

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM
FISIOLOGIA COMPARADA

Efeitos da alimentação e digestão na contratilidade miocárdica de
pítons (*Python molurus*).

Orientado: Rafael Corrêa Cipriano

Orientadora: Dra. Ana Lúcia Kalinin

São Carlos

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM
FISIOLOGIA COMPARADA

Efeitos da alimentação e digestão na contratilidade miocárdica de
pítons (*Python molurus*).

Dissertação apresentada ao Programa
Interinstitucional de Pós-Graduação em
Ciências Fisiológicas (PIPGCF UFSCar-
UNESP), para obtenção do título de Mestre
em Fisiologia.

Orientado: Rafael Corrêa Cipriano

Orientadora: Dra. Ana Lúcia Kalinin

São Carlos

2012

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C577ea

Cipriano, Rafael Corrêa.

Efeitos da alimentação e digestão na contratilidade miocárdica de pítons (*Python molurus*) / Rafael Corrêa Cipriano. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
73 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Fisiologia. 2. Função cardíaca. 3. Acoplamento E-C. 4. Coração - hipertrofia. 5. SDA - Specific Dynamic Action. I. Título.

CDD: 612 (20^a)

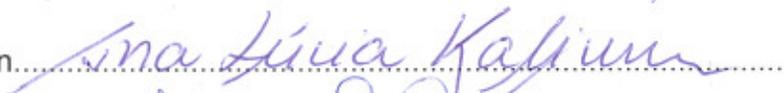
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

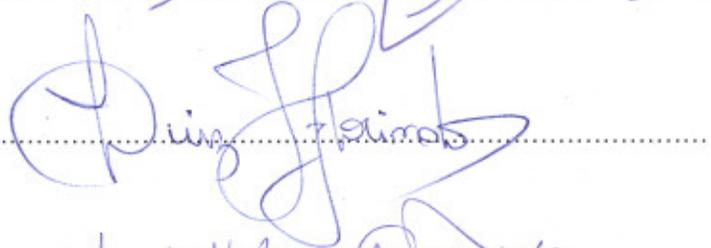
Dissertação de Mestrado de Rafael Corrêa Cipriano

Dia 28/02/2012

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Kalinin.....



Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo.....



Prof^a. Dr^a. Lucia Helena de Aguiar.....



AGRADECIMENTOS

À Prof^a Ana Kalinin pela oportunidade de realizar este trabalho e pela compreensão nos momentos difíceis. Aprendi, sob sua orientação, valores que carregarei por toda minha vida e conhecimentos para meu futuro profissional.

À minha família, por ser parte fundamental da minha vida, sofrendo ou se alegrando junto comigo. Sem ela minhas conquistas nunca seriam possíveis. Agradeço especialmente meus pais pela educação que me proporcionaram e por toda contribuição à minha formação pessoal. Agradeço ainda aos meus irmãos pelo companheirismo e apoio. Amo muito todos vocês.

À minha amada esposa Maíra por compartilhar os momentos bons e ruins dessa caminhada em busca do meu aperfeiçoamento profissional. Obrigado por suas palavras de conforto e pela ajuda. Você é muito importante na minha vida.

Ao Prof^o Francisco Tadeu Rantin pela ajuda com as dúvidas e pelo bom humor.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia em Fisiologia Comparada (INCT) por fazer parte deste e poder contribuir na produção de conhecimento na área de fisiologia comparada.

À todos os companheiros de departamento e laboratório, pois sem eles a realização deste trabalho seria muito mais difícil. Agradeço especialmente aos amigos André, Diana, Samuel, Nathan, Lucas, Thiago, Vivian e Juliana, pelas conversas descontraídas e palavras de incentivo. Aos docentes e funcionários do departamento pelas conversas no dia a dia durante o cafezinho e por toda ajuda despendida.

Aos docentes do Curso de graduação em Ciências Biológicas da UFSCar pela minha formação em Biologia.

Ao CNPq pelo financiamento financeiro deste trabalho.

Aos meus amigos de curso e de república por momentos de descontração e companheirismo, principalmente os que moraram comigo, Nelson, Cléston, Tanajura, Airton, Marcos, Reginaldo, Diego, André, Bruno

Resumo

Apesar de todo o conhecimento acerca do acoplamento excitação-contração (E-C) de mamíferos, restam ainda grandes lacunas no conhecimento da fisiologia dos miócitos cardíacos dos demais vertebrados. Desta forma, o estudo da fisiologia de grupos ainda pouco explorados como os répteis, é de fundamental importância. As pítons são serpentes de grande interesse no estudo do metabolismo pós-prandial por apresentar respostas exacerbadas quando da digestão de grandes presas. Estudos com estas serpentes mostraram hipertrofia do tecido cardíaco de 2 a 3 dias após a alimentação, no pico da chamada ação dinâmica específica (SDA), mas as consequências desta remodelação na contratilidade miocárdica não foram estudadas, o que se constituiu na meta do presente trabalho. Exemplares de *Python molurus* de ambos os sexos, cedidas pelo Jacarezário da UNESP/Rio Claro, foram trazidas para o Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa da UFSCar, onde permaneceram por pelo menos 15 dias para aclimação (30 °C). As serpentes foram divididas em dois grupos: 28 dias (sacrificadas 28 dias após a alimentação) e 2 dias (sacrificadas 2 dias após alimentação, no pico da SDA). Cada serpente (n = 10) foi alimentada (1 rato Wistar com 30% peso da serpente) e o sacrifício (decaptação) ocorreu de acordo com o regime de alimentação do experimental. Após sacrifício, os corações foram retirados, pesados para o cálculo da massa ventricular relativa (MVR) e tiras ventriculares foram preparadas para avaliação dos seguintes parâmetros: pico de força (Fc), tempos para o pico de força (TPT) e para 50% de relaxamento (THR), efeito do tempo experimental (40 min), da elevação da frequência de estimulação e da tensão pós-pausa, sendo os dois últimos protocolos realizados na presença e ausência de rianodina. Diferenças significativas foram consideradas quando $p < 0,05$ (teste t de Student). Os animais do grupo 2 dias apresentaram aumento da MVR em relação ao grupo 28 dias. Os valores de Fc, nos protocolos de efeito do tempo e do incremento da frequência de estimulação elétrica, foram maiores no grupo 2 dias quando comparados aos do grupo 28 dias. As taxas de contração e relaxamento foram menores no grupo 2 dias, e as derivadas máximas da contração e relaxamento apresentaram valores maiores para tal grupo comparando-se ao grupo 28 dias, indicando maior eficiência nos processos de contração e relaxamento durante o acoplamento E-C. No protocolo de tensão pós-pausa, não observou-se diferença significativa no desenvolvimento de força antes e após a pausa nas preparações controle, mas a rianodina reduziu a Fc na primeira contração após a pausa em ambos os grupos. O incremento da frequência de estimulação em presença de rianodina aboliu as diferenças entre os valores dos parâmetros estudados nos dois grupos experimentais. O aumento na MRV do grupo 2 dias associado a maior eficiência no transporte de Ca^{2+} no tecido cardíaco foi responsável pelo aumento da Fc, importante para a manutenção de um débito cardíaco e fluxo sanguíneo para a condição de elevado metabolismo durante a digestão. O RS parece contribuir significativamente na dinâmica de cálcio durante o acoplamento E-C das serpentes, no entanto mais estudos se fazem necessários para compreender plenamente seu papel.

Abstract

Despite all the knowledge about the excitation-contraction coupling (E-C) in mammals, there are still large gaps in the knowledge of the cardiac myocytes physiology in other vertebrates. Thus, the study of groups underexplored such as reptiles is very important. Python snakes are of great interest regarding to the studies of the postprandial metabolism because the physiological responses are exacerbated when digesting large preys. Studies with these snakes showed hypertrophy of the cardiac tissue 2 to 3 days after feeding, coinciding with the peak of the specific dynamic action (SDA), but the consequences of this remodeling in myocardial contractility have not been studied, which was the purpose of this work. Specimens of *Python molurus* of both sexes, provided by the Jacarezário of UNESP / Rio Claro were brought to the Laboratory of Comparative Biochemistry and Zoofisiologia, UFSCar, where they remained for at least 15 days for acclimatization (30 °C). The snakes were divided into two groups: 28 days (sacrificed 28 days after feeding) and 2 days (sacrificed 2 days after feeding, in the peak of the SDA). Each snake (n = 10) was fed (Wistar rats with a 30% weight of the snake) and the sacrifice (decapitation) occurred according to the experimental feeding regime. After sacrifice, the hearts were removed, weighed to calculate the relative ventricular mass (MVR) and ventricular strips were prepared to analyse the following parameters: peak force (Fc), times to peak force (TPT) and to 50% relaxation (THR), the effect of experimental time (40 min), elevation of the stimulation frequency and post-rest tension, being the latter two protocols performed in the presence and absence of ryanodine. Differences were considered significant at p <0.05 (Student's t test). When compared to group 28 days, animals of group 2 days showed a significant increase in MVR. The Fc values in the protocols of effect of time and increasing frequency of electrical stimulation were higher in group 2 days when compared to the group 28 days. The rates of contraction and relaxation were lower in group 2 days, and the derivatives of the maximum contraction and relaxation showed higher values for this group compared to the group 28 days, indicating greater efficiency in the processes of contraction and relaxation during E-C coupling. In the post-rest tension protocol, there was no significant difference in force developed before and after the pause in control preparations, but the ryanodine reduced Fc of the first contraction after the pause in both groups. The increasing frequency of stimulation in the presence of ryanodine abolished the difference between the values of all analyzed parameters presented by the two experimental groups. The increase in the MRV of group 2 days associated with a greater efficiency of Ca²⁺ transport in cardiac tissue was responsible for the increase in Fc, important for maintaining cardiac output and blood flow at the high metabolism during digestion. The RS appears to contribute significantly to the calcium dynamics during E-C coupling of *P. molurus*, but further studies are necessary to fully understand this process.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Breves Considerações Sobre a Espécie Estudada	8
2. OBJETIVOS.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.	14
3.1. Material.....	14
3.2. Métodos.....	14
3.2.1. Preparações experimentais.....	14
3.2.2. Protocolos experimentais.	17
3.2.3. Forma de Apresentação dos Resultados.	18
3.2.4. Tratamento Estatístico dos Resultados.....	19
4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	61
5.1 Massa ventricular relativa.....	61
5.2 Efeito da digestão sobre a contratilidade.....	61
5.3 Contribuição do Retículo Sarcoplasmático (RS).	64
6. CONCLUSÕES.....	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	69

1. INTRODUÇÃO.

O estudo do coração, órgão responsável por impulsionar o sangue para todo o organismo, transportando substâncias fundamentais para o mesmo, fez-se muito importante com o desenvolvimento da ciência. Pesquisas com modelos experimentais como ratos (BERLIN, 1994), furões (BASSANI, 1994, 1995), coelhos (HOVE-MADSEN, 1993; DESPA, 2002) e cães (FABIATO, 1985), permitiram o desenvolvimento da fisiologia cardíaca de mamíferos e resultaram em avanços na medicina e na indústria farmacêutica.

Segundo Bers (2000), o modelo experimental cardíaco de mamíferos apresenta grande plasticidade quanto ao equilíbrio entre os mecanismos intracelulares do manejo do íon cálcio, ativador da contração dos miócitos cardíacos, principalmente relativo ao trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ e retículo sarcoplasmático. No entanto este modelo é limitado quanto à plasticidade que o miocárdio de vertebrados pode apresentar na sua ultraestrutura e fisiologia celular (VORNANEN et al., 2002).

De acordo com Hickman et al. (2001), a diversidade morfofisiológica dos vertebrados basais (peixes, anfíbios e répteis) é muito maior que a apresentada pelos mamíferos, devido à exposição por muito mais tempo às pressões do meio em que ocupam, já que o surgimento destes ocorreu a cerca de 100 milhões de anos antes do surgimento dos mamíferos. Toda essa gama de adaptações em todos os níveis organizacionais de peixes, anfíbios e répteis apresenta alto potencial de biodiversidade, que deve ser explorado cientificamente.

A sobrevivência dos vertebrados é dependente do funcionamento ininterrupto do miocárdio, já que seu bombeamento transporta até os tecidos os nutrientes e o oxigênio, necessários ao seu funcionamento, retira os catabólitos, resultantes do metabolismo celular, e ainda transporta moduladores humorais. Devido a sua importância, é de se esperar que, durante a evolução dos vertebrados, adaptações no miocárdio devam ter ocorrido (GESSER e POUPA, 1983).

Segundo Driedzic e Gesser (1994), o coração dos animais ectotérmicos se depara com variações maiores do que o dos animais endotérmicos com relação à concentração extracelular

de gases, ao equilíbrio ácido-base e à temperatura. Tais alterações ocorrem devido às flutuações decorrentes no ambiente, no hábito e na organização do sistema cardiovascular destes animais.

O débito cardíaco, produto da frequência e da força de contração, representa o volume de sangue ejetado pelo coração por minuto. Conseqüentemente, a frequência e a força de contração devem ser reguladas para manter um fluxo sanguíneo apropriado para a manutenção do trabalho de todos os tecidos nas condições mais variadas determinadas pelo ambiente (TIBBITS et al., 1992), ainda mais se tratando de animais ectotérmicos, onde o equilíbrio homeostático percorre um caminho ditado pelas oscilações ambientais.

A força de contração e, em parte, a frequência cardíaca, dependem da quantidade de Ca^{2+} que interage com as proteínas do aparato contrátil bem como do tempo em que o este íon permanece disponível no interior da célula para esta interação (YUE, 1987). Os processos que ocorrem desde a despolarização da membrana da célula cardíaca, englobando o influxo e o efluxo de íons, culminando na interação das proteínas contráteis durante a contração e no seu desacoplamento para o relaxamento, são denominados em seu conjunto como acoplamento excitação-contração (acoplamento E-C). O entendimento dos mecanismos envolvidos no acoplamento E-C auxilia na compreensão da estratégia adotada para o ajuste de um débito cardíaco apropriado para cada espécie (BERS, 1991).

O Ca^{2+} que promove a interação actino-miosínica (Ca^{2+} ativador) pode ter duas origens: 1) Íons provenientes do meio extracelular, pela sarcolema, através dos canais voltagem-dependentes do tipo L (canais lentos) e do trocador Na^+/Ca^{2+} (NCX); 2) Disponível em reservas internas, principalmente no retículo sarcoplasmático (RS).

A origem do cálcio ativador da contração resulta em importantes diferenças no desenvolvimento de força, já que pode determinar a quantidade de Ca^{2+} livre que estará disponível no interior do miócito a cada ciclo cardíaco, também influenciando o tempo em que o cálcio permanece livre no citosol, promovendo a interação actino-miosínica (BERS, 1991).

Fabiato (1983) propôs que, em mamíferos, a entrada de cálcio pelos mecanismos sarcolemais (através do NCX e de canais tipo L) funcionam de gatilho para a liberação de uma quantidade maior deste íon do RS, através de canais de cálcio denominados canais de rianodina

(BERS, 1991), mecanismo conhecido como liberação de cálcio cálcio-induzida (ou calcium-induced calcium release - CICR).

A rianodina, um alcalóide neutro retirado do vegetal *Ryania speciosa*, liga-se específica e irreversivelmente aos canais de cálcio do retículo sarcoplasmático (RS) e, quando utilizada em concentrações micromolares (10-300 μM), provoca uma diminuição da condutância destes canais ao cálcio, inibindo assim a função do RS como fornecedor de cálcio ao aparato contrátil do músculo cardíaco. Dessa forma, este alcaloide tem sido utilizado para testar a importância funcional do RS durante os eventos do acoplamento excitação-contração, pois, em experimentos com células intactas (BERS, 1987) e com canais de cálcio incorporados a bicamadas lipídicas (ROUSSEAU et al., 1987), observou-se que a rianodina manteve os canais de Ca^{+2} do RS parcialmente abertos, impedindo o acúmulo deste íon em seu interior.

O influxo de cálcio pelos canais L da sarcolema varia nas diferentes espécies de mamíferos, no entanto, a maioria dos experimentos realizados testando este aspecto indica que ele é insuficiente para manter a contração (BERS, 1991; CHAPMAN, 1983). Desta forma, a fonte mais importante de Ca^{+2} para a contração miocárdica de todos os mamíferos estudados é a disponível no RS (WIER, 1990).

Por outro lado, no coração dos vertebrados inferiores a situação parece ser muito diferente. Tibbits et al. (1991) sugeriram que nos miócitos de anfíbios, a contribuição de cálcio pelo RS é insignificante para a contração, além de a liberação de cálcio-cálcio induzida ter sido contestada nas células cardíacas destes animais (FABIATO, 1983). Na presença de rianodina, os miócitos de anfíbios parecem ser insensíveis (BERS, 1985), mesmo em concentrações que comprovadamente neutralizam a atividade deste canal, quando os experimentos são realizados utilizando-se frequências de estimulação e temperaturas fisiológicas.

Estudos com várias espécies de peixes de clima temperado mostraram importantes modificações no acoplamento E-C, sendo que a maior contribuição com Ca^{2+} ativador provém do meio extracelular, através do influxo deste íon pelos canais do tipo L e pelo NCX. NA maioria destes animais, o RS fornece quantidade insuficiente de cálcio para os processos contráteis, considerando-o pouco funcional e com importância reduzida para o acoplamento E-C (VORNANEN et al, 2002).

Nestes peixes, o relaxamento dos miócitos se dá através da extrusão do Ca^{2+} citosólico principalmente pelo NCX e pela Ca^{2+} -ATPase sarcolemal. Comparado aos mamíferos, o processo diferenciado de extrusão de Ca^{2+} resulta em mudanças drásticas no acoplamento E-C para os peixes (VORNANEN et al., 2002).

O manejo de cálcio no acoplamento E-C cardíaco de espécies de peixes mais ativas, como os atuns e as cavalas, apresenta-se muito semelhante ao manejo deste íon nos mamíferos, com o RS contribuindo com parte do Ca^{+2} ativador, sugerindo similaridade entre o músculo cardíaco destas espécies e o coração de mamíferos, bem como diferenças intrínsecas em relação ao coração de outros teleósteos (TIBBITS, 1996). Esta funcionalidade do RS tem sido associada à adaptações relacionadas ao exercício natatório intenso, exigindo a utilização da capacidade cardíaca máxima.

No grupo dos répteis, os estudos mais relevantes foram realizados com tartarugas dos gêneros *Chrysemys* e *Pseudemys*. Foi amplamente estudada a capacidade das mesmas em permanecer por prolongados períodos em anóxia e acidose (BAILEY e DRIEDZIC, 1996, 1997; FARREL et al., 1994; GESSER e POUPA, 1983; HICKS e FARREL, 2000; KALININ e GESSER 2002; NIELSEN e GESSER, 2001; SHI e JACKSON, 1997), sendo pouco estudado o acoplamento E-C e os mecanismos que determinam a funcionalidade das células do músculo cardíaco.

A ultraestrutura do tecido cardíaco de répteis também foi estudada por alguns pesquisadores. Em jibóias, *Boa constrictor*, Leak (1967) descreveu pequenas vesículas dispersas no sarcoplasma do miocárdio da espécie, e não observou um RS complexo ao redor das miofibrilas. Miócitos altamente complexos foram descritos para a iguana *Anolis* sp (FORBES e SPERELAKIS, 1971). Leeson (1981) estudando a ultraestrutura do músculo cardíaco de serpentes da espécie *Thamnophis elegans* verificou a ausência de túbulos T, RS pouco desenvolvido e até mesmo ausente em algumas células. Okita (1971) descreveu estruturas curtas semelhantes a túbulos T e RS bem desenvolvido em tartarugas do gênero *Amyda*. Mesmo com essas pesquisas ainda não é conclusivo a funcionalidade do RS em répteis.

Galli et al. (2006) verificaram através do estudo da contratilidade cardíaca da tartaruga americana, *Trachemys scripta*, da serpente píton, *Python regius*, do lagarto teiú, *Tupinambis merianae*, e do lagarto varanídeo, *Varanus exanthematicus*, que estas espécies recrutam Ca^{2+}

ativador do RS para a contração do miócito de forma tecido-específica e frequência-específica. No geral, os efeitos da rianodina foram mais pronunciados no tecido atrial que no ventricular. Em pítons e lagartos varanídeos, os autores verificaram redução significativa da força contrátil no tecido ventricular na presença de rianodina em frequências fisiologicamente relevantes.

A contribuição do RS com Ca^{+2} ativador da contração muscular varia entre as espécies, nos diferentes estágios de desenvolvimento, nas diferentes temperaturas e frequências de estimulação (BERS, 1991; FABIATO, 1982). Estas variações fisiológicas podem ter como base diferenças anatômicas e estruturais das células musculares cardíacas. Entre estas diferenças estão a densidade do RS (geralmente esparsos em rãs e em peixes em relação aos mamíferos), a presença de túbulos transversos (túbulos-T, ausente em peixes), variações no diâmetro dos miócitos (diâmetro reduzido dos miócitos dos peixes) e a distribuição das miofibrilas no interior dos miócitos. Tais diferenças são as bases de importantes variações fisiológicas, particularmente em relação à origem do cálcio necessário ao trabalho contrátil (TIBBITS et al., 1991).

Estudos com tartarugas e serpentes revelaram miócitos cardíacos com RS na forma de elementos vesiculares, enquanto o lagarto *Anolis sp* apresentou RS em forma de rede de túbulos bem desenvolvidos e interconectados (BOSSSEN e SOMMER, 1984; LESSON, 1981), muito semelhantes àqueles encontrados para galináceos e mamíferos, porém com menor extensão. Estudando iguanas, da mesma família que o *Anolis* (Iguanidae), Leak (1968) observou que estas não apresentam tal sistema reticular.

A diversidade morfo-fisiológica da célula cardíaca apresentada entre as classes de vertebrados, bem como as variações encontradas dentro de uma mesma classe, mostram quão diversos podem ter sido os caminhos evolutivos percorridos durante a formação de aparatos cardíacos que apresentam tais particularidades espécie-específicas (HICKMAN et al., 2001).

Apesar de todo o conhecimento sobre o acoplamento E-C, restam ainda grandes lacunas no conhecimento da fisiologia dos miócitos cardíacos dos vertebrados. Desta forma, o estudo da fisiologia de grupos ainda pouco explorados como os répteis é de fundamental importância. Os répteis foram o primeiro grupo de vertebrados a obter, ao longo da história evolutiva, a independência completa da água durante o seu ciclo vital e uma ampla conquista do ambiente terrestre, permanecendo como registros vivos da luta homeostásica pela sobrevivência, já que se

apresentam como único grupo dentre os vertebrados ectotérmicos nestas condições (HICKMAN et al., 2001).

Com surgimento há cerca de 320 milhões de anos no Período Carbonífero, a classe Reptilia atualmente reúne animais divididos em 4 ordens diferentes: Testudines (tartarugas, cágados e jabotis), Crocodylia (crocodilos e jacarés), Rhynchocephalia (Tuatara) e Squamata. A ordem Squamata inclui as subordens Sauria (lagartos) e Serpentes (cobras e anfisbênios). Os répteis, apesar de amplo e diversificado, trata-se de um grupo pouco estudado em diversos aspectos, dentre estes a contratilidade do músculo cardíaco.

Notadamente, o coração é reconhecido por sua capacidade de se remodelar em resposta às alterações nas demandas funcionais. Através do treinamento físico crônico em mamíferos, por exemplo, pode-se alcançar uma hipertrofia ventricular, benéfica por aumentar a capacidade de contração e evitando a sobrecarga do músculo cardíaco (COOPER, 1987). Em oposição, o jejum pode acarretar a redução da massa do coração, principalmente na massa ventricular esquerda. Estas alterações decorrentes do jejum podem ser transitórias e desaparecerem após realimentação, no entanto, algumas alterações podem permanecer dependendo da duração do jejum e do estado nutricional (manutenção de proteínas e minerais) do organismo (FISLER, 1992).

Os Squamata, em geral, podem ingerir presas de grandes massas. Notavelmente, alguns grupos de serpentes podem ingerir 100% de sua massa corpórea (SECOR e DIAMOND, 1997a). Neste grupo, outra característica de relevância é a capacidade de sobreviver a jejuns prolongados, por longos períodos de privação alimentar. Estas características tornam estes animais excelentes modelos para a experimentação da chamada ação dinâmica específica (SDA - "specific dynamic action"), ou incremento metabólico pós-prandial, termo que se refere à elevação da taxa metabólica durante os processos de digestão, assimilação e biossíntese (BRODY 1945; KLEIBER 1975; JOBLING 1981). Esta resposta pós-prandial de aumento da taxa metabólica pode variar de acordo com a espécie, sendo de até 50% em humanos, 320% na maioria dos demais animais e de até 1600% nas serpentes com forrageamento do tipo "senta e espera", ou seja, o predador espera até que a presa se aproxime (BRODY 1945; HAILEY e DAVIES 1987; JANES e CHAPPELL 1995; JOBLING 1981; KALARANI e DAVIES 1994; SECOR e DIAMOND 1995; WESTERTERP-PLANTENGA et al. 1992). Experimentos com pítons birmanesas, *Python molurus*,

demonstraram que, após alimentação equivalente a 100% de sua massa corpórea, as mesmas apresentam um aumento de cerca de 40 vezes na taxa metabólica de repouso, mantendo o metabolismo respiratório elevado por cerca de 15 dias (SECOR e DIAMOND, 1997a).

Este aumento na taxa metabólica com conseqüente aumento no consumo de oxigênio que, em caso de presas grandes, pode perdurar por vários dias, demanda ajustes na captação e transporte de O₂. Estes ajustes se fazem necessários para evitar uma sobrecarga no sistema cardiovascular devido ao esforço continuado.

Durante a elevação metabólica devido à atividade e digestão, o coração não pode perder sua capacidade funcional contrátil, principalmente para poder suprir uma elevação na demanda metabólica relacionada ao aumento de atividade, por exemplo para uma fuga. Esta manutenção é importante no momento da realimentação, quando a taxa metabólica aumenta logo após a ingestão do alimento, antes mesmo dos nutrientes serem digeridos e absorvidos. Estudos sobre os ajustes acerca da contratilidade miocárdica neste grupo são importantes pela possibilidade de se desvendarem os mecanismos para ajustes funcionais contráteis em situações de extremos metabólicos.

Durante o SDA, para digerir grandes presas, observa-se uma elevação metabólica ainda maior do que a ocasionada pelo exercício forçado e este perdura por vários dias (SECOR e DIAMOND, 1995, 1997). Desta forma, é de particular interesse, as investigações dos aspectos contráteis funcionais do miocárdio em serpentes, grupo que possibilita a experimentação em situações de extremos metabólicos.

Andersen et al. (2005) verificaram um aumento de 40% na massa muscular ventricular de *Python molurus* 48 horas após a ingestão de ratos com 25.0 ± 0.1 % de sua massa corpórea e esta hipertrofia foi naturalmente revertida ao final do período de digestão (28 dias).

Além do coração, uma hipertrofia de pelo menos 50% foi observada em diversos órgãos como o fígado, rins, pâncreas, mucosa intestinal, pulmões e estômago de *P. molurus* após 1 ou 3 dias do consumo de roedores com 25 ou 65% de sua massa corpórea (SECOR e DIAMOND, 1997b). No entanto, as causas da hipertrofia durante a SDA ainda são pouco conhecidas, podendo ocorrer devido ao aumento na síntese protéica ou um aumento na concentração de fluidos (SECOR e DIAMOND, 1998; STARCK e BEESE, 2001).

Andersen e colaboradores (2005) verificaram que não há diferença significativa na razão entre as massas ventriculares úmida e seca, indicando que o aumento de massa não ocorre devido a movimentação de líquido dos compartimentos extra para os intracelulares. Além disso, as proteínas totais e a concentração de RNA e miofibrilas não se alteraram durante a digestão de forma tecido-massa-específica, enquanto que a concentração de DNA massa-específica diminuiu significativamente, em consonância com o aumento de massa ventricular por hipertrofia celular encontrada em ratos por Vliegen e colaboradores (1990). Andersen e colaboradores (2005) verificaram, ainda, um aumento significativo na expressão de RNA mensageiro para a cadeia pesada da miosina cardíaca durante a digestão. Assim, os autores concluíram que a hipertrofia cardíaca é resultado da síntese de proteínas contráteis, sendo considerado um importante recurso para melhorar o transporte de oxigênio já que o volume sistólico é 50% maior em animais no período pós-prandial, mesmo quando comparados a animais em atividade máxima.

Apesar do conhecimento dos mecanismos de hipertrofia ventricular durante a SDA, não se sabe quais as implicações deste remodelamento cardíaco na contratilidade miocárdica de *P. molurus*, razão que motivou o presente estudo. Cabe ressaltar que o presente trabalho faz parte do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Fisiologia Comparada (INCT-FisC), que tem sua sede oficial no Jacarezário, no Instituto de Biociências da UNESP (Rio Claro-SP), o qual forneceu as serpentes utilizadas neste estudo.

1.1 Breves Considerações Sobre a Espécie Estudada

A píton birmanesa ocupa a seguinte posição sistemática, segundo Linnaeus (1758):

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Reptilia

Ordem: Squamata

Subordem: Serpentes

Família: Pythonidae

Gênero: *Python*

Espécie: *P. molurus*



Figura 1. Exemplar de píton birmanesa, *Python molurus*, utilizada no presente estudo (comprimento de 1,3 m e peso de 1,5 Kg)

As pítons birmanesas se distribuem pela África sub-Saariana, sul e sudeste da Ásia e Austrália. Seu tamanho varia de 4,5 a 6 metros de comprimentos, conhecidas como serpentes gigantes devido ao seu comprimento. As serpentes pítons são encontradas em uma grande variedade de habitats, desde desertos até florestas tropicais úmidas. Podem ser encontradas forrageando no solo ou nas árvores, se alimentando de aves e mamíferos. Estes animais matam sua presas pela asfixia, utilizando seus dentes somente para agarrar a presa, já que estes não são inoculadores de veneno (ZUG et al, 2001)

Todas as espécies de píton são ovíparas, apresentando cuidado parental, especialmente a espécie em questão, na qual a fêmea mantém a temperatura do corpo elevada para incubação do ovo. Em cada evento reprodutivo de *P. molurus* podem ser postos mais de 20 ovos (ZUG et al, 2001).

Apesar de ter fama de animal perigoso para o ser humano, não é peçonhenta e não consegue comer animais de grande porte. É um animal muito perseguido por caçadores e traficantes de animais, sendo utilizada como animal de estimação exótico.

De acordo com Zaar et al (2007), o coração da maioria dos répteis não corcodilianos consiste de dois átrios separados e um ventrículo incompletamente dividido, gerando pressões iguais nas artérias pulmonar e sistêmica. Neste sentido, os lagartos varanídeos e as pitons birmanesas são exceções a este padrão geral, possuindo uma prega muscular bem desenvolvida que separa os dois lados do ventrículo e proporciona a separação funcional tanto do fluxo de sangue quanto das pressões, de forma que a pressão sistêmica pode exceder muito a pressão pulmonar. Esta separação funcional permite que o lado esquerdo do ventrículo, o *cavum* arterioso, gere mais trabalho que o lado direito do ventrículo, o *cavum pulmonale*, diferença correlacionada à parede ventricular mais grossa que circunda o *cavum* arterioso.

A morfologia do coração de *P. molurus* foi descrita por Jensen et al. (2010) e é apresentada nas figuras 2 a 4. O seio venoso, que recebe sangue da veia coronária e das três principais veias sistêmicas, abre-se no átrio direito pelo óstio sino-atrial, que é guardado por uma válvula esquerda (dorsal) e uma direita (ventral). Um septo dorsal no seio venoso fecha parcialmente as entradas a partir da veia jugular e as duas veias cavas.

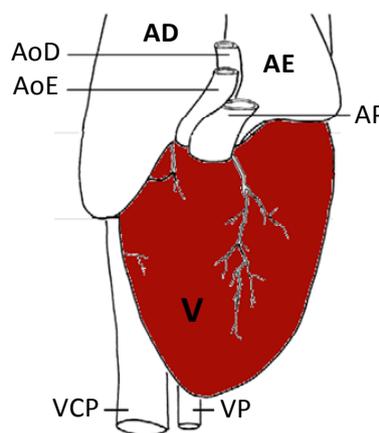


Figura 2. Esquema do coração de *P. molurus*. AD – átrio direito; AE – átrio esquerdo; V – ventrículo; AoD – aorta direita; AoE – aorta esquerda; AP – artéria pulmonar; VCP – veia cava posterior; VP – veia pulmonar. (Adaptado de JENSEN *et al.*, 2010)

O átrio esquerdo recebe sangue de uma veia pulmonar e o óstio não é protegido por válvulas. Os dois átrios são separados por um septo inter-atrial muito fino e o átrio direito é

particularmente volumoso em comparação com o ventrículo. Os dois óstios atrioventriculares são justapostos e guardados por uma única válvula cada. O ventrículo é alongado, com seu comprimento ápice-base aproximadamente 130% maior do que sua largura máxima, sendo ligeiramente achatado dorso-ventralmente (80%). Artérias coronárias na superfície ventricular surgem quase que exclusivamente a partir da aorta direita.

O miocárdio ventricular é composto de três camadas corticais de miocárdio compacto (compacta) e um núcleo esponjoso (esponjosa). As camadas compactas externas e média são relativamente espessas. A camada mais interna da compacta é contínua com a camada esponjosa medular. A maioria do tecido miocárdico, no entanto, é composto de camada esponjosa, relacionando-se à sua capacidade de manter o sangue venoso nas lacunas inter-trabeculares (figura 3). Em contraste, a compacta tem pouco ou nenhum sangue venoso, recebendo sangue via vasos coronários.

Um septo vertical divide os dois terços caudais do ventrículo em *cavum* arterioso, do lado esquerdo, e *cavum pulmonale*, do lado direito. Do septo vertical para a válvula átrio-ventricular direita há um lúmen pequeno que é normalmente referido como o canal interventricular. O *cavum* arterioso, através do canal inter-ventricular, está em continuidade luminal com o *cavum* venoso superficial e medial (figura 4).

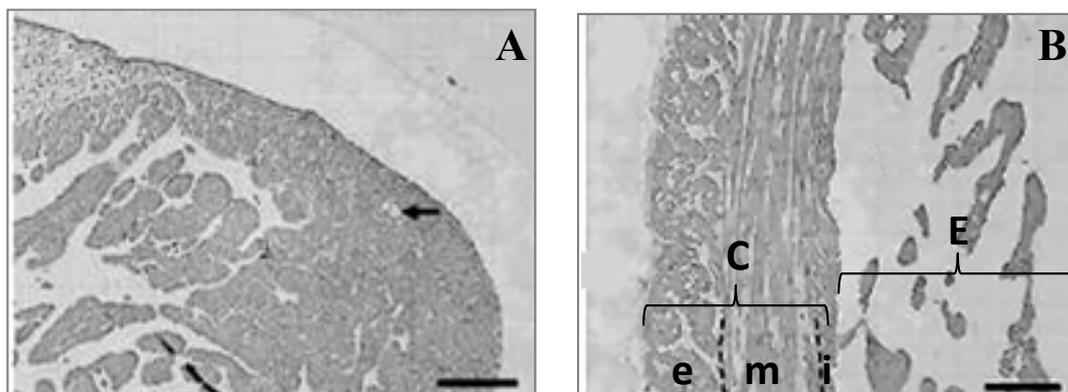


Figura 3. Cortes histológicos do miocárdio ventricular de *P. molurus* mostrando: A: camadas compacta externa e esponjosa interna; B: detalhe das divisões externa (e), média (m) e interna (i) da camada compacta (C) e a camada esponjosa (E). (Adaptada de JENSEN *et al.*, 2010)

De acordo com Zaar et al. (2007), a separação funcional do ventrículo faz com que o *cavum pulmonale* receba apenas sangue desoxigenado enquanto o *cavum* arterioso recebe sangue oxigenado que retorna do pulmão. Tal diferença na disponibilidade de O₂ seria uma explicação plausível para a presença de miocárdio esponjoso destituído de coronárias no *cavum* arterioso, enquanto que o *cavum pulmonale* consiste exclusivamente de camada compacta suprida com coronárias. Entretanto, a camada compacta de ambos os lados do ventrículo possui coronárias que suprem a mesma com sangue oxigenado.

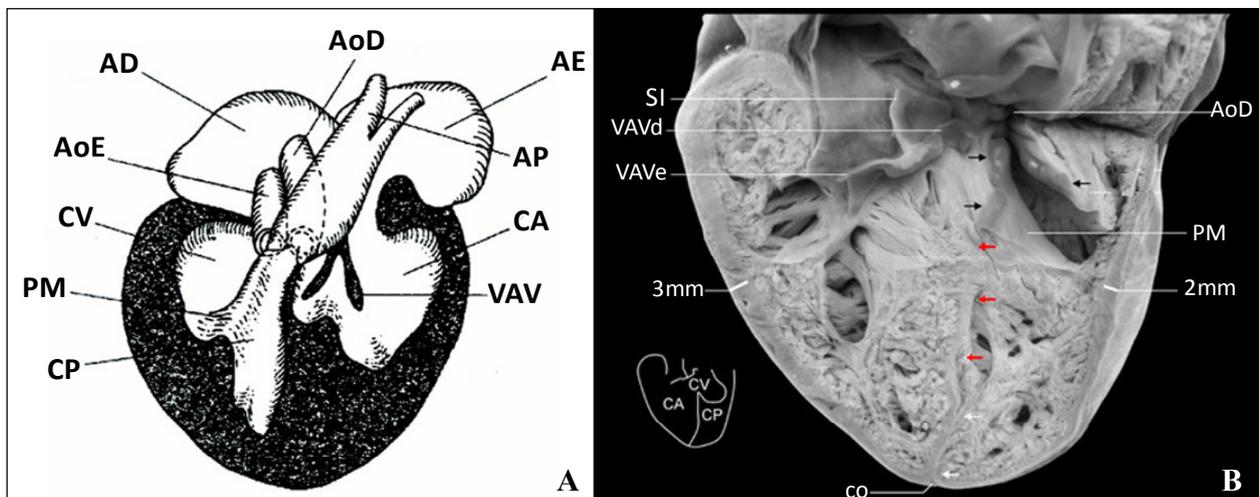


Figura 4. **A**: Representação esquemática da anatomia interna do coração dos répteis Squamata (Adaptado de HICKS, 2002); **B**: Corte do ventrículo de *P. molurus*. Setas vermelhas indicam o septo vertical, que separa o *cavum* arterioso (CA) do *cavum pulmonale* (CP). (Adaptado de JENSEN et al. , 2010). AD – átrio direito; AE – átrio esquerdo; AoD e AoE – aortas direita e esquerda; AP – artéria pulmonar; PM – prega muscular; VAV – válvula átrio-ventricular (esquerda – VAVe; direita – VAVd); CV - *cavum* venoso.

Apesar das diferenças morfológicas encontradas nas paredes dos lados esquerdo (*cavum* arterioso) e direito do ventrículo (*cavum pulmonale*), Zaar et al. (2007) não encontraram nenhuma diferença significativa na produção de força de tiras cardíacas das mesmas quando estimuladas *in vitro*. Estes autores concluíram que a elevada pressão sanguínea sistêmica é causada pela maior espessura da parede do *cavum* arterioso e não por diferenças nas propriedades intrínsecas do músculo cardíaco.

2. OBJETIVOS.

Em face do conhecimento do desenvolvimento de hipertrofia ventricular durante a SDA em pítons birmanesas, *Python molurus*, o presente trabalho pretendeu examinar as implicações deste remodelamento cardíaco nas propriedades contráteis do miocárdio ventricular desta espécie.

Para tanto, as respostas inotrópicas e cronotrópicas de tiras ventriculares estimuladas eletricamente foram avaliadas nas condições de jejum, ou seja, em período pós-absortivo (28 dias após alimentação) e no período pós-prandial, no pico do SDA (2 dias após alimentação), por meio dos seguintes protocolos experimentais:

1. Determinação da massa ventricular relativa;
2. Verificação da ocorrência ou não de deterioração da força de contração isométrica no tempo experimental determinado (40 min);
3. Análise dos possíveis efeitos do aumento da taxa de estimulação sobre a força de contração desenvolvida pelas tiras ventriculares e a relação desses resultados com o acoplamento excitação-contração;
4. Determinação indireta da importância do retículo sarcoplasmático como fornecedor de cálcio ao aparato contrátil, através da comparação da força de contração obtida pelas tiras ventriculares na presença ou ausência de rianodina (bloqueador dos canais de cálcio do retículo sarcoplasmático);
5. Determinação da capacidade de estoque intracelular de Ca^{2+} durante pausas diastólicas prolongadas (1 a 5 min), por meio da medida do desenvolvimento de força da primeira contração após o repouso;

3. MATERIAL E MÉTODOS.

3.1. Material.

No presente estudo, foram utilizados 10 exemplares de pítons birmanesas, *Python molurus* (fig. 1), cedidos pelo Jacarezário do Departamento de Zoologia da UNESP, *campus* de Rio Claro, SP.

No Laboratório de Zoofisiologia e Bioquímica Comparativa da UFSCar, as pítons foram divididas em 2 grupos experimentais com diferentes regimes de alimentação: Grupo 2 dias: exemplares no período pós-prandial, no pico do SDA (2 dias após alimentação); Grupo 28 dias: exemplares em período pós-absortivo, em jejum (28 dias após alimentação).

Todas as serpentes foram aclimatizadas em compartimentos individualizados, a uma temperatura média de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e sob fotoperíodo natural. As serpentes tiveram disponibilidade constante de água em ambos os grupos, sendo controlada apenas a alimentação de acordo com o regime proposto: As serpentes do Grupo 2 dias foram alimentadas com ratos Wistar adultos obtidos no Biotério Central da UFSCar, com pesos equivalentes a 30% da massa corpórea das serpentes e os experimentos tiveram início 2 dias após a alimentação. As serpentes do Grupo 28 dias também foram alimentadas com ratos Wistar adultos com pesos equivalentes a 30% da massa corpórea das serpentes, porém os experimentos tiveram início 28 dias após a alimentação.

3.2. Métodos.

3.2.1. Preparações experimentais.

As preparações experimentais foram efetuadas de acordo com os procedimentos adotados por KALININ e GESSER (2002) e THOMAZ et al. (2009), descritos a seguir. Os animais foram sacrificados por decaptação, sendo pesados em seguida. As cabeças foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para prevenir qualquer sensação nociceptiva. Em seguida, os corações foram retirados, pesados e colocados em solução fisiológica gelada própria para répteis, com a seguinte composição (mM): 125 NaCl, 5 KCl, 0.94 MgSO₄, 30 NaHCO₃, 1 NaH₂PO₄, 1.2

CaCl₂ and 5 glicose. A solução foi previamente borbulhada com uma mistura carbogênica contendo 98% O₂ e 2 % CO₂.

Posteriormente à dissecação do coração, o ventrículo foi pesado (W_v - g) para determinação da massa ventricular relativa (MVR), a qual foi expressa em porcentagem (W_v/W_t x 100).

Tiras ventriculares eram preparadas a partir da massa ventricular do coração de cada serpente. Cada uma das tiras, com diâmetro de 1 a 2 mm, foi transferida para uma cubeta contendo 30 ml de solução fisiológica termostalizada, dotada de borbulhamento constante com a mistura carbogênica descrita acima.

Uma extremidade da tira foi fixada, por meio de uma espiral metálica, a um gancho construído na parte terminal de um eletrodo de estimulação de platina. A outra extremidade foi conectada, com um gancho metálico preso a outra espiral metálica, a um transdutor de força isométrica (LETICA Scientific Instruments, Barcelona, Espanha). Os transdutores de força foram conectados a um amplificador AECAD 04 (Solução Integrada Ltda., SP) e este, por sua vez, a um sistema informatizado AQCAD 1.5.5 e ANCAD (Solução Integrada Ltda., SP), para que o traçado da contração isométrica fosse adquirido e analisado.

Os eletrodos de estimulação foram acoplados a estimuladores AVS 100D (Solução Integrada Ltda., São Paulo, SP), os quais geram pulsos elétricos quadrados com 8 ms de duração e uma voltagem 50% superior àquela necessária para que o limiar da resposta mecânica seja atingido, permitindo assim a estimulação elétrica das tiras para o desenvolvimento da força de contração a diferentes taxas. A figura 5 mostra o set experimental utilizado para a obtenção dos resultados. Um detalhe das cubetas é mostrado na figura 6.



Figura 5. Set experimental utilizado para a obtenção dos registros da contração isométrica das tiras ventriculares de *Python molurus*: A. cilindro de mistura carbogênica; B. banho termostatizado; C. amplificador de força; D. estimuladores elétricos; E. banho com quatro cubetas; F. sistema informatizado com placa de aquisição e tratamento dos dados.

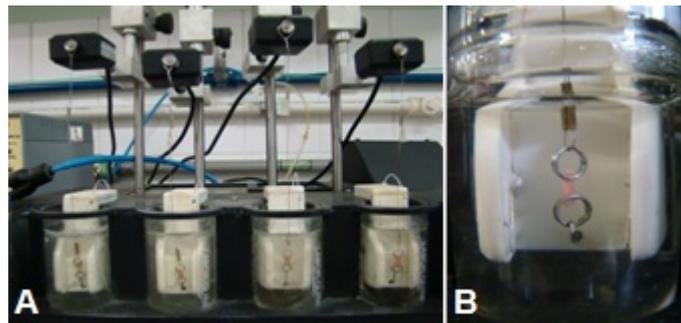


Figura 6. **A:** Detalhe do banho com as quatro cubetas e os transdutores de força de contração isométrica; **B:** Detalhe de uma cubeta com a tira ventricular.

As tiras ventriculares foram então estimuladas eletricamente na frequência de 0,2 Hz. Durante a estabilização (~ 30 min), as tiras foram estiradas, por meio de microestiradores, para a obtenção da melhor relação comprimento/desenvolvimento de força (detalhes em RIVAROLI et al., 2006; ROCHA et al., 2006, 2007). Após estabilização, as tiras ventriculares dos animais submetidos às duas condições fisiológicas (jejum de 28 dias e 2 dias pós-absortivo - SDA) foram submetidas aos diferentes protocolos experimentais, para as medidas da força de contração (F_c) e dos parâmetros tempo-dependentes (tempos para o pico máximo de força - TPT e para 50% do relaxamento - THR).

3.2.2. Protocolos experimentais.

3.2.2.1. Efeito do tempo de estimulação.

As tiras ventriculares foram estimuladas a 0,2 Hz (12 bpm) na temperatura de 30°C por um período de 40 minutos, durante o qual a força de contração (F_c) foi registrada ininterruptamente para avaliar a possível ocorrência de uma deterioração da mesma ou alterações na dinâmica cardíaca no decorrer do período experimental que pudessem fazer necessária a correção dos valores de F_c , TPT e THR obtidos nos demais protocolos no decorrer do período experimental.

3.2.2.2. Tensão pós-pausa

Este protocolo foi conduzido com o intuito de analisar a capacidade de armazenamento intracelular de cálcio durante uma pausa diastólica prolongada (ou período de repouso).

As tiras ventriculares foram estabilizadas a uma frequência de estimulação constante de 0,2 Hz e temperatura de 30°C. Ao final do período de estabilização, registros da força de contração foram realizados. Seguiu-se, então, um período de pausa na estimulação de 5 min, após o qual as tiras foram novamente estimuladas. A primeira contração registrada após o reinício dos estímulos foi considerada a tensão pós-pausa.

Este protocolo experimental foi repetido, porém adicionando-se 10 μ M de rianodina para verificar-se a funcionalidade do retículo sarcoplasmático (RS) nesta espécie e uma possível alteração da mesma devido aos diferentes regimes alimentares aos quais as serpentes foram submetidas.

A rianodina, na concentração a utilizada no presente estudo (10 μ M), tem sido utilizada para o teste da importância funcional do retículo sarcoplasmático no acoplamento excitação-contração de diversos vertebrados.

3.2.2.3. Aumento da frequência de estimulação.

Este protocolo foi realizado com o objetivo de determinar a capacidade do miocárdio ventricular em manter o acoplamento E-C frente a incrementos da frequência cardíaca.

Após a estabilização das tiras ventriculares a 0,2 Hz, na temperatura de 30°C, a força de contração foi registrada por 5 minutos. Ao final desse tempo, as taxas de estimulação foram progressivamente aumentadas (de 0,2 em 0,2 Hz), até que os registros se tornassem irregulares. Foi considerada máxima a frequência de estimulação na qual pelo menos 80% das tiras foram capazes de se contrair regularmente.

A funcionalidade do RS nas diferentes frequências de contração foi analisada por meio da adição de 10 μ M de rianodina ao meio, em cada uma das condições experimentais.

3.2.3. Forma de Apresentação dos Resultados.

A padronização dos resultados obtidos para as diferentes preparações foi efetuada de acordo com Rivaroli (2011). Os valores de tensão isométrica máxima foram normalizados em função da área de secção transversal (mm²) de cada tira ventricular utilizada. A área de secção transversal foi calculada utilizando-se os valores de massa (g) e comprimento (mm) das tiras ventriculares, considerando-se para tal uma densidade muscular de 1,06 g.cm⁻³ (Layland et al., 1995). A força de contração isométrica (Fc - mN.mm⁻²) foi calculada dividindo-se os valores de tensão isométrica máxima pela respectiva área de secção transversal (Rivaroli, 2011).

O tempo para que o pico de força seja atingido (TPT - ms), que corresponde ao intervalo de tempo entre o início da geração de tensão e a tensão máxima desenvolvida, foi medido para avaliar-se o desempenho da contração. A partir da Fc e do TPT, foi calculada a taxa de contração (TPT/Fc - ms.mN⁻¹.mm⁻²), resultado da divisão do TPT pela Fc. O tempo para 50% de relaxamento (THR - ms), que corresponde ao intervalo de tempo necessário para reduzir a tensão máxima desenvolvida pela metade, foi medido para avaliar-se o relaxamento cardíaco. O THR foi utilizado também para o cálculo da taxa inicial de relaxamento (THR/Fc - ms.mN⁻¹.mm⁻²), já que corresponde à metade inicial do processo. Para o cálculo da THR/Fc utilizou-se a metade do valor da Fc dividido pelo valor correspondente de THR.

As derivadas máximas da contração e do relaxamento (dF/dt e $-dF/dt$), foram analisadas para avaliar-se a eficiência dos processos de contração e relaxamento das tiras ventriculares cardíacas. O produto da força de contração pela frequência de estimulação foi calculado para o estudo da capacidade de bombeamento cardíaco (CBC - $mN.mm^{-2}.min^{-1}$), de acordo com Matikainen e Vornanen (1992).

A representação de um registro de força de contração com as medidas dos parâmetros descritos acima é mostrada na figura 7.

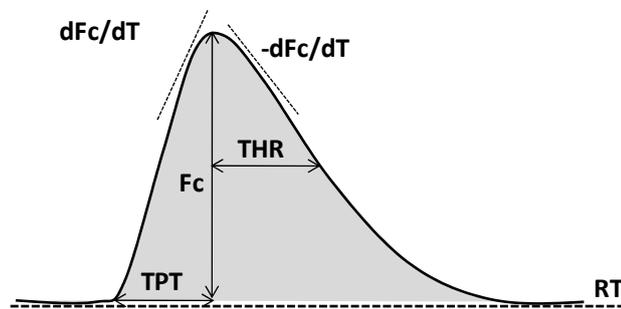


Figura 7. Representação esquemática dos parâmetros analisados nos registros de força de contração isométrica no presente trabalho.

3.2.4. Tratamento Estatístico dos Resultados.

Os seguintes procedimentos estatísticos foram adotados para a análise dos dados obtidos no presente estudo:

- Análise de variância (ANOVA), complementada pelo teste de Tukey-Kramer de comparações múltiplas, para verificar a existência de possíveis variações significativas entre os valores de um mesmo grupo experimental. As diferenças foram consideradas significativas quando valores de p foram menores que 0,05.
- Teste de t de Student, para verificar a ocorrência de possíveis diferenças significativas entre pontos correspondentes dos diferentes grupos experimentais. As diferenças foram consideradas significativas quando valores de p foram menores que 0,05.

4. RESULTADOS

A massa ventricular relativa (MVR) de ambos os grupos experimentais é apresentada na figura 8. A MVR do grupo em SDA (2 dias), de $0,145 \pm 0,004$ %, foi significativamente mais elevada que a apresentada pelo grupo em jejum (28 dias), de $0,118 \pm 0,005$ %.

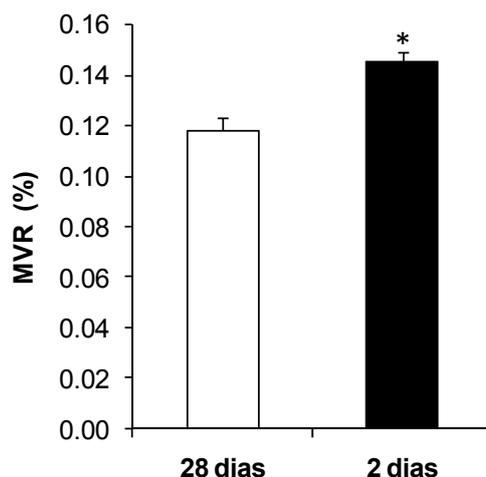


Figura 8. Massa ventricular relativa (MVR) de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). O asterisco indica diferença significativa entre os grupos. Valores médios \pm 1 EPM.

O efeito do tempo experimental (0,2 Hz à 30° C) sobre o desenvolvimento de força das tiras ventriculares de *P. molurus* em jejum (28 dias, n =10) e em SDA (2 dias, n = 10) é apresentado na Tabela 1 e na figura 9.

O grupo em jejum apresentou Fc significativamente inferior do que o grupo em SDA durante todo o tempo experimental. O grupo alimentado há 28 dias desenvolveu força de contração de aproximadamente 9 mN.mm^{-2} , enquanto que o grupo alimentado há 2 dias desenvolveu aproximadamente 17 mN.mm^{-2} . Os valores mostram a manutenção da Fc nos dois grupos por todo o tempo experimental, já que os valores obtidos em todos os tempos não apresentam diferença significativa em relação aos valores iniciais.

Tabela 1. Força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante 40 minutos numa frequência de estimulação de 0,2 Hz. Valores médios \pm 1 EPM.

Tempo (min)	Fc (mN.mm ⁻²)	
	28 dias	2 dias
0	9,6 \pm 0,5	17,2 \pm 1,7
5	9,6 \pm 0,5	17,2 \pm 1,8
10	9,4 \pm 0,5	17,2 \pm 1,8
20	9,3 \pm 0,5	17,0 \pm 1,7
30	9,1 \pm 0,5	16,8 \pm 1,7
40	8,9 \pm 0,5	16,5 \pm 1,7

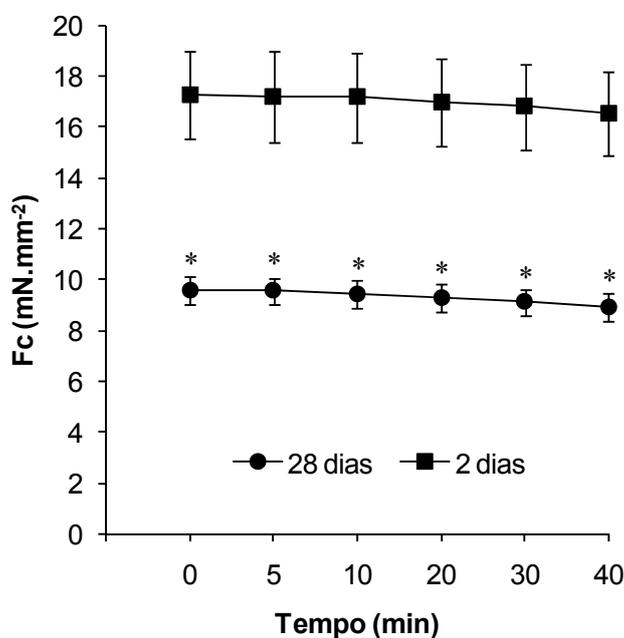


Figura 9. Efeito do tempo experimental de 40 minutos sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

O efeito do tempo experimental (0,2 Hz à 30°C) sobre os parâmetros tempo dependentes (TPT e THR) e sobre as taxas de contração e relaxamento (TPT/Fc e THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) é apresentado nas Tabelas 2 e 3 e representado graficamente nas figuras 10,11,12 e 13.

Os parâmetros tempo dependentes TPT e THR mantiveram-se constantes ao longo dos 40 min e não foram detectadas diferenças significativas entre os dois grupos (figs. 10 e 12). As taxas

de contração e relaxamento (TPT/Fc e THR/Fc) também mantiveram-se constantes ao longo dos 40 min, mas com valores significativamente inferiores no grupo em jejum (figs. 11 e 13).

Tabela 2. Valores do tempo para que o pico de força seja atingido (TPT) e da taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante 40 minutos numa frequência de estimulação de 0,2 Hz. Valores médios \pm 1 EPM.

Tempo (min)	TPT (ms)		TPT/Fc (ms.mN ⁻¹ .mm ⁻²)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0	575.8 \pm 16.9	590.1 \pm 15.3	62.0 \pm 3.6	37.4 \pm 4.0
5	573.0 \pm 19.4	583.6 \pm 16.7	61.8 \pm 3.7	37.3 \pm 3.9
10	565.5 \pm 24.1	587.2 \pm 16.2	62.0 \pm 4.4	37.3 \pm 3.8
20	556.7 \pm 17.3	582.8 \pm 13.0	61.6 \pm 3.4	37.2 \pm 3.5
30	546.9 \pm 17.0	583.4 \pm 13.4	61.8 \pm 3.5	37.5 \pm 3.5
40	551.3 \pm 15.9	583.7 \pm 13.7	63.6 \pm 3.4	38.1 \pm 3.4

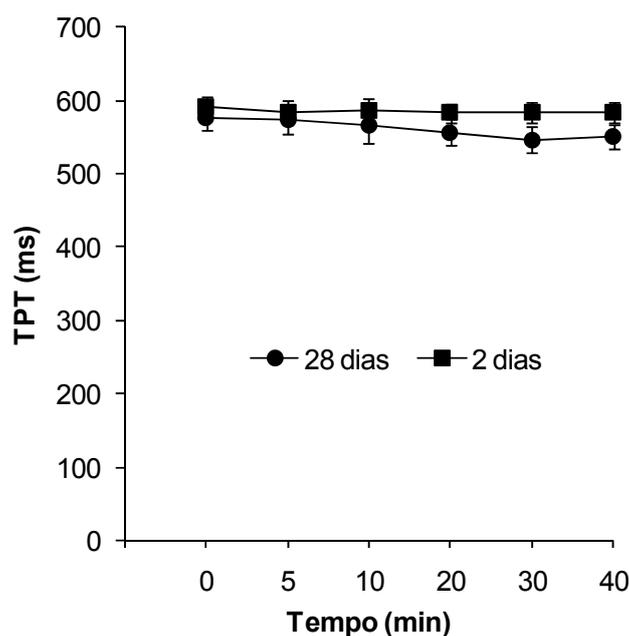


Figura 10. Efeito do tempo experimental de 40 minutos sobre o tempo para o pico de força (TPT) de tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM.

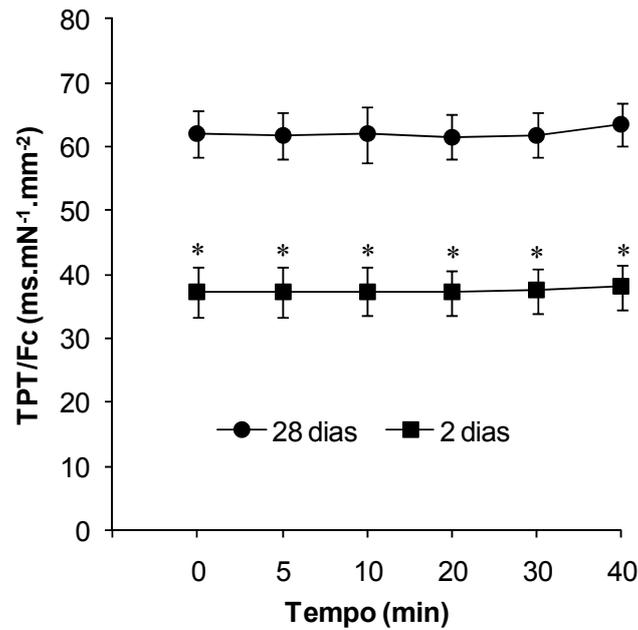


Figura 11. Efeito do tempo experimental de 40 minutos sobre a taxa de contração (TPT/Fc) de tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Tabela 3. Valores do tempo para metade do relaxamento (THR) e da taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante 40 minutos numa frequência de estimulação de 0,2 Hz. Valores médios \pm 1 EPM.

Tempo (min)	THR (ms)		THR/Fc (ms.mN ⁻¹ .mm ²)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0	475,0 \pm 18,2	462,5 \pm 17,4	102,4 \pm 6,7	59,0 \pm 6,9
5	473,6 \pm 17,5	448,6 \pm 13,5	102,4 \pm 6,7	57,8 \pm 6,7
10	481,6 \pm 17,4	452,7 \pm 14,5	105,2 \pm 6,6	58,1 \pm 6,6
20	469,5 \pm 18,2	449,5 \pm 17,6	104,1 \pm 6,7	58,3 \pm 6,8
30	466,0 \pm 18,5	453,8 \pm 20,3	105,4 \pm 6,6	58,9 \pm 6,6
40	458,0 \pm 21,9	443,6 \pm 20,3	105,4 \pm 6,8	58,6 \pm 6,7

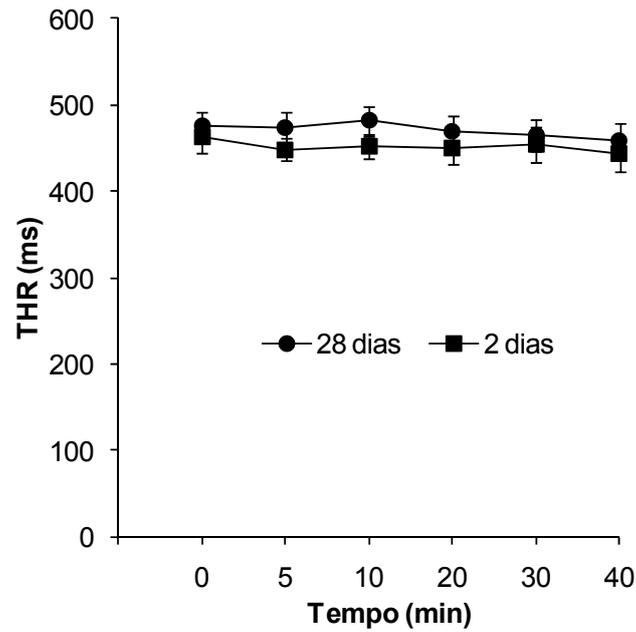


Figura 12. Efeito do tempo experimental de 40 minutos sobre o tempo para metade do relaxamento (THR) de tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM.

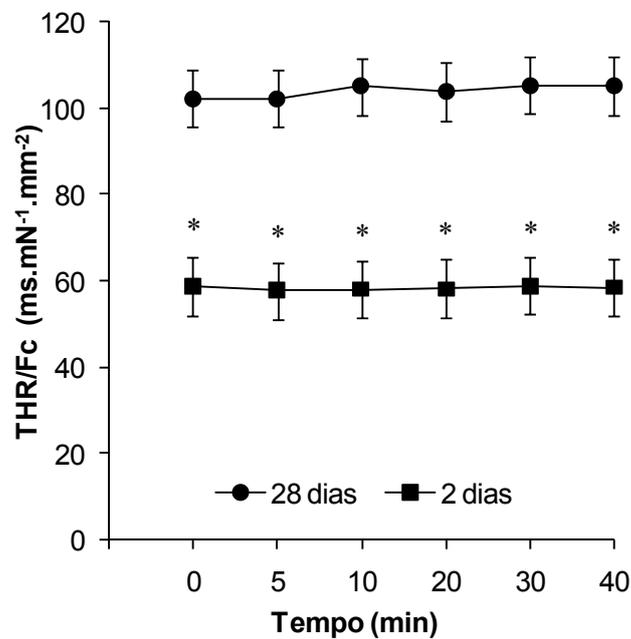


Figura 13. Efeito do tempo experimental de 40 minutos sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) de tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Os valores das derivadas máximas da contração (dF/dt) e do relaxamento ($-dF/dt$) das tiras ventriculares dos dois grupos experimentais são apresentados na tabela 4 e representados gráficamente na figura 14. Tanto a dF/dt quanto a $-dF/dt$ do grupo 2 dias foram superiores ($p < 0,05$) as do grupo 28 dias em todos os tempos experimentais.

Tabela 4. Valores da derivada máxima da contração e da derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, $n = 10$) e em SDA (2 dias, $n = 10$) durante 40 minutos numa frequência de estimulação de 0,2 Hz. Valores médios \pm 1 EPM.

Tempo (min)	dF/dt ($mN.ms^{-1}$)		$-dF/dt$ ($mN.ms^{-1}$)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0	$0,06 \pm 0,008$	$0,09 \pm 0,008$	$-0,04 \pm 0,005$	$-0,06 \pm 0,006$
5	$0,06 \pm 0,008$	$0,09 \pm 0,008$	$-0,04 \pm 0,005$	$-0,06 \pm 0,006$
10	$0,06 \pm 0,008$	$0,09 \pm 0,007$	$-0,03 \pm 0,005$	$-0,06 \pm 0,006$
20	$0,06 \pm 0,007$	$0,09 \pm 0,007$	$-0,03 \pm 0,005$	$-0,06 \pm 0,006$
30	$0,06 \pm 0,007$	$0,09 \pm 0,007$	$-0,03 \pm 0,005$	$-0,06 \pm 0,006$
40	$0,06 \pm 0,007$	$0,09 \pm 0,006$	$-0,03 \pm 0,005$	$-0,06 \pm 0,006$

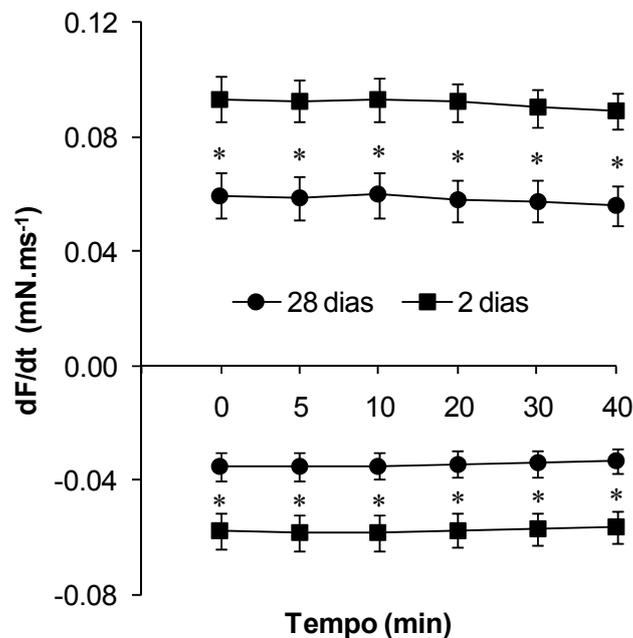


Figura 14. Efeito do tempo experimental de 40 minutos sobre a derivada máxima da contração e sobre a derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, $n = 10$) e em SDA (2 dias, $n = 10$). Valores médios \pm 1 EPM. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os grupos experimentais.

A tabela 5 e a figura 15 mostram o efeito do aumento na frequência de estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força de contração pelas tiras ventriculares de *P. molurus* em jejum e em SDA.

As tiras ventriculares dos dois grupos experimentais mantiveram contrações regulares até a frequência de 1,6 Hz (ou 96 bpm) e recuperaram os valores iniciais de Fc no retorno a 0,2 Hz (ou 12 bpm). O grupo em jejum (28 dias) apresentou redução significativa da Fc em relação ao valor inicial após a frequência de 0,8 Hz. Já o grupo em SDA (2 dias) apresentou redução da Fc acima de 1,0 Hz (ou 60 bpm). Os valores de Fc do grupo 2 dias foram significativamente superiores aos do grupo 28 dias na faixa de frequências compreendida entre 0,2 e 1,2 Hz (ou 72 bpm) e no retorno a 0,2 Hz ($p < 0,05$).

Tabela 5. Força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante incrementos na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	Fc (mN.mm ⁻²)	
	28 dias	2 dias
0,2	11.3 \pm 1.1	19.4 \pm 2.8
0,4	10.4 \pm 1.1	18.7 \pm 2.7
0,6	9.6 \pm 1.0	17.4 \pm 2.5
0,8	8.3 \pm 0.9	15.0 \pm 2.1
1,0	7.0 \pm 0.8	12.0 \pm 1.7
1,2	5.6 \pm 0.6	9.3 \pm 1.4
1,4	4.6 \pm 0.5	7.3 \pm 1.1
1,6	3.4 \pm 0.4	5.3 \pm 0.8
0,2	10.4 \pm 1.0	18.2 \pm 2.4

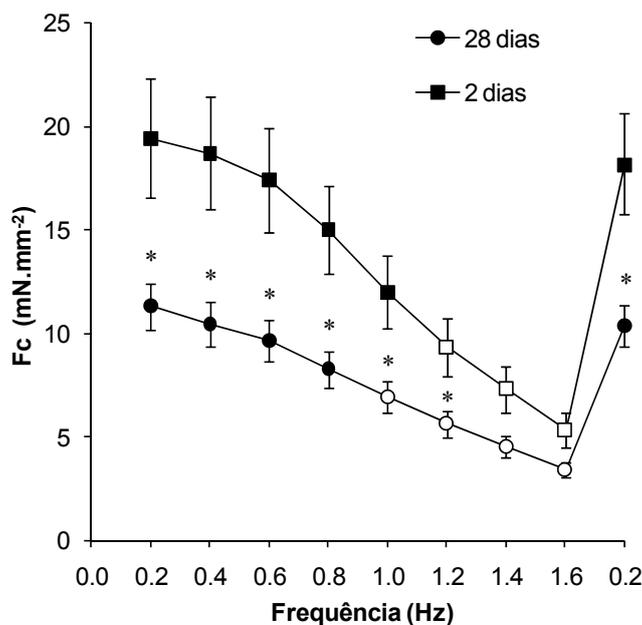


Figura 15. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação aos valores iniciais. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os parâmetros tempo-dependentes (TPT e THR) dos dois grupos experimentais apresentaram redução significativa em relação aos valores iniciais logo nas primeiras frequências (a partir de 0,6Hz) e não apresentaram diferenças significativas entre si, como se observa nas tabelas 6 e 7 e nas figuras 16 e 18.

O efeito do aumento na frequência de estimulação sobre a taxa de contração (TPT/Fc) esta apresentado na tabela 6 e na figura 17. Apesar da tendência gráfica de elevação, os valores de TPT/Fc do grupo 28 dias (jejum) não sofreram alterações significativas ($p > 0,05$) durante as elevações da frequência de estimulação e o grupo 2 dias (SDA) só apresentou elevação nestes valores na frequência de 1,6 Hz. O TPT/Fc do grupo 2 dias foi significativamente inferior ao do grupo 28 dias ($p < 0,05$) no intervalo de frequências compreendido entre 0,2 e 1,2Hz e no retorno a 0,2 Hz.

Tabela 6. Valores do tempo para que o pico de força seja atingido (TPT) e da taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante aumentos na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	TPT (ms)		TPT/Fc ($\text{ms.mN}^{-1}.\text{mm}^{-2}$)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0,2	581,8 \pm 20,3	578,0 \pm 14,5	56,1 \pm 4,9	33,4 \pm 3,2
0,4	544,7 \pm 21,1	538,1 \pm 13,9	57,3 \pm 5,2	32,3 \pm 3,1
0,6	484,6 \pm 17,8	480,9 \pm 13,1	55,3 \pm 5,1	31,1 \pm 3,1
0,8	424,8 \pm 14,5	421,0 \pm 12,8	57,4 \pm 6,1	31,9 \pm 3,4
1,0	385,6 \pm 11,2	374,1 \pm 11,1	63,0 \pm 7,5	36,0 \pm 4,2
1,2	346,3 \pm 7,4	326,9 \pm 10,1	71,1 \pm 9,0	41,0 \pm 5,0
1,4	306,0 \pm 6,1	292,6 \pm 9,5	77,9 \pm 10,5	47,7 \pm 6,5
1,6	265,0 \pm 3,1	256,5 \pm 9,7	85,9 \pm 7,7	59,3 \pm 9,3
0,2	608,5 \pm 13,1	581,7 \pm 16,6	64,4 \pm 5,8	36,1 \pm 3,9

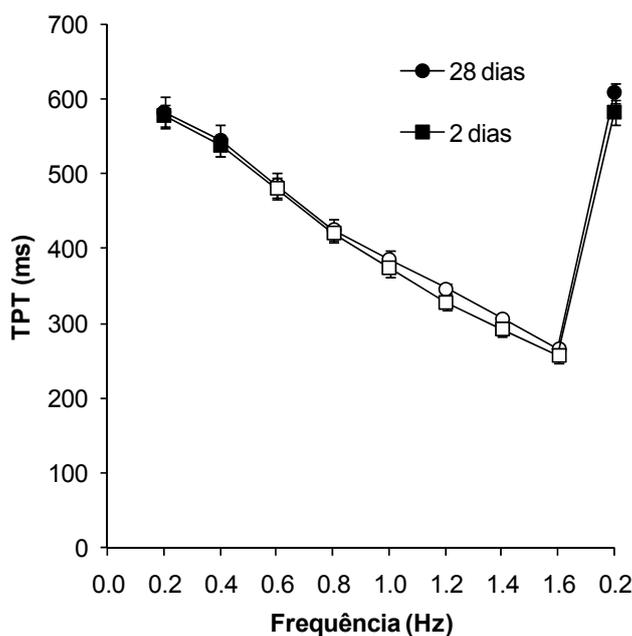


Figura 16. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para o pico de tensão (TPT) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial.

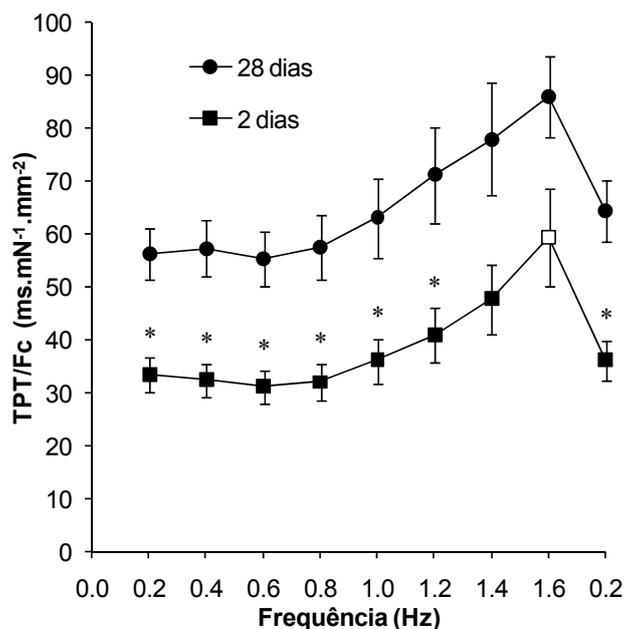


Figura 17. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

O efeito do aumento da frequência de estimulação sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos dois grupos experimentais (jejum e SDA) é mostrado na tabela 7 e na figura 19.

Apesar da tendência gráfica de elevação, os valores de THR/Fc de ambos os grupos experimentais não sofreram alterações significativas ($p > 0,05$) durante as elevações da frequência de estimulação. O grupo em SDA (2 dias) apresentou valores de THR/Fc significativamente inferiores aos do grupo em jejum (28 dias) em todas as frequências de estimulação testadas.

O efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (dF/dt) e do relaxamento ($-dF/dt$) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias) e em SDA (2 dias) é apresentado na tabela 8 e na figura 20.

Tabela 7. Valores do tempo para 50% de relaxamento (THR) e da taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	THR (ms)		THR/Fc ($\text{ms} \cdot \text{mN}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0,2	432,9 \pm 16,2	429,5 \pm 19,3	84,2 \pm 7,8	47,5 \pm 5,4
0,4	404,3 \pm 17,1	410,1 \pm 16,8	85,3 \pm 8,2	46,9 \pm 5,4
0,6	375,2 \pm 15,0	379,0 \pm 10,8	86,2 \pm 8,7	46,7 \pm 5,3
0,8	327,4 \pm 10,8	339,8 \pm 5,0	88,0 \pm 9,0	47,8 \pm 5,1
1,0	284,5 \pm 7,0	296,8 \pm 2,9	92,6 \pm 10,4	52,6 \pm 5,7
1,2	259,8 \pm 5,9	265,8 \pm 2,7	106,6 \pm 13,4	61,2 \pm 6,8
1,4	218,0 \pm 2,2	223,3 \pm 2,7	110,9 \pm 14,2	64,5 \pm 7,7
1,6	195,0 \pm 1,6	194,7 \pm 3,3	125,7 \pm 10,2	75,9 \pm 10,4
0,2	436,8 \pm 15,8	441,4 \pm 15,9	92,9 \pm 9,1	52,8 \pm 7,1

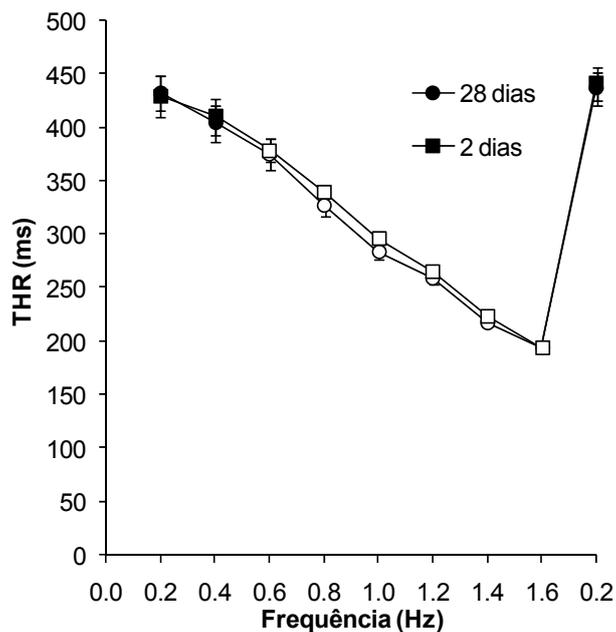


Figura 18. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para metade do relaxamento (THR) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial.

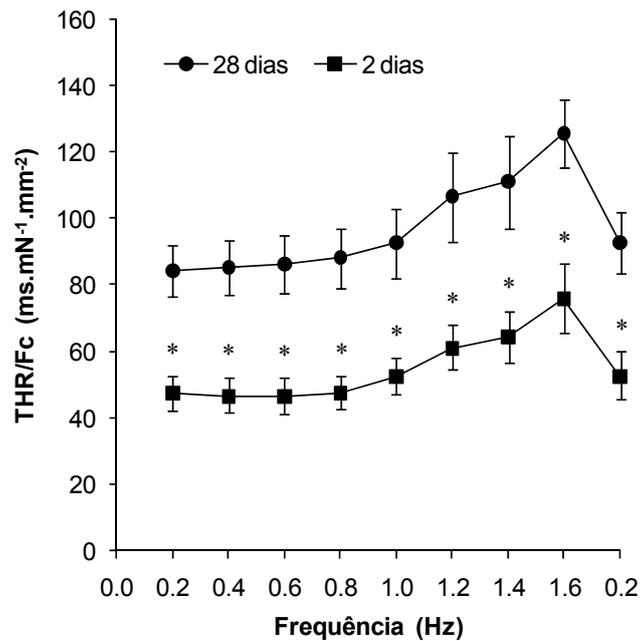


Figura 19. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

Com relação à derivada máxima da contração, o grupo em SDA apresentou valores constantes até a frequência de 1,4 Hz (84 bpm), sofrendo redução em 1,6 Hz (96 bpm) e recuperando os valores iniciais no retorno a 0,2 Hz. Nenhuma alteração significativa foi observada neste parâmetro durante os aumentos na frequência de estimulação para o grupo jejum ($p > 0,05$).

Os valores de dF/dt do grupo SDA foram maiores que os do grupo em jejum no intervalo de frequências compreendido 0,2 e 1,2 Hz (72 bpm) e no retorno a 0,2 Hz ($p < 0,05$).

A derivada máxima do relaxamento ($-dF/dt$) de ambos os grupos experimentais manteve-se constante ao longo dos incrementos na frequência de estimulação, sendo significativamente superior no grupo SDA em, relação ao grupo jejum nas frequências de 0,2 e 1,0 Hz ($p < 0,05$).

Tabela 8. Valores da derivada máxima da contração e da derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	dF/dt (mN.ms ⁻¹)		-dF/dt (mN.ms ⁻¹)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0,2	0,07 \pm 0,007	0,09 \pm 0,006	-0,05 \pm 0,005	-0,06 \pm 0,006
0,4	0,07 \pm 0,007	0,10 \pm 0,006	-0,05 \pm 0,004	-0,06 \pm 0,005
0,6	0,07 \pm 0,007	0,10 \pm 0,005	-0,04 \pm 0,004	-0,06 \pm 0,005
0,8	0,07 \pm 0,006	0,10 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,004	-0,06 \pm 0,004
1,0	0,06 \pm 0,006	0,09 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,004	-0,05 \pm 0,004
1,2	0,06 \pm 0,005	0,08 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,003	-0,05 \pm 0,004
1,4	0,05 \pm 0,005	0,07 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,003	-0,04 \pm 0,004
1,6	0,05 \pm 0,004	0,06 \pm 0,005	-0,03 \pm 0,003	-0,04 \pm 0,004
0,2	0,06 \pm 0,006	0,09 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,004	-0,06 \pm 0,005

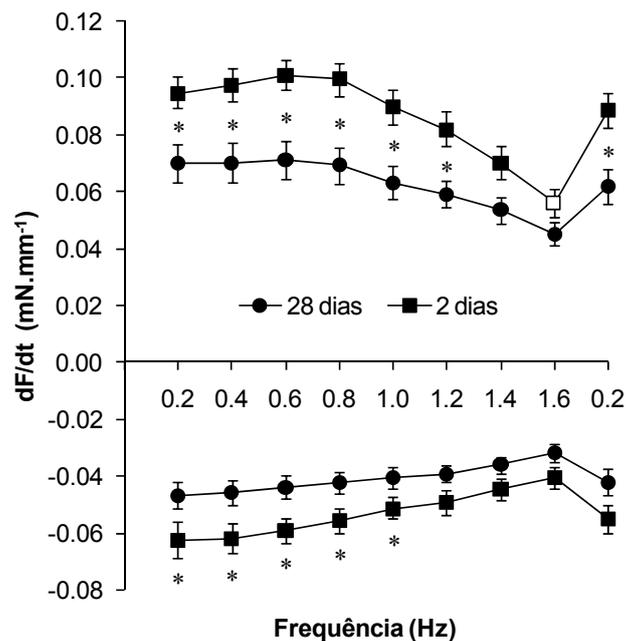


Figura 20. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a derivada máxima da contração e sobre a derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os valores da capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos dois grupos experimentais (jejum e SDA) durante aumento na frequência de estimulação elétrica estão apresentados na tabela 9 e representados graficamente na figura 21.

O CBC dos dois grupos apresentam um aumento progressivo com o incremento da frequência a partir de 0,6Hz (36 bpm) ($p < 0,05$). Os valores de CBC do grupo 2 dias (SDA) foram significativamente superiores aos do grupo 28 dias (jejum) no intervalo de frequências compreendido entre 0,2 e 1,2 Hz (72 bpm) e no retorno a 0,2 Hz.

Tabela 9. Valores Capacidade de bombeamento cardíaco das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, $n = 10$) e em SDA (2 dias, $n = 10$) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	CBC ($\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$)	
	28 dias	2 dias
0,2	2,26 \pm 0,22	3,89 \pm 0,57
0,4	4,17 \pm 0,43	7,49 \pm 1,10
0,6	5,78 \pm 0,60	10,44 \pm 1,51
0,8	6,60 \pm 0,69	11,99 \pm 1,67
1,0	6,95 \pm 0,76	12,00 \pm 1,73
1,2	6,77 \pm 0,76	11,18 \pm 1,64
1,4	6,37 \pm 0,72	10,23 \pm 1,54
1,6	5,46 \pm 0,62	8,54 \pm 1,30
0,2	2,08 \pm 0,20	3,64 \pm 0,49

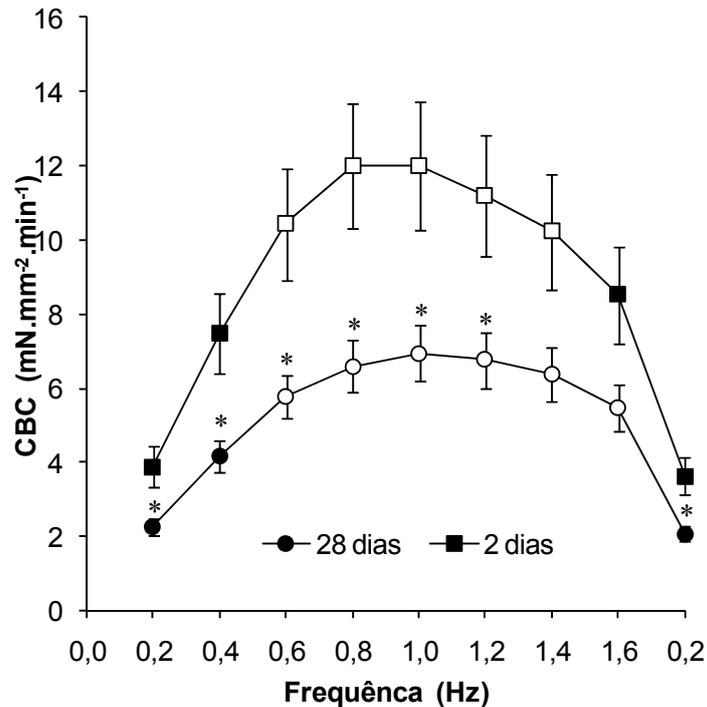


Figura 21. Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus*, dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os valores da força de contração (F_c - %valores pré-pausa) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* após pausas diastólicas de 1 a 5 minutos nos grupos em jejum e em SDA, em situação controle e sob o efeito da rianodina estão apresentados na tabela 10 e nas figuras 22, 23, 24 e 25.

Apesar da tendência de aumento na F_c , as preparações controle dos grupos em jejum e em SDA não apresentaram valores de F_c pós-pausas significativamente superiores aos apresentados antes das pausas. Quando comparados entre si, os valores de F_c dos grupos experimentais diferiram significativamente nas pausas de 1 a 5 minutos. Os grupos em jejum e em SDA sob efeito da rianodina apresentaram redução dos valores de F_c após as pausas (ou seja, decaimento pós-pausa da F_c), atingindo valores de no máximo 70% da força pré-pausa, e quando comparados entre si também não apresentaram diferenças significativas nas pausas de 1 a 5 minutos.

Os valores de F_c do grupo 28 dias mostraram uma redução significativa, de até 40%, nas preparações sob efeito da rianodina, quando comparados aos apresentados pelas preparações

controle. A mesma tendência foi observada no grupo 2 dias, que também apresentou valores de Fc significativamente inferiores (em torno de 40%) nas preparações sob efeito da presença de rianodina em relação às preparações controle.

Tabela 10. Valores, em porcentagem dos valores pré-pausa, da força de contração desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* após pausas diastólicas de 1 a 5 minutos dos grupos em jejum (28 dias - n=10) e em SDA (2 dias - n=10) em situação controle e sob efeito da rianodina. Valores médios \pm EPM.

Duração da pausa (min)	Fc (% valores pré-pausa)			
	Controle		Rianodina	
	28 dias	2 dias	28 dias R	2 dias R
1	119.5 \pm 2.5	124.1 \pm 9.3	70.9 \pm 3.5	69.7 \pm 4.3
2	117.9 \pm 1.8	123.2 \pm 8.8	63.3 \pm 4.5	61.0 \pm 4.3
3	117.5 \pm 3.0	116.9 \pm 7.4	60.9 \pm 7.1	61.5 \pm 4.5
4	116.2 \pm 3.6	120.9 \pm 9.2	49.5 \pm 3.7	56.3 \pm 4.4
5	114.9 \pm 5.2	121.0 \pm 9.9	54.3 \pm 5.1	50.4 \pm 4.4

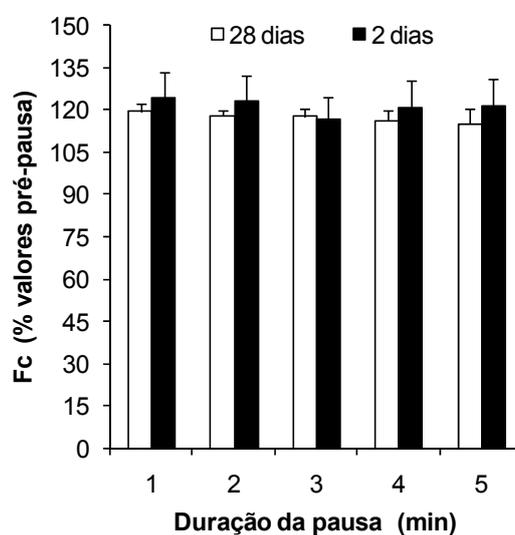


Figura 22. Efeito de pausas diastólicas de 1 a 5 minutos sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus*. dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10). Valores médios + 1 EPM.

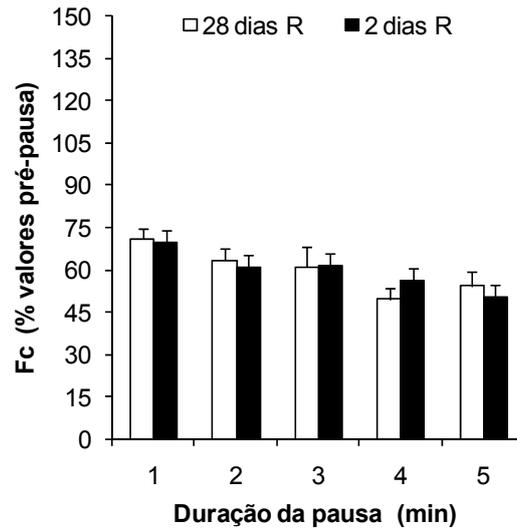


Figura 23. Efeito de pausas diastólicas de 1 a 5 minutos sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus*. dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10), sob efeito da rianodina . Valores médios + 1 EPM.

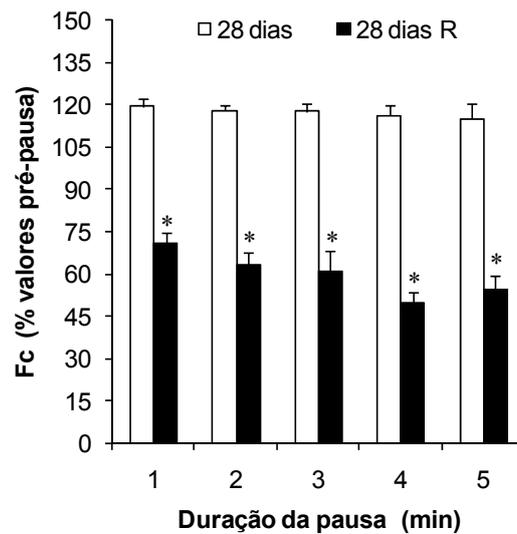


Figura 24. Efeito de pausas diastólicas de 1 a 5 minutos sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus*. dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) em situação controle e sob efeito da rianodina. Valores médios + 1 EPM. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos.

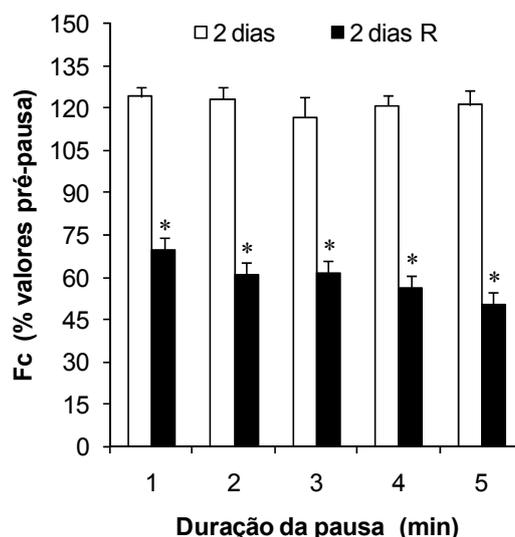


Figura 25. Efeito de pausas diastólicas de 1 a 5 minutos sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus*. dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) em situação controle e sob efeito da rianodina. Valores médios + 1 EPM. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos.

A tabela 11 e a figura 26 mostram o efeito do aumento na freqüência de estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força de contração pelas tiras ventriculares de *P. molurus* em jejum e em SDA sob efeito da rianodina.

As tiras ventriculares dos dois grupos experimentais mantiveram contrações regulares até a freqüência de 1,2 Hz e recuperaram os valores iniciais de Fc no retorno a 0,2 Hz. Os valores de Fc do grupo 2 dias foram significativamente superiores aos do grupo 28 dias somente na freqüência final de 1,2 Hz ($p < 0,05$).

Os parâmetros tempo-dependentes (TPT e THR) dos dois grupos experimentais apresentaram redução significativa em relação aos valores iniciais nas freqüências de 0,6 e 0,8 Hz, respectivamente, como se observa nas tabelas 12 e 13, bem como nas figuras 27 e 29. No TPT, os dois grupos apresentam diferença significativa apenas no retorno a 0,2 Hz, já no THR foi observada diferença significativa nas freqüências de 0,4 e 0,6 Hz.

Tabela 11. Força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante incrementos na frequência de estimulação elétrica sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	Fc (mN.mm ⁻²)	
	28 dias	2 dias
0,2	8,9 \pm 1,3	11,7 \pm 2,1
0,4	10,5 \pm 1,3	12,2 \pm 2,0
0,6	11,4 \pm 1,3	12,8 \pm 2,0
0,8	10,6 \pm 1,2	12,8 \pm 2,1
1,0	8,4 \pm 0,9	11,4 \pm 1,9
1,2	6,6 \pm 0,8	10,8 \pm 1,4
0,2	8,4 \pm 1,5	12,0 \pm 2,1

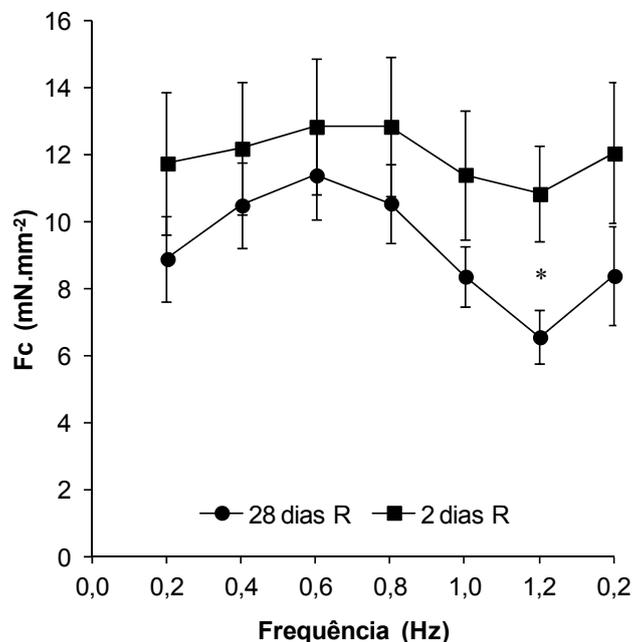


Figura 26. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

O efeito do aumento na frequência de estimulação sobre a taxa de contração (TPT/Fc) nas tiras ventriculares sob efeito da rianodina está apresentado na tabela 12 e na figura 28. Os valores de TPT/Fc do grupo 28 dias (jejum) apresentaram redução significativa entre as frequências de 0,8 e 1,2 Hz e o grupo 2 dias (SDA) não apresentou diferença significativa nas frequências experimentais. O TPT/Fc do grupo 2 dias foi significativamente inferior ao do grupo 28 dias ($p < 0,05$) apenas na frequência de 1,2 Hz.

Tabela 12. Valores do tempo para que o pico de força seja atingido (TPT) e da taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante aumentos na frequência de estimulação elétrica sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	TPT (ms)		TPT/Fc (ms.mN ⁻¹ .mm ⁻²)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0,2	691,8 \pm 27,7	606,6 \pm 22,0	90,2 \pm 10,4	70,1 \pm 13,2
0,4	621,9 \pm 18,3	561,9 \pm 18,2	66,5 \pm 7,0	60,0 \pm 10,7
0,6	559,1 \pm 13,9	524,0 \pm 14,5	53,8 \pm 4,8	53,4 \pm 9,8
0,8	483,7 \pm 10,7	462,2 \pm 12,1	49,8 \pm 4,2	48,6 \pm 9,6
1,0	411,8 \pm 8,9	397,2 \pm 8,6	53,6 \pm 4,8	48,0 \pm 9,6
1,2	354,2 \pm 8,6	343,4 \pm 6,9	59,3 \pm 5,4	37,2 \pm 5,7
0,2	658,0 \pm 37,2	556,8 \pm 16,8	94,4 \pm 11,1	61,6 \pm 11,6

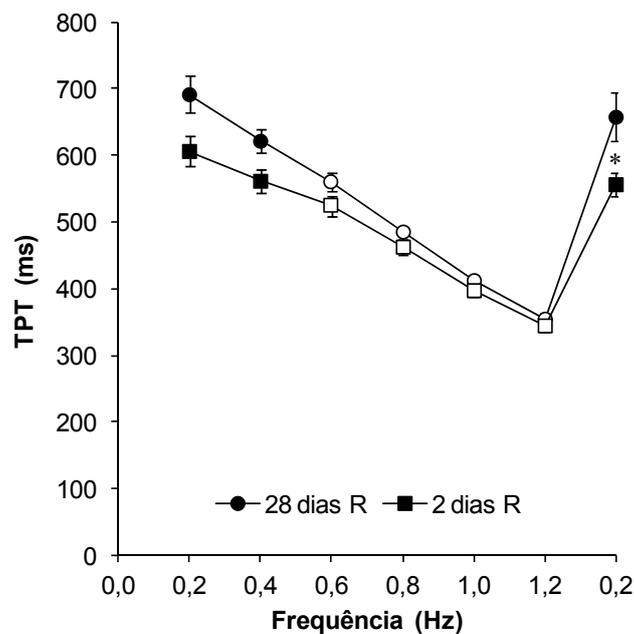


Figura 27. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para o pico de tensão (TPT) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterísco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

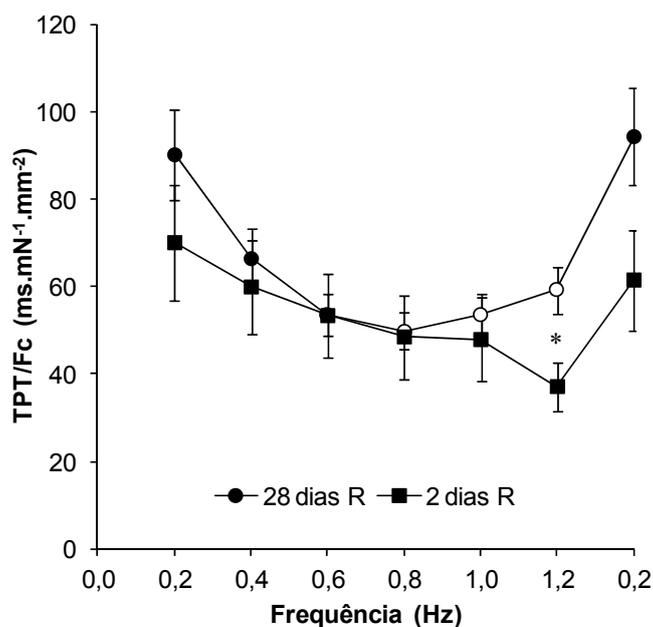


Figura 28. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterísco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

O efeito do aumento da frequência de estimulação sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos dois grupos experimentais (jejum e SDA) sob efeito da rianodina é mostrado na tabela 13 e na figura 30.

Os dois grupos experimentais não sofreram alterações significativas ($p > 0,05$) nos valores de THR/Fc durante as elevações da frequência de estimulação. O grupo em SDA (2 dias) apresentou valores de THR/Fc significativamente inferiores aos do grupo em jejum (28 dias) apenas na frequência de 1,2Hz.

Tabela 13. Valores do tempo para 50% de relaxamento (THR) e da taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	THR (ms)		THR/Fc ($\text{ms} \cdot \text{mN}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0,2	452,9 \pm 14,3	407,4 \pm 13,4	121,7 \pm 17,0	98,7 \pm 21,3
0,4	458,2 \pm 11,2	412,8 \pm 9,1	99,8 \pm 12,5	90,3 \pm 17,4
0,6	419,5 \pm 7,2	390,5 \pm 7,9	82,7 \pm 9,4	80,0 \pm 14,7
0,8	345,0 \pm 4,6	343,1 \pm 9,2	72,7 \pm 7,8	71,8 \pm 14,1
1,0	286,8 \pm 6,3	290,5 \pm 6,2	76,0 \pm 8,1	70,5 \pm 14,4
1,2	244,7 \pm 8,9	239,7 \pm 6,5	83,0 \pm 8,7	51,8 \pm 8,0
0,2	419,6 \pm 14,1	400,1 \pm 11,4	127,7 \pm 19,6	91,4 \pm 18,6

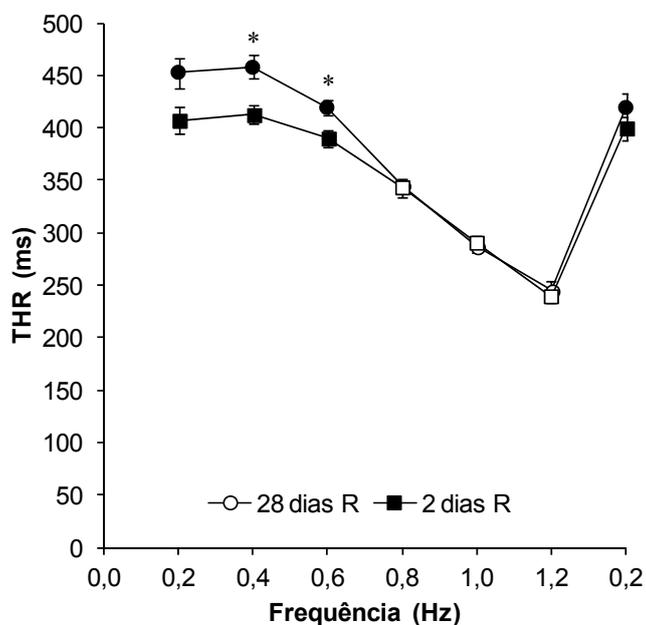


Figura 29. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para metade do relaxamento (THR) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

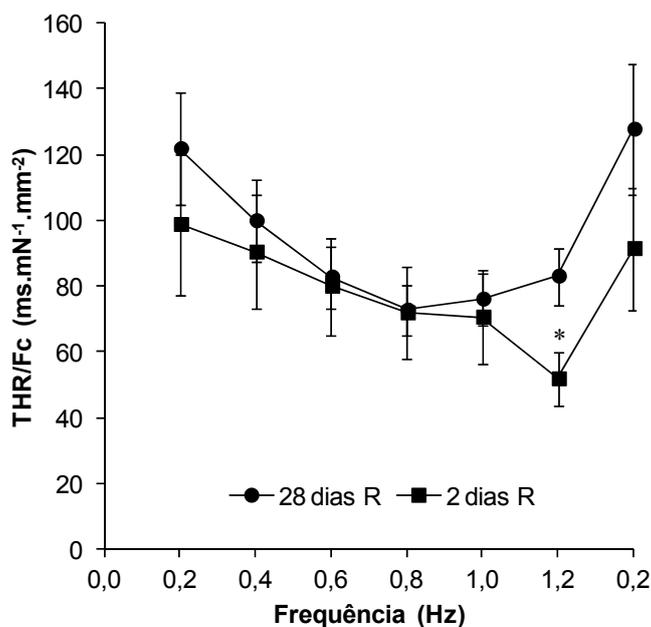


Figura 30. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM. Asterísco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

O efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (dF/dt) e do relaxamento (-dF/dt) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias) e em SDA (2 dias) sob efeito da rianodina é apresentado na tabela 14 e na figura 31.

Com relação à derivada máxima da contração (dF/dt), os grupos experimentais apresentaram valores constantes durante todo o protocolo de elevação da frequência de estimulação. Os valores de dF/dt dos dois grupos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em todas as frequências testadas.

A derivada mínima do relaxamento (-dF/dt) de ambos os grupos experimentais manteve-se constante ao longo dos incrementos na frequência de estimulação, também não apresentando diferenças significativas entre os grupos em jejum e em SDA.

Tabela 14. Valores da derivada máxima da contração e da derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	dF/dt (mN.ms ⁻¹)		-dF/dt (mN.ms ⁻¹)	
	28 dias	2 dias	28 dias	2 dias
0,2	0,03 \pm 0,005	0,04 \pm 0,008	-0,03 \pm 0,006	-0,03 \pm 0,008
0,4	0,04 \pm 0,006	0,04 \pm 0,009	-0,03 \pm 0,006	-0,03 \pm 0,008
0,6	0,05 \pm 0,007	0,05 \pm 0,010	-0,04 \pm 0,007	-0,03 \pm 0,008
0,8	0,05 \pm 0,007	0,05 \pm 0,011	-0,04 \pm 0,007	-0,04 \pm 0,008
1,0	0,05 \pm 0,006	0,05 \pm 0,011	-0,04 \pm 0,007	-0,04 \pm 0,008
1,2	0,04 \pm 0,005	0,06 \pm 0,010	-0,04 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,008
0,2	0,03 \pm 0,006	0,04 \pm 0,009	-0,03 \pm 0,007	-0,03 \pm 0,008

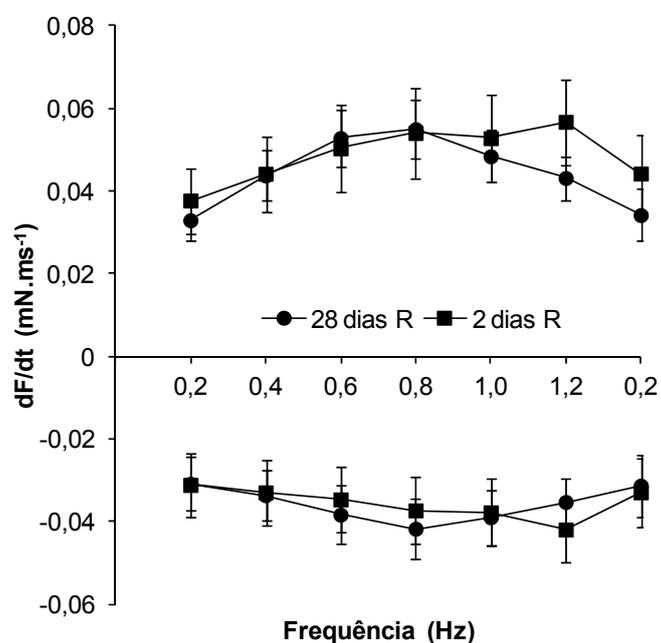


Figura 31. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a derivada máxima da contração e sobre a derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em SDA (2 dias, n = 10) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM.

Os valores da capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos dois grupos experimentais (jejum e SDA) durante aumento na frequência de estimulação elétrica sob efeito da rianodina estão apresentados na tabela 15 e representados graficamente na figura 32.

O CBC dos dois grupos apresentam um aumento progressivo com o incremento da frequência a partir de 0,6Hz ($p < 0,05$). Os dois grupos apresentaram diferença significativa em relação ao CBC apenas na frequência de 1,2Hz.

Tabela 15. Valores Capacidade de bombeamento cardíaco estimado pela multiplicação entre a F_c e f_H das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, $n = 10$) e em SDA (2 dias, $n = 10$) durante aumento na frequência de estimulação elétrica sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	CBC ($\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$)	
	28 dias	2 dias
0,2	$1,8 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,4$
0,4	$4,2 \pm 0,5$	$4,9 \pm 0,8$
0,6	$6,8 \pm 0,8$	$7,7 \pm 1,2$
0,8	$8,4 \pm 0,9$	$10,3 \pm 1,7$
1,0	$8,4 \pm 0,9$	$11,4 \pm 1,9$
1,2	$7,9 \pm 1,0$	$13,0 \pm 1,9$
0,2	$1,7 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,4$

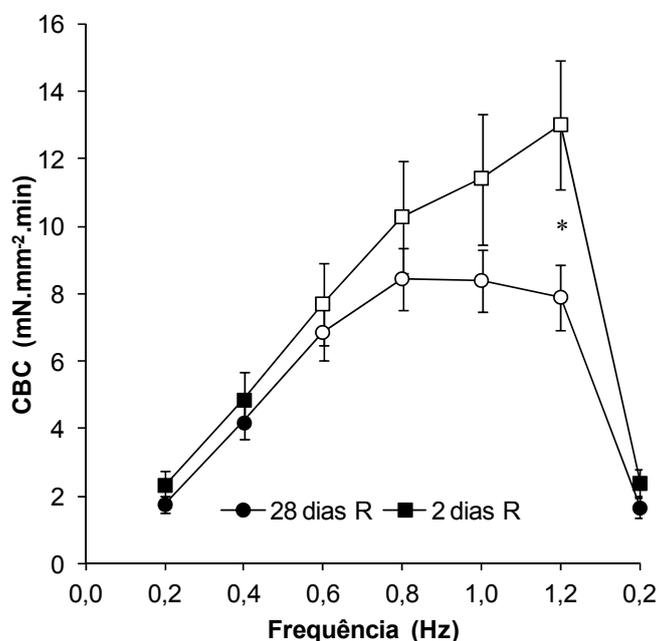


Figura 32. Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, $n = 10$) e em SDA (2 dias, $n = 10$) sob efeito da rianodina. Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterisco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

A tabela 16 e a figura 33 mostram o efeito do aumento na frequência de estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força de contração pelas tiras ventriculares de *P. molurus* em jejum na ausência (28 dias) e na presença (28 dias R) da rianodina.

As tiras ventriculares do grupo sem rianodina mantiveram contrações regulares até a frequência de 1,6 Hz e recuperaram os valores iniciais de Fc no retorno a 0,2 Hz, enquanto as tiras do grupo com rianodina mantiveram contrações regulares apenas até 1,2 Hz e também se recuperaram no retorno a 0,2 Hz. Os valores de Fc do grupo 28 dias apresentaram redução significativa em relação ao valor inicial entre as frequências de 1 Hz a 1,6 Hz. Os valores de Fc entre os dois grupos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) nas frequências experimentais submetidas.

Tabela 16. Força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10) durante incrementos na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	Fc (mN.mm ⁻²)	
	28 dias	28 dias R
0,2	11,3 \pm 1,1	8,9 \pm 1,3
0,4	10,4 \pm 1,1	10,5 \pm 1,3
0,6	9,6 \pm 1,0	11,4 \pm 1,3
0,8	8,3 \pm 0,9	10,6 \pm 1,2
1	7,0 \pm 0,8	8,4 \pm 0,9
1,2	5,6 \pm 0,6	6,6 \pm 0,8
1,4	4,6 \pm 0,5	
1,6	3,4 \pm 0,4	
0,2	10,4 \pm 1,0	8,4 \pm 1,5

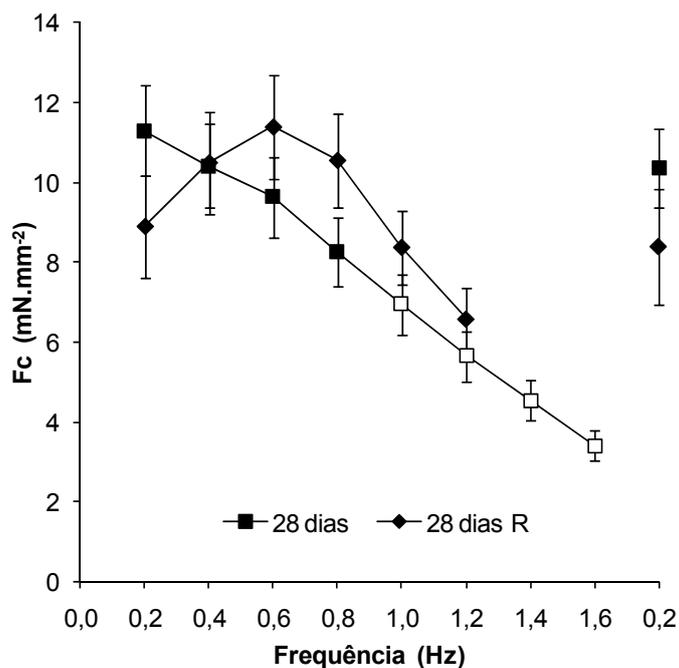


Figura 33. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial.

A tabela 17 mostra os valores de TPT e de TPT/Fc dos grupos em jejum sem (28 dias) e com a presença de rianodina (28 dias R) na cubeta durante aumento da frequência de estimulação elétrica. A figura 34 e 35 representam graficamente os valores da referida tabela, mostrando o efeito do aumento da estimulação elétrica sobre o TPT e o TPT/Fc, respectivamente, das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum, sem e com a presença de rianodina.

Os dois grupos experimentais apresentaram redução significativa com relação aos valores iniciais de TPT a partir da frequência de 0,6 Hz, recuperando-se no retorno a 0,2 Hz. O grupo 28 dias R apresentou valores significativamente superiores ao grupo 28 dias nas frequências de 0,2, 0,6 e 0,8 Hz.

Com relação à taxa de contração, o grupo 28 dias R apresentou valores menores em relação ao inicial nas frequências entre 0,6 e 1,2 Hz, já o grupo 28 dias não apresentou variação nos valores em relação ao inicial. Comparando-se os dois grupos experimentais (28 dias e 28 dias R), foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) apenas na frequência de 0,2 Hz.

Tabela 17. Valores do tempo para que o pico de força seja atingido (TPT) e da taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10) durante aumentos na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	TPT (ms)		TPT/Fc ($\text{ms}\cdot\text{mN}^{-1}\cdot\text{mm}^{-2}$)	
	28 dias	28 dias R	28 dias	28 dias R
0,2	581,8 \pm 20,3	691,8 \pm 27,7	56,1 \pm 4,9	90,2 \pm 10,4
0,4	544,7 \pm 21,1	621,9 \pm 18,3	57,3 \pm 5,2	66,5 \pm 7,0
0,6	484,6 \pm 17,8	559,1 \pm 13,9	55,3 \pm 5,1	53,8 \pm 4,8
0,8	424,8 \pm 14,5	483,7 \pm 10,7	57,4 \pm 6,1	49,8 \pm 4,2
1	385,6 \pm 11,2	411,8 \pm 8,9	63,0 \pm 7,5	53,6 \pm 4,8
1,2	346,3 \pm 7,4	354,2 \pm 8,6	71,1 \pm 9,0	59,3 \pm 5,4
1,4	306,0 \pm 6,1		77,9 \pm 10,5	
1,6	265,0 \pm 3,1		85,9 \pm 7,7	
0,2	608,5 \pm 13,1	658,0 \pm 37,2	64,4 \pm 5,8	94,4 \pm 11,1

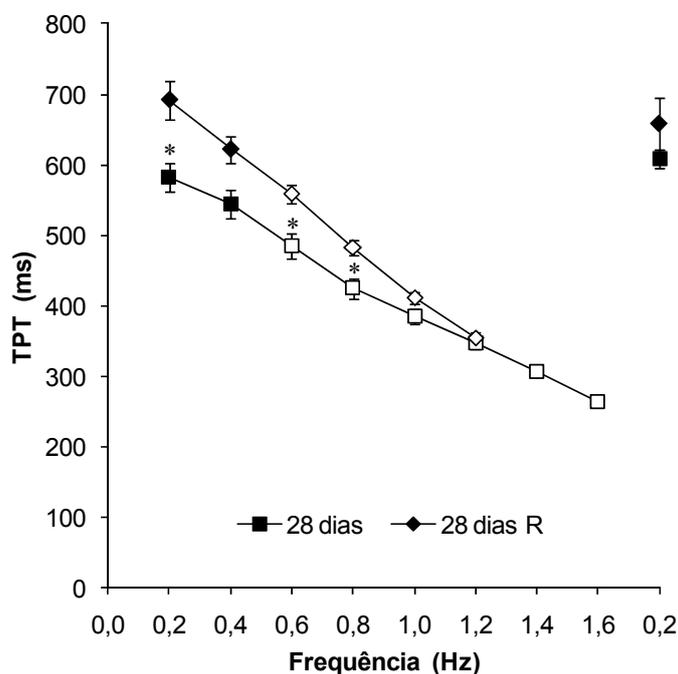


Figura 34. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para o pico de tensão (TPT) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterísco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

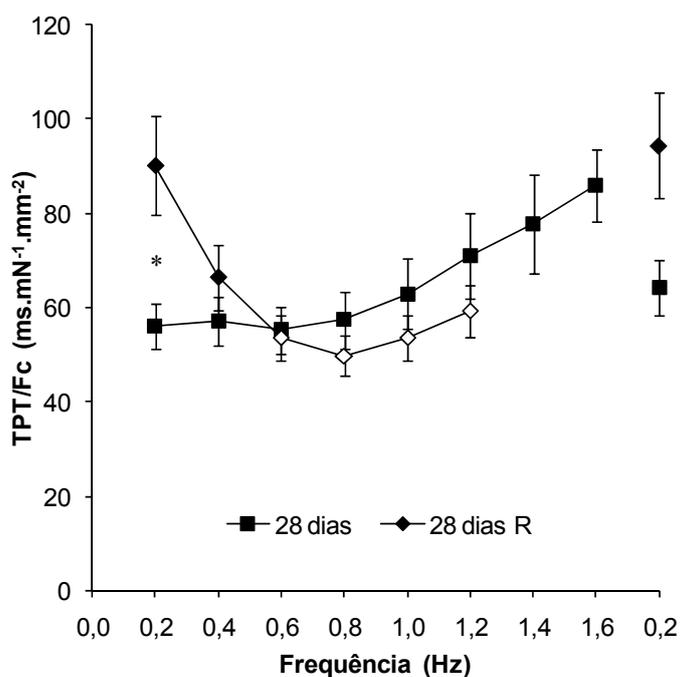


Figura 35. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterisco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

A tabela 18 e as figuras 36 e 37 apresentam o efeito do incremento na frequência de estimulação elétrica sobre o THR e o THR/Fc das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum na ausência (28 dias) e presença (28 dias R) de rianodina.

Com relação ao THR, o grupo 28 dias apresentou redução significativa ao valor inicial entre as frequências de 0,6 e 1,6 Hz, recuperando-se no retorno a 0,2 Hz. O grupo 28 dias R apresentou redução significativa ao valor inicial entre as frequências de 0,8 e 1,2 Hz, também se recuperando no retorno a 0,2 Hz. O grupo 28 dias R apresentou valores de THR significativamente superiores aos do grupo 28 dias nas frequências de 0,4 e 0,6 Hz.

Com relação à taxa de relaxamento (THR/Fc), os dois grupos não apresentaram variação em relação aos valores iniciais e não apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 18. Valores do tempo para 50% de relaxamento (THR) e da taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	THR (ms)		THR/Fc ($\text{ms.mN}^{-1}.\text{mm}^{-2}$)	
	28 dias	28 dias R	28 dias	28 dias R
0,2	432,9 \pm 16,2	452,9 \pm 14,3	84,2 \pm 7,8	121,7 \pm 17,0
0,4	404,3 \pm 17,1	458,2 \pm 11,2	85,3 \pm 8,2	99,8 \pm 12,5
0,6	375,2 \pm 15,0	419,5 \pm 7,2	86,2 \pm 8,7	82,7 \pm 9,4
0,8	327,4 \pm 10,8	345,0 \pm 4,6	88,0 \pm 9,0	72,7 \pm 7,8
1	284,5 \pm 7,0	286,8 \pm 6,3	92,6 \pm 10,4	76,0 \pm 8,1
1,2	259,8 \pm 5,9	244,7 \pm 8,9	106,6 \pm 13,4	83,0 \pm 8,7
1,4	218,0 \pm 2,2		110,9 \pm 14,2	
1,6	195,0 \pm 1,6		125,7 \pm 10,2	
0,2	436,8 \pm 15,8	419,6 \pm 14,1	92,9 \pm 9,1	127,7 \pm 19,6

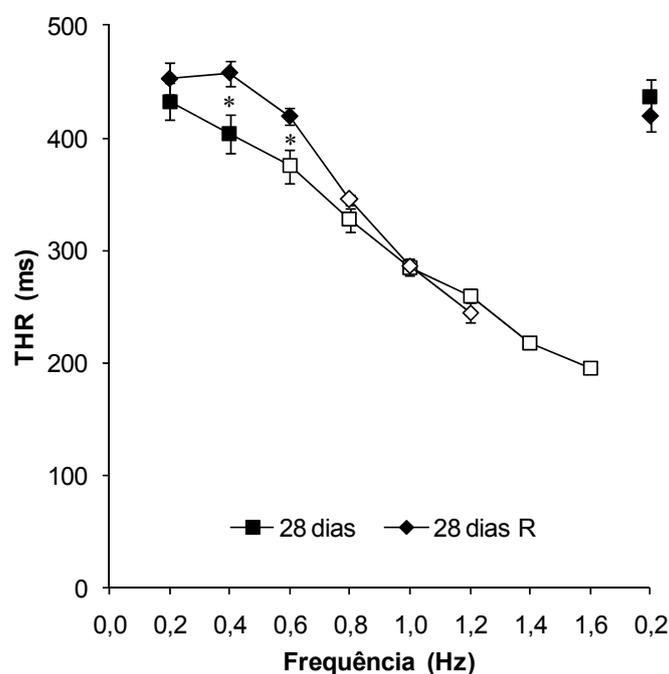


Figura 36. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para metade do relaxamento (THR) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

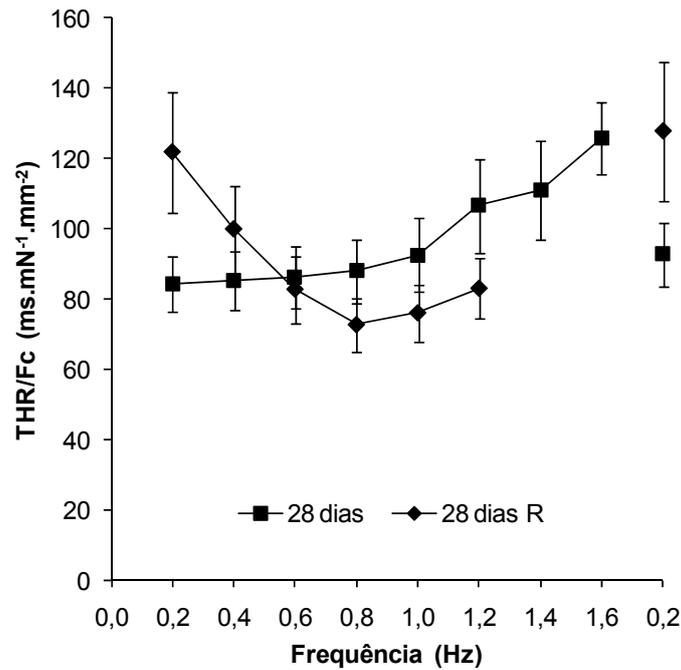


Figura 37. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM.

O efeito do aumento na frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração e do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos 28 dias e 28 dias R está apresentado na tabela 19 e na figura 38.

Os valores da derivada máxima da contração não apresentaram variação em relação aos valores iniciais nos dois grupos representados. Os valores de dF/dt do grupo em jejum sem rianodina foram significativamente maiores nas frequências de 0,2, 0,4 Hz e no retorno a 0,2 Hz. Os valores da derivada máxima do relaxamento não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação aos valores iniciais nos dois grupos representados e não apresentaram diferenças quando comparados entre si.

Tabela 19. Valores da derivada máxima da contração e da derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	dF/dt (mN.ms ⁻¹)		-dF/dt (mN.ms ⁻¹)	
	28 dias	28 dias R	28 dias	28 dias R
0,2	0,07 \pm 0,007	0,03 \pm 0,005	-0,05 \pm 0,005	-0,03 \pm 0,006
0,4	0,07 \pm 0,007	0,04 \pm 0,006	-0,05 \pm 0,004	-0,03 \pm 0,006
0,6	0,07 \pm 0,007	0,05 \pm 0,007	-0,04 \pm 0,004	-0,04 \pm 0,007
0,8	0,07 \pm 0,006	0,05 \pm 0,007	-0,04 \pm 0,004	-0,04 \pm 0,007
1	0,06 \pm 0,006	0,05 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,004	-0,04 \pm 0,007
1,2	0,06 \pm 0,005	0,04 \pm 0,005	-0,04 \pm 0,003	-0,04 \pm 0,006
1,4	0,05 \pm 0,005		-0,04 \pm 0,003	
1,6	0,05 \pm 0,004		-0,03 \pm 0,003	
0,2	0,06 \pm 0,006	0,03 \pm 0,006	-0,04 \pm 0,004	-0,03 \pm 0,007

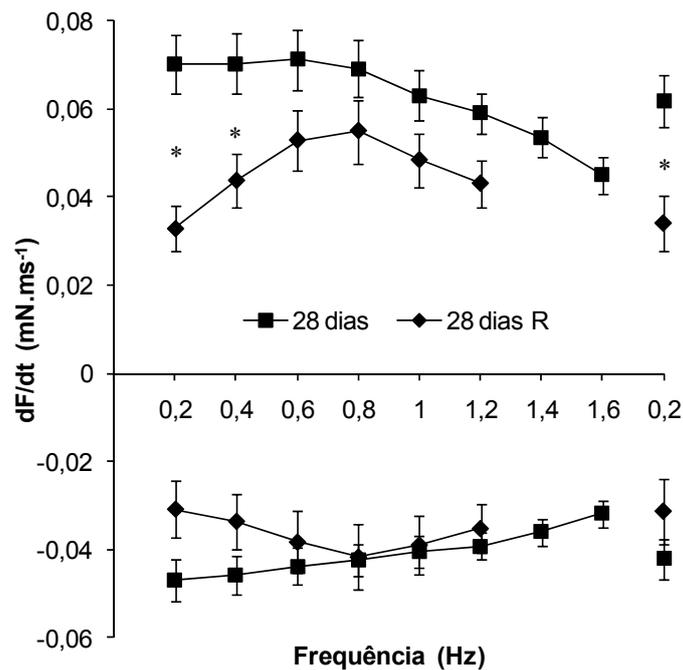


Figura 38. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a derivada máxima da contração e sobre a derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os valores da capacidade de bombeamento cardíaco das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum sem e com a presença de rianodina na cubeta durante incremento na frequência de estimulação elétrica está apresentado na tabela 20 e representado graficamente na figura 39.

O grupo em jejum sem a presença de rianodina (28 dias) apresentou redução significativa nos valores de CBC em relação ao inicial entre as frequências de 0,6 e 1,6 Hz enquanto o grupo em jejum com a presença de rianodina (28 dias R) apresentou redução em relação ao inicial entre as frequências de 0,6 e 1,2 Hz. Os dois grupos representados não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) para CBC quando comparados entre si.

O efeito do aumento na frequência de estimulação elétrica sobre o desenvolvimento de força (F_c) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R) está apresentado na tabela 21 e na figura 40.

Tabela 20. Valores Capacidade de bombeamento cardíaco estimado pela multiplicação entre a F_c e f_H das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, $n = 10$) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, $n = 10$) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios ± 1 EPM.

Frequência (Hz)	CBC ($\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}\cdot\text{min}$)	
	28 dias	28 dias R
0,2	$2,3 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,3$
0,4	$4,2 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,5$
0,6	$5,8 \pm 0,6$	$6,8 \pm 0,8$
0,8	$6,6 \pm 0,7$	$8,4 \pm 0,9$
1	$7,0 \pm 0,8$	$8,4 \pm 0,9$
1,2	$6,8 \pm 0,8$	$7,9 \pm 1,0$
1,4	$6,4 \pm 0,7$	
1,6	$5,5 \pm 0,6$	
0,2	$2,1 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,3$

O grupo 2 dias manteve contrações regulares até a frequência de 1,6 Hz enquanto o grupo 2 dias R manteve contrações regulares apenas até a frequência de 1,2 Hz. Os valores do grupo 2 dias apresentaram redução significativa da F_c em relação aos valores iniciais entre as frequências

de 1,2 e 1,6 Hz, enquanto o grupo 2 dias R não apresentou variação nos valores de Fc durante o incremento da frequência. Os dois grupos apresentaram diferença significativa entre si na frequência de 0,2 Hz.

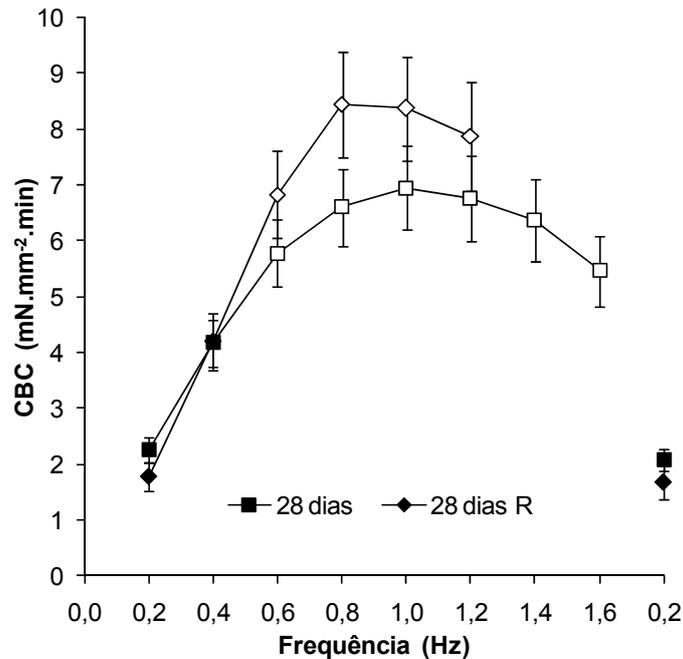


Figura 39. Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em jejum (28 dias, n = 10) e em jejum sob efeito da rianodina (28 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial.

Tabela 21. Força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10) durante incrementos na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	Fc (mN.mm ⁻²)	
	2 dias	2 dias R
0,2	19,4 \pm 2,8	11,7 \pm 2,1
0,4	18,7 \pm 2,7	12,2 \pm 2,0
0,6	17,4 \pm 2,5	12,8 \pm 2,0
0,8	15,0 \pm 2,1	12,8 \pm 2,1
1	12,0 \pm 1,7	11,4 \pm 1,9
1,2	9,3 \pm 1,4	10,8 \pm 1,4
1,4	7,3 \pm 1,1	
1,6	5,3 \pm 0,8	
0,2	18,2 \pm 2,4	12,0 \pm 2,1

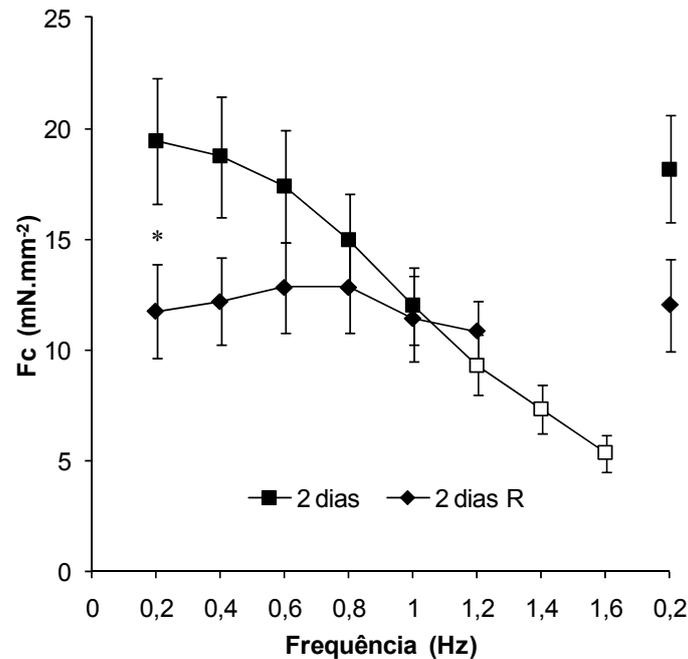


Figura 40. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a força de contração (Fc) desenvolvida pelas tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterísco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os valores do tempo para o pico de tensão (TPT) e da taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R) durante incrementos na frequência de estimulação elétrica estão apresentados na tabela 22 e representados nas figuras 41 e 42.

O grupo em SDA sem a presença de rianodina apresentou redução significativa ($p < 0,05$) nos valores de TPT com relação ao valor inicial entre as frequências de 0,6 e 1,6 Hz, enquanto o grupo em SDA sob efeito da rianodina apresentou redução significativa em relação ao valor inicial entre as frequências de 0,6 e 1,2 Hz. Os dois grupos experimentais diferiram significativamente entre si nas frequências de 0,6 e 0,8 Hz.

Com relação à taxa de contração, o grupo 2 dias apresentou diferença significativa ao valor inicial apenas na frequência de 1,6 Hz e o grupo 2 dias R não apresentou variação significativa dos valores em relação ao inicial. Os dois grupos experimentais apresentaram diferenças significativas entre si nas frequências entre 0,2 e 0,6 Hz, e no retorno a 0,2 Hz.

Tabela 22. Valores do tempo para que o pico de força seja atingido (TPT) e da taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10) durante aumentos na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	TPT (ms)		TPT/Fc (ms.mN ⁻¹)	
	2 dias	2 dias R	2 dias	2 dias R
0,2	578,0 \pm 14,5	606,6 \pm 22,0	33,4 \pm 3,2	70,1 \pm 13,2
0,4	538,1 \pm 13,9	561,9 \pm 18,2	32,3 \pm 3,1	60,0 \pm 10,7
0,6	480,9 \pm 13,1	524,0 \pm 14,5	31,1 \pm 3,1	53,4 \pm 9,8
0,8	421,0 \pm 12,8	462,2 \pm 12,1	31,9 \pm 3,4	48,6 \pm 9,6
1	374,1 \pm 11,1	397,2 \pm 8,6	36,0 \pm 4,2	48,0 \pm 9,6
1,2	326,9 \pm 10,1	343,4 \pm 6,9	41,0 \pm 5,0	37,2 \pm 5,7
1,4	292,6 \pm 9,5		47,7 \pm 6,5	
1,6	256,5 \pm 9,7		59,3 \pm 9,3	
0,2	581,7 \pm 16,6	556,8 \pm 16,8	36,1 \pm 3,9	61,6 \pm 11,6

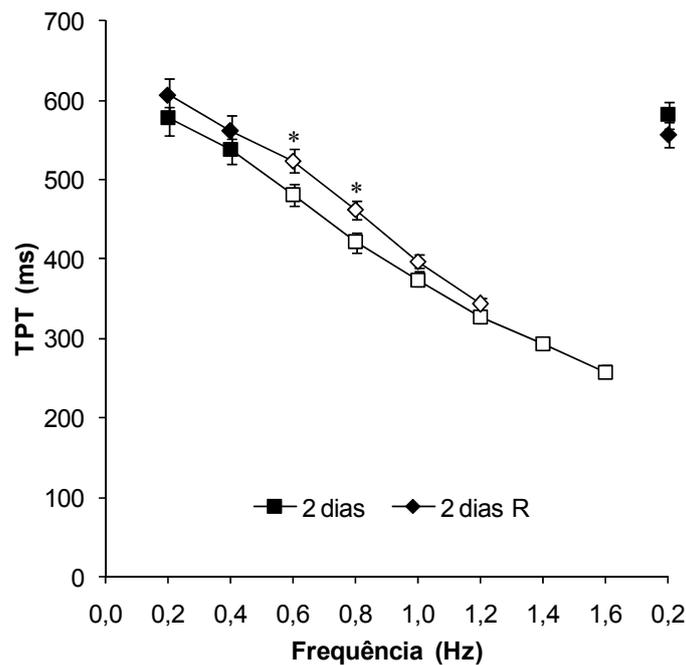


Figura 41. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para o pico de tensão (TPT) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

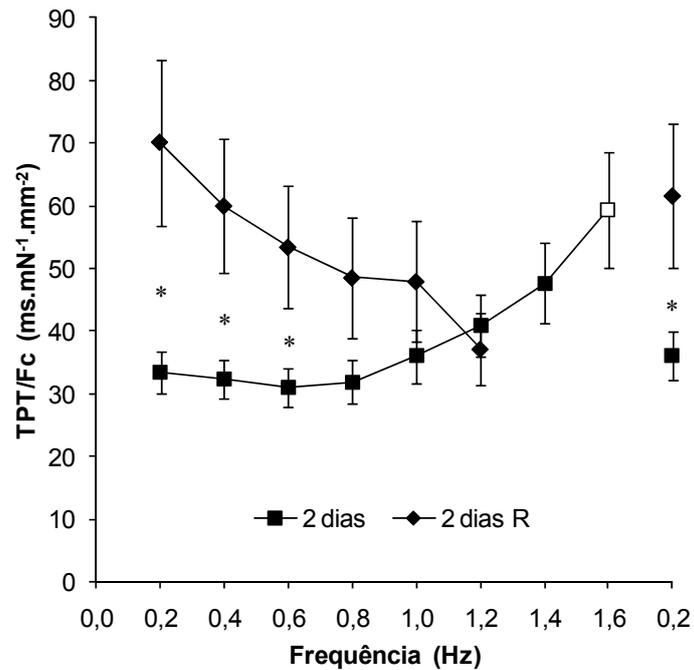


Figura 42. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de contração (TPT/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asterisco indica diferença significativa entre os grupos experimentais.

O efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para 50% de relaxamento (THR) e sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos gupos em SDA (2 dias) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R) está apresentado na tabela 23 e nas figuras 43 e 44.

O grupo em SDA apresentou valores de THR significativamente menores ($p < 0,05$) que o inicial entre as frequências de 0,6 e 1,6 Hz e o grupo em SDA sob efeito da rianodina apresentou valores de THR menores que o inicial entre as frequências de 0,8 e 1,2 Hz. O grupo 2 dias apresentou valores de THR significativamente superiores aos valores do grupo 2 dias R na frequência de 1,2 Hz e no retorno a 0,2 Hz.

Os dois grupos experimentais representados na figura 41 não apresentaram diferenças significativas em relação aos valores iniciais de THR/Fc e não apresentaram diferenças quando comparados entre si.

Tabela 23. Valores do tempo para 50% de relaxamento (THR) e da taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	THR (ms)		THR/Fc (ms.mN ⁻¹)	
	2 dias	2 dias R	2 dias	2 dias R
0,2	429,5 \pm 19,3	407,4 \pm 13,4	50,9 \pm 6,2	98,7 \pm 21,3
0,4	410,1 \pm 16,8	412,8 \pm 9,1	50,6 \pm 6,3	90,3 \pm 17,4
0,6	379,0 \pm 10,8	390,5 \pm 7,9	50,5 \pm 6,3	80,0 \pm 14,7
0,8	339,8 \pm 5,0	343,1 \pm 9,2	52,9 \pm 6,9	71,8 \pm 14,1
1	296,8 \pm 2,9	290,5 \pm 6,2	58,4 \pm 7,7	70,5 \pm 14,4
1,2	265,8 \pm 2,7	239,7 \pm 6,5	67,8 \pm 9,2	51,8 \pm 8,0
1,4	223,3 \pm 2,7		74,6 \pm 11,6	
1,6	194,7 \pm 3,3		94,5 \pm 18,2	
0,2	441,4 \pm 15,9	400,1 \pm 11,4	56,4 \pm 7,6	91,4 \pm 18,6

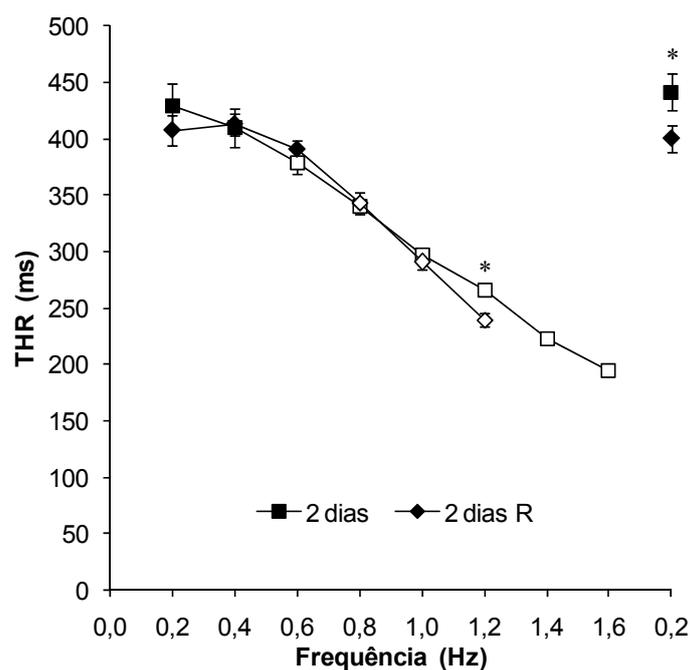


Figura 43. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre o tempo para metade do relaxamento (THR) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

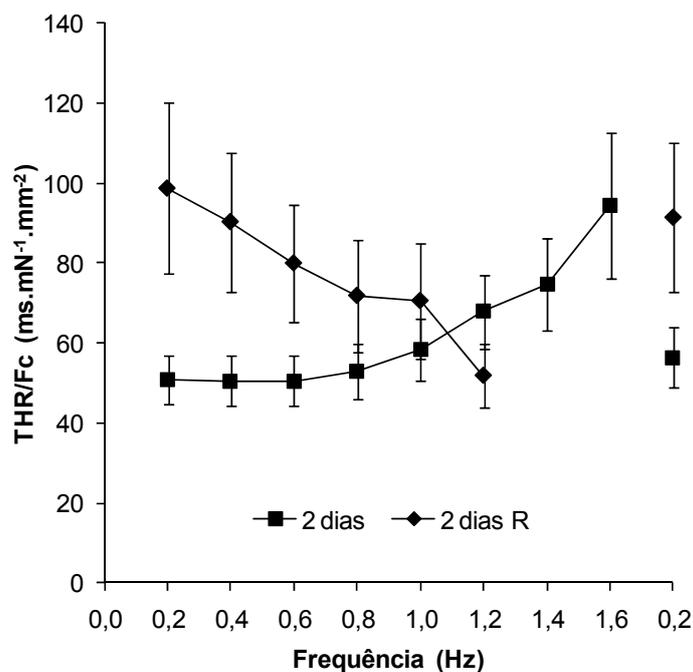


Figura 44. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a taxa de relaxamento (THR/Fc) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM.

O efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre as derivadas máximas da contração (dF/dt) e do relaxamento ($-dF/dt$) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R) é apresentado na tabela 23 e na figura 45.

Com relação à derivada máxima da contração, o grupo 2 dias apresentou redução significativa ao valor inicial na frequência de 1,6 Hz, enquanto que o grupo 2 dias R apresentou valores constantes durante todo o protocolo de elevação da frequência de estimulação. Os valores de dF/dt dos dois grupos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nas frequências entre 0,2 e 1 Hz e no retorno a 0,2 Hz.

A derivada máxima do relaxamento ($-dF/dt$) de ambos os grupos experimentais manteve-se constante ao longo dos incrementos na frequência de estimulação. Os valores da derivada máxima do relaxamento diferiram significativamente entre os dois grupos nas frequências entre 0,2 e 0,6 Hz e no retorno a 0,2 Hz.

Tabela 23. Valores da derivada máxima da contração e da derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios \pm 1 EPM.

Frequência (Hz)	dF/dt (mN.ms ⁻¹)		-dF/dt (mN.ms ⁻¹)	
	2 dias	2 dias R	2 dias	2 dias R
0,2	0,09 \pm 0,006	0,04 \pm 0,008	-0,06 \pm 0,006	-0,03 \pm 0,008
0,4	0,10 \pm 0,006	0,04 \pm 0,009	-0,06 \pm 0,005	-0,03 \pm 0,008
0,6	0,10 \pm 0,005	0,05 \pm 0,010	-0,06 \pm 0,005	-0,03 \pm 0,008
0,8	0,10 \pm 0,006	0,05 \pm 0,011	-0,06 \pm 0,004	-0,04 \pm 0,008
1	0,09 \pm 0,006	0,05 \pm 0,011	-0,05 \pm 0,004	-0,04 \pm 0,008
1,2	0,08 \pm 0,006	0,06 \pm 0,010	-0,05 \pm 0,004	-0,04 \pm 0,008
1,4	0,07 \pm 0,006		-0,04 \pm 0,004	
1,6	0,06 \pm 0,005		-0,04 \pm 0,004	
0,2	0,09 \pm 0,006	0,04 \pm 0,009	-0,06 \pm 0,005	-0,03 \pm 0,008

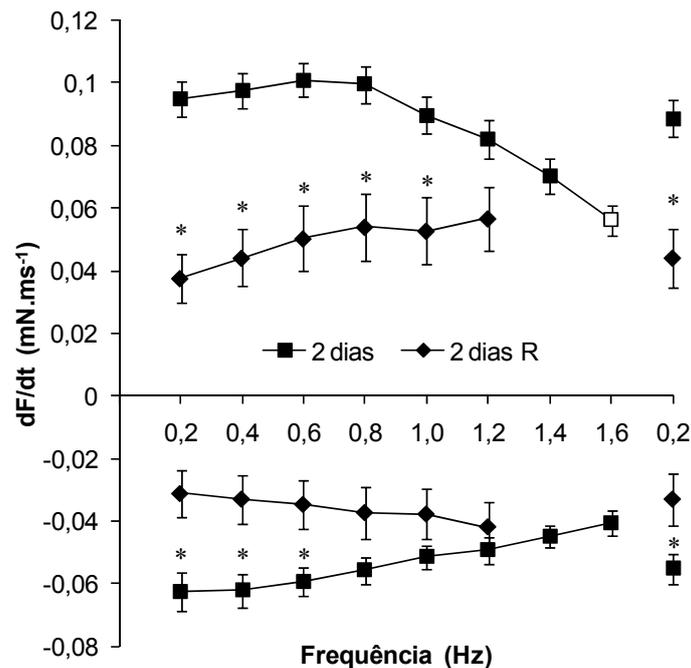


Figura 45. Efeito do aumento da frequência de estimulação elétrica sobre a derivada máxima da contração e sobre a derivada máxima do relaxamento das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, n = 10) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, n = 10). Valores médios \pm 1 EPM. Símbolo vazio indica diferença significativa em relação ao valor inicial. Asteriscos indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os valores da capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos dois grupos experimentais (2 dias e 2 dias R) durante aumento na frequência de

estimulação elétrica sob efeito da rianodina estão apresentados na tabela 24 e representados graficamente na figura 46.

O CBC dos dois grupos apresentam um aumento progressivo com o incremento da frequência a partir de 0,6Hz ($p < 0,05$). Os dois grupos não apresentaram diferença significativa em relação ao CBC.

Tabela 24. Valores Capacidade de bombeamento cardíaco estimado pela multiplicação entre a F_c e f_H das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, $n = 10$) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, $n = 10$) durante aumento na frequência de estimulação elétrica. Valores médios ± 1 EPM.

Frequência (Hz)	CBC ($\text{mN}\cdot\text{mm}^2\cdot\text{min}$)	
	2 dias	2 dias R
0,2	$3,9 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,4$
0,4	$7,5 \pm 1,1$	$4,9 \pm 0,8$
0,6	$10,4 \pm 1,5$	$7,7 \pm 1,2$
0,8	$12,0 \pm 1,7$	$10,3 \pm 1,7$
1	$12,0 \pm 1,7$	$11,4 \pm 1,9$
1,2	$11,2 \pm 1,6$	$13,0 \pm 1,9$
1,4	$10,2 \pm 1,5$	
1,6	$8,5 \pm 1,3$	
0,2	$3,6 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,4$

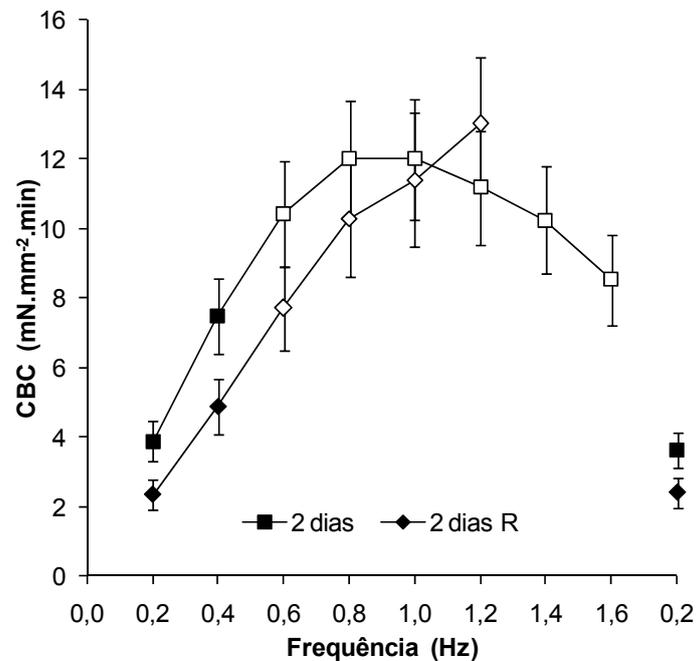


Figura 46. Capacidade de bombeamento cardíaco (CBC) das tiras ventriculares de *P. molurus* dos grupos em SDA (2 dias, $n = 10$) e em SDA sob efeito da rianodina (2 dias R, $n = 10$). Valores médios ± 1 EPM. Símbolos vazios indicam diferença significativa em relação ao valor inicial.

5. DISCUSSÃO

5.1 Massa ventricular relativa.

O período de SDA é caracterizado por aumento no débito cardíaco, no fluxo sanguíneo sistêmico e na frequência cardíaca para manter uma eficiente perfusão de sangue por todo organismo, já que é necessária uma grande elevação do metabolismo para o processo de digestão (SECOR et al, 2000).

No presente trabalho, o valor encontrado para a massa ventricular relativa das pítons durante a digestão foi superior à do grupo em jejum, conforme encontrado em outros trabalhos com pítons da mesma espécie que ingeriram presas com 25% e 30% de sua massa corporal (SECOR e DIAMOND, 1997b; ANDERSEN et al, 2005). O aumento observado na massa ventricular relativa pode ser atribuído à hipertrofia do coração descrita anteriormente, que visa à manutenção da demanda sobre o transporte de gases e nutrientes durante esse período de elevado metabolismo.

A hipertrofia promove um bombeamento mais eficiente, por meio do aumento do número de unidades contráteis cardíacas, enquanto, concomitantemente, diminui a quantidade de estresse nas paredes, reforçando a musculatura do coração (SWYNGHEDAUW, 1999). Segundo Andersen et al (2005), a hipertrofia verificada em *P. molurus* durante SDA está associada ao aumento na transcrição, e, conseqüente tradução, de novas proteínas contráteis, mais especificamente, nas cadeias pesadas de miosina.

5.2 Efeito da digestão sobre a contratilidade.

O protocolo do efeito do tempo experimental sobre desenvolvimento de força (Fc) pelas tiras ventriculares foi realizado para avaliar possíveis alterações na conservação da funcionalidade do tecido ventricular. Este protocolo mostrou que o desenvolvimento de força não foi

comprometido nos dois grupos já que os valores de Fc mantiveram-se constantes ao longo do tempo experimental.

A análise do protocolo do efeito do tempo experimental revelou um valor maior de Fc no grupo SDA quando comparado ao grupo em jejum, uma vez que a Fc média do grupo 2 dias (~ 17 mN.mm⁻²) foi quase 2 vezes maior que o grupo 28 dias (~ 9 mN.mm⁻²). Estes resultados evidenciam que a hipertrofia cardíaca associada ao SDA encontrada neste trabalho, e também por Andersen e colaboradores (2005), exerce influência na contratilidade cardíaca contribuindo para uma maior força de contração das tiras ventriculares.

Os valores encontrados para os parâmetros tempo-dependentes (TPT e THR), quando analisados individualmente, não foram alterados durante o tempo experimental, nem com relação ao período metabólico em que o animal se encontra. No entanto, ao relacionar o TPT e o THR com os valores de Fc, observaram-se valores menores de TPT/Fc e THR/Fc no grupo em SDA. Estas razões oferecem uma avaliação importante da eficiência nos mecanismos de contração e relaxamento, uma vez que indicam quantos milissegundos são necessários para o desenvolvimento de 1 mN.mm⁻² de força (TPT/Fc) ou para 1 mN.mm⁻² de relaxamento (THR/Fc). A análise destes resultados indica a ocorrência de ajustes inotrópicos nos miócitos cardíacos durante a digestão aumentando a eficiência no manejo de cálcio durante o acoplamento E-C, acelerando as taxas de contração e relaxamento cardíacos.

As derivadas máximas da contração e do relaxamento também não foram alteradas ao longo do tempo experimental evidenciando que a dinâmica da contração e do relaxamento permaneceu inalterada durante os procedimentos experimentais. A dinâmica dos eventos contráteis foi influenciada pelo período metabólico, uma vez que o grupo em SDA apresentou valores maiores nas derivadas máximas de contração e de relaxamento, o que indica uma maior eficiência na contratilidade dos miócitos. Huang e colaboradores (2001) observaram melhora na dF/dt dos miócitos de ratos com hipertrofia em resposta à falha congênita do coração, estes ratos também apresentaram diferença na expressão de genes da cadeia pesada da miosina cardíaca.

O protocolo de incremento da frequência de estimulação elétrica foi realizado para investigar a eficiência contrátil dos miócitos cardíacos durante a elevação da frequência de eventos contráteis. Em todos os grupos a Fc no retorno a 0,2 Hz não apresentou diferença em

relação ao inicial, o que indica que não houve deterioração das tiras ventriculares durante a realização do protocolo de força-frequência.

Os resultados encontrados por meio do protocolo de força-frequência mostram que ambos os grupos apresentaram um efeito escada negativo ou relação força-frequência negativa, isto é, diminuição da força desenvolvida pelas tiras ventriculares durante o incremento da frequência de estimulação elétrica, observada em diferentes vertebrados basais (SHIELS et al., 2002), inclusive em outras espécies de répteis (GALLI et al., 2006B; ZAAR et al., 2007).

Esta relação força-frequência negativa, segundo a literatura, está associada a mecanismos insuficientes para a obtenção de Ca^{2+} livre, seja pelos transportadores sarcolemais ou a partir de reservas intracelulares, para a manutenção dos eventos de contração e de relaxamento a elevadas taxas de estimulação. O aumento da frequência de estimulação elétrica dificulta, também, a recaptação do cálcio para o interior do retículo sarcoplasmático (RS), bem como a extrusão do cálcio via trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX), devido ao menor tempo disponível para todo esse processo entre uma contração e outra (AHO e VORNANEN, 1998; HOVE-MADSEN et al., 1998).

No grupo 28 dias, a frequência máxima observada *in vitro* (1,4 Hz ou 74 bpm) foi superior à frequência cardíaca observada em *P. molurus in vivo* para esta situação metabólica (~ 0,4 Hz ou ~ 24 bpm) registrada por Secor et al (2000). Já o grupo 2 dias também apresentou frequência superior (1,6 Hz ou 96 bpm), porém mais próxima à encontrada por experimentos *in vivo* durante o período digestivo (~ 1 Hz ou ~ 60 bpm). A análise destes resultados mostra que os miócitos cardíacos desta espécie não trabalham no limite de sua capacidade de acoplamento E-C.

O débito cardíaco, produto do volume sistólico pela frequência cardíaca, está relacionado à capacidade de bombeamento (CBC), que tem sido utilizada como índice que simula o débito cardíaco (Matikainen e Vornanen, 1992). A avaliação dos resultados para o CBC revelou que, durante a digestão, a frequência cardíaca encontrada para *P. molurus in vivo* encontra-se na faixa onde a capacidade de bombeamento cardíaco é máxima, evidência que se soma aos dados obtidos por Secor e colaboradores (2000), indicando que o metabolismo pós-prandial demanda trabalho máximo dos sistemas respiratório e cardiovascular, maior, inclusive, que em exercício vigoroso.

Os parâmetros tempo-dependentes (TPT e THR) reduziram-se com o incremento na frequência de estimulação elétrica e não foi verificada alteração devido à condição metabólica em que se encontravam os animais. Ao relacionar estes parâmetros com a Fc, as taxas resultantes (TPT/Fc e THR/Fc) apresentaram diferenças entre os valores encontrados para o grupo 28 dias e o grupo 2 dias. O grupo 2 dias apresentou valores menores para as taxas de contração e relaxamento, provavelmente resultado de ajustes inotrópicos que garantiram maior eficiência nos mecanismos de transporte de Ca^{2+} envolvidos com a contratilidade, mesmo com a elevação da frequência de estimulação elétrica.

As derivadas máximas da contração e do relaxamento mantiveram-se constantes com a elevação da frequência de estimulação elétrica, exceto na frequência de 1,6 Hz no grupo em SDA, onde a derivada máxima da contração reduziu-se. O grupo 2 dias apresentou valores maiores de dF/dt e $-dF/dt$, mostrando maior eficiência contrátil das tiras ventriculares desse grupo. No entanto, nas frequências mais elevadas essa diferença foi suprimida, provavelmente, pela dificuldade de manter tal eficiência em frequências supra-fisiológicas.

5.3 Contribuição do Retículo Sarcoplasmático (RS).

No protocolo de avaliação de força pós-pausa, a presença de rianodina durante a pausa da estimulação elétrica evidencia a contribuição do RS com íons Ca^{2+} para o acoplamento E-C, uma vez que a adição do alcalóide ao banho na concentração de 10 μM inativa a função de armazenamento de cálcio pelo mesmo. Quando a rianodina está presente, o desenvolvimento de força após a pausa prolongada nos dois grupos experimentais foi menor, o que aponta para uma provável funcionalidade do RS como fornecedor e armazenador de Ca^{2+} nesta espécie. A análise dos resultados deste protocolo mostra também que os mecanismos sarcolemais de extrusão do Ca^{2+} foram eficientes baixando os níveis do cálcio, ativador da contração das mioproteínas, disponível para o desenvolvimento de força nos miócitos da espécie.

Segundo Mill e colaboradores (1992), durante contrações após pausa a dependência dos estoques intracelulares de Ca^{2+} é maior do que durante contrações regulares em situação

controle, por isso a adição de rianodina neste protocolo tem como função revelar a contribuição do retículo sarcoplasmático para a contratilidade cardíaca. Corroborando os resultados obtidos no presente trabalho, Galli e colaboradores (2006B) sugeriram que a contração e o relaxamento do músculo cardíaco de lagartos da espécie *Varanus exanthematicus* e em pítons da espécie *P. regius* recrutam Ca^{2+} pelo RS para o desenvolvimento de força ventricular.

O sequestro de cálcio pelo RS é energeticamente mais favorável do que a extrusão para o meio extracelular. Assim, faz sentido o aumento da captação de Ca^{2+} pelo RS quando o mesmo encontra-se em altas concentrações e quando o consumo de ATP é elevado (MONASKY e JANSSEN, 2009). O NCX remove um íon Ca^{2+} do citosol em troca de três íons Na^+ que entram na célula (PHILIPSON e NICOLL, 2000), os quais são extrudidos da célula pela bomba de Na^+/K^+ às expensas de um ATP (LINGREL e KUNTZWEILER, 1994). A Ca-ATPase sarcolemal remove um íon Ca^{2+} gastando um ATP (BERS, 1991). Consequentemente, cada um dos mecanismos sarcolemais efetivamente utilizam um ATP para remover cada íon Ca^{2+} da célula. A Ca-ATPase do RS, a SERCA, sequestra dois íons Ca^{2+} com gasto energético de um ATP (BERS, 1991), economizando 2 vezes mais do que os mecanismos sarcolemais de transporte de Ca^{2+} . Em mamíferos, Monasky e colaborador (2009) observaram diferenças entre estas duas formas de extrusão do Ca^{2+} , sendo que ratos parecem depender mais do sequestro pelo RS, enquanto que coelhos utilizam-se mais dos mecanismos de transporte sarcolemais. Em face do pequeno número de espécies estudadas, ainda não é possível sugerir qual seria o mecanismo preponderante nos répteis. Entretanto, em face dos resultados obtidos no presente trabalho, parece que *P. molurus* apresenta extrusão de Ca^{2+} preponderante via NCX.

Dentre os poucos estudos que avaliaram a contribuição do RS para os eventos de contração e relaxamento em répteis, Galli et al. (2006A) mostraram, por exemplo, que na tartaruga *Trachemys scripta scripta* esta organela apresenta contribuição não significativa para com a ciclagem de Ca^{2+} no miócito cardíaco (GALLI et al, 2006A), já o lagarto *Varanus exanthematicus*, parente mais próximo filogeneticamente das serpentes, apresenta um contribuição relevante do RS, disponibilizando Ca^{2+} para a contração e captando este íon pela Ca^{2+} -ATPase da membrana desta organela no período de relaxamento do miócito (GALLI et al, 2009).

Os resultados obtidos no protocolo de força-frequência com a presença de rianodina mostram a influência da rianodina na contratilidade dos miócitos cardíacos, já que as tiras ventriculares não mantiveram contrações regulares até as mesmas frequências observadas em situação controle. Isto mostra a importância do RS para o desenvolvimento de força do músculo cardíaco, principalmente em frequências elevadas.

O grupo em SDA apresenta menores taxas de contração e relaxamento, bem como maiores derivadas máximas de contração e relaxamento do que o grupo em jejum na presença de rianodina, melhor observados nas frequências elevadas, principalmente 1,2 Hz. Isto sugere que na condição de SDA há uma maior eficiência nos mecanismos sarcolemais de transporte de Ca^{2+} , contribuindo para garantir a contratilidade dos miócitos nesta condição metabólica. No entanto, o grupo 2 dias não atingiu os valores de frequência observados na situação controle, evidenciando uma maior dependência do RS para a ciclagem do Ca^{2+} , nesta condição metabólica.

O aumento da força de contração e da pressão sistêmica são realizadas principalmente pelo espessamento da parede ventricular (WEBB et al., 1971; FARRELL et al., 1998), e se isso ocorre através de hipertrofia do miócito, a distância de difusão do Ca^{2+} até o aparato contrátil será maior e poderá exigir uma ciclagem de Ca^{2+} mais eficiente, possivelmente através do RS (Galli et al., 2006B). Hisamatsu e seus colaboradores (1997), mostraram aumento na liberação de Ca^{2+} pelo RS em ratos com hipertrofia ventricular, o que poderia colaborar para com o aumento da força de contração.

Ainda pouco se sabe sobre o impacto das alterações fisiológicas e ambientais sobre o acoplamento E-C em pítons, no entanto alguns pesquisadores investigaram este impacto em outros vertebrados basais. O resfriamento agudo tem impacto negativo sobre os canais de Ca^{2+} tipo L, já as mudanças associadas à frequência cardíaca (e duração do PA) tendem a compensar os efeitos negativos da temperatura baixa sobre os miócitos cardíacos (SHIELS et al, 2000; SHIELS et al, 2002). A funcionalidade do RS também parece ser sensível à temperatura, já que o aquecimento agudo promove um crescente envolvimento do RS (SHIELS e FARRELL, 1997). Outro fator que parece influenciar a dinâmica de cálcio nos miócitos são os níveis de adrenalina, aumentando a entrada de Ca^{2+} via fosforilação dos canais de Ca^{2+} tipo-L, e estes parecem ser sensíveis à temperatura também, sendo maior em temperaturas baixas (SHIELS et al, 2003). O

pH também influencia o acoplamento E-C, diminuindo a sensibilidade dos miofilamentos ao Ca^{2+} em valores baixos de pH (GILLIS et al, 2000), porém os efeitos da acidose em outros componentes da cascata do acoplamento E-C dos vertebrados basais ainda não foram totalmente elucidados.

Os resultados deste trabalho mostram que a hipertrofia associada a uma maior eficiência no transporte de Ca^{2+} no tecido cardíaco foi responsável pelo aumento da força de contração, elevação muito importante para a manutenção de um débito cardíaco e fluxo sanguíneo mais próximo do ideal para a condição de digestão, que se apresenta com um metabolismo elevado. No entanto, se faz necessário maiores investigações para entender melhor os impactos das alterações ocorridas durante a digestão sobre o acoplamento E-C de pítons.

6. CONCLUSÕES

A investigação das implicações do provável remodelamento cardíaco pós-prandial na contratilidade miocárdica de *Python molurus* permitiu as seguintes conclusões:

- a. Os animais em digestão (2 dias pós-prandial - SDA) apresentam aumento na massa ventricular relativa quando comparados a animais em jejum de 28 dias.
- b. As tiras ventriculares dos animais em SDA apresentaram Fc maior do que as tiras ventriculares dos animais em jejum, devido provavelmente há uma maior quantidade de proteínas contráteis e pelo efeito inotrópico positivo observado nas tiras do grupo 2 dias, demonstrando que a hipertrofia ventricular, causada pela alimentação, aumenta a funcionalidade do miocárdio.
- c. As tiras ventriculares dos animais em SDA apresentaram melhor eficiência nos mecanismos de ciclagem do Ca^{2+} , tanto para a contração como para o relaxamento, indicando melhor eficiência dos miócitos cardíacos durante o período de alimentação e digestão.
- d. O RS contribui na ciclagem do Ca^{2+} dos miócitos de *P. molurus*, pois a presença de rianodina diminui a Fc da contração após pausa na estimulação elétrica.
- e. Nas tiras ventriculares de *P. molurus*, o RS contribui para com o acoplamento excitação-contração, nos eventos da contração e do relaxamento, principalmente nas frequências mais elevadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ANDERSEN, J.B., ROURKE, V.J.C., BENNETT, A.F., HICKS, J.W. Postprandial cardiac hypertrophy in python., *Nature.*, 434: 37-38, 2005.
- AHO, E., VORNANEN, M. Ca^{2+} -ATPase activity and Ca^{2+} uptake by sarcoplasmic reticulum in fish heart: effects of thermal acclimation. *J. Exp. Biol.*, 201: 525-532, 1998.
- BAILEY, J.R., DRIEDZIC, W.R. Decreased total ventricular and mitochondrial protein synthesis during extended anoxia in turtle heart., *Am. J. Physiol.*, 271(40): R1660-R1667, 1996.
- BAILEY, J.R., DRIEDZIC, W.R. Protein synthesis under conditions of anoxia and changing workload in ventricles from turtle heart., *J. Exp. Zool.*, 278: 273-282, 1997.
- BASSANI, R.A., BASSANI, J.W.M., BERS, D.M. Relaxation in ferret ventricular myocytes: unusual interplay among calcium transport systems. *J Physiol (Lond)* 476: 295-308, 1994.
- BASSANI, R.A., BASSANI, J.W.M., BERS, D.M. Relaxation in ferret ventricular myocytes: role of the sarcolemmal Ca ATPase. *Pflugers Arch.* 430: 573-578, 1995.
- BERLIN, J.R., BASSANI, J.W.M., BERS, D.M. Intrinsic cytosolic calcium buffering properties of single rat cardiac myocytes. *Biophys J.* 67:1775-1787, 1994.
- BERS, D.M. Ca influx and sarcoplasmic reticulum Ca release in cardiac muscle activation during post-rest recovery. *Am. J. Physiol.*, 248: H366-H381, 1985.
- BERS, D.M. Ryanodine and the calcium content of cardiac SR assessed by caffeine and rapid cooling contractures. *Am. J. Physiol.*, 253: C408-C415, 1987.
- BERS, D.M. *Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 258p, 1991.
- BERS, D.M. Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circ. Res.* 87: 275-281, 2000.
- BOSSEN, E.H., SOMMER, J.R. Comparative stereology of the lizard and frog myocardium. *Tiss. Cell.*, 16: 173-178, 1984.
- BRODY, S. *Bioenergetics and growth*. Reinhold, New York. 1945.
- CHAPMAN, R.A. Control of cardiac contractility at the cellular level. *Am. J. Physiol.*, 245 (14): H535-H552, 1983.
- COOPER, G. Cardiocyte adaptation to chronically altered load. *Annu. Rev. Physiol* 49: 501-518, 1987.
- DESPA, S., ISLAM, M.A., POGWIZD, S.M., BERS, D.M. Intracellular $[\text{Na}]_i$ and Na/K-pump rate in rat and rabbit ventricular myocytes. *J Physiol* 539:133-143, 2002.
- DRIEDZIC W.R., GESSER, H. Energy metabolism and contractility in ectothermic vertebrate hearts: hypoxia, acidosis, and low temperature. *Physiol. Rev.*, 74(1): 221-258, 1994.
- FABIATO, A. Calcium release in skinned cardiac cells: Variation with species tissues and development. *Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. Exp. Biol.*, 41: 2238-2244, 1982.
- FABIATO, A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am. J. Physiol.*, 245(14): C1-C14, 1983.
- FABIATO A. Time and calcium dependence of activation and inactivation of calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac Purkinje cell. *J Gen Physiol.* 85:247-289, 1985.
- FARRELL, A.P., FRANKLIN, C., ARTHUR, P., THORARENSEN, H., COUSINS, K. Mechanical performance of an in situ perfused heart from the turtle *Chrysemys scripta* during normoxia and anoxia at 5C and 15C., *J. Exp. Zool.*, 191(1): 207-229, 1994.

- FARRELL, A.P., GAMPERL, A. K. AND FRANCIS, T. B. Comparative aspects of heart morphology. *Biology of the Reptilia*. Vol. 19, Morphology G: Visceral Organs (ed. C. Gans and A. S. Gaunt), 375-424. Ithaca, NY: SSAR Press., 1998
- FORBES, M.S., SPERELAKIS, N. Spheroidal bodies in the junctional sarcoplasmic reticulum of lizard myocardial cells. *J. Cell Biol.*, 60: 602-615, 1974.
- FISLER, J.S. Cardiac effects of starvation and semistarvation diets: safety and mechanisms of action. *The American Journal of Clinical Nutrition* 56: 230S-4S, 1992.
- GALLI, G.L.J, TAYLOR, E.W., SHIELS, H. A. Calcium flux in turtle ventricular myocytes. *Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291: 1781–1789, 2006A.
- GALLI, G.L.J., GESSER, H., TAYLOR, E.W., SHIELS, H.A., WANG, T. The role of the sarcoplasmic reticulum in the generation of high heart rates and blood pressures in reptiles. , *J. Exp. Biol.*, 209: 1956-1963, 2006B.
- GALLI, G.L.J., WARREN, D. E., SHIELS, H. A. Ca²⁺ cycling in cardiomyocytes from a high-performance reptile, the varanid lizard (*Varanus exanthematicus*). *Am J Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 297: 1636–1644. 2009.
- GESSER, H., POUPA, O. Acidosis and cardiac muscle contractility: comparative aspects. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76(3): A559-A566, 1983.
- GILLIS, T.E., MARSHALL, C.R., XUE, X.H., BORGFORD, T.J., TIBBITS, G.F. Ca²⁺ binding to cardiac troponin C: effects of temperature and pH on mammalian and salmonid isoforms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 279: R1707–R1715, 2000.
- HAILEY, A., DAVIES, P.M.C. Digestion, specific dynamic action, and ecological energetic of *Natrix Maura*. *Herpetol J.* 1: 159-166, 1987.
- HICKMAN-JR, C.P., ROBERTS, L.S., LARSON, A. *Integrated principles of zoology*. McGraw Hill, 11th ed., 899p, 2001.
- HICKS, J.M.T., FARRELL, A.P. The cardiovascular responses of the red-eared slider (*Trachemis scripta*) acclimated to either 22 or 5 °C. II. Effects of anoxia on adrenergic and cholinergic control. *J. exp. Biol.*, 203: 3775-3784, 2000.
- HISAMATSU Y, OHKUSA T, KIHARA Y,, INOKO, M., UEYAMA, T., YANO, M., SASAYAMA, S., MATSUZAKI, M. Early changes in the functions of cardiac sarcoplasmic reticulum in volume-overloaded cardiac hypertrophy in rats. *J Mol Cell Cardiol.* 29:1097–1109, 1997.
- HOVE-MADSEN, L., BERS, D.M. Passive Ca buffering and SR Ca uptake in permeabilized rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol.* 264: C677-C686, 1993.
- HOVE-MADSEN, L., LLACH, A., TORT, L. Quantification of Ca²⁺ uptake in the sarcoplasmic reticulum of trout ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.*, 275: R2070-R2080, 1998.
- HUANG, Y., LIU, H., Li, Y. Alterations in myosin heavy chain isoform gene expression during the transition from compensatory hypertrophy to congestive heart failure in rats. *Chinese Medical Journal*, 114: 183-185, 2001.
- JANES, D.N., CHAPPELL, M.A. The effect of ratio size and body size on specific dynamic action in Adélie penguin chicks, *Pygoscelis adeliae*. *Physiol Zool* 68:1029- 1044, 1995
- JOBLING, M. The influences of feeding on the metabolic rate of fishes: a short review. *J Fish Biol* 18: 385-400, 1981.
- KALARANI, V., DAVIES, P.S. The bioenergetic cost of specific dynamic action and ammonia excretion in a fresh-water predatory leech *Hephelopsis obscura*. *Comp Biochem Physiol* 108A: 862-870, 1994.
- KALININ, A.L., GESSER, H. Oxygen consumption and force development in turtle and trout cardiac muscle during acidosis and high extracellular potassium. *J. Comp. Physiol. B*, 172: 145-151, 2002.
- KLEIBER, M. *The fire of life*. Krieger, Huntington, NY. 1975.

- LEAK, L.V., The ultrastructure of myofibers in a reptilian heart: the *Boa constrictor*., Am. J. Anat., 120: 553-582, 1967.
- LEESON, T.S. The Fine Structure of Snake Myocardium. Acta Anat., 109: 252-269. 1981.
- LINGREL, J.B.; KUNTZWEILER, T. Na⁺, K(+) -ATPase. J Biol Chem 269:19659–19662, 1994.
- LINNAEUS, C. Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Holmiae Systema Nature. ed., 824 p, 1758.
- MATIKAINEN, N.; VORNANEN, M. Effect of season and temperature acclimation on the function of crucian carp (*Carassius carassius*) heart. J. Exp. Biol. 167: 203–220, 1992.
- MILL, J. G., VASSALO, D. V., LEITE, C.M. Mechanisms underlying the genesis of post-rest contractions in cardiac muscle. Braz. J. Med. Biol. Res., 25: 399- 408, 1992.
- MONASKY, M.M.; JANSSEN, P.M.L. The positive force-frequency relationship is maintained in absence of sarcoplasmic reticulum function in rabbit, but not in rat myocardium. J Comp Physiol B 179:469–479, 2009.
- NIELSEN, J.S., GESSER, H. Effects of high intracellular [K⁺] and adrenaline on force development, relaxation and membrane potential in cardiac muscle from freshwater turtle and rainbow trout. Exp. Biol., 204(2): 261-268, 2001.
- OKITA, S. The fine structure of the ventricular muscle cells of the soft-shelled turtle heart (*Amyda*), with special reference to the sarcoplasmic reticulum. J. Electron. Microsc. Chiba Cy, 20: 107-119, 1971.
- PALTY, R., OHANA, E., HERSHFINKEL, M., VOLOKITA, M., ELGAZAR, V., BEHARIER, O., SILVERMAN, W.F. ARGAMAN, M., SEKLER, I. Lithium-calcium exchange is mediated by a distinct potassium-independent sodium-calcium exchange. J. Biol. Chem., 279(24): 25234–25240, 2004.
- PHILIPSON, K.D; NICOLL, D.A Sodium-calcium exchange: a molecular perspective. Annu Rev Physiol 62:111–133, 2000.
- RIVAROLI, L., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. Cardiac function of two ecologically distinct Neotropical freshwater fish: Curimbata, *Prochilodus lineatus* (Teleostei: Prochilodontidae) and trahira, *Hoplias malabaricus* (Teleostei: Erythrinidae). Comp. Biochem. Physiol. A, 145: 322-327, 2006.
- RIVAROLI, L. Avaliação da função cardíaca do teleósteo neotropical matrinxã, *Brycon amazonicus*: uma análise mecânica e biomolecular. 2011. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.
- ROCHA, M.L., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. Effects of temperature and calcium availability on cardiac contractility in *Synbranchus marmoratus*, a neotropical teleost, Comp. Biochem. Physiol. 146: A544-A550, 2006.
- ROCHA, M.L., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. Importance of the sarcoplasmic reticulum and adrenergic stimulation on the cardiac contractility of the neotropical teleosts *Synbranchus marmoratus* under different thermal conditions, J. Comp. Physiol. B., 177: 713-721, 2007.
- ROUSSEAU, E., SMITH, J.S., SULLIVAN, L. Ryanodine modifies conductance and gating behavior of single Ca²⁺ release channel. Am. J. Physiol., 253: C364-C368, 1987.
- SECOR, S. M., DIAMOND, J. Adaptive responses to feeding in Burmese pythons: pay before pumping. J. Exp. Biol. 198: 1313 -1325, 1995.
- SECOR, S. M., DIAMOND, J. Determinants of the postfeeding metabolic response in Burmese pythons (*Python molurus*). Physiol. Zool. 70: 202 -212, 1997a.
- SECOR, S. M., DIAMOND, J. Effects of meal size on postprandial responses in juvenile Burmese pythons (*Python molurus*). Am. J. Physiol. 272: R902 -R912, 1997b.

- SECOR, S. M., DIAMOND, J. A vertebrate model of extreme physiological regulation. *Nature* 395: 659-662, 1998.
- SECOR, S.M., HICKS, J.W., BENNETT, A.F. Ventilatory and cardiovascular responses of a python (*Python molurus*) to exercise and digestion. *J. Exp. Biol.* 203: 2447-2454, 2000
- SHI, H., JACKSON, D.C. Effects of anoxia, acidosis and temperature on the contractile properties of turtle cardiac muscle strips. *J. exp. Biol.*, 200: 1965-1973, 1997.
- SHIELS, H.A., FARRELL, A.P. The effect of temperature and adrenaline on the relative importance of the sarcoplasmic reticulum in contributing Ca^{2+} to force development in isolated ventricular trabeculae from rainbow trout. *J Exp Biol* 200: 1607–1621, 1997
- SHIELS H.A., VORNANEN, M., FARRELL, A.P. Temperature-dependence of L-type Ca^{2+} channel current in atrial myocytes from rainbow trout. *J Exp Biol* 203: 2771–2780, 2000.
- SHIELS, H.A., VORNANEN, M., FARRELL, A.P. Temperature dependence of cardiac sarcoplasmic reticulum function in rainbow trout myocytes. *J Exp Biol* 205: 3631–3639, 2002.
- SHIELS, H.A., VORNANEN, M., FARRELL, A.P. Acute temperature change modulates the response of I Ca to adrenergic stimulation in fish cardiomyocytes. *Physiol Biochem Zool* 76: 816–824, 2003.
- STARCK, J.M., BEESE, K. Structural flexibility of the intestine of Burmese python in response to feeding. *J Exp Biol* 204: 325–335, 2001.
- SWYNGHEDAUW, B. Molecular Mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol. Rev* 79: 215-262, 1999
- THOMAZ, J.M., MARTINS, N.D., MONTEIRO, D.A., RANTIN, F.T., KALININ, A.L. Cardio-respiratory function and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia exposed to the organophosphate insecticide trichlorfon (NEGUVON®). *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, 72(5): 1413-1424, 2009.
- TIBBITS, G.F. Towards a molecular explanation of the high performance of Tuna heart. *Comp. Biochem. Physiol.* 113(1): A77-A82, 1996.
- TIBBITS, G.F., HOVE-MADSEN, L., BERS, D.M. Calcium transport and the regulation of cardiac contractility in teleosts: a comparison with higher vertebrates. *Can. J. Zool.*, 69: 2014-2019, 1991.
- TIBBITS, G.F., PHILIPSON, K.D., KASHIHARA, H. Characterization of myocardial Na^{+} - Ca^{2+} exchange in rainbow trout. *Am. J. Physiol.*, 262(31): C411-C417, 1992.
- VLIEGEN, H.W., BRUSCHKE, A.V. G., VAN DER LAARSE, A. Different response of cellular dna content to cardiac hypertrophy in human and rat heart myocytes. *Comp. Biochem. Physiol. A: Physiol.*, 95: 109–114, 1990.
- VORNANEN, M., SHIELS, H. A., FARRELL, A. P. Plasticity of excitation–contraction coupling in fish cardiac myocytes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 132: A827-A846, 2002.
- WEBB, G. J. W., HEATWOLE, H. AND DE BAVAY, J. Comparative cardiac anatomy of the reptilian. I. The chambers and the septa of the varanid ventricle. *J. Morphol.*, 134: 335-350, 1971.
- WESTERTERP-PLANTENGA, M.S., HEUVEL, E.V.D., WOUTERS, L. and HOOR, F.T. Diet-induced thermogenesis and cumulative food intake curves as a function of familiarity with food and dietary restraint in humans. *Physiol Behav* 51:457-465, 1992
- WIER, W.G. Cytoplasmic $[Ca^{2+}]_i$ in mammalian ventricle: Dynamic control by cellular processes. *Annu. Rev. Physiol.*, 52: 467-485, 1990.
- YUE, D.T. Intracellular $[Ca^{2+}]_i$ related to rate of force development in twitch contraction of heart. *Am. J. Physiol.*, 252: H760-H770, 1987.

- ZAAR, M., OVERGAARD, J., GESSER, H., WANG, T. Contractile properties of the functionally divided python heart: Two sides of the same matter. *Comp. Bioch. Physiol. Part A* 146: 163-173, 2007.
- ZUG, G.R., VITT, L.J., CALDWELL, J.P. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. 2nd ed, 630p, 2001.