

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX**

**Efeitos Cardioprotetores do Fentanil em Modelos
Experimentais de Isquemia Miocárdica Associada à
Hiperatividade Simpática Central: Ações Antiarrítmicas e
Antiisquêmicas.**

Marcos Adriano Lessa

**Rio de Janeiro
2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX**

**Efeitos Cardioprotetores do Fentanil em Modelos
Experimentais de Isquemia Miocárdica Associada à
Hiperatividade Simpática Central: Ações Antiarrítmicas e
Antiisquêmicas.**

Marcos Adriano Lessa

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em
Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade do
Estado do Rio de Janeiro para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Orientador: Dr. Eduardo Tibiriçá

**Rio de Janeiro
2005**

FICHA CATALOGRÁFICA
© Reprodução autoriza pelo autor

LESSA, Marcos Adriano

Efeitos Cardioprotetores do Fentanil em Modelos Experimentais de Isquemia Miocárdica Associada à Hiperatividade Simpática Central: Ações Antiarrítmicas e Antiisquêmicas. – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Centro Biomédico, Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

xiii, 141 p.

Orientador: Eduardo Tibiriçá
Tese: Doutorado em Ciências (Farmacologia)

1. Fentanil. 2. Isquemia miocárdica. 3. Sistema nervoso autônomo. 4. Cardioproteção. 5. Anestesia. I. Tibiriçá, Eduardo. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Centro Biomédico, Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental. III. Título.

AGRADECIMENTOS:

Ao Dr. Eduardo Tibiriçá, pelo exemplo como pessoa e como pesquisador, pela impecável orientação ao longo desses anos e pela oportunidade de fazer parte de sua equipe.

Ao Dr. Marco Aurélio Martins, pela leitura prévia e pelas sugestões para este trabalho.

À Elba Rodrigues, pela amizade e pela ajuda nos experimentos da primeira parte deste trabalho e ao Juliano Lazzari pela ajuda nos experimentos da segunda parte deste trabalho.

Ao Roger de Moraes pelo exemplo de dedicação e disciplina na pesquisa e pelas preciosas sugestões para a redação final deste trabalho.

A toda a equipe do laboratório de farmacologia Neuro-Cardiovascular Cláudia Valéria de Araújo, Rodrigo Cavalheiro, Giovanni Gioseffi, Solange Calleaux, Beatriz Guimarães, Bruno Sabino, Leonardo Burlini, André Buriel pelo companheirismo do dia-a-dia dentro e fora do laboratório e por me suportarem ao longo desses anos.

Às secretárias do Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica Andréa e Marilene e do CLINEX Amélia e Eliane, pela gentileza e ajuda nos detalhes administrativos.

Dedico este trabalho à Flávia, por me contagiar ao longo destes anos com essa sua “estranha mania de ter fé na vida”. Sem a sua presença na minha vida, poucas coisas fariam sentido...

Dedico também este trabalho aos meus pais, Elizeu e Maria por acreditarem em mim, muito antes do início desta tese.

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Farmacologia Neuro-Cardiovascular do Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, sob a orientação do Dr. Eduardo Tibiriçá.

RESUMO

As doenças cardiovasculares representam um grave problema de saúde pública, sendo a principal causa de mortalidade na população adulta. O desequilíbrio autonômico, caracterizado pelo aumento da atividade simpática e pela redução do tônus vagal, é um achado comum na fisiopatologia das doenças cardiovasculares. A doença coronariana é uma das principais causas de complicações em anestesia e está relacionada ao aumento da morbi-mortalidade peri-operatória. Assim, medidas que reduzam a incidência de isquemia peri-operatória devem fazer parte da abordagem anestésica do paciente de alto risco. Os agentes opióides têm demonstrado efeito cardioprotetor tanto central como periférico. Os efeitos cardioprotetores do fentanil, agente opióide muito utilizado em anestesia, ainda não foram completamente demonstrados *in vivo*. O objetivo do presente trabalho é avaliar os efeitos cardioprotetores do fentanil *in vivo*. Coelhos anestesiados foram submetidos a dois protocolos de isquemia miocárdica: um pelo bloqueio da síntese de óxido nítrico e outro por ligadura coronariana. Em ambos os protocolos os animais foram submetidos à hiperatividade simpática de origem central. Foram avaliados os parâmetros eletrocardiográficos, hemodinâmicos e histológicos. Nossos resultados demonstraram que o fentanil possui efeitos antiarrítmicos, caracterizados por redução do número de extra-sístoles e da incidência de arritmias ventriculares e efeitos anti-isquêmicos, caracterizados por redução da incidência de alterações eletrocardiográficas, da área de infarto e da disfunção ventricular pós-isquêmica. Além disso, nossos resultados sugerem que o fentanil apresenta efeito antiarrítmico por ação central e efeito anti-isquêmico por ação periférica. Concluindo, o fentanil possui efeitos cardioprotetores significativos em situações de isquemia associada à hiperatividade simpática por atuação nos receptores opióides localizados tanto central como periféricamente.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases represent a critical problem of public health and are the major cause of death in the adult population. Autonomic abnormalities, characterized by elevations in sympathetic activity and reductions in vagal tone, are ordinary findings in the pathophysiology of many heart diseases. Coronary artery disease is one of the most important causes of anesthetic complications, and is responsible for most of perioperative morbidity and mortality. In this context, therapeutic measures which minimize the incidence of perioperative myocardial ischemia should be part of the anesthetic approach of high risk patients. Central and peripheral cardioprotective effects of opioids agents have been related. The cardioprotective effects of fentanyl, an opioid agent largely used in anesthesia, are not completely understood *in vivo*. The objective of the present work is to evaluate the cardioprotective effects of fentanyl *in vivo*. Anesthetized rabbits were submitted to two different myocardial ischemia protocols: one using the pharmacologic blockage of nitric oxide synthesis, and another using the classic model of coronary ligation. On both protocols the animals were submitted to central sympathetic overactivity. Hemodynamic, electrocardiographic and histological parameters were evaluated. Our results showed that fentanyl presents antiarrhythmic effects, characterized by decrease on the number of ventricular premature complex and on the incidence of ventricular arrhythmias, and anti-ischemic effects, characterized by decrease on the incidence of ischemic electrocardiographic abnormalities, infarction area, and post-ischemic ventricular dysfunction. Moreover, our results suggest that antiarrhythmic effects of fentanyl are related to central action, whereas the anti-ischemic effect is related to peripheral action. In conclusion, the cardioprotective effects of fentanyl during myocardial ischemia associated to central sympathetic overactivity are related to its actions over opioid receptors centrally and peripherally located.

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-----------------------------|--|
| ADP..... | adenosina difosfato |
| ATP..... | adenosina trifosfato |
| CVLM..... | porção caudal da região ventrolateral bulbar |
| DP..... | duplo produto |
| +dP/dt _{max} | taxa máxima de aumento da pressão do ventrículo esquerdo |
| -dP/dt _{max} | taxa máxima de queda da pressão do ventrículo esquerdo |
| ECG..... | eletrocardiograma |
| FC..... | freqüência cardíaca |
| Fent..... | fentanil |
| HAS..... | hipertensão arterial sistêmica |
| IAM..... | infarto aguda do miocárdio |
| i.c.v..... | intracerebroventricular |
| i.v..... | intravenosa |
| i.t..... | intratecal |
| L-NAME..... | N ^o -nitro-L-arginina metil éster |
| NO..... | óxido nítrico |
| Nal..... | naloxona |
| Nal _{Quat} | naloxona quaternária |
| NPV..... | núcleo paraventricular hipotalâmico |
| NOS..... | óxido nítrico sintase |
| NTS..... | núcleo da trato solitário |
| PAS..... | pressão arterial sistólica |
| PAD..... | pressão arterial diastólica |

PAM.....pressão arterial média
P_{df}VE.....pressão ventricular esquerda no final da diástole
PSVE.....pressão sistólica do ventrículo esquerdo
PIM.....pré-condicionamento isquêmico do miocárdio
RVLM.....porção rostral da região ventrolateral bulbar
SNA.....sistema nervoso autônomo
SNC.....sistema nervoso central
TP.....triplo produto
TTC.....cloreto de trifeniltetrazólio

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--|----|
| 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS | 1 |
| 2 - INTRODUÇÃO | 6 |
| 2.1 Cardiopatia isquêmica..... | 6 |
| 2.2 Circulação coronariana..... | 10 |
| 2.2.1 Regulação do fluxo coronariano | 12 |
| 2.2.2 Controle autonômico..... | 16 |
| 2.3 O sistema nervoso central na regulação cardiovascular..... | 17 |
| 2.3.1 Nível bulbar de regulação..... | 18 |
| 2.3.2 Nível límbico-hipotalâmico de regulação..... | 20 |
| 2.4 A cardiopatia isquêmica e o desequilíbrio autonômico..... | 22 |
| 2.5 Anestesia e doença coronariana..... | 26 |
| 2.5.1 Anestesia e cardioproteção..... | 28 |
| 2.5.2 Agentes opióides..... | 29 |
| 2.5.3 Receptores opióides..... | 32 |
| 3 - OBJETIVOS | 37 |
| 3.1 Objetivo principal..... | 37 |
| 3.2 Objetivos específicos..... | 37 |
| 4 - MATERIAS E MÉTODOS | 38 |
| 4.1 Animais..... | 38 |
| 4.2. Procedimentos anestésico-cirúrgicos..... | 38 |
| 4.3 Cateterismo ventricular esquerdo..... | 39 |
| 4.4 monitorização da atividade elétrica do coração..... | 40 |
| 4.5 Injeções intracerebroventricular..... | 41 |
| 4.6 Isquemia miocárdica..... | 42 |
| 4.6.1 Isquemia miocárdica global..... | 42 |
| 4.6.2 Isquemia miocárdica regional..... | 43 |
| 4.6.2.1 determinação das áreas de isquemia e infarto..... | 44 |
| 4.7 Indução da hiperatividade simpática de origem central..... | 45 |

| | |
|---|------------|
| 4.8 Drogas..... | 46 |
| 4.9 Análise estatística..... | 46 |
| 5 - PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS..... | 47 |
| 5.1. Protocolo experimental de indução de isquemia farmacológica..... | 47 |
| 5.1.1 Controle I..... | 47 |
| 5.1.2 Controle II..... | 48 |
| 5.1.3 Fentanil..... | 49 |
| 5.2. Protocolo experimental de indução de isquemia por ligadura coronariana.. | 50 |
| 5.2.1 Controle..... | 50 |
| 5.2.2 Fentanil..... | 51 |
| 5.2.3 Naloxona i.c.v..... | 52 |
| 5.2.4 Naloxona quaternária..... | 53 |
| 6 - RESULTADOS..... | 54 |
| 6.1 Padrões eletrocardiográficos..... | 54 |
| 6.2 Resultados do estudo com isquemia global..... | 59 |
| 6.3 Resultados do estudo com isquemia regional..... | 68 |
| 7 - DISCUSSÃO..... | 84 |
| 8 - CONCLUSÕES..... | 98 |
| 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 99 |
| 10 - ANEXOS..... | 116 |
| 10.1 Artigo 1..... | 116 |
| 10.2 Artigo 2..... | 125 |
| 10.3 Artigo 3..... | 133 |

1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

As doenças cardiovasculares representam um grave problema de saúde pública, sendo a principal causa de mortalidade na população mundial e correspondendo, especificamente no Brasil, a cerca de 30% das causas de óbito. Dentre as doenças cardiovasculares, a doença coronariana tem destaque especial, uma vez que vem atingindo um número cada vez maior de pacientes adultos em plena idade produtiva. Dessa forma, o desenvolvimento de políticas públicas e de abordagens terapêuticas que visem o tratamento e a prevenção da doença coronariana e de suas complicações devem ser objetivos constantes do sistema de saúde e da pesquisa biomédica.

A doença coronariana, que se caracteriza pela redução ou parada do fluxo sanguíneo arterial para uma determinada região do miocárdio, é o resultado do acometimento das coronárias por um processo inflamatório crônico chamado aterosclerose, que leva à obstrução progressiva da luz do vaso. Sabe-se que a localização e o tamanho da área isquêmica irão determinar a gravidade da doença e o aparecimento de complicações potencialmente fatais. As principais complicações agudas da doença coronariana são as arritmias ventriculares, que surgem em função de alterações iônicas e metabólicas na região isquêmica e são potencializadas pelo aumento da atividade simpática que ocorre como resposta a situações de estresse, tais como o estresse emocional, o exercício físico e o estresse anestésico-cirúrgico.

De fato, o desequilíbrio autonômico, caracterizado pelo aumento da atividade simpática e redução do tônus vagal, é um achado comum na fisiopatologia das principais doenças cardiovasculares, dentre as quais podemos citar a hipertensão arterial sistêmica (HAS), a insuficiência cardíaca e a doença coronariana. O aumento da atividade simpática e

a redução do tônus vagal são respostas adaptativas agudas que o cérebro utiliza a fim de restabelecer a homeostase circulatória, porém, a manutenção desse desequilíbrio autonômico em médio e longo prazo leva a conseqüências deletérias para o sistema cardiovascular.

O controle da função cardiovascular exercido pelo sistema nervoso central (SNC) tem sido alvo de estudo há mais de 100 anos. Durante este período foram feitos grandes avanços sobre o conhecimento do papel do SNC na manutenção e regulação das atividades cardíaca e vascular. Além disto, houve uma melhor compreensão do comportamento do SNC na fisiopatologia de várias doenças cardiovasculares. A influência do SNC sobre a função cardiovascular ocorre principalmente através da atividade do sistema nervoso autônomo (SNA). Nesse contexto, sabe-se que o desequilíbrio na balança simpato-vagal está relacionado ao desenvolvimento de HAS, a um prognóstico reservado na insuficiência cardíaca e ao aparecimento de graves arritmias origem ventriculares na doença isquêmica do miocárdio. Além disso, o aumento da atividade simpática pode ser encontrado de maneira marcante durante o estresse anestésico-cirúrgico.

Com o aumento da expectativa de vida, é cada vez mais comum que pacientes idosos sejam submetidos a procedimentos cirúrgicos de grande porte, tais como cirurgia torácica e cardíaca. Sabe-se, por exemplo, que entre os pacientes com idade maior do que 70 anos, aproximadamente 1/3 são portadores de cardiopatia isquêmica, o que aumenta a incidência de complicações peri-operatórias nesses pacientes. Mais ainda, cerca de 75% desses pacientes, quando submetidos a procedimentos cirúrgicos de grande porte, apresentam algum grau de isquemia miocárdica, que muitas vezes não é diagnosticada pelos métodos de monitorização utilizados durante as cirurgias. Uma vez que a ocorrência de eventos isquêmicos no período peri-operatório encontra-se intimamente relacionada com

o aumento da morbi-mortalidade peri-operatória, torna-se imperativa a adoção de medidas preventivas ou terapêuticas que reduzam a incidência de isquemia peri-operatória ou minimizem suas conseqüências. Mais especificamente, drogas com ação cardioprotetora devem fazer parte do arsenal farmacológico disponível para o manejo anestésico de pacientes idosos e cardiopatas. Dentre as drogas utilizadas atualmente durante a anestesia, as que têm efeito cardioprotetor reconhecido são os β -bloqueadores, agonistas α_2 (tipo clonidina), os anestésicos inalatórios e os agentes opióides.

Os avanços obtidos na última década em relação à farmacologia dos agentes opióides, principalmente a identificação, a clonagem e a expressão de seus diferentes subtipos de receptores permitiram uma melhor caracterização do sistema opióide, mudando de maneira significativa a percepção a respeito de suas funções. Classicamente relacionados aos efeitos sobre o SNC, principalmente analgesia e redução da atividade simpática central, mais recentemente, os receptores opióides têm sido implicados com a regulação do metabolismo celular, visando à redução de gastos energéticos. Sabe-se, por exemplo, que animais que hibernam, como ursos e esquilos, são capazes de reduzir seu metabolismo corporal em até 90% durante o período de hibernação e que uma substância endógena conhecida com fator indutor de hibernação tem natureza opióide e está relacionada com este efeito. De fato, a redução do gasto energético corporal implica em menor trabalho cardíaco e a conseqüente redução no consumo de oxigênio pelo miocárdio.

Nesse contexto, estudos utilizando o modelo de isquemia e reperfusão em diferentes espécies já demonstraram que drogas que ativam os receptores opióides têm efeito cardioprotetor significativo, reduzindo a área de infarto e a incidência de arritmias ventriculares. Os primeiros estudos demonstraram que a morfina era capaz de reduzir a área

de infarto e que esse efeito cardioprotetor se assemelhava aquele produzido pelo pré-condicionamento isquêmico do miocárdio (PIM), fenômeno no qual breves períodos de isquemia seguidos de reperfusão são capazes de tornar o miocárdio mais resistente contra um insulto isquêmico prolongado subsequente. Posteriormente, foi demonstrado que o pré-tratamento com a naloxona, um antagonista não seletivo de referência dos receptores opióides, tinha a capacidade de bloquear a cardioproteção conferida pelo PIM, fornecendo evidências para a participação dos receptores opióides e de seus ligantes endógenos (encefalinas, dinorfinas, endorfinas, endomorfina e nociceptinas) no PIM. Além da morfina, outros fármacos agonistas dos receptores opióides, em especial aqueles com maior afinidade pelo subtipo δ , são capazes de induzir cardioproteção de maneira semelhante ao PIM, o que ficou conhecido como pré-condicionamento farmacológico do miocárdio.

Assim, os receptores opióides têm grande potencial de, em médio prazo, constituir um dos principais alvos no tratamento e na prevenção da doença coronariana, com especial interesse na isquemia peri-operatória.

Na verdade, evidências sugerem que o efeito cardioprotetor mediado pelos agentes opióides apresenta dois componentes distintos, um de ação central por modulação da reposta autonômica ao insulto isquêmico e outro periférico induzido por ação direta sobre os receptores opióides localizados no miocárdio.

A morfina foi o primeiro agente opióide utilizado em anestesia. Posteriormente seus derivados sintéticos representados pelo fentanil, sufentanil, alfentanil e, mais recentemente, pelo remifentanil foram introduzidos na prática clínica. O fentanil é, possivelmente, o anestésico opióide mais utilizado em anestesia, não só pelo seu potente efeito analgésico, mas também pela ausência de depressão hemodinâmica significativa mesmo quando

administrado em doses elevadas. Além disto, o fentanil possui baixo custo de mercado quando comparado a outros agentes opióides mais modernos. Apesar de não apresentar efeito depressor cardiovascular significativo, o fentanil quando utilizado em altas doses apresenta efeitos indesejados como rigidez muscular, depressão respiratória e despertar prolongado. Esses efeitos adversos são relacionados, principalmente, com o subtipo μ dos receptores opióides e, de certa forma, limitam a utilização do fentanil em doses elevadas na prática clínica. Os efeitos cardioprotetores de origem central do fentanil, que resultam da modulação do SNA e da conseqüente redução da atividade simpática, já foram demonstrados clínica e experimentalmente, assim como o efeito protetor periférico do fentanil por ação direta sobre o miocárdio foi demonstrado *in vitro*. Porém, ainda não está claro na literatura se esses dois aspectos do efeito cardioprotetor do fentanil ocorrem de maneira sinérgica *in vivo*.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como propósito avaliar os efeitos cardioprotetores do fentanil *in vivo*. As ações cardioprotetoras do fentanil serão caracterizadas com base nos achados hemodinâmicos, eletrocardiográficos e histológicos em dois modelos diferentes de isquemia miocárdica em coelhos: no modelo desenvolvido em nosso laboratório de isquemia farmacológica e no modelo clássico de isquemia e reperfusão por ligadura coronariana, ambos associados à hiperatividade simpática de origem central. Além disto, verificaremos se é possível a diferenciação farmacológica dos efeitos cardioprotetores do fentanil tanto por sua ação sobre o SNC como por ação periférica.

2 - INTRODUÇÃO

2.1 Cardiopatia isquêmica

Apesar dos constantes avanços da medicina, principalmente no diagnóstico e na terapêutica, as doenças cardiovasculares continuam sendo um grande problema de saúde pública, não só nos países desenvolvidos, mas também nos países em desenvolvimento como o Brasil. As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte em adultos e incluem, principalmente, a HAS, a doença cerebrovascular e a cardiopatia isquêmica, sendo esta última a maior causa de morte nos países desenvolvidos (Hedblad e Janzon, 1994). Para se ter uma idéia do problema, só nos Estados Unidos, por exemplo, o número de vítimas de morte súbita cardíaca varia de 300.000 a 400.000 pessoas por ano (Myerburg e col., 1997). No Brasil, a situação é bastante semelhante: aproximadamente pois 30% da mortalidade geral é atribuída às doenças cardiovasculares (DATASUS, 2002).

A doença isquêmica do miocárdio resulta da obstrução progressiva da luz das artérias coronárias, reduzindo a oferta de oxigênio e nutrientes para as células do miocárdio e do sistema de condução. A grande responsável por essa obstrução é a aterosclerose, doença que compromete as artérias elásticas (aorta, carótidas, ilíacas) e as artérias musculares de grande e médio porte sendo incluídas neste grupo as coronárias. A aterosclerose se caracteriza pela formação da placa de ateroma que leva à estenose progressiva da luz do vaso. O infarto agudo do miocárdio (IAM) ocorre por trombose da luz do vaso, a partir de três tipos diferentes de lesão da placa, com aspectos morfológicos distintos: *a*) lesão por ruptura (60-75% dos casos), *b*) lesão por erosão (24-40% dos casos) e *c*) lesão por calcificação nodular (2-7% dos casos) (Kolodgie e col., 2004).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica e progressiva, que se desenvolve a partir da disfunção do endotélio. As possíveis causas de disfunção endotelial que levam à iniciação e perpetuação do processo aterosclerótico apontam para: *a)* concentração sanguínea elevada de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e homocisteína; *b)* radicais livres causados por fumo; *c)* hipertensão; *d)* diabetes; *e)* alterações genéticas do metabolismo de lipídios; *f)* infecção por Herpesvírus e Clamídia pneumonia; *g)* e uma possível combinação desses fatores (Ross, 1993). É interessante perceber que, independentemente da causa da disfunção endotelial, o aparecimento e a evolução da doença aterosclerótica são conseqüências da resposta inflamatória (Ross, 1999) que é basicamente mediada por macrófagos derivados de monócitos e subtipos específicos de linfócitos T (Jonasson e col., 1986).

A lesão endotelial altera as propriedades homeostáticas do endotélio aumentando sua permeabilidade e a adesividade a leucócitos e plaquetas. Além de formar moléculas vasoativas, citocinas e fatores de crescimento, outro aspecto importante em relação à fisiopatologia da aterosclerose é que, com a disfunção, o endotélio perde suas propriedades de inibição da agregação plaquetária, facilitando a ocorrência de eventos trombóticos (Ross, 1999).

Didaicamente podemos classificar a placa de ateroma em três etapas distintas de evolução da lesão: inicial, intermediária e complicada. A lesão inicial se caracteriza pelo acúmulo gradual de macrófagos preenchidos de lipídios oxidados (células espumosas). Apesar da ausência de lesões grosseiras no vaso, nessa fase já é possível encontrar células endoteliais ativadas e algum grau de déficit de relaxamento dependente de endotélio. A lesão intermediária se desenvolve pela perpetuação da resposta inflamatória que estimula a migração, a proliferação e o acúmulo de células musculares lisas. Com o progredir da

doença a lesão intermediária leva ao espessamento arterial, fenômeno conhecido como “remodelamento” (Glagov e col., 1987). Com a manutenção do processo inflamatório há um aumento do número de monócitos e linfócitos provenientes do sangue que se acumulam e se multiplicam dentro da lesão. A ativação destas células leva à liberação de enzimas hidrolíticas, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, que induzem o agravamento da lesão e, eventualmente, provocam necrose focal (Ross, 1999). A lesão complicada se desenvolve pelos ciclos repetidos de migração, acúmulo e proliferação de células mononucleares e de células musculares lisas que formam um tecido fibroso levando ao aumento e à reestruturação da lesão. Nesta etapa a placa de ateroma está envolvida por uma capa fibrosa e possui um núcleo formado por lipídio e tecido necrótico (Kolodgie e col., 2004). A partir desta fase a artéria é incapaz de se dilatar de maneira compensatória, levando ao estreitamento do vaso pela protrusão da placa para sua luz, causando a alteração do fluxo sanguíneo.

Sabe-se que a natureza do fluxo sanguíneo, que pode ser laminar ou turbilhonar, também tem papel determinante no desenvolvimento e na progressão da placa de ateroma (McMillan, 1985). Mudanças no padrão de fluxo, de laminar para turbilhonar, alteram a expressão de determinados genes que possuem em sua região promotora, elementos que respondem ao estresse de cisalhamento (*shear stress*). Por exemplo, a redução do *shear stress* em determinado segmento arterial leva ao aumento do rolamento e da adesão de monócitos e células T nesta região em função da maior expressão de moléculas de adesão tanto no endotélio quanto nos leucócitos (Ross, 1999). Assim, alterações do fluxo são críticas para determinar qual sítio arterial é mais susceptível ao desenvolvimento de lesões ateromatosas (McMillan, 1985).

Desta forma, pode-se notar que inicialmente a disfunção endotelial leva ao desenvolvimento de um processo inflamatório crônico e progressivo, propiciando condições para a formação da placa de ateroma, que em determinado momento, por estreitamento da luz do vaso, muda o padrão de fluxo sanguíneo local, alterando ainda mais a integridade endotelial. Nas placas mais extensas, podem ocorrer rupturas, causando hemorragia, ulceração, formação de trombos e a liberação de êmbolos (Kolodgie e col., 2004), e, uma vez ocorrendo nas coronárias, pode levar a graves conseqüências para o coração. Dependendo da extensão da obstrução coronariana e da resposta do miocárdio a esta agressão, podemos distinguir duas síndromes principais: a angina de peito e o IAM.

A angina de peito é uma manifestação típica da cardiopatia isquêmica, que é a dor retroesternal ou precordial, provocada pela isquemia miocárdica. Existem três tipos de angina: *a*) angina estável (forma mais comum), caracteriza-se pelo surgimento da dor sempre que há aumento da demanda de oxigênio pelo coração (esforço físico, estresse emocional, hiperatividade simpática, etc.) e que, geralmente, desaparece com o repouso e/ou com o uso de vasodilatadores coronarianos; *b*) angina variante de Prinzmetal, que é a dor precordial atribuída ao vasoespasma coronariano, tipicamente ocorre em repouso e responde à administração de bloqueadores dos canais de cálcio e vasodilatadores coronarianos; *c*) angina instável, é a dor precordial que surge cada vez mais intensa e com intervalo cada vez menor; não está necessariamente relacionada com o aumento do trabalho cardíaco e pode ocorrer em repouso. Na maioria dos pacientes a angina instável é induzida por fissura, ulceração ou ruptura da placa aterosclerótica, com subsequente trombose e possível embolização e/ou vasoespasma e representa uma forma grave e avançada da doença.

O IAM é a necrose do músculo cardíaco decorrente da cessação ou drástica redução da oferta de oxigênio em determinada região do coração. O IAM geralmente é provocado por ruptura da placa de ateroma que leva à formação de trombos e à oclusão total ou subtotal da coronária (para revisão ver Schoen,1994). O IAM pode ter como conseqüências mais comuns, na sua fase mais precoce, as arritmias ventriculares ou, mais tardiamente, a disfunção ventricular esquerda podendo, esta, levar à insuficiência cardíaca congestiva. É importante ressaltar que o aparecimento de arritmias ventriculares não é uma complicação exclusiva da fase aguda do IAM e pode ocorrer também na fase subaguda (dias) ou na fase crônica (meses). Tais arritmias são a principal causa de morte súbita cardiovascular e estão intimamente relacionadas ao aumento da atividade simpática em situações de isquemia (Airaksinem, 1999)

2.2 Circulação coronariana

Todo o suprimento sangüíneo para o miocárdio é proveniente das artérias coronárias direita e esquerda que são os primeiros ramos da aorta. Os óstios das coronárias se localizam na raiz da aorta, mais precisamente nos seios do bulbo aórtico. Apesar de a anatomia estar sujeita a algumas variações individuais, na grande maioria das espécies de mamíferos, a coronária direita nutre o ventrículo e o átrio direitos, assim como a artéria coronária esquerda nutre o ventrículo e átrio esquerdos. A coronária esquerda divide-se, próximo a sua origem, em dois ramos principais: o circunflexo que irriga o átrio esquerdo e a maior parte do ventrículo esquerdo e o descendente anterior que desce pelo sulco interventricular até a ponta do coração, e cujos ramos nutrem o septo interventricular e as porções vizinhas ao septo, tanto do ventrículo esquerdo como do direito.

Apesar de o termo coronária dominante estar relacionado a qual coronária emite o ramo interventricular posterior (descendente posterior), o que, nos seres humanos, em 70 a 89% dos casos é a coronária direita. Porém, devido à magnitude da massa ventricular que irriga, a coronária esquerda tem maior importância clínica (Mandarim, 1990).

As coronárias cursam sobre o epicárdio (camada mais externa do miocárdio) e seus diversos ramos penetram o interior do miocárdio para irrigar sua camada mais interna (endocárdio). Os ramos penetrantes coronarianos fazem várias ramificações subsequentes para formar uma rede capilar. É interessante notar como a densidade capilar do coração humano é alta, excedendo a 3000 capilares/mm², enquanto no músculo esquelético a densidade capilar é de aproximadamente 400 capilares/mm² (Segal, 2003). Esta densa rede capilar juntamente com o pequeno diâmetro das fibras musculares cardíacas (<20µm), facilita a difusão do oxigênio para dentro das células.

Após passar pelos capilares, o sangue é coletado pelas vênulas, que drenam o sangue desoxigenado e rico em metabólitos proveniente do miocárdio para as veias epicárdicas, que por sua vez drenam para o átrio direito através do seio coronariano. Outros sistemas vasculares drenam diretamente para dentro das câmaras cardíacas. Neste caso se incluem as veias de Tebésio, que drenam os capilares das paredes dos ventrículos.

O coração recebe, aproximadamente, 5% do débito cardíaco em repouso, apesar de representar menos de 0,5% do peso corporal total. Essa discrepância entre tamanho e suprimento sanguíneo reflete não apenas o alto metabolismo de suas células, mas também, a contínua necessidade de disponibilizar nutrientes. O coração é um órgão eminentemente aeróbico, que utiliza a fosforilação oxidativa para gerar o ATP necessário à execução da contração muscular que vai determinar sua função como bomba. Metabolicamente, o miocárdio oxida preferencialmente ácidos graxos livres para produzir a energia necessária

para a manutenção de suas atividades. O coração também é capaz de, em condições especiais como o jejum prolongado e o exercício físico, captar e oxidar, respectivamente, corpos cetônicos e lactato para gerar energia (Newsholme e Leech, 1983). Trata-se, portanto, de um órgão extremamente versátil na utilização de substratos energéticos para o seu funcionamento.

No entanto, quando a circulação coronariana é incapaz de suprir a demanda do miocárdio por oxigênio, a relação ATP/ADP diminui drasticamente levando a uma maior dependência do metabolismo anaeróbico. Nessas condições, os níveis de lactato e adenosina aumentam consideravelmente permitindo que o coração mantenha suas funções por um curto período de tempo, apesar da redução da oferta de oxigênio. (Newsholme e Leech, 1983).

2.2.1 Regulação do fluxo coronariano

O coração requer grande quantidade de oxigênio e substratos metabólicos para o seu funcionamento normal. Em um indivíduo em repouso, cada 100g de tecido cardíaco recebe, aproximadamente, de 60 a 70 ml/min de fluxo sanguíneo. A diferença artério-venosa na circulação coronariana de um indivíduo em repouso já é muito próxima do máximo, ou seja, o coração extrai de 70 a 80% do conteúdo arterial de oxigênio, devolvendo para a circulação sanguínea venosa com um baixo conteúdo de oxigênio. Dessa forma, o miocárdio não pode responder a um aumento da demanda metabólica aumentando a extração de oxigênio já realizada com indivíduo em repouso. O coração só pode suprir grandes aumentos na demanda de oxigênio aumentando o fluxo sanguíneo coronariano que, por exemplo, durante o exercício físico, pode ultrapassar 250 ml/min por 100g (Segal, 2003).

Considerando que a extração de oxigênio não pode ser substancialmente aumentada quando há aumento significativo do trabalho cardíaco, o oxigênio necessário para suprir esta demanda é disponibilizado apenas pelo aumento do fluxo coronariano. Estes mecanismos adaptativos são ainda pouco compreendidos, mas sabe-se que estão relacionados à prevenção de danos ao miocárdio, mesmo em condições de aumentos dramáticos do trabalho cardíaco (Kübler e Haass, 1996; Mehta, 1997).

As alterações dinâmicas do estado metabólico do coração requerem um sistema regulatório rápido e altamente estruturado do fluxo coronariano para manter o equilíbrio entre a oferta e a demanda por oxigênio e nutrientes (Feigl, 1983; Marcus, 1983). Sabe-se que a maior parte da resistência vascular coronariana reside nas pequenas artérias e nas arteríolas coronarianas (Chilian e col., 1986) que, de acordo com a demanda metabólica num dado momento, são capazes de alterar seu tônus e, desta forma, determinar a condutância do fluxo para o miocárdio em diferentes situações.

A perfusão miocárdica é regulada por vários fatores que influenciam o tônus microvascular. Estes fatores podem ser extrínsecos ou intrínsecos. Os fatores extrínsecos incluem: *a)* a pressão aórtica, *b)* a força compressiva do miocárdio, *c)* as influências neurohumorais, *d)* e o metabolismo do miocárdio, sendo este último o principal determinante do fluxo coronariano (Marcus, 1983). Os fatores intrínsecos que regulam a perfusão miocárdica são a autoregulação e a função endotelial. A autoregulação é a tendência do fluxo coronariano de permanecer constante, mesmo na presença de variações na pressão de perfusão e representa mecanismo igualmente importante no controle do fluxo sanguíneo cerebral (Czosnyka e col., 2003) e renal (DiBona e Sawin, 2004). Já o endotélio participa na regulação do tônus vasomotor coronariano através da liberação de fatores vasoativos, principalmente mediadores derivados do endotélio como: o óxido nítrico (NO),

as prostaciclina (PGI₂) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) (para revisão ver Komaru e col., 2000; Vanhoutte, 2003).

Em outros leitos vasculares, o fluxo sanguíneo geralmente segue o comportamento da pressão na aorta, elevando-se na sístole e decaindo na diástole. Entretanto, na circulação coronariana o fluxo é de certa forma paradoxal, isto é, apesar do coração ser a fonte de sua própria pressão de perfusão, a contração miocárdica causa uma efetiva compressão de seu próprio suprimento vascular. Assim, o comportamento do fluxo sanguíneo através da circulação coronariana depende tanto da pressão de perfusão na raiz da aorta como da compressão extravascular conferida pela parede ventricular, particularmente do ventrículo esquerdo (Segal, 2003).

Na verdade, o fluxo sanguíneo na coronária esquerda pode sofrer uma reversão temporária no início da sístole, uma vez que força da contração isovolumétrica do ventrículo esquerdo comprime a coronária esquerda e seus ramos, enquanto a pressão na raiz da aorta ainda não começou a se elevar, isto porque neste momento a válvula aórtica ainda permanece fechada. Quando a pressão aórtica aumenta no decorrer da sístole, o fluxo coronariano aumenta, porém não alcança valores elevados. Entretanto, no início da diástole, quando o ventrículo esquerdo está relaxado, não mais exercendo força compressora sobre a coronária esquerda e seus ramos, e como a pressão aórtica ainda é alta, o fluxo sanguíneo coronariano alcança valores elevados. Desta forma, aproximadamente 80% do fluxo total coronariano ocorre durante a diástole (Segal, 2003).

Ao contrário do que ocorre na coronária esquerda, o comportamento do fluxo sanguíneo na coronária direita é muito semelhante ao comportamento da pressão aórtica. Neste caso, a sístole contribui de maneira importante para a determinação do fluxo e o fenômeno da reversão sistólica não ocorre. A principal razão para esta diferença é a baixa

tensão desenvolvida na parede do ventrículo direito para bombear o sangue para a circulação pulmonar.

Outro fator que influencia o fluxo coronariano é a frequência cardíaca, uma vez que esta afeta diretamente a duração da diástole. Durante um período de taquicardia, a fração do ciclo cardíaco gasta na diástole diminui, reduzindo, assim, o tempo disponível para perfusão coronariana. Em corações saudáveis, os vasos coronarianos podem se dilatar adequadamente em resposta a sinalização metabólica gerada pelo aumento do trabalho cardíaco, minimizando os efeitos negativos do encurtamento da diástole. Por outro lado, a frequência cardíaca elevada, pode ser muito perigosa para pacientes portadores de cardiopatia isquêmica.

Sabe-se que a pressão arterial varia dentro de limites estreitos e, por isso, a única maneira de aumentar substancialmente o fluxo para as coronárias em situações de aumento da demanda é através da vasodilatação. O coração primariamente utiliza mecanismos metabólicos para aumentar o calibre de vasos coronarianos. Neste aspecto, a adenosina apresenta um importante papel, pois fatores como o aumento na demanda metabólica do coração, a redução do fluxo coronariano ou a queda da pressão parcial oxigênio (pO_2) no miocárdio resultam na liberação de adenosina. Uma vez na circulação coronariana, a adenosina se difunde para as células musculares lisas do vaso ativando os receptores purinérgicos que, por sua vez, irão levar a uma série de alterações no equilíbrio iônico celular, culminado com a redução da concentração intracelular de Ca^{++} , capaz de induzir o relaxamento da musculatura vascular lisa, com conseqüente vasodilatação coronariana. Assim, uma perfusão inadequada de uma região do tecido cardíaco resulta em elevação dos níveis intersticiais de adenosina, levando à vasodilatação coronariana na área isquêmica o que pode restaurar o fluxo sanguíneo para esta área.

2.2.1 Controle autonômico

A circulação coronariana é rica em inervação simpática proveniente do gânglio estrelado, dos gânglios cervicais superior e médio e de alguns gânglios torácicos do tronco simpático (Mandarim, 1990), que se distribui ao longo dos vasos coronarianos no epicárdio. A inervação parassimpática também é densa e é composta de ramos derivados do nervo vago que emergem da base do coração e se espalham tanto pela superfície do epicárdio como para regiões do subendocárdio (Mandarim, 1990). Os efeitos diretos da ativação simpática sobre a circulação coronariana incluem: *a)* vasoconstricção mediada pela ativação dos receptores α_1 e α_2 adrenérgicos no músculo liso vascular; *b)* vasodilatação mediada pelo endotélio por liberação de NO e por ativação dos receptores α_2 adrenérgicos; *c)* inibição da liberação de noradrenalina mediada por receptores α_2 adrenérgicos; e *d)* efeito vasodilatador direto por ativação dos receptores β_1 e β_2 . O acúmulo desses diferentes efeitos leva a uma vasoconstricção moderada da circulação coronariana (Segal, 2003).

A estimulação vagal com conseqüente aumento do tônus parassimpático sobre o coração leva à dilatação coronariana (Dhein, 2001) Este efeito é mediado pelos receptores muscarínicos no endotélio coronariano íntegro. De fato, na presença de um endotélio progressivamente disfuncional, a dilatação coronariana em resposta à administração exógena de acetilcolina é perdida. Mais ainda, quando existe lesão endotelial, ocorre vasoconstricção coronariana pela ação direta da acetilcolina sobre o músculo liso vascular (Dhein, 2001; Vanhoutte, 2003).

O SNA é capaz de gerar respostas adaptativas para a proteção do coração em condições de isquemia associada hiperatividade simpática e, assim, reduzir a incidência de complicações cardiovasculares. As respostas adaptativas mais conhecidas são: *a)* autoinibição da liberação de noradrenalina via ativação de receptores pré-sinápticos, α_2 -adrenérgicos, via retro-alimentação negativa; *b)* a adenosina formada no miocárdio também inibe a exocitose de noradrenalina pela estimulação de receptores inibitórios pré-sinápticos do tipo A_1 ; *c)* internalização de receptores β_1 -adrenérgicos, desacoplando-os da proteína Gs estimulatória e do sistema efetor adenilato ciclase; *d)* desensibilização de receptores α_1 -adrenérgicos; *e)* aumento da síntese de proteínas Gi inibitórias por via dependente de AMPc; *f)* redução da concentração de noradrenalina na fenda sináptica via recaptação neuronal, que é o principal mecanismo de proteção em períodos curtos (<10min) de isquemia do miocárdio (Kübler e Haass, 1996; Komaru, 2000). Em períodos de isquemia maiores, tais mecanismos se tornam inoperantes e a hiperatividade simpática passa a ser deletéria.

2.3 O sistema nervoso central e a regulação cardiovascular

O papel do SNC no controle da função cardiovascular é de fundamental importância na manutenção da homeostase do organismo. Estudos do final do século XIX já reconheciam a influência determinante do sistema nervoso central sobre o coração e os vasos sanguíneos (para revisão ver Alexander, 1946; Bard, 1960). O controle central da função cardiovascular ocorre pela atividade do SNA através de uma complexa rede de neurônios formada, principalmente, por neurônios pré e pós-ganglionares simpáticos e

parassimpáticos. Os níveis circulantes de catecolaminas também estão sujeitos ao controle do SNC através da atividade de neurônios simpáticos que inervam a medula da supra-renal, principal órgão responsável pela síntese e liberação periférica de catecolaminas.

A partir do desenvolvimento de técnicas bioquímicas e eletrofisiológicas foi possível identificar grupos de neurônios, vias neurais específicas e neurotransmissores, envolvidos no controle do sistema cardiovascular. Os principais neurotransmissores envolvidos na regulação central cardiovascular são: *a*) catecolaminas e serotonina (aminas biogênicas); *b*) glutamato e aspartato (aminoácidos excitatórios); *c*) ácido gama-aminobutírico (GABA) e glicina (aminoácidos inibitórios); *d*) acetilcolina; *e*) e neuropeptídeos como as angiotensinas, neuropeptídeo Y, substância P, vasopressina, adenosina, NO, colecistocinina e encefalinas (para revisão ver Chalmers e Pilowsky, 1992, Sun, 1995).

A regulação central do sistema cardiovascular é organizada basicamente em dois níveis: o bulbar e o límbico-hipotalâmico.

2.3.1 Nível bulbar de regulação

Os neurônios bulbo-espinhais controlam a atividade dos neurônios simpáticos pré-ganglionares, cujos corpos celulares se encontram na coluna lateral da medula espinhal, entre a primeira vértebra torácica e terceira lombar. A partir da medula espinhal seu axônio alcança um nervo raquidiano através da raiz anterior, deixando-o pelo ramo comunicante branco e dirigindo-se para um gânglio da cadeia lateral do sistema simpático ou diretamente para a região medular da supra-renal. Nos gânglios simpáticos encontram-se os

corpos celulares dos neurônios pós-ganglionares que fornecem a inervação simpática para o coração e para a musculatura vascular lisa (Bard, 1960).

O bulbo raquidiano ou medula oblonga faz parte de um sistema de integração, que se origina no córtex cerebral e se estende pelo sistema límbico, hipotálamo, tronco cerebral e medula espinhal. Através dos quimio e pressorreceptores as informações provenientes dos sistemas cardiovascular e respiratório chegam ao bulbo principalmente através do núcleo do trato solitário (NTS). As informações de variação de pressão provenientes do arco aórtico (através do nervo vago) e do seio carotídeo (através do nervo glossofaríngeo), chegam à porção caudal do NTS (Lipski e col., 1972, Sessle, 1973) que apresenta papel determinante no controle reflexo da pressão arterial (Miura e Reis, 1972, Spyer, 1981). A ativação dos pressorreceptores, induzida pela distensão da parede arterial, leva a respostas adaptativas a partir do NTS que determinam a redução da atividade simpática e o aumento da atividade vagal. Ao contrário, a queda da pressão arterial leva ao aumento da atividade simpática, com conseqüente aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial.

A participação dos neurônios da porção rostral da região ventrolateral bulbar (*Rostral Ventrolateral Medulla* - RVLM) na regulação das funções autonômicas foi uma área de intensa investigação ao longo dos anos. A RVLM é a principal região bulbar responsável pela atividade vasomotora tônica, e corresponde, ao anteriormente denominado “centro vasomotor bulbar”. Diferentes estudos sugeriram que a RVLM tem uma participação vital na manutenção do tônus simpático basal (Sun, 1995). Já foi demonstrado que manobras inibitórias como: o resfriamento, a aplicação local de pentobarbital, GABA ou glicina reduzem a pressão arterial, enquanto manobras estimulatórias, elétricas ou

farmacológicas, induzem aumento da pressão arterial (Sun, 1995). Além de controlar o tônus vascular de maneira autônoma, a RVLM é um local de integração do controle reflexo da pressão arterial exercido pelos barorreceptores.

A porção caudal da região ventrolateral bulbar (*Caudal Ventrolateral Medulla- CVLM*), uma área entre os núcleos ambíguo e reticular lateral, é essencial para a inibição simpática do barorreflexo e a inibição tônica das descargas neurais simpáticas. A CVLM apresenta características funcionais praticamente opostas àquelas da RVLM, isto é, a ativação da CVLM induz redução da atividade simpática com conseqüente vasodilatação e redução da pressão arterial, enquanto sua inibição induz aumento da atividade simpática, levando a vasoconstrição e conseqüente aumento da pressão arterial. A atividade dos neurônios da CVLM é considerada essencial para a inibição da atividade simpática de origem central.

2.3.2 Nível límbico-hipotalâmico de regulação

Estudos clássicos de fisiologia cardiovascular sugerem o envolvimento do hipotálamo na regulação do débito cardíaco (Rushmer e Smith, 1959; Manning e Peiss, 1960). Posteriormente, esta hipótese foi confirmada pela observação de que a estimulação elétrica em certos núcleos hipotalâmicos induzia a uma resposta típica e integrada, com componentes cardiovasculares e comportamentais, chamada “reação de defesa” (Yardley e Hilton, 1986). A reação de defesa, também chamada de “reação de luta ou fuga” se caracteriza pelo aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca, vasoconstrição esplâncnica e renal, vasodilatação nos músculos estriados esqueléticos e inibição do

barorreflexo. A inibição do barorreflexo, como parte da reação de luta e fuga, é uma característica importante que demonstra o alto nível de integração desta resposta, pois visa evitar a redução reflexa da frequência cardíaca que tende a ocorrer quando há aumento da pressão arterial. A reação de defesa teve papel importante na evolução dos mamíferos, uma vez que ela rapidamente propicia condições para o organismo enfrentar os desafios do meio ambiente. A reação de defesa também está envolvida na resposta cardiovascular durante o exercício físico e/ou estresse emocional (Bandler e Carrive, 1988), pois são situações em que há aumento do tônus simpático como resposta adaptativa a estes estímulos.

O núcleo paraventricular hipotalâmico (NPV) também participa na regulação cardiovascular, e faz integração das funções neuroendócrinas e autonômicas (Swanson e Sawchenko, 1980 e 1983). O NPV recebe informações provenientes da medula ventrolateral e do locus ceruleus. O NPV envia projeções diretas aos neurônios pré-ganglionares simpáticos na medula espinhal, ao NTS, à RVLM, à substância cinzenta periaquedutal e ao complexo vagal dorsal, além do núcleo parabraquial e locus ceruleus (Swanson e Sawchenko, 1980; Sawchenko e Swanson 1982). No intuito de explorar o comportamento de núcleos específicos sobre os parâmetros hemodinâmicos, Tibiriçá e colaboradores (1993, 1995) e Monassier e colaboradores, (1994), demonstraram que a estimulação elétrica ou farmacológica do NPV em coelhos anestesiados induz aumentos nos parâmetros hemodinâmicos que são semelhantes àqueles observados durante o esforço físico e o estresse emocional. Essas respostas caracterizam-se por elevação da pressão arterial, da contratilidade cardíaca e dos índices clássicos de avaliação do consumo de oxigênio pelo miocárdio: frequência-pressão (duplo produto) e o triplo produto (duplo produto \times dp/dt_{max}).

Um aspecto interessante da regulação hipotalâmica sobre a atividade cardiovascular vistos nos estudos de Tibiriçá e colaboradores (1993) foi que a ativação seletiva de corpos

celulares neuronais do NPV, através da microinjeção direta de *L*-glutamato, resulta em efeitos inotrópicos positivos que não são acompanhadas de elevações significativas da pressão arterial. Estas observações sugerem que o NPV pode constituir um centro de regulação da força contrátil cardíaca e não simplesmente uma região de passagem de fibras nervosas provenientes de outros núcleos neuronais rostrais. Assim, de acordo com estes trabalhos, seria possível dissociar as vias neurais envolvidas, por um lado, na regulação do tônus vasomotor, e por outro lado, na modulação da força contrátil do miocárdio, sendo esta última via particularmente importante para a cardioproteção de origem central.

A área pré-óptica do hipotálamo anterior também está envolvida no controle da função cardiovascular e sua estimulação induz resposta cardiovascular depressora, ou seja, quando ativada, a área pré-óptica induz redução do tônus vasomotor simpático e o aumento da atividade vagal, com conseqüente redução da pressão arterial e da frequência cardíaca.

Outras regiões do hipotálamo envolvidas na regulação cardiovascular são as áreas hipotalâmica lateral e hipotalâmica posterior que quando estimuladas induzem a respostas pressoras ou depressoras, dependendo da região estimulada e podem ser acompanhadas de taquicardia ou bradicardia (Spencer e col., 1989, Evans, 1980, Ban 1966).

2.4 Cardiopatia isquêmica e o desequilíbrio autonômico

A cardiopatia isquêmica se manifesta clinicamente quando há um déficit, agudo ou crônico, entre a oferta e o consumo de oxigênio pelo miocárdio. As principais situações que

levam a esse desequilíbrio são: o esforço físico o estresse emocional. Nestas situações ocorre aumento do trabalho cardíaco e, conseqüentemente, maior consumo de oxigênio pelo miocárdio, o que, em indivíduos saudáveis, representa uma resposta fisiológica normal ao estresse (Deanfield e col., 1984 ; Weiner, 1991). Porém, em pacientes portadores de doença coronariana a isquemia pode ser desencadeada por inúmeras situações que vão desde conflitos interpessoais, humilhação pública e separação conjugal, até luto, falências, desemprego e pesadelos (Lown, 1987). Situações de estresse intensificam as descargas simpáticas de origem central, que aumentando a liberação periférica de catecolaminas, causam aumento da força contrátil do miocárdio, da frequência cardíaca e da pressão arterial, elevando o consumo de oxigênio pelo músculo cardíaco (Deanfield e col., 1984; Spechia e col., 1984).

O estresse emocional há muito tempo vêm sendo relacionado com a isquemia miocárdica e com a morte súbita cardíaca (Davis e Natelson, 1993; Lown, 1987; Parker e col., 1987).

No coração isquêmico há instabilidade na geração e, principalmente, na condução do impulso elétrico. Mudanças momentâneas nas propriedades excitáveis das células cardíacas, designados de fatores de risco transitórios, facilitam o aparecimento de arritmias. Esses fatores de risco também incluem as alterações da atividade neural sobre o coração (Lown, 1987). Esse aumento é mediado pelo SNA e se caracteriza pela redução do tônus vagal (Jiang e col., 1993; Schwartz e col., 1984) e aumento do tônus simpático (Deanfield e col., 1984; Freeman e col., 1987; Jiang e col., 1993; Lown, 1987; Parker e col., 1987; Schwartz e col., 1984; Spechia e col., 1984).

Em estudo que avaliou dados provenientes de pacientes que foram vítimas de morte súbita enquanto faziam monitorização ambulatorial da atividade cardíaca por

eletrocardiografia dinâmica (holter), foi demonstrado que em 86% dos casos a morte súbita cardíaca resulta de taquiarritmias ventriculares, principalmente fibrilação ventricular secundária à taquicardia ventricular (Bayes de Luna, 1989). Dados epidemiológicos apontam a doença coronariana como responsável por 80% das arritmias fatais (Myerburg e col., 1993) e o aumento da atividade simpática associada à isquemia como fatores que agem de maneira sinérgica para o desencadeamento de taquiarritmias (Davis e Natelson, 1993).

A estimulação cerebral pode diminuir o limiar arritmogênico do coração, o que pode induzir arritmias supra-ventriculares e ventriculares (Verrier e col., 1975). Em estudos experimentais, já foi demonstrado que em animais com isquemia miocárdica aguda, estímulos neuronais podem induzir arritmias graves (Lown, 1987). A estimulação elétrica de nervos cardíacos simpáticos periféricos, em especial do gânglio estrelado, também aumenta a susceptibilidade à fibrilação ventricular, não só no coração normal, mas principalmente, naquele com dano isquêmico (Lown e col., 1977; Malliani e col., 1980). Diversos tipos de estresse facilitam o aparecimento de fibrilação ventricular e, quando associados à isquemia, levam ao aumento da incidência de arritmias ventriculares potencialmente letais (Lown e col., 1973, 1977; Verrier e Lown, 1984).

A liberação periférica de catecolaminas, também depende da ativação central, o SNA desempenha um papel crucial no aumento dos níveis plasmáticos de catecolaminas, potencializando o aparecimento de arritmias e morte súbita (Davis e Natelson, 1993).

A modulação da atividade autonômica é de fundamental importância na terapêutica médica, principalmente no paciente portador de cardiopatia isquêmica submetido ao estresse anestésico-cirúrgico. Sabe-se que mesmo em pacientes não cardiopatas, a estimulação simpática causada pela laringoscopia e intubação orotraqueal pode induzir hipertensão, taquicardia e até arritmias (Bruder e col., 1992). Nos pacientes portadores de

doença coronariana, a incidência de isquemia do miocárdio durante a intubação orotraqueal chega próxima a 50% quando medidas preventivas não são tomadas antes da indução da anestesia (Kleinman e col., 1986).

A insuficiência coronariana é a principal causa de morbi-mortalidade durante o período peri-operatório em cirurgias eletivas (Mangano e col., 1990) e é, também, a principal causa de complicação anestésica que requer internação em unidade de tratamento intensivo (Barnes e Havill, 1980). Mais ainda, pacientes com história de hipertensão arterial, sabidamente apresentam grande labilidade pressórica durante a anestesia, assim como uma resposta hipertensiva exacerbada à intubação orotraqueal (Prys-Roberts, 1971 a, b). Essas situações são atribuídas ao aumento da atividade simpática (Quintin e col., 1996). Evidências recentes mostraram que a hiperatividade simpática favorece a gênese de taquiarritmias ventriculares e o seu controle tem efeitos protetores durante a isquemia aguda do miocárdio (Airaksinen, 1999). Além disto, o desequilíbrio autonômico agrava a isquemia miocárdica, levando à instabilidade elétrica do coração, o que irá contribuir significativamente para o aparecimento de arritmias (Billman e col., 1982, Vanoli e Schwartz, 1990). Conseqüentemente, a modulação farmacológica da atividade simpática com drogas que agem na periferia ou no SNC tem importante papel cardioprotetor principalmente em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica.

Porém, a participação do SNC, principalmente por alteração no equilíbrio autonômico e, conseqüentemente, na ocorrência de complicações em pacientes portadores de doença coronariana, tem sido negligenciada, pelo menos no que diz respeito ao desenvolvimento e utilização de drogas moduladoras do SNA. De fato, as drogas mais utilizadas clinicamente para o controle dos efeitos deletérios do aumento da atividade simpática central apresentam mecanismo de ação periférico, agindo direto sobre o coração

e/ou vasos sangüíneos (por exemplo, os antagonistas de canal de Ca^{++} e os β -bloqueadores). Essa estratégia terapêutica, de certa forma, significa tentar evitar as conseqüências deletérias do aumento da atividade simpática depois de disparado o processo no SNC. De fato, efeitos benéficos poderiam ser obtidos pela redução da atividade simpática no seu ponto de origem no SNC. Efetivamente, o bloqueio da hiperatividade simpática centralmente poderia prover uma perspectiva terapêutica interessante, permitindo inclusive o desenvolvimento de fármacos com efeitos antiisquêmicos de ação central (Tibiriçá e Lessa, 2005).

2.5 Anestesia e doença coronariana

Anestesiologistas freqüentemente são desafiados a administrar anestesia em pacientes portadores de doença coronariana, isto porque, com o aumento na expectativa de vida da população, é cada vez mais comum que pacientes com doença coronariana sejam submetidos a procedimentos cirúrgicos. Sabe-se que um a cada três pacientes com idade maior que 70 anos, são portadores de cardiopatia isquêmica (Brindle e col., 2002). Há mais de 20 anos a alta incidência de eventos isquêmicos no período peri-operatório, em pacientes de risco, tem sido relatada. Pacientes portadores de doença coronariana submetidos a cirurgias de grande porte, em especial cirurgia de revascularização do miocárdio, apresentam uma incidência de isquemia do miocárdio em torno de 75% durante a realização da cirurgia (Slogoff e Keats, 1985; Haggmark e col., 1989). Desta forma, a prevenção o diagnóstico e o tratamento precoce da isquemia peri-operatória devem ser os principais objetivos dos anestesiologistas que lidam com pacientes portadores de

cardiopatia isquêmica. Além disso, em função das graves complicações peri-operatórias da insuficiência coronariana, medidas farmacológicas que minimizem os danos isquêmicos ao miocárdio têm sido alvo importante para pesquisa nos últimos anos.

Novas técnicas anestésicas juntamente com o desenvolvimento de agentes anestésicos cada vez mais eficazes e seguros possibilitaram um grande avanço da anestesiologia, tornando viável a realização de cirurgias de alto grau de complexidade. Tais avanços beneficiaram não somente os procedimentos simples, mas principalmente as cirurgias de grande porte, como, por exemplo, cirurgias cardíaca e torácica, onde o trauma cirúrgico e as alterações fisiológicas impostas por tais intervenções podem levar a um desequilíbrio da atividade do SNA, interferindo no balanço simpato-vagal, com aumento da atividade simpática, com conseqüente liberação periférica de catecolaminas.

As complicações cardiovasculares são a principal causa de morte durante e imediatamente após a anestesia (Mangano, 1989; Mangano e col., 1990, Mangano 1994) e a principal causa de complicações anestésicas que requerem internação em unidade de tratamento intensivo no pós-operatório imediato (Barnes e Havill, 1980). A hiperatividade simpática, por sua vez, está diretamente relacionada à ocorrência dessas complicações. Assim, o aumento da atividade simpática durante o ato anestésico-cirúrgico, principalmente em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica, aumenta a incidência de complicações cardiovasculares peri-operatórias tais como IAM, edema agudo de pulmão, disfunção ventricular esquerda e arritmias (Skinner, 1993)

Em pacientes portadores de cardiopatia isquêmica submetidos à anestesia, o aparecimento de arritmias, uma vez afastada a possibilidade de problemas relacionados ao plano anestésico e à ventilação pulmonar, leva a uma forte suspeição da ocorrência de insuficiência coronariana peri-operatória. As arritmias de origem ventricular são situações

graves que necessitam intervenção urgente, uma vez que estas podem rapidamente evoluir para taquicardia e fibrilação ventriculares, sendo esta última a responsável por 85% dos casos de parada cardíaca (Cobb e col., 1980). Estudos clínicos (Varrier, 1986) demonstraram que a incidência de fibrilação ventricular pode ser reduzida pela modulação da atividade simpática sobre o coração e pelo aumento do tônus vagal, e que agentes farmacológicos, como a morfina e seus derivados, e a clonidina, que favorecem este padrão de regulação autonômica, protegem o coração contra a ocorrência de fibrilação ventricular.

De modo diferente das drogas usualmente utilizadas em cardiologia, as drogas utilizadas em anestesia visam reduzir o metabolismo e a atividade elétrica do SNC, o que diminui ou até bloqueia as descargas simpáticas de origem central. Como a manutenção da função cardiovascular depende em parte do funcionamento harmonioso do SNA, é possível perceber que as drogas anestésicas não visam o bloqueio da atividade simpática, mas sim sua modulação, evitando deste modo que o trauma anestésico-cirúrgico leve a situações de hiperatividade simpática, e conseqüentemente a efeitos deletérios sobre o sistema cardiovascular.

2.5.1 Anestesia e cardioproteção

As propriedades cardioprotetoras das drogas anestésicas têm sido um alvo promissor dentro da pesquisa biomédica desde o início da década de 80. Os estudos de Freedman e colaboradores, em 1985, já mostravam que o enflurano era capaz de prevenir a disfunção ventricular pós-isquêmica em corações isolados de ratos submetidos a isquemia miocárdica global. A partir disso, os efeitos cardioprotetores dos anestésicos inalatórios contra a lesão de isquemia e reperfusão tem sido intensamente investigados em diversos

modelos experimentais. As evidências acumuladas ao longo desses últimos vinte anos sugerem que halotano, isoflurano e sevoflurano também possuem propriedades cardioprotetoras em diversos modelos de isquemia *in vivo* e *in vitro* (Kato R e col., 2002).

Os estudos para a investigação dos efeitos cardioprotetores dos opióides só começaram mais recentemente, quando Schultz e colaboradores, em 1995, mostraram que o pré-condicionamento isquêmico do miocárdio (PIM), fenômeno capaz de reduzir a lesão isquêmica do miocárdio (ver adiante), tem como um de seus mediadores os receptores opióides. Estes estudos levaram a descoberta que a morfina era capaz de proteger o coração contra o IAM por mecanismos relacionados ao PIM (Schultz e col., 1996).

É interessante notar que mais recentemente tem sido sugerida a existência de um sinergismo entre os agentes inalatórios e os opióides no efeito cardioprotetor relacionados a esses anestésicos. Estudos *in vivo* em ratos demonstraram que a cardioproteção, avaliada pela redução da área de infarto, é maior quando o isoflurano é associado com a morfina (Ludwig e col., 2003) ou com o agonista δ opióide TAN-67 (Patel e col., 2002), do que quando esses agentes são administrados isoladamente. Porém, os mecanismos precisos responsáveis pela cardioproteção conferida pelos anestésicos inalatórios e pelos agentes opióides, ainda não estão completamente esclarecidos. Portanto, uma melhor compreensão do papel dos anestésicos na prevenção, ou até mesmo no tratamento da isquemia do miocárdio, pode ajudar a definir estratégias farmacológicas que melhorem o manejo perioperatório e o prognóstico do paciente coronariopata submetido ao estresse anestésico-cirúrgico.

2.5.2 Agentes opióides

Os opióides têm sido utilizados no tratamento da dor por centenas de anos. A fonte do ópio, a substância bruta, e da morfina, um de seus constituintes purificado, é o “suco” (opus em grego) extraído da papoula *Papaver somniferum*. O ópio contém mais de 20 alcalóides. Em 1806, o farmacêutico alemão Sertuener isolou o que chamou “principio soporífico” do ópio, e em 1817 denominou-o de morfina (Figura 1), em referência a Morfeu o deus grego dos sonhos (Gutstein e Akil, 2003). O isolamento de outros alcalóides veio a seguir, e em meados do século XVII, o uso médico de alcalóides purificados ao invés do extrato bruto começou a difundir-se. A morfina foi amplamente utilizada para tratar soldados feridos durante a guerra civil americanal. Em 1869 Claude Bernard, fez a primeira descrição do uso da morfina como droga pré-anestésica (coda, 2003). Porém na ausência de relaxantes musculares e de assistência ventilatória apropriada, o uso de opióides ficou associado com alto risco de depressão respiratória e morte, limitando assim o seu uso clínico.



Figura 1: Fórmula química da morfina.

Com o advento da cirurgia cardíaca no final da década de 50, ocorreu o desenvolvimento da “anestesia opióide”. Houve então, a reintrodução do uso de opióide em altas doses como anestésico primário ou único. Lowenstein e colaboradores (1969) demonstraram que a administração venosa de altas doses de morfina (0,5 a 3,0 mg/kg) não alterava a dinâmica cardiovascular de pacientes sem doença cardíaca, e em muitos casos melhorava o status cardiovascular de pacientes portadores de doença valvular. Esses relatos incentivaram estudos adicionais para avaliar o uso de morfina e outros opióides como agente anestésico único em pacientes com disfunção cardíaca, submetidos a procedimentos cirúrgicos de grande porte (Arens e col., 1972; Stanley e col., 1973; Stoelting e col., 1975). Porém, efeitos indesejados como amnésia incompleta (Lowenstein, 1971), liberação de histamina (Thompson e walton, 1964) depressão respiratória pós-operatória prolongada (Bedford e wollman, 1975), maior necessidade de reposição volêmica (Stanley e col., 1973), hipotensão e até hipertensão (Arens e col., 1972) limitaram a utilização de altas doses de morfina como agente anestésico único. As restrições impostas pelos efeitos adversos da morfina, foram um grande incentivo ao desenvolvimento de drogas opióides sintéticas que apresentassem o potente efeito analgésico da morfina sem a sua alta incidência de efeitos adversos. Neste sentido, os derivados da fenilpiperidina foram desenvolvidos, tornando-se o fentanil e seus análogos os mais populares (Figura 2).

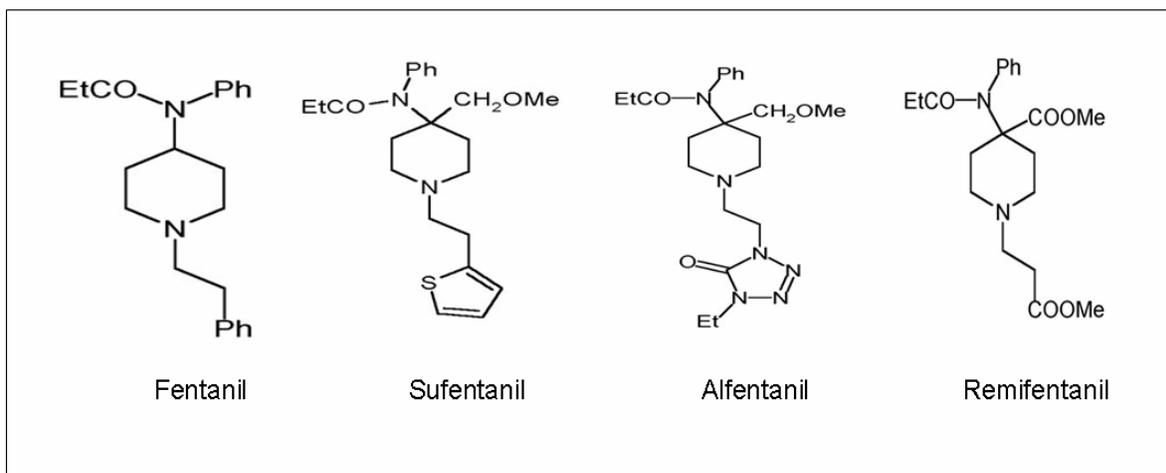


Figura 2: Fórmula química do fentanil e de seus análogos.

2.5.2.1 Receptores opióides

A idéia de múltiplos receptores pertencentes à família dos opióides é um conceito bem estabelecido, e vários subtipos para cada receptor opióide foram identificados (Lord e col., 1977; Miller, 1982; Paterson e col., 1983). Os três subtipos receptores opióides clássicos μ , k e δ foram identificados, isolados e clonados, permitindo a caracterização de suas seqüências de bases de nucleotídeos (Martin, 1983; Paterson e col., 1983; Dhawan e col., 1996). Os receptores opióides pertencem à família dos receptores ligados à proteína G, na qual seus receptores apresentam uma mesma estrutural geral: uma região aminoterminal extracelular, sete domínios transmembrana e uma estrutura carboxila-terminal intra-celular. Os ligantes endógenos para os receptores opióides são as encefalinas, as endorfinas, as dinorfinas, as endomorfina e as nociceptinas que são codificadas por genes separados. Estes peptídeos variam em sua afinidade pelos diferentes subtipos de receptor opióide, porém nenhum se liga exclusivamente a um subtipo.

Já foi demonstrado que a ação dos opióides sobre o SNA leva à redução da atividade simpática central, e conseqüente efeito sobre o sistema cardiovascular (Flake e col., 1983; Jurna e Rummel, 1984). Sabe-se, também, que regiões específicas do bulbo raquidiano, tais como o núcleo ambíguo e o RVLM, estão envolvidas nos efeitos inibitórios simpáticos da morfina e seus derivados (Laubie e Schimitt, 1983). Neste contexto, evidências clínicas mostraram que técnicas de anestesia com altas doses de opióides parecem reduzir a influência do sistema nervoso simpático sobre o sistema cardiovascular, porém aumentam o tempo de recuperação pós-anestésica, prolongando o período de internação, e assim, elevando os custos hospitalares.

Além da modulação autonômica, outro efeito cardioprotetor de origem central relacionado a morfina foi demonstrado recentemente no modelo de isquemia e reperfusão em ratos anestesiados (Groban e col, 2004). Neste estudo foi demonstrado que baixas doses de morfina, administradas centralmente por via intratecal (i.t.), são capazes de reduzir de maneira significativa a área de infarto em ratos anestesiados. Apesar desse estudo não ter investigado os mecanismos envolvidos neste efeito, seus autores sugeriram que a cardioproteção conferida pela administração i.t. de morfina também está relacionada com a redução da atividade simpática central.

Juntamente com os efeitos cardioprotetores de origem central, outro aspecto importante dos opióides é a possibilidade de conferir cardioproteção periféricamente, quer seja por ação nas células endoteliais levando a vasodilatação secundária a liberação de NO (Fimiani e col., 1999; Stefano e col., 1995), ou diretamente no miocárdio, protegendo o coração contra os insultos isquêmicos. Em 1986 Murry e colaboradores descreveram um fenômeno capaz de aumentar a resistência do miocárdio ao insulto isquêmico. Esse fenômeno foi denominado PIM, no qual breves períodos de oclusão coronariana seguidos de reperfusão são capazes de tornar o miocárdio mais resistente a um insulto isquêmico prolongado subsequente. O PIM é capaz de reduzir a área de necrose miocárdica e a taxa de depleção de ATP. Este fenômeno já foi demonstrado em várias espécies de mamíferos, incluindo porcos (Schott e col, 1990), coelhos (Liu e col, 1991), ratos (Liu e Downey, 1992), cães (Gross e Auchampach, 1992). Estudos mais recentes em pacientes sugeriram a possibilidade da ocorrência do PIM também em humanos (Tomai e col, 1994; Ottani e col, 1995).

A cardioproteção conferida pelo PIM pode ser separada em duas fases distintas, uma fase precoce que perdura de 30 minutos a 2 horas, dependendo da espécie, e uma fase de cardioproteção tardia que reaparece 12-24 horas mais tarde, e pode persistir por dias.

Entretanto, até 1995 não havia evidências do envolvimento dos receptores opióides no fenômeno de PIM, quando no mesmo ano Schultz e colaboradores demonstraram em ratos que o PIM tem participação dos receptores opióides, uma vez que os agonistas dos receptores opióides foram capazes de induzir o PIM, enquanto que antagonistas dos receptores opióides, como a naloxona, são capazes de prevenir ou até reverter a cardioproteção conferida pelo PIM. De maneira interessante a naloxona foi capaz de bloquear a cardioproteção induzida pelo PIM não só quando administrada antes, mas também após o PIM, sugerindo que a ativação dos receptores opióides serve não apenas como um fenômeno de inicialização do PIM, mas também como mediador de sua fase de memória (Schultz e Gross, 2001). Posteriormente, com a utilização de um derivado quaternário da naloxona que não atravessa a barreira hematoencefálica, foi demonstrado que o PIM é um fenômeno de origem periférica, possivelmente com a participação dos receptores opióides no miocárdio, sem a participação de receptores opióides centrais (Schultz e col, 1997; Chien e col 1999).

Desta forma, é razoável sugerir que a cardioproteção conferida pela administração sistêmica dos opióides envolva tanto mecanismos centrais, por modulação autonômica (prevenindo o aumento da atividade simpática), como mecanismos periféricos, possivelmente por mecanismos semelhantes ao PIM. Mais ainda, é possível que esses dois mecanismos atuem de maneira sinérgica no efeito cardioprotetor *in vivo* dos agentes opióides.

O fentanil é possivelmente o agente opióide mais utilizado em anestesia, tendo um potente efeito analgésico central, sem repercussões hemodinâmicas significativas. Porém, quando utilizado em altas doses pode ter efeitos indesejados tais como rigidez muscular, depressão respiratória e despertar prolongado, o que limita essa forma de utilização clínica da droga.

Já foi demonstrado que o fentanil possui efeitos cardioprotetores *in vitro*. Utilizando o modelo de coração isolado de coelho, o fentanil foi reduzir a lesão isquêmica (Kato e Foëx, 2000 a e b) após um período de 30 minutos de isquemia global do coração seguido de 120 minutos de reperfusão. Esses resultados sugerem que, de alguma forma, o fentanil, considerado um agonista μ clássico, atua sobre receptores opióides no coração aumentando a resistência do músculo cardíaco ao insulto isquêmico. É interessante perceber que o fentanil, apesar de sua maior afinidade pelos receptores μ , não é um ligante específico destes receptores, podendo também se ligar aos receptores κ e δ (Maguire e col, 1992; Cometta e col., 1992). Além disto, sabe-se que os subtipos de receptores opióide μ e δ possuem 58% de homologia em sua estrutura protéica (Reisine e Bell, 1993), e que o subtipo δ participa na proteção miocárdica mediada pelos receptores opióides (Benedict e col, 1999). Porém os efeitos cardioprotetores do fentanil em modelo de isquemia miocárdica regional *in vivo* (modelo que se aproxima mais das situações clínicas), e se estes possíveis efeitos de origem periférica ou central, ainda não foram claramente demonstrados.

Portanto, com base nos dados apresentados podemos concluir que a cardiopatia isquêmica, por sua alta morbi-mortalidade, é um sério problema de saúde pública, e que os pacientes portadores desta doença poderiam se beneficiar de abordagens terapêuticas que

objetivassem a redução do dano isquêmico no miocárdio (redução da área de infarto) e a modulação das descargas simpáticas sobre este coração isquêmico (redução da incidência de arritmias). Os agonistas dos receptores opióides tem um grande potencial de serem o protótipo deste tipo de tratamento, pois são capazes de apresentar efeito antiisquêmico por ação direta no miocárdio e efeito redutor da atividade simpática por ação central.

3 - OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Investigar os efeitos cardioprotetores do fentanil em diferentes modelos experimentais de isquemia do miocárdio associada a hiperatividade simpática de origem central.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Reproduzir o modelo de isquemia global induzida farmacologicamente pela associação do bloqueio da síntese de óxido nítrico com *L*-NAME e estimulação central com *L*-glutamato em coelhos anestesiados.

- Desenvolver um modelo experimental *in vivo* de hiperatividade simpática central em coelhos com isquemia do miocárdio regional por ligadura coronariana.

- Investigar os efeitos cardioprotetores induzidos por diferentes doses de fentanil (5, 10 e 50 µg/kg) administrado sistemicamente nestes modelos de isquemia miocárdica.

- Verificar se a cardioproteção conferida pelo tratamento com fentanil ocorre através de algum dos seguintes mecanismos isoladamente ou em combinação: preservação da função hemodinâmica, prevenção de arritmias e redução da área de infarto.

- Diferenciar os efeitos cardioprotetores de origem central e periférica induzidos pelo fentanil.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Nos experimentos do presente trabalho, foram utilizados animais provenientes do Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ. Os animais eram alojados no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica em estantes ventiladas (Alesco, Monte Mor, São Paulo, Brasil) em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$) e com controle dos ciclos claros/escuros de 12 horas. A água e ração *ad libitum* até o dia do experimento. Os procedimentos cirúrgicos, assim como os protocolos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Laboratório (CEUA – protocolo nº 0010-00) da FIOCRUZ e estão de acordo com o Guia para o Cuidado com Animais de Laboratório, do Instituto Nacional de Saúde do governo dos Estados Unidos da América (USA National Institute of Health Guide for the Care Laboratory Animals - NIH Publication No 85-23, revised 1996).

4.2 Procedimentos anestésico-cirúrgicos

Coelhos New Zealand (2,5 a 3,5 kg) eram anestesiados com 50 mg/kg de pentobarbital sódico a 3% administrado pela veia marginal da orelha. A manutenção da anestesia era feita através de infusão contínua de 15 mg/kg/h de pentobarbital sódico. Após tricotomia cervical anterior, a traquéia do animal era intubada via traqueostomia e colocação de uma cânula de polietileno. A ventilação artificial era feita em respirador

mecânico (Rodent Ventilator 7025, Ugo Basile, Varese – Itália), com fração inspirada de oxigênio de 0,21 (ar ambiente). Os parâmetros ventilatórios iniciais eram: volume corrente de 10 ml/kg e frequência respiratória de 25 irpm. O pH, pO₂ e a pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂) do sangue arterial (150 µl) eram monitorizados utilizando-se um aparelho de análise de gases sanguíneos (ABL™ 5, Radiometer Copenhagen, Dinamarca). As amostras de sangue arterial eram colhidas no início do período basal, e a partir de então a cada 40 minutos de experimento. Os parâmetros ventilatórios eram ajustados para manter o pH entre 7,40 e 7,50, a pO₂ acima de 100 mmHg e o pCO₂ entre 30 e 40 mmHg. O relaxamento neuromuscular era induzido com a administração i.v. de 1 mg/kg de brometo de pancurônio a fim de facilitar a ventilação mecânica. A temperatura corporal dos animais era mantida através da utilização de unidade homeotérmica (Harvard Apparatus, UK) que, com o uso de termômetro retal e colchão térmico, mantinha a temperatura retal do animal entre 38,0 e 38,5°C. Um cateter de polietileno era inserido na aorta abdominal via dissecação e cateterismo da artéria femoral direita. A pressão arterial era medida conectando-se o cateter de polietileno a um transdutor de pressão, e este acoplado a um amplificador. O acesso venoso era estabelecido pela dissecação e cateterismo da veia femoral direita. A hidratação venosa era feita com solução salina 0,9% em infusão contínua a 5 ml/kg/h.

4.3 Cateterismo ventricular esquerdo

Utilizando-se a incisão cervical a artéria carótida comum direita era dissecada e cuidadosamente separada do nervo vago. A porção cranial da artéria era ligada com fio cirúrgico, e após uma pequena incisão na parede da artéria, era feito o cateterismo do

ventrículo esquerdo (VE) utilizando-se uma sonda contendo em sua extremidade distal um micromanômetro de precisão de diâmetro 4F (Millar mikro-tip catheter model SPR-249, Millar instruments Inc., Texas, U.S.A.). Esse micromanômetro inserido no VE permite a monitorização da curva de pressão dentro desta cavidade, e a partir desta curva medir as pressões sistólica, diastólica inicial e diastólica final do VE, e calcular as velocidades máximas de aumento e queda da pressão no VE ($+dP/dt_{máx}$ e $-dP/dt_{máx}$, respectivamente). Os valores de $+dP/dt_{máx}$ e $-dP/dt_{máx}$ eram utilizados no presente estudo como índices para avaliar as variações de contratilidade e relaxamento do VE, respectivamente.

4.4 Monitorização da atividade elétrica do coração

A atividade elétrica cardíaca era monitorizada continuamente através de eletrocardiograma digital. Os eletrodos agulhados eram implantados no tecido subcutâneo, de tal forma a captar a atividade elétrica na derivação periférica DI. A calibração do ECG era realizada com um sinal de onda de pulso com amplitude de 1 mV. Os deslocamentos do segmento ST maiores que 0,2 mV e a inversão da onda T (indicadores semi-quantitativos de isquemia do miocárdio), assim como o número de complexos ventriculares prematuros (CVPs - extra-sístoles) e as arritmias eram registrados. As arritmias consideradas foram o bigeminismo (Figura 6) e a taquicardia ventricular (TV – Figuras 7) diagnosticada como uma seqüência de 5 ou mais complexos ventriculares prematuros.

Os registros hemodinâmicos e eletrocardiográficos foram digitalizados com uma frequência de coleta de 1 Hz e gravados em computador para posterior análise através do

programa *Heamodyn for Windows* (Hugo Sacks Elektronik, March-Hugstetten, Germany). Foram feitas medidas de frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistêmica sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM), pressão sistólica do VE (PSVE), pressão diastólica no final de VE (PdfVE), taxas máximas de aumento ($+dP/dt_{max}$) e queda ($-dP/dt_{max}$) da pressão do VE. O consumo de oxigênio pelo miocárdio foi avaliado por dois índices clássicos: *a*) duplo produto (DP), obtido pela multiplicação da FC pela PAS, e expresso em mmHg/batimentos/min; *b*), e o triplo produto (TP) obtido pela multiplicação do duplo produto pelo $+dP/dt_{max}$, e expresso em $mmHg^2$ /batimentos/min/segundo.

4.5 Injeções intracerebroventriculares

Após a realização dos procedimentos anestésico-cirúrgicos descritos acima, os animais eram posicionados em aparelho estereotáxico (Unimécanique, Epinay/Seine, França). Após exposição da calota craniana e tendo como referência o bregma, era realizada uma craniotomia, de acordo com as seguintes medidas esterotáxicas (Sawyer e col., 1954): 4,5 mm crânio-caudal e 8,0 mm lateral esquerda. A seguir, uma agulha hipodérmica (21G x 1,5mm), conectada a uma seringa de precisão de 100 μ l (Hamilton Bonaduz AG, Suíça) preenchida de solução salina, era posicionada no ventrículo lateral esquerdo através da craniotomia. O ventrículo lateral esquerdo, que neste ponto se encontra entre 7,0 e 6,0 mm de profundidade a partir da superfície da craniana, tinha sua correta posição identificada pela descida da coluna de solução salina da seringa Hamilton. Uma vez estando a agulha na posição correta, não se modificava o posicionamento da agulha, nem se

manipulava o animal, nos experimentos de isquemia induzida farmacologicamente (protocolo I)

Nos animais submetidos à isquemia regional (protocolo II), nos quais era feita toracotomia esquerda para realização de ligadura coronariana (vide abaixo), os animais não permaneciam no aparelho de estereotaxia. Nesses experimentos, para permitir a administração intracerebroventricular (i.c.v.) de drogas mesmo estando o animal em decúbito dorsal, a fixação da agulha era feita da seguinte forma: após confirmação da posição pela descida da coluna solução salina em seringa Hamilton, a agulha era fixada no crânio do animal com cimento odontológico. Após a secagem do cimento o animal era colocado numa mesa cirúrgica especialmente desenvolvida para este protocolo experimental, e a agulha era conectada, através de um cateter de polietileno de volume desprezível, a outra seringa Hamilton de 100 µl já contendo a droga a ser administrada.

Ao final de cada experimento era injetado azul de Evans, e através de exame macroscópico do cérebro *post mortem*, era feita a confirmação da localização e da difusão apropriada da injeção.

4.6 Isquemia miocárdica

4.6.1 Isquemia miocárdica global

A isquemia do miocárdio neste modelo foi induzida farmacologicamente pela associação do N(omega)-nitro-*L*-arginina metil ester (*L*-NAME - 40 mg/kg) com o *L*-glutamato (1

mg/kg i.c.v.). Sabe-se que o *L*-NAME é um inibidor seletivo da enzima óxido nítrico sintase (NOS), que por sua vez é responsável pela produção de NO na célula endotelial vascular a partir da transformação enzimática de *L*-arginina em *L*-citrulina e NO. Sabe-se também que o *L*-glutamato é o principal neurotransmissor excitatório SNC.

4.6.2 Isquemia miocárdica regional

Após a colocação na mesa cirúrgica, era realizada uma toracotomia esquerda no quarto ou quinto espaço intercostal, as costelas eram afastadas, o que permitia a visualização do saco pericárdico que era cuidadosamente dissecado, permitindo a visualização dos vasos no epicárdio. Um fio cirúrgico vicril 7.0 era utilizado para tracionar o átrio esquerdo e permitir a visualização da emergência da veia coronária descendente anterior que era a referencia para a ligadura coronariana. Um fio cirúrgico mononylon 6.0 era passado profundamente no miocárdio em torno da veia descendente anterior. Com a ajuda de uma cânula de polietileno e pinça hemostática, era criado um dispositivo que servia para induzir isquemia ao se comprimir a cânula contra o miocárdio e prender o fio com a pinça hemostática, e permitir a reperfusão soltando-se a pinça. Esse procedimento vai gerar uma área de isquemia (área sob risco) com uma área de infarto central (figura 3).

ÁREA NORMAL

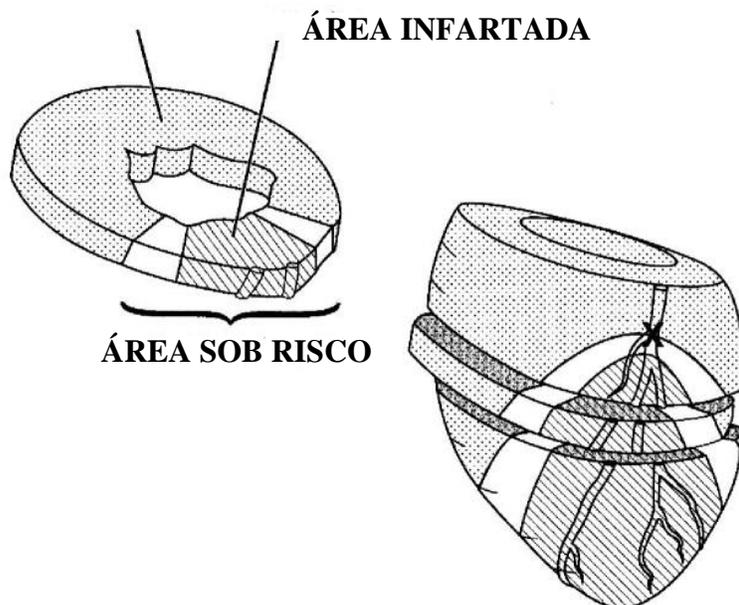


Figura 3: Representação esquemática dos efeitos da ligadura coronariana.

4.6.2.1 Determinação da área de isquemia e de infarto

Ao término do período de reperfusão, eram administrados 100 UI de heparina i.v., e o coração era rapidamente retirado do animal e colocado, através da aorta ascendente, num sistema de perfusão retrógrada não recirculante com solução fisiológica aquecida a 37° C. Após a retirada todo o sangue residual do coração, a oclusão coronariana era refeita e iniciada uma infusão de 3 ml de solução de azul de Evans 1% durante 5 minutos. Esse procedimento possibilita a identificação da área normal (corada de azul) da área isquêmica (não corada). Posteriormente, a área de infarto dos corações foi medida por técnica de coloração histoquímica utilizando-se o cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), da seguinte forma: cada coração era colocado em recipiente fechado e guardado em freezer a -20°C por 2 horas. Este procedimento era realizado para aumentar a consistência do tecido cardíaco e facilitar a realização dos cortes. Eram feitos então cortes transversais de aproximadamente

2 mm e colocados, por um período de 20 minutos, em solução tamponada (pH 7.4) de TTC a 1% aquecida a 37°C. Esse procedimento permite a coloração de vermelho escuro das áreas viáveis e a área necrótica permanece pálida. O TTC reage com o NADH e as enzimas desidrogenases presentes nos tecidos viáveis, esta reação leva ao aparecimento de uma coloração vermelha escura. Por outro lado, durante a reperfusão ocorre o “washout” da região isquêmica, o que leva a retirada do NADH e das enzimas desidrogenases das células necróticas, o que faz com que não haja a reação química, e conseqüentemente a coloração na área infartada, que permanece pálida. Após a coloração os cortes eram imersos em solução de formol a 10% durante 30 minutos para permitir o maior contraste entre as diferentes regiões. Os cortes eram colocados em uma mesa de acrílico e comprimidos por um tampo de vidro a fim de uniformizar a espessura de 2 mm dos cortes (Ytrehus, 1994). Em seguida os cortes eram individualmente fotografados com uma câmera digital Nikon Coopix 5000 (Nikon, Japão). As imagens eram arquivadas para posterior análise pelo programa Image J (Image J 1.29, National Institute of Health, USA). As áreas do VE, de infarto e sob risco foram determinadas por planimetria. A área infartada foi expressa pela razão da área sob risco e da área de VE.

4.7 Indução da hiperatividade simpática de origem central

Para a indução da hiperatividade simpática de origem central foi utilizada uma técnica de estimulação farmacológica do SNC desenvolvida em nosso laboratório, que consiste na administração i.c.v. de *L*-glutamato (10 µmol). Resultados anteriores do laboratório demonstraram que a injeção i.c.v. de *L*-glutamato induz respostas hemodinâmicas

excitatórias mediadas pelo sistema nervoso simpático (Tibiriçá e col., 1995; Grabe-Guimarães e col., 1999; Catelli e col., 2000). Essas respostas, que se assemelham àquelas que ocorrem durante o exercício físico e o estresse emocional, se caracterizam basicamente por aumentos significativos de pressão arterial e da força contrátil do miocárdio, resultando em aumentos marcados do consumo de oxigênio pelo miocárdio.

4.8 Drogas

As drogas utilizadas neste estudo: pentobarbital sódico, brometo de pancurônio, N^o-nitro-*L*-arginina metil éster (*L*-NAME), *L*-glutamato, fentanil, naloxona, iodeto de N-metil naloxona (naloxona quaternária), trifeninil tetrazólio (TTC), azul de Evans foram adquiridas da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

4.9 Análise estatística

Os dados hemodinâmicos e histológicos foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) seguida do teste Newman-Keuls-Student para a determinação das diferenças significativas, com $P < 0,05$. Para a análise das PVCs foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn. As análises qualitativas, tais como avaliação da incidência de arritmias cardíacas, alteração do segmento ST, inversão de onda T e mortalidade foram realizadas pelo teste exato de Fisher.

Todos os cálculos estatísticos foram realizados com programas de computador disponíveis comercialmente (Microsoft[®] 2003 Office Excel, Microsoft Corporation, CA, USA; Graphpad Instat, Graphpad Software, San Diego, CA, USA).

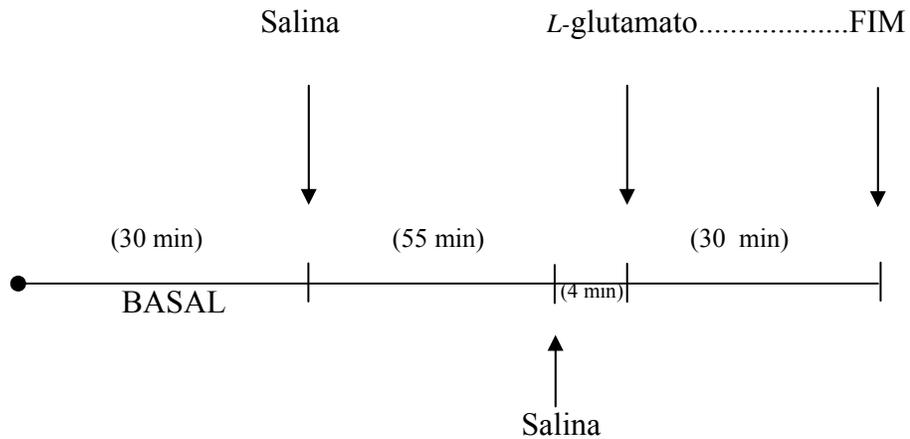
5 - PROCOLOS EXPERIMENTAIS

5.1 Protocolo experimental de indução de isquemia farmacológica (protocolo I)

5.1.1 Controle I (CTL I): Animais submetidos à hiperatividade simpática de origem central sem pré-tratamento com *L*-NAME e sem tratamento com fentanil:

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Cálculo dos índices de consumo de oxigênio pelo miocárdio.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos.

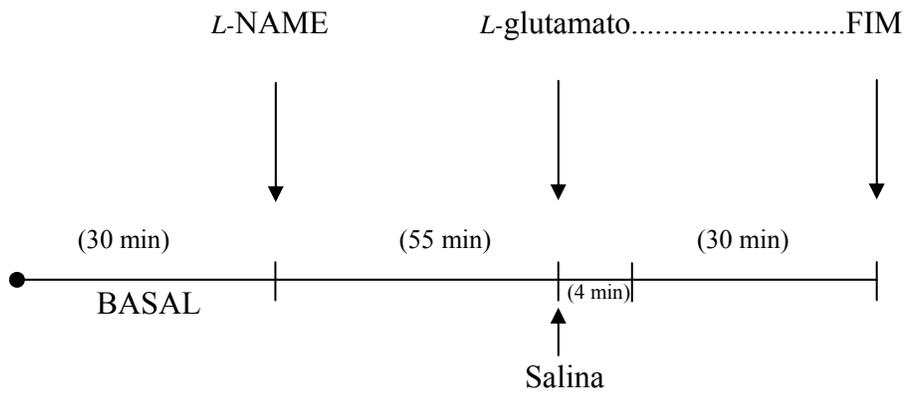
Representação esquemática



5.1.2 Controle II (CTL II): Animais submetidos à hiperatividade simpática de origem central com pré-tratamento com *L*-NAME e sem tratamento com fentanil,

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Cálculo dos índices de consumo de oxigênio pelo miocárdio.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos

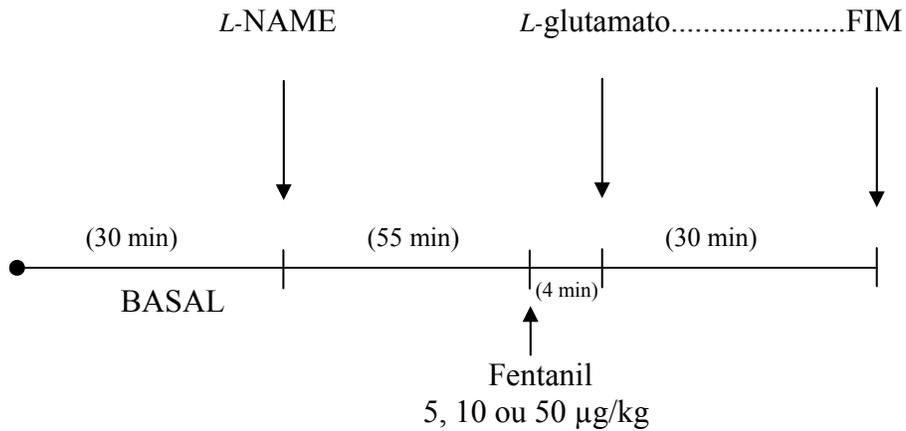
Representação esquemática



5.1.3 Fentanil (FENT): Três grupos distintos de animais submetidos à hiperatividade simpática de origem central com pré-tratamento com *L*-NAME e com tratamento com diferentes doses de fentanil (5, 10 e 50 µg/kg, i.v.):

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Cálculo dos índices de consumo de oxigênio pelo miocárdio.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos

Representação esquemática

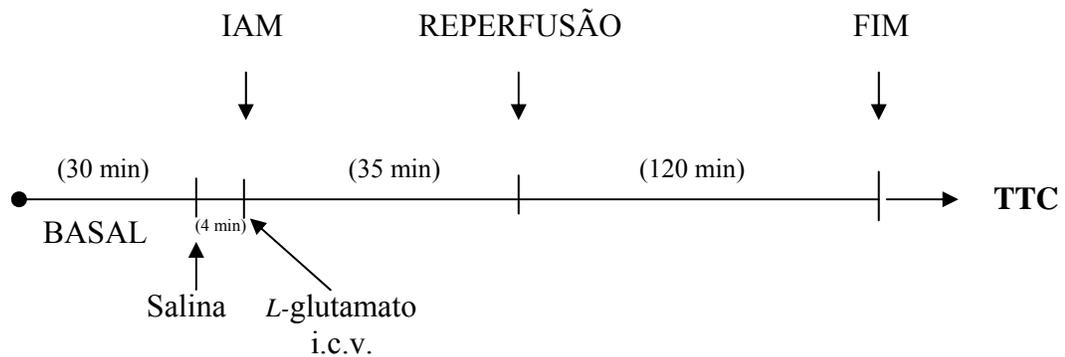


**5.2 Protocolos experimentais de indução de isquemia por ligadura coronariana
(protocolo II)**

5.2.1 Controle (CTL): Animais sem pré-tratamento com fentanil e submetidos à isquemia miocárdica por ligadura coronariana associada à hiperatividade simpática de origem central e posterior reperfusão miocárdica:

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos.
- Determinação das áreas de isquemia e de infarto (TTC).

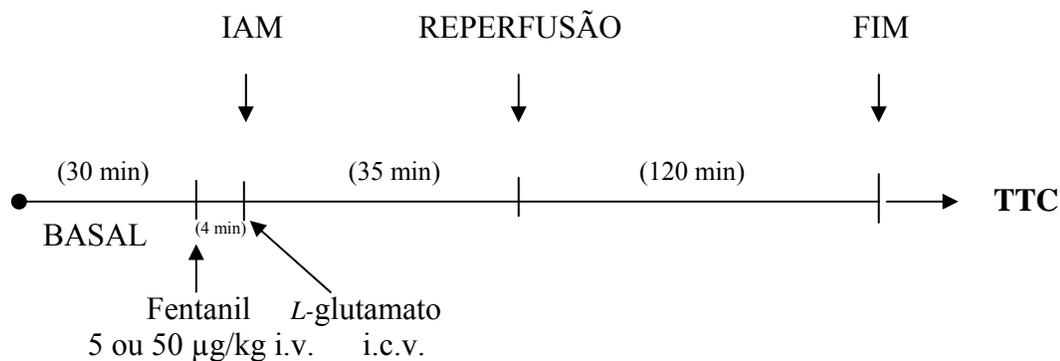
Representação esquemática



5.2.2 Fentanil (FENT): Dois grupos distintos de animais tratados com fentanil (5 e 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) e submetidos à isquemia miocárdica por ligadura coronariana associada à hiperatividade simpática de origem central e posterior reperfusão miocárdica:

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos
- Determinação das áreas isquêmica e infartada (TTC).

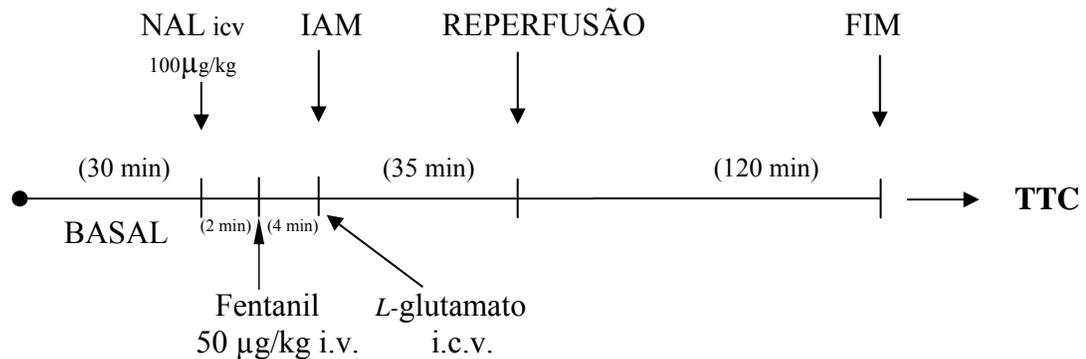
Representação esquemática



5.2.3 Naloxona i.c.v (Nal i.c.v. + FENT): Animais com antagonismo central dos receptores opióides pelo pré-tratamento com naloxona (100 µg/kg i.c.v. + 50 µg/kg a cada 20 minutos) seguido do tratamento com fentanil (50 µg/kg i.v.) submetidos à isquemia miocárdica por ligadura coronariana associada à hiperatividade simpática de origem central e posterior reperfusão miocárdica:

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos
- Determinação das áreas isquêmica e infartada (TTC).

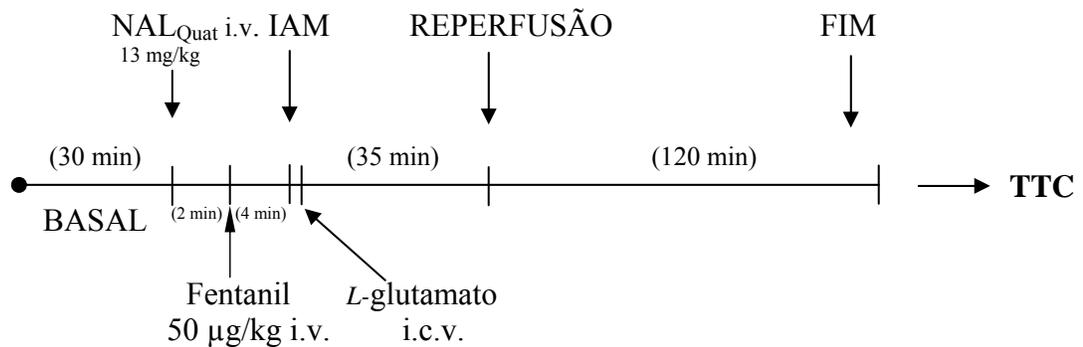
Representação esquemática



5.2.4 Naloxona quaternária i.v. (NAL_{Quat} i.v. + FENT): Animais com antagonismo periférico dos receptores opióides pelo pré-tratamento com Naloxona quaternária (13 mg/kg i.v. + infusão contínua de 50 mg/kg/h i.v.) seguido do tratamento com fentanil (50 µg/kg i.v.) submetidos à isquemia miocárdica por ligadura coronariana associada à hiperatividade simpática de origem central e posterior reperfusão miocárdica:

- Monitorização dos parâmetros hemodinâmicos.
- Análise dos padrões eletrocardiográficos
- Determinação das áreas isquêmica e infartada (TTC).

Representação esquemática



6 - Resultados

6.1 Padrões eletrocardiográficos

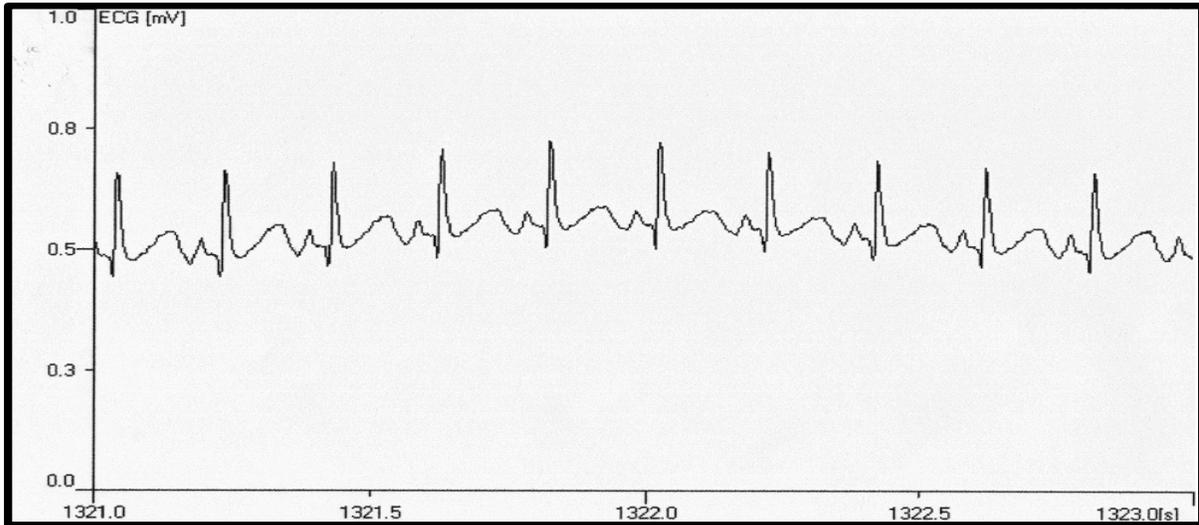


Figura 4: Representação de um ECG normal de coelhos anestesiados.

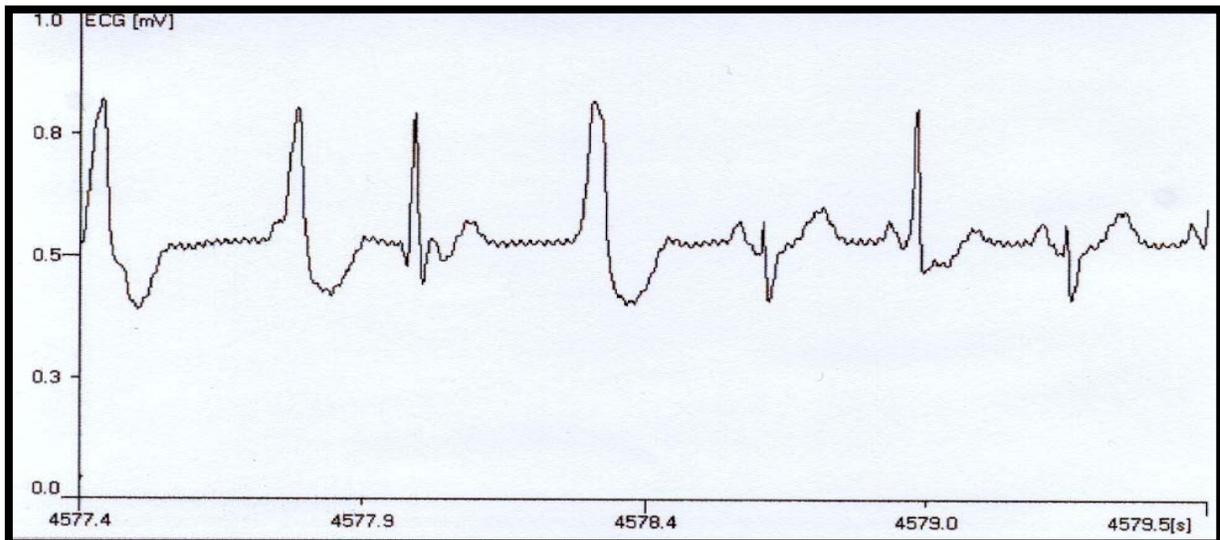


Figura 5: Representação de um ECG, onde se verifica a ocorrência de extra-sístoles ventriculares.

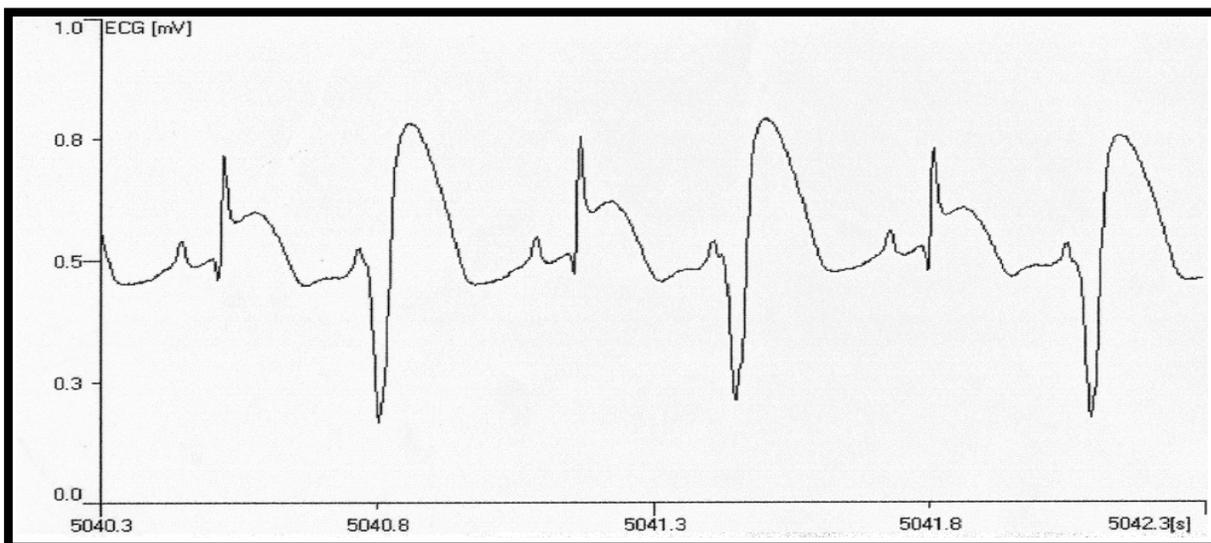


Figura 6: Representação de um ECG, onde se verifica a ocorrência de bigeminismo e supradesnivelamento do segmento ST.

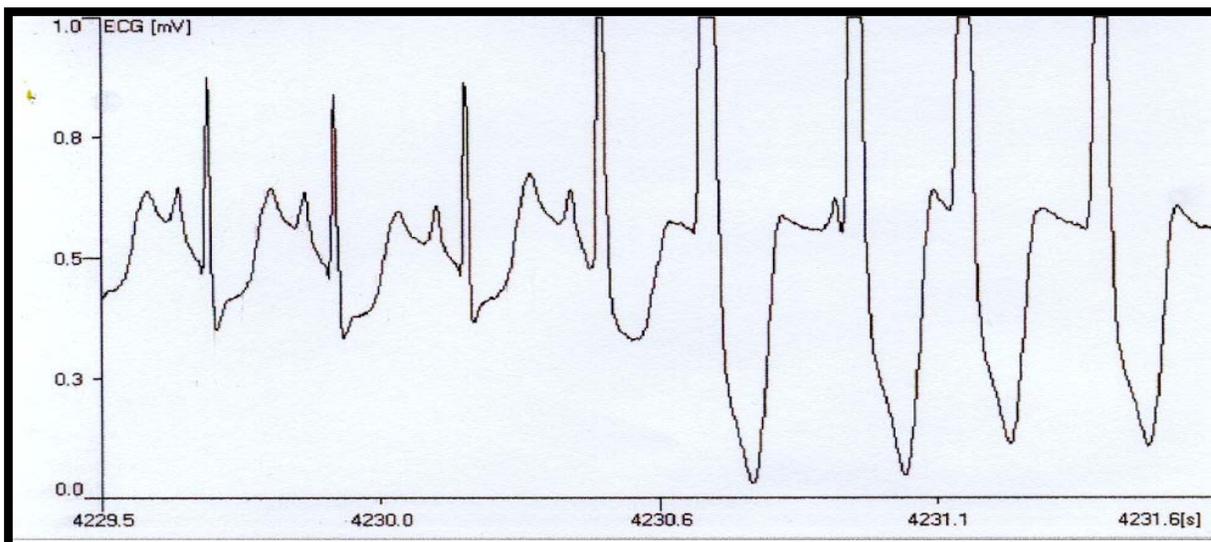


Figura 7: Representação de um ECG, onde se verifica a evolução de um ritmo sinusal, com infradesnivelamento do segmento ST, para taquicardia ventricular.

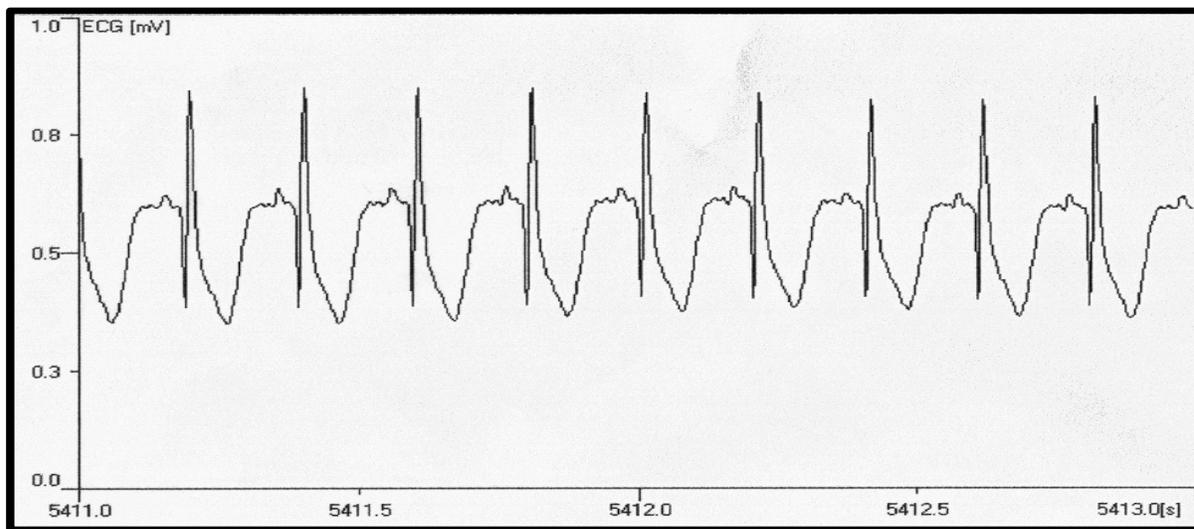


Figura 8: Representação de um ECG, onde se verifica a inversão da onda T.

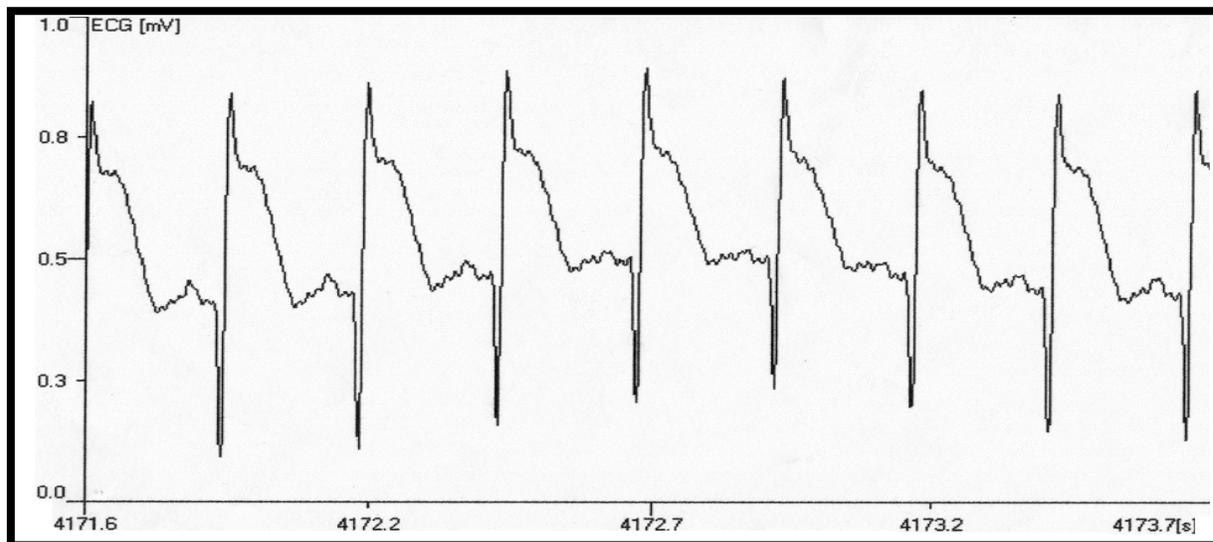


Figura 9: Representação de um ECG, onde se verifica a ocorrência de supradesnivelamento do segmento ST.

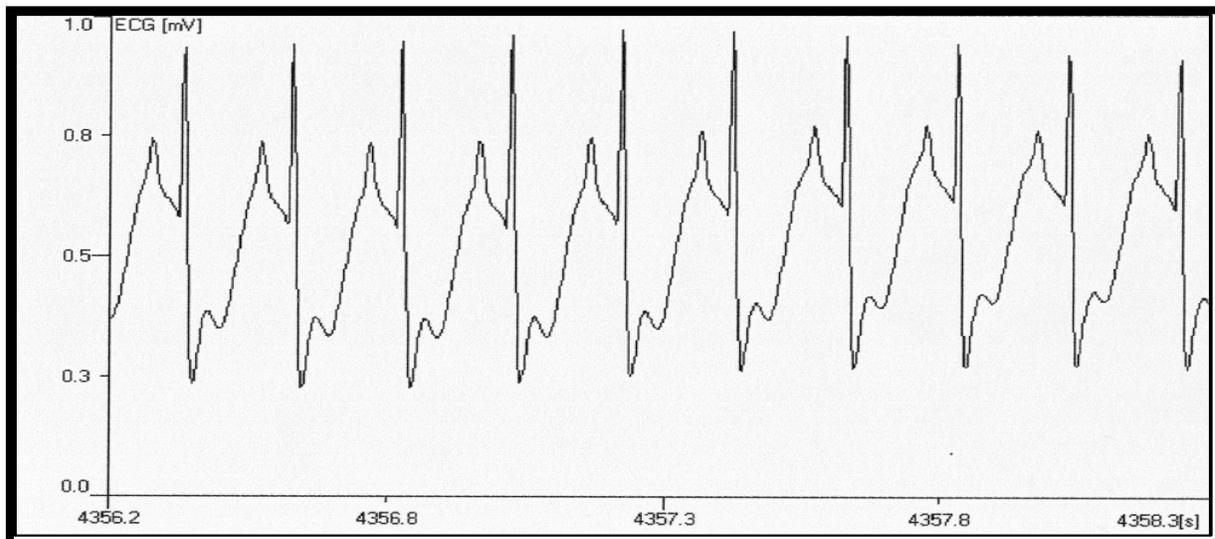


Figura 10: Representação de um ECG, onde se verifica a ocorrência de infradesnivelamento do segmento ST.

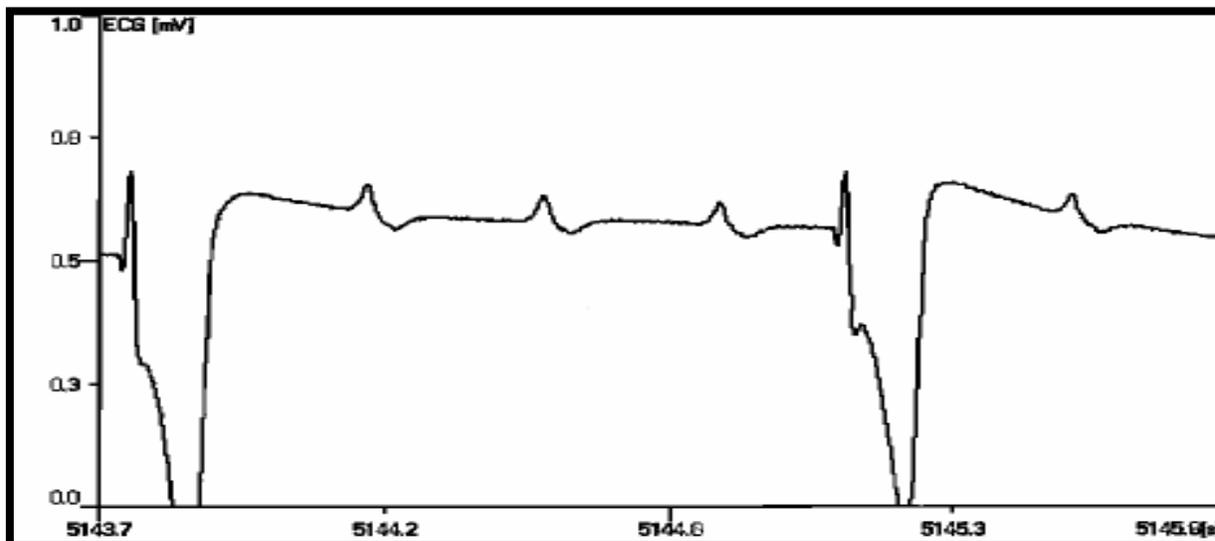


Figura 11: Representação de um ECG, onde se verifica a ocorrência de dissociação átrio-ventricular.

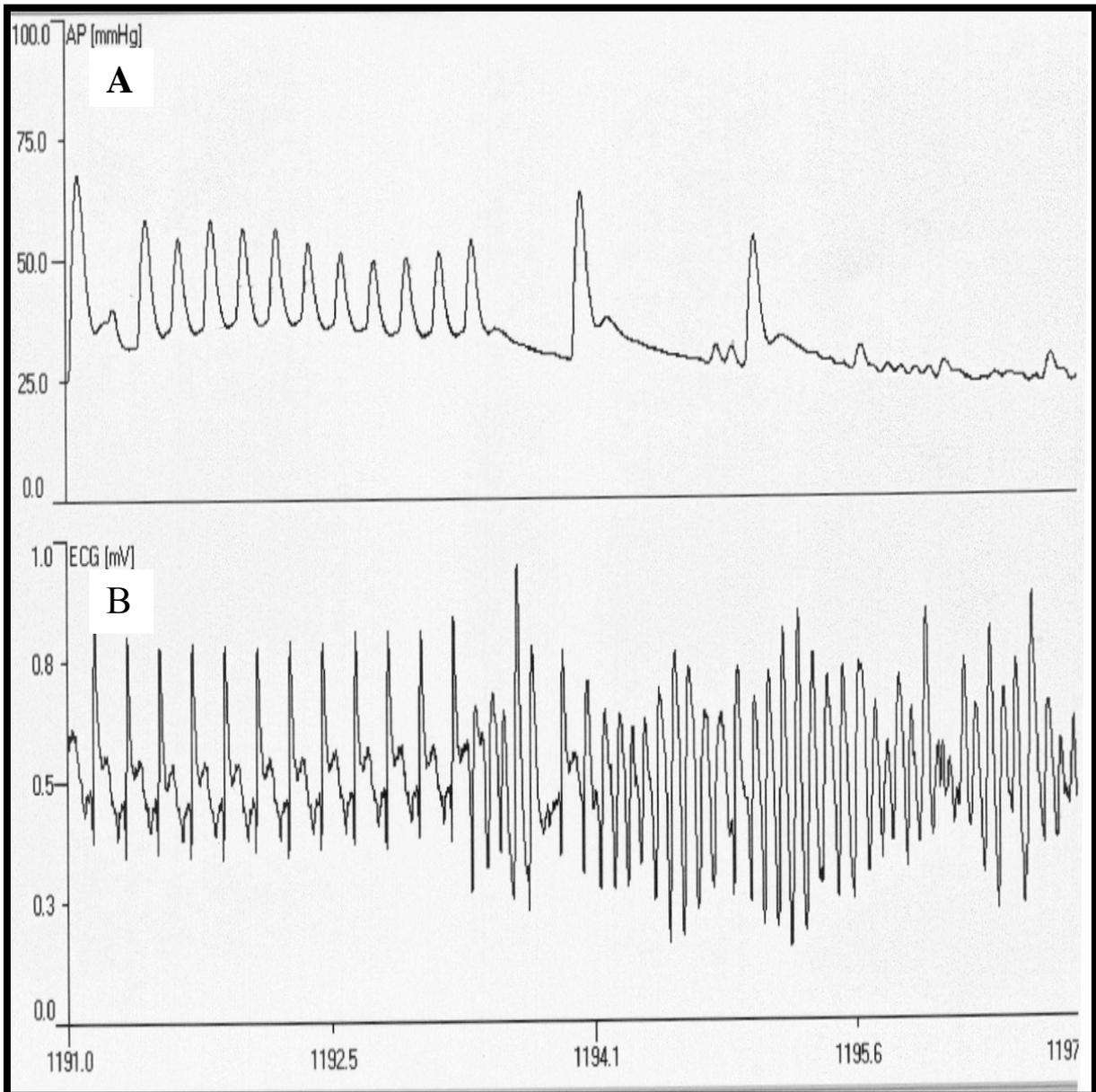


Figura 12: Representação da curva de pressão arterial (A) e do ECG (B). No ECG inicialmente verifica-se o supradesnivelamento do segmento ST e em seguida a evolução para fibrilação ventricular com o respectivo colapso cardiovascular.

6.2 Estudo da isquemia miocárdica induzida farmacologicamente (protocolo I)*Parâmetros hemodinâmicos**Valores basais e a administração de salina i.v.*

Não houve diferenças estatisticamente significativas nas médias dos parâmetros hemodinâmicos no período basal entre diferentes grupos experimentais, ($P > 0,05$, $n=52$)(tabela 1). A administração de solução salina (2 ml, i.v.) não induziu alterações significativas nos parâmetros hemodinâmicos em nenhum momento ao longo dos experimentos ($P > 0,05$).

Efeitos do pré-tratamento com L-NAME i.v.

O pré-tratamento com *L-NAME* (40 mg/kg i.v.) em coelhos induziu elevações moderadas, porém estatisticamente significativas na PAM em todos os grupos experimentais, esta resposta hipertensiva foi acompanhada de reduções também significativas do $+dP/dt_{max}$ em todos os grupos experimentais (Tabela 1). O tratamento com *L-NAME* também induziu queda na FC em todos os grupos, porém esta redução só alcançou significância estatística no grupo tratado com fentanil 10 μ g/kg (Tabela 1). O DP e o TP não foram modificados pelo pré-tratamento com *L-NAME* (Tabela 1).

Efeitos do tratamento com fentanil i.v.

A administração de fentanil, nas doses estudadas neste trabalho, não induziu alterações significativas nos parâmetros hemodinâmicos. A única exceção foi uma redução de 15%

($P < 0,05$) do índice de $+dP/dt_{max}$, o que resultou numa queda de 27% ($P < 0,05$) do triplo produto no grupo tratado com fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (tabela 1).

Efeitos da administração de L-glutamato i.c.v.

Não houve diferenças estatisticamente significativas nas respostas hemodinâmicas induzidas pela administração i.c.v. de L-glutamato entre os grupos tratados (CTL II) ou não (CTL I) com L-NAME (ver abaixo).

No grupo controle (CTL II) o L-glutamato administrado i.c.v. induziu elevações significativas do $+dP/dt_{max}$ que alcançou um máximo de $32 \pm 5\%$ ($P < 0,05$). Neste grupo os aumentos máximos da PAM, duplo produto e triplo produto foram de $30 \pm 7\%$, $24 \pm 4\%$ e $64 \pm 11\%$ ($P < 0,05$), respectivamente. Nos grupos tratados com fentanil nas doses de 5, 10 e 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o L-glutamato também induziu aumentos significativos de $+dP/dt_{max}$, que alcançaram uma elevação máxima de $36 \pm 9\%$, $31 \pm 7\%$ e $28 \pm 10\%$ ($P < 0,05$), respectivamente. As elevações máximas de PAM foram de $28 \pm 6\%$, $31 \pm 5\%$ e $33 \pm 6\%$ ($P < 0,05$), respectivamente. O aumento máximo no DP foi de $26 \pm 7\%$, $27 \pm 10\%$ ($P < 0,05$) e $17 \pm 7\%$ ($P > 0,05$), respectivamente. A elevação máxima do triplo produto foi de $71 \pm 15\%$, $66 \pm 20\%$ e $47 \pm 12\%$ ($P < 0,05$), respectivamente. Não houve variação significativa entre os diferentes grupos em relação à FC (tabela 1).

Parâmetros eletrocardiográficos

Efeitos do pré-tratamento com L-NAME i.v. e do tratamento com fentanil i.v.

O pré-tratamento com L-NAME i.v. não induziu alterações eletrocardiográficas sugestivas de isquemia miocárdica ou de arritmias cardíacas. Os animais que apresentaram

arritmias ventriculares ou alterações eletrocardiográficas sugestivas de isquemia antes da administração de *L*-glutamato i.c.v. foram descartados do estudo. De maneira semelhante, o tratamento com fentanil não modificou o padrão eletrocardiográfico dos animais.

Efeitos da administração de L-glutamato i.c.v.

No grupo CTL I de animais a média de CVPs por minuto (CVP_{\min}) foi de $9,3 \pm 1,5$ (n=10) (figura 13). Não foi observada nenhuma alteração do segmento ST (figura 14) ou inversão de onda T na ausência da inibição da síntese de NO (figura 15). Por outro lado, houve neste grupo 01 caso (10%) de bigeminismo (figura 16) e 01 caso (10%) de taquicardia ventricular (figura 17).

No grupo controle (CTL II) o *L*-glutamato administrado i.c.v. induziu o aparecimento de graves arritmias ventriculares imediatamente após a sua administração. O número médio de CVP_{\min} foi de $65,2 \pm 16$ (n=12), A incidência de bigeminismo (figura 16) e TV (figura 17) foi de 67% (8/12) e 58% (7/12), respectivamente. A incidência de inversão de onda T (figura 15) e alterações do segmento ST (figura 14) foi de 58% (7/12) e 67% (8/12) respectivamente. O pré-tratamento com fentanil nas doses de 5, 10 e 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ reduziram significativamente o número médio de CVP_{\min} para $6,8 \pm 3$ (n=10), $3,5 \pm 3$ (n=10) e $2,6 \pm 1,4$ (n=10), respectivamente (figure 13). As incidências de bigeminismo (figura 16) e de TV (figura 17) foram marcadamente reduzidas pelo tratamento com fentanil. A incidência de bigeminismo foi (figura 16) de 30% (3/10), 20% (2/10, $P < 0,05$) e 10% (1/10, $P < 0,05$) nas doses de 5, 10 e 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente; e de maneira interessante, nenhum dos grupos tratados com fentanil apresentou episódios de TV (figura 15). A incidência de alterações do segmento ST (figura 14) foi de 70% (7/10), 30% (3/10) e 10% (1/10, $P < 0,05$),

respectivamente; e a incidência de inversão de onda T (figura 15) foi de 30% (3/10), 20% (2/10) e 10% (1/10, $P < 0,05$), respectivamente.

Tabela 1: Valores médios dos parâmetros hemodinâmicos dos experimentos do protocolo I

| | | <i>L</i> -NAME | | | |
|------------------------------------|-----------------------|----------------|--------------|------------|-----------|
| | | Basal | ou Salina | Tratamento | GLU |
| CTL I (<i>n</i> =10) | PAM | 92±5 | 100±6 | 102±5 | 129±7* |
| | FC | 278±9 | 268±12 | 270±10 | 272±12 |
| | +dP/dt _{max} | 5128±259 | 5080±243 | 4560±268 | 5609±224* |
| | DP | 36±2 | 35±1 | 36±2 | 43±3 |
| | TP | 184±10 | 178±20 | 164±12 | 241±21* |
| CTL II (<i>n</i> =12) | PAM | 89±2 | 116±5* | 113±5 | 147±4* |
| | FC | 286±8 | 266±9 | 264±10 | 268±7 |
| | +dP/dt _{max} | 4948±195 | 3888±140* | 4515±187 | 5983±287* |
| | DP | 35±1 | 37±1 | 37±1 | 46±1* |
| | TP | 161±12 | 167±8 | 167±10 | 275±16* |
| FENT 5µg/kg (<i>n</i> =10) | PAM | 98±3 | 110±3* | 107±5 | 137±6* |
| | FC | 313±5 | 290±16 | 268±18 | 262±17 |
| | +dP/dt _{max} | 5328±259 | 4099±243* | 4015±263 | 5457±212* |
| | DP | 40±1 | 39±2 | 35±3 | 44±3* |
| | TP | 214±14 | 173±11 | 140±18 | 240±17* |
| FENT 10µg/kg (<i>n</i> =10) | PAM | 95±3 | 120±3* | 108±2 | 142±5* |
| | FC | 287±7 | 259±4* | 256±6 | 259±11 |
| | +dP/dt _{max} | 5241±207 | 4177±203* | 4408±343 | 5783±259* |
| | DP | 34±2 | 37±2 | 30±2 | 38±2 |
| | TP | 185±20 | 187±11 | 132±13 | 219±20* |
| FENT 50µg/kg (<i>n</i> =10) | PAM | 92±6 | 113±3* | 104±4 | 138±8* |
| | FC | 303±9 | 278±9 | 263±13 | 238±15 |
| | +dP/dt _{max} | 5426±186 | 4572±215* | 3870±174* | 4961±171* |
| | DP | 39±3 | 38±2 | 32±2 | 37±2 † |
| | TP | 221±25 | 170±14 | 124±9* † | 183±14* † |

Estes valores representam a média ± EPM; n = número de experimentos

CTL I e CTL II representam os grupos de animais que receberam *L*-glutamato na ausência ou na presença de *L*-NAME, respectivamente; FENT = fentanil; Basal = valores basais; *L*-NAME = valores médios após a administração de *L*-NAME ou salina; Tratamento = valores médios após a administração de salina ou fentanil; GLU = valores máximos após a administração de *L*-glutamato; PAM = pressão arterial média (mmHg); FC = frequência cardíaca (bpm); +dP/dt_{max} = velocidade máxima de alteração da pressão ventricular (mmHg/s); DP = duplo produto (mmHg/bpm.10⁻³); TP = triplo produto (mmHg²/bpm/s.10⁻⁶)

* $P < 0,05$ vs. valores pré-injeção

† $P < 0,05$ vs. CTL II

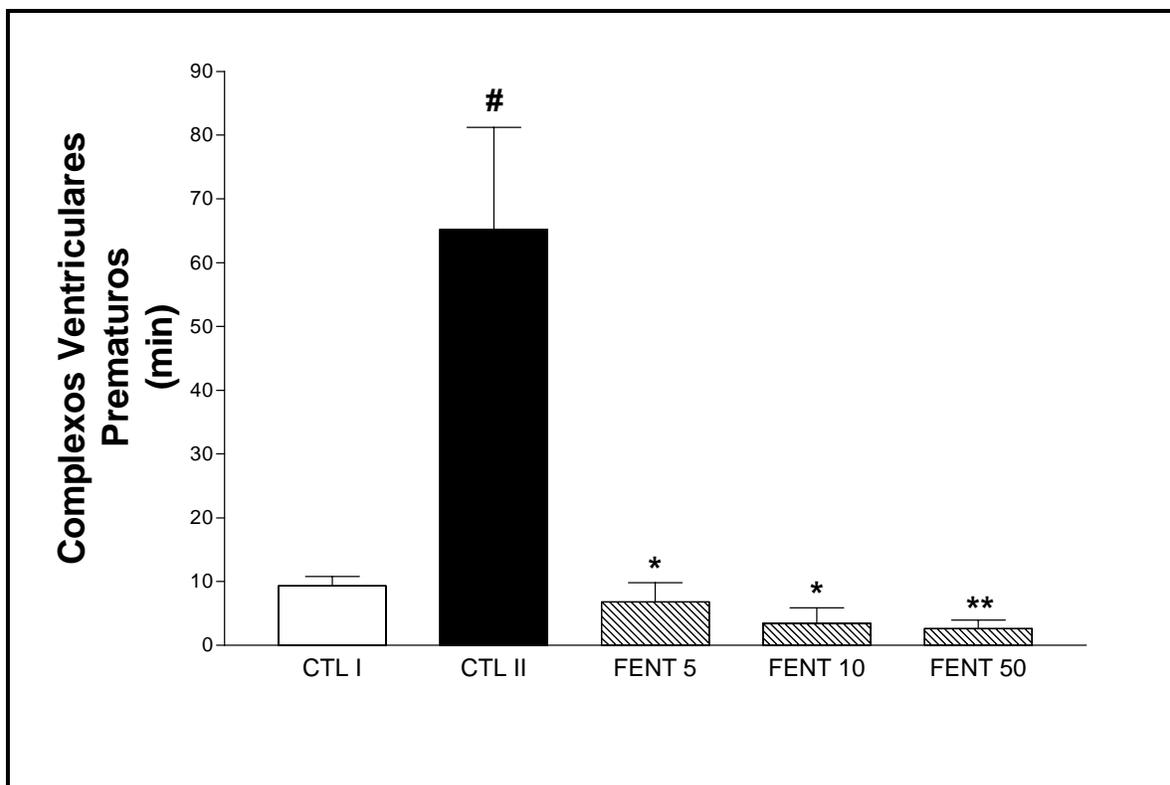


Figura 13: Efeitos do tratamento com fentanil (FENT, $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) na redução do número de complexos ventriculares prematuros por minuto após a administração de *L*-glutamato (10 μmol i.c.v.) em coelhos anestesiados, pré-tratados com *L*-NAME (40 mg/kg i.v.). CTL I e CTL II representam os grupos controle de animais que receberam *L*-glutamato na ausência (CTL I) ou na presença (CTL II) de *L*-NAME. Os valores representam a média de 10 a 12 animais.

$P < 0.01$ vs. CTL I; * $P < 0.01$ e ** $P < 0.01$ vs CTL II (Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste Dunn)

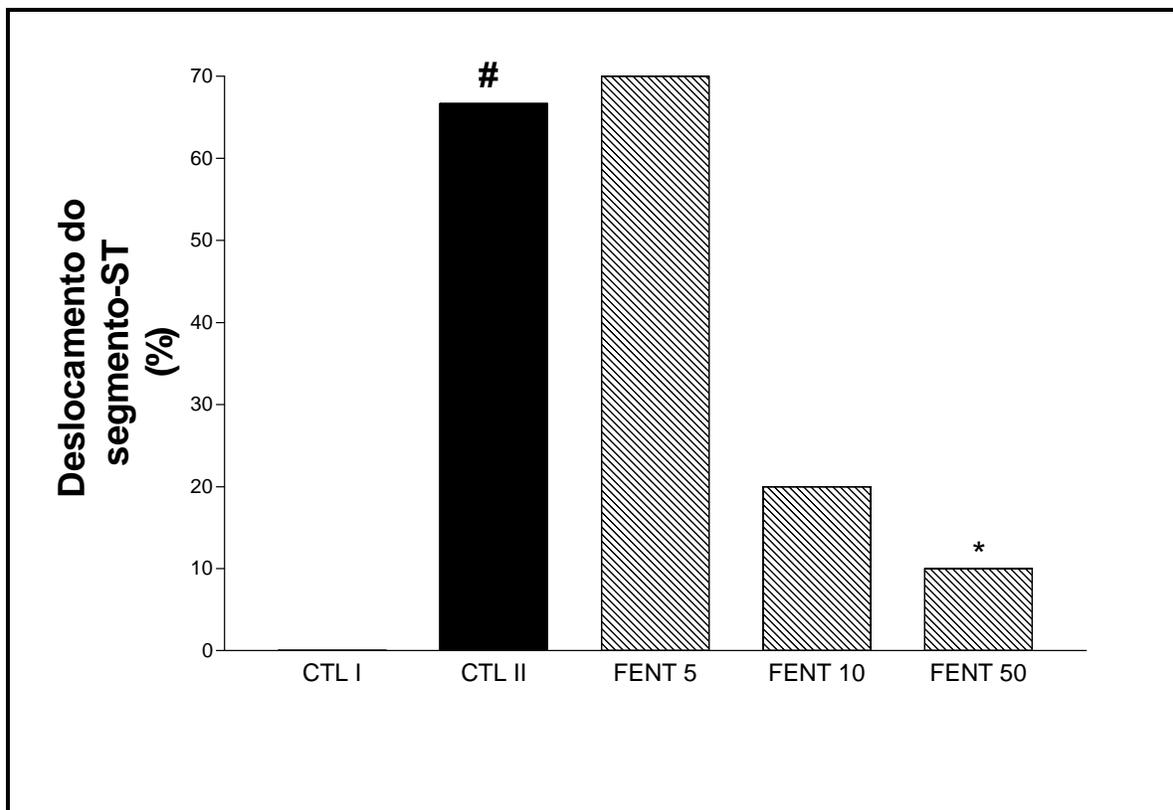


Figura 14: Efeitos do tratamento com fentanil (FENT, $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) na incidência de deslocamentos do segmento ST observada após a administração de *L*-glutamato ($10 \mu\text{mol}$ i.c.v.) em coelhos anestesiados, pré-tratados com *L*-NAME ($40 \text{ mg}/\text{kg}$ i.v.). CTL I e CTL II representam os grupos controle de animais que receberam *L*-glutamato na ausência (CTL I) ou na presença (CTL II) de *L*-NAME.

[#] $P < 0.05$ vs. CTL I; ^{*} $P < 0.05$ vs. CTL II (Teste Exato de Fisher).

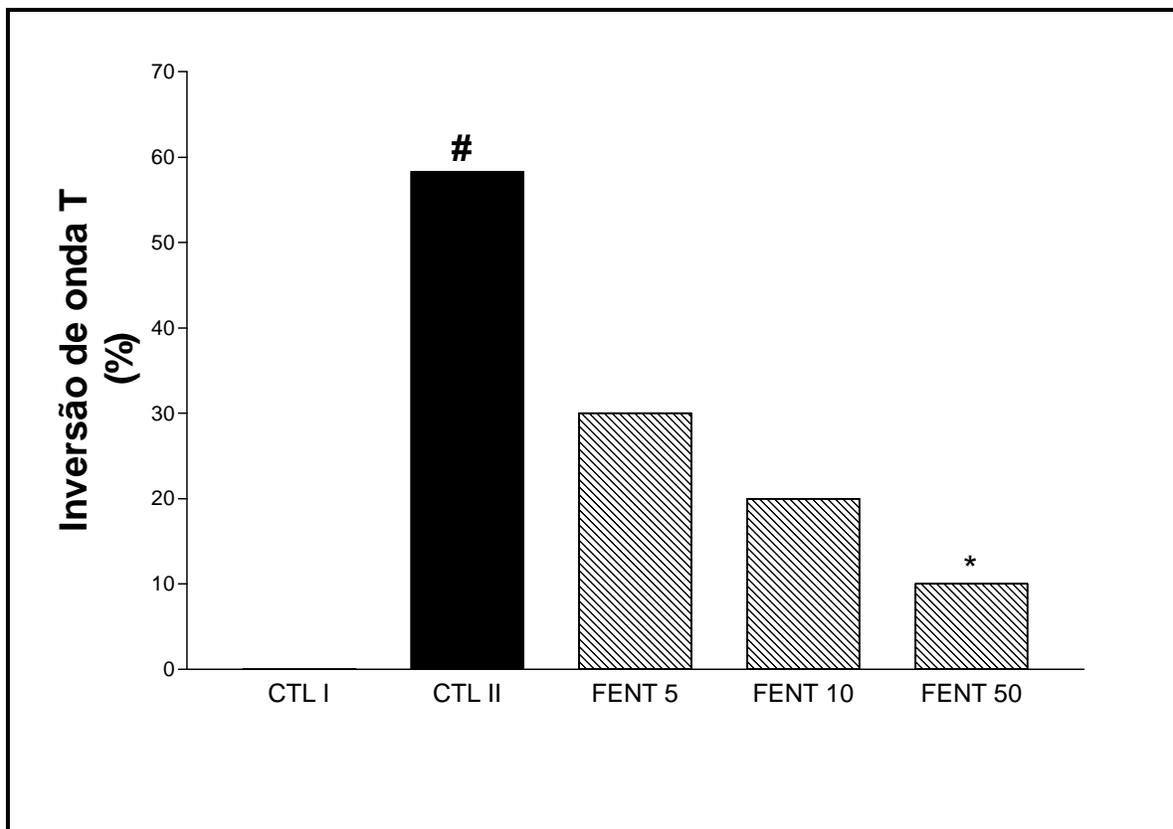


Figura 15: Efeitos do tratamento com fentanil (FENT, $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) na incidência de inversão de onda T observada após a administração de *L*-glutamato ($10 \mu\text{mol}$ i.c.v.) em coelhos anestesiados, pré-tratados com *L*-NAME ($40 \text{ mg}/\text{kg}$ i.v.). CTL I e CTL II representam os grupos controle de animais que receberam *L*-glutamato na ausência (CTL I) ou na presença (CTL II) de *L*-NAME.

[#] $P < 0.05$ vs. CTL I; ^{*} $P < 0.01$ vs. CTL II (Teste Exato de Fisher).

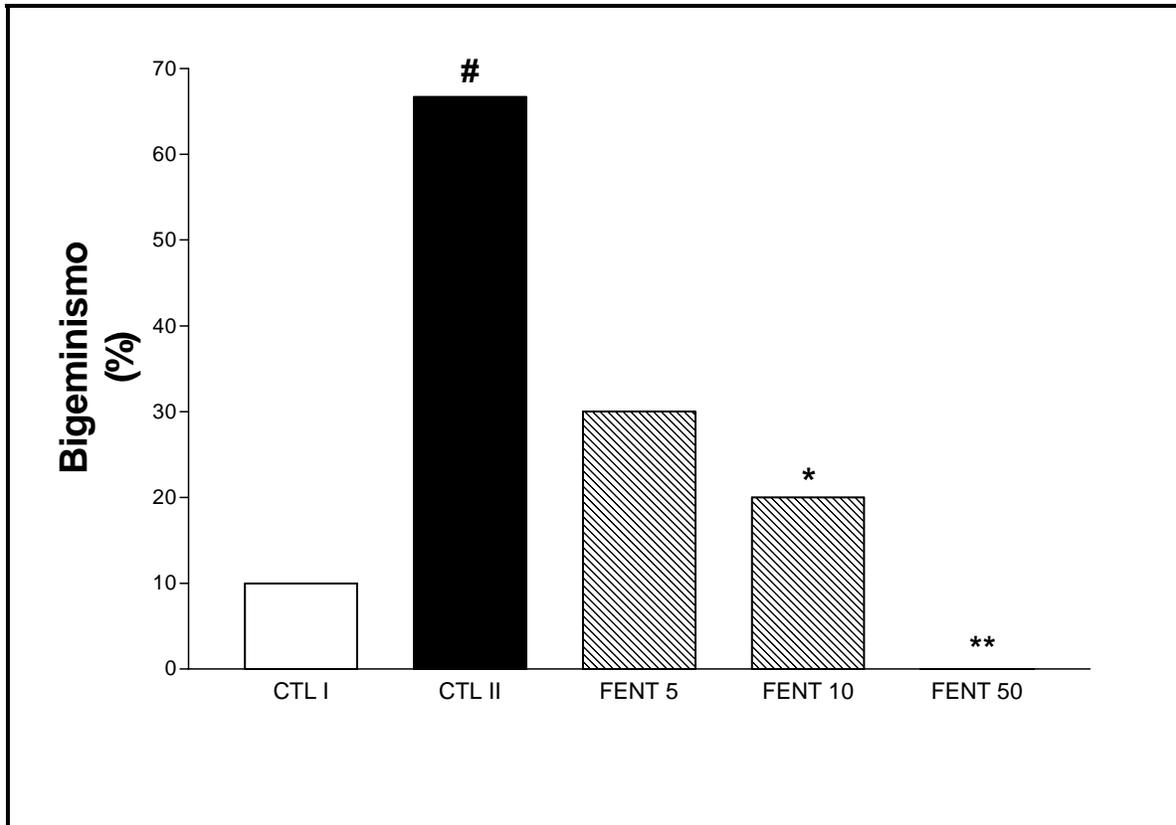


Figura 16: Efeitos do tratamento com fentanil (FENT, $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) na incidência de bigeminismo observada após a administração de *L*-glutamato ($10 \mu\text{mol}$ i.c.v.) em coelhos anestesiados, pré-tratados com *L*-NAME ($40 \text{ mg}/\text{kg}$ i.v.). CTL I e CTL II representam os grupos controle de animais que receberam *L*-glutamato na ausência (CTL I) ou na presença (CTL II) de *L*-NAME.

$P < 0.05$ vs. CTL I; * $P < 0.05$ vs. e ** $P < 0.01$ vs CTL II (Teste Exato de Fisher).

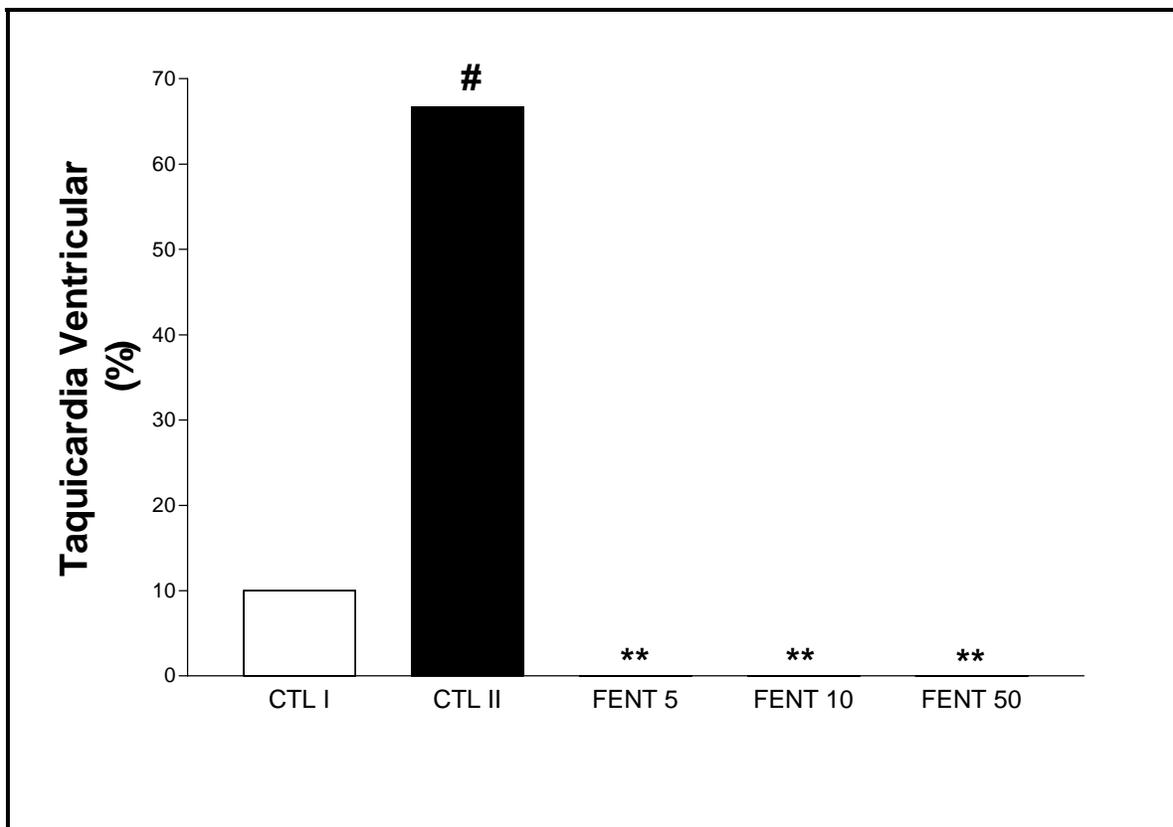


Figura 17: Efeitos do tratamento com fentanil (FENT, $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.) na incidência de taquicardia ventricular observada após a administração de *L*-glutamato ($10 \mu\text{mol}$ i.c.v.) em coelhos anestesiados, pré-tratados com *L*-NAME ($40 \text{ mg}/\text{kg}$ i.v.). CTL I e CTL II representam os grupos controle de animais que receberam *L*-glutamato na ausência (CTL I) ou na presença (CTL II) de *L*-NAME.

$P < 0.05$ vs. CTL I; ** $P < 0.01$ vs. CTL II (Teste exato de Fisher).

6.3 Estudo da isquemia miocárdica induzida por ligadura coronariana (protocolo II)*Parâmetros hemodinâmicos**Valores basais e a administração de salina i.v.*

Não houve diferenças estatisticamente significativas nas médias dos parâmetros hemodinâmicos no período basal entre diferentes grupos experimentais, ($P > 0,05$, $n=42$) (tabela 3 e 4). A administração de solução salina (2 ml, i.v.) não induziu alterações significativas nos parâmetros hemodinâmicos em nenhum momento ao longo dos experimentos ($P > 0,05$).

Efeitos do pré-tratamento com naloxona i.c.v. e naloxona quaternária i.v.

O pré-tratamento com naloxona i.c.v. não induziu alterações significativas nos parâmetros hemodinâmicos estudados durante o período de isquemia. Já o pré-tratamento com a naloxona quaternária induziu efeito hipotensor significativo, provavelmente relacionado com uma redução também significativamente PSVE, do $+dP/dt_{max}$ e $-dP/dt_{max}$, (Tabelas 3 e 4).

Efeitos da administração de fentanil i.v.

O fentanil na dose de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ não induziu alteração em nenhum parâmetro hemodinâmico durante o período de isquemia. Na dose de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o fentanil induziu reduções significativas do $+dP/dt_{max}$, do $-dP/dt_{max}$ e da PSVE ($P < 0,05$). Porém a redução desses parâmetros não foi acompanhada de queda significativa da PAM, não significando

necessariamente um efeito cardiodepressor. De maneira interessante, o tratamento com fentanil (50 µg/kg) foi capaz de reverter o efeito hipotensor do pré-tratamento com a naloxona quaternária (grupo Nal_{Quat} i.v.), revertendo não somente o efeito sobre a PAM, como também sobre a PSVE, o $+dP/dt_{max}$ e o $-dP/dt_{max}$.

Efeitos da ligadura coronariana associada à administração de glutamato i.c.v.

A associação de isquemia miocárdica por ligadura coronariana com hiperatividade simpática pelo *L*-glutamato i.c.v. não induziu alterações significativas na hemodinâmica dos animais nos diferentes grupos (Tabelas 3 e 4). Este padrão de resposta está provavelmente relacionado com o antagonismo das duas situações, ou seja, o efeito cardiodepressor como resultado da isquemia miocárdica *versus* o efeito excitatório cardiovascular da injeção de *L*-glutamato i.c.v.

Efeitos da reperfusão miocárdica

A reperfusão do miocárdio, após o período de 35 minutos de isquemia, induziu efeito depressor significativo nos parâmetros hemodinâmicos nos grupos CTL, Fent 5 e Nal_{Quat} i.v. Esses efeitos se caracterizaram pela redução da PAM, acompanhada de reduções no $+dP/dt_{max}$, no $-dP/dt_{max}$ e na PSVE, além de elevação no grupo CTL da PdfVE. Nos grupos Fent 50 e Nal i.c.v. os parâmetros hemodinâmicos foram preservados ao longo de toda a reperfusão (Tabela 5 e 6).

Parâmetros histológicos

Não houve diferença significativa entre o tamanho médio da área total de ventrículo esquerdo entre os diferentes grupos. Também não houve diferença entre o tamanho médio da área sob risco produzida pela ligadura coronariana nos diferentes grupos (Tabela 2). A área de infarto produzida pela lesão por isquemia e reperfusão no grupo CTL foi de $0,43 \pm 0,1 \text{ cm}^3$, no grupo Fent 5 foi de $0,39 \pm 0,1 \text{ cm}^3$, no grupo Fent 50 foi de $0,21 \pm 0,1 \text{ cm}^3$ ($P < 0,001$ vs CTL e $P < 0,01$ vs Nal_{Quat} i.v.), no grupo Nal_{Quat} i.v foi de $0,39 \pm 0,1 \text{ cm}^3$ e no grupo Nal i.c.v. foi de $0,29 \pm 0,1 \text{ cm}^3$ ($P < 0,001$ vs CTL e $P < 0,01$ vs Nal_{Quat} i.v.). As relações entre da área de infarto e com a área sob risco e com a área total do ventrículo esquerdo dos diferentes grupos encontram-se nas figura 22 e 23, respectivamente.

Tabela 2: Dados histológicos

| | Área de VE (cm^3) | Área sob risco (cm^3) | Área de infarto (cm^3) |
|---------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| CTL ($n=9$) | $1,75 \pm 0,2$ | $0,84 \pm 0,1$ | $0,43 \pm 0,1$ |
| Fent 5 ($n=9$) | $1,91 \pm 0,1$ | $0,90 \pm 0,1$ | $0,39 \pm 0,1$ |
| Fent 50 ($n=9$) | $1,81 \pm 0,2$ | $0,90 \pm 0,1$ | $0,21 \pm 0,1^{*\&}$ |
| NAL _{Quat} i.v. ($n=6$) | $1,85 \pm 0,1$ | $0,93 \pm 0,1$ | $0,39 \pm 0,1$ |
| Nal i.c.v. ($n=9$) | $1,80 \pm 0,1$ | $0,89 \pm 0,1$ | $0,29 \pm 0,1^{*\dagger}$ |

Os valores expressos representam a média \pm EPM; n = número de animais por grupo.

CTL = controle; FENT 5 = grupo tratado com fentanil $5 \mu\text{g/kg}$ i.v.; FENT 50 = grupo tratado com fentanil $50 \mu\text{g/kg}$ i.v.; NAL_{Quat} i.v. = naloxona quaternária (13 mg/kg i.v. + infusão contínua de 50 mg/kg/h i.v.) seguido de fentanil ($50 \mu\text{g/kg}$ i.v.); NAL i.c.v.= naloxona ($100 \mu\text{g/kg}$ i.c.v. + $50 \mu\text{g/kg}$ a cada 20 minutos) seguido de fentanil ($50 \mu\text{g/kg}$ i.v.). $*P < 0,001$ vs. CTL; $\&P < 0,01$ vs Nal_{Quat} i.v.; $\dagger P < 0,05$ vs Nal_{Quat} i.v.

Arritmias

Efeitos do pré-tratamento com naloxona i.c.v., naloxona quaternária i.v. e do tratamento com fentanil i.v.

O pré-tratamento com naloxona e com naloxona quaternária, assim como o tratamento com fentanil nas doses de 5 e 50 µg/kg não induziram arritmias ou alterações eletrocardiográficas sugestivas de isquemia (figuras 18 e 21).

Efeitos da ligadura coronariana associada à administração de glutamato i.c.v.

O número médio de CVPs durante a isquemia no grupo CTL foi de 54±3, no grupo Fent 5 foi de 29±6, no grupo Fent 50 foi de 19±7 ($P < 0,01$), no grupo NAL_{Quat} i.v. foi de 18±6 ($P < 0,05$) e no grupo NAL i.c.v. foi de 40±3 (Figura 18)

Efeitos da reperfusão miocárdica

O número médio de CVPs durante a reperfusão no grupo CTL foi de 187±47, no grupo Fent 5 foi de 52±13, no grupo Fent 50 foi de 9±4 ($P < 0,01$), no grupo NAL_{Quat} i.v. foi de 20±3 e no grupo NAL i.c.v. foi de 47±3 ($P < 0,05$ vs Fent 50) (Figura 19).

Número total de CVPs e incidência taquicardia ventricular

O número médio de CVPs durante todo o experimento no grupo CTL foi de 241±46, no grupo Fent 5 foi de 81±7, no grupo Fent 50 foi de 28±9 ($P < 0,001$), no grupo NAL_{Quat} i.v. foi de 38±13 ($P < 0,05$) e no grupo NAL i.c.v. foi de 87±3 (Figura 20). A incidência de taquicardia ventricular no grupo CTL foi de 55%, no grupo Fent 5 foi de 10%, no grupo

Fent 50 foi de 0% ($P < 0,05$), no grupo NAL_{Quat} i.v. foi de 10% ($P < 0,05$) e no grupo NAL i.c.v. foi de 10% (Figura 21).

Mortalidade

Os animais que iniciaram o período de isquemia e morreram antes do final da reperfusão não foram considerados para a composição dos grupos, mas foram contabilizados para a verificação da taxa de mortalidade, que foi de 50% no grupo CTL, 44% no grupo Fent 5, 0% no grupo Fent 50 ($P < 0,05$ vs CTL e vs Nal i.c.v.), 33% no grupo Nal_{Quat} i.v. e 50% no grupo Nal i.c.v. (Figura 24).

Tabela 3: Valores médios dos parâmetros hemodinâmicos dos experimentos do protocolo II durante a isquemia.

| | | BASAL | Salina ou NAL _{Quat} i.v. ou NAL _{HCl} i.c.v. | Salina ou Fentanil | Início da Isquemia | GLU | 5 min de isquemia | 15 min de isquemia | 30 min de isquemia |
|--|--------------|--------|--|--------------------------|-----------------------|--------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| CTL (n=9) | PAM | 72±4 | 73±4 | 74±4 | 69±5 | 80,3±9 | 79±8 | 78±7 | 71±7 |
| | FC | 294±14 | 293±14 | 296±13 | 298±17 | 293±11 | 302±9 | 309±10 | 317±9 |
| | PdfVE | 6±1 | 6±1 | 8±1 | 6±1 | 8±1* | 8±1* | 7±1 | 7±1 |
| FENT 5 (n=9) | PAM | 66±2 | 66±2 | 67±2 | 58±3 | 75±8 | 71±8 | 64±4 | 62±6 |
| | FC | 296±8 | 296±8 | 297±8 | 293±9 | 269±9 | 262±7 | 264±9 | 278±13 |
| | PdfVE | 7±1 | 6±1 | 7±1 | 6±1 | 7±2 | 9±1 | 9±1 | 9±2 |
| FENT 50 (n=9) | PAM | 69±5 | 69±4 | 58±4 | 58±4 | 58±5 | 59±3 | 61±4 | 63±5 |
| | FC | 305±10 | 305±10 | 278±10 | 290±12 | 282±9 | 272±9 | 277±10 | 289±11 |
| | PdfVE | 8±1 | 8±1 | 7±1 | 8±1 | 9±1 | 9±1 | 9±1 | 8±1 |
| NAL i.c.v. + FENT 50 (n=9) | PAM | 62±4 | 65±4 | 63±2 | 68±4 | 72±11 | 82±11 | 65±6 | 67±7 |
| | FC | 289±11 | 289±11 | 284±10 | 282±9 | 260±19 | 275±12 | 278±11 | 286±9 |
| | PdfVE | 6±1 | 6±1 | 8±1 | 9±1 | 8±1 | 8±1 | 8±1 | 8±1 |
| NAL_{Quat} i.v. + FENT 50 (n=6) | PAM | 78±2 | 40±4* | 67±9† | 60±6 | 82±10 | 88±14 | 76±5 | 68±4 |
| | FC | 296±8 | 265±13 | 272±10 | 266±14 | 282±10 | 285±14 | 286±14 | 306±13 |
| | PdfVE | 8±1 | 10±1 | 9±1 | 8±1 | 8±1 | 10±2* | 12±2* | 13±2* |

Os valores expressos representam a média ± EPM; n = número de animais por grupo.

CTL = controle; FENT 5 = grupo tratado com fentanil 5 µg/kg; FENT 50 = grupo tratado com fentanil 50 µg/kg; NAL_{Quat} i.v. = naloxona quaternária (13 mg/kg i.v. + infusão contínua de 50 mg/kg/h i.v.) seguido de fentanil (50 µg/kg i.v.); NAL i.c.v. = naloxona (100 µg/kg i.c.v. + 50 µg/kg a cada 20 minutos); Basal = valores no período basal; GLU = valores máximos após a administração de L-glutamato (10 µmol i.c.v.); PAM = pressão arterial média (mmHg); FC = frequência cardíaca (bpm); PdfVE = pressão ventricular no final da diástole (mmHg) *P < 0,05 vs. valores basais. † P < 0,05 vs. valor antes da injeção.

Tabela 4: Valores médios dos parâmetros hemodinâmicos dos experimentos do protocolo II durante a isquemia.

| | | BASAL | Salina ou NAL _{Quat} i.v. ou NAL _{HCl} i.c.v | Salina ou Fentanil | Início da Isquemia | GLU | 5 min de isquemia | 15 min de isquemia | 30 min de isquemia |
|--|-----------------------------|----------|---|--------------------------|-----------------------|-----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| CTL (n=9) | +dP/dt_{max} | 4070±326 | 3907±418 | 4076±312 | 3901±395 | 3825±362 | 3698±275 | 4031±324 | 3908±361 |
| | -dP/dt_{max} | 3253±208 | 3301±208 | 3320±209 | 3011±315 | 3284±346 | 3082±228 | 3196±270 | 2986±215 |
| | PSVE | 96±4 | 95±3 | 94±6 | 94±6 | 102±8 | 98±7 | 100±7 | 93±6 |
| FENT 5 (n=9) | +dP/dt_{max} | 3518±152 | 3518±152 | 3495±133 | 2687±394 | 2795±381 | 2940±345 | 2752±225 | 3128±344 |
| | -dP/dt_{max} | 3111±126 | 3110±125 | 3114±123 | 2312±323 | 2849±229 | 2509±315 | 2320±149 | 2579±256 |
| | PSVE | 98±5 | 98±6 | 99±5 | 69±7 | 79±9 | 91±9 | 76±5 | 84±7 |
| FENT 50 (n=9) | +dP/dt_{max} | 3997±243 | 3991±229 | 2802±340* | 2931±401* | 3024±358* | 2948±271* | 3045±306* | 3155±225* |
| | -dP/dt_{max} | 3381±298 | 3381±298 | 2463±326* | 2373±396* | 2383±43*3 | 2015±247* | 2351±247* | 2627±270* |
| | PSVE | 102±5 | 102±5 | 84±6* | 85±7* | 84±8* | 79±7* | 87±6* | 94±6* |
| NAL i.c.v. + FENT 50 (n=9) | +dP/dt_{max} | 3774±211 | 3823±194 | 3701±235 | 3837±250 | 4583±308 | 3398±428 | 3412±328 | 3734±388 |
| | -dP/dt_{max} | 2910±223 | 2923±152 | 2874±181 | 3030±232 | 2952±302 | 2582±238 | 2750±280 | 3078±260 |
| | PSVE | 93±5 | 88±4 | 91±5 | 97±4 | 106±17 | 95±13 | 83±6 | 85±1 |
| NAL_{Quat} i.v. + FENT 50 (n=6) | +dP/dt_{max} | 4146±245 | 1921±218* | 2909±492† | 2903±519 | 3527±331 | 3887±603 | 3587±435 | 3547±348 |
| | -dP/dt_{max} | 3641±379 | 1598±192* | 2880±537† | 2923±542 | 3051±419 | 3203±474 | 3116±494 | 3005±502 |
| | PSVE | 107±10 | 64±5* | 92±13 | 92±13 | 105±7 | 109±13 | 101±13 | 96±10 |

Os valores expressos representam a média ± EPM; n = número de animais por grupo.

CTL = controle; FENT 5 = grupo tratado com fentanil 5 µg/kg; FENT 50 = grupo tratado com fentanil 50 µg/kg; NAL_{Quat} i.v. = naloxona quaternária (13 mg/kg i.v. + infusão contínua de 50 mg/kg/h i.v.) seguido de fentanil (50 µg/kg i.v.); NAL i.c.v. = naloxona (100 µg/kg i.c.v. + 50 µg/kg a cada 20 minutos); Basal = valores no período basal; GLU = valores máximos após a administração de L-glutamato (10 µmol i.c.v.); +dP/dt_{max} = velocidade máxima de elevação da pressão ventricular (mmHg/s); -dP/dt_{max} = velocidade máxima de redução da pressão ventricular (mmHg/s); PSVE = pressão sistólica de VE (mmHg)*P < 0,05 vs. valores basais † P < 0,05 vs. valor antes da injeção.

Tabela 5: Valores médios dos parâmetros hemodinâmicos dos experimentos do protocolo II durante a reperfusão

| | | Início da reperfusão | 5 min de reperfusão | 10 min de reperfusão | 15 min de reperfusão | 30 min de reperfusão | 60 min de reperfusão | 90 min de reperfusão | 120 min de reperfusão |
|--|--------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| CTL (n=9) | PAM | 66±7 | 60±6 | 60±5 | 57±4 | 56±5* | 55±5* | 55±5* | 47±7* |
| | FC | 319±10 | 314±10 | 314±11 | 314±10 | 312±10 | 303±8 | 296±10* | 273±10* |
| | PdfVE | 7±1 | 8±1 | 9±1 | 7±1 | 7±1 | 7±1 | 8±1 | 9±1* |
| FENT 5 (n=9) | PAM | 60±5 | 52±5 | 52±3 | 54±4 | 51±4* | 52±4* | 50±5* | 53±5* |
| | FC | 287±4 | 282±1 | 286±4 | 289±5 | 285±4 | 276±5 | 270±6* | 260±8* |
| | PdfVE | 8±1 | 8±1 | 8±1 | 9±1 | 9±1 | 8±1 | 8±1 | 7±1 |
| FENT 50 (n=9) | PAM | 61±5 | 59±5 | 56±4 | 59±4 | 58±5 | 58±3 | 57±4 | 57±5 |
| | FC | 289±11 | 288±8 | 287±7 | 291±7 | 288±7 | 298±7 | 294±13 | 291±13 |
| | PdfVE | 8±1 | 8±1 | 7±1 | 8±1 | 9±1 | 9±1 | 9±18 | 8±1 |
| NAL i.c.v. + FENT 50 (n=9) | PAM | 60±4 | 56±5 | 85±5 | 53±5 | 54±4 | 50±5 | 47±6 | 48±7 |
| | FC | 289±9 | 288±9 | 290±11 | 290±9 | 294±9 | 290±9 | 285±10 | 275±11 |
| | PdfVE | 7±1 | 7±1 | 7±1 | 7±1 | 7±1 | 7±1 | 8±1 | 8±2 |
| NAL_{Quat} i.v. + FENT 50 (n=6) | PAM | 70±3 | 64±6 | 61±4 | 60±3 | 58±4* | 58±4* | 56±5* | 54±5* |
| | FC | 307±13 | 306±12 | 302±13 | 301±13 | 300±12 | 289±10 | 281±9* | 282±6* |
| | PdfVE | 12±2 | 11±1 | 11±2 | 10±2 | 9±2 | 11±3 | 9±2 | 9±2 |

Os valores expressos representam a média ± EPM; n = número de animais por grupo.

CTL = controle; FENT 5 = grupo tratado com fentanil 5 µg/kg; FENT 50 = grupo tratado com fentanil 50 µg/kg; Nal_{Quat} i.v.= naloxona quaternária (13 mg/kg i.v. + infusão contínua de 50 mg/kg/h i.v.) seguido de fentanil (50 µg/kg i.v.); NAL_{HCl} = naloxona (100 µg/kg i.c.v. + 50 µg/kg a cada 20 minutos); Basal = valores no período basal; PAM = pressão arterial média (mmHg); FC = frequência cardíaca (bpm); PdfVE = pressão ventricular no final da diástole (mmHg). *P < 0,05 vs. valores no início da reperfusão.

Tabela 6: Valores médios dos parâmetros hemodinâmicos dos experimentos do protocolo II durante a reperfusão.

| | | Início da reperfusão | 5 min de reperfusão | 10 min de reperfusão | 15 min de reperfusão | 30 min de reperfusão | 60 min de reperfusão | 90 min de reperfusão | 120 min de reperfusão |
|--|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| CTL (n=9) | +dP/dt _{max} | 3409±354 | 2989±433 | 3032±305 | 3001±246 | 3003±272 | 2748±245 | 2497±318* | 1940±332* |
| | -dP/dt _{max} | 2829±224 | 2521±246 | 2446±160 | 2517±220 | 2545±210 | 2385±206 | 2237±212 | 1331±611 |
| | PSVE | 90±6 | 85±7 | 84±5 | 84±5 | 85±6 | 79±4 | 76±4* | 68±8* |
| FENT 5 (n=9) | +dP/dt _{max} | 2869±254 | 2210±228 | 2407±202 | 2424±220 | 2478±176 | 2307±165 | 2079±217* | 1710±201* |
| | -dP/dt _{max} | 2311±208 | 2079±203 | 2177±148 | 2263±150 | 2226±168 | 2188±153 | 2066±215 | 1869±231 |
| | PSVE | 79±5 | 73±3 | 74±3 | 76±3 | 77±3 | 75±3 | 72±4 | 68±4* |
| FENT 50 (n=9) | +dP/dt _{max} | 3140±185 | 2773±194 | 2689±125 | 2795±134 | 2766±143 | 2999±353 | 2977±334 | 2913±250† |
| | -dP/dt _{max} | 2684±271 | 2541±217 | 2493±181 | 2509±190 | 2503±205 | 2579±397 | 2549±346 | 2606±456 |
| | PSVE | 95±6 | 88±6 | 88±4 | 91±5 | 89±6 | 86±8 | 85±7 | 87±8 |
| NAL i.c.v. + FENT 50 (n=9) | +dP/dt _{max} | 3389±321 | 3019±361 | 3133±279 | 3152±279 | 3165±255 | 2869±293 | 2669±333 | 2468±367* |
| | -dP/dt _{max} | 2741±244 | 2678±228 | 2783±239 | 2714±290 | 2815±257 | 2405±248 | 2292±301 | 2146±335 |
| | PSVE | 88±5 | 81±4 | 85±5 | 76±5 | 83±6 | 74±5 | 72±6 | 68±7* |
| NAL_{Quat} i.v. + FENT 50 (n=6) | +dP/dt _{max} | 3546±311 | 3215±288 | 2898±243* | 2935±254* | 2789±286* | 2733±398* | 2548±394* | 2410±351* |
| | -dP/dt _{max} | 2930±374 | 2786±336 | 2595±282 | 2548±184 | 2466±145 | 2470±198 | 2377±232 | 2302±207 |
| | PSVE | 93±7 | 90±6 | 85±6 | 82±4 | 79±3 | 78±5 | 76±5 | 76±6* |

Os valores expressos representam a média ± EPM; n = número de animais por grupo.

CTL = controle; FENT 5 = grupo tratado com fentanil 5 µg/kg; FENT 50 = grupo tratado com fentanil 50 µg/kg; Nal i.v.= naloxona quaternária (13 mg/kg i.v. + infusão contínua de 50 mg/kg/h i.v.) seguido de fentanil (50 µg/kg i.v.); NAL i.c.v = naloxona (100 µg/kg i.c.v. + 50 µg/kg a cada 20 minutos); Basal = valores no período basal; .); +dP/dt_{max} = velocidade máxima de elevação da pressão ventricular (mmHg/s); -dP/dt_{max} = velocidade máxima de redução da pressão ventricular (mmHg/s) PSVE = pressão sistólica de VE (mmHg). *P < 0,05 vs. valores no início da reperfusão † P < 0,05 vs. CTL.

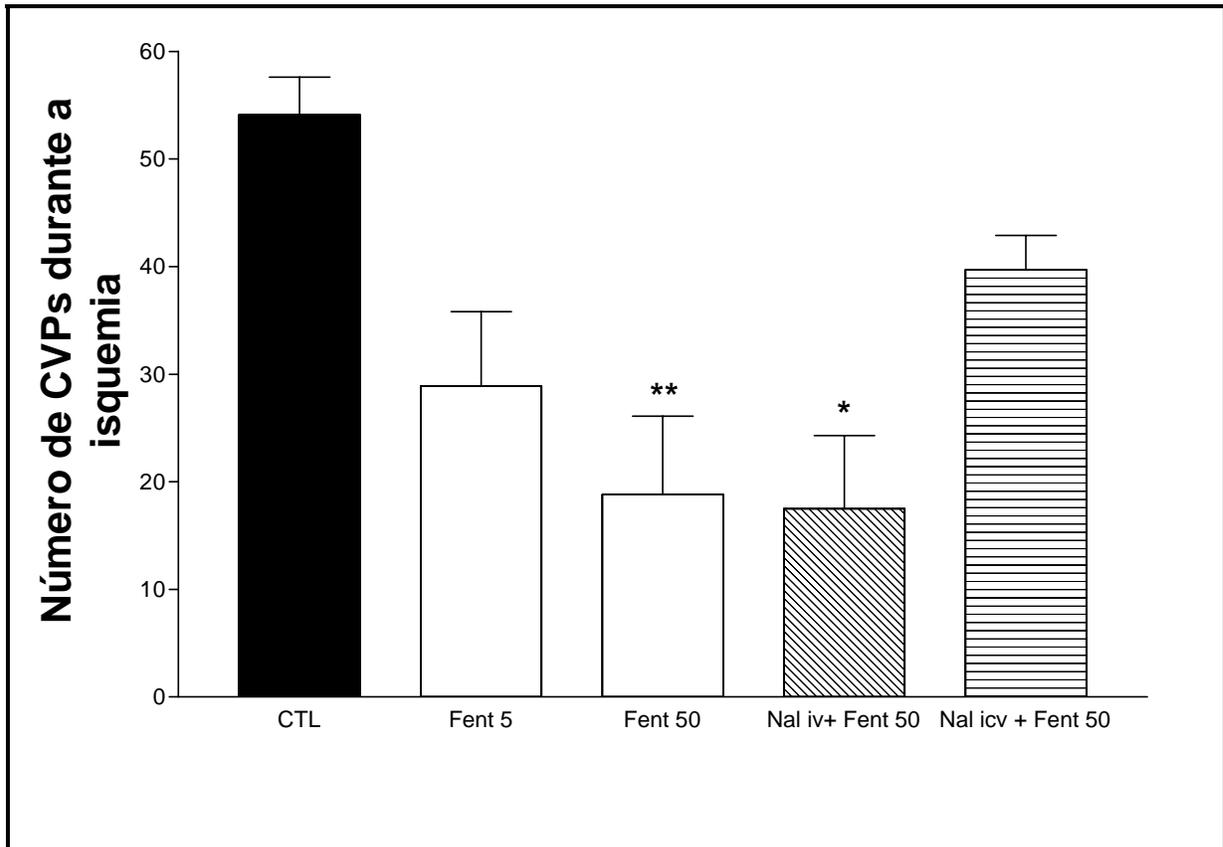


Figura 18: Número de complexos ventriculares prematuros (CVPs) durante a isquemia em coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 µg/kg i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 µg/kg i.v. (Fent 50), ou naloxona quaternária i.v. (12.9 mg/kg + 40 mg/kg/h) seguido de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal iv. + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 µg/kg a cada 20 min) seguido de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal icv + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 minutos de reperfusão. Os valores representam a média de 6 a 9 animais.

** $P < 0.01$ e * $P < 0.05$ em relação ao grupo CTL (Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn).

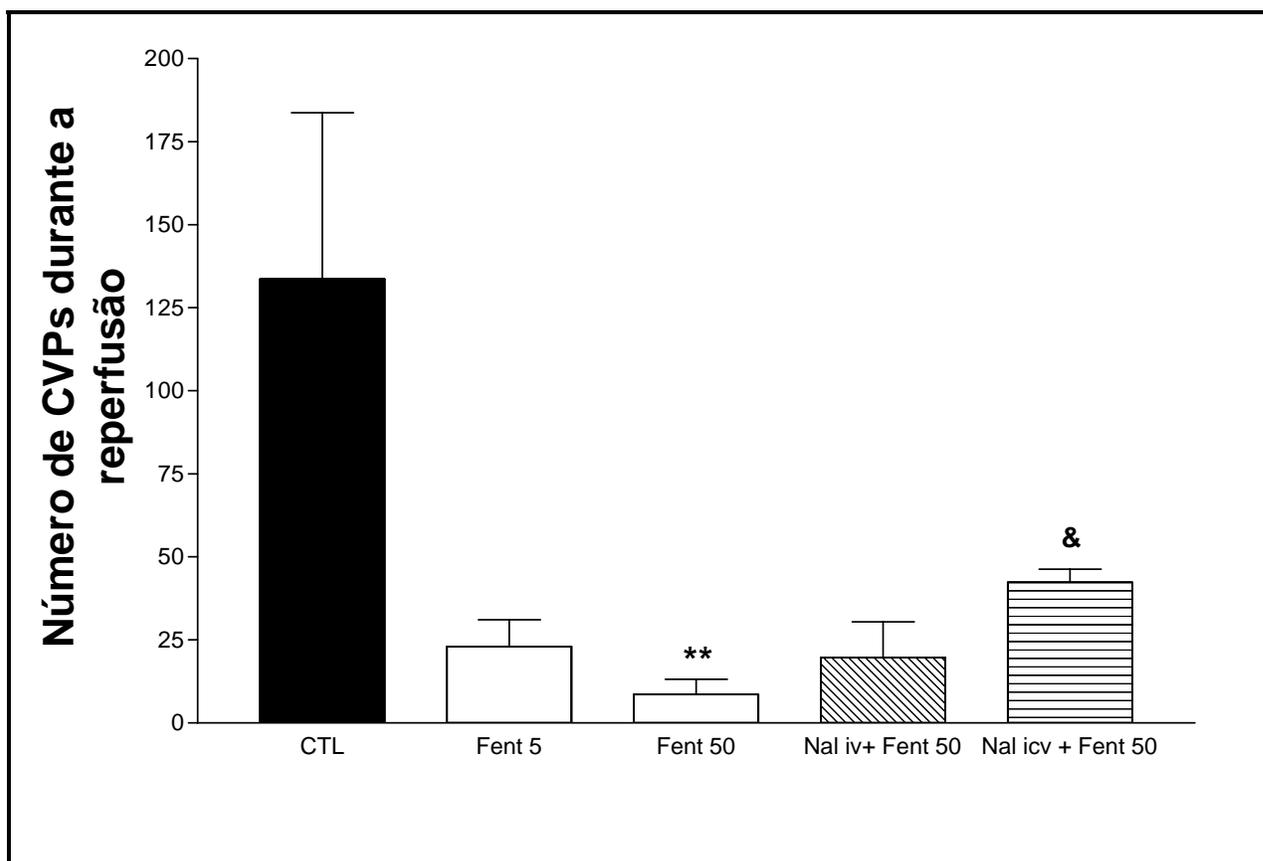


Figura 19: Número de complexos ventriculares prematuros (CVPs) durante a reperfusão em coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 µg/kg i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 µg/kg i.v. (Fent 50), ou naloxone quaternária i.v. (12,9 mg/kg + 40 mg/kg/h) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal iv + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 µg/kg a cada 20 min) seguido de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal icv + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 minutos de reperfusão. Os valores representam a média de 6 a 9 animais.

** $P < 0,01$ em relação ao grupo CTL; & $P < 0,05$ em relação ao grupo Fent 50 (Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn).

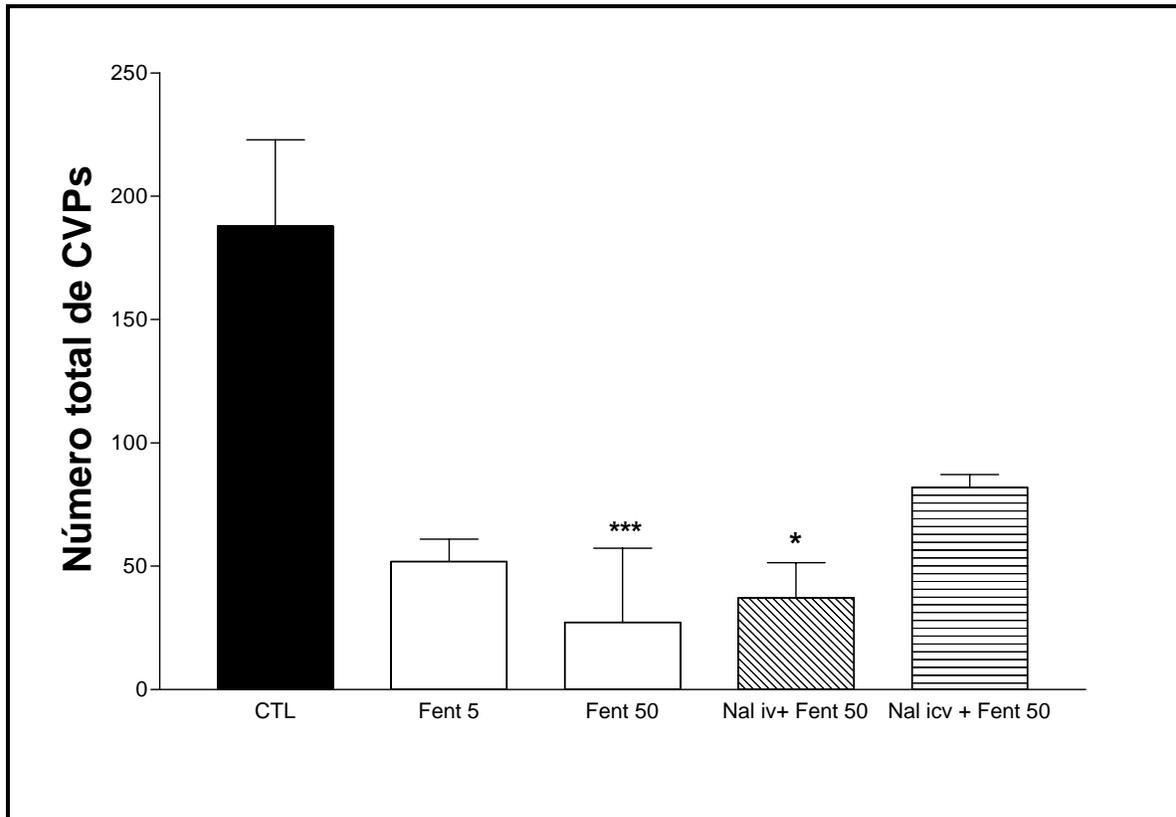


Figura 20: Número total de complexos ventriculares prematuros (CVPs) durante todo o experimento (isquemia + reperfusão) em coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 µg/kg i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 µg/kg i.v. (Fent 50), ou naloxona quaternária iv (12.9 mg/kg + 40 mg/kg/h) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal iv + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 µg/kg a cada 20 minutos) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal icv + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 minutos de reperfusão. Os valores representam a média de 6 a 9 animais.

*** $P < 0,001$ e * $P < 0,05$ em relação ao grupo CTL (Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn).

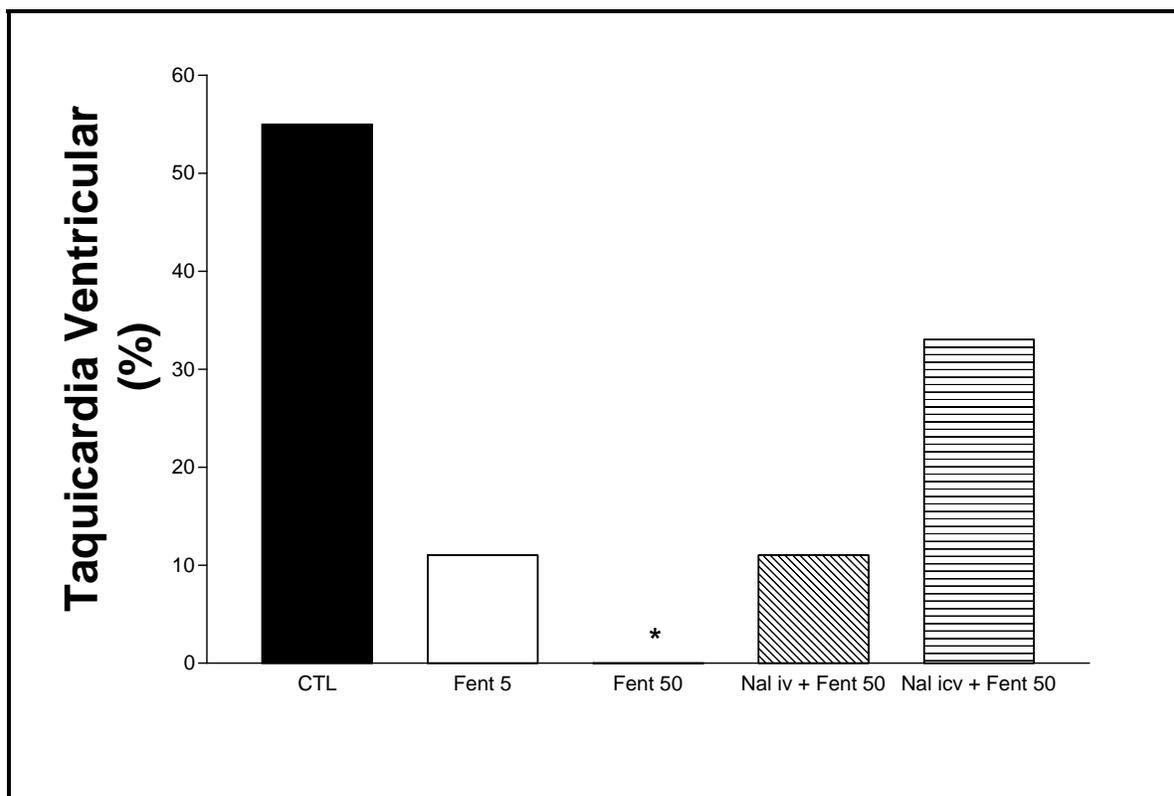


Figura 21: Incidência de taquicardia ventricular nos grupos de coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Fent 50), ou naloxona quaternária i.v. (12,9 mg/kg + 40 mg/kg/h) antes de fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Nal iv + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a cada 20 min) antes de fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Nal icv + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 minutos de reperfusão.

* $P < 0.05$ em relação ao grupo CTL. (Teste Exato de Fisher).

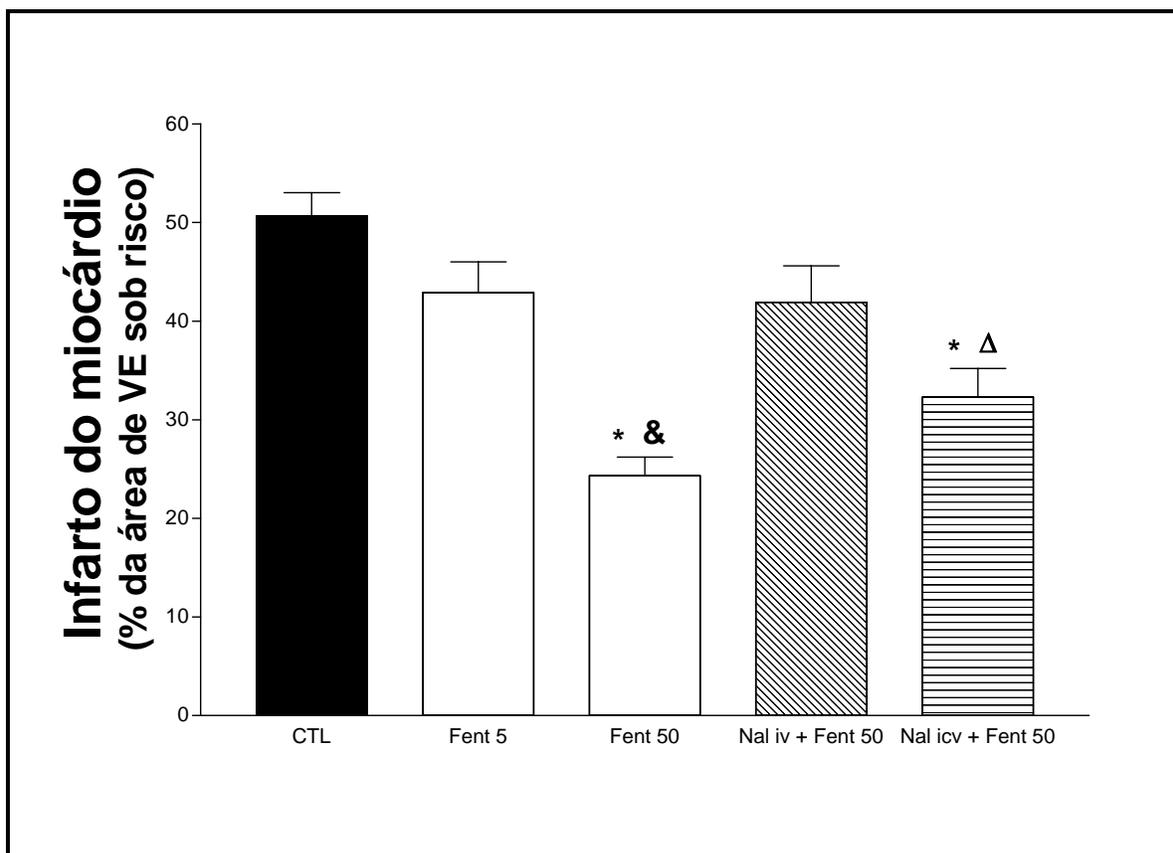


Figura 22: Tamanho da área de infarto expresso como porcentagem da área do ventrículo esquerdo (VE) sob risco em coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 µg/kg i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 µg/kg i.v. (Fent 50), ou naloxona quaternária i.v. (12,9 mg/kg + 40 mg/kg) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal iv. + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 µg a cada 20 minutos) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal icv. + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 minutos de reperfusão. Os valores representam a média de 6 a 9 animais.

* $P < 0,001$ em relação ao CTL, & $P < 0,01$ em relação ao grupo Nal iv + Fent 50. $\Delta P < 0,05$ em relação ao grupo Nal iv + Fent 50 (ANOVA seguido de Student-Newman-Keuls).

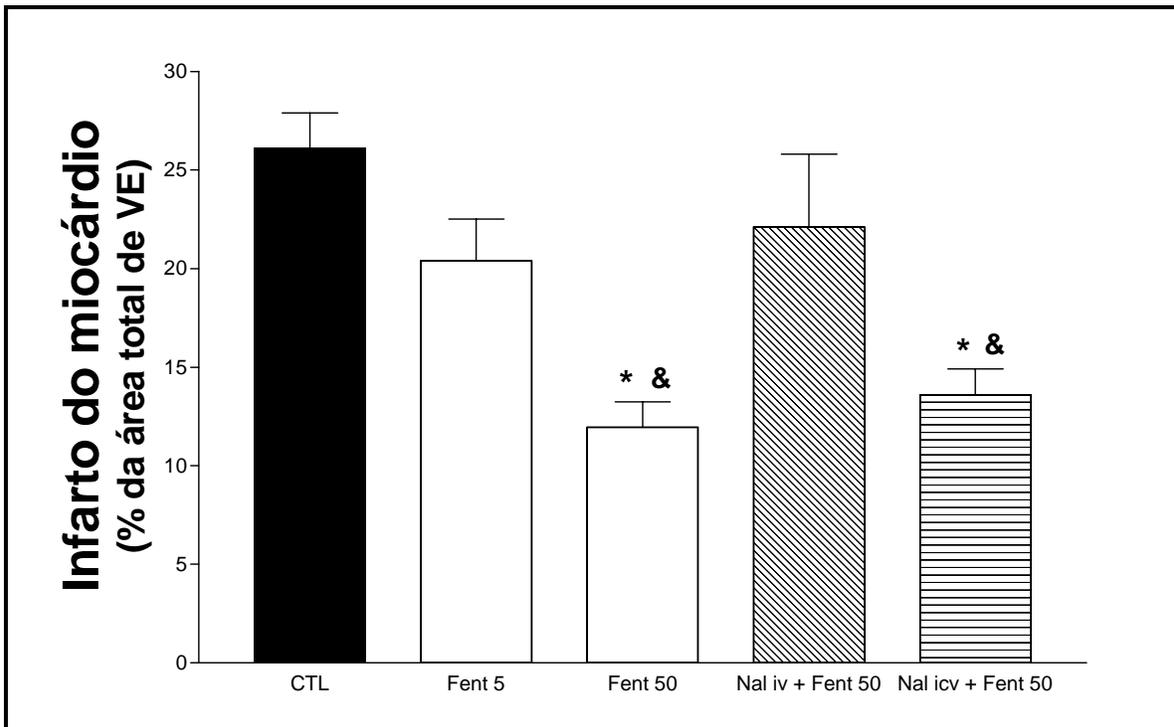


Figura 23: Tamanho da área de infarto expresso como porcentagem da área total do ventrículo esquerdo (VE) em coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 µg/kg i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 µg/kg i.v. (Fent 50), ou naloxona quaternária i.v. (12,9 mg/kg + 40 mg/kg/h) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal iv. + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 µg/kg a cada 20 minutos) antes de fentanil 50 µg/kg i.v. (Nal icv. + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 de reperfusão. Os valores representam a média de 6 a 9 animais.

* $P < 0,001$ em relação ao CTL, & $P < 0,01$ em relação ao grupo Nal. i.v. + Fent 50. (ANOVA seguido de Student-Newman-Keuls).

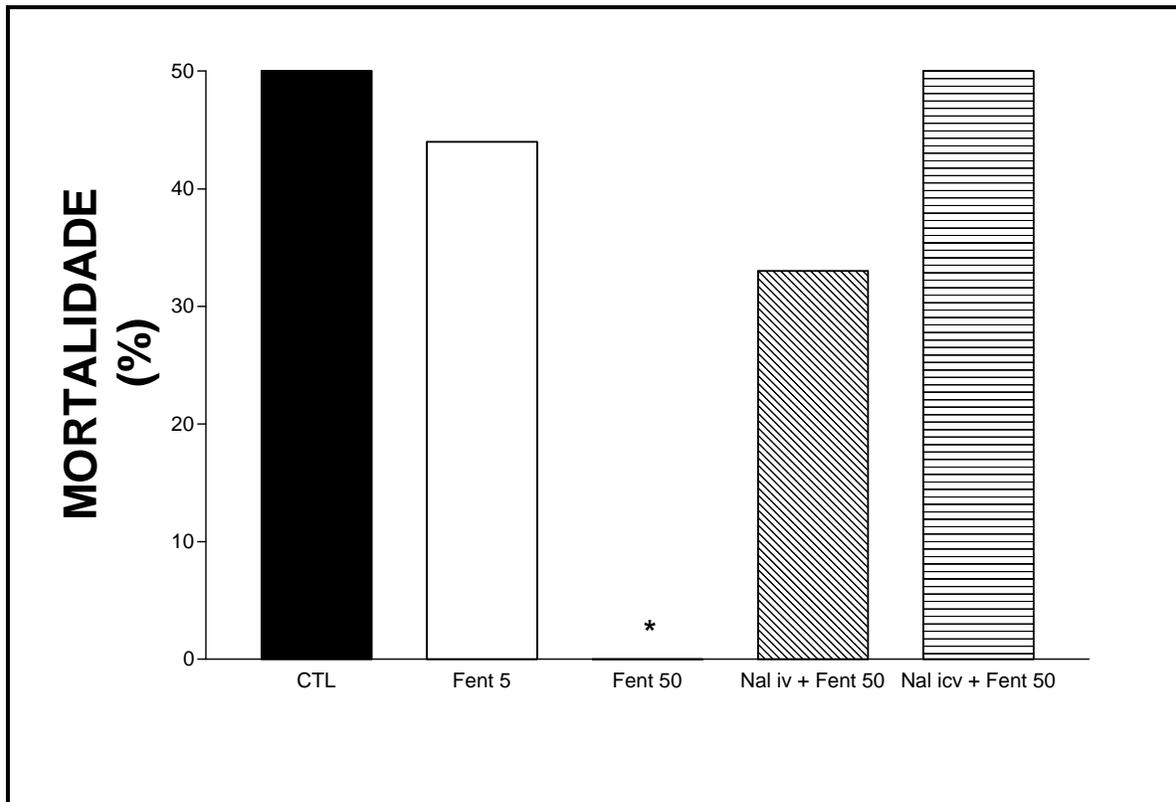


Figura 24: Mortalidade apresentada pelos diferentes grupos de coelhos anestesiados e tratados com salina i.v. (CTL), ou fentanil 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Fent 5), ou fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Fent 50), ou naloxona quaternária i.v. (12.9 mg/kg + 40 mg/kg/h) antes de fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Nal iv. + Fent 50), ou naloxona i.c.v. (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a cada 20 min) antes de fentanil 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. (Nal icv + Fent 50). Após o tratamento todos os animais foram submetidos a 35 minutos de isquemia do miocárdio associada à estimulação central com *L*-glutamato e em seguida 120 minutos de reperfusão.

* $P < 0.05$ em relação ao grupo CTL e ao grupo Nal_{Quat} i.v. (Teste Exato de Fisher).

7 - DISCUSSÃO

O principal achado do presente trabalho foi a demonstração, pela primeira vez, do efeito antiarrítmico do fentanil em situações de isquemia miocárdica associada à hiperatividade simpática de origem central. Nossos resultados sugerem também que existem dois componentes distintos no efeito cardioprotetor do fentanil, um efeito antiarrítmico por ação central e outro efeito antiisquêmico relacionado à ação periférica. O fentanil, que é um agonista dos receptores opióides amplamente utilizado na prática anestésica, apresentou efeitos antiarrítmicos de maneira dependente da dose que se caracterizam principalmente pela significativa redução do número de CVPs (extra-sístoles) e pelo bloqueio do aparecimento de TV. É interessante perceber como os efeitos antiarrítmicos do fentanil se apresentaram dissociados dos efeitos antiisquêmicos, uma vez que na dose de 5 µg/kg houve redução do número de CVPs e da incidência de taquicardia ventricular, porém somente em dose 10 vezes maior, esse efeito foi acompanhado de efeito antiisquêmico verificado pelo eletrocardiograma (protocolo I) e pela análise histológica (protocolo II). Outro aspecto importante observado em nosso trabalho foi que, apesar da redução das arritmias pela ação central do fentanil e da redução da área de infarto por sua ação periférica, a mortalidade foi completamente abolida somente quando esses dois efeitos ocorreram conjuntamente, sugerindo um efeito sinérgico entre a ativação central e periférica dos receptores opióides.

Neste trabalho o termo cardioproteção foi utilizado para descrever os efeitos benéficos resultantes das estratégias farmacológicas que visem à prevenção primária e/ou secundária da isquemia miocárdica, e suas graves conseqüências tais como o desenvolvimento de instabilidade elétrica e de disfunção mecânica. Em situações de

isquemia miocárdica a instabilidade elétrica pode levar ao aparecimento extra-sístoles ventriculares e ao desenvolvimento de arritmias ventriculares, que por sua vez podem degenerar para fibrilação ventricular e morte súbita. Assim como, a disfunção pós-isquêmica leva a um déficit contrátil, podendo evoluir para insuficiência cardíaca. Classicamente a cardioproteção se refere a medidas que reduzam a área de infarto minimizando os danos ao miocárdio. Porém, uma definição mais ampla de cardioproteção deve incluir as abordagens farmacológicas que visem não somente a restauração do fluxo sanguíneo como também à preservação do coração através da prevenção de lesão ao miocárdio (Kübler e Haass, 1996), reduzindo assim as conseqüências mecânicas e elétricas para o coração.

Na primeira parte do presente estudo (protocolo I) foi usado um modelo experimental desenvolvido em nosso laboratório. Nesse modelo o aumento da atividade simpática central é promovido pela administração i.c.v. de *L*-glutamato associado ao bloqueio da síntese de NO pelo tratamento sistêmico com *L*-NAME. A inibição da síntese de NO juntamente com a hiperatividade simpática central tem como conseqüência intensa vasoconstrição sistêmica e coronariana e aumento do consumo de oxigênio pelo miocárdio, resultando no desequilíbrio entre a oferta e a demanda de oxigênio (Catelli e col., 2003; Lessa e col., 2004). Esse modelo se mostrou eficaz em disparar arritmias ventriculares semelhantes àquelas que ocorrem durante a isquemia do miocárdio, além de reproduzir, pelo menos em parte, a hiperatividade simpática e as alterações hemodinâmicas que podem ocorrer durante o estresse anestésico-cirúrgico em pacientes com isquemia miocárdica. Resultados anteriores do nosso laboratório já haviam demonstrado que a estimulação farmacológica do sistema nervoso central com *L*-glutamato, injetado no ventrículo lateral de ratos e coelhos, aumenta de maneira significativa a descarga simpática

para a periferia, o que desencadeia uma resposta cardiovascular excitatória (Lessa e col., 2004; Catelli e col., 2003; Grabe e col., 1999; Tibiriçá e col., 1985).

Na segunda parte do trabalho (protocolo II) foi utilizado o modelo clássico de lesão por isquemia e reperfusão através da ligadura coronariana. Esse modelo foi utilizado para confirmar alguns achados da primeira parte do trabalho, e testar a hipótese da dissociação entre os efeitos centrais e periféricos. A cardioproteção conferida pelo fentanil na dose mais eficaz encontrada no protocolo I (50 µg/kg) foi avaliada em duas situações distintas: durante o bloqueio periférico dos receptores opióides através do pré-tratamento sistêmico com naloxona quaternária, visando-se obter apenas os efeitos do fentanil sobre o SNC; e durante o pré-tratamento com naloxona i.c.v. em dose desprovida de efeito sistêmico significativo, visando avaliar somente a ação do fentanil sobre os receptores opióides localizados periféricamente.

O *L*-NAME é um análogo da *L*-arginina, que possui a capacidade de inibir de maneira competitiva a NO sintase endotelial (eNOS), enzima responsável pela síntese de NO endotelial (Hobbs e col., 1999). Já está bem definido na literatura que o bloqueio agudo e crônico da via *L*-arginina-NO induz vasoconstrição sistêmica (Gardiner e col., 1993) e coronariana (Humphries e col., 1991). Apesar das células cardíacas serem capazes de sintetizar NO, o endotélio representa a principal fonte de NO, e faz parte do sistema de regulação do fluxo sanguíneo coronariano (Komaru e col., 2000). Mais ainda, a liberação basal de NO pelas células endoteliais exerce efeito vasodilatador tônico sobre a circulação coronariana (Sonntag e col, 1992). A vasoconstrição coronariana e a consequente redução do fluxo sanguíneo coronariano após a inibição farmacológica da biosíntese de NO já foram descritos em diferentes espécies de animais, tais como coelhos (Humphries e col., 1991), cães (Sonntag e col, 1992), cobaias (Kelm e Schrader, 1990) e ratos (Amrani, 1992).

Moreno Júnior e colaboradores (1997) demonstraram que a administração aguda de *L*-NAME, em dose semelhante àquela usada na primeira parte do presente estudo, resultou em necrose de 80% da região subendocárdica do ventrículo esquerdo em ratos. Assim, esses dados confirmam que a inibição da síntese de NO pelo *L*-NAME, juntamente com a hiperatividade simpática induzida pela administração i.c.v. de *L*-glutamato, tem como consequência intensa vasoconstrição sistêmica e coronariana e aumento do consumo de oxigênio pelo miocárdio, resultando em isquemia miocárdica global aguda, conforme visto em nosso trabalho (Catelli e col., 2003; Lessa e col., 2004).

O efeito do tratamento com *L*-NAME em reduzir o fluxo coronariano também pôde ser verificado através do perfil hemodinâmico apresentado pelos animais que receberam esta droga. Em nosso modelo experimental, o tratamento sistêmico com *L*-NAME (40 mg/kg i.v.) induziu aumento moderado mas significativo da pressão arterial, porém, foi acompanhado de também significativa redução do índice de $+dP/dt_{max}$, mostrando que a redução na capacidade contrátil do miocárdio não permitiu que ele se adaptasse adequadamente ao aumento da pós-carga. Sabe-se que, em situações fisiológicas, a elevação da resistência vascular sistêmica que resulta em aumento da pressão arterial, é acompanhada de aumento proporcional da contratilidade miocárdica para manter estável o débito cardíaco. Desta forma, o perfil hemodinâmico, de aumento da pressão arterial sistêmica com queda significativa da contratilidade miocárdica nos animais tratados com *L*-NAME, sugere fortemente também que a vasoconstrição coronariana causada pelo bloqueio da síntese de NO levou a redução do fluxo sanguíneo para o miocárdio ao ponto de limitar sua capacidade contrátil, o que impediu que o coração se adaptasse de maneira adequada a esta nova situação. Além disso, é interessante notar que a elevação da pós-carga após a administração isolada de *L*-glutamato i.c.v. nos animais do grupo controle I (sem *L*-

NAME), não foi capaz de gerar as mesmas manifestações eletrocardiográficas de isquemia vistas no grupo controle II (com *L*-NAME), demonstrando assim que as alterações eletrocardiográficas observadas nos animais pré-tratados com *L*-NAME e submetidos à hiperatividade simpática central não está relacionada com o aumento da pós-carga, e sim ao sofrimento isquêmico do miocárdio. Mais ainda, as arritmias ventriculares e as alterações de isquemia miocárdica foram vistas no ECG imediatamente após a ativação do SNC com *L*-glutamato em animais pré-tratados com *L*-NAME, demonstrando que a associação de hiperatividade simpática com redução do fluxo sanguíneo coronariano pode ser altamente deletéria para o coração. Esta observação tem especial interesse para a anestesia em pacientes idosos e/ou portadores de doença cardiovascular que cada vez mais são submetidos a procedimentos cirúrgicos de grande porte e alta complexidade, enfatizando a importância que a prevenção da hiperatividade simpática possui dentro da moderna anestesiologia. Na verdade, segundo Lawson e Johnson (2003) na primeira frase do capítulo sobre a fisiologia e a farmacologia do sistema nervoso autônomo, do tratado de Anestesia Clínica de Paul Barash: “A anestesiologia é a prática da medicina autonômica”.

Os resultados iniciais do presente estudo mostraram que as alterações eletrocardiográficas de isquemia e a incidência de arritmias ventriculares foram significativamente reduzidas ou mesmo completamente abolidas nos animais tratados sistemicamente com o fentanil. É interessante perceber como o fentanil, apesar de ter apresentado efeitos cardioprotetores significativos, não foi capaz de bloquear a resposta excitatória hemodinâmica resultante da estimulação farmacológica do SNC, mesmo na maior dose utilizada neste trabalho. Na literatura podemos encontrar achados semelhantes a este, como por exemplo, a incapacidade dos agentes opióides de bloquear a resposta hipertensiva disparada por estímulos de alta intensidade como na esternotomia para

realização de cirurgia cardíaca (Bailey e col, 2000). Esse fato talvez possa ser explicado pelo fato da ação periférica dos opióides ser maior sobre o coração, que expressa os receptores opióides em grande quantidade (Pugsley, 2002), do que sobre os vasos sanguíneos. Dessa forma, durante estímulos de grande intensidade, quando há grande liberação periférica de catecolaminas, os opióides podem oferecer cardioproteção sem bloquear a resposta hipertensiva correspondente, diferentemente da cardioproteção conferida pelas drogas bloqueadoras dos receptores β e α adrenérgicos.

Outro achado do presente estudo, confirmado nos dois diferentes protocolos utilizados, foi que mesmo quando utilizado em baixa dose (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) o fentanil foi capaz de reduzir de maneira significativa a incidência de extra-sístoles ventriculares, e de reduzir drasticamente (protocolo II) ou mesmo de abolir completamente (protocolo I) a incidência de taquicardia ventricular após a estimulação simpática nos animais isquêmicos. Este achado tem um grande valor clínico, pois ratifica a importância do uso dos agentes opióides na prática anestésica para, além de oferecer potente analgesia, prover estabilidade hemodinâmica e aumentar o limiar arritmogênico durante o período peri-operatório, em especial nos pacientes portadores de cardiopatia isquêmica.

A partir de evidências encontradas na literatura podemos sugerir que os efeitos cardioprotetores do fentanil parecem estar relacionados a dois componentes distintos: um efeito central reduzindo as descargas simpáticas e outro periférico por ação direta nos receptores opióides localizados no coração. Neste contexto, Laubie e Schmitt (1983) demonstraram que a administração sistêmica de fentanil induz efeito simpático-inibitório central mediado por receptores opióides no bulbo raquidiano. Além disso, evidências clínicas (Latson e col., 1992; Komatsu e col., 1992) e experimentais (Flacke e col., 1985)

sugerem que os efeitos cardiovasculares dos agentes opióides estão relacionados a alterações na balança simpáto-vagal, favorecendo a redução da atividade simpática e aumentando a tônus vagal, o que por sua vez reduz incidência de arritmias. De maneira semelhante, as drogas anti-hipertensivas de ação central, tais como clonidina, rilmenidina e moxonidina, que sabidamente tem mecanismo de ação relacionado à redução da atividade simpática central, apresentam efeito antiarrítmico significativo também relacionados à modulação da atividade simpática central (catelli e col., 2003). Nesse contexto, Mammoto e colaboradores (1996) demonstraram a ação anti-arrítmica da rilmenidina por redução da atividade simpática central no modelo de arritmia ventricular induzidas pela administração da adrenalina em cães anestesiados com halotano, achado que também enfatiza a importância da modulação autonômica durante a anestesia.

Os resultados do presente trabalho mostraram que os efeitos antiarrítmicos do fentanil são dissociados dos efeitos antiisquêmicos, ou seja, aparentemente o efeito redutor da incidência de arritmias não está relacionado com o efeito redutor da área infartada. No protocolo I foi verificado que o fentanil na dose mais baixa (5 µg/kg) reduziu o número de CVPs e a incidência de taquicardia ventricular de maneira significativa, sem alterar a incidência de alterações eletrocardiográficas de isquemia miocárdio (deslocamento do segmento ST e inversão de onda T). Somente na maior dose (50 µg/kg) o fentanil foi capaz de reduzir, de maneira significativa, a incidência de alterações eletrocardiográficas indicativas de isquemia e a ocorrência de arritmias. Mais ainda, todas as doses de fentanil utilizadas no protocolo I foram capazes de reduzir o número de CVPs e a incidência de taquicardia ventricular de maneira muito semelhante. Entretanto, quando se observam os efeitos dessas mesmas doses sobre a isquemia é possível perceber que houve uma resposta

dependente da dose, mas que alcançou significância estatística somente na dose de 50µg/kg.

Nossa hipótese inicial era que o fentanil na dose de 5 µg/kg, por sua alta afinidade pelo tecido neural, teria uma ação predominantemente sobre o SNC e nervos periféricos reduzindo a origem e a transmissão das descargas simpáticas, o que pode explicar o efeito anti-arrítmico. Por outro lado, na maior dose o fentanil poderia ter, além da ação central, efeito mais pronunciado diretamente sobre os receptores opióides localizados no miocárdio, exibindo então seu efeito antiisquêmico.

Os resultados do protocolo II foram consistentes com a hipótese levantada a partir dos resultados do protocolo I, pois a dose de fentanil 50 µg/kg também exibiu efeitos antiarrítmicos e antiisquêmicos significativos nos animais submetidos à ligadura coronariana e hiperatividade simpática central. Porém, quando os animais foram pré-tratados sistemicamente com a naloxona quaternária, antagonista dos receptores opióides que não atravessa a barreira hematoencefálica, permitindo que o fentanil agisse somente nos receptores localizados no SNC, o efeito antiarrítmico foi mantido apesar da perda do efeito antiisquêmico, sugerindo que o efeito antiarrítmico do fentanil se dá por uma ação predominantemente central. Da mesma maneira, quando foi administrada naloxona i.c.v., na tentativa de bloqueio dos receptores opióides no SNC, permitindo a ação periférica do fentanil, o efeito antiarrítmico desapareceu, mesmo com uma redução significativa da área de infarto, sugerindo o efeito antiisquêmico se dá predominantemente por ação periférica. Nossos resultados permitem afirmar que o tratamento sistêmico com fentanil na dose de 50 µg/kg em coelhos possui efeito antiarrítmico de origem central, por redução da atividade simpática, e efeito antiisquêmico periférico, por ação direta do fentanil sobre os receptores opióides localizados no miocárdio, possivelmente sobre o subtipo δ.

Apesar de ser preferencialmente um agonista do subtipo μ dos receptores opióides, o fentanil é capaz de se ligar aos subtipos de receptores δ e κ (Martin, 1983). Dentre os diversos agonistas dos subtipos dos receptores opióides, os agonistas dos receptores δ têm demonstrado efeito protetor contra lesão isquêmica, sendo o efeito cardioprotetor dos agentes opióides atribuído, quase que exclusivamente, a esse subtipo específico dos receptores opióides (Schultz e Gross, 2001). Utilizando o modelo *in vivo* de isquemia regional em ratos, Schultz e colaboradores (1998) relataram que agonistas do subtipo δ_1 reduzia a área de infarto, e que antagonistas deste subtipo de receptor, mas não dos subtipos μ e κ , eram capazes de eliminar a cardioproteção conferida pela morfina. Os subtipos de receptores opióides δ e κ estão bem caracterizados no coração de ratos (Wittert, 1986), porém a existência do subtipo μ não é confirmada. Estudos de identificação de receptores em ratos não demonstraram a expressão dos receptores μ no coração intacto (Wittert, 1986) nem nos miócitos cardíacos (Zimlichman e col, 1996). Não existem dados disponíveis na literatura que confirmem a presença ou a ausência dos receptores μ no miocárdio de coelhos. Porém em humanos, um estudo utilizando de mapeamento de receptores através da técnica de tomografia por emissão de pósitron demonstrou a expressão dos subtipos de receptores opióides μ e δ no miocárdio de pacientes (Vilemagne, 2002), fato que poderia reforçar ainda mais o papel do fentanil na anestesia dos pacientes cardiopatas.

Entretanto, sabe-se que os subtipos de receptores opióide μ e δ possuem 58% de homologia em sua estrutura protéica (Reisine e Bell, 1993), essa grande similaridade poderia justificar os efeitos do fentanil sobre o subtipo δ , pois em altas doses o fentanil deixaria de atuar preferencialmente no subtipo μ e também agiria no subtipo δ , exercendo assim, um efeito antiisquêmico direto no miocárdio.

Em relação aos efeitos antiarrítmicos, apesar de nossos resultados claramente demonstrarem que este efeito é resultante da ação do fentanil mediada pelos receptores opióides, diferentes estudos experimentais têm apresentado resultados conflitantes sobre o efeito protetor ou potencializador de arritmias dos agonistas e antagonistas opióides durante a isquemia e reperfusão miocárdica.

De fato, os efeitos antiarrítmicos dos agentes opióides podem estar também relacionados com mecanismos periféricos dependentes e independentes dos receptores opióides. Nesse contexto, estudos utilizando derivados quaternários dos antagonistas dos receptores opióides que não atravessam a barreira hemato-encefálica, demonstraram em ratos (Sitsapesan e Parratt, 1989) e em coelhos (Murphy e Murphy, 1999) anestesiados efeito antiarrítmico da naloxona e da naltrexona quaternárias, respectivamente. Estes trabalhos sugerem que o efeito protetor contra as arritmias de origem isquêmica é derivado do bloqueio periférico dos receptores opióides. Mais ainda, no trabalho de Murphy e Murphy a administração concomitante de morfina bloqueou o efeito antiarrítmico da naltrexona quaternária.

Além disso, estudos utilizando agonistas e antagonistas opióides em neurônios de ratos sugerem que, além das ações mediadas pelos receptores opióides, esses compostos exibem também efeitos independentes dos receptores opióides (Pugsley, 2002). Sabe-se que os canais de Na^+ dependentes de voltagem são responsáveis pelo processo inicial da despolarização da membrana e pela condução do potencial de ação nas células eletricamente excitáveis, o que resulta na contração cardíaca e/ou na transmissão do impulso elétrico nos nervos. Canais de K^+ são responsáveis pela repolarização da membrana celular e cessação do potencial de ação nas células excitáveis. De maneira interessante, já foi demonstrado que a morfina e a naloxona têm a capacidade de

diretamente inibir correntes de Na^+ e K^+ , em preparações utilizando tecido nervoso e cardíaco (Pugsley, 2002). Essas propriedades bloqueadoras de canais de Na^+ e K^+ da morfina poderiam colocam a morfina respectivamente como classe I e III segundo a classificação de Vaughan-Williams para agentes antiarrítmicos.

É possível que os resultados conflitantes a respeito da ação antiarrítmica dos agonistas e antagonistas opióides esteja relacionada a diferenças de modelos e protocolos experimentais utilizados nos diferentes estudos. Diferenças relacionadas principalmente com a espécie estudada, tempo de isquemia e reperfusão e a dose dos agentes opióides poderiam explicar parcialmente a discrepância entre os resultados. Desta forma, se tornam necessários estudos clínicos controlados que possam esclarecer de uma maneira mais definitiva o papel dos agentes opióides na prevenção e no tratamento das arritmias ventriculares de origem isquêmica.

Os efeitos cardioprotetores do fentanil sobre a hemodinâmica foram mais evidentes durante a reperfusão do que durante a isquemia. De fato, o tratamento com fentanil na dose de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ induziu uma redução significativa do desempenho do ventrículo esquerdo, caracterizada por queda da PSVE, do $+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ e da $-\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$. Porém, é interessante perceber como esse efeito não foi acompanhado de queda concomitante da PAM, sugerindo, ao invés de um efeito depressor hemodinâmico, um efeito redutor do consumo de oxigênio em situações críticas. Mais ainda, o fentanil foi capaz de reverter o efeito depressor cardiovascular do pré-tratamento com naloxona quaternária, elevando a PAM, a PSVE, o $+\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$ e o $-\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$. Além disso, o fentanil foi capaz de preservar os parâmetros hemodinâmicos durante todo o período de reperfusão. Um efeito semelhante foi observado no grupo que recebeu fentanil na presença apenas do bloqueio dos receptores opióides centrais (Nal i.c.v + Fent 50), sugerindo que esse efeito é por ação periférica do

fentanil, provavelmente por ação direta no miocárdio. Estudos realizados em pacientes com IAM (Wang e col., 1997) e em ratos submetidos a lesão por isquemia e reperfusão miocárdica (Wang e col., 1997) demonstraram que a morfina atenua a ativação endotelial e de neutrófilos, além de reduzir a quantidade de moléculas de adesão no sangue, o que sugere um possível efeito cardioprotetor dos agentes opióides por redução do processo inflamatório durante o período de reperfusão.

Os mecanismos de sinalização envolvidos na cardioproteção mediada pela ativação dos receptores opióides ainda não estão completamente esclarecidos, e uma discussão profunda sobre este assunto está fora dos objetivos do presente trabalho. Entretanto, devido à importância cada vez maior da compreensão dos eventos celulares que precedem um efeito terapêutico, com base em dados da literatura (Kato e Foëx, 2002; Schultz e Gross, 2001) podemos sugerir que a cardioproteção relacionada com os agentes opióides envolve uma interferência na magnitude do potencial de ação do miócito através de mecanismos associados à abertura de dos canais de K^+ dependentes de ATP (canais de K_{ATP}) presentes na membrana celular. Nesse sentido, a ativação do receptor opióide é capaz de estimular a adenilato ciclase contribuindo para formação de AMP cíclico. O aumento da concentração intracelular de AMP cíclico que vai ativar a fosfolipase C (PLC), que cliva fosfoinosítídeos de membrana de membrana produzindo 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG). O IP_3 é capaz de aumentar a concentração intracelular de Ca^{++} aumentando o influxo pelos canais de Ca^{++} na membrana celular e liberando dos estoques intracelulares presentes no retículo sarcoplasmático (RS). O aumento da concentração de Ca^{++} intracelular e de DAG estimulam a proteína quinase C (PKC), que por sua vez promove a abertura dos canais de K_{ATP} provavelmente via proteína cinase ativada por mitógeno (MAPK) (figura 25). A abertura dos canais de K_{ATP} é considerada como o principal

componente da cardioproteção subsequente à ativação periférica dos receptores opióides. Tal efeito está relacionado com a manutenção da osmolaridade celular. Além disso, os canais de K_{ATP} têm capacidade de encurtar a duração do potencial de ação e de proteger a célula da sobrecarga de Ca^{++} intracelular durante a isquemia. Estudos em miócitos cardíacos demonstraram que os canais de K_{ATP} também aumentam a concentração intracelular de radicais livres, o que por mecanismo de retrocontrole positivo amplifica a ativação (abertura) desses canais (McPherson e Yao, 2001). Os canais de K_{ATP} , presentes no coração, tem atividade regulada pela relação ATP/ADP, assim como pela PKC e MAPK.

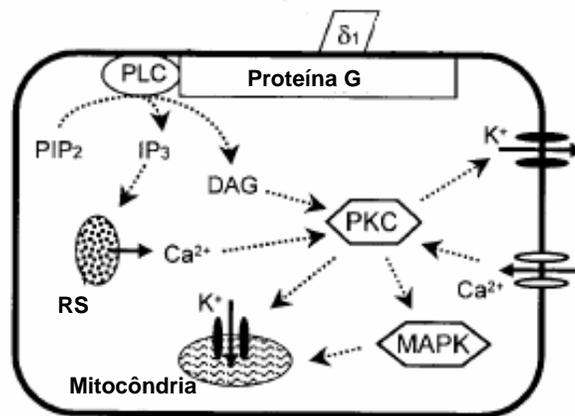


Figura 25: Mecanismo de ação envolvido na cardioproteção dos opióides.

A dose de fentanil que mostrou os melhores efeitos cardioprotetores em nosso estudo foi a de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Como não se conhece exatamente a dose e a concentração plasmática de fentanil necessárias para induzir efeito anestésico em coelhos, e em função da grande variação da farmacodinâmica entre espécies, é muito difícil inferir se as doses

utilizadas em nosso estudo estavam ou não dentro de um “intervalo terapêutico”. Clinicamente, a concentração plasmática de fentanil alcançada em anestesia para cirurgia cardíaca é de 10 a 30 ng/ml, utilizando-se para isso uma dose de indução de 30 µg/kg seguida de infusão contínua de 0,3 µg/kg/min (Wynands e col., 1983). Experimentalmente, a concentração plasmática necessária de fentanil, quando administrado isoladamente, para alcançar anestesia cirúrgica em cães é maior do que 500 ng/kg (Bailey e col., 1987). Além disso, em pequenos roedores as doses (por quilograma de peso) em geral necessárias para atingir o efeito desejado também são muitos maiores do que aquelas utilizadas em humanos (Kissin e col., 1991; Celerier 2000).

Entretanto, evidências mais recentes sugerem a dose efetiva de drogas como fentanil, remifentanil, tiopental, cetamina, adenosina, lidocaína e isoflurano em coelhos são muito similares com àquelas utilizadas em humanos (Hayashida e col., 2004). Com base nisso, é razoável sugerir que resultados obtidos a partir de modelos experimentais utilizando coelhos possam ter maior relevância clínica. Além do que, mais importante que as questões acerca da dose e do modelo, é a demonstração que o fentanil reduz de maneira significativa a incidência de arritmias, de eventos isquêmicos e a mortalidade em nosso modelo experimental. Mais ainda, considerando que o fentanil é muito utilizado em anestesia, torna-se mais prático aproveitamento de seu grande potencial em oferecer de cardioproteção a pacientes portadores de cardiopatia isquêmica que venham a apresentar eventos isquêmicos durante o ato anestésico-cirúrgico.

8 - CONCLUSÕES

Em conclusão, nossos resultados mostram que o fentanil, agente opióide de larga utilização clínica, é capaz de induzir cardioproteção significativa por efeitos antiarrítmicos e antiisquêmicos. Os efeitos antiarrítmicos do fentanil se caracterizam por redução do número de extra-sístoles, da incidência de bigeminismo e de taquicardia ventricular, enquanto seus efeitos antiisquêmicos se caracterizam por redução das alterações eletrocardiográficas de isquemia (deslocamento do segmento ST e de inversão da onda T), diminuição da área de infarto e preservação da função ventricular após a isquemia. Os resultados do presente trabalho têm relevância clínica porque confirmam a utilidade dos opióides na prevenção de arritmias e isquemia miocárdica no período peri-operatório. Além disso, abre a possibilidade do estudo e desenvolvimento de novas drogas a serem utilizadas em anestesia com potente efeito analgésico e propriedades cardioprotetoras.

9 - REFERÊNCIA:

- Airaksinen KE (1999). Autonomic mechanisms and sudden death after abrupt coronary occlusion. *Ann Med*, 31(4):240-5.
- Alexander RS (1946) Tonic and reflex functions of medullary sympathetic cardiovascular centers. *J. Neurophysiol.*, 9:205-217.
- Amrani M, O'Shea J, Allen NJ, Harding SE, Jayakumar J, Pepper JR, Moncada S, Yacoub MH. (1992). Role of basal release of nitric oxide on coronary flow and mechanical performance of the isolated rat heart. *J Physiol*, 456:681-7
- Arens JF, Benbow BP, Ochsner JL, Theard R (1972). Morphine anesthesia for aortocoronary bypass procedures. *Anesth Analg*, 51(6):901-9.
- Bailey PL, Egan TD, Stanley TH. (2000). Intravenous opioid anesthetics In: Miller RD, ed.. Anesthesia. Philadelphia: Churchill Livingstone Inc, 273-376.
- Bailey PL, Port JD, McJames S, Reinersman L, Stanley TH. (1987) Is fentanyl an anesthetic in the dog? *Anesth Analg*, 66:542-8.
- Ban T. The septo-preoptico-hypothalamic system and its autonomic function. (1966). *Prog Brain Res*, 21:1-43.
- Bandler R, Carrive P. (1988). Integrated defence reaction elicited by excitatory amino acid microinjection in the midbrain periaqueductal grey region of the unrestrained cat. *Brain Res*, 439 (1-2):95-106.
- Bard P (1960). Anatomical organization of the central nervous system in relation to control of the heart and blood vessels. *Physiol. Rev.*, 40: 3-26.

- Barnes PJ, Havill JH (1980) Anaesthetic complications requiring intensive care. A five year review. *Anaesth Intensive Care*, 8(4):404-9.
- Bayes de Luna A, Coumel P, Leclercq JF. (1989). Ambulatory sudden cardiac death: mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 157 cases. *Am Heart J*; 117(1):151-9
- Bedford RF, Wollman H (1975). Postoperative respiratory effects of morphine and halothane anesthesia: a study in patients undergoing cardiac surgery. *Anesthesiology*, 43(1):1-9.
- Benedict PE, Benedict MB, Su TP, Bolling SF. (1999). Opiate drugs and delta-receptor-mediated myocardial protection. *Circulation*, 100(19 Suppl):II357-60.
- Billman GE, Schwartz PJ, Stone HL. (1982). Baroreceptor reflex control of heart rate: a predictor of sudden cardiac death. *Circulation*, 66(4):874-80.
- Brindle JT, Antti H, Holmes E, Tranter G, Nicholson JK, Bethell HW, Clarke S, Schofield PM, McKilligin E, Mosedale DE, Grainger DJ (2002). Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabonomics. *Nat Med*, 8(12):1439-44.
- Bruder N, Ortega D, Granthil C. (1992). Consequences and prevention methods of hemodynamic changes during laryngoscopy and intratracheal intubation *Ann Fr Anesth Reanim*, 11(1):57-71
- Catelli M, Feldman J, Bousquet P, Tibirica E. (2003). Protective effects of centrally acting sympathomodulatory drugs on myocardial ischemia induced by sympathetic overactivity in rabbits. *Braz J Med Biol Res*, 36:85-95.
- Celerier E, Rivat C, Jun Y, Laulin J, Larcher A, Reynier P, Simonnet G (2000) Long-lasting hyperalgesia induced by fentanil in rats. *Anesthesiology*, 92:465–472

- Chalmers JP, Kapoor V, Liewellyn-Smith IJ, Minson JB, Pilowsky PM (1992) Central control of blood pressure. *Eur. Heart J*,13:2-9.
- Chien GL, Mohtadi K, Wolff RA, Van Winkle DM. (1999). Naloxone blockade of myocardial ischemic preconditioning does not require central nervous system participation. *Basic Res Cardiol*, 94(2):136-43.
- Chilian WM, Eastham CL, Marcus ML. (1986). Microvascular distribution of coronary vascular resistance in beating left ventricle. *Am J Physiol.*, 251(4 Pt 2):H779-88
- Cobb LA, Werner JA, Traubaugh GB(1980) Sudden cardiac death II: decade's experience with out-of-hospital resuscitation. *Mod Concepts Cardiovasc Dis*, 49:31-36.
- Coda B. (2001). Opioids. In: Barash PG, Cullen FC, Stoelting RK, eds. *Clinical Anesthesia*. Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins, 345-75.
- Cometta-Morini C, Maguire PA, Loew GH. (1992). Molecular determinants of mu receptor recognition for the fentanyl class of compounds. *Mol Pharmacol*. 41(1):185-96.
- Czosnyka M, Smielewski P, Czosnyka Z, Piechnik S, Steiner LA, Schmidt E, Gooskens I, Soehle M, Lang EW, Matta BF, Pickard JD. (2003). Continuous assessment of cerebral autoregulation: clinical and laboratory experience. *Acta Neurochir*, 86:581-5.
- Davis AM, Natelson BJ (1993) Brain-heart interactions. The neurocardiology of arrhythmia and sudden cardiac death. *Texas Heart Institute Journal*, 20:158-69.
- DATASUS, 2002. Ministério da Saúde, Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Informática em Saúde. Estatísticas sobre mortalidade –. Brasília, Centro de Documentação.
- Deanfield JE, Kensey M, Wilson RA, Shes M, Horlock P, de Landsheere CM, Selwin AP (1984) Silent myocardial ischaemia due to mental stress. *The Lancet*, 3: 1001-4.

- Dhawan BN, Cesselin F, Raghbir R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, Hamon M. (1996). International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacol Rev*, 48(4):567-92
- Dhein S, van Koppen CJ, Brodde OE. (2001). Muscarinic receptors in the mammalian heart. *Pharmacol Res*, 44(3):161-82.
- DiBona GF, Sawin LL. (2004). Effect of renal denervation on dynamic autoregulation of renal blood flow. *Am J Physiol Renal Physiol*, 286(6):F1209-18.
- Evans MH. Related Vasoactive sites in the diencephalon of the rabbit. *Brain Res*, (1980) 10;183(2):329-40.
- Feigl, EO. (1983). Coronary physiology. *Physiol Rev*, 63:1–205.
- Fimiani C, Mattocks D, Cavani F, Salzet M, Deutsch DG, Pryor S, Bilfinger TV, Stefano GB. (1999). Morphine and anandamide stimulate intracellular calcium transients in human arterial endothelial cells: coupling to nitric oxide release. *Cell Signal*, 11(3):189-93
- Flake JW, Flake WK, Bloor BC, Olewine S (1983) Effects of fentanyl, naloxone, and clonidine on hemodynamics and plasma catecholamine levels in dog. *Anesth analg*, 62(3):305-13.
- Flacke JW, Davis LJ, Flacke WE, Bloor BC, Van Etten AP. (1985). Effects of fentanyl and diazepam in dogs deprived of autonomic tone. *Anesth Analg.*, 64(11):1053-9.
- Freeman LJ, Nixon PGF, Sallabank P, Reaveley D (1987) Psychological stress and silent myocardial ischemia. *Am. Heart. J*, 114 : 477-482.

- Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. (1993). Regional and cardiac haemodynamic effects of NG-dimethyl-L-arginine and their reversibility by vasodilators in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 110:1457-1464.
- Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. (1987). Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*, 316(22):1371-5.
- Grabe-Guimaraes A, Alves LM, Tibirica E, Nobrega AC. (1999). Pyridostigmine blunts the increases in myocardial oxygen demand elicited by the stimulation of the central nervous system in anesthetized rats. *Clin Auton Res*, 9:83-89.
- Groban L, Vernon JC, Butterworth J. (2004). Intrathecal morphine reduces infarct size in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Anesth Analg.*, 98(4):903-9.
- Gross GJ, Auchampach JA. (1992). Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res*, 70(2):223-33.
- Gutstein HB, Akil A. (2003). Analgésicos opióides. Em: Hardman JG, Limbird LE e Gilman AG, editores. Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica. 10ª edição. Rio de Janeiro: McGraw-Hill;. p 427-464.
- Haggmark S, Hohner P, Ostman M, Friedman A, Diamond G, Lowenstein E, Reiz S. (1989) Comparison of hemodynamic, electrocardiographic, mechanical, and metabolic indicators of intraoperative myocardial ischemia in vascular surgical patients with coronary artery disease. *Anesthesiology*, 70(1):19-25.
- Hayashida M, Fukunaga A, Fukuda K, Yamazaki SY, Arita H, Hanaoka K. (2004) A rabbit model for evaluation of surgical anesthesia and analgesia: characterization and validation with isoflurane anesthesia and fentanyl analgesia. *J Anesth*, 18(4):282-91.
- Hedblad B, Janzon L. (1994). Hypertension and silent myocardial ischemia: their influence on cardiovascular mortality and morbidity. *Cardiology*, 85 Suppl 2:16-23.

- Hobbs AJ, Higgs A, Moncada S. (1999). Inhibition of nitric oxide synthase as a potential therapeutic target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 39:191-220.
- Humphries RG, Carr RD, Nicol AK, Tomlinson W, O'Connor SE. (1991). Coronary vasoconstriction in the conscious rabbit following intravenous infusion of L-NG-nitro-arginine. *Br J Pharmacol*, 102(3):565-6.
- Jiang W, Hayano J, Coleman ER, Hanson MW, Frid DJ, O'Connor C, Thurber D, Waugh RA, Blumenthal JA (1993) Relation of cardiovascular responses to mental stress and cardiac vagal activity in coronary artery disease. *Am. J. Cardiol*, 72:551-554.
- Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. (1986). Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis*, 6(2):131-8.
- Jurna I, Rummel W. (1984). Depression by morphine and levorphanol of activity in sympathetic nerve fibres in anaesthetized rats. *Eur J Pharmacol*, 101(1-2):75-82.
- Kato R, Foex P. (2002). Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia-reperfusion injury: an update for anesthesiologists. *Can J Anaesth*, 49(8):777-91.
- Kato R, Foex P (2000a). Fentanyl reduces infarction but not stunning via delta-opioid receptors and protein kinase C in rats. *Br J Anaesth*, 84(5):608-14.
- Kato R, Ross S, Foex P. (2000b). Fentanyl protects the heart against ischaemic injury via opioid receptors, adenosine A1 receptors and KATP channel linked mechanisms in rats. *Br J Anaesth*, 84(2):204-14.
- Kelm M, Schrader J. (1990). Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circ Res*, 66:1561-75.

- Kissin I, Brown PT, Robinson CA, Bradley EL (1991). Acute tolerance in morphine analgesia: continuous infusion and single injection in rats. *Anesthesiology*, 74:166–171
- Kleinman B, Henkin RE, Glisson SN, el-Etr AA, Bakhos M, Sullivan HJ, Montoya A, Pifarre R (1986). Qualitative evaluation of coronary flow during anesthetic induction using thallium-201 perfusion scans. *Anesthesiology*, 64(2):157-64.
- Kolodgie FD, Virmani R, Burke AP, Farb A, Weber DK, Kutys R, Finn AV, Gold HK. (2004). Pathologic assessment of the vulnerable human coronary plaque. *Heart* 90(12):1385-91.
- Komaru T, Kanatsuka H, Shirato K. 2000. Coronary microcirculation: physiology and pharmacology. *Pharmacol Ther.*, 86(3):217-61.
- Komatsu T, Kimura T, Sanchala V, Shibutani K, Shimada Y. (1992) Effects of fentanyl-diazepam-pancuronium anesthesia on heart rate variability: a spectral analysis. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 6:444. -8.
- Kübler W, Haass M. (1996). Cardioprotection: definition, classification, and fundamental principles. *Heart*, 75:330-3.
- Latson TW, McCarroll SM, Mirhej MA, Hyndman VA, Whitten CW, Lipton JM. (1992). Effects of three anesthetic induction techniques on heart rate variability. *J Clin Anesth*, 4:265-76.
- Laubie M, Schmitt H. (1983). Origin of the hypotensive and sympathoinhibitory effect of morphinomimetic agents. *Eur J Pharmacol*, 91:431-9.
- Lawson NW and Johnson JO (2001). Autonomic Nervous System: Physiology and Pharmacology. In: Barash PG, Cullen FC, Stoelting RK, eds. *Clinical Anesthesia*. Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins, 261-325.

- Lessa MA, Rodrigues E, Tibirica E. (2004). Cardioprotective action of fentanyl in a model of central sympathetic overactivity in rabbits: antiarrhythmic and anti-ischemic effects. *Acta Anaesthesiol Scand.*, 48(9):1115-22.
- Lipski J, McAllen RM, Spyer KM (1972). Localization of sinus nerve afferent endings in the brain stem. *J Physiol*, 225(2):30P-31P.
- Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM. (1991). Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation*, 84(1):350-6.
- Liu Y, Downey JM (1992). Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol*, 263(4 Pt 2):H1107-12.
- Lord JA, Waterfield AA, Hughes J, Kosterlitz HW. (1977). Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. *Nature*, 267(5611):495-9.
- Lowenstein E, Hallowell P, Levine FH, Daggett WM, Austen WG, Laver MB. (1969). Cardiovascular response to large doses of intravenous morphine in man. *N Engl J Med*, 281:1389-93
- Lowenstein E. (1971). Related Morphine "anesthesia"--a perspective. *Anesthesiology*, 35(6):563-5.
- Lown B, Verrier R, Corbalan R. (1973) Psychologic stress and threshold for repetitive ventricular response. *Science*, 182(114):834-6.
- Lown B (1987) Sudden cardiac death: biobehavioral perspective. *Circulation*, 76 (suppl I), I 186 - I 196.
- Lown B, Verrier RL, Rabinowitz SH. (1977). Neural and psychologic mechanisms and the problem of sudden cardiac death. *Am J Cardiol*, 39(6):890-902.

- Ludwig LM, Patel HH, Gross GJ, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. (2003). Morphine enhances pharmacological preconditioning by isoflurane: role of mitochondrial K(ATP) channels and opioid receptors. *Anesthesiology*, 98(3):705-11.
- Maguire P, Tsai N, Kamal J, Cometta-Morini C, Upton C, Loew G. (1992) Pharmacological profiles of fentanyl analogs at mu, delta and kappa opiate receptors. *Eur J Pharmacol.* 213(2):219-25
- Malliani A, Schwartz PJ, Zanchetti A (1980) Neural mechanisms in life-threatening arrhythmias. *Am. Heart J.*, 100: 705-715.
- Mammoto T, Kamibayashi T, Hayashi Y, Yamatodani A, Takada K, Yoshiya I. (1996) Antiarrhythmic action of rilmenidine on adrenaline-induced arrhythmia via central imidazoline receptors in halothane-anaesthetized dogs. *Br J Pharmacol.*, 117(8):1744-8.
- Mandarim CA. (1990). Vascularização arterial e venosa, drenagem linfática e inervação do coração. Em: Anatomia do coração: Clínica e Cirúrgica. Mandarim CA (Autor). Rio de Janeiro: Revinter.16-108pp.
- Mangano DT. (1989). Anesthetics, coronary artery disease, and outcome: unresolved controversies. *Anesthesiology*, 70: 175–78.
- Mangano DT, Browner WS, Hollenberg M, London MJ, Tubau JF, Tateo IM. (1990). Association of perioperative myocardial ischemia with cardiac morbidity and mortality in men undergoing noncardiac surgery. The Study of Perioperative Ischemia Research Group. *N Engl J Med*, 323(26):1781-8.
- Mangano DT. (1994). Perioperative cardiac morbidity—epidemiology, costs, problems, and solutions. *West J Med*, 161: 87–89.

- Manning JW Jr, Peiss CN. (1960). Cardiovascular responses to electrical stimulation in the diencephalon. *Am J Physiol*, 198:366-70.
- Marcus, ML. (1983). Basic regulatory mechanisms in the coronary circulation. In: *The Coronary Circulation in Health and Disease*. M. L. Marcus (Ed.), New York: McGraw-Hill. (pp. 65–187).
- Martin WR. (1983). Pharmacology of opioids. *Pharmacol Rev*, 35(4):283-323
- McMillan DE. (1985). Blood flow and the localization of atherosclerotic plaques. *Stroke*, 16(4):582-7
- McPherson BC, Yao Z. (2001). Signal transduction of opioid-induced cardioprotection in ischemia-reperfusion. *Anesthesiology*, 94:1082-8.
- Mehta D, Curwin J, Gomes JA, Fuster V. (1997). Sudden death in coronary artery disease: acute ischemia versus myocardial substrate. *Circulation*, 96:3215-3223.
- Miller RJ. (1982). Multiple opiate receptors for multiple opioid peptides. *Med Biol*, 60(1):1-6.
- Miura M, Reis DJ. (1972). The role of the solitary and paramedian reticular nuclei in mediating cardiovascular reflex responses from carotid baro- and chemoreceptors. *J Physiol*, 223(2):525-48
- Monassier L, Tibiriçá E, Roegel JC, Mettauer B, Feldman J, Bousquet P (1994) Prevention by NMDA receptor antagonists of the centrally-evoked increases of cardiac inotropic responses in rabbits. *Br. J. Pharmacol*, 111: 1347 - 1354.
- Moreno Junior H, Nathan LP, Metze K, Costa SK, Antunes E, Hyslop S, Zatz R, de Nucci (1997). Non-specific inhibitors of nitric oxide synthase cause myocardial necrosis in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 24(5):349-52.

Murphy DB, Murphy MB. (1999). Opioid antagonist modulation of ischaemia-induced ventricular arrhythmias: a peripheral mechanism. *J Cardiovasc Pharmacol*, 33:122-125.

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. (1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 74(5):1124-36.

Myerburg RJ, Interian A Jr, Mitrani RM, Kessler KM, Castellanos A. (1997) Frequency of sudden cardiac death and profiles of risk. *Am J Cardiol.*, 80(5B):10F-19F.

Myerburg RJ, Kessler KM, Castellanos A. (1993). Sudden cardiac death: epidemiology, transient risk, and intervention assessment. *Ann Intern Med*, 119:1187-97.

Newsholme EA, Leech AR (1983). Biochemistry for the medical sciences. Chichester, John Wiley & sons, 891p.

Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Pantoli D, Rusticali F. (1995). Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning. *Circulation*,. 91(2):291-7

Parker GW, Michael LH, Entman ML (1987) An animal model to examine the response to environmental stress as a factor in sudden cardiac death. *Am. J. Cardiol*, 60: 9J - 14J.

Patel HH, Ludwig LM, Fryer RM, Hsu AK, Warltier DC, Gross GJ. (2002). Delta opioid agonists and volatile anesthetics facilitate cardioprotection via potentiation of K(ATP) channel opening. *FASEB J*, 16(11):1468-70.

Paterson SJ, Robson LE, Kosterlitz HW. (1983). Classification of opioid receptors. *Br Med Bull*, 39(1):31-6.

- Prys-Roberts C, Meloche R, Foex P. (1971a). Studies of anaesthesia in relation to hypertension. I. Cardiovascular responses of treated and untreated patients. *Br J Anaesth*, 43(2):122-37.
- Prys-Roberts C, Greene LT, Meloche R, Foex P. (1971b). Studies of anaesthesia in relation to hypertension. II. Haemodynamic consequences of induction and endotracheal intubation. *Br J Anaesth*, 43(6):531-47.
- Pugsley MK. (2002). The diverse molecular mechanisms responsible for the actions of opioids on the cardiovascular system. *Pharmacol Ther*, 93:51-75.
- Quintin L, Bouilloc X, Butin E, Bayon MC, Brudon JR, Levron JC, Tassan H, Boucaud C, Tissot S, Frehring B, Petit P, Danays T, Viale JP, Ghignone M. (1996). Clonidine for major vascular surgery in hypertensive patients: a double-blind, controlled, randomized study. *Anesth Analg*, 83(4):687-95
- Reisine T, Bell GI. (1993). Molecular biology of opioid receptors. *Trends Neurosci.*, 16(12):506-10.
- Ross R. (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340(2):115-26.
- Ross R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362:801-9.
- Rushmer RF, Smith OA (1959). Cardiac control. *Physiol Rev*, 39(1):41-68.
- Sawchenko PE, Swanson LW. (1982). The organization of noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat. *Brain Res*, 257(3):275-325.
- Sawyer CH, Everett JW and Green JD (1954). The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J Comp Neurol*, 1:801-824.

- Schoen FJ (1994) The heart. In Robbins Pathologic Basis of Disease (Cotran, R.S.; Kumar, V.; Robbins, S.L. (eds.). W.B. Saunders Company, Pennsylvania, pp. 524-541
- Schultz JE, Rose E, Yao Z, Gross GJ. (1995). Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol*, 268(5 Pt 2):H2157-61.
- Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. (1996). Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circ Res*, 78(6):1100-4
- Schultz JJ, Hsu AK, Gross GJ. (1997). Ischemic preconditioning is mediated by a peripheral opioid receptor mechanism in the intact rat heart. *J Mol Cell Cardiol*, 29(5):1355-62.
- Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. (1998). Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by delta1- but not mu- or kappa-opioid receptors. *Circulation*, 97(13):1282-9.
- Schultz JJ, Gross GJ. (2001). Opioids and cardioprotection. *Pharmacol Ther* 89:123-37.
- Schwartz PJ, Billman GE, Lowell Stone H (1984) Autonomic mechanisms in ventricular fibrillation induced by myocardial ischemia during exercise testing in dogs with healed myocardial infarction. An experimental preparation for sudden cardiac death. *Circulation*, 69: 790-800.
- Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W. (1990). Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res*, 66(4):1133-42
- Segal SS. (2003). Special circulations. In: Medical physiology. Boron WF and Boulpaep (eds). Saunders: Philadelphia, 558-573.
- Sessle BJ. (1973). Excitatory and inhibitory inputs to single neurones in the solitary tract nucleus and adjacent reticular formation. *Brain Res*, 27;53(2):319-31.

- Sitsapesan R, Parratt JR. (1989). The effects of drugs interacting with opioid receptors on the early ventricular arrhythmias arising from myocardial ischaemia. *Br J Pharmacol*, 97:795-800.
- Skinner JE. (1993). Neurocardiology. Brain mechanisms underlying fatal cardiac arrhythmias. *Neurol Clin*, 11(2):325-51.
- Slogoff S, Keats AS. (1985) Does perioperative myocardial ischemia lead to postoperative myocardial infarction? *Anesthesiology*, 62(2):107-14.
- Somntag M, Deussen A, Schrader J. (1992). Role of nitric oxide in local blood flow control in the anesthetized dog. *Pflugers Arch*, 420:194-9.
- Specchia G, Servi S, Falcone C, Gavazzi A, Angoli L, Bramucci E, Ardissino D, Mussini A (1984) Mental arithmetic stress testing in patients with coronary artery disease. *Am. Heart. J*, 108 : 56-63
- Spencer SE, Sawyer WB, Loewy AD. (1989). Cardiovascular effects produced by L-glutamate stimulation of the lateral hypothalamic area. *Am J Physiol*, 257(2 Pt 2):H540-52.
- Spyer KM. (1981). Neural organisation and control of the baroreceptor reflex. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 88:24-124.
- Stanley TH, Gray NH, Stanford W, Armstrong R. (1973). The effects of high-dose morphine on fluid and blood requirements in open-heart operations. *Anesthesiology*, 38(6):536-41.
- Stefano GB, Hartman A, Bilfinger TV, Magazine HI, Liu Y, Casares F, Goligorsky MS. (1995). Presence of the mu₃ opiate receptor in endothelial cells. Coupling to nitric oxide production and vasodilation. *J Biol Chem*, 270(51):30290-3.
- Stoelting RK, Gibbs PS, Creasser CW, Peterson C. (1975). Hemodynamic and ventilatory responses to fentanyl, fentanyl-droperidol, and nitrous oxide in patients with acquired valvular heart disease. *Anesthesiology*, 42(3):319-24.

- Sun MK. (1995). Central neural organization and control of sympathetic nervous system in mammals. *Prog Neurobiol*, 47(3):157-233
- Swanson LW, Sawchenko PE. (1980). Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. *Neuroendocrinology*, 31(6):410-7
- Swanson LW, Sawchenko PE. (1983). The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Annu Rev Neurosci*. 6:269-324.
- Tibirica E, Catelli M, Lessa MA, Roegel JC, Feldman J, Monassier L, Bousquet P. (1995). Inhibition of the centrally induced increases in myocardial oxygen demand in rabbits by chronic treatment with baclofen, a selective GABAB agonist. *Br J Pharmacol*, 115(7):1331-5.
- Tibirică E, Lessa MA. (2005). The Central Sympathetic Nervous System: A New Target for Cardioprotective Drugs. *Drug. Design Reviews Online* - volume 2 number 4
- Tibirică E, Monassier L, Feldman J, Brandt C, Verdun A, Bousquet P (1993) Baclofen prevents the increase of myocardial oxygen demand indexes evoked by the hypothalamic stimulation in rabbits. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 348 : 164-171.
- Thompson WL, Walton RP. (1964). Elevation of plasma histamine levels in the dog following administration of muscle relaxants, opiates and macromolecular polymers. *J Pharmacol Exp Ther.*, 143:131-6
- Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, De Paulis R, Penta de Peppo A, Chiariello L, Gioffre PA. (1994). Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive K⁺ channel blocker. *Circulation*, 90(2):700-5.

- Vanhoutte PM. (2003). Endothelial control of vasomotor function: from health to coronary disease. *Circ J* 67:572-5.
- Vanoli E, Schwartz PJ. (1990). Sympathetic--parasympathetic interaction and sudden death. *Basic Res Cardiol.* 85:305-21.
- Verrier RL (1986) Neurochemical approaches to the prevention of ventricular fibrillation. *Fed Proc*, 45(8):2191-2196.
- Verrier RL, Calvert A, Lown B (1975) Effect of posterior hypothalamic stimulation on ventricular fibrillation threshold. *Am. J. Physiol.*, 228 : 923-927.
- Verrier RL, Lown B (1984) Behavioral stress and cardiac arrhythmias. *Annu. Rev. Physiol.*, 46: 155-176.
- Villemagne PS, Dannals RF, Ravert HT, Frost JJ. (2002). PET imaging of human cardiac opioid receptors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 29(10):1385-8.
- Wang TL, Chang H, Hung CR, Tseng YZ. (1997). Attenuation of neutrophil and endothelial activation by intravenous morphine in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.*, 80(12):1532-5.
- Wang TL, Chang H, Hung CR, Tseng YZ. (1998). Morphine preconditioning attenuates neutrophil activation in rat models of myocardial infarction. *Cardiovasc Res.*, 40:557-63.
- Weiner H (1991) Stressful experience and cardiorespiratory disorders. *Circulation*, 83: II-2 - II-8.
- Wittert G, Hope P, Pyle D. (1996). Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. *Biochem Biophys Res Commun.*, 218(3):877-81.

- Wynands JE, Townsend GE, Wong P, Whalley DG, Srikant CB, Patel YC. (1983). Blood pressure response and plasma fentanyl concentrations during high- and very high-dose fentanyl anesthesia for coronary artery surgery. *Anesth Analg.*, 62(7):661-5
- Yardley CP, Hilton SM. (1986). The hypothalamic and brainstem areas from which the cardiovascular and behavioural components of the defence reaction are elicited in the rat. *J Auton Nerv Syst.*, 15(3):227-44.
- Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, Miura T, Liu GS, Yang XM, Herbert D, Cohen MV, Downey JM. (1994). Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing. *Am J Physiol.*, 1994 267(6 Pt 2): H2383-90.
- Zimlichman R, Gefel D, Eliahou H, Matas Z, Rosen B, Gass S, Ela C, Eilam Y, Vogel Z, Barg J. (1996). Expression of opioid receptors during heart ontogeny in normotensive and hypertensive rats. *Circulation*, 93(5):1020-5.

10 – ANEXOS

10.1 Artigo 1.

Lessa MA, Rodrigues E, Tibirica E. *Cardioprotective Action of Fentanyl in a Model of Central Sympathetic Overactivity in Rabbits: Antiarrhythmic and Anti-Ischemic Effects.*
Acta Anaesthesiol Scand. 2004; 48(9):1115-22

10.2 Artigo 2

Lessa MA, Tibirica E. *Acute Cardiodepressant Effects Induced by Bolus Intravenous Administration of Amiodarone in Rabbits.*

Fundam Clin Pharmacol. 2005;19(2):165-72.

10.3 Artigo 3

Tibirica E, Lessa MA. *The Central Sympathetic Nervous System: A New Target for Cardioprotective Drugs.*

Drug Design Reviews Online - volume 2 number 4.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)