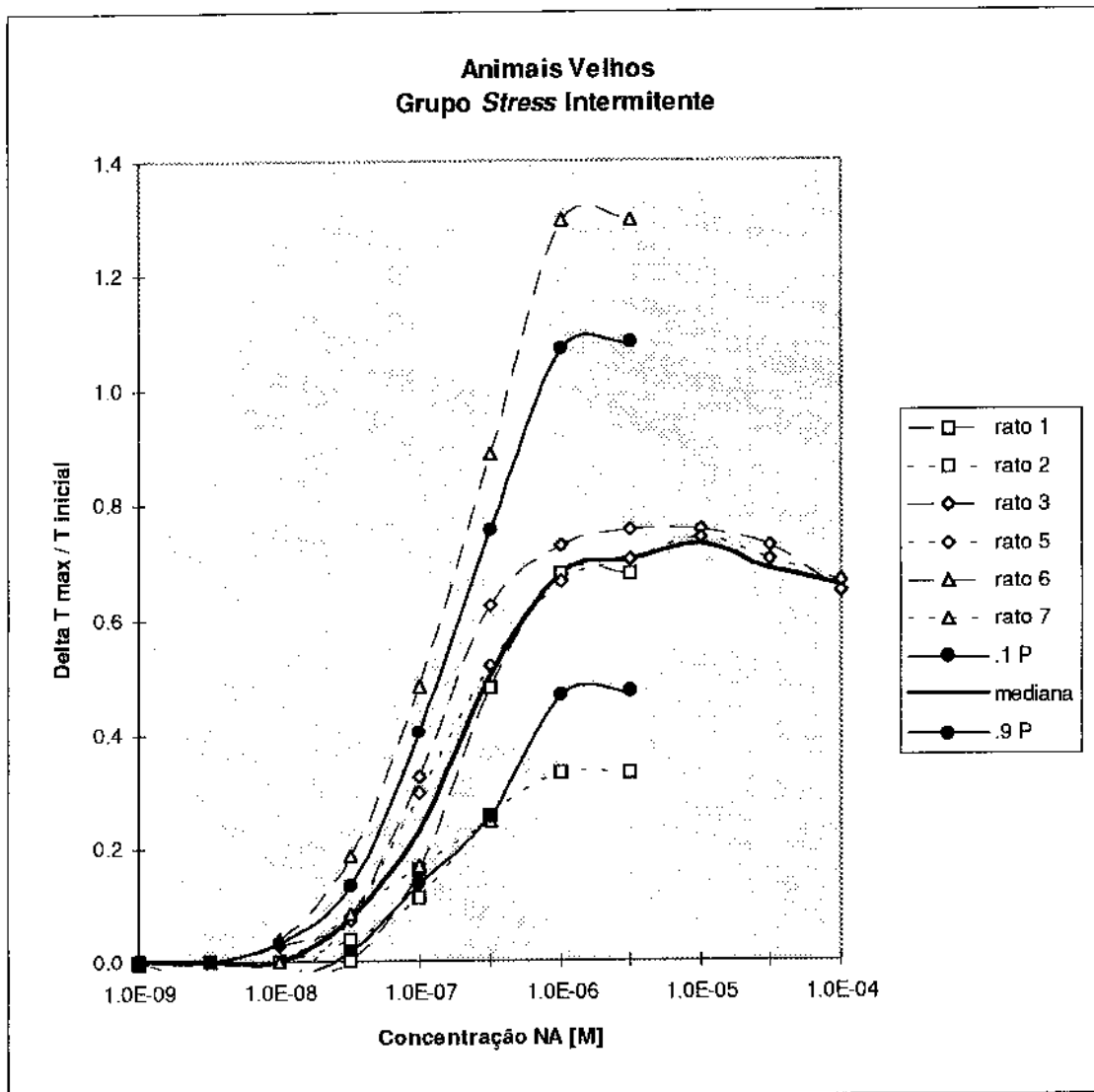


Figura 19 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* intermitente de velhos, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.

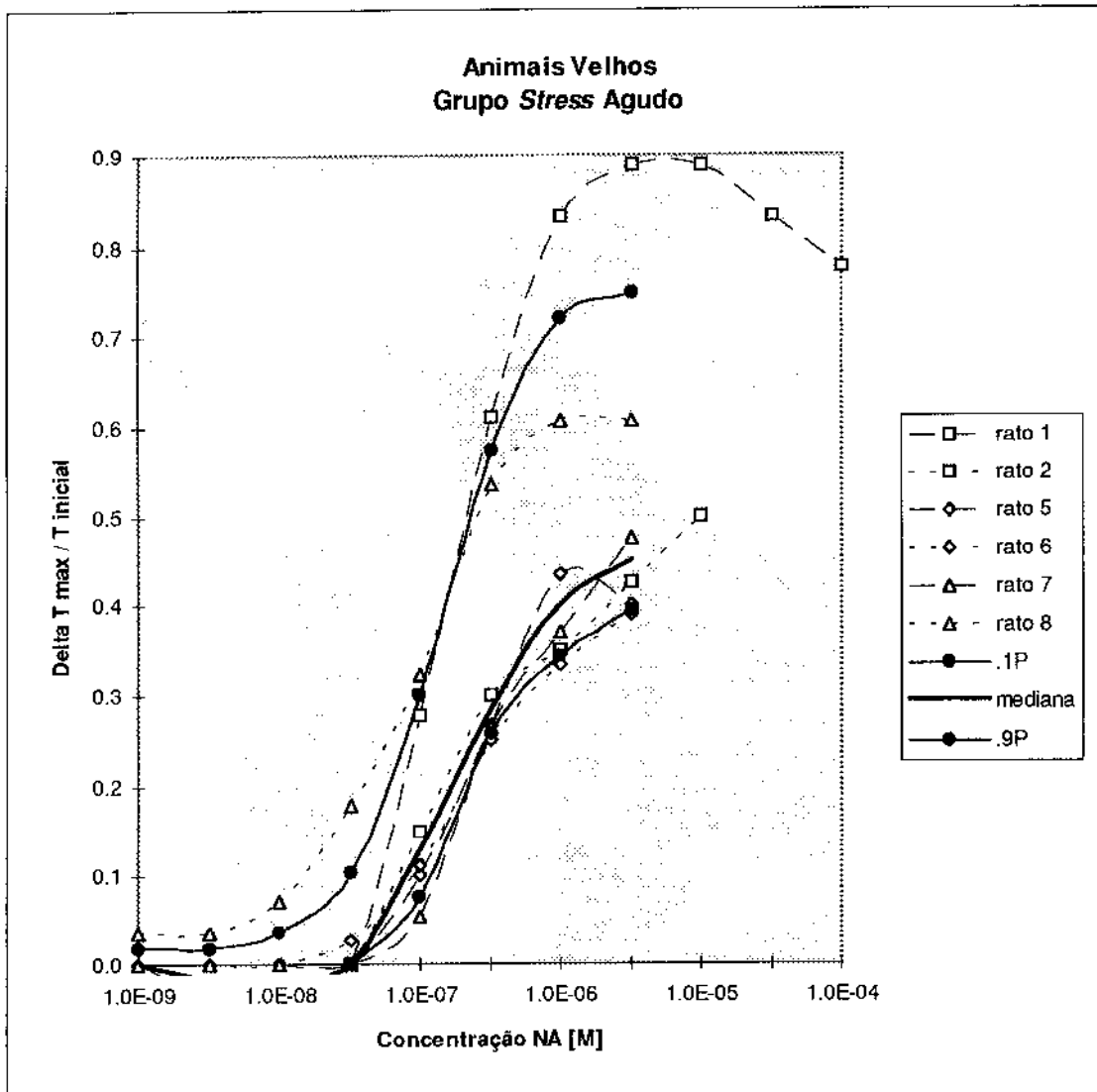


Figura 20 - Curvas dose-resposta individuais, valores medianos e percentis 10 e 90 correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* agudo de velhos, expressas como delta da T max, em relação à T max inicial.

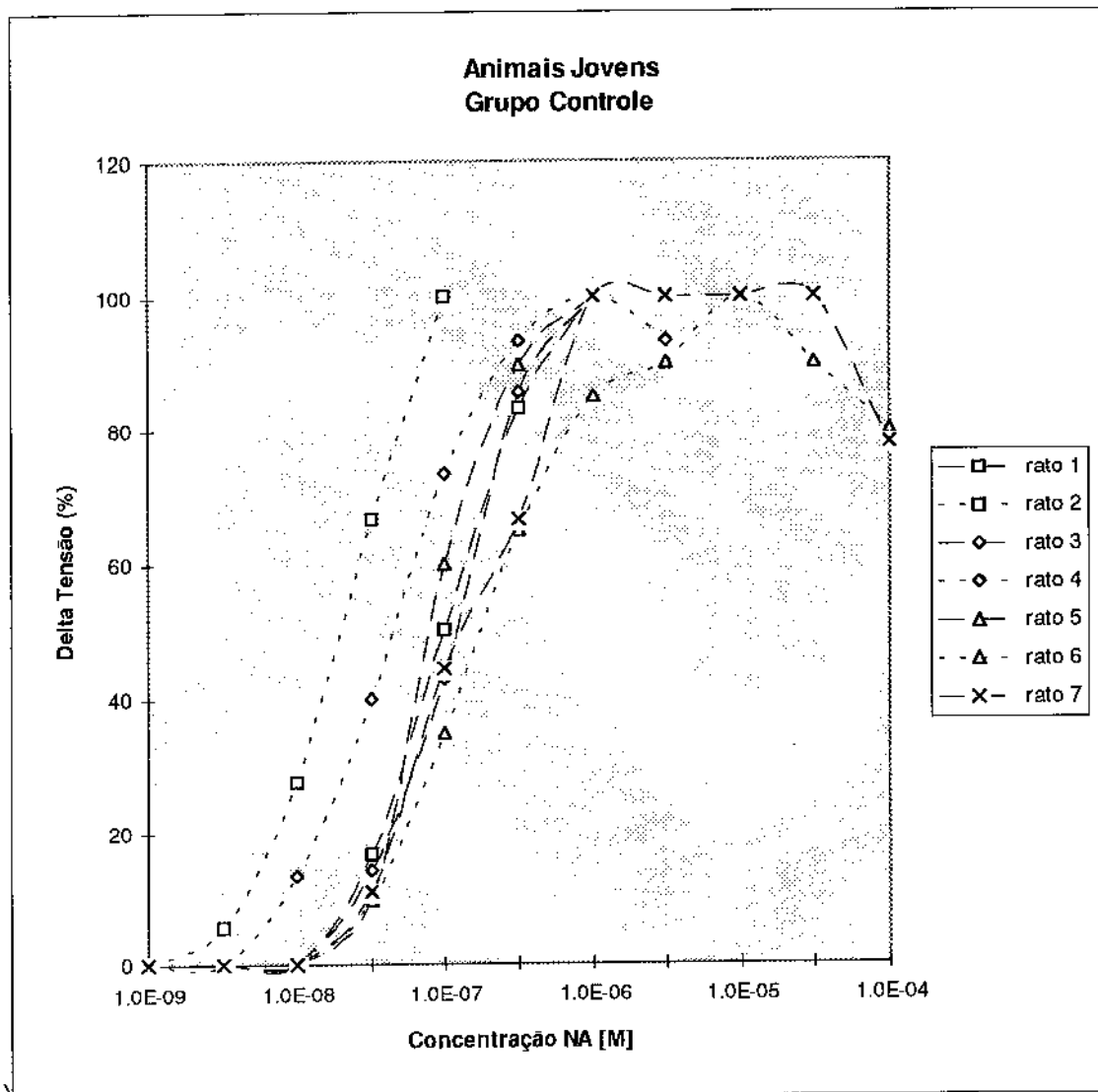


Figura 21 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de jovens, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.

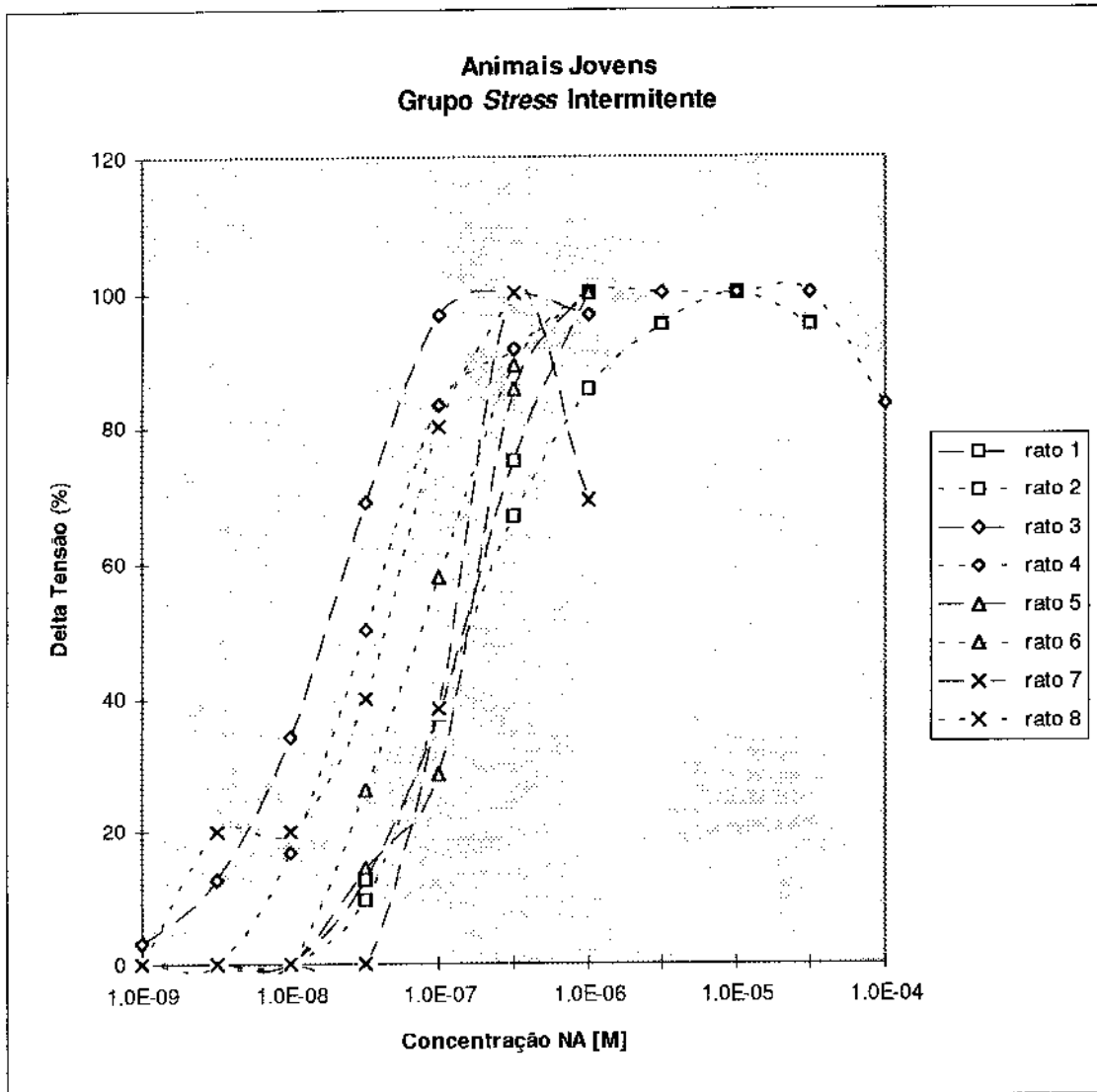


Figura 22 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* intermitente de jovens, expressas como o delta da T max, em relação a maior variação da tensão.

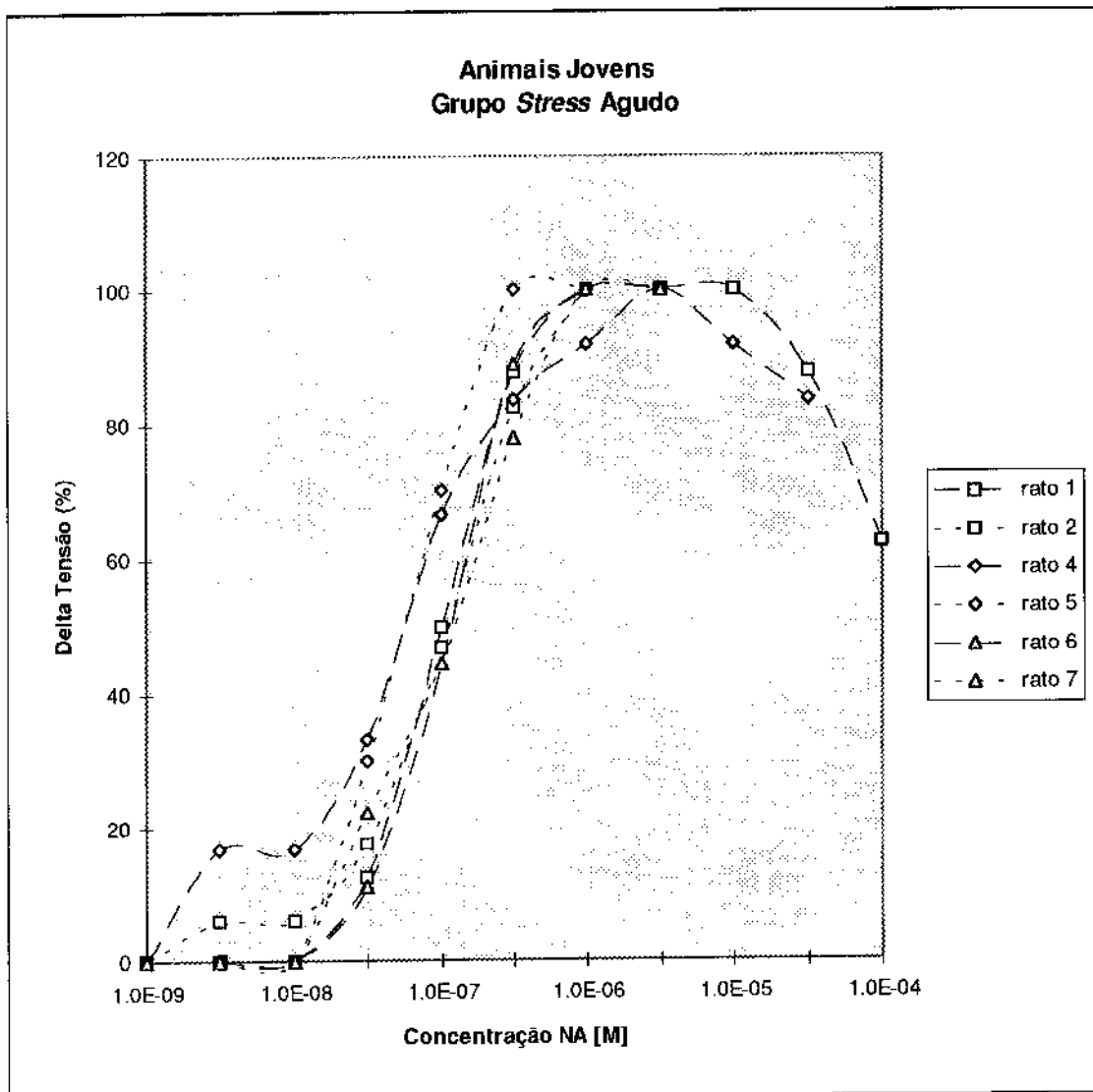


Figura 23 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* agudo de jovens, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.

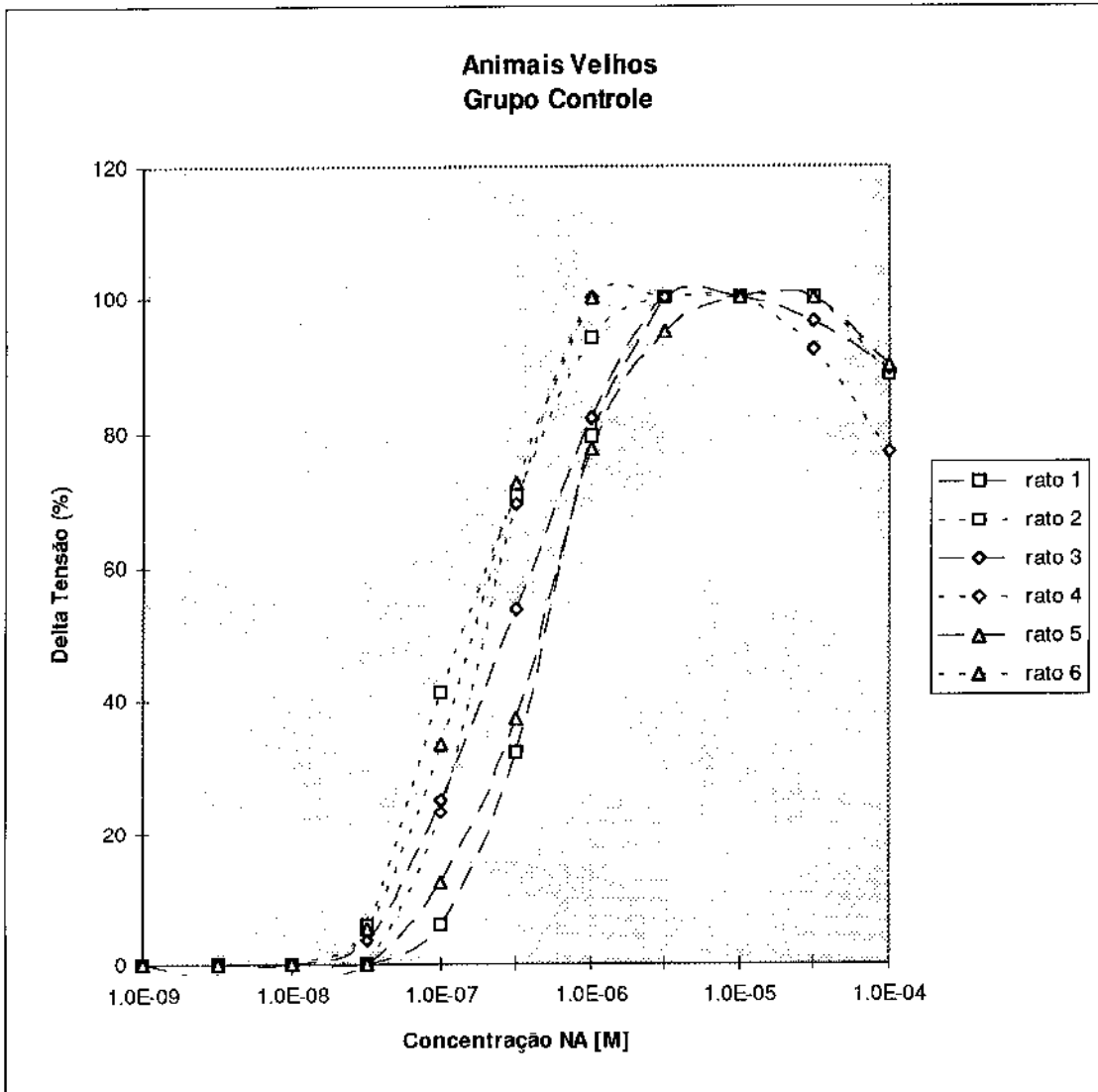


Figura 24 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo controle de velhos, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.

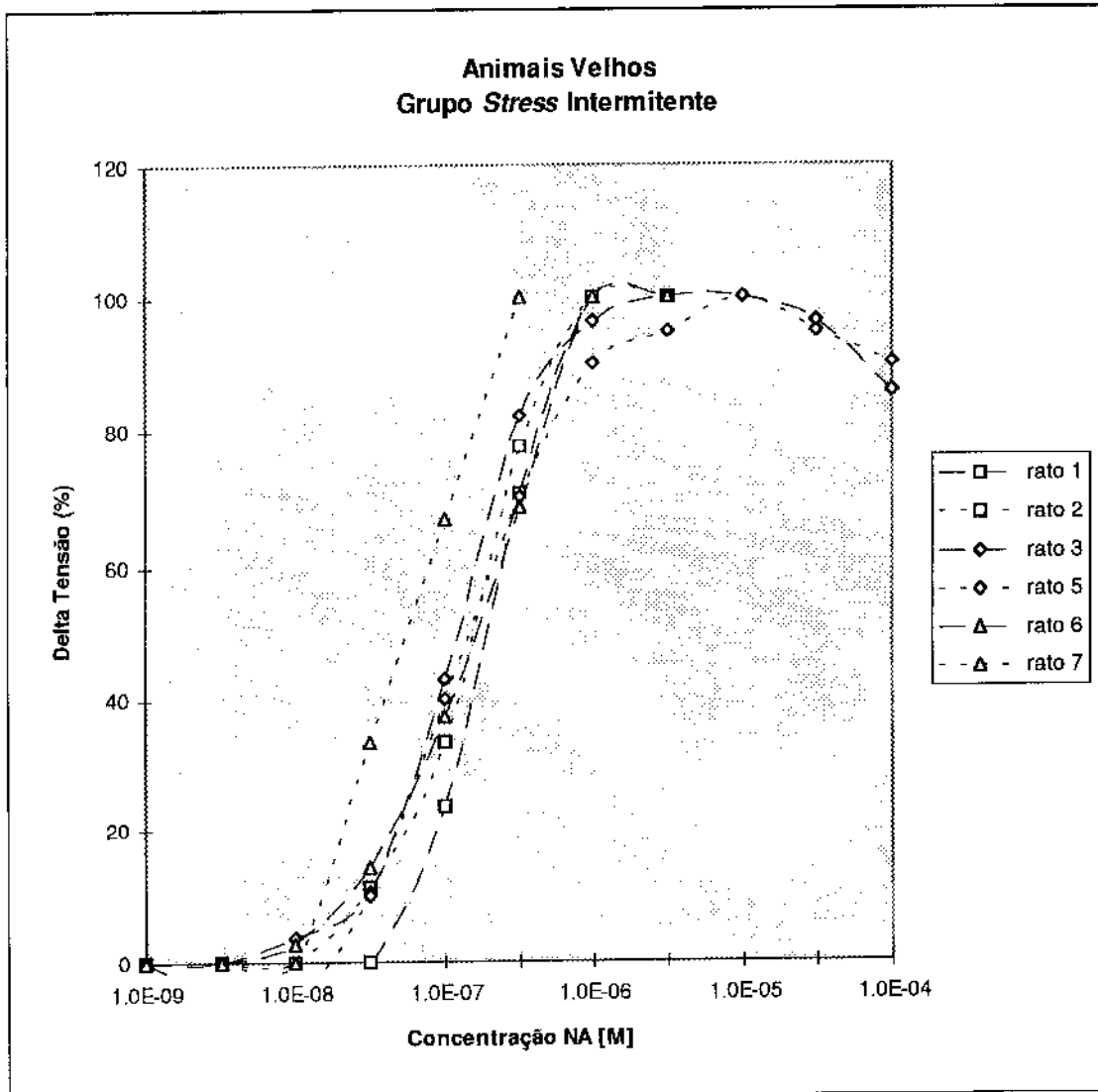


Figura 25 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* intermitente de velhos, expressas como delta da T max, em relação a maior variação de tensão.

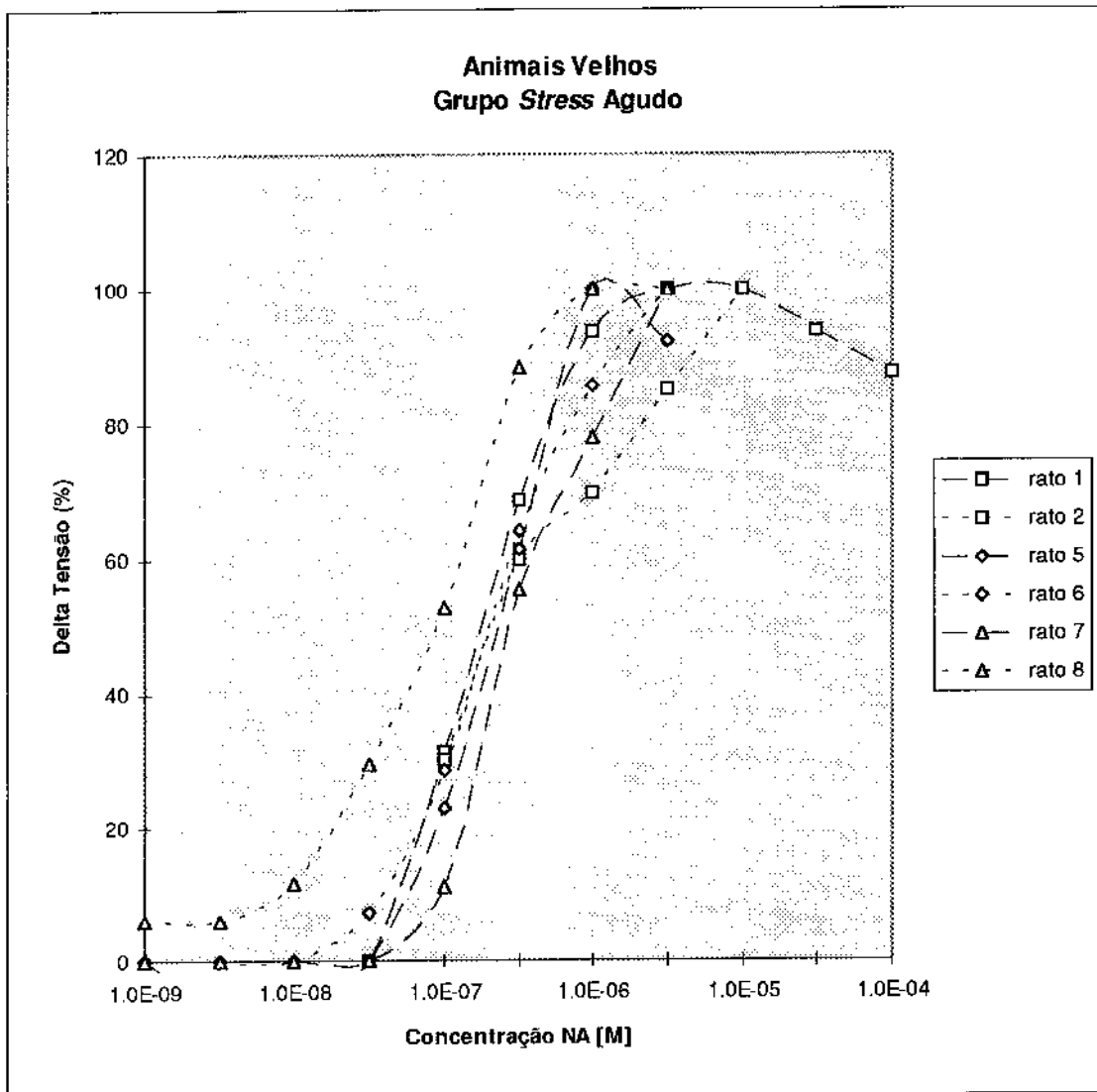


Figura 26 - Curvas dose-resposta individuais correspondentes ao efeito inotrópico da noradrenalina, em átrios esquerdos isolados de ratos do grupo *stress* agudo de velhos, expressas como delta da T max, em relação a maior variação da tensão.

Curvas Dose-Resposta: Expressas em Medianas das Doses

Inicialmente foram determinados os valores das medianas de cada dose (10^{-9} a 10^{-4}) nos grupos (C, SI e SA). As medianas foram extraídas dos valores corrigidos de T max ou seja $\Delta T \text{ max} / T \text{ Inic}$. Com as medianas determinadas foram construídas as curvas dose-resposta dos grupos C, SI e SA de animais jovens e velhos (figuras 27 e 28).

Para observação e análise comparativa dos efeitos inotrópicos de NA sobre o átrio esquerdo de animais jovens e velhos foram elaborados os gráficos dos grupos C, SI e SA (figuras 29, 30 e 31).

As curvas apresentaram um comportamento aproximadamente sigmóide em todas as circunstâncias. Próximo ao platô ocorre uma grande divergência entre os valores absolutos nas três condições estudadas (C, SI, e SA), tanto para o grupo dos jovens, como para os velhos. Esses valores normais representam a função da curva dose-resposta, a essa fase certamente outros fatores foram acionados para esse padrão de resposta. Na faixa onde os valores ($1E - 8$ a $1E -6$) permitem um ajuste de uma reta os padrões de resposta são praticamente semelhantes nos grupos (C, SI e SA) de jovens (figura 27). Já entre os velhos (figura 26), o SA mostra deslocamento paralelo para direita (menor resposta a NA) comparativamente as duas outras condições (C e SI). Essas diferenças podem ser melhor apreciadas nas figuras 29,30 e 31 onde compara-se cada situação entre jovens e velhos.

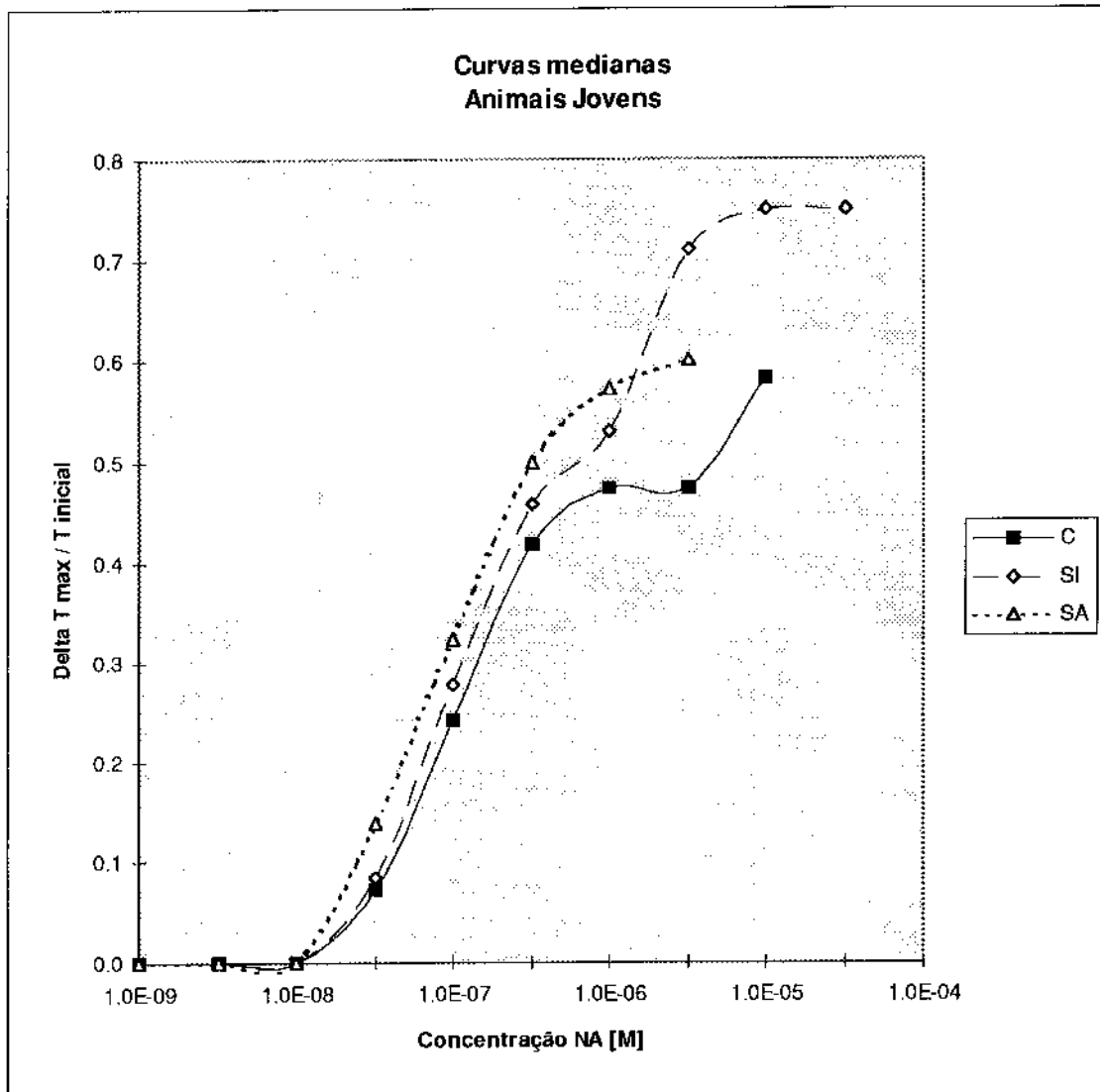


Figura 27 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, nos grupos C, SI e SA de animais jovens.

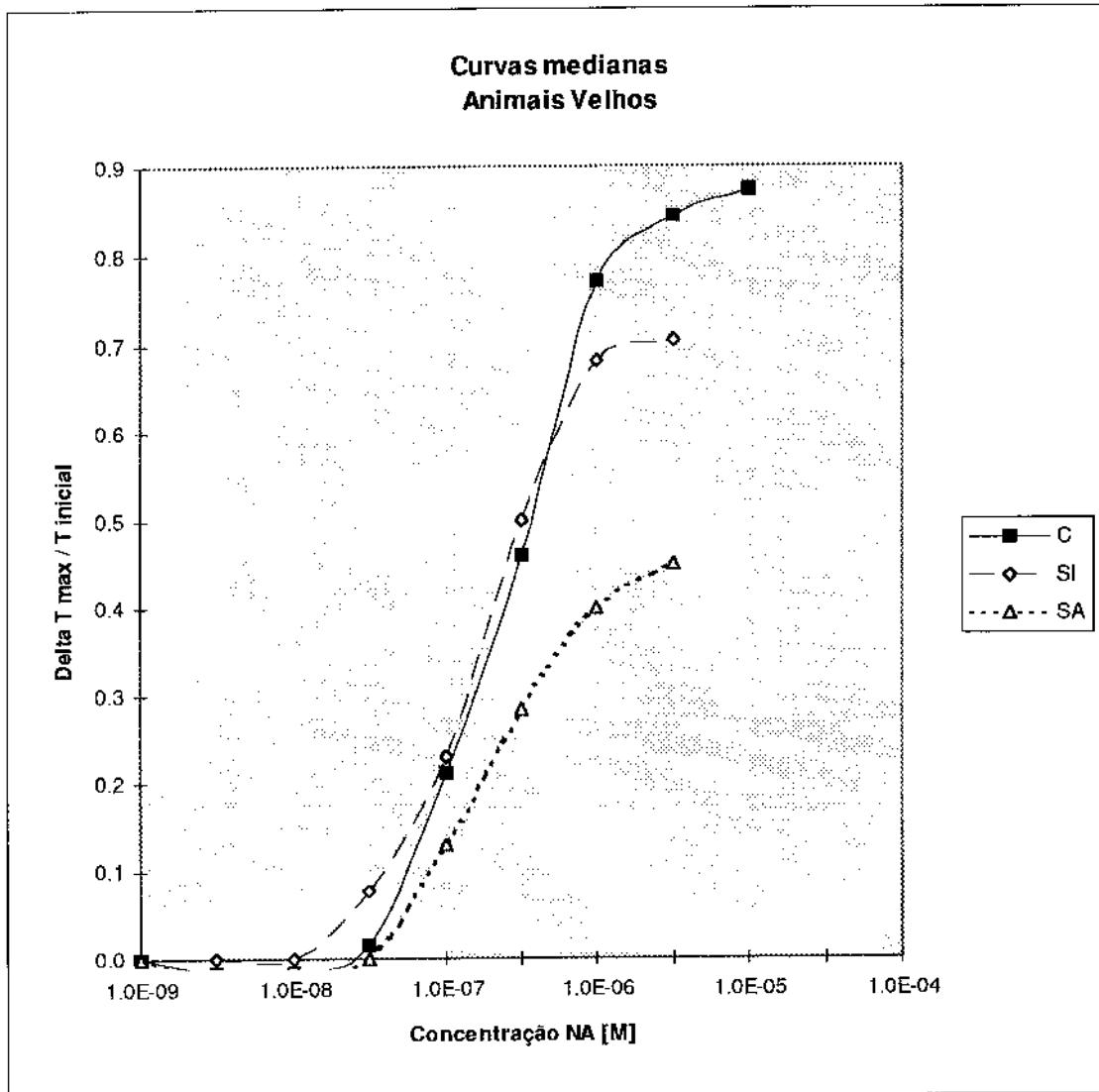


Figura 28 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, nos grupos C, SI e SA de animais velhos

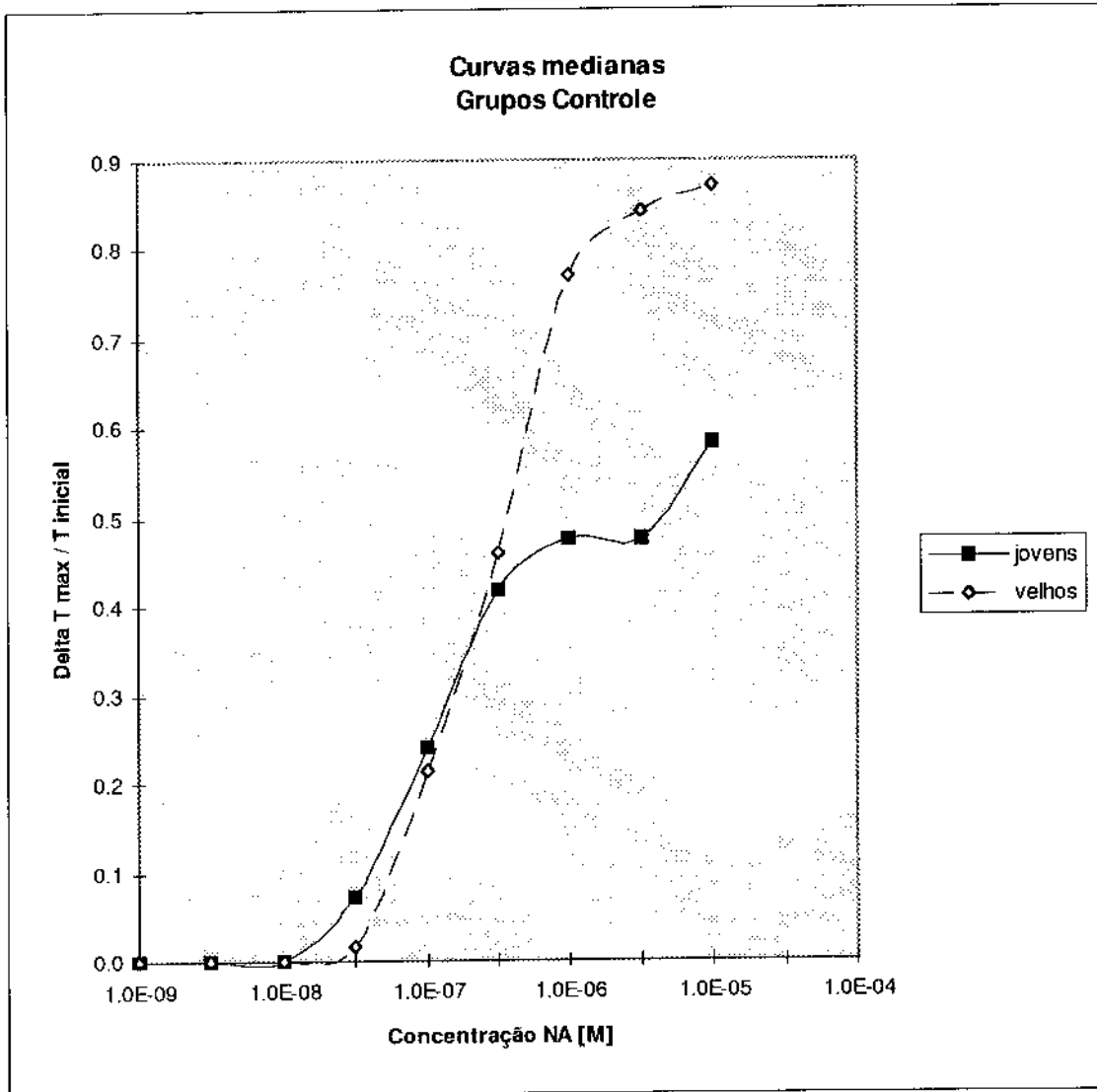


Figura 29 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, dos grupos controles de animais jovens.e velhos

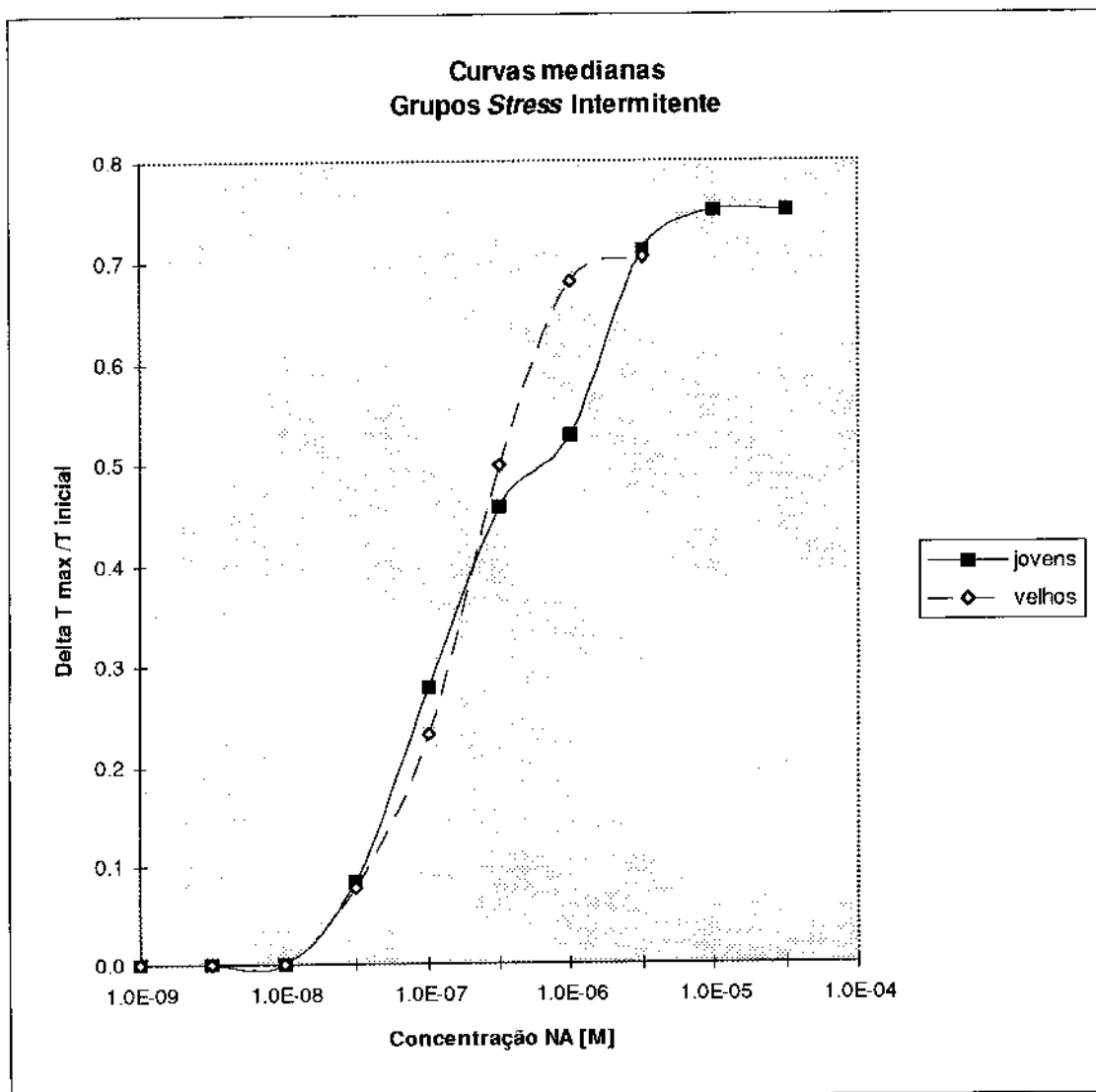


Figura 30 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, dos grupos *stress* intermitente de animais jovens e velhos.

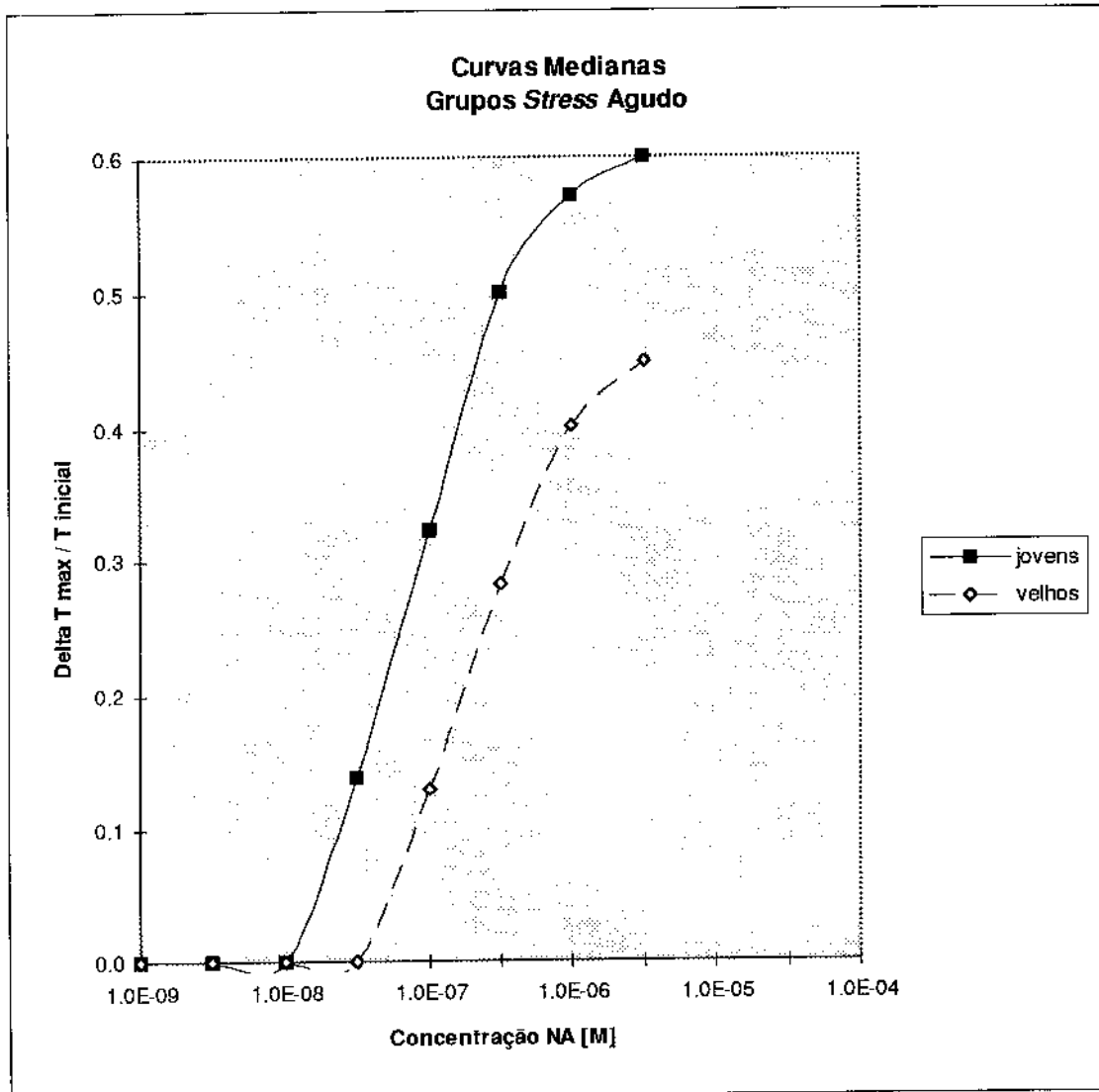


Figura 31 - Curvas dose-resposta à NA, expressas pelas medianas das doses, dos grupos *stress* agudo de animais jovens e velhos.

Análise das EC 50

O cálculo dos valores das EC 50 das curvas dose-resposta individuais foram obtidas por meio dos valores numéricos da variável corrigida $\Delta T_{max} / T_{Inic.}$ de cada grupo (C, SI e SA) dos jovens e velhos. Os valores medianos, quartis e os respectivos extremos estão apresentados na tabela 6, e sua representação em *box plot* na figura 32.

O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado para a comparação dos valores das EC 50 entre os grupos C, SI e SA em ambos, jovens e velhos. A análise permitiu verificar que os protocolos de natação empregados nos grupos (C, SI e SA) de jovens e velhos não alteraram significativamente ($p > 0,05$), as respostas contráteis do átrio esquerdo isolado.

Porém, quando se efetuou a comparação dos valores das EC 50 dos grupos controles de jovens contra velhos, empregando-se o teste de Wilcoxon, o resultado obtido mostrou uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre esses grupos. Em vista desse resultado, causar vies na interpretação das respostas ao *stress*, a análise comparativa entre as respostas inotrópicas do átrio esquerdo de jovens e velhos não pode ser conduzida.

Tabela 6 - Valores individuais das EC50 e as medianas dos grupos, nas curvas dose-resposta à noradrenalina do átrio esquerdo isolado, dos animais estudados.

AMOSTRAS VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
	Rato	n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
EC50	1	1.00E-7	1.44E-7	1.00E-7	4.71E-7	1.85E-7	1.73E-7
	2	1.87E-8	1.58E-7	1.09E-7	1.39E-7	1.50E-7	2.08E-7
	3	1.20E-7	1.64E-8	* RI	2.61E-7	1.22E-7	◊ Anôm
	4	4.30E-8	3.00E-8	5.47E-8	1.89E-7	• Óbito	° Óbito
	5	6.96E-8	1.50E-7	5.47E-8	4.37E-7	1.44E-7	2.15E-7
	6	1.73E-7	7.40E-8	1.14E-7	1.60E-7	1.56E-7	1.93E-7
	7	1.31E-7	1.22E-7	1.20E-7		5.47E-8	2.61E-7
	8		4.05E-8				8.60E-8
medianas		1.00E-7	9.84E-8	1.04E-7	2.25E-7	1.47E-7	2.06E-7

* RI → Registro inadequado por razões técnicas, ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação, ° Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação

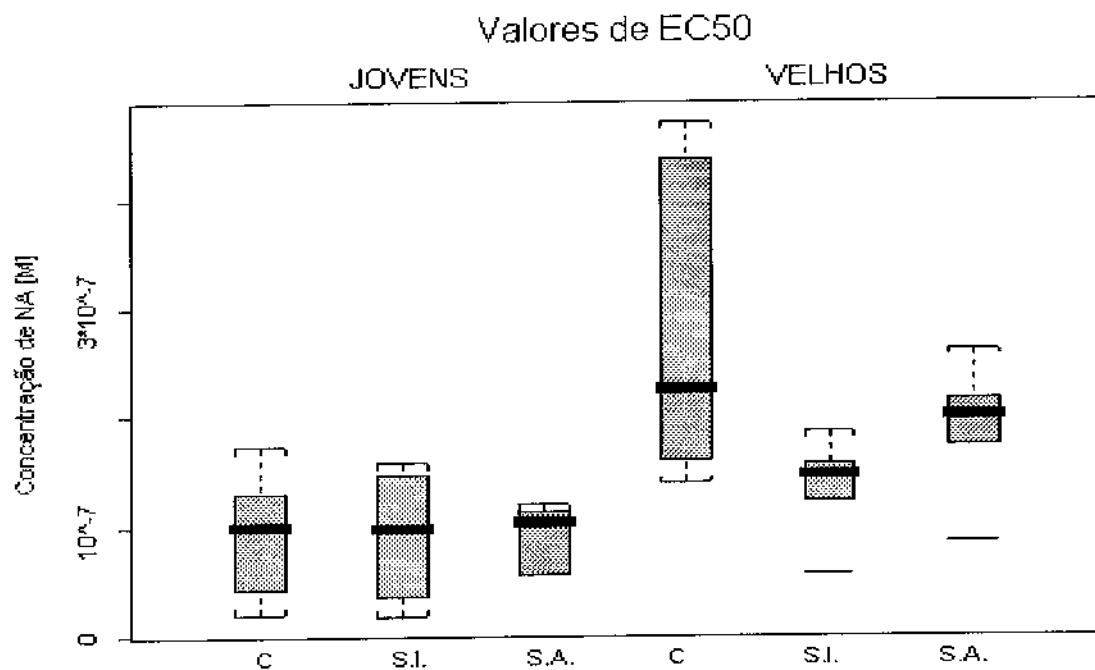


Figura 32 - Valores de EC 50 da curva dose-resposta à noradrenalina dos grupos (C, SI e SA) de animais jovens e velhos, expressos em medianas, quartis e valores extremos.

Análise da Relação Força - Frequência em Átrio Esquerdo

Para determinação da relação força-frequência, os mesmos átrios esquerdos submetidos a curva dose-resposta à NA foram empregados. As frequências estimulatórias variaram de um valor mínimo de 1 Hz e máximo de 10 Hz. As faixas de frequências empregadas não foram homogêneas devido as características particulares de cada preparação (tabela 7). A variação das faixas de frequências empregadas deveram-se, em seus valores mínimos, à uma incapacidade do estímulo elétrico em promover captura elétrica dos batimentos, levando-se em conta a presença do ritmo espontâneo e, nos valores máximos, a uma incapacidade da preparação de responder ao comando elétrico.

Merece destaque o achado de que nas duas amostras (jovens e velhos) o decaimento da resposta induzida pelo aumento da frequência de estimulação ter sido progressivo (figura 33 e 34). Entretanto a comparação entre as várias condições nesses grupos fica prejudicada pelo fato de que em cada valor de frequência de estimulação, as medidas não corresponderam aos mesmos animais (ver tabela 7).

Em 5Hz (figura 35), que correspondeu a um dos valores de frequência de estimulação onde o número de átrios foi maior em todos os grupos e condições estudadas (C, SI, e SA), as diferenças de T max observados não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$).

Tabela 7 - Faixas dos valores das freqüências de estimulação, em que as preparações de átrio esquerdo apresentaram padrões de resposta regular, para a obtenção da relação força-freqüência.

AMOSTRAS VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
Rato		n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
Faixa regular da curva de freqüência	1	4-10	4-10	1-10	4-10	3-10	2-10
	2	5-10	5-10	4-10	1-5	4-10	3-9
	3	5-7	4-10	* RI	1-10	1-8	◊ Anôm
	4	5-10	1-10	5-10	1-10	• Óbito	° Óbito
	5	5-10	5-10	8-10	1-6	1-8	4-9
	6	5-10	7-8	1-5	3-10	1-10	4-10
	7	1-9	5-9	5-10		5-10	6-7
	8		5-9				2-10

* RI → Registro inadequado por razões técnicas, ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação ° Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação

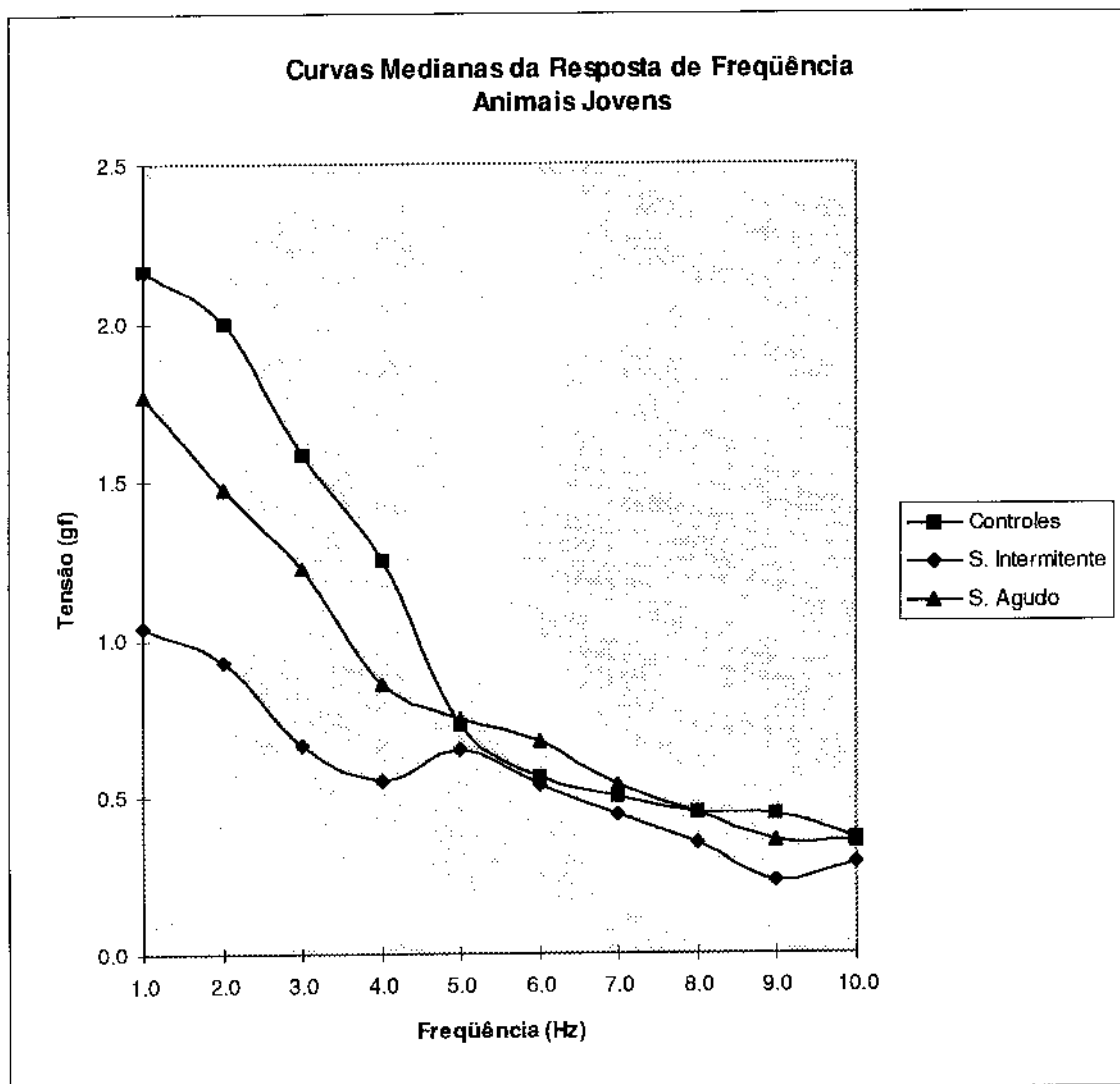


Figura 33 - Relação força-frequência representadas pelas medianas das tensões desenvolvidas por átrios esquerdos, dos grupos (C, SI e SA) de animais jovens. As linhas cheias e tracejadas, correspondem a um valor de n, igual ou superior a 4, e inferior a 4, respectivamente.

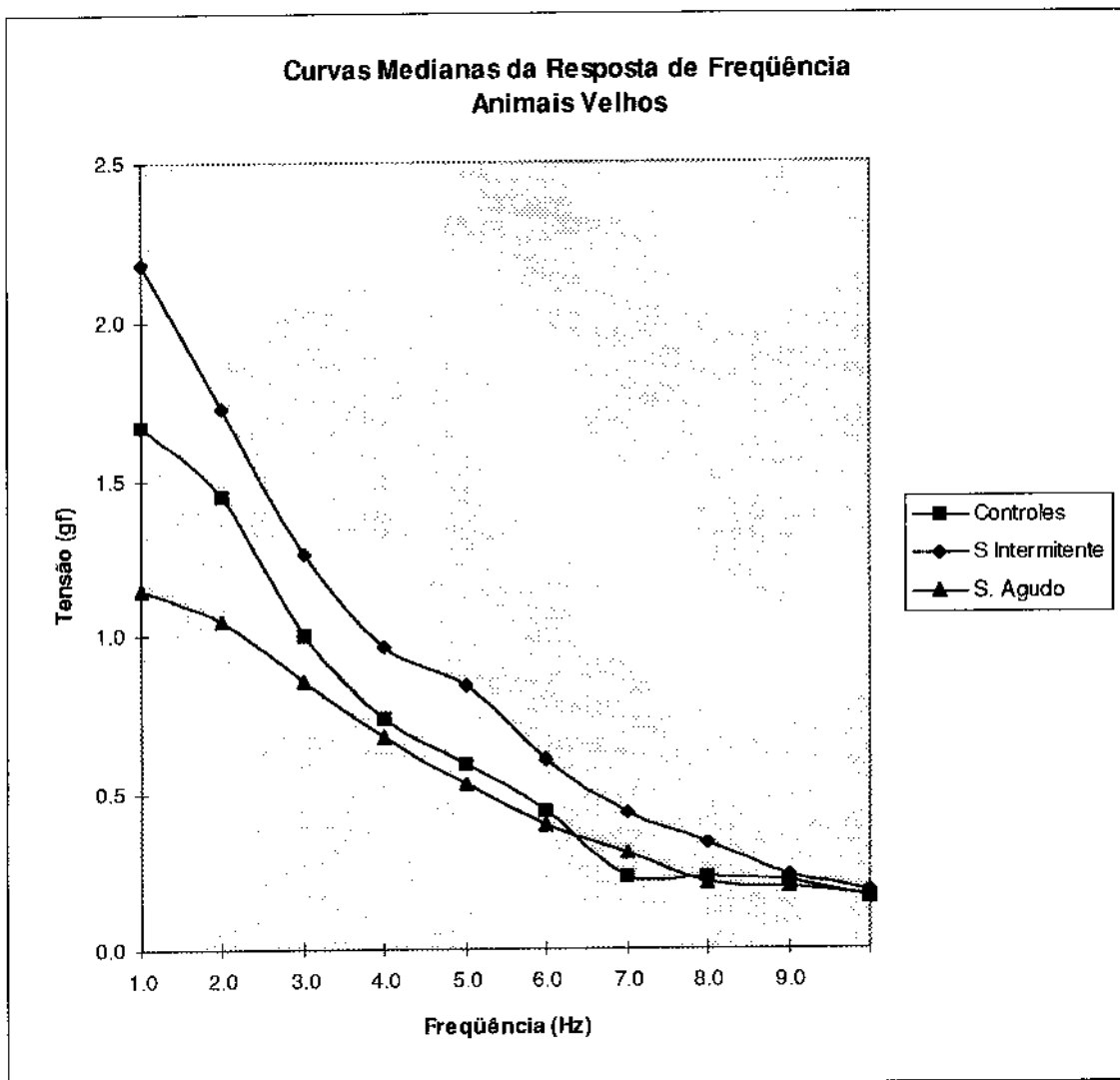


Figura 34 - Relação força-freqüência representadas pelas medianas das tensões desenvolvidas por átrios esquerdos, dos grupos (C, SI e SA) de animais velhos. As linhas cheias e tracejadas, correspondem a um valor de n, igual ou superior a 4, e inferior a 4, respectivamente.

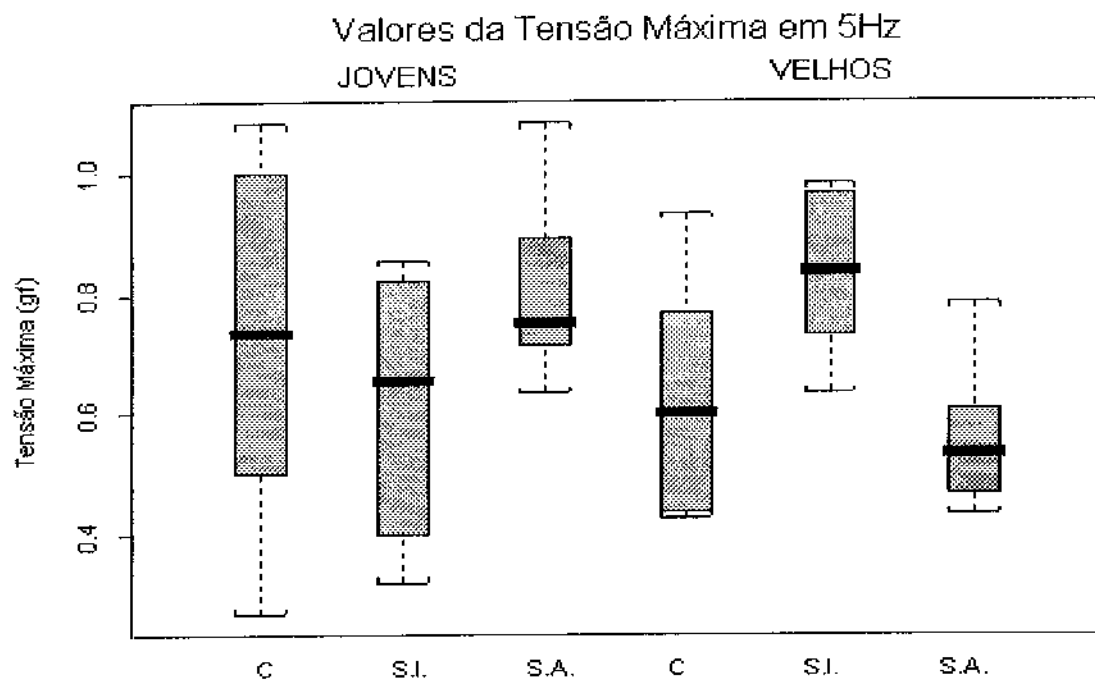


Figura 35 - Valores de tensão máxima em 5 Hz, dos grupos (C, SI e SA) de animais jovens e velhos, expressos em medianas, quartis e valores extremos.

Ritmicidade Espontânea

Por consequência do surgimento de ritmo espontâneo da preparação, a sequência das etapas experimentais foram ligeiramente distintas, ver padrões de 1 a 6 do diagrama de bloco (figuras 1 a 6 no apêndice). A caracterização individual dos padrões experimentais adotados estão apresentados na tabela 8.

Durante os procedimentos experimentais, no período que antecedeu a realização da curva dose-resposta à NA, as preparações de átrio esquerdo isolado, sob frequência de estimulação de 1 Hz, não apresentaram qualquer ocorrência de ritmo próprio espontâneo. Entretanto, durante a realização da curva dose-resposta em todos os grupos estudados documentou-se a presença de ritmo espontâneo (tabela 9), competindo com o ritmo artificialmente induzido.

Em todos os casos em que apareceu o ritmo espontâneo, surgiram indicadores indiretos que o mesmo, muito provavelmente se devia a um aumento do automatismo atrial: 1) pequenas variações do intervalo entre batimentos sucessivos (figura 36), 2) inibição transitória da ritmicidade espontânea pela estimulação com frequências altas (*over drive supression*) como documentado na figura 37, 3) desaparecimento do ritmo espontâneo, após estimulação artificial, com frequências acima das encontradas naquelas condições, como pode ser visto na figura 36 .

A análise dos valores de frequência do ritmo espontâneo (tabela 10) e, da dose da NA (tabela 11) em que esse apareceu não mostrou qualquer diferença estatisticamente significativa, entre jovens e velhos, nas três condições estudadas (C, SI e SA). A frequência de aparecimento do ritmo espontâneo foi maior no grupo controle jovem (5/7), do que no grupo controle

velho (2/6). Apesar dessa diferença não ser estatisticamente significativa, o pequeno número de animais por grupo dificulta uma interpretação segura deste achado.

Tabela 8 - Identificação dos padrões experimentais de acordo com o diagrama de bloco.

AMOSTRAS . VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
	Rato	n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
Padrões dos experimentos	1	P1	P1	P2	P1	P1	P2
	2	P4	P6	P1	P2	P3	P1
	3	P1	P1	* RI	P2	P2	◊ Anôm
	4	P4	P2	P3	P2	• Óbito	◦ Óbito
	5	P3	P3	P3	P2	P2	P1
	6	P2	P3	P4	P1	P1	P1
	7	P2	P1	P1		P4	P1
	8		P1				P5

* RI → Registro inadequado por razões técnicas, ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação, ◦ Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação

Tabela 9 - Identificação dos animais cujos átrios esquerdos isolados, apresentaram ritmo espontâneo (+) ou não (-), durante a realização da curva dose-resposta à noradrenalina

AMOSTRAS VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
Rato		n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
Presença de ritmo espontâneo	1	+	+	-	+	+	-
	2	+	+	+	-	+	+
	3	+	+	* RI	-	-	◊ Anôm
	4	+	-	+	-	• Óbito	° Óbito
	5	+	+	+	-	-	+
	6	-	+	+	+	+	+
	7	-	+	+		+	+
	8		+				+
Proporção		5/7	7/8	5/6	2/6	4/6	5/6

* RI → Registro inadequado por razões técnicas, ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação, ° Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação

Tabela 10 - Valores individuais da frequência cardíaca espontânea do átrio esquerdo, documentados durante a realização da curva dose-resposta à noradrenalina.

AMOSTRAS VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
	Rato	n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
Frequência Espontânea (bat/min)	1	251	293		261	258	
	2	351	305	259		161	291
	3	252	267	* RI			◊ Anôm
	4	311		287		• Óbito	◦ Óbito
	5	287	282	283			311
	6		255	330	245	260	284
	7		102	328		265	368
	8		279				224

* RI → Registro inadequado por razões técnicas, ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação, ◦ Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação

Tabela 11 - Valores individuais das doses (concentração molar de noradrenalina) em que ocorreu aparecimento de ritmo espontâneo nas preparações de átrio esquerdo, durante a realização da curva dose-resposta à noradrenalina.

AMOSTRAS . VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
Rato		n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
Dose de surgimento de ritmo espontâneo	1	3E-06	3E-06	-	E-05	E-05	-
	2	3E-07	E-04	3E-06	-	E-05	3E-05
	3	3E-06	3E-06	*RI	-	-	◊ Anôm
	4	E-05	-	E-04	-	• Óbito	◦ Óbito
	5	3E-06	3E-06	3E-06	-	-	E-05
	6	-	3E-06	E-05	3E-06	E-05	E-05
	7	-	3E-06	E-05		E-06	E-05
	8		E-06				E-05

* RI → Registro inadequado por razões técnicas, ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação, ◦ Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação

Tabela 12 - Identificação dos casos em que a frequência de estimulação elétrica 50% acima da frequência cardíaca espontânea suprimiu (+) ou não (-) o ritmo espontâneo.

AMOSTRAS . VARIÁVEL		ANIMAIS JOVENS			ANIMAIS VELHOS		
		CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO	CONTROLE	STRESS INTERMITENTE	STRESS AGUDO
	Rato	n=7	n=8	n=6	n=6	n=6	n=6
supressão do ritmo espontâneo por estímulo	1	+	+		-	+	
	2	+	+	+		-	+
	3	#N/D	+	* RI			◊ Anôm
	4	-		-		• Óbito	° Óbito
	5	-	-	-			+
	6		-	+	+	+	+
	7		-	-		-	+
	8			-			+
Proporção		2/4	3/7	2/6	1/2	4/6	5/6

#N/D → Dado não disponível, * RI → Registro inadequado por razões técnicas,
 ◊ Anôm → Animal em que o coração apresentou deformidade na morfologia macroscópica e não foi possível identificar o átrio esquerdo, • Óbito → Óbito do animal aos 15 minutos na segunda sessão de natação, ° Óbito → Óbito do animal aos 7 minutos da sessão única de natação.

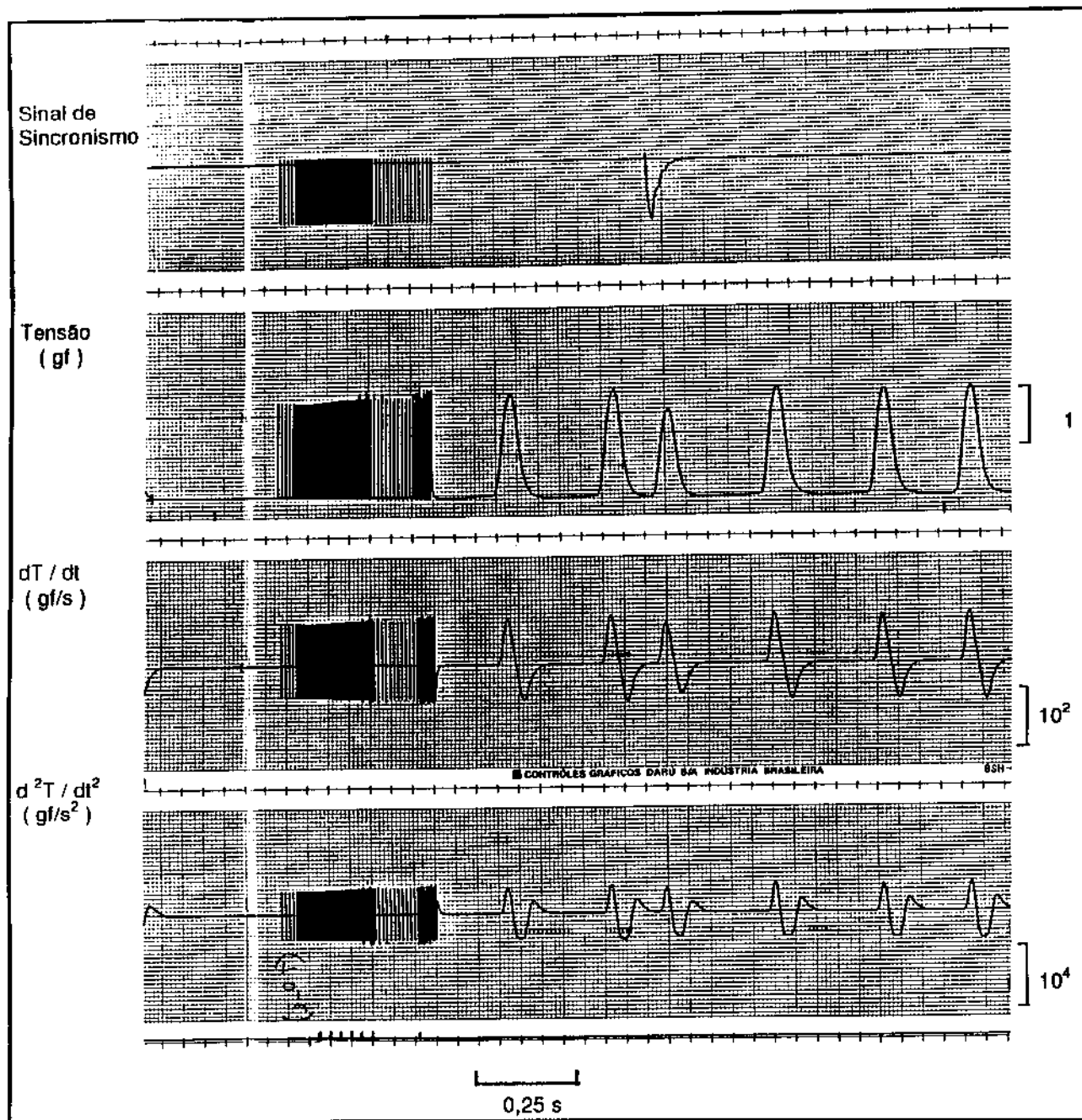


Figura 36 - Registro das variáveis (animal 6, grupo controle de velhos) documentando o surgimento de batimento espontâneo da preparação de átrio esquerdo.

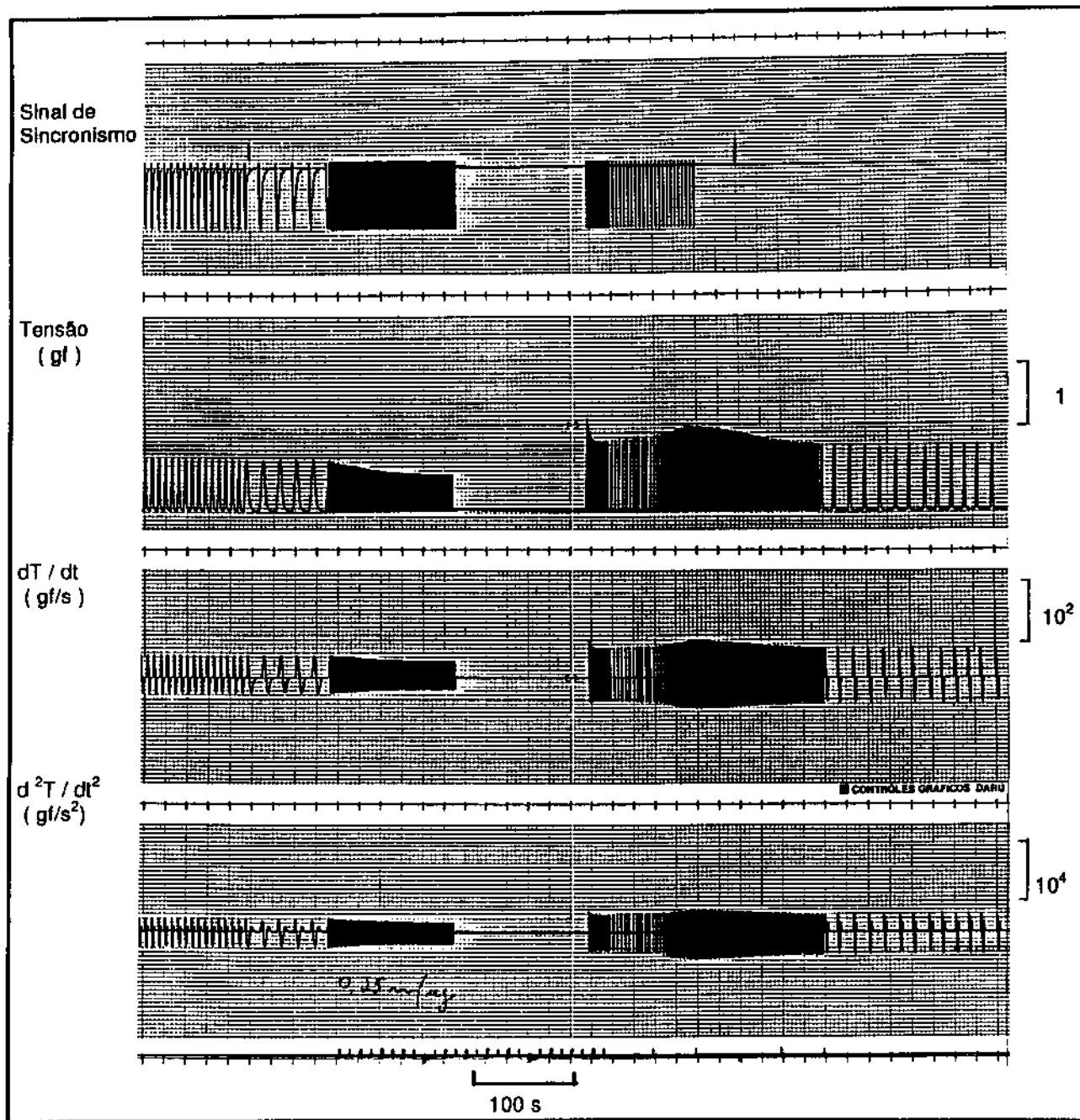


Figura 37 - Registro das variáveis (animal 6, grupo controle de velhos) mostrando a supressão transitória do ritmo espontâneo, após estimulação da preparação à uma frequência 50% acima da espontânea

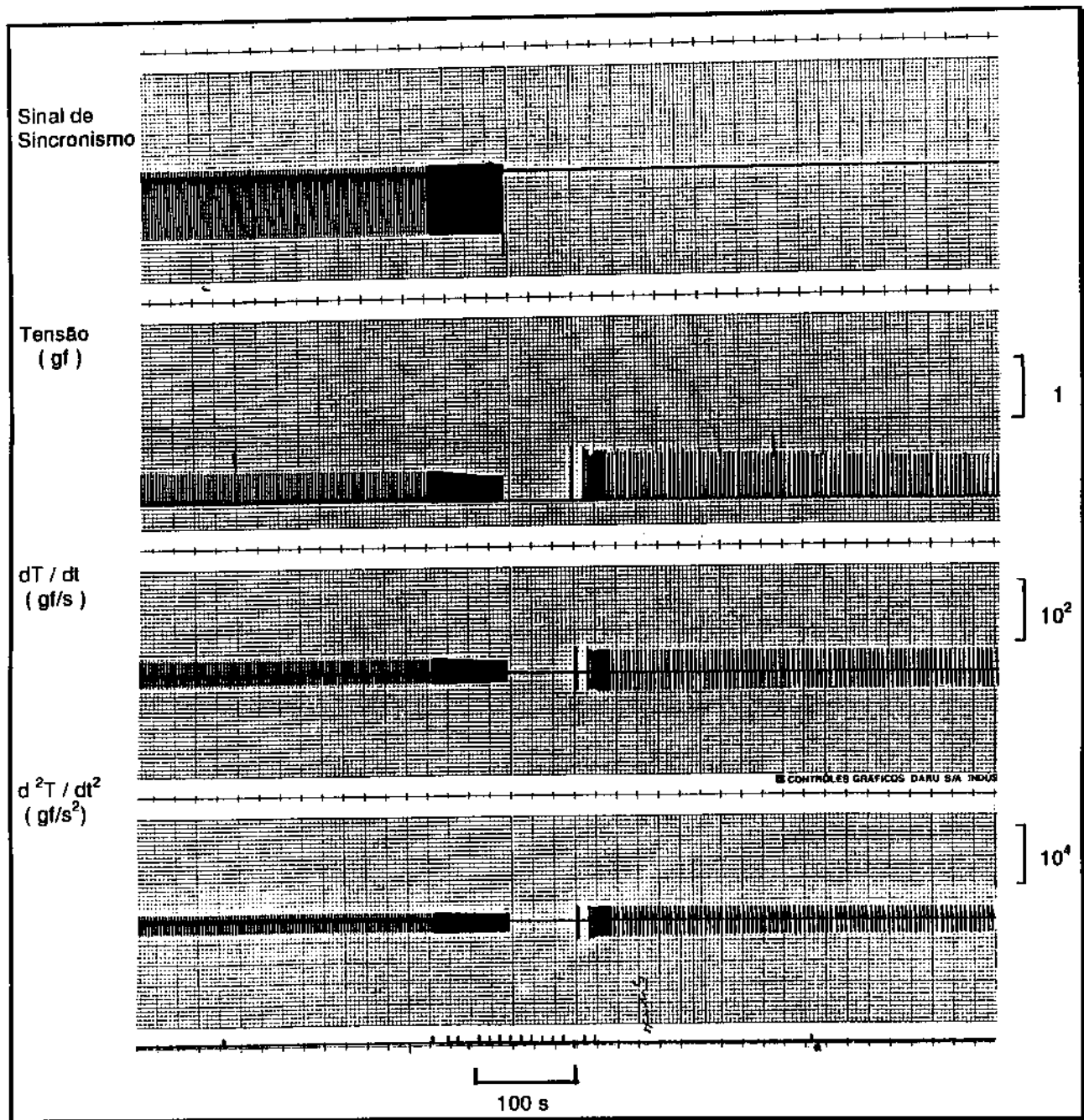


Figura 38 - Registro das variáveis (animal 5, grupo *stress* intermitente de jovens) mostrando que o ritmo espontâneo não foi suprimido, mesmo após estimulação da preparação à uma frequência 50% acima do valor correspondente.

Estudo Morfológico dos Animais Experimentais

Exame Macroscópico

De um modo geral os animais observados apresentaram os órgãos e vísceras com aspectos anatômicos normais. Em relação ao coração, todos os animais, à exceção de um velho, apresentaram aparência normal. Por outro lado observou-se que o tamanho do coração dos animais velhos era sempre maior, do que os dos jovens. No entanto, quando comparou-se a razão do peso do coração em relação ao peso corporal, em jovens e velhos, nenhuma diferença foi encontrada.

Exame ao Microscópio Óptico

Foram realizados exames de microscopia óptica nas lâminas de átrio esquerdo, ventrículos, vasos, pulmão e rim. Da análise qualitativa dos tecidos resultaram as seguintes observações:

- os átrios esquerdos analisados aparentaram características morfológicas normais; não foram evidenciadas alterações patológicas, ou detectadas diferenças que discriminassem os grupos (C, SI e SA) de jovens e velhos (figuras 39 e 40).

- os ventrículos foram observados em cortes confeccionados perpendicularmente ao eixo longitudinal do coração (figura 41). Nos ventrículos de jovens as artérias coronárias apresentaram-se normais. Em raros animais foram detectados focos isolados de infiltrados linfoplasmocitários (1 a 2 por coração), eventualmente associados a miocitólises isoladas. Afora estas

escassas alterações, nenhuma outra foi encontrada. Por outro lado, nos animais velhos a maioria dos corações, em graus variados apresentaram cicatrizes focais e fibroses intersticiais, predominantemente subendocárdicas (figuras 42 e 43). As artérias coronárias (figura 44), ao contrário dos jovens apresentaram remodelamento da parede, com aumento da espessura e, conseqüente, diminuição do seu diâmetro interno (figura 45). A exemplo dos jovens, os velhos, apresentaram casos raros de infiltrados linfoplasmocitários eventualmente associados a miocitólises isoladas.

- os pulmões dos animais jovens mostraram características morfológicas normais enquanto os do velhos, apresentaram em graus variados, bronquiectasias (figura 46). Em um caso particular (animal 2 do grupo SI, de velhos) observou-se que esta era acompanhada de processo inflamatório crônico ativo, com exsudato purulento.

Do total de animais que iniciaram a fase de experimentação, somente três não conseguiram completá-las, a saber:

- rato 4, grupo SA de velhos, que foi a óbito aos sete minutos da sessão única de natação. Neste os exames morfológicos não foram realizados, e a causa mortis não pode ser conhecida.

- rato 4, grupo SI de velhos, que foi a óbito aos seis minutos da segunda sessão de natação, apresentou artérias coronárias com alterações morfológicas bem definidas (figura 47). Com presença de infiltrados inflamatórios típicos das vasculites, com fibrose proeminente e aumento da espessura da parede. A poliarterite nodosa, como é denominada essa condição patológica, tem sido verificada em ratos com idade igual ou acima de 500 dias. Esta alteração, embora seja de etiologia desconhecida, tem sido associada com hipertensão, administração de corticosteróides, tratamento terapêutico com

estrógenos e exposição química a carcinógenos e hipersensitividade (CARLTON, ENGELHARDT, 1991).

- rato 3, grupo SA de velhos apresentou deformidade cardíaca, com aumento de peso do coração, o que prejudicou a identificação do átrio esquerdo.

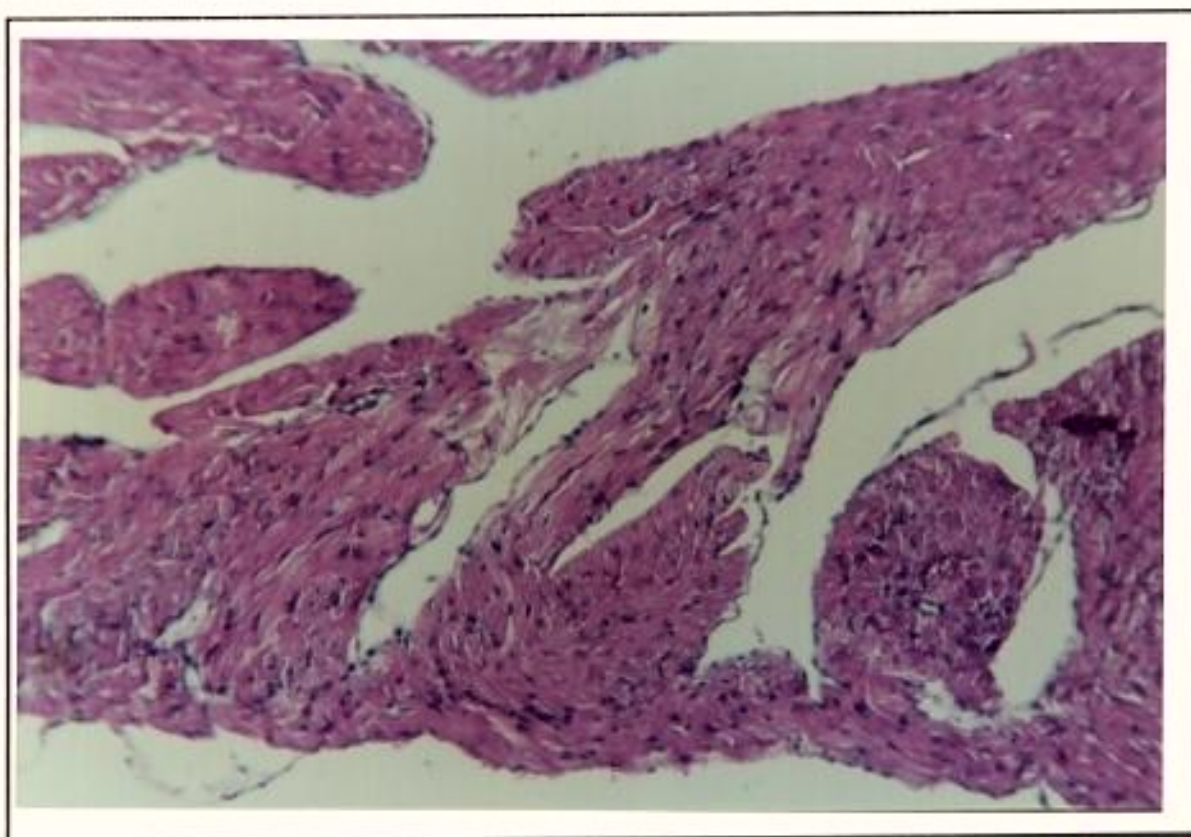


Figura 39 - Corte histológico corado por H.E., de átrio esquerdo, do rato 6, grupo SA de jovens, apresentando características morfológicas normais. 180 x.

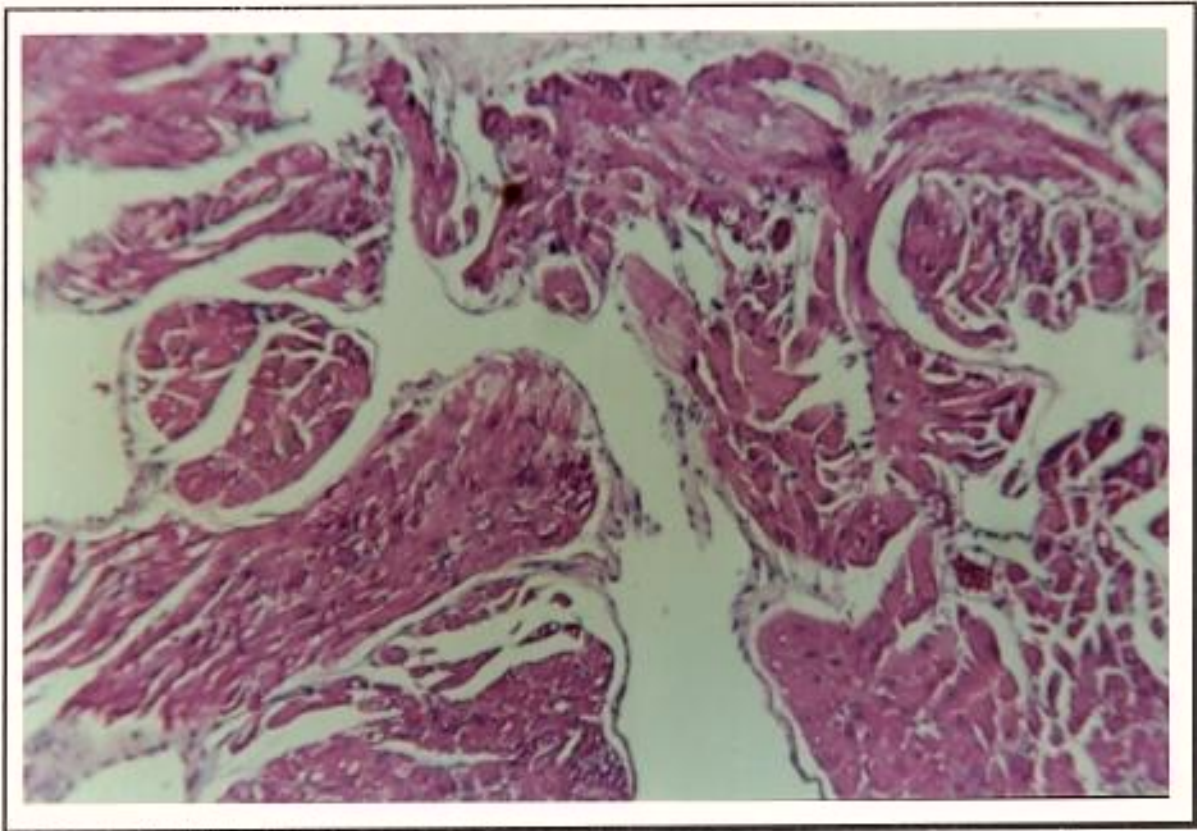


Figura 40 - Corte histológico corado por H.E., de átrio esquerdo, do rato 3, grupo SI de velhos, apresentando características morfológicas normais. 180 x.

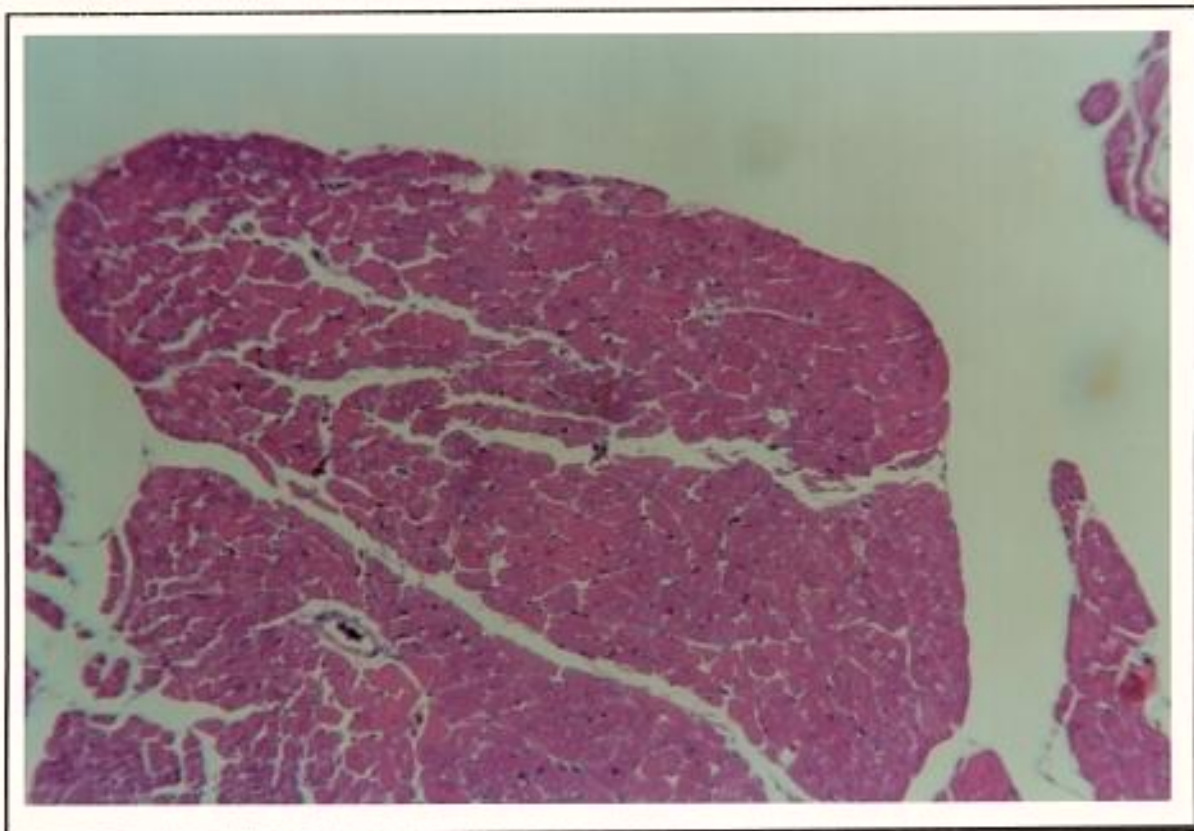


Figura 41 - Corte histológico corado por H.E. do miocárdio, do rato 6, grupo controle de jovens, apresentando características morfológicas normais. 180 x.

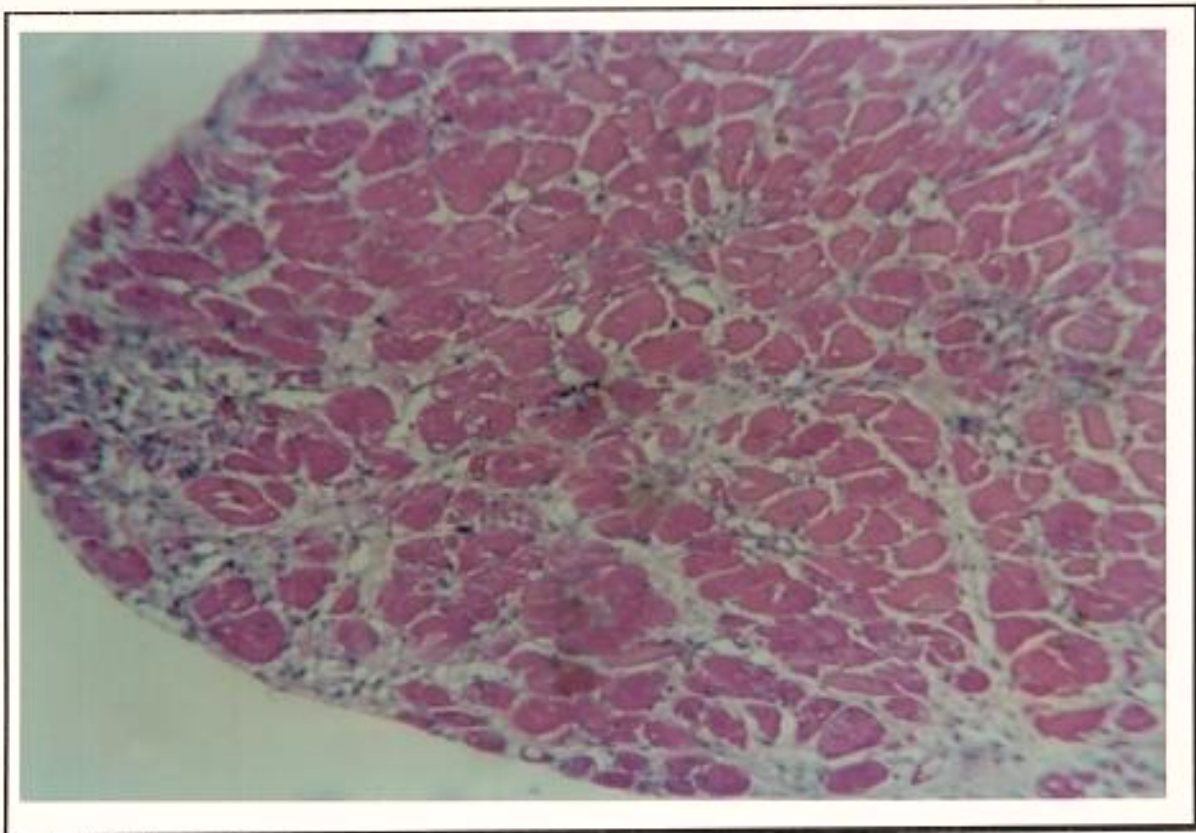


Figura 42 - Corte histológico corado por H.E. do miocárdio, do rato 1, grupo SI de velhos, apresentando cicatrizes focais e fibroses intersticiais. 180 x.

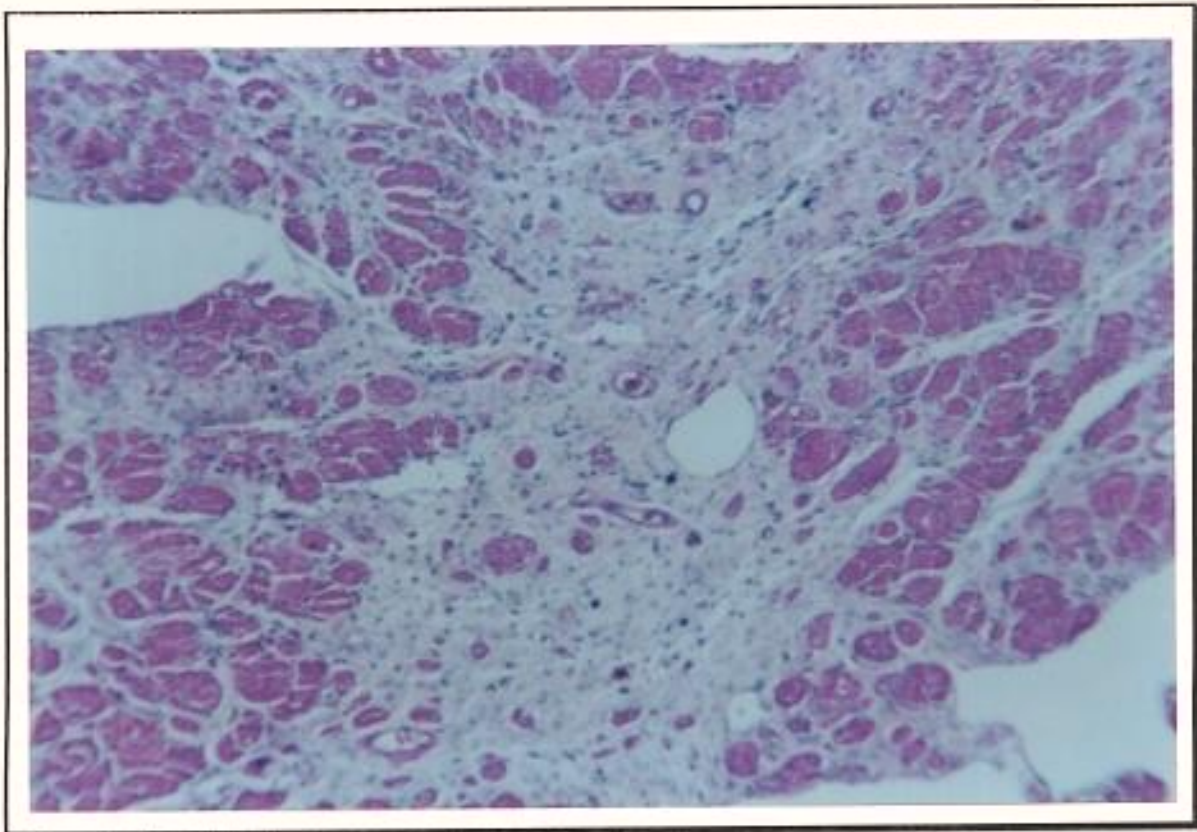


Figura 43 - Corte histológico corado por H.E. do miocárdio, do rato 6, grupo SI de velhos, apresentando cicatrizes focais e fibroses intersticiais. 180 x.

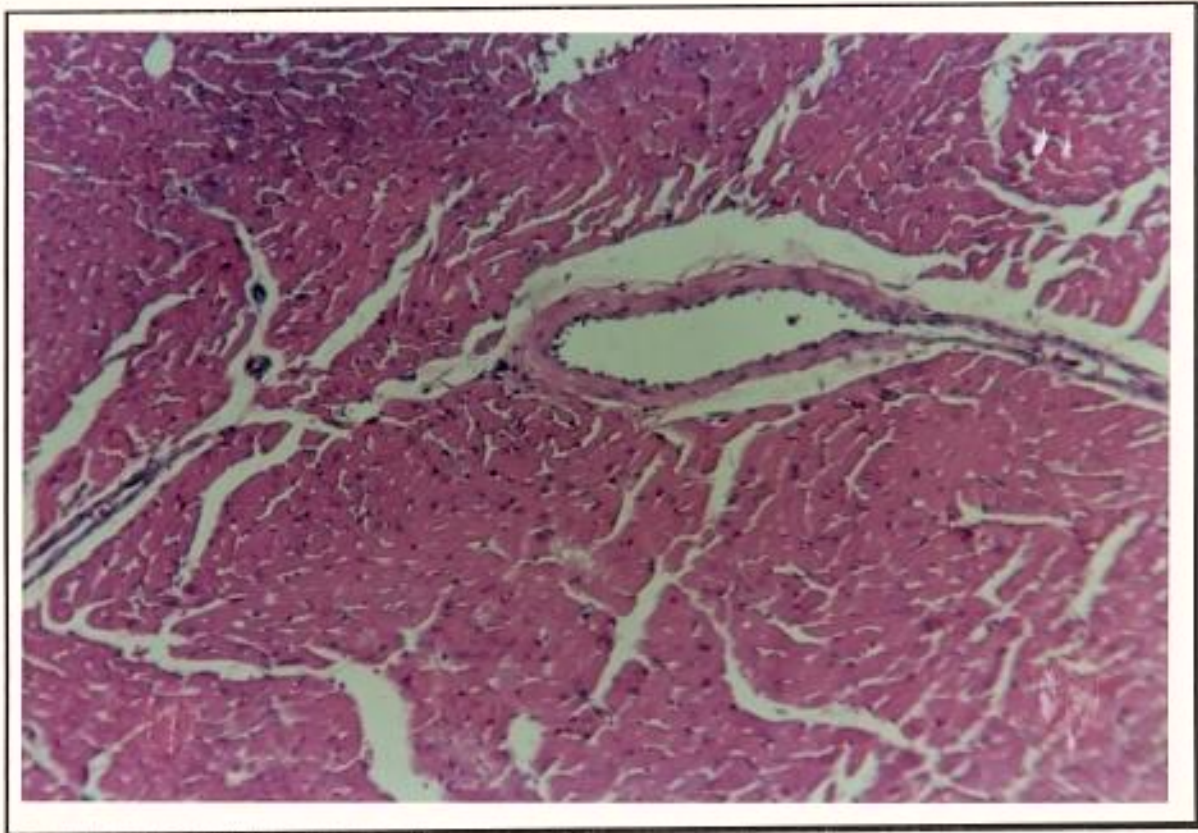


Figura 44 - Corte histológico corado por H.E., do miocárdio do rato 6, grupo SA de jovens, apresentando artéria coronária com características morfológicas normais. 180 x.

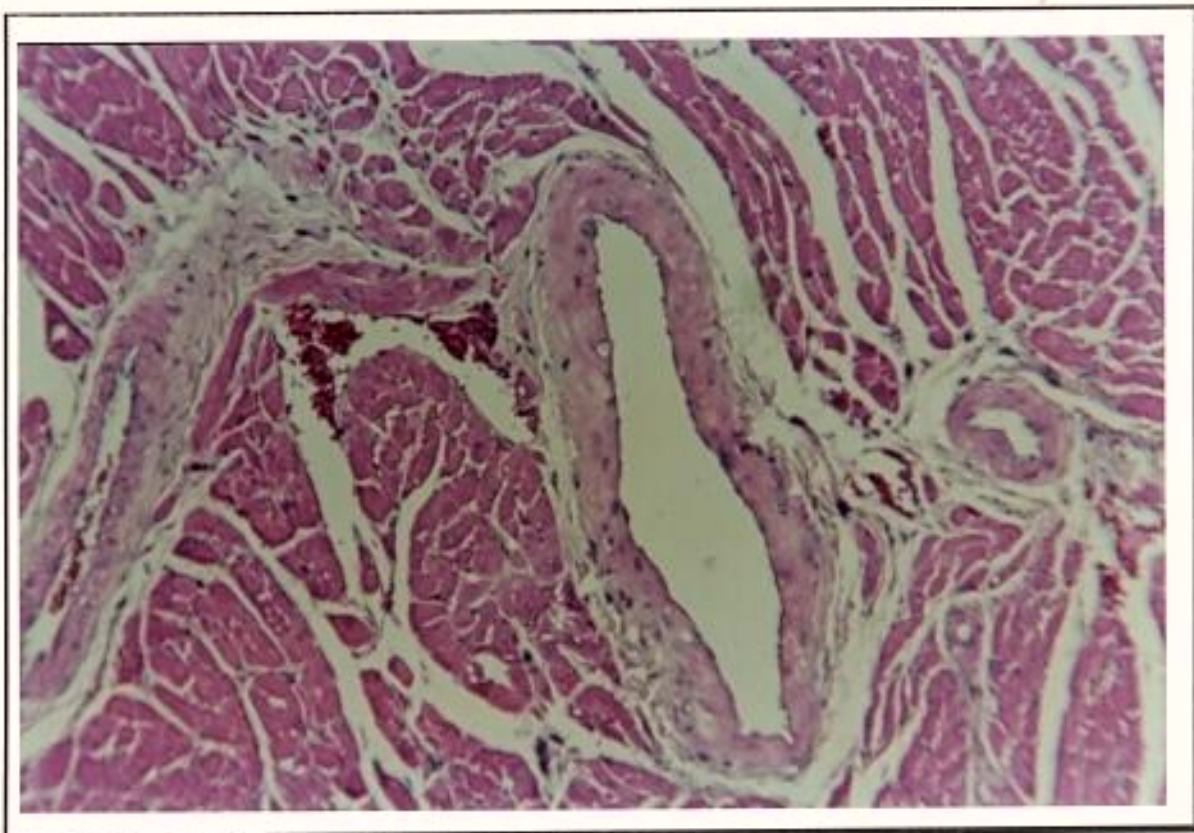


Figura 45 - Corte histológico corado por H.E, do miocárdio do rato 1, grupo SA de velhos, apresentando artéria coronária com parede hipertrofiada. 180 x.

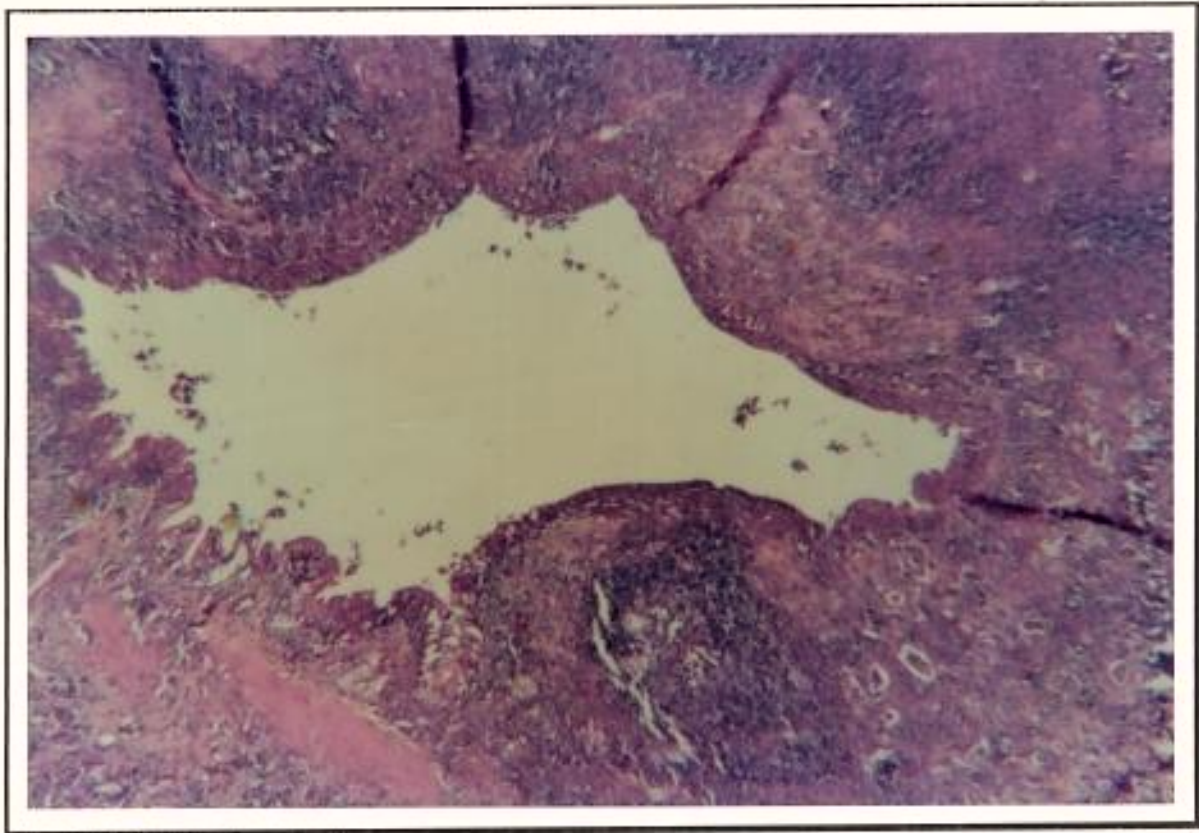


Figura 46 - Corte histológico corado por H.E., do pulmão do rato 2, grupo SI de velhos, apresentando características de processo inflamatório crônico (bronquiectasia). 180 x.

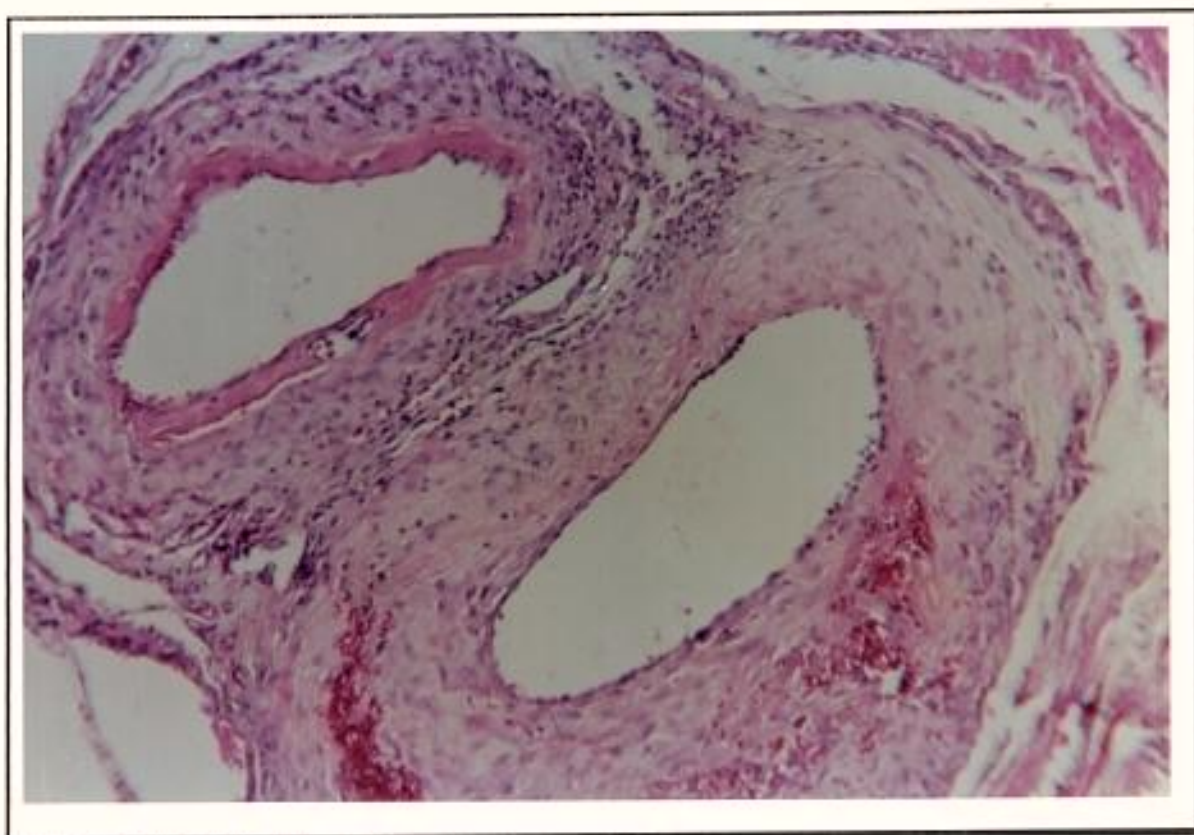


Figura 47 - Corte histológico corado por H.E., de miocárdio apresentando artérias coronárias com remodelamento das paredes, características de vasculite (Poliarterite nodosa, no rato). 180 x.

Exame ao Microscópio Eletrônico

Por meio da análise qualitativa, utilizando-se microscopia eletrônica, não foram evidenciadas alterações ultraestruturais do átrio esquerdo, que pudessem discriminar os animais jovens de velhos. Apenas, há que se mencionar a maior abundância de grânulos de lipofucsina no grupo de velhos comparativamente ao de jovens.

Discussão

DISCUSSÃO

Vários tipos de estímulos do meio interno ou do meio externo induzem respostas adaptativas dos organismos vivos. A magnitude e o espectro dessas respostas dependem do grau de novidade ou da ameaça que esses agentes provocam nos organismos. Para a manutenção da integridade do organismo, um conjunto de respostas fisiológicas são desencadeadas. Estas devem sempre ocorrer de forma que o organismo alcance um estado capaz de se adaptar aos estímulos vigentes. Este estado é conseguido às custas da atuação de um grande número de sistemas regulatórios. Toda essa reação orgânica, caracterizada por Hans Selye como *stress*, envolve um complexo de respostas fisiológicas, extensivas à todo o organismo, com destaque aos sistemas nervoso, endócrino, cardiovascular e metabólico.

A síndrome geral de adaptação é caracterizada por compreender uma considerável excitação dos centros vegetativos superiores, resultando na ativação dos sistemas adrenérgicos e do sistema hipófise-adrenal. Esta ativação provoca aumentos da concentração de catecolaminas e de glucocorticóides. As catecolaminas aumentam o débito cardíaco e mobilizam as reservas de glicogênio do fígado elevando a glicemia; elas também ativam a lipólise, promovendo um aumento na concentração sanguínea dos ácidos graxos. Por outro lado, os glucocorticóides ativam a gluconeogênese, as reações de transaminação e a conversão de aminoácidos em glicose, transformando as reservas estruturais do organismo em fonte de energia (MEERSON, 1984).

Os modelos animais empregados em laboratórios, para mimetizar as situações desencadeadoras da resposta de *stress* são vários. Estes incluem

situações que aparentemente apresentam: predomínio de sobrecarga física em relação à emocional (exercício físico agudo e treinamento físico, ambos de natação ou corrida); equivalência entre os componentes de sobrecarga física à emocional (imobilização, exposição ao frio, natação forçada); e estados onde a sobrecarga emocional predomina (ruídos sonoros) (RAAB, 1966).

A condição escolhida no presente estudo foi o modelo de natação de ratos, pelo fato deste já ser amplamente empregado na literatura (OSTMAN-SMITH, 1979). A experiência, com este tipo de modelo de *stress*, nos mostrou que a primeira vez que um rato é colocado na água, este apresenta reação de sobressalto. Inicialmente se debate, tentando localizar um ponto de apoio; não o encontrando, movimentando-se e flutua por instantes. Logo em seguida, propulSIONA as patas dianteiras para frente e consegue se deslocar horizontalmente na água. Além de nadar, ao mesmo tempo o rato apresenta comportamento exploratório em torno das paredes do tanque. Muitos deles submergem por períodos curtos, retornando rapidamente à superfície. A partir da segunda sessão diária de natação, de um modo geral, os animais apresentam uma atenuação da reação de sobressalto, similar ao processo de habituação. Deve ser enfatizado, que pela observação direta, não foi possível identificar qualquer diferença no modo de nadar, entre os animais jovens e velhos.

De um total de 26 animais que nadaram, somente 2 animais velhos sucumbiram. Este fato ocorreu durante o período inicial da segunda sessão de natação. Sendo que a causa mortis foi desconhecida em um e, no outro provocada por infarto do miocárdio, durante a sessão de natação. Merece menção, neste caso, o achado de vasculite das artérias coronárias, observadas no exame microscópico do tecido cardíaco.

O protocolo das sessões de natação empregados no presente

estudo foram baseados nos trabalhos de outros autores (SPADARI, 1985; SPADARI, DE MORAES, 1988; SPADARI, BORDIN, 1990). Duas razões foram determinantes desta escolha: 1) as indicações que esses estímulos induziram uma diminuição de 70% na concentração tissular de noradrenalina no átrio direito, e aumento concomitante, da ordem de 163%, na concentração plasmática da corticosterona. Parâmetros estes que sugerem, respectivamente, uma condição de hiperreatividade simpática e hiperfunção córtico-adrenal, compatíveis com uma resposta de *stress*; 2) como uma referência, dos padrões de resposta cronotrópica e inotrópica cardíaca apresentados, com esse protocolo de natação.

O sistema nervoso simpático é um dos principais reguladores da função miocárdica em animais e no homem. Por muitos anos, os receptores β foram considerados como população exclusiva, por meio dos quais às catecolaminas exerciam suas ações no músculo cardíaco. Entretanto, durante as duas últimas décadas, a partir do trabalho de WENZEL e SU (1966), a identificação farmacológica dos receptores α cardíacos e o seu papel funcional têm sido extensivamente estudada em várias espécies animais. Merecem destaques os trabalhos realizados por SKOMEDAL e seus colaboradores, que definitivamente demonstraram a contribuição dos receptores α_1 , na resposta inotrópica do músculo cardíaco de ratos, às catecolaminas, na ausência de bloqueadores β -adrenérgicos (ENDOH, SCHUMANN, KRAPPITZ, et al, 1976; SKOMEDAL, OSNES, OYE, 1982; SKOMEDAL, AASS, OSNES et al, 1986; SKOMEDAL, SCHIANDER, OSNES, 1988;). Estes autores estimaram, que aproximadamente 75% da resposta inotrópica à noradrenalina no músculo papilar de rato, seria mediada por receptores β e 25% via receptores α . Conclusão diversa é formulada por outros autores, que sugerem ser o miocárdio de rato predominantemente um sistema α_1 adrenérgico, com uma proporção de

receptores $\alpha_1 : \beta$, maior do que 2 : 1, e sem presença de receptores β_2 (WHITE, RODEN, MINOBE et al, 1994).

A responsividade adrenérgica cardíaca em animais e no homem, submetidos a estímulos agudos ou crônicos, que provocam hiperreatividade simpática, tem sido motivo de muitos estudos. Os principais pontos abordados do complexo sistema adrenérgico cardíaco são aqueles referentes à : 1) densidade e identificação da população de receptores por marcadores radioativos; 2) quantificação das respostas cronotrópicas e/ou inotrópicas por agonistas adrenérgicos.

Os dados disponíveis na literatura são ainda bastante conflitantes. De um lado, um conjunto de observações indicam uma diminuição do número de receptores adrenérgicos e/ou diminuição de resposta cronotrópica e inotrópica a agonistas (MOLÉ, 1978; WYATT, CHUCK, RABINOWITZ et al 1978; HAMMOND, WHITE, BRUNTON, et al 1987; WERLE, STROBEL, WEICKER , 1990). De outro lado, muitos trabalhos demonstram que não ocorrem alterações da densidade ou das respostas cardíacas a agonistas (OSTMAN-SMITH, 1979; WILLIAMS, 1980, 1985; MOORE, RIEDY, GOLLNICK, 1982; SVEDENHAG, 1985; MARTIN III, SPINA, KORTE et al 1991).

No presente trabalho buscou-se estudar os padrões de respostas inotrópicas à noradrenalina. A análise do conjunto dos resultados obtidos permitem considerar:

Em relação as medidas biométricas

Observa-se que existe um ganho de massa nos pesos corporal, cardíaco e atrial dos animais velhos em relação aos jovens, sendo que essa

diferença atingiu níveis de significância estatística. Essas observações estão de acordo com as indicações da literatura relativos ao aumento da massa com a idade. A análise da relação entre peso do coração e peso do corpo dos animais estudados mostrou-se comparáveis aos apresentados na literatura (BISHOP, 1980).

Estudo da Contratilidade

As preparações isoladas do músculo cardíaco se constituem em um sistema bastante adequado, para a mensuração das propriedades passivas e ativas da mecânica do miocárdio, incluindo a contratilidade. O átrio esquerdo de rato tem sido amplamente empregado, para se estudar os padrões das respostas cronotrópicas e inotrópicas, aos agonistas e antagonistas. O mesmo é válido no que se refere aos estudos da responsividade tecidual a situações de sobrecarga cardíaca. A peculiaridade de o tecido atrial ser pouco espesso e não oferecer barreira para difusão do oxigênio, permite que estas preparações sejam estáveis e duráveis, o que as torna particularmente convenientes para a realização de curvas dose-resposta. Entretanto, poucos e conflitantes são os resultados obtidos em átrios esquerdos de ratos submetidos à natação, no que se refere à análise dos padrões de respostas inotrópicas às catecolaminas. (NUTTER, FULLER, 1977).

No presente estudo, as preparações de átrios esquerdos foram arranjadas de modo a se obter os registros de contração isométrica. Dentre os vários parâmetros medidos para a análise das respostas inotrópicas, um dos escolhidos, por razões já explicitadas no item metodologia, foi a tensão máxima.

No que diz respeito a este parâmetro, os seus valores iniciais, nos

grupos SI e SA de jovens e velhos não diferiram dos respectivos controles, que não tinham se submetido ao estímulo de natação. Do mesmo modo GUARNIERI e colaboradores (1979), não observaram diferenças, nos valores controle da taxa máxima de desenvolvimento de força (dF / dt) do septo interventricular, de ratos jovens e velhos.

Apesar destes achados, observa-se uma grande variabilidade dos valores iniciais da tensão máxima desenvolvida, particularmente nos grupos jovens (C, SI, SA). A comparação desses resultados, tornou-se difícil, tendo-se em vista, a carência de dados brutos relativos ao desenvolvimento de força em preparação de átrio esquerdo.

Curvas Dose-Resposta

Os procedimentos empregados na realização das curvas dose-resposta foram os convencionais (VAN ROSSUN, 1963). As transformações da tensão máxima utilizadas neste trabalho foram necessárias, tendo-se em vista a grande variabilidade observada entre as respostas individuais. Elas tiveram a finalidade tornar possível as comparações entre as curvas dose-resposta obtidas em cada preparação.

Todas as curvas dose-resposta apresentaram um comportamento comparável à uma curva sigmóide. Nas doses máximas de NA observou-se uma redução da tensão; comportamento este considerado não mais representativo da faixa dose-resposta habitualmente estudada (possivelmente envolvendo mecanismos não conhecidos). As respostas inotrópicas dos grupos (C, SI e SA) de jovens não apresentaram diferenças nas faixas das curvas que permitem ajustes de retas. Ou seja, o SI e SA não induziram alterações nos padrões

de respostas, das curvas dose-resposta comparativamente aos animais do grupo controle.

Esses resultados são diferentes daqueles relatados por MARCONDES, SPADARI (1991), no que se refere à subsensibilidade do tecido atrial à noradrenalina. Embora, a duração dos estímulos empregados tenham sido 5 ms neste trabalho e não 1 ms, como ocorreu no presente, é pouco provável que esta diferença seja responsável pela contradição documentada.

Por outro lado, no estudo da sensibilidade cronotrópica do átrio direito à noradrenalina, de animais submetidos a natação por 50 minutos (SPADARI, 1985), não foram observadas diferenças em relação ao controle. Contudo, os protocolos de natação por 3 dias consecutivos (5, 15, 30 minutos) promoveram um deslocamento à direita (2,2 vezes), na curva dose-resposta à NA ($p < 0,05$).

As diferenças entre os padrões de resposta cronotrópica e inotrópica ao agonista fisiológico podem ser atribuídas à necessidade de ajustes mais rápidos, nos padrões relativos à frequência cardíaca do que os relativos à força de contração miocárdica. Em outras palavras, do ponto de vista cronotrópico, os estímulos de natação (5, 15 e 30 minutos), desencadearam no coração, adaptações do marca-passo, que permitem poupar, a curto prazo o trabalho cardíaco. De forma diferente, e por razões desconhecidas, esses mesmos estímulos não induziram mudanças nas respostas contráteis do átrio esquerdo.

Diversamente, os nossos resultados obtidos em animais velhos, no que se refere à análise das curvas dose-resposta dos grupos estudados (C, SI e SA) mostra um deslocamento paralelo da curva à direita, no grupo SA, comparativamente aos outros grupos (C, SI). Este resultado pode dar indicações que nos animais velhos, os estímulos provocativos, tais como a sessão aguda de

natação por 50 minutos, representem uma sobrecarga, que excede à capacidade de adaptação do coração (SELYE, 1965). A ausência deste comportamento no grupo SI, poderia ser decorrente do fato de neste modelo, as sobrecargas terem sido gradativas, de modo a permitir a emergência de padrões de resposta inotrópica mais adaptativos.

As observações dos valores das EC 50

Os valores das EC 50 não se apresentaram diferentes nos grupos (C, SI e SA) de animais jovens e de velhos. Porém, quando se comparou as EC 50 dos grupos controles de jovens versus velhos, observou-se uma diferença que se apresenta com significância estatística. A diferença detectada nesse parâmetro, obtido a partir da curva dose-resposta, pode ter explicações respaldadas na literatura, que apontam para a ocorrência de uma diminuição da responsividade adrenérgica em vários tecidos de animais velhos (LAKATTA, SPURGEON, 1987; LAKATTA, 1993; DOCHERTY, 1990; TUMER, SCARPACE, LOWENTHAL, 1992). Apesar, de ainda não estar bem estabelecido quais seriam os mecanismos determinantes dessa diminuição de responsividade, alguns autores sugerem que os fatores responsáveis por esta resposta contrátil às catecolaminas no coração senescente ocorra por conta dos mecanismos de transdução de sinal, ou seja em uma etapa posterior à ativação da proteína-quinase. Não obstante estas considerações, parece existir consenso nos trabalhos disponíveis na literatura, no que diz respeito ao declínio da responsividade miocárdica às catecolaminas, proporcionalmente ao aumento de idade cronológica (XIAO, LAKATTA, 1992; FOLKOW, SVANBORG, 1993; LAKATTA, 1993; 1995).

Tendo-se em vista, que a velhice determina *a priori*, um padrão de resposta diferente da juventude, todas as demais comparações, sob condição de estímulo (SI e SA) tornaram-se sem sentido.

Nesses animais, possivelmente o desgaste provocado pelo tempo de vida modificou as respostas inotrópicas às catecolaminas. Igualmente, McCARTY (1985) observou uma diminuição da capacidade de regulação dos sistemas simpato-adrenal e cardiovascular, em animais velhos (Fischer 344), expostos a estímulos provocativos, da resposta de *stress*. Dentro deste contexto o sistema adrenérgico cardíaco não é o único a apresentar declíneo das suas funções. O sistema hipófise-córtex-adrenal também tem sua capacidade de reserva funcional diminuída com o aumento da idade (SAPOLSKY, KREY, McEWEN, 1986).

Observações da Relação Força-Freqüência do Átrio-Esquerdo

A tensão desenvolvida pelo átrio esquerdo isolado de rato decaiu drasticamente, com o aumento da freqüência estimulatória. Este dado está de acordo com outros trabalhos da literatura, que demonstram que a força desenvolvida pelo tecido cardíaco *in vitro* é intimamente dependente dos valores da freqüência de estimulação, a que este tecido esteja sendo submetido. No rato adulto, a relação força-freqüência é monotônica e decrescente, mostrando-se diferente da maioria dos mamíferos, inclusive do homem (KOCH-WESER, BLINKS, 1963; LANGER, BRADY, TAN, 1975; BASSANI, 1987; PENEFSKY, 1994; ROSS, MIURA, KAMBAYASHI, et al, 1995).

A freqüência estimulatória de 5 Hz, utilizada na análise da tensão máxima desenvolvida, não conseguiu discriminar diferenças entre os átrios de animais jovens e velhos, em todas as condições estudadas. Ou seja, o

decaimento da força desenvolvida nesta freqüência estimulatória, não foi diferente em animais jovens e velhos. Considerando-se que nesta fase do experimento, as preparações estavam expostas à dose máxima de catecolamina, poder-se-ia especular se o, mesmo ocorreria se o átrio fosse estimulado nesta mesma freqüência, na ausência deste agonista.

Ritmicidade Espontânea

Os ritmos espontâneos que surgiram nas preparações de átrios esquerdos, durante a realização da curva dose-resposta, sempre ocorreram em doses de noradrenalina mais elevadas que 3×10^{-6} . As evidências experimentais indiretas obtidas da preparação sugerem ser este ritmo espontâneo decorrente de um aumento do automatismo atrial, tendo-se em vista: 1) as características de variações dos batimentos espontâneos, quando havia uma captura atrial, causada pela estimulação elétrica (durante o período em que o ritmo espontâneo surgiu com estimulação elétrica mantida à uma freqüência de 1 Hz); 2) desaparecimento do ritmo espontâneo, quando a freqüência de estimulação elétrica, atingia valores superiores aos daquele (BROOKS, HOFFMAN, SUCKLING, et al, 1955; HOFFMAN e CRANFIELD, 1960).

O surgimento de ritmo espontâneo foi mais frequente em jovens (5/7) do que em velhos (2/6). A ausência de significância estatística entre os grupos talvez tenha se devido ao pequeno número de animais estudados. As características do ritmo espontâneo, quanto aos valores de freqüência e dose de catecolamina que à induziu, também foram semelhantes nos jovens e velhos.

Merece comentário o achado de os valores de freqüência do ritmo espontâneo serem próximos aos valores da freqüência cardíaca no rato acordado,

em condições de repouso. Neste contexto, o significado do surgimento deste ritmo poderia, quiça, ser explicado pela ativação de células potencialmente marca-passos, que teriam o seu automatismo aumentado pela ação da noradrenalina. Ressalte-se, que a comparação dos nossos achados com os de outros autores, no que se refere ao aparecimento e características do ritmo espontâneo, não pôde ser conduzida pela inexistência, na literatura, de estudos a este respeito. A única menção a este achado, apenas enfatiza a impossibilidade de se estudar a força contrátil de preparações trabeculares, em concentrações de NA superiores à 8×10^{-6} M (LAKATTA, GERSTENBLITH, ANGELL et al 1975), devido ao surgimento de ritmo espontâneo. Apesar de o tipo de preparação utilizada não ser a mais apropriada para o estudo do ritmo atrial, uma vez que este é analisado a partir das alterações da força contrátil e não por registro direto da atividade elétrica, ele foi útil no sentido de possibilitar, que uma montagem experimental configurada para o estudo da contratilidade cardíaca, também pudesse ser usada para um estudo preliminar das alterações de ritmo induzidas pela NA.

Análise Morfológica

As características morfológicas do átrio esquerdo, observados ao microscópico óptico, não apresentam diferenças marcantes entre jovens e velhos. Entretanto, em relação ao miocárdio ventricular, as diferenças entre jovens e velhos são nítidas. A presença de focos cicatriciais e de substituição do tecido muscular por tecido fibroso são características morfológicas frequentes no coração de animais velhos. Embora, estes achados tenham sido obtidos a partir de uma análise qualitativa, eles são concordantes com os relatados por

ANVERSA, PALACKAL, SONNENBLICK e colaboradores (1990), que conduziram estudo bastante minucioso, no que diz respeito, à morfologia cardíaca comparativa entre jovens e velhos.

Embora tenha sido feita uma cuidadosa análise qualitativa nos cortes ultra-finos de átrio esquerdo, não foram detectadas diferenças entre animais jovens e velhos. A ausência de alterações morfológicas não pode ser interpretada como definitiva, tendo-se em vista o pequeno número de átrios esquerdos observados (quatro de jovens e três de velhos). Além do que para uma observação mais acurada seria conveniente o emprego de análise morfométrica, o que possibilitaria a detecção de diferenças mais sutis entre os grupos estudados.

No entanto, há que se destacar o fato de que, embora, não tenham ocorrido diferenças morfológicas significativas no átrio esquerdo entre os grupos estudados, documentou-se nítidas alterações estruturais no miocárdio ventricular dos animais idosos.

Sumarizando, os resultados de contratilidade do átrio esquerdo à NA, não apresentaram diferenças nas condições C, SI e SA de animais jovens e de velhos. No entanto essa diferença apareceu, quando se comparou a responsividade do átrio esquerdo à NA, nas condições controle de animais jovens e velhos. Por outro lado, os aspectos morfológicos do átrio esquerdo, observados ao microscópio óptico e eletrônico, não apresentaram características que discriminassem o tecido atrial de jovens e velhos.

Assim sendo, o estudo da contratilidade em preparação de átrio esquerdo isolado mostrou-se útil, no sentido de evidenciar diferenças entre as duas amostras estudadas.

Conclusão

CONCLUSÕES

Em relação ao estudo das respostas contráteis do átrio esquerdo à estimulação adrenérgica em ratos jovens e velhos, submetidos a estímulos provocativos (natação), pode-se concluir que:

- os valores iniciais da tensão máxima (antes das doses de NA) não são diferentes nas condições dos grupos (C, SI e SA), em animais jovens e velhos;
- as curvas dose-resposta à NA assemelharam-se a uma curva sigmóide. Os padrões dessas curvas nos grupos (C, SI e SA) de jovens foram similares. No grupo SA de velhos, a curva dose-resposta à NA deslocou-se para direita, representando uma diminuição da responsividade atrial.
- os estímulos provocativos de natação não induziram mudanças nos valores das EC 50 nas curvas dose-resposta à NA, nas amostras de animais jovens e velhos.
- os valores das EC 50 dos grupos controles, de jovens e velhos, são diferentes entre si, indicando um declínio da responsividade adrenérgica em função da idade.

- a análise da tensão máxima desenvolvida, sob frequência de estimulação de 5Hz, não permitiu discriminar características particulares dos átrios de animais jovens ou velhos.
- os ritmos espontâneos que surgiram nas preparações atriais sob doses mais elevadas de NA, parecem ocorrer, na ausência de estímulo provocativo (natação), em maior proporção nos animais jovens do que nos velhos.
- o ritmo espontâneo foi sempre induzido por concentrações comparáveis de NA nos grupos de animais jovens e de velhos e os valores de frequência foram também semelhantes, independentemente da ausência ou presença de estímulo provocativo.
- o aspecto morfológico do tecido atrial esquerdo, dos animais jovens não se mostrou diferente dos animais velhos.
- a morfologia do tecido miocárdico ventricular dos animais jovens, está bastante preservada em relação a dos velhos. Estes apresentaram no miocárdio ventricular, vários pontos de cicatrizes focais, com regiões extensas de substituição do tecido muscular por tecido fibroso cicatricial.

Referências Bibliográficas

BIBLIOGRAFIA

- AHLQUIST, R.P. A study of the adrenotropic receptors. **Am. J. Physiol.**, v. 153, p. 86-600, 1948.
- ANVERSA, P.; PALACKAL, T.; SONNENBLICK, E.H. et al. Myocyte cell loss and myocyte cellular hyperplasia in the hypertrophied aging rat heart. **Circ. Res.**, v. 67, n. 4, p. 871-885, 1990.
- BAKER, P.T. An evolutionary perspective on environmental physiology. In: SLONIM, N.B. **Environmental Physiology**. Saint Louis: C. V. Mosby, 1974, 573 p., p. 510-522.
- BASSANI, J.W.M. **Caracterização qualitativa e quantitativa do efeito de soluções hiperosmóticas de NaCl sobre a força contrátil do tecido cardíaco isolado de rato**. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 1987. 147 p. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Faculdade de Engenharia Elétrica, Universidade Estadual de Campinas, 1987.
- BENFEY, B.G. Function of myocardial alpha-adrenoceptors. **Life Sci.**, v. 31, n. 2, p. 101-112, 1982.

BESCH, E.L. Environmental variables and animal needs. In: ROLLIN, B.E.; KESEL, M.L. **The Experimental Animal in Biomedical Research. A Survey of Scientific and Ethical Issues for Investigators.** Florida: CRC Press, 1990, v.I, chapt. 8, p.113-131.

BISHOP, S.P. Cardiovascular research. In: BAKER, H.J.; LINDSEY, J.R.; WEISBROTH, S.H. **The Laboratory Rat.** New York: Academic Press, 1980, v. II, chapt. 8, p. 161-179.

BLINKS, J.R. Convenient apparatus for recording contractions of isolated heart muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 20, p. 755-757, 1965.

BOOTH, F.W.; THOMASON, D.B. Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. **Physiol. Rev.**, v. 71, n. 2, p. 541-585, 1991.

BRISTOW, M.R.; HERSHBERGER, R.E.; PORT, J.D. et al. β -Adrenergic pathways in nonfailing and failing human ventricular myocardium. **Circulation**, v. 82, n. 2, p. I12-I25, 1990. Supplementum I.

BRODDE, O.-E. β 1- and β 2- adrenoceptors in the human heart: properties, function, and alterations in chronic heart failure. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, n. 2, p. 203-242, 1991.

BROOKS, C. McC.; HOFFMAN, B.F.; SUCKLING, E.E. et al. **Excitability of the heart.** New York and London: Grune & Stratton, 1955, p.256.

BUREK, J.D.; HOLLANDER, C.F. Experimental gerontology. In: BAKER, H.J.; LINDSEY, J.R.; WEISBROTH, S.H. **The Laboratory Rat**. New York: Academic Press, 1980, v. II, chapt. 7, p. 149-159.

BYLUND, D.B. Subtypes of α -1 and α -2 adrenergic receptors. **Faseb J.**, v. 6, n. 3, p. 832-839, 1992.

BYLUND, D.B.; EIKENBERG, D.C.; HIEBLE, J.P. et al. IV International union of pharmacology nomenclature of adrenoceptors. **Pharmacol. Rev.**, v. 46, n. 2, p. 121-136, 1994.

CANNON, W.B. **The Wisdom of the Body**. New York : W.W. Norton & Company, 1939. 333 p.

CARLSSON, E.; ABLAD, B.; BRANDSTROM, A. et al. Differentiated blockade of the chonotropic effects of various adrenergic stimuli in the cat heart. **Life Sci.**, v. 11, p. 953-958, 1972.

CARLTON, W.W.; ENGELHARDT, J.A. Polyarteritis, rat. In: JONES, T.C., MOHR, U, HUNT, R.D. **Cardiovascular and Musculoskeletal Systems. Monographs on Pathology of Laboratory Animals. Cardiovascular System, Vasculature. Non-Neoplastic Lesions**. Berlim: Springer-Verlag, 1991, p. 70-83.

- CIARALDI, J. ; MARINETTI, G.V. Thyroxine and propylthiouracil effects in vivo on alpha and beta adrenergic receptors in rat heart. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 74, n. 3, p. 984-991, 1977.
- COTECCHIA, S. ; DE BLASI, A. Glucocorticoids increase beta-adrenoceptors in human intact lymphocytes "in vitro". **Life Sci.**, v. 35, p. 2359-2364, 1984.
- COX, R.H. ; HUBBARD, J.W.; LAWLER, J.E et al. Cardiovascular and sympathoadrenal responses to stress in swim-trained rats. **J. Appl. Physiol.**, v. 58, n. 4, p. 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**, v. 108, n. 2, p. 720-722, 1981.
- DAVIES, A.O.; LEFKOWITZ, R.J. Regulation of beta-adrenergic receptors by steroids hormones. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 46, p. 119-130, 1984.
- DOCHERTY, J.R. Cardiovascular responses in ageing: a review. **Pharmacol. Rev.**, v. 42, n. 2, p. 103-125, 1990.
- ENDO, M.; SCHUMANN, H.J.; KRAPPITZ, N. et al. Alpha-adrenoceptors mediating positive inotropic effects on the ventricular myocardium: some aspects of structure - activity relationship of sympathomimetic amines. **Jap. J. Pharmacol.**, v. 26, p. 179-190, 1976.

EULER, V.S.; FRANCKSSON, C. ; HELLSTRO, J. Adrenaline and noradrenaline out put in urine after unilateral and bilateral adrenalectomy in man. **Acta Physiol. Scand.**, v. 31, p. 1-5, 1954.

FEDIDA, D.; BRAUN, A.P.; GILES, W.R. α 1- Adrenoceptors in myocardium: functional aspects and transmembrane signaling mechanisms. **Physiol. Rev.**, v. 73, n. 2, p. 469-487, 1993.

FLAIM, S.F.; MINTEER, W.J.; CLARK, D.P. et al. Cardiovascular response to acute aquatic and treadmill exercise in the untrained rat. **J. Appl. Physiol.**, v. 46, n. 2, p. 302-308, 1979.

FOLKOW, B.; SVANBORG, A. Physiology of cardiovascular aging. **Physiol. Rev.**, v. 73, n. 4, p. 725-764, 1993.

GEENEN, D.; BUTTRICK, P.; SCHEUER, J. Cardiovascular and hormonal responses to swimming and running in the rat. **J. Appl. Physiol.**, v. 65, n. 1, p. 116-123, 1988.

GLAUBIGER, C. ; LEFKOWITZ, R.J. Elevated beta-adrenergic receptor number after chronic propranolol treatment. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 78, p. 720-725, 1981.

GUARNIERI, T.; FILBURN, C. ; ZITNIK, G. et al. Diminished contractile response to catecholamines in senescent myocardium, but unaltered β -receptors, cyclic AMP, or protein kinase activation. **Clin. Res.**, v. 27, p. 1A; 172A, 1979.

GUARNIERI, T.; FILBURN, C.R.; ZITNIK, G. et al. Contractile and biochemical correlates of β -adrenergic stimulation of the aged heart. **Am. J. Physiol.**, v. 239, n. 8, p. H501-H508, 1980.

HAMMOND, H.K.; WHITE, F.C.; BRUNTON, L.L. et al. Association of decreased myocardial β -receptors and chronotropic response to isoproterenol and exercise in pigs following chronic dynamic exercise. **Circ. Res.**, v. 60, n. 5, p. 720-726, 1987.

HARPUR, R.P. The rat as model for physical fitness studies. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 66A, p. 553-574, 1980.

HARRISON, D.C. Beta-blockers and exercise: physiologic and biochemical definitions and new concepts. **Am. J. Cardiol.**, v. 55, n. 10, p. 29D-33D, 1985.

HASHIMOTO, H.; NAKASHIMA, M.; SUGINO, N. Age-dependent differences in the positive inotropic effect of phenylephrine on rat isolated atria. **Br. J. Pharmacol.**, v. 79, p. 499-507, 1983.

HAWKINS, D.F. Studies on veratrum alkaloids. XXXIV. Actions of veratramine on spontaneously beating guinea-pig atrium preparations. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 137, p. 306-312, 1962.

HOFFMAN, B.F.; CRANFIELD, P.F. **Electrophysiology of the heart.** New York, Toronto, and London: McGraw-Hill, 1960, p.107 and 131.

HOFFMAN, B.B. ; LEFKOWITZ, R.J. Adrenergic receptors in the heart. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 44, p. 475-484, 1982.

KAJIYAMA, H.; OBARA, K.; NOMURA, Y. et al. The increase of cardiac beta-1 subtype of beta-adrenergic receptors in adult rats following neonatal 6-hydroxydopamine treatment. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 77, p. 75-77, 1982.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde fixative heigh osmolality for use in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, v. 27, p. 137A, 1965.

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

KENAKIN, T.P. The classification of drugs and drugs receptors in isolated tissues. **Pharmacol. Rev.**, v. 36, n. 3, p. 165-222, 1984.

KOCH-WESER, J.; BLINKS, J.R. Effect of rate changes on strength and time course of contraction of papillary muscle. **Am. J. Physiol.**, v. 204, n. 3, p. 451-457, 1963.

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.**, v. 334, p. 275-281, 1986.

LAKATTA, E.G.; GERSTENBLITH, G.; ANGELL, C.S. et al. Diminished inotropic response of aged myocardium to catecholamines. **Circ. Res.**, v. 36, p. 262-269, 1975.

LAKATTA, E.G.; SPURGEON, H.A. Effect of exercise on cardiac muscle performance in aged rats. **Fed. Proc.**, v. 46, n. 5, p. 1844-1849, 1987.

LAKATTA, E.G. Cardiovascular regulatory mechanisms in advanced age. **Physiol. Rev.**, v. 73, n. 2, p. 413-467, 1993.

LAKATTA, E.G. Cardiovascular system. In: MASORO, E.J. **Handbook of Physiology. Aging.** Oxford: Oxford University Press, 1995, sect. 11, chapt. 17, p. 413-474.

LANDS, A.M.; ARNOLD, A.; McAULIFF, J.P. et al. Differentiation of receptors systems activated by sympathomimetic amines. **Nature**, London, v. 214, p. 597-598, 1967.

LANGER, S.Z. Presynaptic regulation of the release of catecholamine release. **Biochem. Pharmacol.**, v. 23, p. 1793-1800, 1974.

LANGER, G.A.; BRADY, A.J.; TAN, S.T. et al. Correlation of the glycoside response, the force staircase, and the action potential configuration in the neonatal rat heart. **Circ. Res.**, v. 36, p. 744-752, 1975. Apud PENEFSKY, Z.J. The determinants of contractility in the heart. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 109A, n. 1, p. 1-22, 1994.

LANGER, S.Z. Presynaptic regulation of the release of catecholamines. **Pharmacol. Rev.**, v. 32, p. 337-362, 1981.

MAHAN, L.C.; MAKERNAN, R.M. ; INSEL, P.A. Metabolism of alpha and beta-adrenergic receptors in vitro and in vivo. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 27, p. 215-235, 1987.

MARCONDES, F.K.; SPADARI, R.C. **Sensibilidade à catecolaminas em átrios esquerdos isolados de ratos submetidos a estresse por natação.** Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 1991. 28 p. Relatório (Mestrado em Fisiologia e Biofísica) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1991.

MARTIN III, W.H.; SPINA, R.J.; KORTE, E. et al. Effects of chronic and acute exercise on cardiovascular β -adrenergic responses. **J. Appl. Physiol.**, v. 71, n. 4, p. 1523-1528, 1991.

MAZZEO, R.S. Catecholamine responses to acute and chronic exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 23, n. 7, p. 839-845, 1991.

McARDLE, W.D. Metabolic stress of endurance swimming in the laboratory rat. **J. Appl. Physiol.**, v. 22, n. 1, p. 50-54, 1967.

- McCARTY, R. Sympathetic-adrenal medullary and cardiovascular responses to acute cold stress in adult and aged rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 12, p. 15-22, 1985.
- MEERSON, F.Z. **Adaptation, stress and prophylaxis**. Berlim : Springer-Verlag, 1984, 329 p.
- MICKEY, J.; TATE, R. ; LEFKOWITZ, R.J. Subsensitivity of adenylate-cyclase and decreased beta-adrenergic receptor binding after chronic exposure to isoproterenol "in vivo" . **J. Biol. Chem.**, v. 250, p. 2727-2729, 1975.
- MINNEMAN, K.P.; HEDBERG, A.; MOLINOFF, P.B. Comparison of beta adrenergic receptor subtypes in mammalian tissues. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 221, n.3, p. 502-508, 1979.
- MINNEMAN, K.P.; PITTMAN, R.N.; MOLINOFF, P.B. Beta-adrenergic receptor subtypes: properties, distribution, and regulation. **Ann. Rev. Neurosci.**, v. 4, p. 419-461, 1981.
- MOLÉ, P.A. Increased contractile potential of papillary muscles from exercise-trained rat hearts. **Am. J. Physiol.**, v. 234, n. 4, p. H421-H425, 1978.
- MOORE, R.L.; RIEDY, M.; GOLLNICK, P.D. Effect of training on β -adrenergic receptor number in rat heart. **J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise Physiol.**, v. 52, n. 5, p. 1133-1137, 1982.

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**, v. 9, n. 4, p. 239-245, 1977.

OSNES, J-B.; SKOMEDAL, T.; REFSUM, H. et al. A method for describing the contraction-relaxation cycle of heart muscle by recording isometric tension, its first and second derivatives, applied to beta-adrenergic effects. **Acta Physiol. Scand.**, p. 91, 1976. Supplementum 440.

OSNES, J-B.; REFSUM, H.; SKOMEDAL, T. et al. Qualitative differences between beta-adrenergic and alpha-adrenergic inotropic effects in rats heart muscle. **Acta Pharmacol. Toxicol.**, v. 42, p. 235-247, 1978.

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 cardiac sympathetic nerves in the genesis of compensatory cardiac hypertrophy. **Acta Physiol. Scand.**, p. 1-118, 1979. Supplementum 477.

PENEFSKY, Z.J. The determinants of contractility in the heart. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 109A, n. 1, p. 1-22, 1994.

PÉRONNET, F.; NADEAU, R.A.; DE CHAMPLAIN, J. et al. Exercise plasma catecholamines in dogs: role of adrenals and cardiac nerve endings. **Am. J. Physiol.**, v. 241, p. H243-H247, 1981.

PROSSER, C. L. Perspectives of adaptation: theoretical aspects. In: DILL, D.B. **Handbook of Physiology. Adaptation to the Environment.** Washington: American Physiological Society, 1964, sect. 4, chapt. 2, p. 11-25.

RAAB, W. Emotional and sensory stress factors in myocardial pathology. **Am. Heart J.**, v. 72, n. 4, p. 538-564, 1966.

RICHTER, E.A.; GALBO, H.; SONNE, B. et al. Adrenal medullary control of muscular and hepatic glycogenolysis and of pancreatic hormonal secretion in exercising rats. **Acta Physiol. Scand.**, v. 108, p. 235-242, 1980.

ROSS Jr., J.; MIURA, T.; KAMBAYASHI, M. et al. Adrenergic control of the force-frequency relation. **Circulation**, v. 92, p. 2327-2332, 1995.

SAPOLSKY, R.M.; KREY, L.C.; McEWEN, B.S. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. **Endocr. Rev.**, v. 7, n. 3, p. 284-301, 1986.

SCARPACE, P.J. ; ABRASS, I.B. Desensitization of adenylyate-regulation of beta-adrenergic receptors after "in vivo" administration of beta agonists. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 233, p. 327-331, 1982.

SCARPACE, P.J. Decrease β -adrenergic responsiveness during senescence. **Fed. Proc.**, v. 45, n. 1, p. 51-54, 1986.

SELYE, H. **The stress of life.** Auckland: Mc Graw-Hill, 1956. 324p.

- SELYE, H. **Stress : A tensão da vida.** 2.ed. São Paulo : IBRASA, 1965. 351 p.
- SEVERSON, J.A.; PITTMAN, R.N.; GAL, J.; et al. Genetic influence on the regulation of beta-adrenergic receptors in mice. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 236, p. 24-29, 1986.
- SKOMEDAL, T.; AASS, H.; OSNES, J.B. et al. Demonstration of an alpha adrenoceptors-mediated inotropic effect of norepinephrine in human atria. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 236, n. 2, p. 441-446, 1986.
- SKOMEDAL, T.; OSNES, J.B.; OYE, I. Differences between alpha-adrenergic and beta- adrenergic inotropic effects in rat heart papillary muscles. **Acta Pharmacol. Toxicol.**, v. 50, p. 1-12, 1982.
- SKOMEDAL, T. ; SCHIANDER, I.G.; OSNES, J.B. Both alpha and beta adrenoceptor-mediated components contribute to final inotropic response to norepinephrine in rat heart. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 247, p. 1204-1210, 1988.
- SNAVELY, M.D.; MOTULSKY, H.J.; MOUSTAFA, E. et al. Beta-adrenergic subtypes in the rat renal cortex: selective regulation of beta-adrenergic receptors by pheochromocytoma. **Circ. Res.**, v. 51, p. 504-513, 1982.

SNAVELY, M.D.; ZIEGLER, M.G.; INSEL, P.A. Sub-type selective down-regulation of rat renal cortical alpha and beta-adrenergic receptors by catecholamines. **Endocrinology**, v. 117, p. 2182-2189, 1985.

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

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.**, v. 19, n. 4, p. 553-557, 1988.

SPADARI, R.C.; BORDIN, S. Resposta inotrópica à isoprenalina em átrios esquerdos isolados de ratos submetidos a estresse por natação. In: V REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL. Caxambú: 1990. **Anais...** Ribeirão Preto: Legis Summa, 1990, p. 326.

SPORN, J.R.; HARDEN, T.K.; WOLFE, B.B. et al. Beta-adrenergic receptor involvement in 6-hydroxydopamine supersensitivity in rat cerebral cortex. **Nature**, London, v. 194, p. 624-626, 1976.

STARKE, K. ; LANGER, S.Z. A note on terminology for presynaptic receptors. In: LANGER, S.Z.; STARKE, K. , DUBOCOVICH, M.L. Presynaptic Receptors, Oxford : Pergamon Press, 1979. p. 1-3. Appud STARKE, K. α - Adrenoceptor subclassification. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, v. 88, p. 199-231, 1981.

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

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**, v. 115, p. 1329-1400, 1984.

SVEDENHAG, J. The sympatho-adrenal system in physical conditioning: significance for training-induced adaptations and dependency on the training state. **Acta Physiol. Scand.**, v. 125, p. 1-73, 1985. Supplementum 543.

TERZIC, A.; PUCÉAT, M.; VASSORT, G. et al. Cardiac α 1- adrenoceptors: an overview. **Pharmacol. Rev.**, v. 45, n. 2, p. 147-175, 1993.

TSE, J.; POWELL, J.R.; BASTE, C.A. et al.. Isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: modifications in characteristics of beta-adrenergic receptor, adenylate-cyclase and ventricular contraction. **Endocrinology**, v. 105, p. 246-255, 1979.

- TUMER, N.; SCARPACE, P.J.; LOWENTHAL, D.T. Geriatric pharmacology: basic and clinical considerations. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 32, p. 271- 302, 1992.
- VAN ROSSUM, 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. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 143, p. 229-330, 1963.
- WEINDRUCH, R. Animal models. In: MASORO, E.J. **Handbook of Physiology: Aging** . Oxford: Oxford University Press, 1995, sect. 11, chapt. 3, p. 37-52.
- WENZEL, D.G.; SU, J.L. Interactions between sympathomimetic amines and blocking agents on the rat ventricule strip. **Arch. Int. Pharmacodyn.**, v. 160, n. 2, p. 379-389, 1966.
- WERLE, E.O., STROBEL, G.; WEICKER, H. Decrease in rat cardiac beta₁ - and beta₂ -adrenoceptors by training and endurance exercise. **Life Sci.**, v. 46, n. 1, p. 9-17, 1990.
- WHITE, M.; RODEN, R.; MINOBE, W. et al. Age-related changes in β -adrenergic neuroeffector systems in the human heart. **Circulation**, v. 90, p. 1225-1238, 1994.

WILLIAMS, R.S. Physical conditioning and membrane receptors for cardio regulatory hormones. **Cardiovasc. Res.**, v. 14, p. 177-182, 1980.

WILLIAMS, R.S. Role of receptor mechanisms in the adaptative response to habitual exercise. **Am. J. Cardiol.**, v. 55, p. 68D-73D, 1985.

WYATT, H.L.; CHUCK, L.; RABINOWITZ, B. et al. Enhanced cardiac response to catecholamines in physically trained cats. **Am. J. Physiol.**, v. 234, n. 5, p. H608-H613, 1978.

XIAO, R-P.; LAKATTA, E.G. Deterioration of β -adrenergic modulation of cardiovascular function with aging. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 673, p. 293-309, 1992.

Apêndice

**Tabelas com os dados biométricos
dos animais estudados**

Tabela 1 - Dados biométricos de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS					
GRUPO CONTROLE					
Animal	Idade	Peso Rato	Peso Coração	Peso AE	Razão PC/PA
(Nº)	(dias)	(g)	(g)	(g)	(mg/g)
rato 1	93	396	1.1105	0.0191	0.0028
rato 2	89	340	1.0649	0.0198	0.0031
rato 3	96	343	1.0200	0.0240	0.0030
rato 4	97	346	1.0210	0.0244	0.0030
rato 5	98	323	0.9652	0.0259	0.0030
rato 6	102	326	1.0197	0.0294	0.0031
rato 7	82	319	0.9753	0.0253	0.0031
média	93.9	341.9	1.02523	0.02399	0.00300
d. p.	6.6	26.1	0.05003	0.00357	0.00011
mínimo	82	319	0.9652	0.0191	0.0028
máximo	102	396	1.1105	0.0294	0.0031
mediana	96	340	1.0200	0.0244	0.0030

AE → Átrio Esquerdo, PC/PA → Peso do Coração/Peso do Animal

Tabela 2 - Dados biométricos de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS					
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE					
Animal	Idade	Peso Rato	Peso Coração	Peso AE	Razão PC/PA
(N ^o)	(dias)	(g)	(g)	(g)	(mg/g)
rato 1	95	388	1.1007	0.0186	0.0028
rato 2	85	286	0.9206	0.0247	0.0032
rato 3	91	352	1.1360	0.0285	0.0032
rato 4	91	278	0.9290	0.0164	0.0033
rato 5	97	313	0.8890	0.0183	0.0028
rato 6	99	344	0.9917	0.0237	0.0029
rato 7	83	418	1.2914	0.0214	0.0031
rato 8	85	311	0.9616	0.0262	0.0031
média	90.75	336.3	1.02750	0.02223	0.00307
d. p.	5.99	48.9	0.13769	0.00425	0.00019
mínimo	83	278	0.8890	0.0164	0.0028
máximo	99	418	1.2914	0.0285	0.0033
mediana	91	328.5	0.9767	0.0226	0.0031

AE → Átrio Esquerdo, PC/PA → Peso do Coração/Peso do Animal

Tabela 3 - Dados biométricos de animais jovens do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS JOVENS					
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO					
Animal	Idade	Peso Rato	Peso Coração	Peso AE	Razão PC/PA
(N°)	(dias)	(g)	(g)	(g)	(mg/g)
rato 1	94	386	1.1247	0.0241	0.0029
rato 2	86	349	1.0240	0.0190	0.0029
rato 4	96	364	1.0912	0.0239	0.0030
rato 5	98	314	0.9214	0.0274	0.0029
rato 6	102	348	1.0526	0.0256	0.0030
rato 7	82	363	1.1562	0.0270	0.0032
média	93.0	354.0	1.06168	0.02450	0.00300
d. p.	7.6	23.9	0.08362	0.00305	0.00010
mínimo	82	314	0.9214	0.0190	0.0029
máximo	102	386	1.1562	0.0274	0.0032
mediana	95	356	1.0719	0.0249	0.0030

AE → Átrio Esquerdo, PC/PA → Peso do Coração/Peso do Animal

Tabela 4 - Dados biométricos de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS					
GRUPO CONTROLE					
Animal	Idade	Peso Rato	Peso Coração	Peso AE	Razão PC/PA
(Nº)	(dias)	(g)	(g)	(g)	(mg/g)
rato 1	867	319	1.1994	0.0322	0.0038
rato 2	873	403	1.1593	0.0294	0.0029
rato 3	879	396	1.3346	0.0278	0.0034
rato 4	880	419	1.3443	0.0401	0.0032
rato 5	887	450	1.5213	0.0685	0.0034
rato 6	896	494	1.2867	0.0450	0.0026
média	880.3	413.5	1.30760	0.04050	0.00320
d. p.	10.2	58.6	0.12797	0.01522	0.00041
mínimo	867	319	1.1593	0.0278	0.0026
máximo	896	494	1.5213	0.0685	0.0038
mediana	879.5	411	1.3107	0.0362	0.0033

AE → Átrio Esquerdo, PC/PA → Peso do Coração/Peso do Animal

Tabela 5 - Dados biométricos de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS					
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE					
Animal	Idade	Peso Rato	Peso Coração	Peso AE	Razão PC/PA
(N°)	(dias)	(g)	(g)	(g)	(mg/g)
rato 1	869	387	1.2473	0.0284	0.0032
rato 2	874	425	1.2597	0.0238	0.0030
rato 3	881	498	1.7428	0.0408	0.0035
rato 5	883	464	1.6320	0.0403	0.0035
rato 6	888	452	1.6873	0.0540	0.0037
rato 7	888	516	1.5456	0.0443	0.0030
média	880.5	457	1.51912	0.0386	0.00332
d. p.	7.7	47.2	0.21584	0.0110	0.00031
mínimo	869	387	1.2473	0.0238	0.0030
máximo	888	516	1.7428	0.0540	0.0037
mediana	882	458	1.5888	0.0406	0.0034

AE → Átrio Esquerdo, PC/PA → Peso do Coração/Peso do Animal

Tabela 6 - Dados biométricos de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO					
Animal	Idade	Peso Rato	Peso Coração	Peso AE	Razão PC/PA
(N°)	(dias)	(g)	(g)	(g)	(mg/g)
rato 1	868	447	1.4060	0.0422	0.0031
rato 2	872	356	1.0884	0.0309	0.0031
rato 5	880	465	1.4914	0.0454	0.0032
rato 6	886	436	1.3239	0.0281	0.0030
rato 7	886	469	1.3667	0.0353	0.0029
rato 8	896	516	1.4047	0.0345	0.0027
média	881.3	448.2	1.34685	0.03606	0.00301
d. p.	10.3	52.8	0.13817	0.00661	0.00017
mínimo	868	356	1.0884	0.0281	0.0027
máximo	896	516	1.4914	0.0454	0.0032
mediana	883	456	1.3857	0.0349	0.0030

AE → Átrio Esquerdo, PC/PA → Peso do Coração/Peso do Animal

**Tabelas com os valores dos parâmetros medidos
no ciclo contração-relaxamento**

Tabela 7 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS							
GRUPO CONTROLE							
T max (gf)							
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	1,6	1,0	0,9	1,3	0,5	1,0	1,6
3,00E-09	1,6	1,0	0,9	1,3	0,5	1,0	1,6
1,00E-08	1,6	1,1	0,9	1,4	0,5	1,0	1,6
3,00E-08	1,7	1,4	1,0	1,5	0,5	1,0	1,7
1,00E-07	1,8	1,6	1,1	1,7	0,7	1,2	1,9
3,00E-07	2,0	#N/D	1,4	1,8	0,8	1,4	2,1
1,00E-06	2,1	#N/D	1,4	1,8	0,8	1,5	2,3
3,00E-06	#N/D	#N/D	#N/D	1,8	#N/D	1,6	2,3
1,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	1,6	2,3
3,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	1,6	2,3
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	1,5	2,2

#N/D → dado não disponível

Tabela 8 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS								
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE								
T max (gf)								
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	0,5	1,0	1,4	0,7	0,8	1,5	0,3	1,8
3,00E-09	0,5	1,0	1,5	0,7	0,8	1,5	0,3	1,8
1,00E-08	0,5	1,0	1,8	0,8	0,8	1,5	0,3	1,8
3,00E-08	0,6	1,1	2,1	0,9	0,9	1,6	0,3	1,9
1,00E-07	0,6	1,3	2,5	1,0	0,9	1,9	0,4	2,1
3,00E-07	0,7	1,5	2,5	1,1	1,1	2,1	0,5	2,2
1,00E-06	0,8	1,6	2,5	1,1	1,1	2,1	0,5	#N/D
3,00E-06	#N/D	1,7	#N/D	1,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-05	#N/D	1,8	#N/D	1,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	1,7	#N/D	1,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	1,0	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 9 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress agudo*.

ANIMAIS JOVENS						
GRUPO <i>STRESS AGUDO</i>						
T max (gf)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	1,7	0,8	1,8	1,8	0,9	1,2
3,00E-09	1,7	0,8	2,0	1,8	0,9	1,2
1,00E-08	1,7	0,8	2,0	1,8	0,9	1,2
3,00E-08	1,8	0,9	2,2	2,1	1,0	1,3
1,00E-07	2,1	1,1	2,5	2,4	1,2	1,5
3,00E-07	2,3	1,3	2,7	2,7	1,4	1,8
1,00E-06	2,4	1,4	2,8	2,7	1,5	1,9
3,00E-06	2,4	#N/D	2,8	#N/D	1,5	1,9
1,00E-05	2,4	#N/D	2,8	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	2,3	#N/D	2,7	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	2,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 10 - Valores individuais da MAXC D₁T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS							
GRUPO CONTROLE							
MAXC D ₁ T (gf /s)							
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	62,5	46,4	39,3	57,7	21,4	39,3	71,4
3,00E-09	62,5	50,0	42,9	57,7	21,4	39,3	71,4
1,00E-08	71,4	57,1	42,9	61,5	21,4	39,3	71,4
3,00E-08	71,4	67,9	42,9	69,2	25,0	46,4	80,4
1,00E-07	80,4	82,1	50,0	76,9	32,1	50,0	89,3
3,00E-07	89,3	#N/D	60,7	80,8	39,3	64,3	98,2
1,00E-06	98,2	#N/D	67,9	84,6	42,9	71,4	107,1
3,00E-06	#N/D	#N/D	#N/D	84,6	#N/D	71,4	107,1
1,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	75,0	107,1
3,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	75,0	107,1
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	71,4	107,1

#N/D → dado não disponível

Tabela 11 - Valores individuais da MAXC D₁T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS								
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE								
MAXC D ₁ T (gf /s)								
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	21,4	39,3	53,6	30,8	34,6	57,1	10,7	71,4
3,00E-09	21,4	39,3	57,1	30,8	34,6	57,1	10,7	80,4
1,00E-08	21,4	39,3	67,9	34,6	34,6	57,1	10,7	80,4
3,00E-08	25,0	42,9	89,3	42,3	34,6	67,9	10,7	89,3
1,00E-07	28,6	50,0	103,6	50,0	38,5	78,6	14,3	89,3
3,00E-07	35,7	60,7	107,1	53,8	42,3	85,7	21,4	89,3
1,00E-06	35,7	67,9	107,1	53,8	46,2	92,9	25,0	#N/D
3,00E-06	#N/D	71,4	#N/D	53,8	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-05	#N/D	75,0	#N/D	53,8	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	75,0	#N/D	53,8	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	50,0	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 12 - Valores individuais da MAXC D₁T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS JOVENS						
GRUPO STRESS AGUDO						
MAXC D ₁ T (gf/s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	71,4	34,6	71,4	71,4	35,7	53,6
3,00E-09	71,4	34,6	71,4	71,4	35,7	53,6
1,00E-08	71,4	38,5	80,4	71,4	35,7	53,6
3,00E-08	80,4	42,3	89,3	80,4	39,3	62,5
1,00E-07	89,3	50,0	107,1	98,2	50,0	71,4
3,00E-07	98,2	61,5	116,1	116,1	64,3	80,4
1,00E-06	107,1	69,2	125,0	116,1	71,4	89,3
3,00E-06	107,1	#N/D	125,0	#N/D	71,4	89,3
1,00E-05	107,1	#N/D	125,0	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	107,1	#N/D	125,0	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	98,2	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 13 - Valores individuais da MAXR D₁T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS GRUPO CONTROLE MAXR D ₁ T (gf/s)							
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	44,6	32,1	28,6	46,2	14,3	28,6	44,6
3,00E-09	44,6	32,1	28,6	46,2	14,3	28,6	44,6
1,00E-08	53,6	35,7	28,6	46,2	14,3	28,6	44,6
3,00E-08	53,6	42,9	28,6	50,0	14,3	28,6	44,6
1,00E-07	71,4	53,6	35,7	57,7	21,4	35,7	53,6
3,00E-07	71,4	#N/D	46,4	65,4	28,6	46,4	62,5
1,00E-06	71,4	#N/D	50,0	65,4	28,6	50,0	71,4
3,00E-06	#N/D	#N/D	#N/D	65,4	#N/D	53,6	71,4
1,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	57,1	80,4
3,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	53,6	80,4
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	50,0	71,4

#N/D → dado não disponível

Tabela 14 - Valores individuais da MAXR D₁T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS								
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE								
MAXR D ₁ T (gf /s)								
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	14,3	28,6	35,7	23,1	26,9	42,9	10,7	53,6
3,00E-09	14,3	28,6	39,3	23,1	26,9	42,9	10,7	62,5
1,00E-08	14,3	28,6	42,9	26,9	26,9	42,9	10,7	62,5
3,00E-08	14,3	32,1	57,1	30,8	26,9	46,4	10,7	71,4
1,00E-07	21,4	39,3	64,3	38,5	30,8	53,6	14,3	71,4
3,00E-07	25,0	50,0	71,4	42,3	38,5	64,3	19,6	71,4
1,00E-06	28,6	53,6	71,4	42,3	38,5	67,9	25,0	#N/D
3,00E-06	#N/D	57,1	#N/D	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-05	#N/D	57,1	#N/D	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	53,6	#N/D	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	38,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 15 - Valores individuais da MAXR D₁T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS JOVENS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
MAXR D ₁ T (gf /s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	44,6	23,1	53,6	44,6	28,6	35,7
3,00E-09	44,6	23,1	53,6	53,6	28,6	35,7
1,00E-08	44,6	23,1	53,6	53,6	28,6	35,7
3,00E-08	44,6	23,1	53,6	53,6	32,1	44,6
1,00E-07	53,6	30,8	71,4	71,4	35,7	53,6
3,00E-07	62,5	38,5	80,4	80,4	50,0	62,5
1,00E-06	71,4	42,3	89,3	80,4	53,6	71,4
3,00E-06	71,4	#N/D	89,3	#N/D	57,1	71,4
1,00E-05	71,4	#N/D	80,4	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	71,4	#N/D	80,4	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	62,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 16 - Valores individuais da MAXC D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS							
GRUPO CONTROLE							
MAXC D ₂ T (gf /s ²)							
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	3571,4	2500,0	2142,9	3461,5	1071,4	2142,9	3571,4
3,00E-09	3571,4	2857,1	2142,9	3461,5	1071,4	2142,9	3571,4
1,00E-08	3571,4	3214,3	2142,9	3461,5	1071,4	2142,9	3571,4
3,00E-08	3571,4	3928,6	2142,9	3846,2	1428,6	2500,0	3571,4
1,00E-07	4464,3	4642,9	2857,1	4615,4	1785,7	2857,1	4464,3
3,00E-07	5357,1	#N/D	3571,4	5000,0	2142,9	3571,4	5357,1
1,00E-06	6250,0	#N/D	3928,6	5384,6	2500,0	4285,7	6250,0
3,00E-06	#N/D	#N/D	#N/D	5384,6	#N/D	4642,9	6250,0
1,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	4642,9	6250,0
3,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	4642,9	6250,0
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	4285,7	6250,0

#N/D → dado não disponível

Tabela 17 - Valores individuais da MAXC D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS								
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE								
MAXC D ₂ T (gf /s ²)								
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	1071,4	2142,9	2857,1	1923,1	1923,1	3214,3	714,3	4464,3
3,00E-09	1071,4	2142,9	3571,4	1923,1	1923,1	3214,3	714,3	4464,3
1,00E-08	1071,4	2142,9	3928,6	2307,7	1923,1	3214,3	714,3	4464,3
3,00E-08	1428,6	2142,9	5357,1	2692,3	1923,1	3571,4	714,3	5357,1
1,00E-07	1428,6	2857,1	6428,6	3076,9	2307,7	4285,7	892,9	5357,1
3,00E-07	2142,9	3571,4	6785,7	3461,5	2692,3	5000,0	1250,0	5357,1
1,00E-06	2142,9	3928,6	6785,7	3461,5	2692,3	5357,1	1607,1	#N/D
3,00E-06	#N/D	4285,7	#N/D	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-05	#N/D	4285,7	#N/D	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	4285,7	#N/D	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	3076,9	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 18 - Valores individuais da MAXC D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS JOVENS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
MAXC D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	3571,4	1923,1	3571,4	3571,4	2142,9	2678,6
3,00E-09	3571,4	1923,1	4464,3	3571,4	2142,9	2678,6
1,00E-08	3571,4	1923,1	4464,3	4464,3	2142,9	2678,6
3,00E-08	4464,3	2307,7	5357,1	4464,3	2142,9	3571,4
1,00E-07	5357,1	2692,3	6250,0	6250,0	2857,1	4464,3
3,00E-07	6250,0	3846,2	7142,9	7142,9	3928,6	5357,1
1,00E-06	6250,0	4230,8	8035,7	7142,9	4285,7	5357,1
3,00E-06	7142,9	#N/D	8035,7	#N/D	4285,7	5357,1
1,00E-05	7142,9	#N/D	8035,7	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	6250,0	#N/D	8035,7	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	6250,0	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 19 - Valores individuais da MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS							
GRUPO CONTROLE							
MAXR D ₂ T (gf /s ²)							
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	4464,3	3571,4	2857,1	3076,9	1428,6	2142,9	4464,3
3,00E-09	4464,3	3571,4	2857,1	3076,9	1428,6	2142,9	4464,3
1,00E-08	4464,3	3928,6	2857,1	3461,5	1428,6	2142,9	4464,3
3,00E-08	5357,1	4642,9	3571,4	3846,2	1428,6	2500,0	5357,1
1,00E-07	5357,1	5357,1	4285,7	4615,4	2142,9	2857,1	5357,1
3,00E-07	6250,0	#N/D	4285,7	4615,4	2500,0	3928,6	6250,0
1,00E-06	7142,9	#N/D	5000,0	4615,4	2500,0	4285,7	7142,9
3,00E-06	#N/D	#N/D	#N/D	4615,4	#N/D	4285,7	7142,9
1,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	4642,9	7142,9
3,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	4285,7	7142,9
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	4285,7	7142,9

#N/D → dado não disponível

Tabela 20 - Valores individuais da MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS								
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE								
MAXR D ₂ T (gf /s ²)								
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	1428,6	2857,1	2857,1	2307,7	2692,3	3928,6	714,3	5357,1
3,00E-09	1428,6	2857,1	3214,3	2307,7	2692,3	3928,6	714,3	5357,1
1,00E-08	1428,6	2857,1	3928,6	2692,3	2692,3	3928,6	714,3	5357,1
3,00E-08	1785,7	2857,1	5000,0	3076,9	2692,3	4285,7	714,3	5357,1
1,00E-07	2142,9	3571,4	5714,3	3461,5	3076,9	5000,0	1071,4	5357,1
3,00E-07	2142,9	4285,7	5714,3	3461,5	3461,5	5714,3	1428,6	5357,1
1,00E-06	2500,0	4642,9	5714,3	3461,5	3461,5	5714,3	1785,7	#N/D
3,00E-06	#N/D	4642,9	#N/D	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-05	#N/D	4642,9	#N/D	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	4642,9	#N/D	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	3076,9	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 21 - Valores individuais da MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS JOVENS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	4464,3	2307,7	3571,4	3571,4	2500,0	3571,4
3,00E-09	4464,3	2307,7	3571,4	3571,4	2500,0	3571,4
1,00E-08	4464,3	2307,7	4464,3	4464,3	2500,0	3571,4
3,00E-08	4464,3	2692,3	5357,1	4464,3	2500,0	4464,3
1,00E-07	5357,1	3076,9	5357,1	5357,1	3214,3	4464,3
3,00E-07	5357,1	3846,2	6250,0	6250,0	4285,7	5357,1
1,00E-06	5357,1	3846,2	6250,0	6250,0	4642,9	6250,0
3,00E-06	5357,1	#N/D	6250,0	#N/D	5000,0	6250,0
1,00E-05	5357,1	#N/D	6250,0	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	5357,1	#N/D	6250,0	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	5357,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 22 - Valores individuais da 2MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo controle.

ANIMAIS JOVENS							
GRUPO CONTROLE							
2MAXR D ₂ T (gf /s ²)							
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	1785,7	1071,4	1071,4	1538,5	714,3	714,3	892,9
3,00E-09	1785,7	1071,4	1071,4	1538,5	714,3	714,3	892,9
1,00E-08	1785,7	1071,4	1071,4	1538,5	714,3	714,3	892,9
3,00E-08	1785,7	1428,6	1071,4	1538,5	714,3	1071,4	892,9
1,00E-07	1785,7	1785,7	1428,6	2307,7	714,3	1071,4	1785,7
3,00E-07	1785,7	#N/D	1428,6	2692,3	1071,4	1428,6	1785,7
1,00E-06	1785,7	#N/D	1785,7	2692,3	1071,4	1785,7	2678,6
3,00E-06	#N/D	#N/D	#N/D	2692,3	#N/D	2142,9	2678,6
1,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	2142,9	2678,6
3,00E-05	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	2142,9	2678,6
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	2142,9	2678,6

#N/D → dado não disponível

Tabela 23 - Valores individuais da 2MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS JOVENS								
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE								
2MAXR D ₂ T (gf /s ²)								
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	357,1	1071,4	1071,4	769,2	769,2	1428,6	535,7	1785,7
3,00E-09	357,1	1071,4	1428,6	769,2	769,2	1428,6	535,7	1785,7
1,00E-08	357,1	1071,4	1428,6	769,2	769,2	1428,6	535,7	1785,7
3,00E-08	714,3	1071,4	1785,7	1153,8	769,2	1428,6	535,7	1785,7
1,00E-07	714,3	1428,6	2142,9	1538,5	769,2	1785,7	714,3	1785,7
3,00E-07	714,3	1428,6	2142,9	1538,5	1153,8	2142,9	892,9	1785,7
1,00E-06	1071,4	1785,7	2500,0	1538,5	1153,8	2142,9	1071,4	#N/D
3,00E-06	#N/D	2142,9	#N/D	1538,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-05	#N/D	2142,9	#N/D	1538,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	2142,9	#N/D	1538,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	#N/D	1538,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 24- Valores individuais da 2MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais jovens do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS JOVENS						
GRUPO STRESS AGUDO						
2MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 4	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	892,9	769,2	1785,7	1785,7	1071,4	1785,7
3,00E-09	892,9	769,2	1785,7	1785,7	1071,4	1785,7
1,00E-08	892,9	769,2	1785,7	1785,7	1071,4	1785,7
3,00E-08	892,9	769,2	1785,7	1785,7	1071,4	1785,7
1,00E-07	892,9	769,2	1785,7	1785,7	1428,6	2678,6
3,00E-07	1785,7	1153,8	1785,7	2678,6	1428,6	2678,6
1,00E-06	1785,7	1538,5	1785,7	2678,6	1785,7	2678,6
3,00E-06	1785,7	#N/D	1785,7	#N/D	1785,7	2678,6
1,00E-05	1785,7	#N/D	1785,7	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	1785,7	#N/D	1785,7	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	1785,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 25 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS GRUPO CONTROLE T max (gf)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6
1,00E-09	1,1	0,6	1,1	1,1	0,6	0,9
3,00E-09	1,1	0,6	1,1	1,1	0,6	0,9
1,00E-08	1,1	0,6	1,1	1,1	0,6	0,9
3,00E-08	1,1	0,7	1,1	1,2	0,6	0,9
1,00E-07	1,2	0,9	1,3	1,3	0,8	1,1
3,00E-07	1,5	1,0	1,6	1,5	1,1	1,3
1,00E-06	2,1	1,2	1,9	1,6	1,6	1,4
3,00E-06	2,4	1,2	2,0	1,6	1,9	#N/D
1,00E-05	#N/D	1,2	2,0	1,6	1,9	#N/D
3,00E-05	#N/D	1,2	2,0	1,6	1,9	#N/D
1,00E-04	#N/D	1,1	1,9	1,5	1,8	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 26 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE						
T max (gf)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	0,9	0,9	1,3	0,9	1,0	2,1
3,00E-09	0,9	0,9	1,3	0,9	1,0	2,1
1,00E-08	0,9	0,9	1,4	0,9	1,1	2,1
3,00E-08	0,9	0,9	1,4	1,0	1,2	2,3
1,00E-07	1,0	1,0	1,8	1,3	1,5	2,5
3,00E-07	1,3	1,1	2,1	1,5	2,0	2,7
1,00E-06	1,5	1,2	2,3	1,6	2,4	#N/D
3,00E-06	1,5	1,2	2,3	1,6	2,4	#N/D
1,00E-05	#N/D	#N/D	2,3	1,7	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	#N/D	2,3	1,6	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	2,2	1,6	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 27 - Valores individuais da T max na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
T max (gf)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	0,6	0,7	1,0	1,3	0,6	1,0
3,00E-09	0,6	0,7	1,0	1,3	0,6	1,0
1,00E-08	0,6	0,7	1,0	1,3	0,6	1,0
3,00E-08	0,6	0,7	1,0	1,3	0,6	1,1
1,00E-07	0,8	0,8	1,1	1,4	0,7	1,2
3,00E-07	1,0	0,9	1,3	1,6	0,8	1,4
1,00E-06	1,2	1,0	1,4	1,7	0,9	1,5
3,00E-06	1,2	1,0	1,4	1,8	0,9	1,5
1,00E-05	1,2	1,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	1,2	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	1,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 28 - Valores individuais da MAXC D₁T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS GRUPO CONTROLE MAXC D ₁ T (gf/s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6
1,00E-09	50,0	21,4	50,0	50,0	21,4	35,7
3,00E-09	46,2	21,4	50,0	50,0	21,4	35,7
1,00E-08	46,2	25,0	50,0	50,0	21,4	35,7
3,00E-08	46,2	25,0	50,0	50,0	25,0	39,3
1,00E-07	50,0	35,7	64,3	57,1	32,1	50,0
3,00E-07	65,4	39,3	75,0	64,3	46,4	60,7
1,00E-06	92,3	50,0	92,9	71,4	71,4	71,4
3,00E-06	103,8	50,0	100,0	75,0	85,7	#N/D
1,00E-05	#N/D	50,0	103,6	75,0	89,3	#N/D
3,00E-05	#N/D	50,0	100,0	71,4	89,3	#N/D
1,00E-04	#N/D	50,0	100,0	71,4	85,7	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 29 - Valores individuais da MAXC D₁T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE						
MAXC D ₁ T (gf/s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	42,9
3,00E-09	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	42,9
1,00E-08	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	42,9
3,00E-08	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	50,0
1,00E-07	34,6	32,1	46,4	57,1	28,6	57,1
3,00E-07	46,2	35,7	53,6	64,3	32,1	67,9
1,00E-06	53,8	42,9	64,3	71,4	39,3	71,4
3,00E-06	57,7	45,0	64,3	71,4	42,9	71,4
1,00E-05	57,7	46,4	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	57,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	57,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 30 - Valores individuais da MAXC D₁T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
MAXC D ₁ T (gf/s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	42,9
3,00E-09	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	42,9
1,00E-08	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	42,9
3,00E-08	26,9	28,6	42,9	50,0	25,0	50,0
1,00E-07	34,6	32,1	46,4	57,1	28,6	57,1
3,00E-07	46,2	35,7	53,6	64,3	32,1	67,9
1,00E-06	53,8	42,9	64,3	71,4	39,3	71,4
3,00E-06	57,7	45,0	64,3	71,4	42,9	71,4
1,00E-05	57,7	46,4	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	57,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	57,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 31 - Valores individuais da MAXR D_iT na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS GRUPO CONTROLE MAXR D _i T (gf /s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6
1,00E-09	34,6	21,4	32,1	28,6	21,4	28,6
3,00E-09	34,6	21,4	32,1	28,6	21,4	28,6
1,00E-08	34,6	21,4	32,1	28,6	21,4	28,6
3,00E-08	34,6	28,6	35,7	28,6	21,4	28,6
1,00E-07	38,5	28,6	39,3	35,7	25,0	35,7
3,00E-07	46,2	42,9	50,0	42,9	39,3	42,9
1,00E-06	69,2	42,9	64,3	46,4	60,7	50,0
3,00E-06	76,9	46,4	64,3	46,4	71,4	#N/D
1,00E-05	#N/D	46,4	67,9	46,4	71,4	#N/D
3,00E-05	#N/D	46,4	64,3	46,4	71,4	#N/D
1,00E-04	#N/D	42,9	64,3	42,9	67,9	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 32 - Valores individuais da MAXR D₁T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE						
MAXR D ₁ T (gf/s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	32,1
3,00E-09	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	32,1
1,00E-08	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	32,1
3,00E-08	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	35,7
1,00E-07	26,9	25,0	39,3	35,7	28,6	42,9
3,00E-07	38,5	32,1	46,4	42,9	32,1	50,0
1,00E-06	42,3	35,7	57,1	50,0	35,7	53,6
3,00E-06	46,2	35,7	57,1	53,6	39,3	53,6
1,00E-05	46,2	35,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 33 - Valores individuais da MAXR D₁T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
MAXR D ₁ T (gf/s)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	32,1
3,00E-09	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	32,1
1,00E-08	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	32,1
3,00E-08	19,2	21,4	35,7	32,1	25,0	35,7
1,00E-07	26,9	25,0	39,3	35,7	28,6	42,9
3,00E-07	38,5	32,1	46,4	42,9	32,1	50,0
1,00E-06	42,3	35,7	57,1	50,0	35,7	53,6
3,00E-06	46,2	35,7	57,1	53,6	39,3	53,6
1,00E-05	46,2	35,7	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	42,3	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 34 - Valores individuais da MAXC D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO CONTROLE						
MAXC D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6
1,00E-09	2692,3	1428,6	2857,1	2500,0	1428,6	1785,7
3,00E-09	2692,3	1428,6	2857,1	2500,0	1428,6	1785,7
1,00E-08	2692,3	1428,6	2857,1	2500,0	1428,6	1785,7
3,00E-08	2692,3	1428,6	2857,1	2857,1	1428,6	2142,9
1,00E-07	2692,3	2142,9	3571,4	2857,1	1428,6	2500,0
3,00E-07	3461,5	2142,9	4285,7	3571,4	2500,0	3214,3
1,00E-06	5384,6	2857,1	5357,1	4285,7	4285,7	3928,6
3,00E-06	6153,8	3214,3	6071,4	4285,7	5000,0	#N/D
1,00E-05	#N/D	3214,3	6071,4	4642,9	5357,1	#N/D
3,00E-05	#N/D	3214,3	6428,6	4285,7	5357,1	#N/D
1,00E-04	#N/D	3214,3	6428,6	4285,7	5000,0	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 35 - Valores individuais da MAXC D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE						
MAXC D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	1785,7	2142,9	2500,0	1785,7	1923,1	4807,7
3,00E-09	1785,7	2142,9	2500,0	1785,7	1923,1	4807,7
1,00E-08	1785,7	2142,9	2500,0	1785,7	1923,1	4807,7
3,00E-08	1785,7	2142,9	2857,1	2142,9	2307,7	5769,2
1,00E-07	2142,9	2500,0	3571,4	2857,1	3461,5	5769,2
3,00E-07	2857,1	2857,1	4642,9	3571,4	4615,4	6730,8
1,00E-06	3571,4	3214,3	5357,1	3928,6	5769,2	#N/D
3,00E-06	3571,4	3214,3	5357,1	4285,7	6153,8	#N/D
1,00E-05	#N/D	#N/D	5357,1	4285,7	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	#N/D	5357,1	4285,7	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	5357,1	4285,7	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 36 - Valores individuais da MAXC D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
MAXC D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	1538,5	1428,6	2142,9	2857,1	1428,6	2142,9
3,00E-09	1538,5	1428,6	2142,9	2857,1	1428,6	2142,9
1,00E-08	1538,5	1428,6	2142,9	2857,1	1428,6	2142,9
3,00E-08	1538,5	1428,6	2500,0	2857,1	1428,6	2500,0
1,00E-07	2692,3	1785,7	2500,0	3214,3	1428,6	2857,1
3,00E-07	2692,3	2500,0	3214,3	3571,4	2142,9	3571,4
1,00E-06	3461,5	2500,0	3571,4	4285,7	2142,9	3928,6
3,00E-06	3461,5	2857,1	3571,4	4285,7	2500,0	3928,6
1,00E-05	3461,5	2857,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	3461,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 37 - Valores individuais da MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO CONTROLE						
MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6
1,00E-09	3076,9	2142,9	2857,1	3571,4	1428,6	2142,9
3,00E-09	3076,9	2142,9	2857,1	3571,4	1428,6	2142,9
1,00E-08	3076,9	2142,9	2857,1	3571,4	1428,6	2142,9
3,00E-08	3076,9	2142,9	3214,3	3571,4	1428,6	2500,0
1,00E-07	3461,5	2857,1	3928,6	3928,6	2142,9	3214,3
3,00E-07	4615,4	3571,4	5000,0	4642,9	3571,4	3928,6
1,00E-06	6923,1	3928,6	5714,3	5000,0	5714,3	4285,7
3,00E-06	7307,7	3928,6	6428,6	5000,0	6428,6	#N/D
1,00E-05	#N/D	3928,6	6428,6	5000,0	6428,6	#N/D
3,00E-05	#N/D	3928,6	6071,4	5000,0	6428,6	#N/D
1,00E-04	#N/D	3928,6	6071,4	4642,9	6428,6	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 38 - Valores individuais da MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE						
MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	2142,9	2857,1	2857,1	2500,0	2692,3	5769,2
3,00E-09	2142,9	2857,1	2857,1	2500,0	2692,3	5769,2
1,00E-08	2142,9	2857,1	2857,1	2500,0	3076,9	5769,2
3,00E-08	2142,9	3214,3	3214,3	2857,1	3461,5	5769,2
1,00E-07	2857,1	3571,4	4285,7	3928,6	4615,4	6730,8
3,00E-07	3928,6	3928,6	5357,1	5000,0	6153,8	7692,3
1,00E-06	4285,7	4285,7	6071,4	5357,1	7307,7	#N/D
3,00E-06	4642,9	4285,7	6071,4	5714,3	7307,7	#N/D
1,00E-05	#N/D	#N/D	6071,4	5357,1	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	#N/D	5714,3	5357,1	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	5714,3	5357,1	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 39 - Valores individuais da MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO STRESS AGUDO						
MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	1538,5	1785,7	2857,1	2857,1	1785,7	3214,3
3,00E-09	1538,5	1785,7	2857,1	2857,1	2142,9	3214,3
1,00E-08	1538,5	1785,7	2857,1	2857,1	1785,7	3214,3
3,00E-08	1923,1	1785,7	2857,1	2857,1	2142,9	3571,4
1,00E-07	2307,7	2142,9	3571,4	3214,3	2142,9	4285,7
3,00E-07	3076,9	2857,1	3928,6	3571,4	2857,1	5000,0
1,00E-06	3846,2	2857,1	4642,9	4285,7	3214,3	5000,0
3,00E-06	3846,2	2857,1	4642,9	4642,9	3571,4	5000,0
1,00E-05	3846,2	2857,1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	3846,2	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	3846,2	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 40 - Valores individuais da 2MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo controle.

ANIMAIS VELHOS GRUPO CONTROLE 2MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 4	rato 5	rato 6
1,00E-09	769,2	714,3	1428,6	714,3	714,3	714,3
3,00E-09	769,2	714,3	1428,6	714,3	714,3	714,3
1,00E-08	769,2	714,3	1428,6	714,3	714,3	714,3
3,00E-08	769,2	714,3	1428,6	714,3	714,3	714,3
1,00E-07	769,2	714,3	1428,6	714,3	714,3	1071,4
3,00E-07	1153,8	1428,6	1428,6	1071,4	1428,6	1428,6
1,00E-06	1923,1	1428,6	2142,9	1071,4	2142,9	1785,7
3,00E-06	2307,7	1428,6	2500,0	1071,4	2500,0	#N/D
1,00E-05	#N/D	1428,6	2500,0	1071,4	2500,0	#N/D
3,00E-05	#N/D	1428,6	2500,0	1071,4	2500,0	#N/D
1,00E-04	#N/D	1428,6	2500,0	1071,4	2500,0	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 41 - Valores individuais da 2MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* intermitente.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> INTERMITENTE						
2MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 3	rato 5	rato 6	rato 7
1,00E-09	1071,4	714,3	1071,4	714,3	1153,8	1923,1
3,00E-09	1071,4	714,3	1071,4	714,3	1153,8	1923,1
1,00E-08	1071,4	1071,4	1071,4	714,3	1153,8	1923,1
3,00E-08	1071,4	1071,4	1071,4	714,3	1538,5	1923,1
1,00E-07	1428,6	1071,4	1428,6	1071,4	1538,5	1923,1
3,00E-07	1428,6	1428,6	1785,7	1428,6	2307,7	2884,6
1,00E-06	1785,7	1428,6	2142,9	1785,7	2692,3	#N/D
3,00E-06	1785,7	1428,6	2142,9	2142,9	2692,3	#N/D
1,00E-05	#N/D	#N/D	2142,9	2142,9	#N/D	#N/D
3,00E-05	#N/D	#N/D	2142,9	2142,9	#N/D	#N/D
1,00E-04	#N/D	#N/D	2142,9	2142,9	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

Tabela 42 - Valores individuais da 2MAXR D₂T na curva dose-resposta à NA de animais velhos do grupo *stress* agudo.

ANIMAIS VELHOS						
GRUPO <i>STRESS</i> AGUDO						
2MAXR D ₂ T (gf /s ²)						
dose NA	rato 1	rato 2	rato 5	rato 6	rato 7	rato 8
1,00E-09	769,2	714,3	1428,6	1071,4	1071,4	1071,4
3,00E-09	769,2	714,3	1428,6	1071,4	1071,4	1071,4
1,00E-08	769,2	714,3	1428,6	1071,4	1071,4	1071,4
3,00E-08	769,2	1071,4	1428,6	1071,4	1071,4	1071,4
1,00E-07	769,2	1071,4	1428,6	1071,4	1071,4	1428,6
3,00E-07	1538,5	1428,6	2142,9	1428,6	1428,6	1428,6
1,00E-06	1538,5	1428,6	2142,9	1428,6	1428,6	1785,7
3,00E-06	1538,5	1428,6	2500,0	1785,7	1785,7	1785,7
1,00E-05	1538,5	1428,6	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
3,00E-05	1538,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
1,00E-04	1538,5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D

#N/D → dado não disponível

**Diagramas de bloco das sequências
experimentais empregadas**

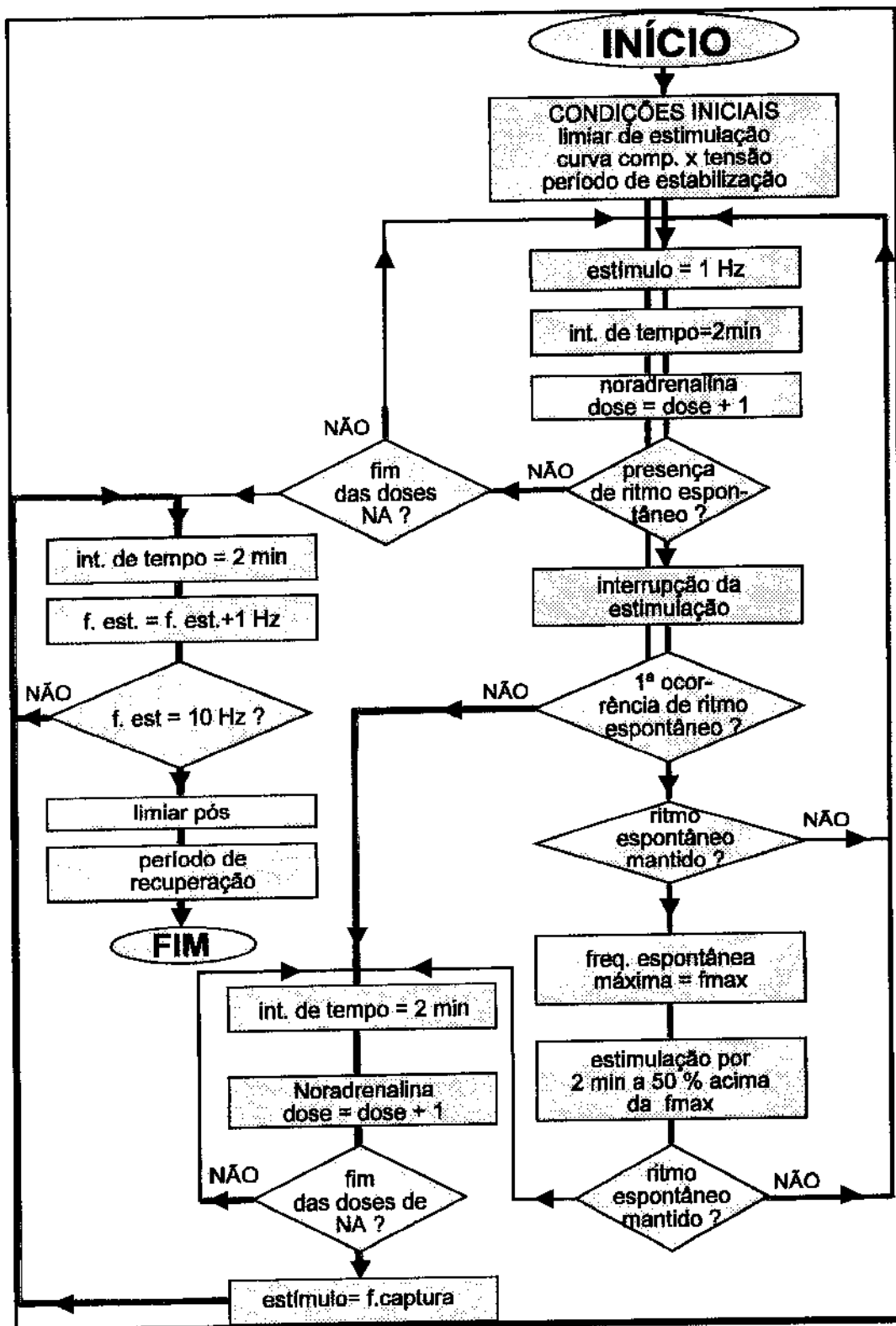


Figura 1 - Diagrama de Bloco (Padrão 1, n = 17) das seqüências experimentais empregadas.

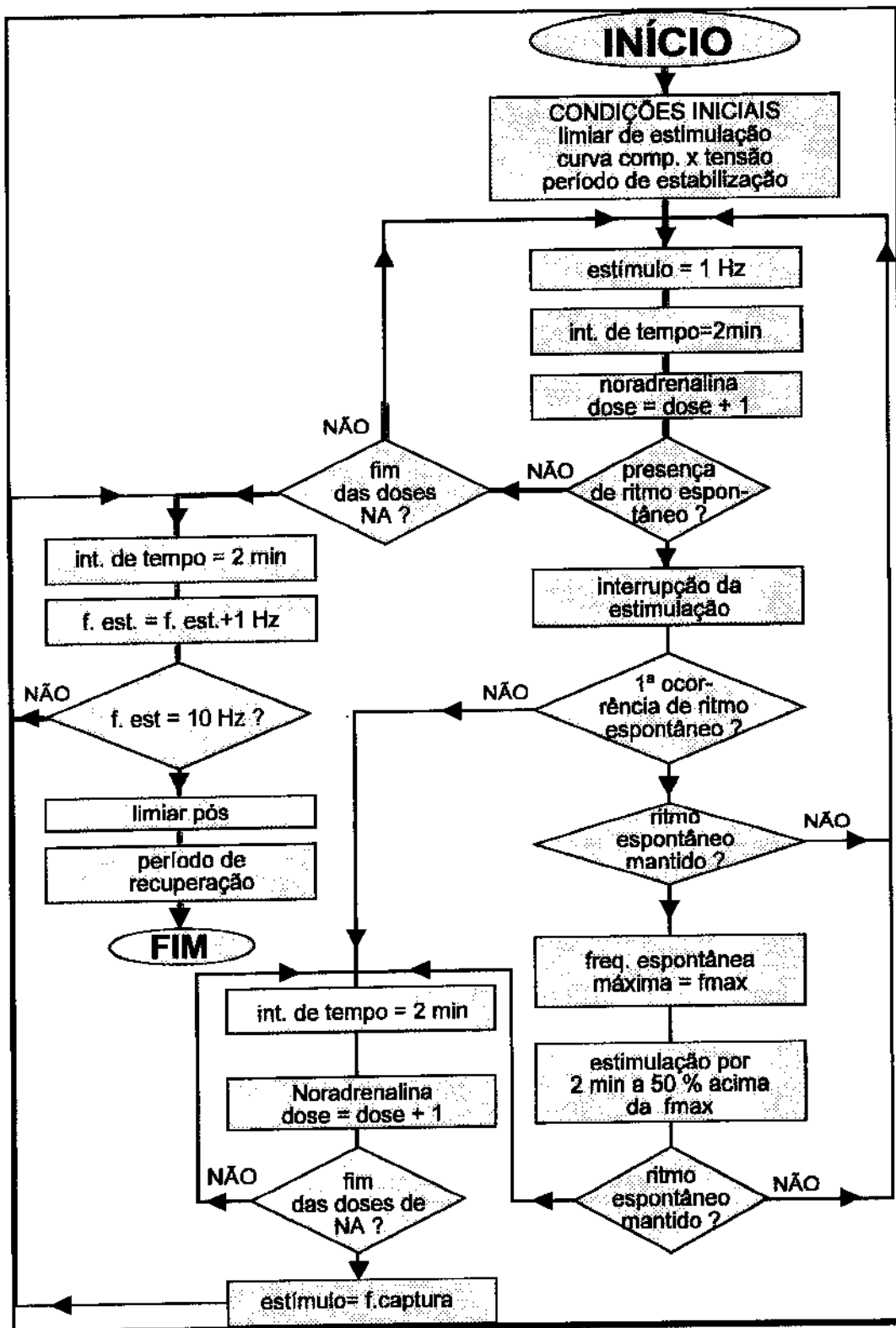


Figura 2 - Diagrama de Bloco (Padrão 2, n = 11) das seqüências experimentais empregadas

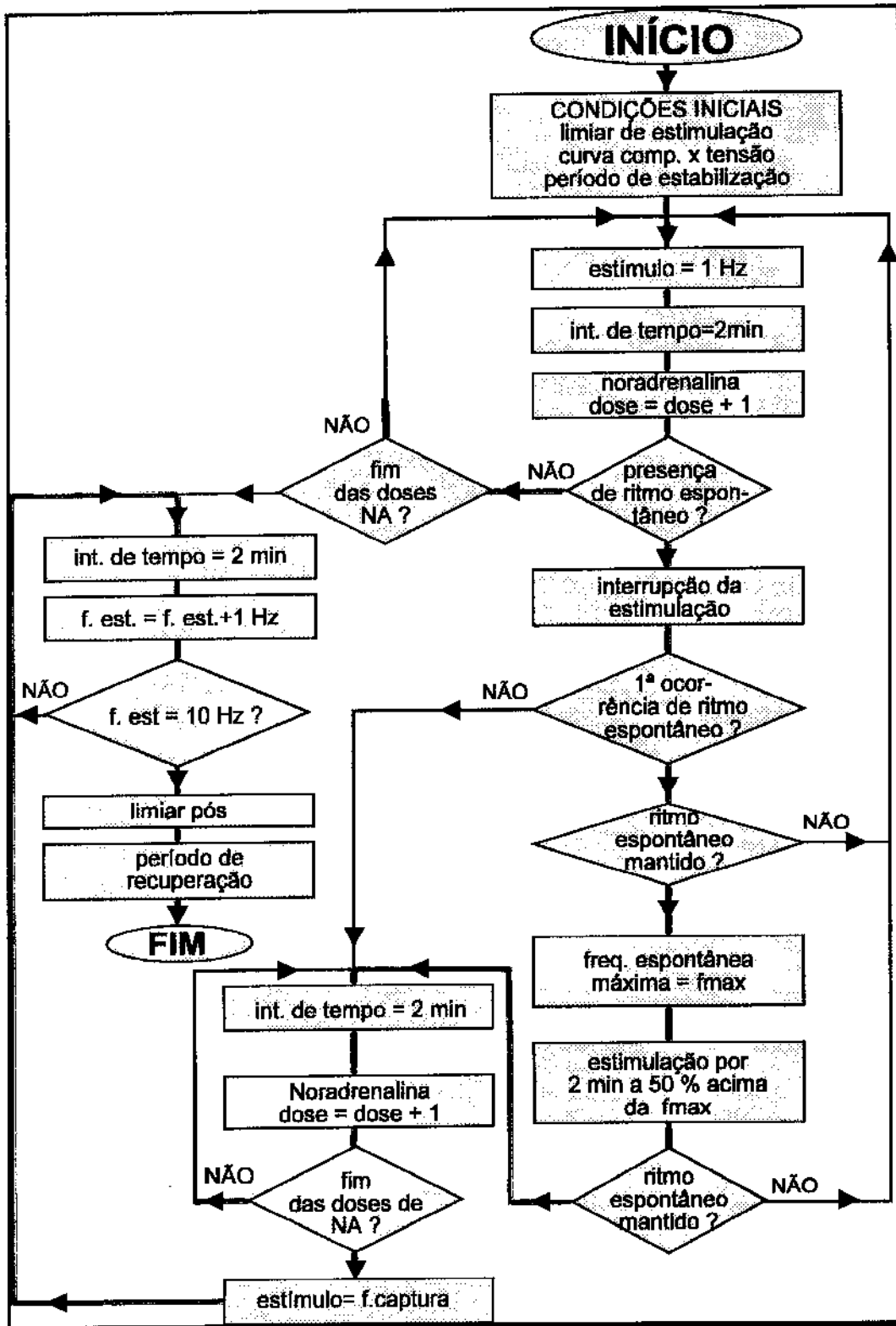


Figura 3 - Diagrama de Bloco (Padrão 3, n = 06) das seqüências experimentais empregadas

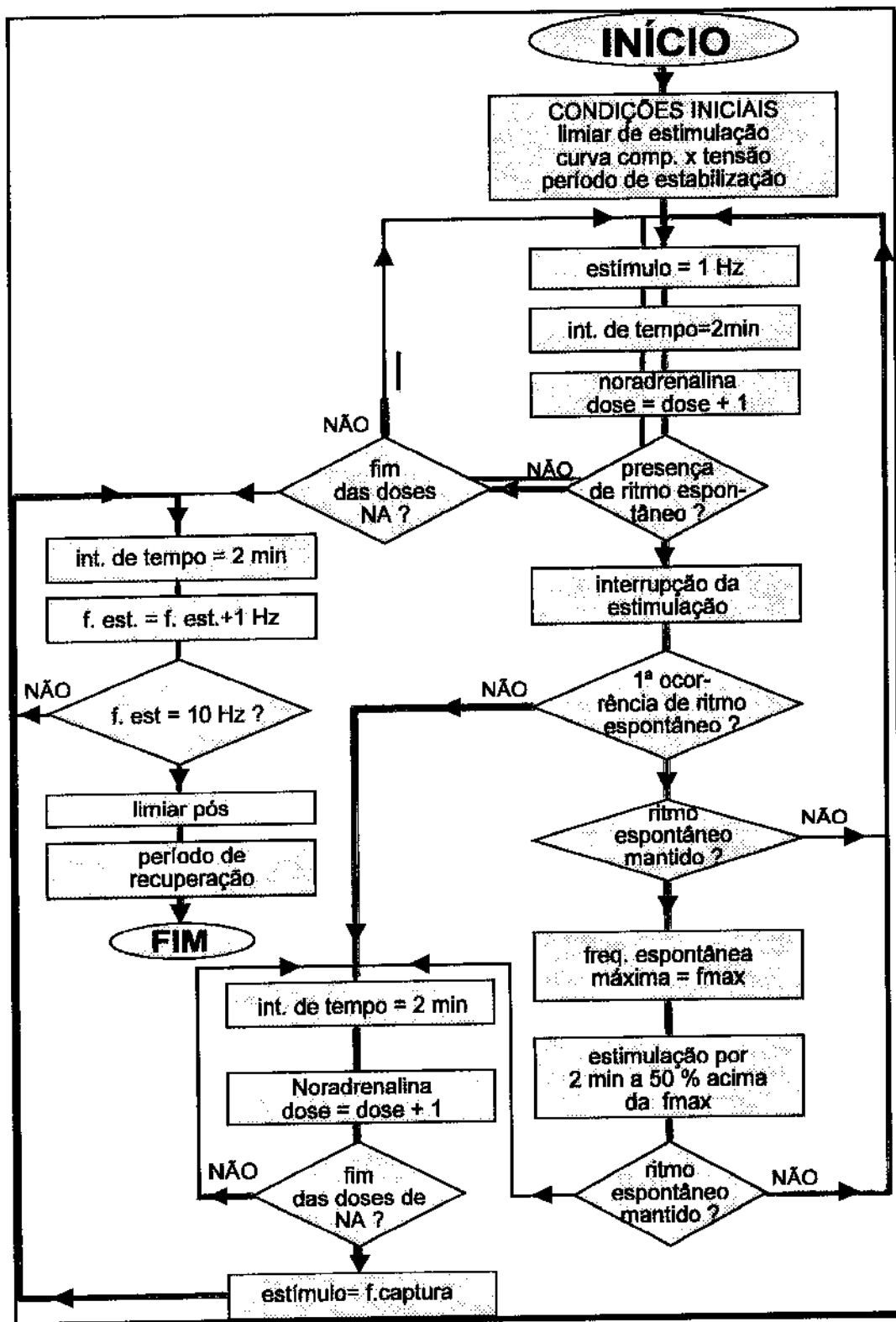


Figura 4 - Diagrama de Bloco (Padrão 4, n = 04) das seqüências experimentais empregadas

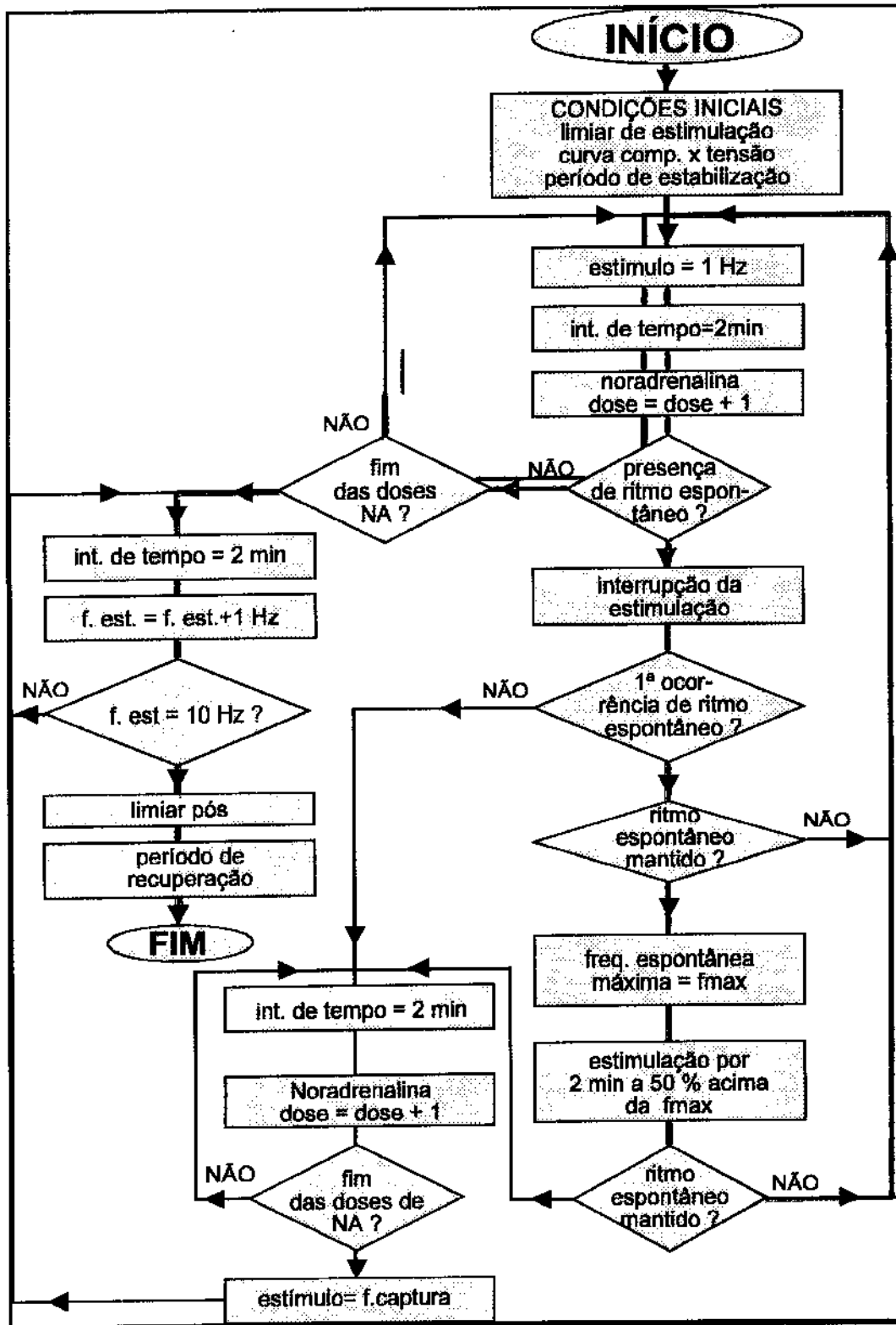


Figura 5 - Diagrama de Bloco (Padrão 5, n = 01) das sequências experimentais empregadas

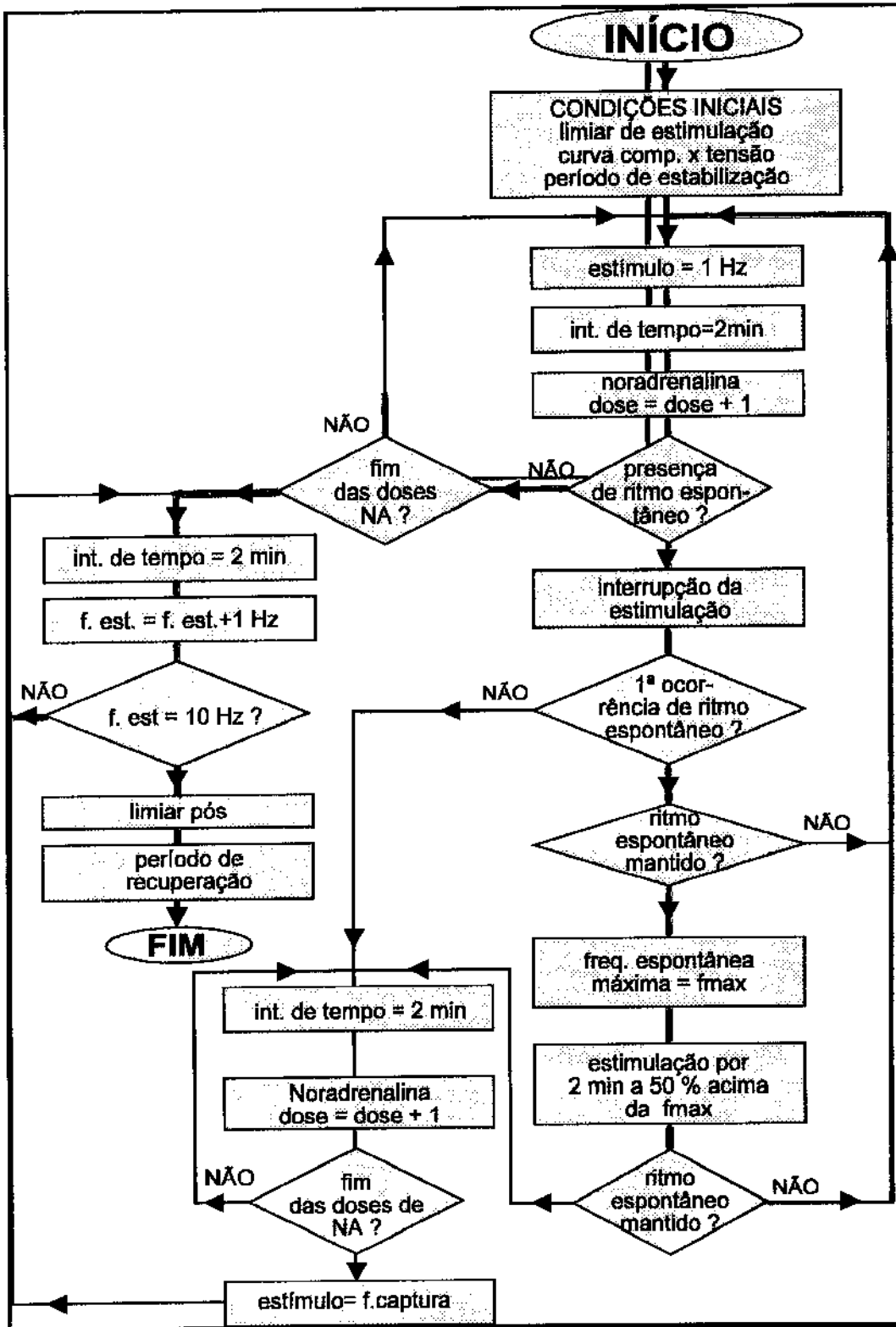


Figura 6 - Diagrama de Bloco (Padrão 6, n = 01) das seqüências experimentais empregadas